

**T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**DİFFÜZ BÜYÜK B HÜCRELİ LENFOMA'DA
CD10, BCL-6, MUM1 MARKERLARIN EKSPRESYONU
VE PROGNOZA ETKİSİ**

**UZMANLIK TEZİ
Dr. AHMET YOZGAT**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. AYTUĞ ÜNER**

**ANKARA
KASIM 2010**

Başlarken;

Eğitim hayatımın en başında beni destekleyen ve bana güç veren değerli ilkokul öğretmenlerim Ayşe Karamert ve rahmetli Rıfat Yüksel'e sonsuz sevgi ve saygılarımı sunuyorum.

Daha sonraki eğitim hayatımda desteklerini sürekli arkamda hissettiğim ortaokul, lise ve üniversite hocalarıma,

Asistanlık sürecimi en önemli deneyimlerimden biri haline getiren ve bilgi birikimlerinden sınırsız bir şekilde faydalanmamı sağlayan Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı öğretim üyelerine,

Tez çalışmamın her aşamasında beni destekleyen ve her konuda bilgi ve manevi desteklerini gördüğüm başta değerli hocalarım Prof Dr. Aytuğ Üner ve Prof Dr. Mustafa Benekli olmak üzere Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı öğretim üyeleri ve yan dal araştırma görevlilerine,

Patoloji Ana Bilim Dalı'ndan tez hastalarımı değerlendiren hocam Doç Dr. Nalan Akyürek'e,

Kardeşçe iyi ve kötü günleri, uykusuz ve yorgun geceleri birlikte aştığımız ve pek çok şeyi paylaştığımız asistan arkadaşlarıma,

Canımdan çok sevdiğim annem, babam ve kardeşlerime,

Hayatımda bana yaşattığı ilgi, güven ve sevilme duygusu yanında, benim bugünlere gelmemdeki desteği için eşime,

binlerce kez teşekkür ederim...

İÇİNDEKİLER

	<u>sayfa</u>
İÇİNDEKİLER	i
KISALTMALAR	iii
ŞEKİLLER	v
TABLolar	vi
1.GİRİŞ	1
2.GENEL BİLGİLER	3
2.1 NON-HODGKİN LENFOMALAR	3
2.1.a Non-Hodgin Lenfoma: Epidemiyoloji , etyoloji	3
2.1.b Diffüz Büyük B Hücreli Lenfoma : Patoloji, biyoloji	6
2.1.c Diffüz Büyük B Hücreli Lenfoma: Tanı ve evreleme	10
2.1.d Diffüz Büyük B Hücreli Lenfoma: Prognostik faktörler	13
2.1.d.1 Klinik Prognostik Değerlendirme	13
2.1.d.2 Prognostik biyomarkerlar	16
2.1.e Diffüz Büyük B Hücreli Lenfoma: Gen Ekspresyon Profili ve Subgruplar	22
2.1.f Diffüz Büyük B hücreli Lenfoma: Tedavi	25
3.HASTALAR VE YÖNTEM	30
3.1 HASTALAR	30
3.2 LABORATUAR METODLARI	31
3.2.a İmmunohistokimyasal Yöntem	31
3.3 İSTATİSTİKSEL YÖNTEMLER	34

4.SONUÇLAR	35
5.TARTIŞMA	52
6.KAYNAKLAR	59
7.ÖZET	72
8.SUMMARY	74
9.ÖZGEÇMİŞ	76

KISALTMALAR

18F-FDG	:Fluorine-18-florodeoksiglukoz
ABC	:Aktive B hücre
ABD	:Amerika Birleşik Devletleri
ACVBP	:Adriamisin siklofosfamid, vindesin, bleomisin, prednizon
AEC	:3-Amino 9-Ethylcarbazole
ALBHL	:Anaplastik büyük hücreli lenfoma
ASCT	:Allojenik kök hücre nakli
Bcl-2	:B hücre lösemi/lenfoma 2
BHL	:B hücreli lenfoma
BT	:Bilgisayarlı tomografi
BTB-POZ	:Bric-a-brac/POX virus ve çinko parmak
CHOEP	:Siklofosfamid, adriamisin, vinkristin, prednizon, etoposid
CHOP	:Siklofosfamid, adriamisin, vinkristin, prednizon
DBBHL	:Diffüz büyük B hücreli lenfoma
DFS	:Hastaliksız sağkalım
DNA	:Deoksiribo nükleik asit
DSHNHL	:Alman High Grade non-Hodgkin Lenfoma Grubu
ECOG	:Eastern Cooperative Oncology Group
EFS	:Olaysız sağkalım
EN	:Ekstranodal
FOXP1	:Forkhead box P1
FL	:Foliküler lenfoma
FGF	:Fibroblast büyüme faktörü
GCB	:Germinal merkez B hücre
GELA	:Groupe d'Etude des Lymphomes de l'Adult
HGAL	:İnsan germinal merkez ilişkili lenfoma geni
HIV	:İnsan immünyetmezlik virüsü
HTLV-1	:Erişkin T hücre lösemi/lenfoma virüsü 1
IPI	:Uluslar arası Prognostik İndeks
IWG	:Uluslar arası çalışma grubu
KT	:Kemoterapi
LDH	:Laktat Dehidrogenaz
MALT	:Mukoza ilişkili lëndoid-doku lenfomalar
MHC	:Major histokompatibilite kompleks
MHL	:Mantle hücreli lenfoma
MInT	:MabThera International Trial
MMPs	:Matriks metalloproteinazları
MUM1	:Multipl myelom onkojen 1
MZL	:Marjinal zon lenfoma
NHL	:Non-Hodgkin lenfoma
NK	:Natural killer
OS	:Genel sağkalım
PBS	:Phosphate buffer salin
PET	:Pozitron emisyon tomografi
PD	:Progresif hastalık
PR	:Parsiyel remisyon
R-CHOP	:Rituksimab- siklofosfamid, adriamisin, vinkristin, prednizon
REAL	:Revize edilmiş Avrupa-Amerika lenfoma sınıflaması

RT	:Radyoterapi
SD	:Stabil hastalık
SLL	:Küçük lenfositik lenfoma
SSS	:Santral sinir sistemi
SWOG	:Southwest Oncology Group
THL	:T hücreli lenfoma
TR	:Tam remisyon
WHO	:Dünya Sağlık Örgütü
VEGF	:Vasküler endotelial büyüme faktörü

ŞEKİLLER

Şekil 1. Non-Hodgkin lenfomaların hücresel orijini.

Şekil 2. DBBHL’da gen ekspresyon profiline göre hiyerarşik kümelenme

Şekil 3. Hans ve grubunca tanımlanan algoritma

Şekil 4a. Genç ve yaşlı hastalarda PFS süreleri. Medyan sağkalıma ulaşamamıştır.

Şekil 4b. Genç ve yaşlı hastalarda OS süreleri

Şekil 5a. IPI risk gruplarına göre hastalarda PFS süreleri. Kaplan-Meier eğrisi.

Şekil 5b. IPI risk gruplarına göre hastalarda OS süreleri. Kaplan-Meier eğrisi

Şekil 6a: GCB alt grubunda KT ile ilişkili OS süreleri (Kaplan-Meier eğrisi)

Şekil 6b: ABC alt grubunda KT ile ilişkili OS süreleri (Kaplan-Meier eğrisi)

Şekil 7a: Bcl-6 negatif hasta grubunda KT ile ilişkili OS süreleri

Şekil 7b: Bcl-6 pozitif hasta grubunda KT ile ilişkili OS süreleri

Şekil 8a: R-CHOP rejimi alan hasta grubunda bcl-6 durumuna göre OS süreleri

Şekil 8b: CHOP rejimi alan hasta grubunda bcl-6 durumuna göre OS süreleri

Şekil 9a. IPI risk gruplarına göre hastalarda OS süreleri (R-CHOP rejimi alanlar). Kaplan-Meier eğrisi

Şekil 9b. IPI risk gruplarına göre hastalarda OS süreleri (CHOP rejimi alanlar). Kaplan-Meier eğrisi

Şekil 10a: KT rejimlerine göre alt gruplarda 5 yıllık OS süreleri (R-CHOP)

Şekil 10b: KT rejimlerine göre alt gruplarda 5 yıllık OS süreleri (CHOP)

Resim 1. GCB fenotip DBBHL: Neoplastik lenfoid hücrelerde a) CD10 pozitif, b) Bcl-6 pozitif, Mum-1 negatiftir (x400)

Resim 2. Non-GC fenotip DBBHL: Neoplastik lenfoid hücrelerde a) CD10 negatif, b) Bcl-6 pozitif, Mum-1 pozitifdir (x400)

Resim 3. DBBHL hücrelerinde Bcl-2 ekspresyonu (x400).

TABLÖLAR

Tablo1. Mikroorganizmalar ve ilişkili oldukları non-Hodgkin lenfoma tipleri

Tablo2. Non-Hodgkin lenfomaların REAL/WHO sınıflaması

Tablo 3. Ann-Arbor evrelendirme sistemi Costwold modifikasyonu

Tablo4. Uluslar arası Prognostik İndeks (IPI) skorlamasında kullanılan parametreler

Tablo 5. IPI skoruna göre risk durumları

Tablo 6. IPI skoruna göre risk durumları ve sağkalım oranları (Rituksimab sonrası dönem)

Tablo 7. DBBHL’de apoptozis ilişkili prognostik biyomarkerlar

Tablo 8. DBBHL’da B hücre farklılaşması ile ilişkili prognostik biyomarkerlar

Tablo 9. CHOP 21 kemoterapi rejimi uygulama şeması

Tablo 10. İmmünohistokimyasal boyama için kullanılan antikorlar

Tablo 11. Hastaların demografik özellikleri

Tablo 12. İmmünohistokimyasal alttiplere göre hastaların özellikleri

Tablo 13. Altgruplar ve genel hasta özelliklerinin OS ve PFS üzerine etkisi

Tablo 14. KT rejimlerine göre alt gruplarda 5 yıllık OS oranları

Tablo 15. CD10, MUM1, bcl-6 ve bcl-2 değerleri arasındaki korelasyon

1.GİRİŞ

Diffüz büyük B hücreli lenfoma (DBBHL) batı toplumlarında en sık görülen lenfoma alt tipidir. Erişkin non-Hodgkin lenfomaların (NHL) yaklaşık olarak %30-40'ını oluşturur ^{1,2}. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) sınıflandırmasında her ne kadar bir hastalık olarak belirtilmişse de yapılan çalışmalarda birçok morfolojik ve fenotipik varyant belirlenmiştir. Bu da hastalık prognozunun ve tedavi stratejisinin daha zor belirlenmesine yol açar ^{1,2}. Hastalığın tedaviye cevabı ve sağkalım süresi farklı çalışmalarda çeşitlilik göstermektedir. Birçok seride ortalama genel sağkalım (OS) %40 olarak bulunmuştur. Bu çeşitliliğin moleküler temelleri tam olarak anlaşılamamıştır ².

Uluslar arası Prognostik İndeks (IPI) gibi klinik prognostik skora sistemleri toplam sağkalımı öngörmeye faydalı olabilirler ¹. IPI skoru sağkalımın ve yüksek riskli hastaların belirlenmesinde faydalı olmasına rağmen hastalığın biyolojik özellikleri hakkında herhangi bir bilgi sağlamamaktadır ^{3,4}.

cDNA ve oligonükleotid microarrayleri kullanarak yapılan çalışmalarda DBBHL önemli biyolojik altgruplara ve prognoz gruplarına ayrılabilir. Bunlar germinal merkez B hücre (GCB), aktive B hücre (ABC) ve tip 3 gen ekspresyon profili tipleridir ¹. Genellikle bu tür çalışmalar daha uzun sürmekte ve taze donmuş örnekleri gerektirmektedir fakat bu örnekler vakaların çok az bir grubunda mevcut durumdadır ⁵. Bu sınırlamaları ortadan kaldırmak için birçok çalışma yapılmıştır. Tedavi yanıtı ve sağkalımı belirleyecek protein düzeyleri immunohistokimyasal olarak çalışılmıştır ². Yapılan çalışmalarda CD10, bcl-6, MUM 1/IRF (MUM1) biyomarkerlerinin ekspresyonuna patoloji preparatlarından

bakarak GCB ve non-GCB gruplarını birbirinden ayıran bir algoritma oluşturulmuştur⁶.

Bir çalışmada siklofosamid, doksorubisin, vinkristin, prednizon (CHOP) kemoterapisi alan DBBHL'lı hastalarda GCB ve ABC altgrupları aynı oranda bulunmuştur. Bu çalışmada GCB grubunda 5 yıllık sağkalım %43, ABC grubunda ise 5 yıllık sağkalım %26 olarak bulunmuştur ($P=0,001$)¹. Başka bir çalışmada ise CHOP ve rituksimab-CHOP (R-CHOP) kemoterapisi alan hastalarda biyomarker (CD10, bcl-6 , MUM1) ekspresyonunun prognostik önemi karşılaştırılmış. CHOP kemoterapisi alan grupta GCB grubu ABC grubuna göre daha iyi sağkalım ile ilişkili bulunmuştur. R-CHOP grubunda ise sadece bcl-6 prognostik olarak önemli bir faktör olarak bulunmuştur⁴.

Biz yapacağımız bu retrospektif çalışmada Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Onkoloji Bilim Dalı'nda takip edilen DBBHL'lı hastaların patoloji preparatlarında CD10, bcl-2, bcl-6, MUM1 biyomarker ekspresyonuna bakarak hastaların GCB ve ABC olarak altgrup oranlarını belirlemek ve hastaların bu altgruplarda rituksimab içeren kemoterapiye yanıt oranlarını belirlemek istedik.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 NON-HODGKİN LENFOMALAR

2.1.a. Non-Hodgin Lenfoma: Epidemiyoloji , etyoloji

Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'nde yıllık 65000 hasta tespit edilmekte ve yıllık 20000 ölüm beklenmektedir ⁷. Yeni tanı konulan kanserler arasında 6. sırada olup kansere bağlı ölümler arasında ise erkeklerde 8. kadınlarda ise 6. sıradadır. Prevelansı yaşla birlikte artmakta olup erkeklerde kadınlara göre daha fazla görülmektedir ⁷. Daha önceki 2 dekada NHL'ye bağlı ölüm oranı artmış olmakla birlikte 1997'den beri erkeklerde yıllık %3, kadınlarda yıllık %3,7 oranında azalmaktadır ^{7,8}. Kuzey Amerika ve Batı Avrupa'da prevelans en yüksek, Asya ve Doğu Avrupa'da en düşüktür. Nedeni genellikle bilinmemektedir.

NHL etyolojisinde kronik inflamatuvar hastalıklar (çölyak hastalığı, Sjögren sendromu, romatoid artrit), kronik enfeksiyonlar (mukoza-ilişkili lenfoid doku lenfomalar (MALT) -lenfomalar ile helikobakter pilori ilişkisi gibi) olduğu gösterilmiştir ^{9,10}. Bazı lenfoma tiplerinin bazı enfeksiyon etkenleri ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Tablo 1) ^{11,12}.

NHL etyolojisinde en önemli risk faktörlerinden biri de immunsupresyon olup NHL riskini 50-100 kat artırmaktadır ¹³. Bunun en açık göstergesi solid organ transplantasyonu yapılan hastalarda kullanılan immunsupresif ilaçlar, immunsupresyonun süresi ve kullanılan ilaçların dozu ile ilişkili olarak NHL riskinin artmasıdır ¹⁴. HIV enfeksiyonunun epidemik olduğu bölgelerde lenfoma görülme

Tablo 1: Mikroorganizmalar ve ilişkili oldukları non-Hodgkin Lenfoma tipleri.

Virüs	Lenfoma Tipi	İlişki Düzeyi
Epstein-Barr virus	Afrika Burkitt's lenfoma	Sebep
	İmmün yetmezliklerde primer	Sebep
	SSS lenfoması	
Helikobacter pylori	Mide Maltoma	Sebep
	Splenik Marjinal zon	3 kat risk artışı
HTLV-1	Erişkin T-hücre	Sebep
	Lösemi/Lenfoma	
Hepatit C	B-hücre Lenfoma	2-4 kat risk artışı
Human Herpes Virus 8	Primer Effüzyon Lenfoma	Sebep
Chlamidya psittaci	Okuler adneksal maltoma	ciddi
Campylobacter jejuni	İnce barsak maltoma	orta

sıklığı da artmıştır. Bunun yanı sıra etkili antiviral tedavinin yaygınlaşması ile HIV ilişkili lenfoma sıklığı azalmıştır ¹⁵.

DBBHL batı toplumlarında NHL'nin en sık görülen tipidir. Yaklaşık olarak %30-40'luk kısmını oluşturur. Gelişmekte olan ülkelerde bu oran daha yüksektir. Ülkemizde görülen NHL hastalarının yaklaşık olarak %50'si DBBHL'dır ¹⁶. Foliküler lenfoma ise dünya genelinde NHL'nin %22'sini oluşturur. T ve Natural Killer (NK) hücreli lenfomaların oranı coğrafik bölge ve ırka göre değişmekle birlikte yaklaşık olarak NHL'nin %7-10'luk bir kısmını oluşturmaktadır ¹⁷ (Tablo 2).

Tablo 2: Non-Hodgkin lenfomaların REAL/WHO sınıflaması ¹⁸.

NHL tipi	Sıklık (%)**
Prekürsör B Hücreli neoplazmlar	
Prekürsör B lenfoblastik lösemi/lenfoma	
Matur (periferal) B hücreli neoplaziler	
Kronik lenfositik lösemi/ B hücreli küçük lenfositik lenfoma	7
B hücreli prolenfositik lösemi	
Lenfoplazmositik lenfoma	1
Splenik marginal zon B hücreli lenfoma (villöz lenfositli splenik lenfoma)	
Saçlı hücreli lösemi	
Plazma hücreli myelom/plazmositom	
Ekstranodal marginal zon B lenfoma (MALT lenfoma)	8
Nodal marginal zon B lenfoma	2
Foliküler lenfoma	22
Mantle hücreli lenfoma	6
Diffüz Büyük B hücreli lenfoma	33
Burkitt's lenfoma/lösemi	2

Tablo 2(devamı): Non-Hodgkin lenfomaların REAL/WHO sınıflaması ¹⁸.

T hücreli ve NK hücreli neoplazmlar	
Prekürsör T hücreli neoplazm	
Prekürsör T lenfoblastik lösemi/lenfoma	2
Blastoid NK hücreli lenfoma	
Matur (periferal) T hücreli neoplazmlar	8
T hücreli prolenfositik lösemi	
T hücreli large granüler lenfositik lösemi	
Agresif NK hücreli lösemi	
Adult T hücreli lösemi/lenfoma (HTLV1pozitif)	
Ekstranodal NK/T hücreli lenfoma (nazal tip)	
Enteropati tip T hücreli lenfoma	
Subkütan pannikülit benzeri T hücreli lenfoma	
Mycozis fungoides/sezary sendromu	
Primer kutanöz anaplastik large cell lenfoma	
Periferal T hücreli lenfoma, başka türlü sınıflandırılmayan	
Anjiyoimmünoblastik T hücreli lenfoma	2
Primer sistemik anaplastik large cell lenfoma	

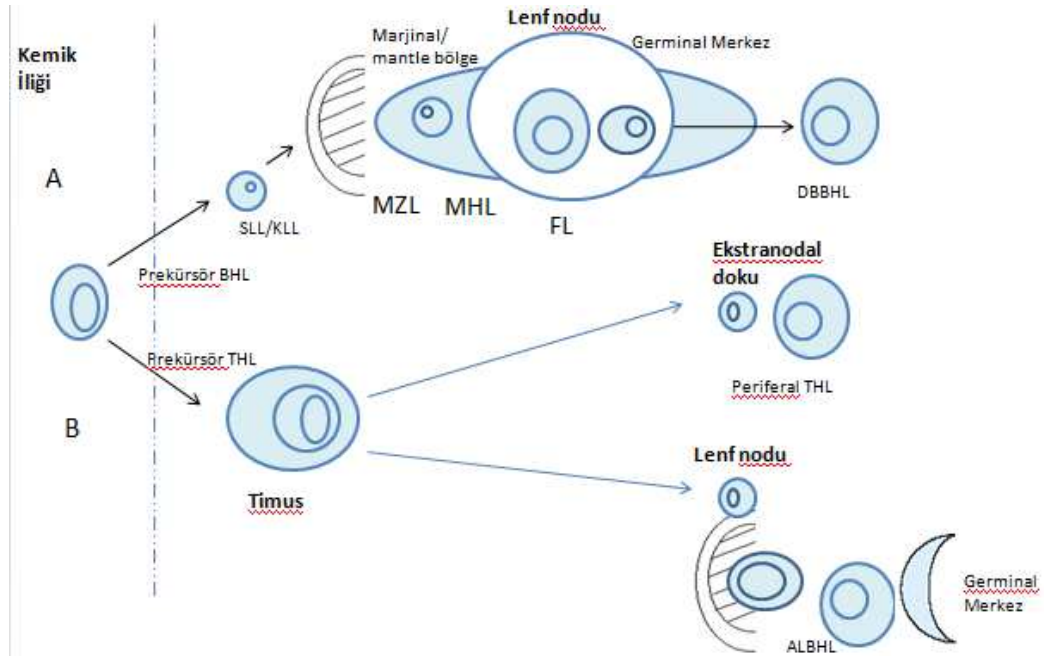
**: Frekansı %1'in üzerindeki lenfoma yüzdesini belirtir.Yüzde belirtilmeyen diğer lenfomalar tüm lenfomaların %7'sini

2.1.b. Diffüz Büyük B Hücreli Lenfoma : Patoloji, biyoloji

NHL B hücre öncülleri, T hücre öncülleri, matür B veya T hücrelerinden oluşan lenfoid dokuların oluşturduğu solid tümörleri içeren bir grup hastalıktır. Lenfoid maligniteler hematopoetik öncü hücrelerin çeşitli diferansiyasyon aşamalarında kalması sonucu gelişir (Şekil 1). Lenfositlerin her birinin gelişim basamağında bir yerde kalması ve malign transformasyona uğraması sonucunda lenfomalar gelişir. %90'ı B hücre orjinlidir geri kalanı ise T ve null hücrelidir.

WHO sınıflamasında DBBHL'dan normal lenfositlerin iki katından daha büyük ve doku makrofajları ile aynı boyut ya da daha büyük neoplastik lenfoid hücreler içeren B lenfoid hücrelerin diffüz proliferasyonu olarak bahsedilmektedir ¹⁷. Bu grup içerisindeki tümörler heterojen klinik, morfolojik, immunolojik ve sitogenetik özellikler içerdiğinden çok değişken klinik seyir ve belirgin biyolojik heterojenite göstermektedir ¹⁷.

Lenfoid dokular iki tipe ayrılır: santral (kemik iliği ve timus) ve periferik (kan, dalak, lenf nodu, mukoza ilişkili). Santral lenfoid dokuda hücreler gelişir ve farklılaşır, daha sonra periferik lenfoid dokular ve dolaşıma salınır. T hücreleri timus bezinde B hücreleri ise kemik iliğinde gelişmektedirler. Kemik iliğinde kök hücreleri pro-B lenfositlerine dönüştüklerinde yüzeylerinde CD19, CD79a, CD34, CD10 ve TdT taşırlar. Daha sonra bu hücrelerde immunoglobulin ağır zincir geni rearanje olur ve μ ağır zinciri yapılmaya başlanır ve hücreler pre-B hücreler olarak tanımlanır. Bundan sonra hücrelerin immunoglobulin hafif zincir genlerinde de rearanjman olur ve hücreler yüzeylerinde IgM molekülünü taşımaya başlarlar ve periferik lenfoid dokuya geçerler. Bu hücreler yüzeylerinde CD20, CD22 molekülü de taşırlar ve immatür B hücreleri olarak adlandırılırlar. İmmatür B hücrelerinde CD10 ve TdT ekspresyonu kaybolmuştur. Hücreler yüzeylerinde IgM ile birlikte IgD'de eksprese etmeye başlamasıyla matur B hücreleri olarak adlandırılırlar. Bu hücrelerin yabancı antijenlere karşı reaksiyon verebilme yetenekleri vardır. Bu aşamada hücreler kan dolaşımına geçerler ve lenfoid dokulardaki primer folikülleri oluştururlar. Antijenle karşılaşan bu



Şekil 1. Non-Hodgkin lenfomaların hücresel orijini. A: B hücreli. B: T hücreli.
Kısaltmalar: ALBHL, Anaplastik büyük hücreli lenfoma ; BHL, B hücreli lenfoma ; FL , Folliküler lenfoma ; MHL, Mantle hücreli lenfoma ; MZL, Marginal zon lenfoma ; SLL, Küçük lenfositik lenfoma ; THL, T hücreli lenfoma ; DBBHL, Diffüz büyük B hücreli lenfoma

hücreler aktive olurlar, plazma hücrelerine dönüşürler ya da folikül merkezine giderek germinal merkez B hücrelerini oluştururlar. Bu hücrelerden Burkitt lenfoma, folliküler lenfoma, Hodgkin lenfoma ve DBBHL gelişmektedir. Aktive olan B lenfositler hafıza plazma hücrelerine dönüşerek folikül etrafındaki marjinal bölgeye yerleşirler ve bu aşamadaki hücrelerden marjinal zon lenfomalar ve küçük B hücreli lenfositik lenfomalar gelişir. B hücrelerinin bir kısmı plazma hücrelerine dönüşürler. Plazma hücreleri ya lenfoid dokuda medüller bölgeye giderler ya da kemik iliğine dönerler. Plazma hücreleri yüzeylerindeki B hücre markerlarını kaybetmişlerdir ve yüzeylerinde CD38, Vs38c ve CD138 ve sitoplazmalarında immünoglobulin ağır ve hafif zincirleri taşırlar. Bu aşamadaki hücrelerden gelişen tümörlere ise plazmositom ve myelom denilir ¹⁹.

DBBHL'nın alt tiplendirmesi için yapılan sınıflandırmaların çoğu halen tam olarak yeterli değildir. WHO ve REAL sınıflamaları genel olarak morfolojiye

dayanmaktadır. REAL sınıflamasında lenfoblastik ve Burkitt lenfoma dışındaki tüm agresif lenfomalar DBBHL başlığı altında toplanmıştır, fakat bunun tek bir hastalığı değil birden çok hastalığı içerdiği belirtilmektedir ²⁰. WHO sınıflamasında ise iki farklı hastalık (intravasküler büyük hücreli lenfoma ve primer efüzyon lenfoması) eklenmiştir.

DBBHL'nın morfoloji açısından tam olarak sınıflandırılmaması nedeniyle 1990'lı yıllardan itibaren birçok çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalarda DBBHL'nın germinal merkez B hücreli ve postgerminal merkez B hücreli (aktive B hücreli) olmak üzere iki farklı hücre grubundan kaynaklandığını gösterilmiştir. Germinal ve post germinal hücre tanımlaması immunglobulin geninin değişken bölgesinin somatik mutasyonları ile açıklanmaktadır ²¹.

DBBHL genellikle CD45 ve pan-B (CD19, CD20, CD79a) markerları eksprese eder. CD20 B hücreleri için spesifik bir marker olmakla birlikte bazı durumlarda T hücreli lenfomalarda da saptanmaktadır. CD30 anaplastik, non-anaplastik ve primer mediastinal büyük B hücreli lenfomada pozitif olabilir fakat CD30 pozitifliği ile prognoz arasında bir bağlantı kurulamamıştır ^{22,23}. CD5 kronik lenfositik lösemi/küçük lenfositik lenfoma ve mantle hücreli lenfoma için karakteristik olsa da DBBHL'da %5-10 oranında ekspresyonu saptanmaktadır ²⁴. Yapılan çalışmalara göre CD5 (+) DBBHL'ların de novo vakalar olduğu düşünülmektedir. CD43 pozitifliği ise DBBHL hastalarının %15-30'unda mevcut olup önemi bilinmemektedir ²⁵.

2.1.c. Diffüz büyük B hücreli lenfoma: Tanı ve Evreleme

Lenfoid malignitelerin tanısında doğru tanı ve sınıflandırma için eksizyonel biyopsi önerilir. İnce iğne aspirasyon biyopsisi tanı koymak için önerilmezken rekürrens durumunda yeterli olabilir. İntraabdominal ve retroperitoneal hastalık tanısında ise laparoskopik biyopsi gereklidir. Tanı koyma işleminin temelinde morfoloji ve immunohistokimyasal çalışmalar yer almaktadır. CD20 ve CD79a gibi pan-B markerlar için boyama mutlaka gerekli iken bazı atipik tipler için farklı boyamalara da ihtiyaç vardır. Plazmoblastik varyant gibi nadir vakalarda ise multipl myeloma gibi hastalıklardan ayırt etmek için çeşitli araştırmalara ihtiyaç vardır. Hastalık tanısı konulduktan sonra klinik ve moleküler genetik olarak hastanın değerlendirilmesi gerekir. DBBHL klinik prezentasyonu genellikle değişkendir; çoğunlukla lenfadenopati olarak bazen de ektranodal tutulum ile prezente olabilir. Genellikle lenf nodu büyümesi boyun ve abdomendedir. Tanı için en önemli basamak hücre morfolojisi ve nodal yapıyı değerlendirmek için iyi bir biyopsidir.

Sistemik B semptomları (ateş ($> 38^{\circ}\text{C}$), gece terlemesi, 6 ay içerisinde yeme alışkanlığı ile açıklanamayan %10 ve üzeri kilo kaybı) DBBHL hastalarının yaklaşık olarak %30'unda görülür. Hastaların yarısında ise serum LDH düzeyi yüksek bulunur.

Vakların yaklaşık olarak %40'ı ektranodal ve ekstramedüllerdir ²⁶. En sık görülen ektranodal tutulum bölgeleri mide/gastrointestinal sistem, kemik iliği, sinüsler, tiroid, santral sinir sistemi (SSS) ve testislerdir. Hastalığın seyri sırasında akciğer, karaciğer ve böbrek tutulumları görülebilir. DBBHL yüksek derecede invaziv olabilir; acil müdahale gerektiren damarlarda lokal kompresyon ile

superior vena kava sendromuna, trakeo-bronşial kompresyon ile solunum sıkıntısına, periferik sinirlerin tutulumuna ve kemik destrüksiyonuna yol açabilir.

Başlangıç klinik değerlendirme medikal öykü, fizik muayene, tam kan sayımı, periferik yayma, karaciğer ve böbrek fonksiyon testleri, serum protein elektroforezi, HIV, hepatit B ve C serolojisi ile kemik iliği aspirasyon ve biyopsisini içermektedir. LDH ve serum B₂ mikroglobulin düzeyleri de klinik açıdan önemli değerlendirmelerdir ³². Bazı DBBHL'lı hastalarda SSS tutulumu görülebilir (evre 3-4 hastalık, B semptomlarının pozitifliği, retroperitoneal lenf nodu tutulumu, kemik iliği tutulumu , > 1 ektranodal tutulumu, artmış LDH düzeyi, düşük serum albumin düzeyi, > 60 yaşında, yüksek veya yüksek orta risk). Bu nedenle bu hastalara lomber ponksiyon yapılarak serebrospinal sıvı sitolojik incelemesi yapılmalıdır ²⁷.

Hastalığın tanı ve evreleme aşamasında boyun, abdomen, pelvik ve toraks kontrastlı BT rutin olarak istenmelidir. Rutin istenilen BT'ler tanı anında hastalık evresini belirlemeye yararken tedaviye cevap açısından karşılaştırma için de bir temel oluşturur. 18F-FDG fonksiyonel metabolik aktiviteyi ölçerek hastalık hakkında kantitatif bilgi sağlar. BT ile kombine olarak kullanıldığında ise tedavi öncesi evrelemeyi sağlar ²⁸. Tedavi öncesi çekilen PET-BT ise rezidü kitlelerin saptanması ve tedavi yanıtının belirlenmesinde önemlidir.

Lenfomaların evrelendirmesinde Ann-Arbor klasifikasyonu kullanılır. Bu klasifikasyon ilk kez 1971 yılında Hodgkin lenfoma için geliştirilmiş olup daha sonra non-Hodgkin lenfomalar için de kullanılmaya başlanmıştır. Bu klasifikasyon tutulu alan sayısı, ektranodal tutulum ve konstitusyonel semptomları (B semptomları) içerir ²⁹ (Tablo 3). Bu klasifikasyon 1989 yılında

Tablo 3 : Ann-Arbor evrelendirme sistemi Costwold modifikasyonu³⁰

Evre	Tanım
I	Tek bir lenf nodu bölgesinde tutulum
II	Diaframın aynı tarafında iki ya da daha fazla lenf nodu bölgesi tutulumu
III	Diaframın her iki tarafında lenf nodu bölgelerinde tutulum
IV	Bir ya da daha fazla ekstralenfatik organın ± lenf nodu tutulumu
E	Ekstranodal yayılım ya da tek izole ekstranodal organ hastalık
B	B semptomarı (ateş, gece terlemesi, 6 ayda %10 ve üzerinde kilo kaybı)

modifiye edilmiştir³⁰. Lokalize ekstranodal tutulumlar E ile gösterilmekte. B semptomlarının varlığı B ile yokluğu ise A ile gösterilmektedir.

Ann-Arbor evrelendirme sisteminin HL’da NHL’ya göre daha yararlı olduğu gösterilmiştir. Çünkü NHL’lar genelde hematojen olarak yayılırken HL’lar ardışık olarak lenfatik yolla yayılırlar. Agresif NHL’lar genellikle ileri evrelerde tanı alırlar. Evrelendirme sistemi lokal veya kombine modalite tedavi ile yarar görebilecek erken evredeki az sayıda hastayı belirleyebildiği için, tedavi etkisini değerlendirmek ve prognozu öngörmek için hastalığın subtiplerini belirlemek ve prognostik kriterleri kullanmak gerekmektedir.

2.1.d. Diffüz Büyük B Hücreli Lenfoma : Prognostik faktörler

2.1.d.1. Klinik prognostik değerlendirme

Lenfoma evrelendirmesinde önceleri sadece Hodgkin lenfoma için kullanılan ancak daha sonra NHL için de kullanılmaya başlanılan Ann-Arbor evrelendirme sistemi kullanılmaktadır. Ancak NHL'lar ve DBBHL çok heterojen hastalıklar olduğu için prognozu belirlemede sadece tümör bölgesi ve sayısı ile belirlenen evreleme sistemi yetersiz kalmaktadır. Bu nedenle yapılan çalışmalarda klinik, genetik ve immunohistokimyasal olarak prognostik kriterler, skarlama sistemleri geliştirilmiştir. 1990'lı yıllarda vaka temelli klinik prognostik faktörleri içeren uluslararası prognostik indeks (IPI) geliştirilmiştir³¹. Bu skarlama sistemi ile evreleme sistemine göre agresif NHL hastalarında daha doğru bir uzun dönem sağkalım tahmini yapılabilmektedir.

IPI agresif NHL hastalarında klinik olarak prognozu belirlemede kullanılmaktadır. Bu skarlama sisteminde yaş, Ann-Arbor evresi, Laktat dehidrogenaz (LDH) düzeyi, ektranodal tutulum, performans statusu (Eastern Cooperative Oncology group [ECOG]) kullanılmakta ve her bir pozitif parametre için 1 puan verilerek toplam IPI skorunu elde edilmektedir (Tablo 5). 60 yaş altı hastalar için daha farklı prognoz ve agresif tedavi yaklaşımı ihtiyacından dolayı yaşa göre düzenlenmiş IPI skoru (age-adjusted [aaIPI]) kullanılır.

Serum B₂ microglobulin düzeyinin bazı indolent (yavaş seyirli) lenfomalarda prognostik önemi olduğu gösterilmiştir. Ayrıca LDH düzeyinin NHL tiplerinde önemli bağımsız bir prognostik faktör olduğu gösterilmiştir³².

Tablo 4: Uluslararası Prognostik İndeks (IPI) skorlamasında kullanılan parametreler ³¹

Klinik Özellik	Prognostik Faktör (her biri 1 puan)
Yaş	> 60 yaş
Evre	Evre 3 veya 4 olması
ECOG performans durumu	≥ 2
LDH	> Normalin üst sınırı
Ekstranodal bölge tutulumu	> 1 bölge

Tablo 5: IPI skoruna göre risk durumları ³¹ (*)

IPI skoru	Risk grubu	5 yıllık sağkalım (%)	Tam yanıt oranı
0-1	Düşük-risk	73	87
2	Düşük-orta risk	51	67
3	Yüksek-orta risk	43	55
4-5	Yüksek risk	26	44

*: Rituksimab öncesi dönem

Tablo 6: IPI skoruna göre risk durumları ve sağkalım oranları (Rituksimab sonrası dönem) ³³

IPI skoru	3 yıllık olaysız sağkalım	5 yıllık sağkalım (%)	Tam yanıt (%)
0-1	81	87	91
2	69	75	81
3	53	59	65
4-5	50	50	59

Mediastenin 1/3'ünden daha fazlasını kapsayan (bulky) hastalığı olanlarda ve özellikle > 10 cm kitlesi olan Evre 2 hastalarda prognoz bulky hastalığı olmayan hastalara göre daha kötüdür. Yapılan bir çalışmada erken evre < 5 cm tümörü olan hastalar ile erken evre > 10 cm tümörü olan hastalar karşılaştırıldığında 3 yıllık olaysız sağkalım oranları arasında anlamlı fark bulunmuştur (sırasıyla % 83'e %73). Bulky hastalığı olanlarda kemoterapi kür sayısını arttırmaktan ziyade kemoterapiye radyoterapi eklenmesi önerilmektedir³⁴. Hastaların klinik ve görüntüleme açısından tedaviye daha hızlı cevap vermeleri de iyi prognostik bir göstergedir.

Tedavi sonrası hastalar değerlendirilirken en çok BT kullanılır. BT ile değerlendirmede malign doku-fibrotik nekrotik doku ayırımını yapmak genellikle zordur ve tedavi kararını belirlemede bazı durumlarda zorlanılabilir³⁵. Bu nedenle tedavi sonrası yeniden evrelendirme için 18F-FDG-PET artık daha sık kullanılmaktadır. Bir çalışmada uluslararası çalışma grubu (IWG) tarafından 1999 yılında yayınlanan ve lenf nodu boyutunda azalma ve kemik iliği tutulumunun değerlendirmesi ile yapılan yanıt değerlendirmesine 18F-FDG-PET'in eklenmesinin daha güncel ve güvenilir yanıt değerlendirmesi sağladığı gösterilmiştir³⁶. Tedavi sonrası ara değerlendirmede 18F-FDG-PET'in kullanılması da prognostik açıdan değerlidir. Doksan agresif NHL hastası ile yapılan bir çalışmada 2 kür tedavi sonrası yapılan ara değerlendirmede 18F-FDG-PET negatif olan hastaların aynı dönemde 18F-FDG PET pozitif olan hastalara göre daha yüksek bir tam remisyon oranına sahip oldukları gösterilmiştir (sırasıyla %83'e %58)³⁷.

2.1.d.2 Prognostik biyomarkerlar

DBBHL'da birçok kromozomal değişiklik tanımlanmıştır. En sık görülen değişiklik ise B hücre lenfoma 6 (bcl-6) geninde olup bu gen 3q27 lokusunda bulunmaktadır. Bcl-6 germinal merkez formasyonu için kritik bir öneme sahiptir^{38,39}. Ayrıca bcl-6 matur germinal merkez B hücrelerinde eksprese edilir, plazma hücresi ve hafıza B hücrelerinde ise üretilmez. Bcl-6 geni bir nuklear fosfoprotein olan 95 kD'luk bric-a-brac/POX virus ve çinko parmak (BTB-POZ) transkripsiyon faktör ailesini kodlamaktadır⁴⁰. Bcl-6'nın potent bir transkripsiyon baskılayıcısıdır⁴¹. Bcl-6'nın aşırı üretimi DNA hasarına yanıt olması gereken apoptozise gidişini önlemektedir^{42,43,44}. Apoptozise gidişinin önlenmesinde bcl-6 aşırı üretiminin p53 gibi çeşitli tümör supresör genler ile başka birçok genin ekspresyonunun engellemesi önemlidir⁴². Bir hipoteze göre bcl-6 geninde mutasyon veya bir translokasyona bağlı olarak hücreler bcl-6'yı baskırlar ve bunun sonucu olarak ta normal hücre farklılaşması germinal merkez aşamasında son bulur ve bu da lenfoma gelişimini sağlar.

DBBHL'lerin yaklaşık olarak %70'i mutasyona uğramış bir bcl-6 içerirler. Bu mutasyonlar primer nodal DBBHL, primer ektranodal DBBHL, CD5+ DBBHL, CD30+ DBBHL'da sıklıkla bulunurken, primer mediastinal DBBHL'da bulunmaz⁴⁵. Bu mutasyonlar ortalama olarak %30 normal germinal merkez B hücrelerinde de görülmektedir. İmmüsuprese kişilerdeki DBBHL'lerin %40'ı , AIDS ile alakalı DBBHL'lerin ise yaklaşık olarak %20'si bcl-6 geninde translokasyon ile yeniden düzenlenme içermektedir^{39,46,47}.

p53 bir hücre siklus regülatör proteindir. DBBHL'da yaklaşık olarak %20 oranında p53 tümör supresör geninde mutasyon veya delesyon görülür^{48,49}. p53 transkripsiyonu parsiyel olarak DBBHL'da üretimi artan bcl-6 gen ürünü

tarafından kontrol edilir. Normal p53 geni ürünü büyümeyi inhibe eden genler üzerinde transkripsiyonel aktivatör olarak etki eder. Normal aktive p53 geni büyümeyi inhibe edici cevapların oluşmasını sağlar (hücre siklusunda duraklama, apoptosis, hücre yaşlanması ve farklılaşması). Yapılan çalışmaların bazısında p53 gen mutasyonu daha kısa sağkalım ve hastalıksız sağkalım (DFS) ile ilişkili bulunmuş iken bazı çalışmalarda ise sağkalım ile herhangi bir ilişki bulunamamıştır ⁵⁰. p27 bir siklin-dependent kinaz inhibitörü olup hücre farklılaşması, apoptosis, G1 hücre siklusunda duraklama ile ilişkilidir. Yapılan bir çalışmada daha kısa OS ve DFS ile ilişkili bulunmuştur ⁵¹ başka bir çalışmada ise sağkalım ile herhangi bir ilişki bulunamamıştır ⁵².

Cyclin D protein ailesi de hücre siklusunda G1'den S fazına geçişi aktive ederler. Yapılan çalışmalarda cyclin D ailesindeki proteinlerin ekspresyonunun daha kötü bir sonuç ile ilişkili olduğu bulunmuştur ⁵⁰.

Ki-67 bir nükleer antijen olup bölünen hücreler tarafından üretilir. Ki-67 üreten hücrelerin fazlalığı o hücre grubunda çoğalan hücrelerin fazla olduğunu gösterir. Yapılan bir çalışmada malign hücrelerde %80 veya daha fazla Ki-67 ekspresyonu olması ile daha kısa bir 3 yıllık sağkalım bulunmuş ⁵³ iken yapılan daha sonraki çalışmalarda 5 yıllık sağkalım ile Ki-67'nin anlamlı bir ilişkisi bulunamamıştır ⁵⁴.

Survivin inhibitör apoptoz protein ailesinin bir üyesidir ve normal dokularda bulunmazken insan kanserlerinin büyük çoğunluğunda üretilir ⁵⁵. Survivin üretimi anlamlı olarak daha kısa 5 yıllık sağkalım ile ilişkili bulunmuştur ⁵⁶.

B hücre lösemi/lenfoma 2 (bcl-2) iç mitokondri membranında yerleşen bir antiapoptotik proteindir. t(14;18)(q32;21) folliküler lenfoma için karakteristik bir

translokasyon olup bu translokasyon sonrası oluşan gen bcl-2'nin aşırı üretimine yol açar. DBBHL'lı hastalarda bcl-2 gen amplifikasyonu da bcl-2 proteinin aşırı üretimine yol açmaktadır. Yapılan çalışmalarda DBBHL'da %47 ile %58 arasında bcl-2 aşırı üretimi olduğu bulunmuştur. Birçok çalışmada bcl-2 proteininin aşırı üretimimim daha düşük OS ve DFS ile ilişkili olduğu gösterilmiştir ⁵⁰ (Tablo7).

İnsan germinal merkez ilişkili lenfoma geni (HGAL) IL-4 ile uyarılabilir bir gen olup asıl fonksiyonu bilinmemektedir. Gen ekspresyon profili çalışmaları HGAL üretiminin germinal merkez lenfositlerinde daha fazla olduğunu göstermiştir. HGAL üretiminin fazla olmasının IPI'den bağımsız bir sağkalım belirteci olduğu gösterilmiştir ⁵⁷.

CD10 bir akut lenfoblastik lösemi antijeni olup membran ile ilişkili nötral endopeptidazdır. Lenfosit farklılaşmasında pro-B evresinde görülürken, matur B hücrelerinde görülmez. CD10 antijen bağımlı germinal merkez farklılaşması aşamasında tekrar görülmektedir. CD10 folliküler lenfomaların büyük bir bölümünde bulunurken DBBHL'da yaklaşık olarak %20-30 oranında bulunur. CD10 üretiminin prognostik önemi üzerine yapılan çalışmalar çelişkili sonuçlar ortaya çıkarmıştır ^{58,59}.

Forkhead box P1 (FOXP1) geni ürünü olan FOXP1 normal aktive B lenfositlerde ve DBBHL'ların nongerminal merkez fenotipinde üretilen bir transkripsiyon faktörüdür. Banham ve grubunun yaptığı bir çalışmada FOXP1 üretiminin fazlalığı anlamlı olarak daha kısa OS ile ilişkili bulunmuştur ⁶⁰ (Tablo8).

Tablo 7 : DBBHL’de apoptozis ilişkili prognostik biyomarkerlar

Yazar (Yıl)	Marker	Hasta Sayısı	Cutoff (+) (%)	%(+)	Toplam Sağkalım			
					Süre	Marker (+)	Marker (-)	p
Adida (2000)	Survivin	222	70-90	60	5 yıl	40	50	.02
Hill (1996)	BCL2	153	10	55	10yıl	35	69	.03
RFS								
Hermine (1996)	BCL2	151	60	45	3 yıl	61	81	<.05
Kramer (1996)	BCL2	165	50	45				
Gascoyne (1997)	BCL2	116	10	24	8 yıl	34	60	<.01
Barrans (2002)	BCL2	169	50	52	2 yıl	24	65	.006
Colomo (2003)	BCL2	126	NR	59	5 yıl	34	57	.03
Sohn (2003)	BCL2	94	50	26	3 yıl	36	69	.06

Kısaltmalar: DBBHL , Diffüz büyük B hücreli lenfoma ; NR , rapor edilmemiş ; RFS , relapsız sağkalım

CD21 B hücreleri ve folliküler dendritik hücrelerde üretilen bir antijendir. CD21’in iki izoformu vardır; bunlar CD21s ve CD21L’dir. CD21L folliküler dendritik hücreler için, CD21s ise B hücreleri için spesifiktir. Ogawa ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada DBBHL’lı hastalarda %36 oranında CD21s (+) olup IPI’den bağımsız olarak daha yüksek olarak tam yanıt ve 5 yıllık sağkalım oranları bulunmuştur⁶¹.

Tablo 8 : DBBHL’da B hücre farklılaşması ile ilişkili prognostik biyomarkerlar

Toplam sağkalım (ay)						
Yazar (Yıl)	Marker	Hasta Sayısı	% (+)	Marker (+)	Marker (-)	p
Lossos (2001)	BCL6	61	70	171	24	.007
Hans (2004)	BCL6	152	56	69	30	< .001
Lossos (2003)	HGAL	54	44	67	33	.01
Ohshima (2001)	CD10	138	28	68	4	< .031
Hans (2004)	CD10	152	28	74	44	.019
Colomo (2003)	CD10	127	72	40	54	NS
Fabiani (2004)	CD10	98	34	68	65	NS
Yamaguchi (2002)	CD5	493	22	34	50	.002
Banham (2005)	FOXP1	99	59	1,6	12,2	.0001
Barrans (2004)	FOXP1	126	18	10	45	.015
Ogawa (2004)	CD21s	240	36	70	38	.00001

Kısaltmalar: DBBHL , Diffüz büyük B hücreli lenfoma ; NS , anlamsız

Multipl myelomada görülen t(6;14)(p25;q32) sonucunda 14.kromozomda yer alan IgH lokusu ile 6.kromozomda yer alan multipl myelom onkojen 1 (MUM1/IRF4) arasındaki jukstapozisyon MUM1/IRF4 geninin aşırı ekspresyonuna yol açmaktadır. Bu da tümörenezisinde yer almaktadır. Normal lenfoid dokuda MUM1 ekspresyonu immunohistokimyasal olarak plazma hücreleri, bazı aktive T hücreleri ve apikal açık zonda yer alan bcl-6(-) germinal merkez B hücrelerinde tespit edilmiştir. Yapılan bir çalışmada erişkin DBBHL’lı

hastaların %76'sında MUM1/IRF4 (+) olarak bulunmuş ve klinik sonuçlar üzerinde negatif bir etkisi bulunmamıştır⁶².

CD44 aile proteinleri tüm hücrelerce üretilen hücre adezyon molekülleri olup iki izoformu vardır. CD44s standart izoform olup lenfoid hücrelerce üretilmektedir. Yapılan çalışmalarda CD44s düzeyi ile prognoz arasındaki ilişki için çelişkili sonuçlar bildirilmiştir^{63,64}. ICAM-1 lenfoid dolaşım ve ekstrasvazasyonda görev alan bir hücre yüzey reseptörüdür. Agresif NHL'lerde ICAM-1'in az üretimi daha ileri evre, ektranodal tutulum, kemik iliği infiltrasyonu, tedaviye kötü cevap ve daha kötü sağkalım ile ilişkili bulunmuştur⁶⁵.

Endostatin in vivo olarak tümör büyümesi ve anjiogenezisin potent inhibitörüdür. Altmış DBBHL hastasının bulunduğu bir çalışmada yüksek serum endostatin düzeyi anlamlı olarak daha kötü klinik yanıt ile ilişkili bulunmuştur⁶⁶.

Vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF) ve temel fibroblast büyüme faktörü (FGF) endotelyal hücreler için bir mitojen ve anjiogenezisin potent bir uyarıcısıdır. DBBHL'lı hastaların %63'ünde serum VEGF düzeyi artmış olarak bulunmuştur. Salven ve grubunun yaptığı bir çalışmada serum VEGF düzeyinin 449 pg/ml düzeyinin altında olduğu 78 hastada daha yüksek 5 yıllık OS oranı bulunmuştur. Bu analize serum FGF'de eklenirse serum VEGF düzeyinin prognostik gücü daha da yükselmektedir. Serum VEGF ve FGF'in her ikisi de yüksek olan hastalarda anlamlı olarak daha düşük 5 yıllık sağkalım süresi bulunmuştur⁶⁷.

Matriks metalloproteinazları (MMPs) çinko içeren endopeptidazlardır ve ekstrasellüler matriksi parçalama işlevini yürütürler. Tümörlerde MMP kontrolünün kaybı ekstrasellüler matriksin aşırı miktarda yıkımı, anjiogenezis ve

tümör yayılımı ile ilişkili bulunmuştur. Yapılan bir çalışmada DBBHL'lı evre 1 ve evre 2 hastalarda MMP-9 üretimi anlamlı olarak daha düşük 5 yıllık sağkalım ile ilişkili bulunmuştur ⁶⁸.

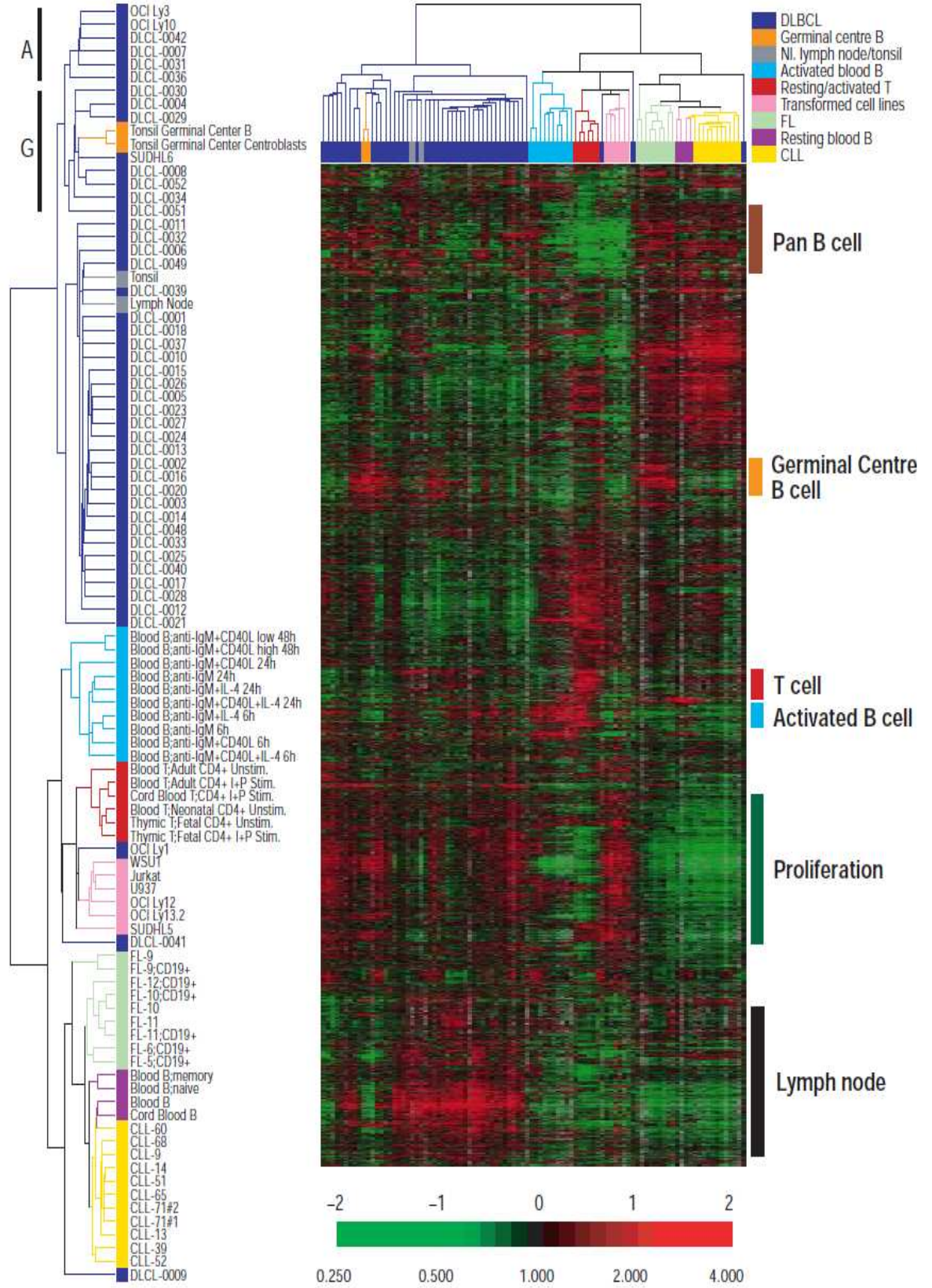
Nm23-H1 proteini, IL-10, hepatosit büyüme faktörü ve major histokompatibilite kompleks proteinleri (MHC) de prognostik önemi olabileceği düşünülen diğer biyomarkerlardır ⁵⁰.

2.1.e. DBBHL : gen ekspresyon profili ve subgruplar

DBBHL gen ekspresyon profili temel alınarak iki biyolojik alt tipe ayrılabilir ^{69,70}. DBBHL gen ekspresyon profili temel alınarak yapılan hiyerarşik kümelenmesi sonucunda GCB ve ABC olmak üzere iki ayrı tipe ayrılmaktadır. Bunun yanında sınıflandırılmayan vakalar da tip 3 gen ekspresyon profili olarak adlandırılmaktadır (Şekil 2).

Yapılan birçok çalışmada gen ekspresyon profiline bakılarak DBBHL subgruplara ayrılabilmiştir. Ancak klinik pratikte tedavi seçimini belirlemek için gen ekspresyon profili ile elde edilen bilgileri elde etmek genellikle daha zordur. Çünkü gen ekspresyon profili çalışmaları genellikle uzun sürmekte, pahalıya mal olmakta ve vakaların çok az bir kısmında mevcut olan taze donmuş doku örneklerini gerektirmektedir ^{5,71}.

Şekil 2 : DBBHL’da gen ekspresyon profiline göre hiyerarşik kümelendirme⁶⁹.

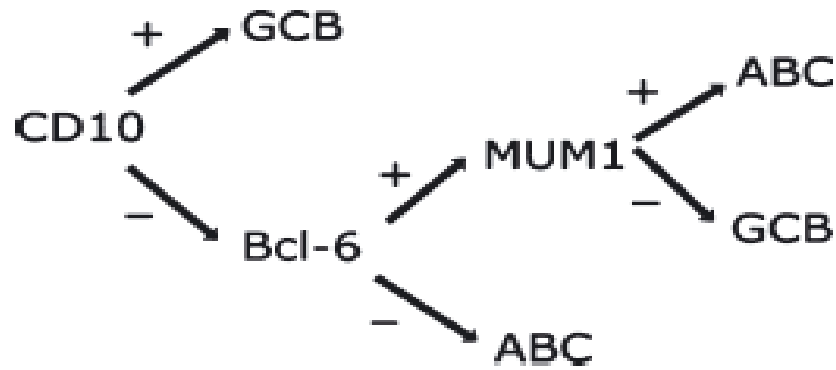


Kısaltmalar: DLBCL, Diffüz büyük B hücreli lenfoma ; FL, foliküler lenfoma ; CLL , Kronik lenfositik lösemi

Lossos ve arkadaşları daha önce DBBHL'da sağkalım belirteci olabileceği belirtilen 36 gen üzerinde araştırma yapmışlar ve 6 genin (LMO2, bcl-6, FN1, CCND2, SCYA3 ve bcl-2) DBBHL'da toplam sağkalımı öngörmeye en güçlü genetik belirteçler olduğu sonucuna varmışlardır ⁷².

Ayrıca birçok çalışma ile immunohistokimyasal olarak çeşitli protein markerların düzeyine bakarak DBBHL'da risk grupları tanımlanmaya çalışılmıştır. DBBHL'nın heterojenitesini en iyi şekilde tanımlayabilecek uzlaşmış bir immunohistokimyasal model şu anda bulunmasa da ⁵, Hans ve grubunca oluşturulan algoritmada CD10 , bcl-6 ve MUM1/IRF4 antikorları kullanılarak DBBHL'lı hastalar GCB ve ABC grubu olarak iki alt gruba ayrılmıştır. Bu algoritma ile DBBHL'lı hastalar uzun ve kısa dönem sağkalım açısından altın standart kabul edilen gen ekspresyon profiline göre sırasıyla %87 ve %73'lük pozitif prediktif değer ile ayırt edilmiştir. Bu çalışmaya göre GCB grubu ABC grubuna göre önemli miktarda daha iyi prognoza sahiptir. Bu çalışmada vakaların %42'si GCB %58'i ise ABC grubu olarak bulunmuştur ⁶ (Şekil 3).

Şekil 3: Hans ve grubunca tanımlanan algoritma



Kısaltmalar: GCB, Germinal merkez B hücre ; ABC , Aktive B hücre

Ayrıca Muris ve grubunca da bcl-2 , CD10 ve MUM-1 markerları kullanılarak ta bir algoritma oluşturulmuştur⁷³.

Biz yaptığımız bu çalışmada Hans ve grubunca oluşturulan algoritmayı kullanarak DBBHL'lı hastaları alt gruplara ayırdık.

2.1.f. Diffüz büyük B hücreli lenfoma: Tedavi

DBBHL tedavi edilmeden önce hastalığın yayılımı, tutulum bölgeleri ve hastanın performans durumu çok iyi bir şekilde değerlendirilmelidir. Antrasiklin bazlı kemoterapi alacak hastaların çoğunda kardiyak fonksiyon ekokardiyografi ile değerlendirilmelidir. Daha önce kardiyak öyküsü olmayan genç hastalarda kardiyak değerlendirme yapılmayabilir. Tedavi öncesinde erkek ve kadın hastalara yönelik tedavinin fertilité üzerindeki etkilerine ve fertilité koruyucu önlemlere yönelik danışmanlık hizmetlerinin de verilmesi gereklidir. Kadınlar için fertilité koruyucu önlemler daha kısıtlı iken erkeklerde sperm saklanması düşünülebilir.

DBBHL potansiyel olarak kür şansı olan bir hastalıktır ancak tedavi ile bu hastalarda ancak % 40-50 hastada uzun dönem remisyona ulaşılabilir⁷⁴. Tarih içinde lenfoma tedavisinde 1894'te "Fowler solusyonu", 1943'da nitrojen mustard, 1949'da kortikosteroidler ve folik asit antagonistleri, 1963 yılında antikanser özelliği keşfedilen vinkristin ile aynı yıl içinde kombine olarak nitrojen mustard, vinkristin, methotrexate ve prednisone NHL tedavisinde kullanılmaya başlanmıştır. 1976 yılında ise ilk kez kombine olarak CHOP (siklofosfamid, hidrokso-doksorubisin [doksorubisin], vinkristin, prednisone) kemoterapisi

Tablo 9: CHOP 21 kemoterapi rejimi uygulama şeması

İlaç	Doz ve yol	Verileceği gün
Siklofosfamid	750 mg/m ² IV	1.gün
Doksorubisin	50 mg/m ² IV	1.gün
Vinkristin	1,4 mg/m ² IV *	1.gün
Prednisone	100 mg/gün PO	1-5 günler arası

*: Total doz maksimum 2 mg
Kısaltmalar: IV, intravenöz ; PO, peroral

kullanılmıştır. Bundan sonra yıllarca CHOP 21 günde bir (Tablo 9) kürler şeklinde standart rejim olarak uygulanmıştır ⁷⁴. Hastaların % 30'u CHOP KT'sine refrakterdir veya tedavi bitiminden kısa bir süre sonra relaps olmaktadır. Rituksimab öncesi dönemde ileri evre DBBHL için CHOP rejimi standart KT olarak kabul edilmiştir ⁷⁴. Ancak yapılan bir çalışmada CHOP ve benzeri rejim alan ileri evre hastalar IPI'ye göre risk grubuna ayrılarak değerlendirildiğinde 5 yıllık yoplam sağkalım sırasıyla % 73, % 51, % 43, % 26 olarak bulunmuştur ³¹. Bu sonuçlarda yeni bir tedavi gerekliliğini göstermektedir.

Doz yoğunluğu artırılmış modifiye CHOP rejimlerinin tedavi etkinliğini arttırabildiği gösterilmiştir. Groupe d'Etude des Lymphomes de l'Adult (GELA) grubunca uygulanan yoğunlaştırılmış bir CHOP modifikasyonu olan ACVBP'nin (adriamisin, siklofosfamid, vindesin, bleomisin, prednizon) olaysız sağkalım (EFS) ve OS açısından CHOP rejimine üstün olduğu gösterilmiştir ⁷⁵. Ayrıca Alman High Grade non-Hodgkin Lenfoma Grubu (DSHNHL) CHOEP (CHOP + etoposid) rejimini geliştirmiştir ve normal LDH düzeyi olan hastalarda CHOP rejimine üstün olduğunu göstermiştir ⁷⁶.

Rituksimab CD20'ye karşı geliştirilmiş kimerik bir monoklonal antikor olup ilk kez yaşlı hastalarda (> 65 yaş) yapılan karşılaştırmada 8 kür 21 günde bir

R-CHOP alan hastalarda sadece CHOP alan hastalara göre daha iyi klinik sonuçlar elde edilmiştir. Bu çalışmada hem IPI skoru düşük, hem de yüksek hastalarda daha yüksek sağkalım süreleri sağlanmıştır. Ayrıca hastalarda infeksiyon dışında toksisitelerde anlamlı bir artış gözlenmemiştir ⁷⁷. Daha sonra yapılan geniş-tabanlı bir çalışmada ise CHOP tedavisine rituksimab eklemekle yaşlılarda 2 yıllık toplam sağkalım % 40'dan % 67'ye gençlerde % 69'dan % 87'ye yükselirken progresyonsuz sağkalım da anlamlı şekilde yükselmiştir ⁷⁸.

Ayrıca MInT çalışmasında iyi risk faktörleri olan genç hastalar değerlendirilmiş ve bu hastalara 6 kür CHOP veya R-CHOP verilmiştir. R-CHOP alan grupta çok belirgin olarak daha iyi sonuçlara ulaşılmıştır ⁷⁹. Bu bilgiler ışığında şu anda erken evre risk faktörü olmayan hastalarda standart tedavi 3 kür R-CHOP + tutulu alan RT, risk faktörü ve bulky hastalığı olan hastalarda ise 6-8 kür R-CHOP ± tutulu alan RT'dir ⁸⁰.

Evre 1 hastalığı olan hastalar lokalize hastalık grubunda değerlendirilir. Bunun yanında seçilmiş bazı evre 2 hastalar (birbirine yakın 2 lenf nodu grubu tutulumu veya bir organ ve yakın bir lenf nodu tutulumu) lokalize hastalık olarak değerlendirilip benzer şekilde tedavi edilebilir. Miller ve grubunca rituksimab öncesi dönemde yapılan bir çalışmada evre 1 ve bulky hastalığı olmayan evre 2 hastalığı olan hastalarda 3 kür CHOP sonrası tutulu alan RT verilmesi ile 8 kür CHOP karşılaştırılmış ve PFS ve OS kombine modalite tedavi alan grupta anlamlı şekilde daha yüksek bulunmuştur ⁸¹. Ancak bu hastaların 10 yıllık izlemlerinde kombine modalite tedavi alanlarda daha yüksek relaps oranı saptanmıştır. ECOG tarafından yapılan bir çalışmada ise evre 1, evre 1E, bulky hastalığı olan evre 1, evre 2 ve evre 2E hastalığı olan hastalar 8 kür CHOP KT'si sonrasında tedavisiz

izlem veya tutulu alan radyoterapi koluna randomize edilmiştir. Kombine tedavi alan hastalarda PFS daha yüksek bulunurken OS açısından bir fark saptanmamıştır⁸². 60 yaşın üstündeki lokalize hastalığı olan ve IPI’de kötü prognostik faktörü olmayan hastalarda 4 kür CHOP sonrası tedavilerine RT eklenmesinin herhangi bir faydası olmadığı, hatta 70 yaşın üstündeki hastalarda negatif etkisi olabileceği gösterilmiştir⁸³.

Rituksimab bütün DBBHL hastalarında tedavi stratejilerini değiştirmiştir. Southwest Oncology Group (SWOG) çalışmasında IPI skoru ≥ 1 olan lokalize hastalığı olan hastalara 3 kür R-CHOP KT’si sonrasında tutulu alan RT verilmiş ve hastalar ortalama 5,3 yıl izlenmiştir. Bu hastalarda 4 yıllık PFS %88 ve 4 yıllık OS %93 olarak bulunmuştur⁸⁴.

Bir Alman grubu tarafından yapılan RiCover 60 çalışmasında toplam 1222 hasta randomize edilmiş, 307 hastaya 6 kür CHOP 14, 305 hastaya 8 kür CHOP 14, 306 hastaya 6 kür R-CHOP 14 ve 304 hastaya da 8 kür R-CHOP 14 rejimi uygulanmıştır. Ortalama 34,5 ay izlenmişlerdir. Sonuçta bütün gruplar değerlendirildiğinde 6 kür R-CHOP 14 rejimi alan grupta diğer gruplara göre anlamlı olarak daha yüksek 3 yıllık EFS, PFS ve OS süreleri bulunmuştur⁸⁵. Devam eden bir faz 3 çalışmada R-CHOP 14 rejimi ile R-CHOP 21 rejimi karşılaştırılmaktadır. R-CHOP veya CHOP rejimi almış olan hastalara 2 yıl süreyle toplam 4 kez rituksimab idame tedavisinin karşılaştırıldığı bir çalışmada ise ; CHOP rejimi alan hastalara idame rituksimab verilmesinin 3 yıllık PFS’ı uzattığı ancak R-CHOP rejimi alan hastalarda anlamlı bir uzama sağlamadığı gösterilmiştir⁸⁶. Sonuçta ileri yaştaki hastalarda da standart tedavi R-CHOP rejimidir. Genç ve düşük riskli hastalarda da şu anda standart tedavi uygulaması 6 kür R-CHOP 21’dir. Yüksek riskli genç hastalarda Alman yüksek riskli NHL

Çalışma grubunca yapılan bir çalışmada daha yüksek doz KT'ler (R-CHOEP-14 ve R-Mega CHOEP) rejimleri karşılaştırılmış ve R-Mega CHOEP'n bir üstünlüğü olmadığı için bu grup sonlandırılmış ve tedaviye R-CHOEP-14 ile devam edilmiştir.

DBBHL'da ilerisi için umut vadeden tedavilerden birisi radyo-immunoterapidir. Daha önce rituksimablı KT ile tedavi edilen ve ASCT için uygun olmayan yaşlı hastalarda kullanılan bir radyo-immunokonjugat olan ⁹⁰Y-ibritumomab-tiuxetan ile % 52'lik bir toplam sağkalım oranı sağlanmıştır ⁸⁷. Yapılan faz 2 çalışmalarda daha önce CHOP ve R-CHOP tedavisi alan hastalarda konsolidasyon tedavisi olarak ⁹⁰Y-ibritumomab-tiuxetan kullanımının faydalı olduğu gösterilmiştir. Remisyonda olan yaşlı DBBHL'lı hastalar üzerinde gözlem veya ⁹⁰Y-ibritumomab-tiuxetan ile idame tedavi şeklinde bir faz 3 çalışma devam etmektedir. Farklı faz 1 ve faz 2 çalışmalarda DBBHL'lı hastalarda antianjiyotik olan bevacizumab, lenalidomid ve proteozom inhibitörü olan bortezomibin etkinliği araştırılmaktadır.

3. HASTALAR VE YÖNTEM

3.1 HASTALAR

Çalışmaya Ocak 1997 ile Ekim 2010 tarihleri arasında Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Medikal Onkoloji Bilim Dalı'nda görülen ve DBBHL tanısı alan hastalar katılmıştır. Toplam 81 (39 erkek ve 42 kadın) hasta çalışmaya alınmıştır. Hastaların ortalama yaşları $56,1 \pm 14,8$ (18–82 yaş aralığı) idi. Çalışmanın yapıldığı sırada hastaların 19'u (%23,5) kaybedilmişti. Bu hastaların tanı anındaki patoloji preparatlarına ulaşıldı ve dosyaları retrospektif olarak tarandı. Hasta dosyaları taranarak hastaların evreleri Ann-Arbor evrelendirme sistemine göre belirlendi, hastalarda LDH düzeyleri, B semptomları, splenik tutulum varlığı, ektranodal tutulum varlığı ve tutulum bölgeleri kaydedildi. Hastaların IPI skorlaması yapıldı, aldıkları kemoterapi (CHOP ve benzeri, R-CHOP ve benzeri olacak şekilde iki gruba ayrılarak), hastalığın tanı konulduğu bölge, hastaların tedaviye yanıtları, takip süreleri ve son durumları kaydedildi. Hastaların tanıları WHO sınıflamasına göre doğrulandı.

Tüm olguların Hematoksilen-Eozin boyalı ve immünohistokimyasal inceleme preparatları retrospektif olarak değerlendirildi. Ayrıca tüm olgulara immünohistokimyasal panel uygulanarak patoloji preparatlarında CD10, BCL6 ve MUM1/IRF 4 biyomarkerları çalışıldı.

Bu çalışma Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Onkoloji Bilim Dalı'nda gerçekleştirildi. Araştırma için Gazi Üniversitesi Kurumsal Araştırma Değerlendirme Komisyonu Başkanlığı'ndan etik kurul onayı alındı. Hastaların genel demografik özellikleri aşağıda verilmiştir (Tablo 11).

3.2 LABORATUAR METODLARI

Hastaların LDH düzeyleri rutin yöntemlerle Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Laboratuvarı'nda ölçüldü. Hastaların patoloji preparatları Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Ana bilim Dalı'nda çalışıldı.

3.2.a İmmunohistokimyasal Yöntem

Formalin ile tespit edilen dokulara ait parafin bloklardan 4 mikrometre kalınlıkta kesitler polilizinli lamlara alındı. CD 10, bcl-6, MUM-1 ve bcl-2 ekspresyonunu belirlemek için streptavidin-biyotin üçlü indirekt immünperoksidaz yöntemi kullanılarak immünhistokimyasal boyama yapıldı. Kullanılan antikorlar tabloda belirtilmiştir. Biyotinlenmiş bağlayıcı (sekonder) antikor, streptavidin-biyotin kompleksi ve kromojen olarak kullanılan 3-Amino 9-Ethylcarbazole (AEC) ticari olarak kullanıma hazır kitler şeklinde idi. Tüm antikorlar için pozitif kontrol olarak tonsil dokusu kullanıldı.

Hazırlanan parafin doku kesitleri CD 10, bcl-6, MUM-1 ve bcl-2 antikoruna ile aşağıdaki prosedüre göre boyandı:

- 1- Polilizinli lam üzerine alınan 4 mikron kalınlığındaki kesitler, 56°C'lik etüvde 12 saat bekletilerek deparafinize edildi.
- 2- 30 dakika ksilolde bekletildi.
- 3- Her birinde beşer dakika bekletilerek sırasıyla %100, %95 ve %90'lık alkolden geçirilerek dokuların hidrasyonu sağlandı.
- 4- Çeşme suyu ile yıkandı.
- 5- Endojen peroksidazı bloke etmek için %3'lük hidrojen peroksitte 10 dakika süre ile oda sıcaklığında bekletildi.
- 6- Fosfat tuzlu tampon (phosphate buffer salin, PBS) (pH 7.6) ile 5 dakika süresince yıkandı.

- 7- 0,01 M. sitrat buffer (pH 6) içinde toplam 30 dakika mikrodalga fırında işleminden geçirildi.
- 8- 30 dakika oda sıcaklığında bekletildi.
- 9- Distile su ile 3 kez yıkandı.
- 10- Kesitler 10 dakika süre ile non-immün protein bloklama serumunda bekletildi.
- 11- Primer antikorlar (CD 10, Bcl-6, MUM-1ve bcl-2) lam üzerindeki doku kesitlerini kapatacak şekilde damlatıldı ve oda sıcaklığında 2 saat süre ile bekletildi.
- 12- 3 kez 5'er dakika PBS ile yıkandı ve kurulandı.
- 13- Bağlayıcı (sekonder) antikor (Ultra streptavidin detection system-HRP; Signet, Massachusetts, USA) ile oda sıcaklığında 20 dakika süre ile inkübasyon yapıldı.
- 14- 3 kez 5'er dakika PBS ile yıkandı.
- 15- Streptavidin-biyotin kompleksi uygulanarak 30 dakika bekletildi (DakoCytomation, Denmark).
- 16- 3 kez 5'er dakika PBS ile yıkandı.
- 17- Renk vererek görüntülemeyi sağlamak amacıyla AEC (3-Amino 9-Ethylcarbazole; Lab-Vision, Neomarkers, USA) ile 10 dakika süre ile inkübasyon yapıldı.
- 18- 5 dakika distile su ile yıkandı.
- 19- Hızlı boyama yöntemi Mayers Hematoksilen ile zemin boyaması yapıldı.
- 20- Dehidrasyon için kesitler sırayla %90, %95 ve %100'lük alkollerde 5'er dakika tutuldu.
- 21- Ksilolde şeffalaştırıldı.

22- Doku kesitleri entellan kullanılarak kapatıldı.

İmmunohistokimyasal boyanma için kullanılan antikorlar ve markaları aşağıda verilmiştir (Tablo 10).

Tablo 10: İmmunohistokimyasal boyama için kullanılan antikorlar

Antikor	Klon	İzotip	Dilusyon	Marka
CD10	56C6	Mouse	Kullanıma	NovoCastra (UK)
		monoklonal	hazır	
Bcl-6	PG-B6p	Mouse	1:50	DakoCytomation
		monoklonal		(Denmark)
MUM1	MUM1p	Mouse	Kullanıma	DakoCytomation
		monoklonal	hazır	(Denmark)
Bcl-2	124	Mouse	Kullanıma	DakoCytomation
		monoklonal	hazır	(Denmark)

Boyanma derecesi yarı kantitatif bir yöntemle değerlendirildi. Pozitif boyanan tümör hücrelerinin tüm tümör dokusuna oranı belirlendi. Hans ve grubunca ve yapılan diğer çalışmalarda önerilen tümör hücrelerinde %30'dan fazla boyanma pozitif %30'un altında boyanma ise negatif olarak değerlendirildi ^{6,88,89}. Yapılan immünhistokimyasal panele göre DBBHL olguları Hans ve grubunca oluşturulan algoritma esas alınarak (Şekil3) GCB ve ABC olmak üzere iki gruba ayrıldı.

3.3 İSTATİSTİKSEL YÖNTEMLER

Araştırma sonucunda elde edilen verilerin değerlendirilmesinde SPSS v17 istatistik paket programı kullanıldı. Değişkenler One-Sample Kolmogorov-Smirnow testi ile normal dağılım açısından değerlendirildi. Normal dağılıma uygun olan veriler

aritmetik ortalama ve standart sapmalarıyla, normal dağılıma uygun olmayan veriler ortanca (minimum-maksimum) değerleriyle verilmiştir.

Hastaların klinik özellikleri ile CD10, bcl-6, MUM1 ve bu markerlar kullanılarak belirlenen ABC ve GCB grupları arasındaki farklılığı belirlemede Mann-Whitney U-testi kullanıldı. İki'den fazla gruplarda değişkenlerin karşılaştırılmasında Kruskal-Wallis varyans analizi kullanıldı. İstatistiksel anlamlı sonuç elde edildiğinde bu istatistiksel anlamlılığın hangi gruplardan kaynaklandığı Mann-Whitney U-testi ile test edildi.

CD10, Bcl-6, MUM1, bcl-2 ve diğer özellikler arasındaki korelasyonlarının değerlendirilmesi için Pearson korelasyon analizi kullanıldı.

Tam remisyon (TR) tedavi sonrası tümörün kaybolması olarak tanımlandı. Parsiyel remisyon (PR) ise ölçülebilen tümör büyüklüğünde %50'den fazla azalma olması olarak kabul edildi. Stabil hastalık (SD) Tümör kitlesinde % 50'nin altında kalan küçülme ve % 25'in altında kalan büyüme olarak tanımlandı. Progresif hastalık (PD) mevcut tümörün %25'inden fazla büyümesi veya yeni yerlerde ortaya çıkması olarak tanımlandı.

Hastalarda OS süreleri tanı anından ölüme veya son takibe kadar geçen süre olarak hesaplandı, DFS süreleri tanı anından progresyona, ölüme veya son takibe kadar geçen süre olarak hesaplandı. OS ve progresyonuz sağkalım süreleri (PFS) hesaplanmasında Kaplan-Meier metodu ve Log-rank testi kullanıldı. $P < 0.05$ değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4.SONUÇLAR

Çalışmaya alınan 81 hastanın 39'u erkek (%48,1) 42'si kadındı (%51,9). Hastaların ortalama yaşları 57 (aralık 18-82) idi. Hastaların evreleri değerlendirildiğinde 14 hastanın evre 1 (%17,3), 36 hastanın evre 2 (%44,4), 19 hastanın evre 3 (%23,5), 12 hastanın evre 4 (%14,8) olduğu bulundu. IPI skorlamasına göre değerlendirildiğinde hastaların 46'sı (%56,8) düşük risk (IPI 0-1), 14'i (%17,3) düşük orta risk (IPI 2), 13'ü (%16) yüksek orta risk (IPI 3), 8'i (%9,9) ise yüksek riskli (IPI 4-5) idi.

Tablo 11: Hastaların demografik özellikleri

Özellik		Sayı (N:81)	Yüzde (%)
Yaş	Ortalama	56,1±14,8	
	Ortanca	57	
	Genç(<60)	45	55,6
	Yaşlı(>60)	36	44,4
Cinsiyet	Erkek	39	48,1
	Kadın	42	51,9
Evre (Ann-Arbor)	1	14	17,3
	2	36	44,4
	3	19	23,5
	4	12	14,8
B semptomu	Var	42	51,9
	Yok	39	48,1
Bulky Kitle	Var	28	34,6
	Yok	53	65,4
LDH	≤N	39	48,1
	>N	42	51,9

Tablo 11(devam): Hastaların demografik özellikleri

Özellik	Sayı(N:81)	Yüzde(%)
---------	------------	----------

ECOG performans durumu	0	14	17,3
	1	42	51,9
	2	10	12,3
	3	12	14,8
	4	3	3,7
IPI	0-1	46	56,8
	2	14	17,3
	3	13	16
	4-5	8	9,9
Tedavi rejimleri	R-CHOP	50	61,7
	CHOP ve benzeri	31	38,3
Tedaviye yanıt	Değerlendirilmeyen	2	2,5
	CR	67	82,7
	PR	6	7,4
	SD	2	2,5
	PD	4	4,9
Son durum	Hayatta	62	76,5
	Exitus	19	23,5

Hastaların 31'i (%38,3) CHOP ve benzeri, 50'si (%61,7) ise R-CHOP KT'si aldı. İlk tedavi sonrası yapılan yanıt değerlendirmesinde hastaların 67'sinde (%82,7) CR, 6'sında (%7,4) PR, 2'sinde (%2,5) SD, 4'ünde (%4,9) ise PD saptandı, 2 hastada ise değerlendirme yapılamadı (Tablo12).

Hastaların tanı anındaki patoloji preparatlarından çalışılan CD10 31 hastada (%38,3), bcl-6 53 hastada (%65,4), MUM-1 47 hastada (%58) ve bcl-2 ise 53 hastada (65,4) pozitif idi. Hans ve grubunun yaptığı algoritmaya göre değerlendirildiğinde hastaların 36'sı (%44,4) GCB grubunda, 45'i (%55,6) ise ABC grubunda idi ⁶. GCB grubundaki hastaların 18'i (%50) erkek iken ABC

Tablo 12: İmmunohistokimyasal alt tiplere göre hastaların özellikleri

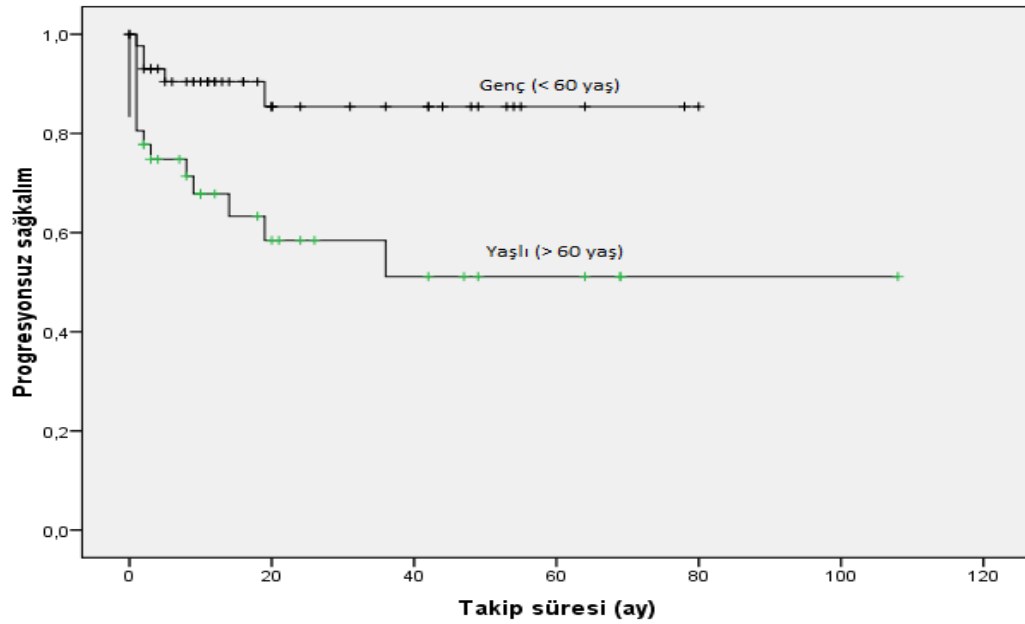
		Toplam(%)	GCB(%)	ABC(%)	p
			)		
Cinsiyet	Erkek	39(48)	18(50)	21(46)	0,76
	Kadın	42(52)	18(50)	24(54)	
Yaş grubu	<60	45(56)	17(47)	28(62)	0,17
	>60	36(44)	19(53)	17(38)	
Evre	1	14(17)	8(22)	6(13)	0,16
	2	36(44)	12(34)	24(53)	
	3	19(24)	8(22)	11(25)	
	4	12(15)	8(22)	4(9)	
EN tutulum	(-)	29(36)	13(36)	16(35)	0,95
	(+)	52(64)	23(64)	29(65)	
IPI risk grubu	0-1	46(57)	21(58)	25(56)	0,55
	2	14(17)	4(11)	10(22)	
	3	13(16)	6(17)	7(16)	
	4-5	8(10)	5(14)	3(6)	
LDH düzeyi	< N	39(48)	19(53)	20(44)	0,45
	> N	42(52)	17(47)	25(56)	
KT grubu	R-CHOP	50(62)	25(69)	25(56)	0,20
	CHOP	31(38)	11(31)	20(44)	
	benzeri				

grubundaki hastaların 21'i (%46) erkekti (p=0,76). Hastalar yaş açısından < 60 yaş (genç), ≥ 60 yaş (yaşlı) iki gruba ayrıldı. GCB alt grubundaki hastaların %47'si genç iken ABC alt grubundaki hastaların %62'si gençti, fakat istatistiksel olarak anlamlı değildi (p=0,17). Sonuçta alt gruplar arasında hasta özellikleri açısından anlamlı bir fark bulunmadı. Hastaların immunohistokimyasal alt tiplere göre genel özellikleri Tablo 13'te verilmiştir.

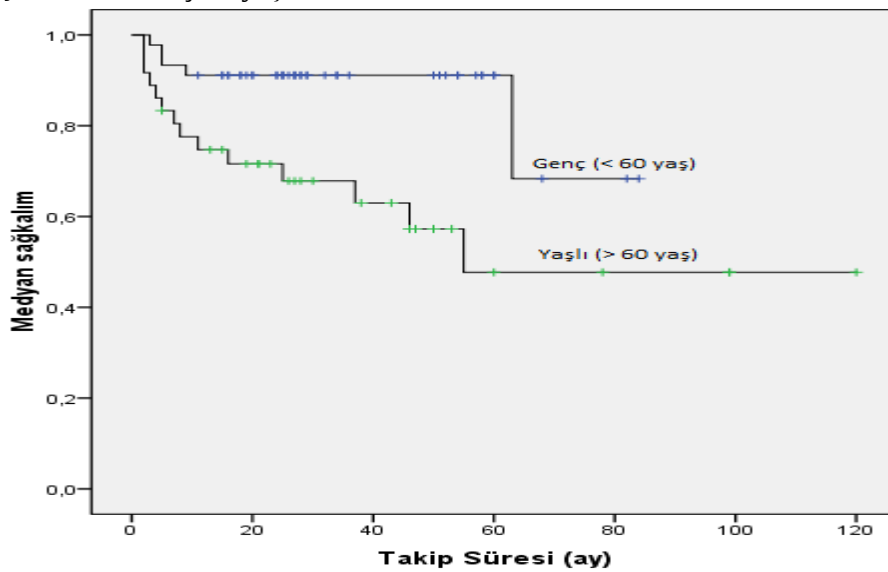
Hastaların aldıkları tedaviye yanıtları R-CHOP grubunda CHOP grubuna göre daha yüksekti fakat istatistiksel olarak anlamlı bir seviyeye ulaşmamıştı (sırasıyla %86'ya %77,4) (p:0,43)

Hastalarımızda medyan takip süresi 27 ± 24.08 ay olarak bulundu. Çalışmamızda hastalar median OS ve PFS sürelerine ulaşmamıştır. Sağkalım analizinde tek tek markerlar ve altgruplar arasında OS ve PFS açısından anlamlı bir farklılık bulunmadı. Genç hastalarda yaşlı hastalara göre OS ve PFS süreleri istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha yüksek bulunmuştur ($p=0,006$ vs $p=0,004$) (Şekil 4a, b). IPI risk skorlamasına göre düşük riskli hastalarda OS ve PFS süreleri daha yüksek bulundu ($p=0,005$ vs $p=0,006$) (Şekil 5a, b). Ayrıca yanıt değerlendirmesinde iyi yanıt veren (CR) hastalarda OS ve PFS süreleri anlamlı olarak daha uzundur ($p<0,001$) (Tablo 14).

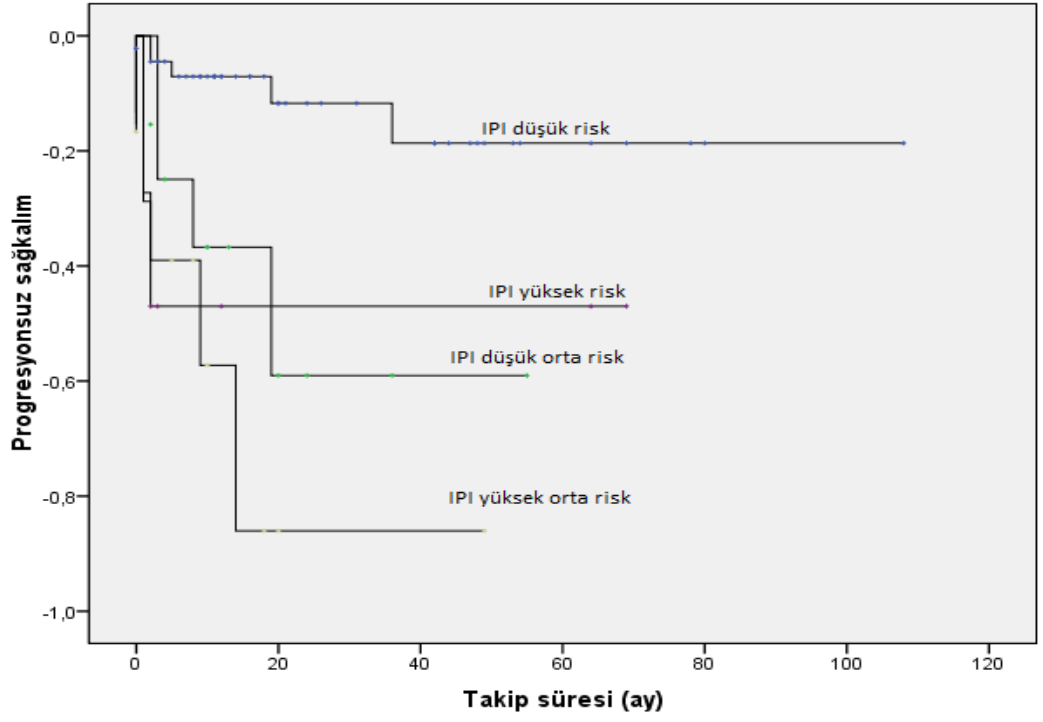
Şekil 4a: Genç ve yaşlı hastalarda PFS süreleri



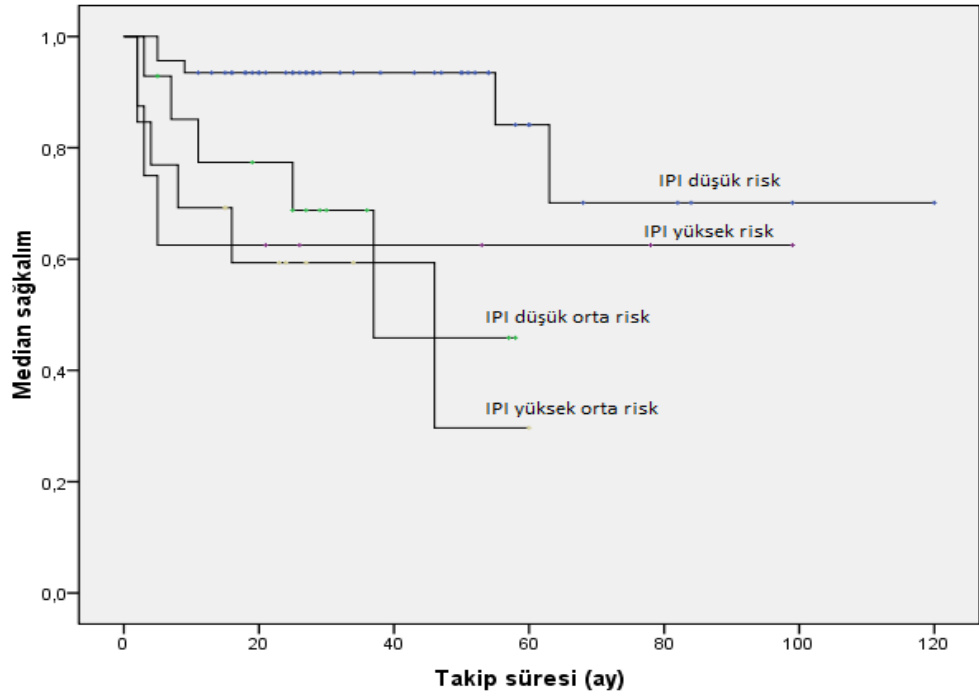
Şekil 4b: Genç ve yaşlı hastalarda OS süreleri.



Şekil 5a: IPI risk gruplarına göre hastalarda OS süreleri



Şekil 5b: IPI risk gruplarına göre hastalarda OS süreleri



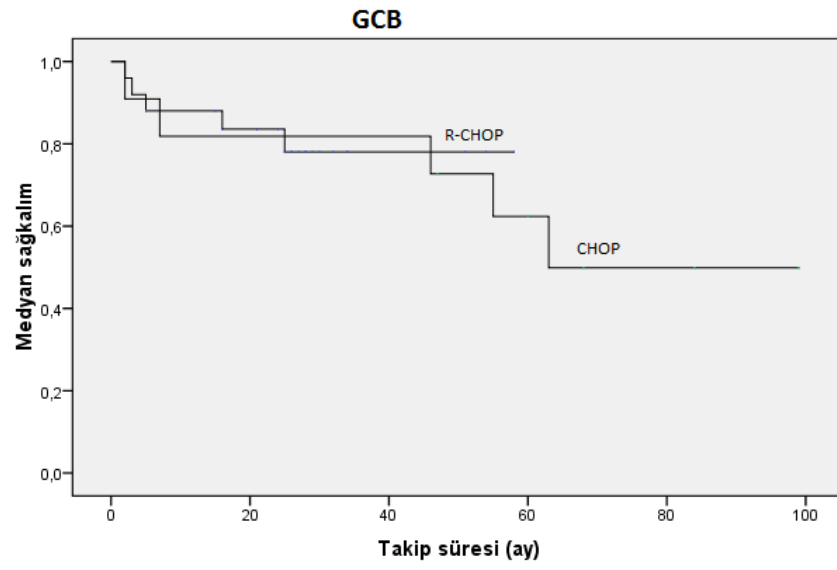
Tablo 13: Altgruplar ve genel hasta özelliklerinin OS ve PFS üzerine etkisi

		Sayı (n)	5 yıllık OS(%)	p	3 yıllık PFS(%)	p
Yaş	<60	45(56)	91	0,006	85	0,004
	>60	36(44)	47		51	
Evre	1	14(17)	61	0,34	77	0,32
	2	36(44)	79		74	
	3	19(24)	53		50	
	4	12(15)	75		75	
IPI risk grubu	0-1	46(57)	84	0,005	83	0,006
	2	14(17)	45		55	
	3	13(16)	29		42	
	4-5	8(10)	62		62	
LDH	<N	39(48)	45	0,25	70	0,18
	>N	42(52)	68		69	
EN tutulum	Yok	29(36)	69	0,45	63	0,30
	Var	52(64)	65		72	
KT grubu	RCHOP	50(62)	73	0,60	76	0,39
	CHOP	31(38)	67		64	
Yanıt	D*	2(2)	0	<0,001	0	<0,001
	CR	67(84)	79		79	
	PR	6(7)	33		25	
	SD	2(2)	50		50	
	PD	4(5)	25		25	
CD10	(-)	50(62)	74	0,43	77	0,39
	(+)	31(38)	65		57	
bcl-6	(-)	28(35)	62	0,20	67	0,15
	(+)	53(65)	74		72	
MUM-1	(-)	34(42)	62	0,43	59	0,37
	(+)	47(58)	77		79	
bcl-2	(-)	28(35)	58	0,46	67	0,42
	(+)	53(65)	72		68	
GCB grubu		36(44)	63	0,55	60	0,51
ABC grubu		45(56)	77		78	

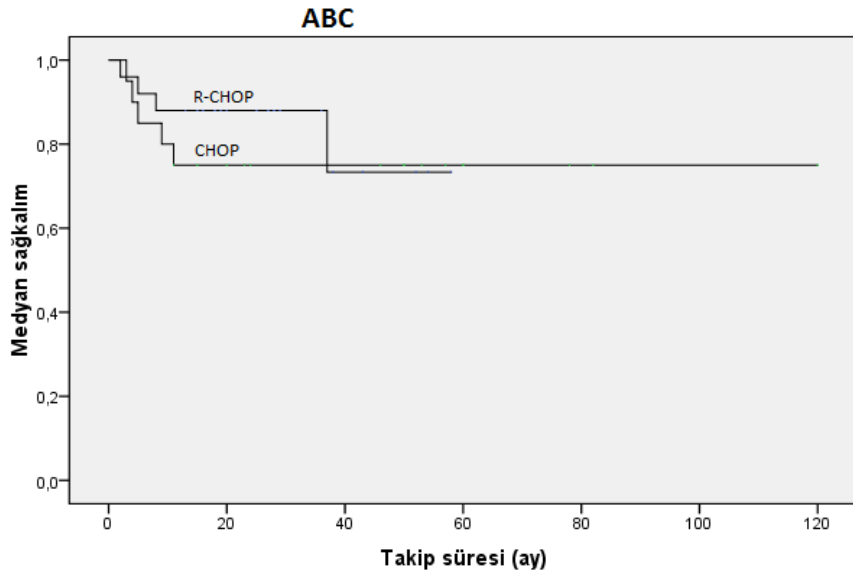
* : Değerlendirilmeyen

GCB grubundaki 36 hastanın 25'i (%69) R-CHOP rejimi alırken 11'i (%31) ise CHOP rejimi almıştı. ABC grubundaki 45 hastanın 25'i (%56) R-CHOP alırken 20'si (%44) ise CHOP rejimi almıştı. GCB grubunda 5 yıllık OS oranı R-CHOP grubunda %78 iken CHOP grubunda ise %49 idi ($p=0,90$). ABC grubunda ise 5 yıllık OS oranı R-CHOP grubunda %73 iken CHOP grubunda ise %75 idi ($p=0,54$) (Şekil 6a,b).

Şekil 6a: GCB alt grubunda KT ile ilişkili OS süreleri (Kaplan-meier eğrisi)

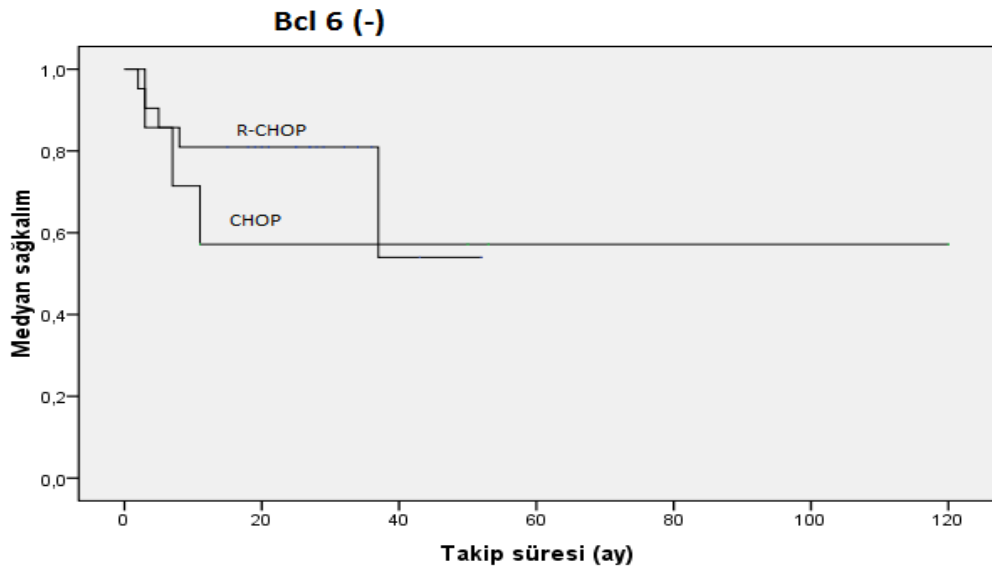


Şekil 6b: ABC alt grubunda KT ile ilişkili OS süreleri (Kaplan-meier eğrisi)

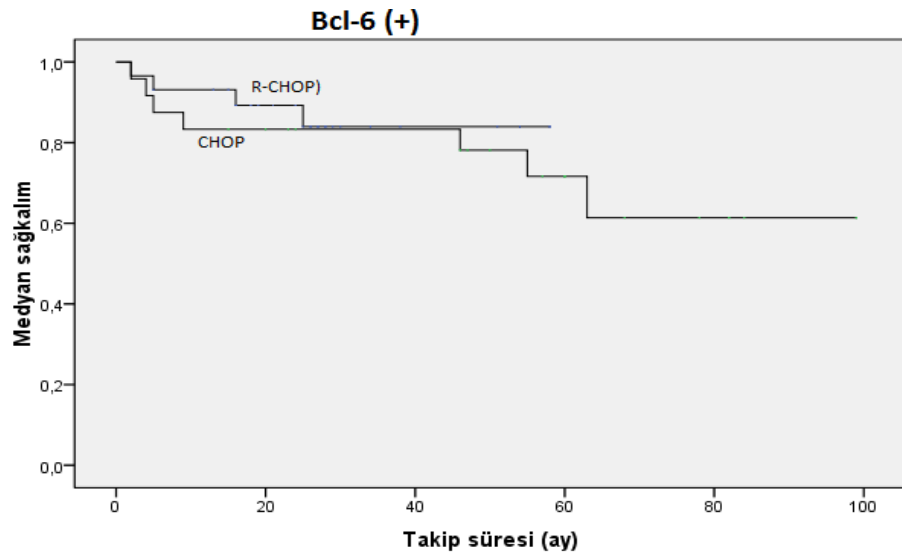


Bcl-6 (-) 28 hastanın 21'i (%75) R-CHOP rejimi alırken 7'si (%25) CHOP rejimi almıştı. Bcl-6 (+) 53 hastanın ise 29'u (%55) R-CHOP rejimi alırken 24'ü (%45) CHOP rejimi almıştı. Bcl-6 (-) hasta grubunda 5 yıllık OS oranı R-CHOP rejimi alan grupta %54 iken CHOP rejimi alan grupta %57 idi ($p=0,51$). Bcl-6 (+) hasta grubunda ise 5 yıllık OS oranı R-CHOP rejimi alan grupta %84 iken CHOP rejimi alan grupta %72 idi ($p=0,60$) (Şekil 7a,b).

Şekil 7a: Bcl-6 negatif hasta grubunda KT ile ilişkili OS süreleri

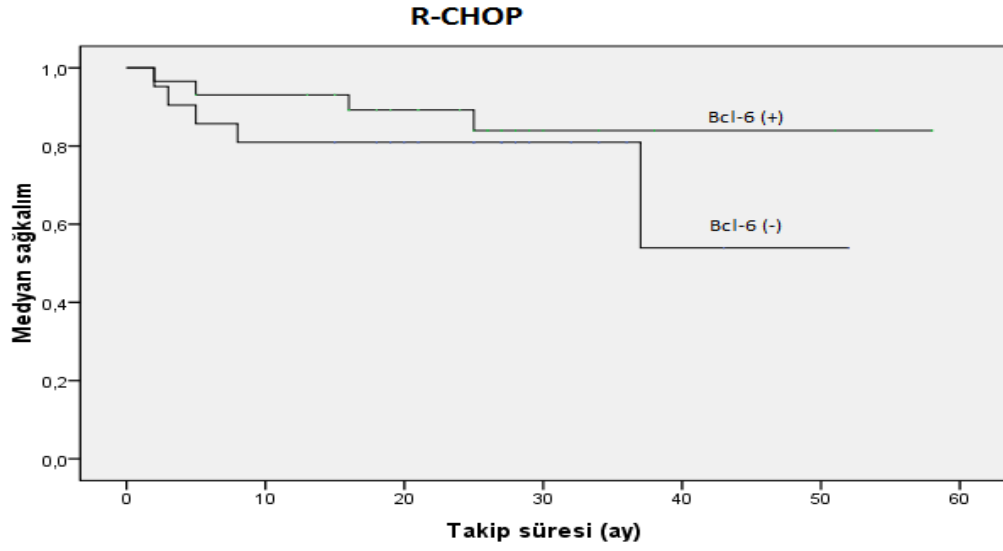


Şekil 7a: Bcl-6 pozitif hasta grubunda KT ile ilişkili OS süreleri

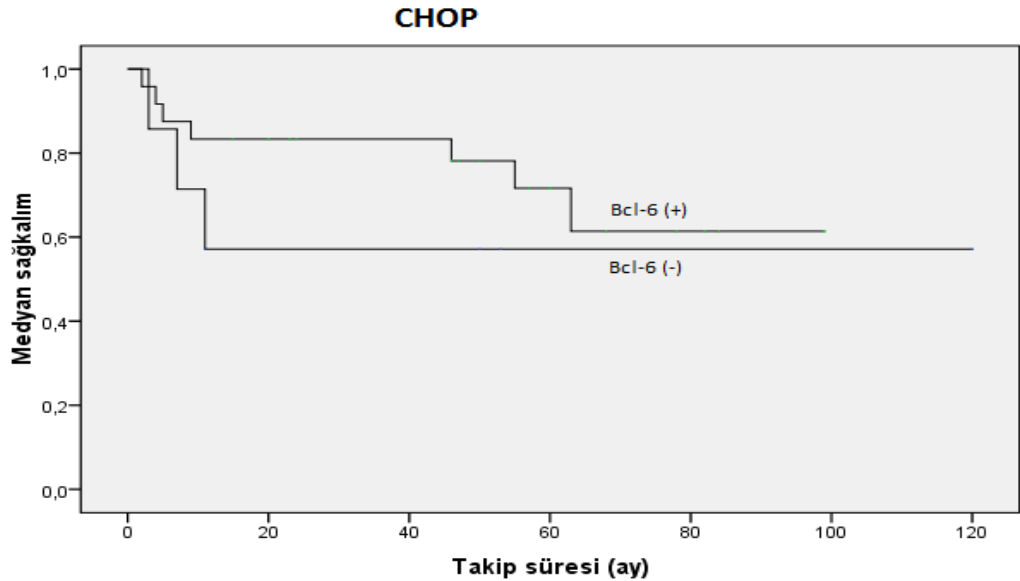


R-CHOP rejimi alan 50 hastanın 21'inde (%42) bcl-6 negatif iken 29'unda (%58) bcl-6 pozitif idi. CHOP rejimi alan 31 hastanın ise 7'sinde (%23) bcl-6 negatif iken 24'ünde bcl-6 pozitif idi. R-CHOP rejimi alan hasta grubunda bcl-6 negatiflerde 5 yıllık OS oranı %54 iken bcl-6 pozitiflerde %84 idi ($p=0,34$). CHOP rejimi alan hasta grubunda ise bcl-6 negatiflerde 5 yıllık OS oranı %57 iken bcl-6 pozitiflerde %71 idi ($p=0,34$) (Şekil 8a,b).

Şekil 8a: R-CHOP rejimi alan hasta grubunda bcl-6 durumuna göre OS süreleri



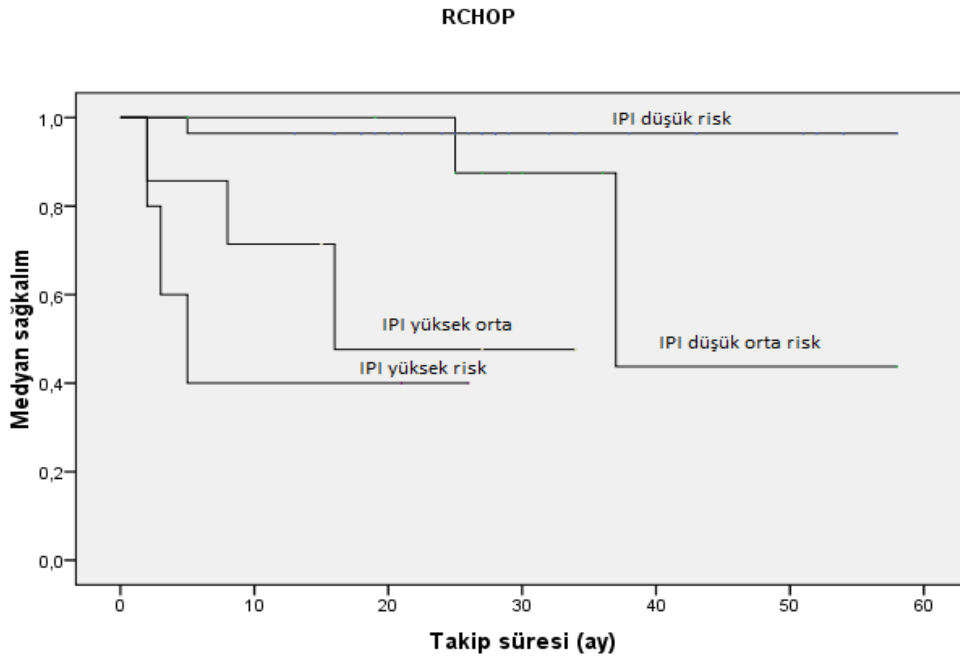
Şekil 8b: CHOP rejimi alan hasta grubunda bcl-6 durumuna göre OS süreleri



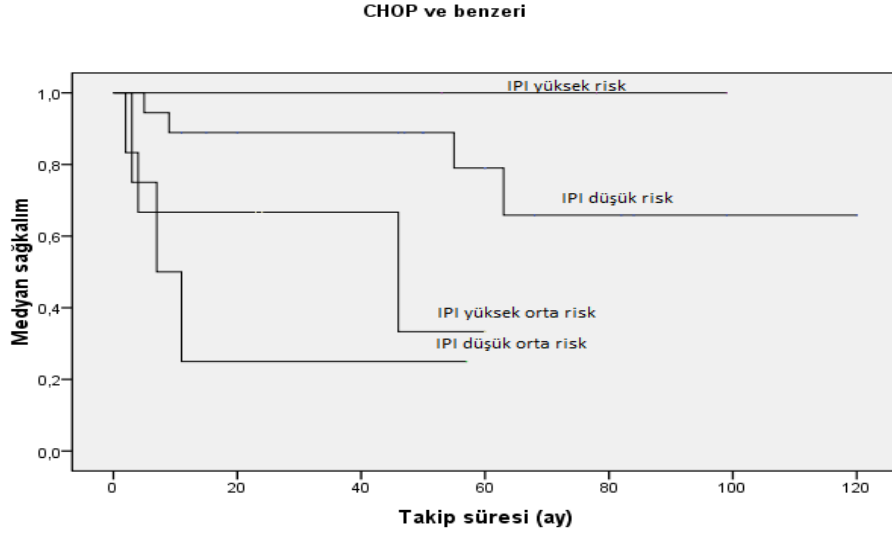
5 yıllık OS ve 3 yıllık PFS oranlarına göre CHOP ve R-CHOP rejimleri karşılaştırıldığında R-CHOP rejimi alan grupta OS ve PFS oranları daha yüksek bulunmuştur fakat istatistiksel olarak anlamlı seviyeye ulaşmamıştır (sırasıyla 5 yıllık OS oranları %76'ya %64) ($p=0,39$).

IPI risk grupları KT rejimlerine göre ayrı ayrı incelendiğinde her iki KT rejiminde (R-CHOP , CHOP) de düşük risk gruplu hastaların anlamlı bir şekilde daha yüksek PFS ve OS süreleri olduğu görüldü (sırasıyla $p<0,001$ ve $p=0.018$) (Şekil 9a,b).

Şekil 9a: IPI risk gruplarına göre hastalarda OS süreleri (R-CHOP rejimi alanlar)



Şekil 9b: IPI risk gruplarına göre hastalarda OS süreleri (CHOP rejimi alanlar)

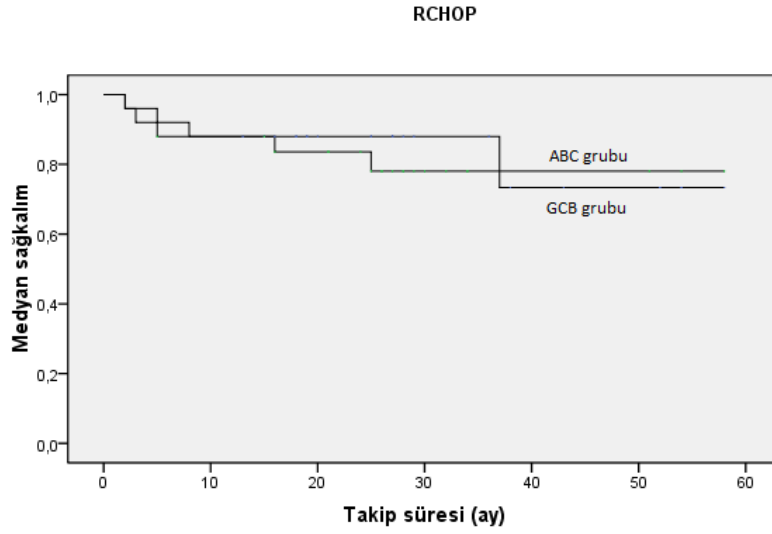


Hastalar aldıkları KT rejimlerine göre analiz edildiğinde KT'ye rituksimab eklenmesi GCB grubunda 5 yıllık OS oranını artırmaktadır fakat bu istatistiksel olarak anlamlı seviyeye ulaşmamaktadır (Tablo14) (Şekil 10a,b).

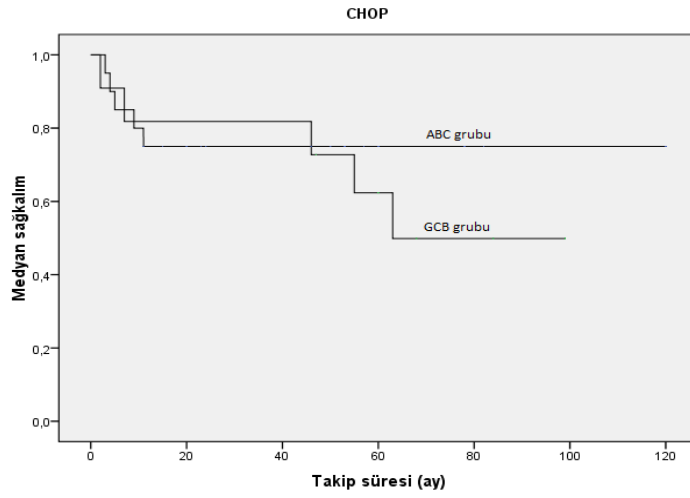
Tablo 14: KT rejimlerine göre alt gruplarda 5 yıllık OS oranları

		5 yıllık OS(%)	p
R-CHOP	GCB	78	0,64
	ABC	73	
CHOP	GCB	62	0,55
	ABC	75	

Şekil 7a: KT rejimlerine göre alt gruplarda 5 yıllık OS süreleri (R-CHOP)



Şekil 7b: KT rejimlerine göre alt gruplarda 5 yıllık OS süreleri (CHOP)



Patolojik çalışma sonucu elde edilen marker değerleri birbirleri arasında korelasyon açısından değerlendirildiğinde sadece CD10 ile MUM1 arasında pozitif yönde , bcl-6 ile MUM-1 arasında da negatif yönde bir korelasyon olduğu görüldü (Tablo 16).

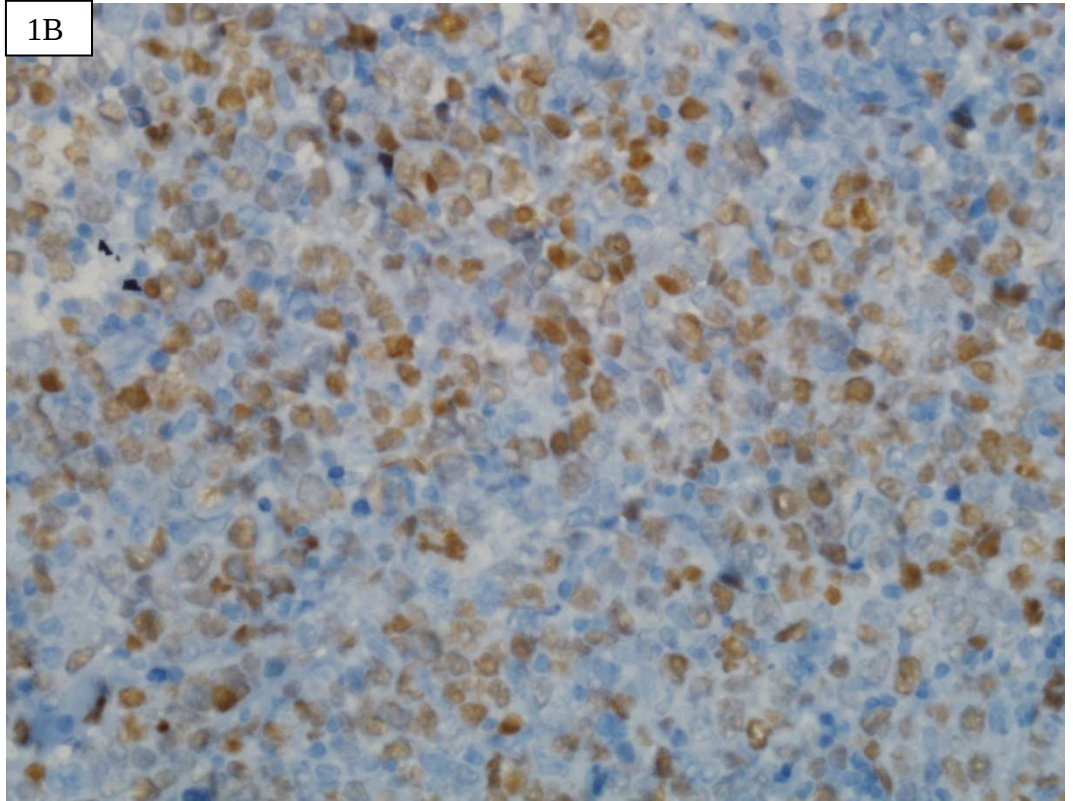
Tablo 15: CD10, MUM1, bcl-6 ve bcl-2 değerleri arasındaki korelasyon

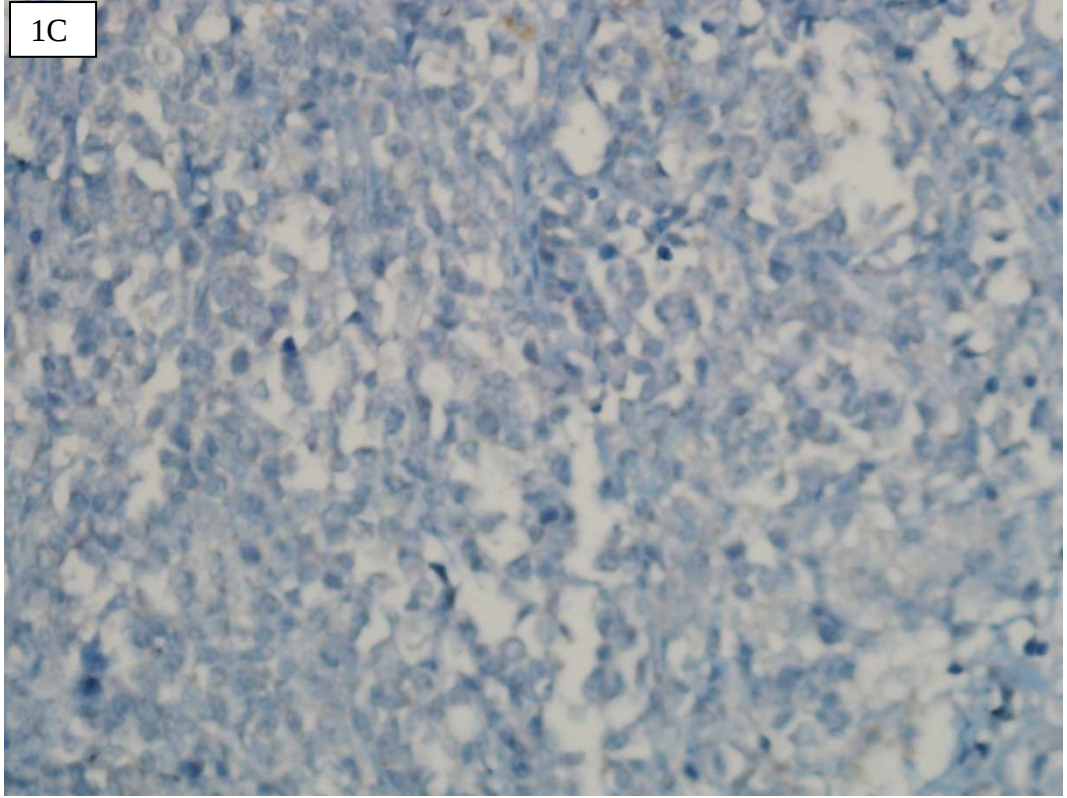
	P değeri	Korelasyon katsayısı (= r)
CD10/bcl-6	0,076	,198
CD10/MUM-1	< 0,001	-,823
CD10/bcl-2	0,543	-,069
bcl-6/MUM-1	0,006	-,303
bcl-6/bcl-2	0,416	-,092
MUM-1/bcl-2	0,729	-.040

Hastaların klinik özellikleri kendi aralarında değerlendirildiğinde IPI skorunun hasta yaşı ($p<0,001$, $r = ,396$), performans durumu ($p<0,001$, $r = ,614$), LDH düzeyi ($p<0,001$, $r = 0,543$), evre ($p<0,001$, $r = ,727$) ve hastaların son durumları (exitus, hayatta) ($p = 0,005$, $r = ,308$) ile pozitif yönde ve anlamlı derecede korele olduğu görülmüştür. Ayrıca LDH düzeyinin evre ($p<0,001$, $r= ,396$), B semptomları varlığı ($p = 0,005$, $r= ,308$) ile pozitif yönde anlamlı derecede korele olduğu saptandı.

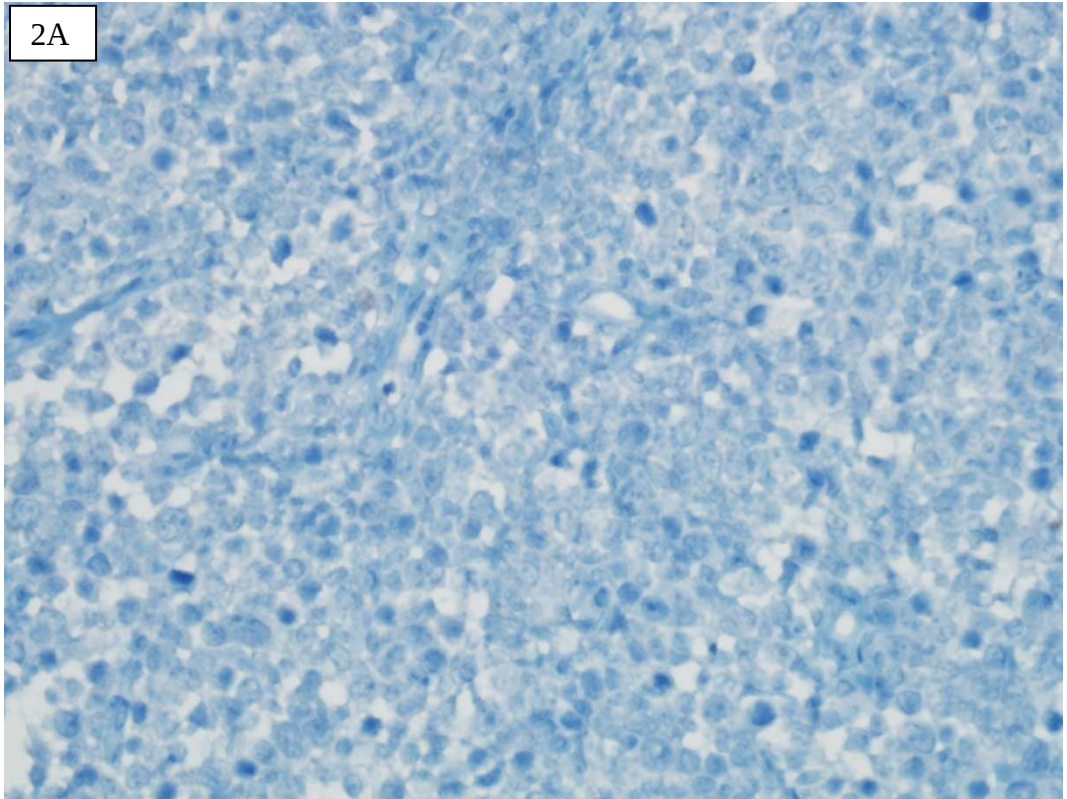
İmmunohistokimyasal boyanma resimleri aşağıda verilmiştir.

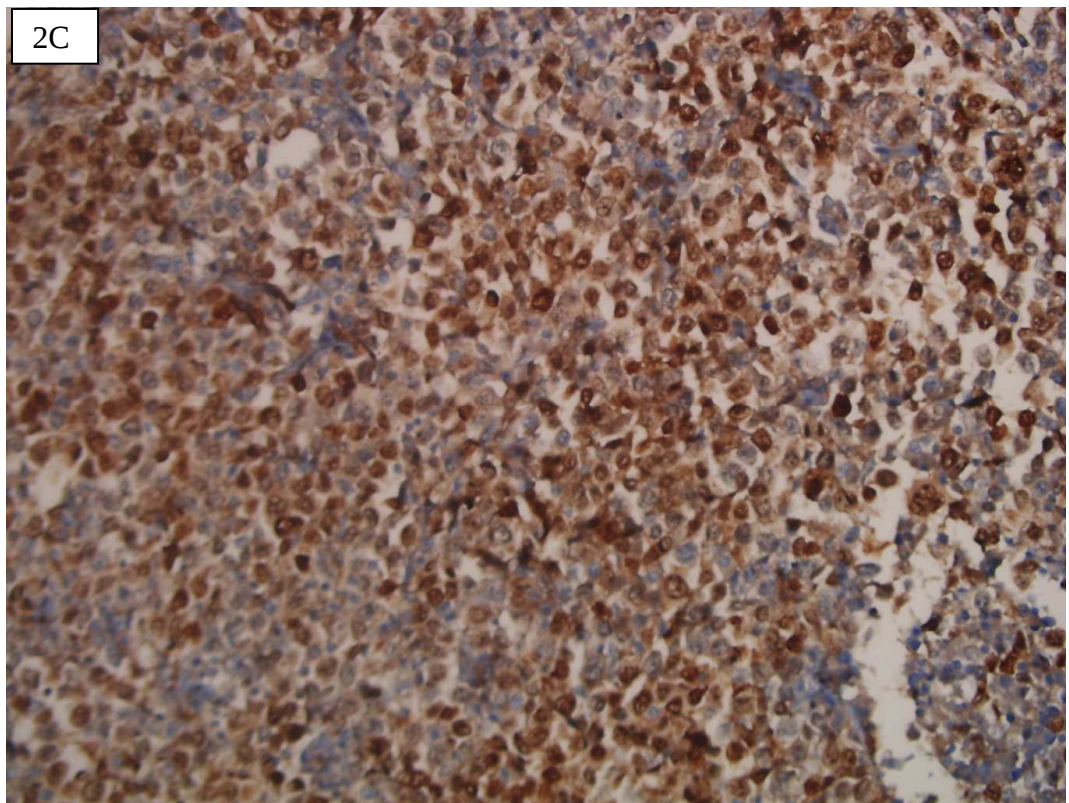
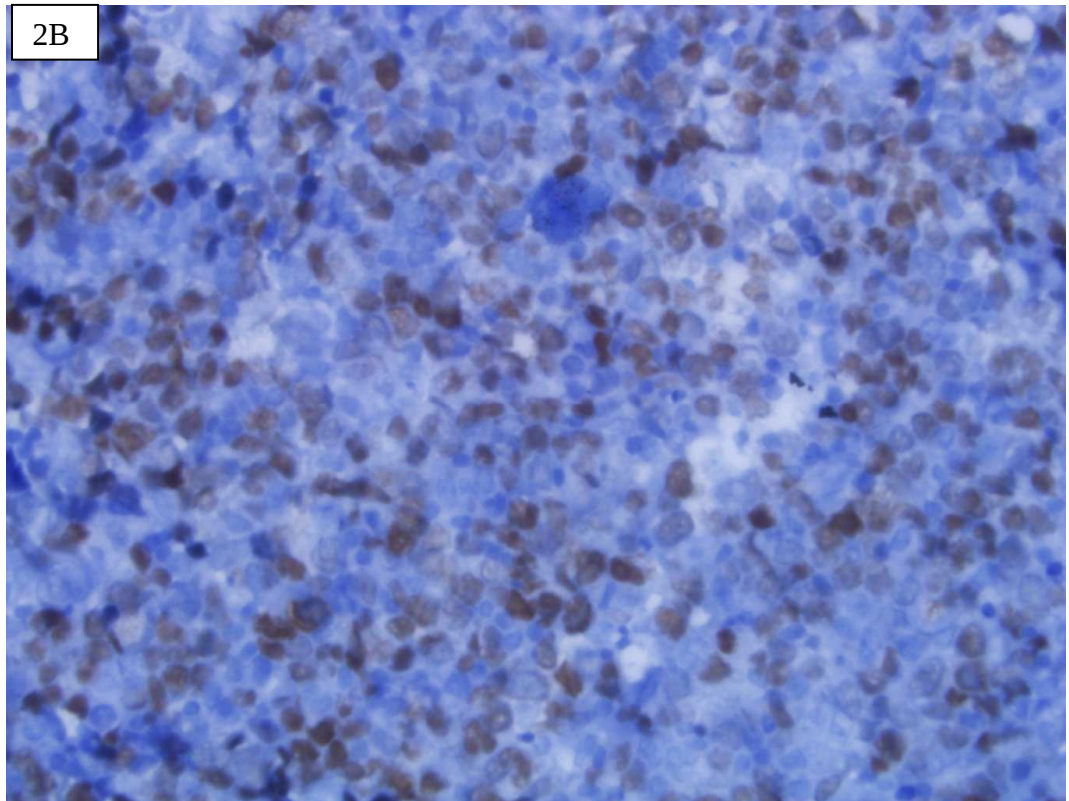
Resim 1: GCB fenotip DBHL: Neoplastik lenfoid hücrelerde a) CD10 pozitif, b) Bcl-6 pozitif, Mum-1 negatiftir (x400)



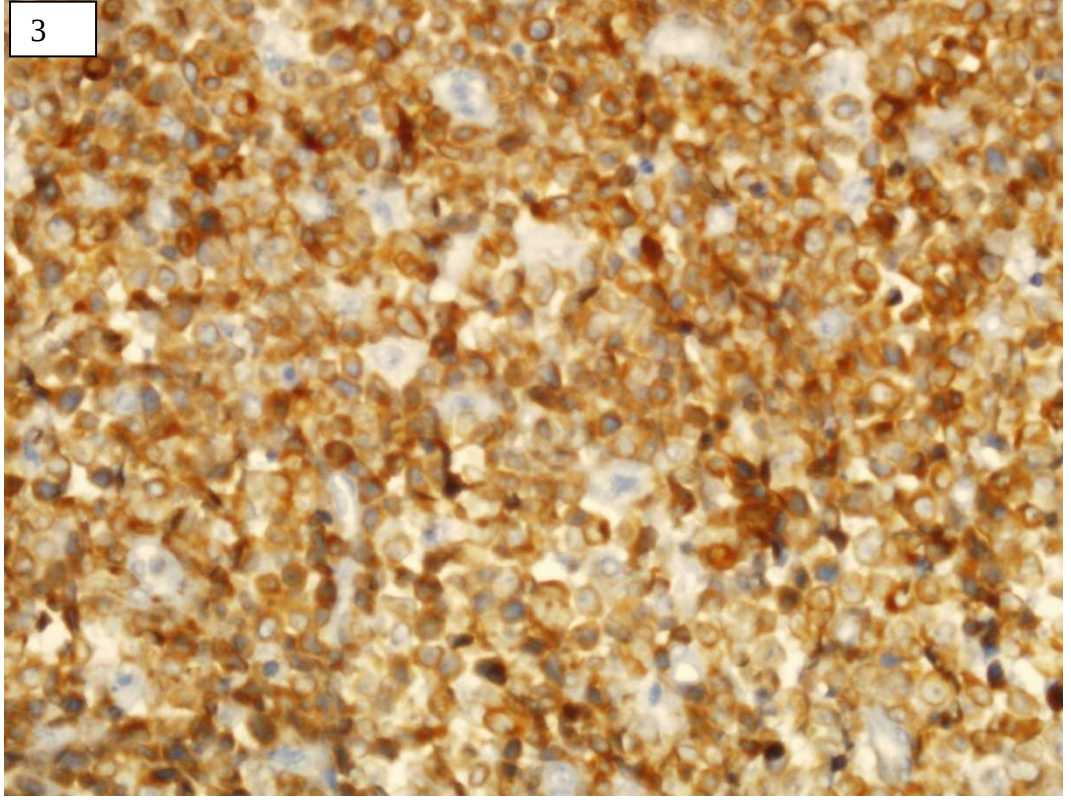


Resim 2: Non-GC fenotip DBBHL: Neoplastik lenfoid hücrelerde a) CD10 negatif, b) Bcl-6 pozitif, Mum-1 pozitifdir (x400)





Resim 3: DBBHL hücrelerinde Bcl-2 ekspresyonu (x400).



5.TARTIŞMA

DBBHL heterojen bir hastalık grubu olup çok farklı morfolojik, sitogenetik, immunolojik ve klinik özelliklere sahiptir ¹⁷. Bu hastalığın heterojenitesini anlamak ve bunun klinik yansımalarını değerlendirmek için çalışmalar yapılmıştır. WHO sınıflamasında DBBHL morfolojik olarak alt gruplara ayrılmıştır ¹⁷. Birçok çalışma ile DBBHL'lı hastalarda genetik ve biyolojik markerlar tanımlanmış ve bu markerların kliniğe yansımaları belirlenmeye çalışılmıştır. Daha sonra yapılan çalışmalarda ise DBBHL'lı hastaların gen ekspresyon profilleri çıkarılarak iki alt gruba ayrılmıştır ^{68,69}. Bu alt grupların belirlemesi için gerekli genetik çalışmalar uzun sürmekte, taze örnekleri gerektirmekte ve daha pahalı olmaktadır ⁷⁰. Bu nedenle immunohistokimyasal markerlar ile çeşitli gruplarca bu genetik profili yansıtmaya yönelik algoritmalar oluşturulmaya çalışılmıştır ^{6,72}. Biz yaptığımız bu çalışmada Hans ve grubunun oluşturduğu bu algoritmayı kullanarak hastalarımızı alt gruplara ayırdık ve gruplar arasında sağkalım farklılığı olup olmadığını ve bunun klinikteki kullanım alanlarını araştırdık.

Çalışmamıza alınan hastaların ortalama yaşları 57 idi. R-CHOP rejimi alan hastaların %62'si genç (<60 yaş) yaş hastalardan oluşurken CHOP rejimi alan hastaların %45'i genç hastalardan oluşmaktadır. Hastalarımızın ortalama OS süreleri 33,4 aydır. Genç hastalarda OS süresi 43,3 ay olup yaşlı hastalarda 38 aydır fakat bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildir (p=0,3). Hastaların son takip zamanında 62 hasta hayatta iken 19 hasta exitus olmuştur. Çalışmamızda medyan PFS ve OS sürelerine henüz erişilememiştir.

IPI agresif NHL'da klinik verileri kullanarak prognozu belirlemede kullanılmaktadır ³¹. Rituksimab öncesi dönemde IPI'nin en önemli en önemli

klirik prognostik gösterge olduğu bilinmekteydi. IPI'nin rituksimab sonrası dönemde de üç çalışmanın birlikte değerlendirildiği bir metaanalizde EFS, PFS ve OS oranlarını öngörmede etkili olduğu gösterilmiştir ³³. Bizim  alışmamızda da IPI risk skorlamasına göre düşük risk grubundaki hastaların OS ve PFS oranlarını daha yüksek olduğu gösterildi (sırasıyla p=0,005 ve p=0,006). Hastalar KT rejimlerine göre ayrı ayrı incelendiğinde de IPI'si düşük olan hastaların her iki KT rejiminde de daha yüksek sağkalım oranlarına sahip oldukları gözlendi. Hastalarımızda IPI skoru yükseldikçe splenik tutulum oranları ve B semptomları oranı yükselmektedir bu sonuç literatür ile uyumludur.

Bcl-2 antiapoptotik bir protein olup programlı hücre ölümünün regülasyonunu sağlar. Bcl-2 gen amplifikasyonu sonucu DBBHL'lı hastalarda %47 ile %58 oranında aşırı üretimi görülür. Birçok çalışmada bcl-2 düzeyi artışı ile OS ve DFS sürelerinin anlamlı olarak kısaldığı gösterilmiştir ^{50,90}. Yapılan bir çalışmada hastaların %71'inde bcl-2 pozitif saptanmış ve bu hastalarda 5 yıllık sağkalım negatif olanlara göre anlamlı derecede düşük saptanmıştır (p = 0,001) ⁵. Berglund ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada ise hastaların %55'inde bcl-2 pozitif bulunmuş, pozitif olanlarda anlamlı bir şekilde daha düşük toplam sağkalım oranları tesbit edilmiştir (p<0,001) ¹.

Iqbal ve arkadaşlarınca yapılan çalışmada toplam 240 hastanın 138'inde bcl-2 immunhistokimyasal boyamaları varmış ve bu hastaların 57'si GCB 44'si ABC grubu olarak ayrılmış. Bu çalışmada sadece ABC alt grubunda bcl-2 düzeyi yüksekliliği ile ilişkili sağkalım farklılığı izlenmiştir. Bcl-2 ekspresyonu fazla olan ABC grubundaki hastalarda toplam sağkalım anlamlı şekilde daha düşük izlenmiştir (p = 0,008). Bu anlamlılık cutoff seviyeleri %10 ve %50 alınsa bile

devam etmektedir, fakat GCB grubunda ise bcl-2 düzeyi ile sağkalım arasında herhangi anlamlı bir ilişki izlenmemiştir ($p=0,09$)⁹¹.

Seki ve arkadaşlarınca yapılan büyük ölçekli bir çalışmada toplam 730 hasta değerlendirilmiş ve bu hastalardan 451'i CHOP rejimi alırken 279'u R-CHOP rejimi almıştır. Bcl-2 CHOP rejimi alan hastalarda %40,3 R-CHOP rejimi alan hastalarda %44,1 oranında pozitif bulunmuştur. CHOP rejimi alan hastalardan bcl-2 negatif olanlarda 3 yıllık OS %65,4 iken pozitif olanlarda %59,6'dır. R-CHOP rejimi alan hastalarda ise bcl-2 negatif olanlarda 3 yıllık OS %55,9 iken pozitif olanlarda %44,1'dir. CHOP rejimi alan hastalarda bcl-2 pozitifliği anlamlı olarak sağkalımı negatif yönde etkilerken ($p=0,001$) R-CHOP rejimi alan hastalarda istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamamıştır ($p=0,544$). Hans ve grubunca yapılan çalışmada ise hastaların %50'sinde bcl-2 pozitif olarak saptanmış ve bcl-2 pozitif grupta 5 yıllık OS %50 iken bcl-2 negatif grupta %54 olarak saptanmış ($p=0,17$)⁴.

Bizim çalışmamızda hastaların %65,2'sinde bcl-2 pozitif olarak saptanmıştır. KT rejimi ve immunohistokimyasal alt gruplar (ABC, GCB) açısından da değerlendirildiğinde gruplar arasında anlamlı bir farklılık bulunmadı. Bcl-2 pozitifliği ile OS ve PFS oranları açısından anlamlı bir farklılık saptanmadı (sırasıyla $p=0,46$ ve $p=0,42$). KT rejimleri ve immunohistokimyasal alt gruplar (ABC, GCB) açısından da OS ve PFS oranları açısından anlamlı bir fark yoktu. Bunun sebebi hastalarımızda medyan sağkalım süresine ulaşamaması, hasta grubumuzun küçük olması olabilir.

DBBHL hastalarında immunohistokimyasal markerlar ile yapılan risk değerlendirmesi çalışmaları 1990'lı yıllarda başlamıştır. Tek tek markerlara bağlı risk değerlendirmesinin genetik profili iyi yansıtmadığı görüldüğü için birkaç

marker birlikte kullanılmıştır. Hans ve Muris tarafından iki algoritma oluşturulmuştur. Hans'ın algoritmasında CD10, bcl-6 ve MUM1 markerları kullanılırken, Muris'in algoritmasında CD10, bcl-2 ve MUM1 kullanılmaktadır^{6,73}. Bu algoritmalarından Hans ve grubunca oluşturulan algoritma daha geniş bir kullanım alanı bulmuştur.

Hans ve grubunca yapılan çalışmaya 6 merkezden toplam 152 hasta alınmıştır. Hastaların 142'sinin daha önce cDNA ve oligonukleotid mikroarrayleri ile yapılmış genetik profil çalışması da bulunmaktadır. Bu çalışmada cDNA ve oligonukleotid mikroarrayleri ile tip 3 olarak tesbit edilen alt grup heterojen davranış gösterdiği ve ABC (non-GCB) grubu ile benzerlikleri olduğu için ABC grubu içinde sayılmış ve sonuçta tüm hastalar ABC ve GCB olarak iki gruba ayrılmıştır. Bu hastaların 88'i (%58) ABC grubunda , 64'ü (%42) ise GCB grubunda bulunmaktadır . GCB grubundaki hastaların 5 yıllık OS oranı %76 iken ABC grubundaki hastaların 5 yıllık OS oranı %34 olarak bulunmuş ($p<0,001$) ayrıca GCB grubundaki hastaların 5 yıllık EFS oranı %63 iken ABC grubundaki hastalarda bu oran %36 olarak saptanmıştır ($p<0,001$). Çalışmaya alınan hastaların hepsinde antrasiklin temelli rejimler kullanılmış. Ancak bu çalışmada rituksimab içeren rejimi alan hasta bulunmamaktadır⁶.

Sjö ve grubunca yapılan çalışmaya 108 hasta alınmış, Hans ve grubunca oluşturulan algoritma kullanılarak hastalar alt gruplara ayrılmış. Hastalardan %50'si GCB , %50'si ABC grubu olarak ayrılmış. GCB grubundaki hastalarda 5 yıllık OS %43 iken ABC grubundaki hastalarda ise %26 olarak tesbit edilmiş ($p=0,001$). Ancak bu hasta grubunda da sadece 6 hasta rituksimab içeren KT rejimi almış ve KT rejimi için ayrı bir alt grup analizi yapılmamış⁵.

Fu ve grubunca yapılan bir çalışmaya toplam 243 hasta alınmış ve 131 hasta rituksimab içeren KT rejimi alırken 112 hasta CHOP rejimi almış. CHOP rejimi alan hasta grubu kontrol grubu olarak değerlendirilmiş. Median takip süresi 3,8 yıl olup çalışmanın analizi zamanında hastaların %40'ı exitus olmuş. GCB ve ABC altgrubunda bulunan hastalarda 3 yıllık OS oranı rituksimab içeren rejimi alan hastalarda kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuş (sırasıyla %85'e %52 $p<0,001$, %69'a %33 $p<0,001$). Rituksimab içeren rejim her iki alt grupta da OS oranını anlamlı şekilde yükseltmektedir. Sadece rituksimab içeren rejimi alan hastalarda yapılan değerlendirmede ise GCB altgrubundaki hastalarda 3 yıllık OS oranı ABC altgrubundaki hastalara göre anlamlı derecede yüksek bulunmuş (%85'e %69 $p=0,032$)⁹².

Bizim çalışmamızda da GCB grubundaki hastalarda 5 yıllık OS R-CHOP alan hastalarda %78 iken CHOP alan hastalarda %62 bulundu. Fakat istatistiksel olarak anlamlı seviyeye ulaşmamıştır. Bunun sebepleri hastalarımızın medyan sağkalım süresine erişmemesi ve hasta grubumuzun sayısının az olması olabilir.

Nyman ve arkadaşlarınca yapılan bir çalışmaya toplam 194 hasta alınmış. 104 hastaya daha önce CHOP ve benzeri rejimi verilmiş ve bu grup kontrol grubu olarak değerlendirilmiş. 90 hastaya ise rituksimab içeren rejimi verilmiş. Rituksimab içeren rejim alan hastaların 50'si (%56) GCB grubunda iken 40'ı (%44) ABC grubundaymış. Kontrol grubunda ise hastaların 47'si (%45) GCB grubunda iken 57'si (%55) ABC grubunda imiş. Kontrol grubundaki hastalardan GCB altgrubundakilerin OS'ı anlamlı derecede daha yüksek (%70) bulunurken ABC altgrubundakilerin OS'ı ise düşük (%47) bulunmuş ($p=0,012$). Ancak rituksimab içeren rejimi alan çalışma grubundaki hastalarda GCB altgrubundaki hastalarda OS %77 bulunurken ABC grubundaki hastalarda OS %76 ($p=0,93$)

olarak bulunmuş. Bu çalışmanın sonuçlarına göre ABC ve GCB grubundaki sağkalım farkı rituksimab içeren KT rejimi alan hastalarda kaybolmaktadır⁹³.

Seki ve arkadaşlarınca yapılan çalışmada hastaların 333'ü (%45,6) GCB grubunda iken 427'si (%54,4) ABC grubundaymış. CHOP rejimi alan hasta grubunda 3 yıllık OS oranı GCB altgrubunda ABC altgrubuna göre anlamlı derecede daha yüksek bulunmuş (sırasıyla %66,8'e %59,9 p=0,05). R-CHOP alan grupta ise 3 yıllık OS oranı açısından gruplar arasında anlamlı bir farklılık saptanmamış (%68'e %67 p=0,756). Bu çalışmada çok değişkenli analizde R-CHOP rejimi alan hasta grubunda sadece bcl-6'nın diğer klinik faktörlerden bağımsız prognostik bir faktör olduğu bulunmuş (HR=2,173 p=0,022)⁴.

Çalışmamızdaki hastalar Hans ve grubunun algoritmasına göre altgruplara ayrıldığında ABC grubunda 45 hasta (%55,6), GCB grubunda ise 36 hasta (%44,4) bulunmaktaydı. Bcl-2 ise 53 hastada (%65) pozitif idi. IPI risk grubu ve yanıt değerlendirmesi 5 yıllık OS ve 3 yıllık DFS açısından istatistiksel olarak anlamlı bulundu. İmmunohistokimyasal markerlar, Hans ve grubunca oluşturulan algoritma ile ayrılan GCB ve ABC grupları arasında sağkalım açısından anlamlı bir farklılık bulunamadı. Çalışmamızda bu gruplar arasında anlamlı bir fark bulunamamasının sebepleri arasında hasta grubumuzun küçük olması, medyan sağkalım süresine henüz erişilememesi olabilir. Bunun yanında Hans ve grubunca oluşturulan algoritmanın protein ekspresyonuna bakarak DBBHL'yı ABC veya GCB gruplarına ayırma becerisi kusurlu olabilir, ayrıca gen ekspresyon profili ile karşılaştırıldığında %19,7'lik hatalı bir sınıflandırma oranına sahip olduğu bilinmektedir^{6,69}.

Çalışmamızın retrospektif bir çalışma olması, medyan takip süresine ulaşılamaması ve diğer kısıtlamaları nedeniyle CHOP rejimi alan hastalarda

immunohistokimyasala analiz sonucu elde edilen verilerle sağkalım açısından anlamlı sonuca ulaşılamamış olabilir. Ancak son yıllarda yapılan çalışmalarda rituksimab içeren rejimlerde ABC ve GCB grupları arasında belirgin farklılığın bulunmaması nedeniyle daha yüksek sayıda hasta ve daha uzun süreli takiple prospektif randomize çalışmalar yapılarak rituksimab içeren rejim alan hastalarda sağkalım açısından daha güvenilir markerların belirlenmesine ihtiyaç vardır.

6.KAYNAKLAR

- 1 . Berglund M, Thunberg U, Amini RM, Book M, Roos G, Erlanson M et al. Evaluation of immunophenotype in diffuse large B-cell lymphoma and its impact on prognosis. *Mod Pathol*. 2005 Aug;18(8):1113-20.
2. Poulsen CB, Borup R, Nielsen FC, Borregaard N, Hansen M, Grønbaek K et al. Microarray-based classification of diffuse large B-cell lymphoma. *Eur J Haematol* 2005; 74(6):453-65.
3. Colomo L, López-Guillermo A, Perales M, Rives S, Martínez A, Bosch F, Colomer D, Falini B, Montserrat E, Campo E. Clinical impact of the differentiation profile assessed by immunophenotyping in patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Blood*. 2003 Jan 1;101(1):78-84.
4. 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 Oct;100(10):1842-7.
5. Sjö LD, Poulsen CB, Hansen M, Møller MB, Ralfkiaer E. Profiling of diffuse large B-cell lymphoma by immunohistochemistry: identification of prognostic subgroups. *Eur J Haematol*. 2007 Dec;79(6):501-7.
6. 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 Jan 1;103(1):275-82.
7. American Cancer Society. *Cancer Facts&Figures 2010*. Atlanta: American cancer Society;2010.
8. Clarke CA, Glaser SL. Changing incidence of non-Hodgkin lymphomas in the United States. *Cancer*. 2002;94:2015-23.

9. Ansell SM, Armitage J. Non-Hodgkin lymphoma: diagnosis and treatment. *Mayo Clin Proc.* 2005;80:1087-97.
- 10 . Stolte M, Bayerdörffer E, Morgner A, Alpen B, Wündisch T, Thiede C et al. Helicobacter and gastric MALT lymphoma. *Gut.* 2002;50 Suppl 3:III19-24.
11. Ferreri AJ, Guidoboni M, Ponzoni M, De Conciliis C, Dell'Oro S, Fleischhauer K et al. Evidence for an association between Chlamydia psittaci and ocular adnexal lymphomas. *J Natl Cancer Inst.* 2004;96:586-94.
12. Hermine O, Lefrère F, Bronowicki JP, Mariette X, Jondeau K, Eclache-Saudreau V et al. Regression of splenic lymphoma with villous lymphocytes after treatment of hepatitis C virus infection. *N Engl J Med.* 2002;347:89-94.
13. Evans LS, Hancock BW. Non-Hodgkin lymphoma. *Lancet.* 2003 Jul 12;362:139-46
14. Opelz G, Henderson R. Incidence of non-Hodgkin lymphoma in kidney and heart transplant recipients. *Lancet.* 1993;342:1514-16.
15. Clarke CA, Glaser SL. Epidemiologic trends in HIV-associated lymphomas. *Curr Opin Oncol* 2001;13:354-59.
16. Barista I, Tekuzman G, Firat D, Baltali E, Kansu E, Kars A et al. Non-Hodgkin's lymphomas in Turkey: eighteen years' experience at the Hacettepe University. *Jpn J Cancer Res.* 1994 Dec;85(12):1200-7.
17. Jaffe ES, Harris NL, Stein H, Vardiman JW. Pathology and genetics of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. Lyon: International Agency for Research on Cancer;2001.
18. Swerdlow SH, Campo E, Haris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, Thiele J, Vandiman JW, editors. WHO classification of tumors of the haematopoietic and lymphoid tissues. Lyon:IARC pres, 2008.

19. Özdemirli M. XIII. B hücreli Lenfomalarda morfolojik, immünolojik ve sitogenetik özellikler. TPOG Ulusal Pediatrik Kanser Kongresi, Non-Hodgkin Lenfoma, 2004.
20. Harris NL, Jaffe ES, Stein H, Banks PM, Chan JK, Cleary ML et al. A revised European-American Classification of lymphoid neoplasms: a proposal from the international lymphoma study group. *Blood* 1994;84:1361-92.
21. Stevenson F, Sahota S, Zhu D, Ottensmeier C, Chapman C, Oscier D et al. Insight into the origin and clonal history of B-cell tumors as revealed by analysis of immunoglobulin variable region genes. *Immunol Rev.* 1998 Apr;162:247-59.
22. Knowles D. Immunophenotypic markers useful in the diagnosis and classification of hematopoietic neoplasms. In: Knowles D, editor. *Neoplastic hematopathology*. Philadelphia: Lippincott Williams&Wilkins, 2001;93-226.
23. Piris M, Brown D, Gatter K, Mason D. CD30 expression in non-Hodgkin's lymphoma. *Histopathology* 1990;17:211-18.
24. Burns B, Warnke R, Doggett R, Rouse R. Expression of a T-cell antigen (Leu-1) by B-cell lymphomas. *Am J Pathol* 1983;113:165-71.
25. Lai R, Weiss L, Chang K, Arber D. Frequency of CD43 expression in non-Hodgkin lymphoma. A survey of 742 cases and further characterization of rare CD43+ follicular lymphomas. *Am J Clin Pathol* 1999;111:488-94.
26. Moller, MB, Pedersen, NT, Christensen, BE. Diffuse large B-cell lymphoma: clinical implications of extranodal versus nodal presentation--a population-based study of 1575 cases. *Br J Haematol* 2004;124:51.
27. Hegde U, Filie A, Little RF, Janik JE, Grant N, Steinberg SM et al. High incidence of occult leptomeningeal disease detected by flow cytometry in newly diagnosed aggressive B-cell lymphomas at risk for central nervous system

involvement: the role of flow cytometry versus cytology. *Blood* 2005;105:496-502.

28. Friedberg JW, Chengazi V. PET scans in the staging of lymphoma: current status. *Oncologist* 2003;8:438-47.

29. Carbone PP, Kaplan HS, Musshoff K, Smithers DW, Tubiana M. Report of the Committee on Hodgkin's Disease Staging Classification. *Cancer Res* 1971;31:1860-61.

30. Lister TA, Crowther D, Sutcliffe SB, Glatstein E, Canellos GP, Young RC et al. Report of committee convened to discuss the evaluation and staging of patients with Hodgkin's disease: Costwolds meeting. *J Clin Oncol* 1989;7:1630-36.

31. The International Non-Hodgkin's Lymphoma Prognostic Factors Project. A predictive model for aggressive non-Hodgkin's lymphoma. *N Engl J Med* 1993;329:987-94

32. Dumontet C, Drai J, Bienvenu J, Berard EN, Thieblemont C, Bouafia F et al. Profiles and prognostic values of LDH isoenzymes in patients with non-Hodgkin's lymphoma. *Leukemia* 1999; 13:811-17.

33. Ziepert M, Hasenclever D, Kuhnt E, Glass B, Schmitz N, Pfreundschuh M et al. Standard International Prognostic Index remains a valid predictor of outcome for patients with aggressive CD20+ B-cell lymphoma in the rituximab era. *J Clin Oncol* 2010;28:2373-80.

34. 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.

35. Guppy AE, Tebbutt NC, Norman A, Cunningham D. The role of surveillance CT scans in patients with diffuse large B-cell non-Hodgkin's lymphoma. *Leuk Lymphoma* 2003;44:123-5.

36. Juweid ME, Wiseman GA, Vose JM, Ritchie JM, Menda Y, Wooldridge JE et al. Response assessment of aggressive non-Hodgkin's lymphoma by integrated International Workshop Criteria and fluorine-18-fluorodeoxyglucose positron emission tomography. *J ClinOncol* 2005;23:4652-61.

37. Haioun C, Itti E, Rahmouni A, Brice P, Rain JD, Belhadj K et al. [18F]fluoro-2-deoxy-D-glucose positron emission tomography (FDG-PET) in aggressive lymphoma: an early prognostic tool for predicting patient outcome. *Blood* 2005; 106:1376-81.

38. Spagnolo DV, Ellis DW, Juneja S, Leong AS, Miliauskas J, Norris DL et al. The role of molecular studies in lymphoma diagnosis: a review. *Pathology* 2004;36(1):19–44.

39. Ye BH, Cattoretti G, Shen Q, Zhang J, Hawe N, Leung C et al. The BCL-6 proto-oncogene controls germinal-centre formation and Th2-type inflammation. *Nat Genet* 1997 Jun;16(2):161-70.

40. Ye BH, Lista F, Lo Coco F, Knowles DM, Offit K, Chaganti RS et al. Alterations of a zinc finger-encoding gene, BCL-6, in diffuse large-cell lymphoma. *Science* 1993 Oct 29;262(5134):747-50.

41. Parekh S, Polo JM, Shaknovich R, Juszczynski P, Lev P, Ranuncolo SM et al. BCL6 programs lymphoma cells for survival and differentiation through distinct biochemical mechanisms. *Blood*. 2007;110(6):2067-74.

42. Phan RT, Saito M, Basso K, Niu H, Dalla-Favera R. BCL6 interacts with the transcription factor Miz-1 to suppress the cyclin-dependent kinase inhibitor p21 and cell cycle arrest in germinal center B cells. *Nat Immunol* 2005 Oct;6(10):1054-60.
43. 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 Jun 12;280(5370):1750-2.
44. 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* 1998;95(20):11816-21.
45. 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 Jan 15;95(2):651-9.
46. Lo Coco, F, Ye, B, Lista, F, et al. Rearrangements of the BCL6 gene in diffuse large cell non-Hodgkin's lymphoma. *Blood* 1994;83:1757-59.
47. Dalla-Favera R, Migliazza A, Chang CC, Niu H, Pasqualucci L, Butler M et al. Molecular pathogenesis of B cell malignancy: the role of BCL-6. *Curr Top Microbiol Immunol* 1999; 246:257-63.
48. Koduru PR, Raju K, Vadmal V, Menezes G, Shah S, Susin M et al. Correlation between mutation in P53, p53 expression, cytogenetics, histologic type, and survival in patients with B-cell non-Hodgkin's lymphoma. *Blood* 1997;90:4078-91.
49. Ichikawa A, Kinoshita T, Watanabe T, Kato H, Nagai H, Tsushita K et al. Mutations of the p53 gene as a prognostic factor in aggressive B-cell lymphoma. *N Engl J Med* 1997; 337:529-34.

50. Lossos IS, Morgensztern D. Prognostic biomarkers in diffuse large B-cell lymphoma. *J Clin Oncol*. 2006;24(6):995-1007.
51. Saez A, Sanchez E, Sanchez-Beato M, et al: P27KIP1 is abnormally expressed in diffuse large B-cell lymphomas and is associated with an adverse clinical outcome. *Br J Cancer* 1999; 80:1427-34.
52. Seki R, Okamura T, Koga H, et al: Prognostic significance of the F-box protein Skp2 expression in diffuse large B-cell lymphoma. *Am J Hematol* 2003;73:230-35.
53. Miller TP, Grogan TM, Dahlberg S, et al: Prognostic significance of the Ki-67-associated proliferative antigen in aggressive non-Hodgkin's lymphomas: A prospective Southwest Oncology Group trial. *Blood* 1994;83:1460-66.
54. Jerkeman M, Anderson H, Dictor M, et al: Assessment of biological prognostic factors provides clinically relevant information in patients with diffuse large B-cell lymphoma: A Nordic Lymphoma Group study. *Ann Hematol* 2004;83:414-19
55. Ambrosini G, Adida C, Altieri DC: A novel anti-apoptosis gene, survivin, expressed in cancer and lymphoma. *Nat Med* 1997;3:917-21
56. Watanuki-Miyauchi R, Kojima Y, Tsurumi H, Hara T, Goto N, Kasahara S et al. Expression of survivin and of antigen detected by a novel monoclonal antibody, T332, is associated with outcome of diffuse large B-cell lymphoma and its subtypes. *Pathol Int* 2005;55:324-30.
57. Lossos IS, Alizadeh AA, Rajapaksa R, Tibshirani R, Levy R. HGAL is a novel interleukin-4-inducible gene that strongly predicts survival in diffuse large B-cell lymphoma. *Blood* 2003;101:433-40.

58. Colomo L, López-Guillermo A, Perales M, Rives S, Martínez A, Bosch F et al. Clinical impact of the differentiation profile assessed by immunophenotyping in patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Blood* 2003;101:78-84.
59. Fabiani B, Delmer A, Lepage E, Guettier C, Petrella T, Brière J et al. CD10 expression in diffuse large B-cell lymphomas does not influence survival. *Virchows Arch* 2004;445:545-551.
60. Banham AH, Connors JM, Brown PJ, Cordell JL, Ott G, Sreenivasan G et al. Expression of the FOXP1 transcription factor is strongly associated with inferior survival in patients with diffuse large B-cell Lymphoma. *Clin Cancer Res* 2005;11:1065-72.
61. Ogawa S, Yamaguchi M, Oka K, Taniguchi M, Ito M, Nishii K et al. CD21S antigen expression in tumour cells of diffuse large B-cell lymphomas is an independent prognostic factor indicating better overall survival. *Br J Haematol* 2004;125:180-6.
62. Gualco G, Weiss LM, Harrington WJ Jr, Bacchi CE. Nodal diffuse large B-cell lymphomas in children and adolescents: immunohistochemical expression patterns and c-MYC translocation in relation to clinical outcome. *Am J Surg Pathol* 2009;33:1815–22.
63. Ristamäki R, Joensuu H, Salmi M, Jalkanen S. Serum CD44 in malignant lymphoma: An association with treatment response. *Blood* 1994;84:238-43.
64. Ristamäki R, Joensuu H, Lappalainen K, Teerenhovi L, Jalkanen S. Elevated serum CD44 level is associated with unfavorable outcome in non-Hodgkin's lymphoma. *Blood* 1997;90:4039-45.
65. Terol MJ, López-Guillermo A, Bosch F, Villamor N, Cid MC, Rozman C et al. Expression of the adhesion molecule ICAM-1 in non-Hodgkin's lymphoma:

Relationship with tumor dissemination and prognostic importance. *J Clin Oncol* 1998;16:35-40.

66. Bono P, Teerenhovi L, Joensuu H. Elevated serum endostatin is associated with poor outcome in patients with non-Hodgkin lymphoma. *Cancer* 2003;97:2767-75.

67. Salven P, Orpana A, Teerenhovi L, Joensuu H. Simultaneous elevation in the serum concentrations of the angiogenic growth factors VEGF and bFGF is an independent predictor of poor prognosis in non-Hodgkin lymphoma: A single-institution study of 200 patients. *Blood* 2000;96:3712-18.

68. Sakata K, Satoh M, Someya M, Asanuma H, Nagakura H, Oouchi A et al. Expression of matrix metalloproteinase 9 is a prognostic factor in patients with non-Hodgkin lymphoma. *Cancer* 2004;100:356-65.

69. 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.

70. 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.

71. De Jong D, Xie W, Rosenwald A, Chhanabhai M, Gaulard P, Klapper W et al. Immunohistochemical prognostic markers in diffuse large B-cell lymphoma: validation of tissue microarray as a prerequisite for broad clinical applications--a study from the Lunenburg Lymphoma Biomarker Consortium. *J Clin Oncol*. 2007;25(7):805-12.

72. Lossos IS, Czerwinski DK, Alizadeh AA, Wechser MA, Tibshirani R, Botstein D et al. Prediction of survival in diffuse large-B-cell lymphoma based on the expression of six genes. *N Engl J Med* 2004;350(18):1828–37.
73. Muris JJ, Meijer CJ, Vos W, van Krieken JH, Jiwa NM, Ossenkoppele GJ et al. Immunohistochemical profiling based on Bcl-2, CD10 and MUM1 expression improves risk stratification in patients with primary nodal diffuse large B cell lymphoma. *J Pathol* 2006;208:714–23.
74. Fisher RI, Gaynor ER, Dahlberg S, Oken MM, Grogan TM, Mize EM, et al. Comparison of a standard regimen (CHOP) with three intensive chemotherapy regimens for advanced non-Hodgkin's lymphoma. *N Engl J Med* 1993;328:1002–6.
75. Tilly H, Lepage E, Coiffier B, Blanc M, Herbrecht R, Bosly A, et al. Intensive conventional chemotherapy (ACVBP regimen) compared with standard CHOP for poor-prognosis aggressive non-Hodgkin lymphoma. *Blood* 2003;102:4284-9.
76. Pfreundschuh M, Trümper L, Klöss M, Schmits R, Feller AC, Rudolph C, et al. Two-weekly or 3-weekly CHOP chemotherapy with or without etoposide for the treatment of young patients with good-prognosis (normal LDH) aggressive lymphomas. Results of the NHL-B1 trial of the DSHNHL. *Blood* 2004;104:626-33.
77. Coiffier B, Lepage E, Brière J, Herbrecht R, Tilly H, Bouabdallah R, et al. CHOP chemotherapy plus rituximab compared with CHOP alone in elderly patients with diffuse large-B-cell lymphoma. *N Engl J Med* 2002;346:235-42.
78. Sehn LH, Donaldson J, Chhanabhai M, Fitzgerald C, Gill K, Klasa R, et al. Introduction of combined CHOP plus rituximab therapy dramatically improved

outcome of diffuse large B-cell lymphoma in British Columbia. *J Clin Oncol* 2005;23:5027-33.

79. Pfreundschuh M, Trumper L, Osterborg A, Pettengell R, Trneny M, Imrie K, et al. CHOP-like chemotherapy plus rituximab versus CHOP-like chemotherapy alone in young patients with good-prognosis diffuse large-B-cell lymphoma: a randomised controlled trial by the MabThera International Trial (MInT) Group. *Lancet Oncol*. 2006;5:379–91.

80. Niitsu N. Current treatment strategy of diffuse large B-cell lymphomas. *Int J Hematol* 2010; 92:231–37

81. Miller TP, Dahlberg S, Cassady JR, Adelstein DJ, Spier CM, Grogan TM. Chemotherapy alone compared with chemotherapy plus radiotherapy for localized intermediate- and high-grade non-Hodgkin's lymphoma. *N Engl J Med* 1998;339:21–6.

82. Horning SJ, Weller E, Kim K, Earle JD, O'Connell MJ, Habermann TM et al. Chemotherapy with or without radiotherapy in limited-stage diffuse aggressive non-Hodgkin's lymphoma: Eastern Cooperative Oncology Group study 1484. *J Clin Oncol* 2004;22:3032–8.

83. Bonnet C, Fillet G, Mounier N, Ganem G, Molina TJ, Thie'blemont C, et al. Groupe d'Etude des Lymphomes de l'Adulte. CHOP alone compared with CHOP plus radiotherapy for localized aggressive lymphoma in elderly patients: a study by the Groupe d'Etude des Lymphomes de l'Adulte. *J Clin Oncol* 2007;25:787–92.

84. Persky DO, Unger JM, Spier CM, Stea B, LeBlanc M, McCarty MJ, et al. Phase II study of rituximab plus three cycles of CHOP and involved-field

radiotherapy for patients with limited-stage aggressive B-cell lymphoma: Southwest Oncology Group study 0014. *J Clin Oncol* 2008;26:2258–63.

85. Pfreundschuh M, Schubert J, Ziepert M, Schmits R, Mohren M, Lengfelder E, et al. Six versus eight cycles of bi-weekly CHOP-14 with or without rituximab in elderly patients with aggressive CD20⁺ B-cell lymphomas: a randomised controlled trial (RICOVER-60). *Lancet Onco* 2008;9:105–16.

86. Habermann TM, Weller EA, Morrison VA, Gascoyne RD, Cassileth PA, Cohn JB, et al. Rituximab-CHOP versus CHOP alone or with maintenance rituximab in older patients with diffuse large B-cell lymphoma. *J Clin Oncol* 2006;24:3121–7.

87. Morschhauser F, Illidge T, Huglo D, Martinelli G, Paganelli G, Zinzani PL, et al. Efficacy and safety of yttrium90 ibritumomab tiuxetan in patients with relapsed or refractory diffuse large B-cell lymphoma not appropriate for autologous stem cell transplantation. *Blood* 2007;110:54-8.

88. Hedvat CV, Hegde A, Chaganti RS, Chen B, Qin J, Filippa DA et al. Application of tissue microarray technology to the study of non-Hodgkin's and Hodgkin's lymphoma. *Hum Pathol*. 2002;33:968-74.

89. Natkunam Y, Warnke RA, Montgomery K, Falini B, van De Rijn M. Analysis of MUM1/IRF4 protein expression using tissue microarrays and immunohistochemistry. *Mod Pathol* 2001;14:686-9.

90. 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(6):2133-9.

91. Iqbal J, Neppalli VT, Wright G, Dave BJ, Horsman DE, Rosenwald A et al. BCL2 expression is a prognostic marker for the activated B-cell-like type of diffuse large B-cell lymphoma. *J Clin Oncol*. 2006;24(6):961-8.
92. 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(28):4587-94.
93. Nyman H, Adde M, Karjalainen-Lindsberg ML, Taskinen M, Berglund M, Amini RM et al. Prognostic impact of immunohistochemically defined germinal center phenotype in diffuse large B-cell lymphoma patients treated with immunochemotherapy. *Blood*. 2007 Jun 1;109(11):4930-5

7.ÖZET

Diffüz büyük B hücreli lenfoma (DBBHL) batı toplumlarında en sık görülen lenfoma alt tipidir. Non-Hodgkin lenfomaların (NHL) yaklaşık olarak %30-40'ını oluşturur. DBBHL heterojen klinik, morfolojik, immunolojik ve sitogenetik özellikler içerdiğinden çok değişken klinik seyir ve belirgin biyolojik heterojenite göstermektedir . cDNA ve oligonükleotid microarrayleri kullanarak yapılan çalışmalarda DBBHL önemli biyolojik altgruplara ve prognoz gruplarına ayrılabilir. Bunlar germinal merkez B hücre (GCB), aktive B hücre (ABC) ve tip 3 gen ekspresyon profili tipleridir. Genellikle bu tür çalışmalar daha uzun sürmekte ve taze donmuş örnekleri gerektirmektedir fakat bu örnekler vakaların çok az bir grubunda mevcut durumdadır. Bu nedenle yapılan çalışmalarda CD10, Bcl-6, MUM 1/IRF (MUM1) biyomarkerlarının ekspresyonuna patoloji preparatlarından bakarak GCB ve ABC gruplarını birbirinden ayıran bir algoritma oluşturulmuştur. Bizde çalışmamızda Hans ve grubunun oluşturduğu bu algoritmayı kullanarak hastaların GCB ve ABC olarak altgrup oranlarını belirledik ve hastaların bu altgruplarda rituksimab içeren kemoterapiye yanıt oranlarını inceledik.

Çalışmaya 1997 ile 2009 tarihleri arasında DBBHL tanısı alan toplam 81 (39 erkek ve 42 kadın) hasta alındı. Bu hastaların tanı anındaki patoloji preparatlarına ulaşıldı ve dosyaları retrospektif olarak tarandı. Hastaların patoloji preparatlarından CD10, bcl-6, MUM1 ve bcl-2 markerları immunohistokimyasal yöntemle bakıldı ve %30 ve üzeri boyanma pozitif olarak değerlendirildi. Bu markerlar kullanılarak hastalar gruplandırıldı. Hastaların 36'sı (%44,4) GCB grubunda, 45'i (%55,6) ise ABC grubunda idi. Bcl-2 ise 53 hastada (%65,4) pozitif idi. Hastaların 31'i (%38,3) CHOP ve benzeri, 50'si (%61,7) ise R-CHOP

KT'si aldı. Yapılan sağkalım analizinde IPI risk skoru düşük hastalarda yüksek olanlara göre ($p=0,006$) , genç hastalarda yaşlılara göre ($p=0,004$) ve ilk tedaviye iyi yanıt veren hastalarda kötü yanıt veren hastalara göre ($p<0,001$) 5 yıllık OS oranı anlamlı olarak daha yüksek bulundu. Değerlendirilen markerlar korelasyon açısından karşılaştırıldığında CD10 ile MUM1 arasında pozitif yönde , bcl-6 ile MUM-1 arasında da negatif yönde bir korelasyon olduğu görüldü. Klinik özellikler içinde ise IPI skorunun hasta yaşı, performans durumu, LDH düzeyi, evre ve hastaların son durumları (exitus, hayatta) ile pozitif yönde ve anlamlı derecede korele olduğu görülmüştür. Ayrıca LDH düzeyinin B semptomları pozitif yönde korele olduğu saptandı. Markerlara göre belirlenen gruplar arasında sağkalım açısından anlamlı bir farklılık saptanmadı.

Rituksimab öncesi dönemde immunohistokimyasal markerlara göre belirlenen altgrupların sağkalım farkı oluşturduğu bilinmektedir. Ancak rituksimab sonrası dönemde yapılan çalışmalarda çelişkili sonuçlar bulunmaktadır. Bu nedenle rituksimabın oluşturduğu sağkalım farkı da göz önüne alınarak daha güvenilir markerların belirlenmesine ihtiyaç vardır.

8.SUMMARY

Diffuse large B cell lymphoma (DLBCL) is one most seen subtype of lymphoma in the western world. This encompasses about 30-40% of non-Hodgkin lymphomas (NHL). Because DLBCL contains heterogenous clinic, morphologic, immunologic and cytogenetic properties it shows various clinical course and significant biologic heterogeneity. In the studies which were used cDNA and oligonucleotid microarrays, DLBCL can be divided into significant biologic subgroups and prognostic groups. These are germinal center B cell (GCB), activated B cell (ABC) and type 3 gene expression profile types. Usually these kind of studies are long lasting and they requires fresh frozen plasma samples, but these samples are present in a very limited group of cases. For this reason an algorithm has been established to differentiate GCB and ABC groups from each other by looking to expression of CD10, bcl-6, MUM1/IRF4 (MUM1) biomarkers in pathologic specimens. In present study we determined the GCB and ABC subgroup ratios by the algorithm of Hans et al and we examined the response ratios to rituximab containing chemotherapy in this patient subgroups.

Totally 81 (39 male and 42 female) patients who were diagnosed as DLBCL between 1997 and 2009 were included in the study. The pathology specimens at the time of diagnoses were reached and retrospectively patients' records were examined. At pathologic specimens pf patients CD10, bcl-6, MUM1 and bcl-2 markers were examined by immunohistochemical method and specimens stained by 30% and higher were evaluated as positive. By using these markers patients were divided into groups 36 (44,4%) of patients were in GCB grup, 45 (55,6%) of patienst were in ABC grup. Bcl-2 was positive in 53 (65,4%) of patients. Thirty one (38,3%) of patients received CHOP (cyclophosphamid,

doxorubicine, vincristine, prednisone) like and 50 (61,7%) of patients received rituskimab-CHOP (R-CHOP) as chemotherapy protocol. In the survival analyzes overall survival (OS) for 5 years were significantly higher in international prognostic index (IPI) risk score low patients compared to high patients ($p=0,006$), in young patients compared to older ones ($p=0,004$) and in patients who responded to first treatment session well compared to patients not give good response ($p<0,001$). When the evaluated markers were compared for correlation, there was positive correlation between CD10 and MUM1, there was negative correlation between bcl-6 and MUM1. In the clinical properties the IPI risk score was positively and significantly correlated with the last situation of patients (exitus or alive). Beside this, LDH levels were positively correlated with B symptoms. Between groups that formed according to markers, there was no significant difference by means of survival.

In the era before rituximab, it was known that there was survival difference between subgroups established according to immunohistochemical markers. But in the rituximab era there are conflicting study results. For this reason survival difference caused by rituximab must be also taken into consideration and more reliable markers should be found.

9.ÖZGEÇMİŞ

Adı: Ahmet

Soyadı: Yozgat

Doğum Yeri ve Tarihi: Akdağmadeni / 07.01.1982

Eğitimi: Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı 2010

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi 2006

Yozgat Şehitler Fen Lisesi 2000

Yozgat Anadolu Lisesi 1997

Sorgun Feyzullah Bektaş İlkokulu 1993

Yabancı Dili: İngilizce