



**T.C. SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ OKMEYDANI  
SAĞLIK UYGULAMA VE ARAşTIRMA MERKEZİ**

**TIBBİ PATOLOJİ**

**DİFFÜZ BÜYÜK B HÜCRELİ LENFOMA TANISI ALMIş  
OLGULARDA KROMOJEN İN SİTU HİBDİRİDİZASYON  
YÖNTEMİ İLE EBSTEİN BAR VİRUSUNUN VARLIĞININ  
ARAşTIRILMASI**

**Dr. Aytül BUĞRA**

**Tez Danışmanı: Doç. Dr. Fetin Rüştü YILDIZ**

**TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**İSTANBUL/2017**





**T.C. SAğLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ OKMEYDANI  
SAğLIK UYGULAMA VE ARAşTIRMA MERKEZİ**

**TIBBİ PATOLOJİ**

**DİFFÜZ BÜYÜK B HÜCRELİ LENFOMA TANISI ALMIş  
OLGULARDA KROMOJEN İN SİTU HİBDİRİDİZASYON  
YÖNTEMİ İLE EBSTEİN BAR VİRUSUNUN VARLIğININ  
ARAşTIRILMASI**

**Dr. Aytül BUğRA**

**Tez Danışmanı: Doç. Dr. Fetin Rüştü YILDIZ**

**TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**İSTANBUL/2017**

## TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimleriyle bana yol gösteren hocam Selver Özekinci'ye, tez danışmanım Doç. Dr. Fetin Rüştü Yıldız'a, uzmanlık eğitimimdeki katkılarından dolayı sayın hocam Uzm. Dr. Deniz Özcan'a,

Asistanlık sürem boyunca mesleki gelişimimde emekleri bulunan Uzm. Dr. Çağlar Çakır, Uzm. Dr. İlknur Mansuroğlu, Uzm. Dr. Pınar Özay Nayır, Uzm. Dr. Selma Şengiz Erhan, Uzm. Dr. Servet Şişman, Uzm. Dr. Tamer Aydın, Uzm. Dr. Gülçin Kamalı, Uzm. Dr. Tülay Sayılğan, Uzm. Dr. Rahime Tanrıtanır ve Uzm. Dr. Özben Yalçın'a,

İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Patoloji Ana Bilim Dalı'ndaki rotasyon sürem boyunca tecrübe ve yardımlarını esirgemeyen Prof. Dr. Dilek Yılmazbayhan, Prof. Dr. Pınar Fırat, Doç. Dr. Yasemin Özlük'e ve Adli Tıp Kurumu'ndaki rotasyon sürem boyunca tecrübe ve yardımlarını esirgemeyen Dr. Taner Daş, Yrd. Doç. Dr. Muzaffer Yıldırım, Dr. Ayşe Özgün'e,

Asistanlık sürem boyunca yardımlarını esirgemeyen meslektaşlarım ve dostlarım Uzm. Dr. Şenay Erdoğan Durmuş, Uzm. Dr. Enver Yarıkkaya, Uzm. Dr. Funda Emre, Uzm. Dr. Mehmet Özer, Uzm. Dr. Nurhan Erzurumluoğlu, Dr. Özlem Korkmaz, Dr. Bahar Sarı, Dr. Gizem Ayaz, Dr. Elis Kangal, Dr. Zeynep Betül Erdem, Dr. Sinem Özbey, Dr. Tuğba İpin ve Dr. Damla Karabıyık'a ve tezimin hazırlık aşamasında büyük katkıları olan başta Duygu Aydın olmak üzere tüm bölüm personeline,

Eğitim hayatım boyunca verdiğim her kararda yanımda olan ve desteklerini esirgemeyen aileme,

Her zor anımda sabırla yanımda olan ve desteğini her daim hissettiğim eşim Abdül Kerim Buğra'ya sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

# İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
KISALTMALAR.....	iv
TABLO LİSTESİ.....	v
ŞEKİL LİSTESİ.....	vi
ÖZET.....	vii
ABSTRACT.....	ix
I. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
II. GENEL BİLGİLER.....	3
LENF NODU HİSTOLOJİSİ.....	3
LENFOİD FOLLİKÜL.....	3
PARAKORTEKS.....	5
MEDÜLLA.....	5
DİFFÜZ BÜYÜK B HÜCRELİ LENFOMA.....	6
EPİDEMİYOLOJİ.....	8
ETİYOLOJİ.....	8
KLİNİK ÖZELLİKLER.....	8
MORFOLOJİ.....	9
MORFOLOJİK VARYANTLAR.....	9
SENTROBLASTİK VARYANT.....	9
İMMÜNOBLASTİK VARYANT.....	9
ANAPLASTİK VARYANT.....	10
NADİR MORFOLOJİK VARYANTLAR.....	10
MOLEKÜLER ALT GRUPLAR.....	10
İMMÜNFENOTİPİK ALT GRUPLAR.....	11
DBBHL İMMÜNFENOTİPİK ÖZELLİKLER.....	11
KLİNİK ÖNEMİ OLAN DİĞER FENOTİPİK, MOLEKÜLER/SİTOGENETİK ÖZELLİKLER.....	12
EBV POZİTİF DİFFÜZ BÜYÜK B HÜCRELİ LENFOMA, NOS.....	13
III. GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	14
İMMÜNHİSTOKİMYASAL YÖNTEM.....	14

ÇALIŞMAMIZDA DEĞERLENDİRİLEN İMMÜNHİSTOKİMYASAL BELİRLEYİCİLERİN ÖZELLİKLERİ VE DEĞERLENDİRME PARAMETRELERİ.....	15
BCL-2.....	15
BCL-6.....	16
C-MYC.....	16
İN SİTU HİBRİDİZASYON YÖNTEMİ.....	17
ÇALIŞMAMIZDA DEĞERLENDİRİLEN EBER'İN ÖZELLİKLERİ VE DEĞERLENDİRME PARAMETRELERİ.....	18
VI. BULGULAR.....	19
İSTATİSTİKSEL İNCELEMELER.....	27
V.TARTIŞMA.....	29
VI. SONUÇLAR.....	35
KAYNAKLAR.....	36
EK 1: ETİK KURUL ONAY BELGESİ.....	40
EK 2: HASTALARIN ÖZELLİKLERİ VE YAPILAN ANALİZLERİN SONUÇLARI.....	41

## KISALTMALAR

**APB:** Aktive periferik B hücresi

**CISH:** Kromojenik İn Situ Hibridizasyon

**DBBHL, NOS:** başka şekilde tanımlanmamış diffüz büyük B hücreli lenfoma

**DBBHL:** Diffüz büyük B hücreli lenfoma

**EBER:** EBV RNA

**EBV:** Epstein Bar Virüs

**FDC:** Folliküler Dendritik Hücre

**GEP:** Gen Ekspresyon Profili

**GMB:** Germinal merkezli B hücresi

**H&E:** Hematoksilen & Eosin

**HCV:** Hepatit C virusu

**HHV:** Human Herpes virusu

**HIV:** Human immunodeficiency virüs

**HTLV:** Human T-Hücreli lösemi virusu

**İHK:** İmmünohistokimya

**LMP-1:** Latent Membran Protein-1

**miRNA:** mikroRNA

**NF- $\kappa$ B:** Nükleer faktör kappa beta

**NHL:** Non-hodgkin lenfoma

**THZBBHL:** T-hücrelerinden/histiyositlerden zengin büyük B hücreli lenfoma

**WHO:** Dünya Sağlık Örgütü

## TABLO LİSTESİ

Tablo 2.1: B hücreli neoplaziler, Dünya Sağlık Örgütü (WHO) 2016 Sınıflaması

Tablo 2.2: DBBHL varyantları, alt tipleri, alt grupları

Tablo 4.1: Tanımlayıcı Özelliklerin Dağılımları

Tablo 4.2: Yaş Grubuna Göre Verilerin Karşılaştırılması

Tablo 4.3: Cinsiyete Göre Verilerin Karşılaştırılması

Tablo 4.4: EBER Boyanmasına Göre Verilerin Karşılaştırılması



## ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2.1: İmmünohistokimyasal yöntemler ile belirlenen hücre orijini

Şekil 2.2: DBBHL'larda hücre orijini ile myc ve bcl-2 ekspresyonu arasındaki ilişki

Şekil 4.1: Bcl-2 immünohistokimyasal boyama ile sitoplazmik boyanma sonuçları

Şekil 4.2: Bcl-6 immünohistokimyasal boyama ile nükleer boyanma sonuçları

Şekil 4.3: c-myc immünohistokimyasal boyama ile nükleer boyanma sonuçları

Şekil 4.4: EBER CISH ile olgularımızdaki boyanma paternleri



## ÖZET

**AMAÇ:** Diffüz büyük B hücreli lenfoma (DBBHL) etiyolojisi bilinmeyen bir Non-Hodgkin lenfoma (NHL)'dir. EBER (EBV RNA) varlığı; DBBHL'larda %8-11 arasında görülmekte; sıklıkla daha ileri yaşla, ileri evre hastalıkla ve DBBHL'nın anaplastik ve plazmoblastik alt tipleriyle ilişkili bulunmuştur. EBV (+) DBBHL'nın daha genç yaşlarda ve daha geniş spektrumda görülmeye başlanması sonucu oluşan yeni bilgiler ile, 2016 yılında Dünya Sağlık Örgütü (WHO) lenfoma sınıflamasındaki revizyon ile "yaşlılığın" yerine "başka türlü sınıflandırılmayan (NOS)" olarak değiştirilmiştir. Bu çalışma; DBBHL'nın immünofenotipik özelliklerini ortaya koymanın yanı sıra; bu olgularda kromojenik in situ hibridizasyon (CISH) yöntemi ile saptanan EBER varlığının olguların yaş ve cinsiyetleri ile ilişkisini göstermeyi amaçlamaktadır.

**GEREÇ (HASTALAR) VE YÖNTEMLER:** Sağlık Bilimleri Üniversitesi Okmeydanı Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Patoloji Bölümü'nde Ocak 2015-Aralık 2016 tarihleri arasında DBBHL tanısı almış 61 olgunun patoloji raporları incelendi. Bu olguların Hematoksilin & Eosin (H&E) boyalı kesitleri, bcl-2, bcl-6 ve c-myc immünohistokimyasal boyalı preparatları ile EBER ISH çalışmasına ait preparatları tekrar değerlendirildi. Olgulardaki EBER varlığının yaş, cinsiyet, bcl-2, bcl-6, c-myc boyanma yüzdeleri ile ilişkisi araştırıldı.

**BULGULAR:** Çalışmaya alınan DBBHL olgularından, dört olguda EBER varlığı saptanmıştır. Bu olguların yaşları 34 ile 78 arasında değişmektedir. Ortalama yaş 57'dir. 50 yaş altında 3 olguda (ortalama yaş 43,6), 50 yaş üstünde 1 olguda boyanma izlenmiştir. EBER pozitif olan olguların 3'ü erkek, 1'i kadındır. Bcl-2 ile %85,3 (n=52), Bcl-6 ile %95,1(n=58), c-myc ile %90,2 (n=55)'sinde değişen yüzdelerde boyanma izlenmiştir. EBER varlığının yaş, cinsiyet, bcl-2, bcl-6 ve c-myc ekspresyonu ile ilişkisi istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

**SONUÇ:** Çalışmamızdaki olgularda %6,6 oranında EBER varlığı saptanmıştır. Erkeklerde daha fazla pozitiflik (E/K:3/1) görülmüştür. EBV pozitif DBBHL'ların yaş ortalaması literatürdeki veriler ile benzerdir. EBER varlığının sadece yaşlı hasta grubunda değil tüm yaşlardaki DBBHL olgularında araştırılması, hem immünofenotipik bulgular ile ilişkisini saptamak, hem de yeni tanımlanan bu grubun

özelliklerini daha iyi tanımlayabilmek için yeni ve kapsamlı çalışmalara ihtiyaç olduğunu düşünürüz.

**ANAHTAR KELİMELEER:** DBBHL, EBER, yaş, bcl-2, bcl-6, c-myc



## ABSTRACT

**AIM:** Diffuse Large B Cell Lymphoma (DLBCL) is a Nonhodgkin Lymphoma (NHL). The etiology is unknown. EBER (EBV RNA) presency is seen between 8-11% in DLBCL have been found to be associated with more advanced age, more advanced disease, anaplastic and plasmoblastic subtypes of DLBCL. With the revision of the World Health Organization (WHO) of lymphoma classification in 2016; as EBV (+) DLBCL begins to appear in younger and in wider spectrum, the resulting new information has led to the change of "elderly" to "not otherwise specified (NOS)". The aim of this study is to demonstrating the immunophenotypic properties of DLBCL and to show whether the presence of EBER detected by chromogenic in situ hybridization (CISH) in these cases is related to the age and sex of the cases.

**MATERIAL (PATIENTS) AND METHODS:** The pathology reports of 61 cases diagnosed as DLBCL between January 2015 and December 2016 from the Okmeydani Education and Research Hospital Medical Pathology Department of Health Sciences University were examined. All hematoxylin and eosin(H & E) stained, bcl-2, bcl-6 and c-myc immunohistochemical stained preparations and EBER ISH preparations were reevaluated. The relationship between EBER positivity and age, sex, bcl-2, bcl-6, c-myc staining percentages were investigated.

**RESULTS:** EBER positivity was determined in four cases from DLBCL cases. The ages of these cases ranged from 34 to 78 years. Staining was observed in 3 cases under 50 years of age (mean age is 43,6) and 1 case in over 50 years. 3 cases of EBER positive cases were male and 1 female. Positive staining was observed in 85,3%(n = 52) with Bcl-2, 95,1%(n = 58) with Bcl-6 and 90,2% with c-myc (n = 55) in varying percentages. There was no statistically relationship between EBER positivity and age, gender, bcl-2, bcl-6 and c-myc expression.

**CONCLUSION:** 6.6 % EBER positive cases were detected in the DLBCL cases studied. More positivity was seen in males than females (M/F: 3/2). The mean age of EBV positive DLBCLs is similar to the data in the literature. We believe that new studies are needed to investigate the presence of EBER not only in elderly patients but

also in all age groups of DLBCL, both in relation to immunophenotypic findings and in order to define the characteristics of this newly defined group.

**KEYWORDS:** DLBCL, EBER, age, bcl-2, bcl-6, c-myc



## I.GİRİŞ VE AMAÇ

Diffüz büyük B hücreli lenfomalar (DBBHL), B hücre fenotipine sahip Non-Hodgkin lenfomaların (NHL) en sık görülen alt tipidir. DBBHL etiyojisi bilinmemektedir. Genellikle de novo ortaya çıkar ancak kronik lenfositik lösemi/küçük lenfositik lösemi, folliküler lenfoma, ya da marjinal zon lenfoma gibi daha düşük dereceli lenfomaların transformasyonu ile de görülebilir Agresif gidişli olup, klinik, morfolojik, immünojenotipik ve sitogenetik olarak heterojen özellikte lenfomalardır. Bu heterojeniteden dolayı DBBHL'lar kendi içerisinde değişken klinik gidiş ve sağkalıma sahiptirler. DBBHL'larda prognoza etkili olabilecek fenotipik, klinik, immunhistokimyasal ve sitogenetik farklılıkların saptanması son yıllarda önem kazanmış araştırma konularındandır.

Son yıllarda yapılan çalışmalar ile çeşitli immünohistokimyasal belirteçler ve moleküler teknikler kullanılarak DBBHL'ları alt gruplara ayırmak ve prognozla ilişkilerini ortaya koymak için çok sayıda araştırma yapılmaktadır. Buna rağmen, birçok vaka biyolojik heterojenite nedeniyle kesin bir şekilde sınıflandırılmaz. Bu tür vakalar, başka şekilde tanımlanmamış diffüz büyük B hücreli lenfoma (DBBHL, NOS) olarak sınıflandırılır.

Myc rearranjmanı DBBHL, NOS'ların %5-15'inde sıklıkla Bcl-2 ile, daha az sıklıkla Bcl-6 rearranjmanı ile ilişkilidir ve "çift vuruşlu" veya "üçlü vuruşlu" lenfoma olarak adlandırılmaktadır. Güncellenmiş sınıflamada da 'Yüksek dereceli lenfoma, myc ve bcl-2 ve/veya bcl-6 rearranjmanı ile birlikte' olarak yer almaktadır. Myc protein ekspresyonu DBBHL'da %30-50 oranında görülmekte ve bu vakaların %20-35'inde Bcl-2 ekspresyonu ile yüksek konkordansa sahiptir. Bu tümörlerin çoğu myc/Bcl-2 genetik değişikliklerini taşımamakta ve "çift ekspresyonlu lenfoma" olarak adlandırılmaktadır. Birçok çalışmada bu vakaların DBBHL, NOS vakalarına göre daha kötü gidişli olduğu, prognostik indikatör olarak düşünülebileceği belirtilmiş ancak DBBHL, NOS'tan ayrı bir kategoriye konulmamıştır.

EBER varlığı DBBHL'larda %8-11 arasında görülmekle birlikte; sıklıkla daha ileri yaşla (60 yaş üzerinde), daha ileri evre hastalıkla ve DBBHL'nın anaplastik ve plazmoblastik alt tipleriyle ilişkili bulunmuştur. Bu hastalarda tedavi yanıtı ve sağkalım sıklıkla; EBV RNA taşımayan olgulara göre daha düşük bulunmuştur.

EBV (+) DBBHL'nın daha genç yaşlarda ve daha geniş spektrumda görülmeye başlanması sonucu oluşan yeni bilgiler ile 2016 yılında WHO lenfoma sınıflamasındaki revizyonu sonucu "yaşlılığın" yerine "başka türlü sınıflandırılmayan (NOS)" olarak değiştirilmiştir.

Literatürdeki bu bilgiler ışığında, bu çalışma; DBBHL'nın immünofenotipik özelliklerini ortaya koymanın yanı sıra; bu olgularda kromojenik in situ hibridizasyon (CISH) yöntemi ile saptanan EBER varlığının olguların yaş ve cinsiyetleri ile ilişkili olup olmadığını göstermeyi amaçlamaktadır.



## II.GENEL BİLGİLER

### LENF NODU HİSTOLOJİSİ

Lenf nodu oval ya da fasülye şeklinde lenfatik damarların seyri boyunca yerleşmiş yapılardır. Özellikle aksilla, inguinal bölge ve akciğer hilusunda olmak üzere çoğunlukla gruplar halinde bulunurlar. Konveks yüzeyinden giren afferent lenfatik damarları ile konkav depresyonundan (hilus) çıkan bir ya da iki efferent lenfatik damarı bulunur. Lenfatik damarlar lenf sıvısının tek yönlü akışını sağlayan kapaklar ile desteklenmiştir (1). Lenf nodu lenf sıvısı içeren dilate lenfatik sinüsler ile karışık yoğun lenfosit kümelerinden oluşur ve ince retiküler liflerden oluşan çatı ile desteklenir (2). Lenf nodu parankimi korteks, parakorteks ve medulladan; bağ doku ağı ise kapsül, trabekül ve retiküler stromadan oluşur (1). Lenf nodu çok sayıda kan damarı içeren perikapsüler adipöz doku ile çevrelenmiştir. Yoğun bağ doku kapsülü lenf nodunu çevreler. Bağ doku trabekülleri başlangıçta lenfatik nodüllerin arasından daha sonra dallanarak medullaya doğru ilerler. Trabeküler bağ doku lenf nodunun ana kan damarlarını da içerir(2). Korteks lenf nodu kapsülü altında yerleşir, lenf nodunun periferik kısmını oluşturur ve subkapsüler sinüs ve lenfatik nodül olarak iki yapı içerir. Subkapsüler sinüs kapsülün hemen altındadır. Lenfatik nodüller başlıca B hücrelerinden oluşmuştur (1). Lenfatik nodüllerde daha açık renkte boyanan ve lenfosit proliferasyonunun aktif bölgesi olan alanlar germinal merkezler izlenir. Bu alandaki hücreler daha gevşek agregatlar oluşturur ve burada gelişen lenfositlerin daha büyük ve daha açık boyanan nükleusları ile geniş sitoplazmaları vardır. Germinal merkez daha koyu boyanan hücreler ile çevrelenir (2). Bu yapıya follikül adı verilir. Lenfoid folliküler arasından daha derine doğru uzanan alan parakortektir (3). Parakorteks timüs bağımlıdır ve temel olarak T hücrelerinde oluşur, ayrıca lenfatik nodülden medüller korda geçiş alanıdır. Lenf nodu medullası anastomozlaşan lenfatik dokular olan medullar kordlardan ve efferent damarlardan gelen lenf sıvısını nodu drene eden medüller sinüslerden oluşur (2).

### Lenfoid follikül

Lenfoid follikül naif B hücre agregatları ile küçük folliküler dendritik hücre (FDC) ağından oluşur. Lenfoid hücreler yuvarlak, küçük nükleuslu, koyu kromatinli ve dar

sitoplazmalı hücrelerdir. Bu hücreler matür B hücre markerları ile IgM, IgD, CD21 ve CD23 eksprese ederler. Bu hücrelerin antijen stimülasyonu genişlemiş ve organize mantle hücre tabakası, germinal merkezi ve yoğun follüküler dendritik ağı ile birlikte sekonder lenfoid follüküllerin oluşmasına yol açar. Mantle zon temel olarak primer lenfoid follükülün küçük B hücrelerinden oluşur ve germinal merkezlerin genişlemesi ile kenara doğru itilir. Germinal merkezler T hücre bağımlı immün yanıtın gerçekleştiği özelleşmiş lenfoid kompartmanlardır. Morfolojik olarak erken germinal merkezler baskın olarak küçük ve büyük sentroblastlar (büyük, yarıklanmamış follüküler merkez hücreleri) içerirler. Bu hücreler orta-büyük boyutlu B hücreleridir ve oval-yuvarlak veziküler nükleusları olup, nükleer membrana yakın bir-üç küçük nükleol içerirler. Ayrıca dar bazofilik sitoplazmaları vardır. Germinal merkezler polarize olup koyu ve açık zon alanlarına ayrılır. Koyu zon baskın olarak sentroblastlar içerir ve bu alanlarda mitoz sıktır. Ayrıca sıkı paketlenmiş sentrositler (Yarıklı follüküler merkez hücreleri) bu alanda görülür. Bu hücreler düzensiz bazen yarıklı, koyu kromatinli, belirsiz nükleollü, dar sitoplazmalı küçük- büyük B hücreleridir. Apoptotik nükleer debrisleri fagosite eden makrofajlar (tingible body makrofajlar) da bu alanda bulunur. Açık zon baskın olarak sessiz sentrositlerle birlikte follüküler dendritik hücreler içerir. Follüküler dendritik hücreler mezenkimal hücrelerden gelişir ve germinal merkezin ve T hücre bağımlı immün yanıtın önemli bir organizatörüdür. Bu hücreler CXCL13, CD23, adhezyon molekülleri olan ICAM-1 ve VCAM-1 ve kompleman moleküllerini (CD21, CD35) eksprese eder. Fenotipik olarak hem sentrositler hem sentroblastlar matür B antijenlerini (CD19, CD20, CD22, CD79) ve germinal merkez markerlarını (bcl-6, CD10) eksprese eder. Bcl-6 nükleer zinc-finger transkripsiyon faktörüdür ve germinal merkez formasyonu ile T hücre bağımlı immün yanıt oluşması için gereklidir. Germinal merkez B hücrelerinde eksprese edilir. Nativ B hücrelerinde, mantle zon B hücrelerinde, hafıza B hücrelerinde ya da plazma hücrelerinde eksprese edilmez. CD10 membran ilişkili moleküldür (common acute lymphoblastic leukemia antigen (CALLA) olarak da bilinir) ve kemik iliğinde erken pro B hücrelerinde normal olarak eksprese edilir, nativ B hücrelerinde kaybolur ve germinal merkez hücrelerinde tekrar eksprese edilir. Germinal merkez hücrelerinde bir diğer önemli değişiklik Bcl-2 antiapoptotik molekülünün downregülasyonudur ve temel olarak nativ ve hafıza B hücrelerinde eksprese edilir. Germinal merkez B

hücrelerinde FGC ve T hücreleri ile ilişkilerinde yer alan yüzey antijenleri eksprese edilir. Özellikle CD40, CD86 ve CD71 T hücre ilişkisini kolaylaştırırken CD11a/18 ve CD29/49a FDC'lerin CD44, ICAM-1, VCAM-1 ligandlarını tanır. Germinal merkezler, B hücre farklılaşmasında (folliküler T helper hücre, T-fh) ve T hücre aracılı immün yanıtın düzenlenmesinde (T regülatuar hücre, T-reg) önemli rol oynayan özelleşmiş T hücre alt popülasyonları içerirler. Bu hücreler açık zonda, mantle zonunda ve interfolliküler alanlarda bulunur (4).

### **Parakorteks**

Temel olarak T hücrelerinden ve interdijite hücrelerden oluşur ve timüs bağımlı, interfolliküler zon olarak adlandırılır (1,4). Lenfatik nodüllerden medüller korda geçiş alanıdır (2). Bu alandaki T hücreleri heterojendir, CD4 (+) T hücreleri baskınken CD8 (+) ve T-reg hücreler de bulunur. İnterdijite hücreler S100, MHC II, CD80, CD86 ve CD40 pozitif CD1a, CD21 ve CD35 negatiftir. İnterfolliküler zon immünoblastik morfolojide izole büyük B hücreleri içerirler ve reaktif durumlarda bu hücreler çok sayıda olabilir. İmmunoblastlar boyut olarak sentroblastlara benzer, belirgin tek nükleolü ve geniş bazofilik sitoplazmaya sahiptir. Bu hücreler matür B hücre markerlarını eksprese eder ancak germinal merkez markerları (bcl-6, CD10), CD30 ve CD27 negatiftir (4). Parakortekste B ve T lenfositlerinin kandan lenf noduna geçtiği endotelial venüller (yüksek endotelli/postkapiller) bulunur. Bu damarların endotelileri büyük, şişkin olup veziküler kromatinli, belirsiz nükleollü nükleuslara sahiptir (3,4).

### **Medulla**

Medullanın medüller kord ve medüller sinüs olmak üzere iki kompartmanı vardır. Medüller kordlar dallanan ve anastomozlaşan tipik lenfoid dokudan oluşan kordlardır ve temel olarak B lenfositler, plazma hücreleri ve makrofajlardan oluşur. Medüller sinüsler medüller kordlar arasında yerleşir ve kordlara göre daha açık boyanır (1). Afferent venülden gelen lenf sıvısını lenf nodunun hilusuna drene eder (2).

## DİFFÜZ BÜYÜK B HÜCRELİ LENFOMA

Diffüz büyük B hücreli lenfoma nükleus büyüklüğü histiyosit nükleusuna eşit ya da büyük, ya da küçük bir lenfositin iki katı büyüklüğündeki büyük ya da orta boyutlu neoplastik B hücrelerinin diffüz proliferasyonudur (5). Morfolojik, biyolojik ve klinik çalışmalar, diffüz büyük B hücreli lenfomaları morfolojik varyantlara, moleküler ve immunofenotipik subgruplara ayırmıştır. Buna rağmen, birçok vaka biyolojik heterojenite nedeniyle kesin bir şekilde sınıflandırılmaz. Bu tür vakalar, başka şekilde tanımlanmamış diffüz büyük B hücreli lenfoma (DBBHL, NOS) olarak sınıflandırılır. Lenfoid neoplazilerin Dünya Sağlık Örgütü 2016 revizyonuna göre sınıflaması tablo 2.1’de verilmiştir (6). DBBHL’ların morfolojik, moleküler ve immünfenotipik subgruplara göre ayrımı ile tablo 2.2’de verilmiştir (5,6).

**Tablo 2.1:** B hücreli neoplaziler, Dünya Sağlık Örgütü (WHO) 2016 Sınıflaması

### Matür B hücre neoplazileri

Kronik lenfosittik lösemi/küçük lenfositik lenfoma

Monoklonal B hücreli lenfositozis

B hücreli prolenfositik lösemi

Splenik marjinal zon lenfoma

Saçlı hücreli lösemi

Splenik B hücreli lösemi/lenfoma, sınıflandırılmayan

Splenik diffüz kırmızı pulpa küçük B hücreli lenfoma

Saçlı hücreli lösemi, varyant

Lenfoplazmasitik lenfoma

Waldenström makroglobulinemisi

Önemi Belirsiz IgM Monoklonal Gamapatisi (MGUS)

$\mu$  Ağır Zincir Hastalığı

$\gamma$  Ağır Zincir Hastalığı

$\alpha$  Ağır Zincir Hastalığı

Önemi Belirsiz IgG/A Monoklonal Gamapatisi (MGUS)

Plazma Hücreli Myelom

Kemiğin Soliter Plazmasitomu

Ekstraosseöz Plazmasitom

Monoklonal İmünglobulin Birikim Hastalığı

Mukoza İlişkili lenfoid dokunun ektranodal marjinal zon lenfoması (MALT lenfoma)

Nodal marjinal zon lenfoma

Pediyatrik nodal marjinal zon lenfoma

Foliküler lenfoma

İn situ folliküler neoplazi

Duodenal tip folliküler lenfoma

Pediyatrik tip folliküler lenfoma

IFR4 rearanjmanı ile birlikte büyük B hücreli lenfoma

Primer kutanöz follikül merkez lenfoması  
Mantle hücreli lenfoma  
    İn situ mantle hücre neoplazisi  
Diffüz Büyük B hücreli lenfoma (DBBHL), NOS  
    Germinal merkez B hücreli tip  
    Aktive B hücreli tip  
T hücre/histiyosit zengin büyük B hücreli lenfoma  
Santral sinir sisteminin primer DBBHL'sı  
Primer kutanöz bacak tipi B hücreli lenfoma  
EBV + DBBHL, NOS  
EBV + Mukokutanöz ülser  
Kronik inflamasyon ilişkili DBBHL  
Lenfomatoid Granülomatozis  
Primer mediastinal (timik) büyük B hücreli lenfoma  
Intravasküler büyük B hücreli lenfoma  
ALK + büyük B hücreli lenfoma  
Plazmablastik lenfoma  
Primer efüzyon lenfoması  
HHV8 +, DBBHL, NOS  
Burkitt Lenfoma  
Burkitt benzeri lenfoma, 11q aberrasyonu ile birlikte  
Yüksek dereceli lenfoma, MYC ve BCL2 ve/veya BCL6 rearanjmanı ile birlikte  
Yüksek dereceli lenfoma, NOS  
DBBHL ve klasik Hodgkin lenfoma arasında sınıflandırılmayan B hücreli lenfoma

**Tablo 2.2:** DBBHL varyantları, alt tipleri, alt grupları

**DBBHL, NOS**

Sık morfolojik varyantlar

    Sentroblastik

    İmmunoblastik

    Anaplastik

Nadir morfolojik varyantlar

Moleküler alt gruplar

    Germinal merkez B hücreli tip

    Aktive B hücreli tip

İmmunfenotipik alt gruplar

    CD5 + DBBHL

    Germinal merkez B hücreli benzeri

    Germinal merkez dışı B hücreli benzeri

**DBBHL alt tipleri**

T hücre/histiyosit zengin büyük B hücreli lenfoma

Santral sinir sisteminin primer DBBHL'sı

Primer kutanöz bacak tipi B hücreli lenfoma

EBV + DBBHL, NOS

EBV + Mukokutanöz ülser

Kronik inflamasyon ilişkili DBBHL

Lenfomatoid Granülomatozis

Primer mediastinal (timik) büyük B hücreli lenfoma

Intravasküler büyük B hücreli lenfoma

ALK + büyük B hücreli lenfoma

Plazmablastik lenfoma

### **Borderline Vakalar**

Yüksek dereceli lenfoma, MYC ve BCL2 ve/veya BCL6 rearranmanı ile birlikte

Yüksek dereceli lenfoma, NOS

DBBHL ve klasik Hodgkin lenfoma arasında sınıflandırılmayan B hücreli lenfoma

### **Epidemiyoloji**

DBBHL, NHL'ların en sık görülen tipidir, NHL'ların %30-40'ını oluşturur. Çocuklarda da görülebilse de primer olarak yetişkinlerde, ortalama yedinci dekatta görülür (7). Erkeklerde daha fazla görülme eğilimindedir (5).

### **Etiyoloji**

DBBHL etiyojisi bilinmemektedir. Genellikle de novo ortaya çıkar ancak kronik lenfositik lösemi/küçük lenfositik lösemi, folliküler lenfoma, ya da marjinal zon lenfoma gibi daha düşük dereceli lenfomaların transformasyonu ile de görülebilir (7,8). Biyopsi materyalinde bu düşük dereceli alan görülmediği takdirde ve öykü bilinmediğinde transforme lenfomaları de novo DBBHL'dan ayırmak mümkün olmayabilir (7).

DBBHL olgularının çoğunda herhangi bir risk faktörü bulunmamaktadır. Bununla birlikte; Ataksi-telenjektazi sendromu, Bruton tipi agamaglobulinemi, Ciddi kombine immünyetmezlik hastalığı, Wiskott-Aldrich Sendromu, Duncan Sendromu, Chediak-Higashi sendromu gibi herediter immünyetmezlik sendromları; Human immunodeficiency virus (HIV), Epstein-Barr virus (EBV), Helicobacter pilori, Hepatit C virusu (HCV), Human T-Hücreli lösemi virusu (HTLV) ve Human Herpes virusu (HHV) gibi enfeksiyonlar ve Romatoid artrit, Sjögren sendromu, Sistemik lupus eritematozus gibi otoimmün hastalıklar ile kemoterapötik ajan ve immünyespresan ilaç kullanımı, Herbisid, Vinil klorid ve organik solventlere maruziyet gibi etyopatogenezde rol oynayabilecek birçok antite risk faktörleri arasında sayılabilmektedir (9,10).

### **Klinik Özellikler**

Hastalar genellikle tek veya multinodal veya ektranodal yerleşim yerlerinde hızlı büyüyen kitlelerle başvurur (8). En sık ektranodal tutulum yeri gastrointestinal

sistemdir ve deri ikinci en sık tutulum yeri olmakla birlikte herhangi bir ektranodal alan tutulabilir. B semptomları hastaların %30'unda görülür (7).

### **Morfoloji**

Lenf nodlarında, büyük lenfoid hücrelerden oluşan ve lenfoid yapıyı tümüyle veya kısmen silen diffüz infiltrasyon izlenir. Kısmi nodal tutulum interfoliküler ve/veya daha az sıklıkla sinusoidal olabilir. Perinodal doku sıklıkla infiltredir. Geniş veya ince sklerotik bantlar gözlenebilir. Sitomorfolojik olarak, DBBHL yaygın ve nadir görülen morfolojik varyantlara ayrılabilir. Orta büyüklükteki hücrelerin baskın olduğu vakalar, ekstramedüller lösemiler, mantle hücreli lenfomanın blastoid varyantı ve Burkitt lenfoma ile ayırıcı tanıya girer (11). Ektranodal alanlarda tümör kitlesine ek olarak lenfoma hücreleri genelde intersisyel infiltrasyon yaparak normal özelleşmiş yapıların (gastrik glandlar, tükürük bezi asinileri, seminfer tübüller gibi) kaybına neden olur (5).

### **Morfolojik varyantlar**

Üç yaygın varyant ve ek olarak minör morfolojik varyantlar tanımlanmıştır. Bütün varyantlarda, çok sayıda T-hücresi ve/veya histiyosit görülebilir. Bu vakalar T-hücrelerinden/histiyositlerden zengin büyük B hücreli lenfomanın (THZBBHL) tüm kriterlerini karşılamadığı sürece THZBBHL olarak kabul edilmemelidir (11).

**1.Sentroblastik varyant:** En yaygın varyanttır. Sentroblastlar oval-yuvarlak, orta büyüklükte, ince kromatin içeren, veziküler nükleuslu hücrelerdir. Nükleer membrana bağlı 2-4 adet nükleol görülebilir. Genellikle dar olan sitoplazma, amfofilik veya bazofilik olabilir. Bazı vakalarda tümörün morfolojisi monomorfik olup tümüyle sentroblastlardan (>%90) oluşabilir. Halbuki, çoğu vaka, sentroblast ve immunoblastların karışık olduğu polimorfik görünümde (12,13). Özellikle kemik ve diğer ektranodal yerleşim yerlerinde, tümör hücreleri nadiren multilobüle nükleuslu olabilir.

**2.İmmunoblastik varyant:** Bu varyantta hücrelerin %90'dan fazlası, santralde yerleşmiş nükleolusu olan ve kayda değer bazofilik sitoplazması olan immunoblastlardan oluşur. Plazmasitoid diferansiyasyon görülebilir. Bu varyantı plazmablastik lenfomanın ekstramedüller tutulumundan veya immatür plazma hücreli myelomdan ayırmak için klinik ve/veya immunofenotipik bulgular faydalı olabilir.

İmmunoblastik varyant ile sentroblastik varyantın ayırımında, genellikle gözlemciler içinde ve gözlemciler arasındaki uyum düşüktür (14).

**3.Anaplastik varyant:** Bu varyant bizar, pleomorfik nukleuslu, çok büyük yuvarlak, oval veya poligonal, Hodgkin ve/veya Reed-Sternberg hücrelerine ve anaplastik büyük hücreli lenfoma hücrelerine benzeyen hücrelerle karakterizedir. Bu hücreler sinüzoidal ve/veya koheziv büyüme paterni gösterebilir ve indifferansiye karsinomu taklit edebilirler. Sitotoksik T-hücrelerinden köken alan anaplastik büyük hücreli lenfoma ve ALK-pozitif büyük B hücreli lenfoma ile biyolojik ve klinik olarak ilişkili değildirler (11).

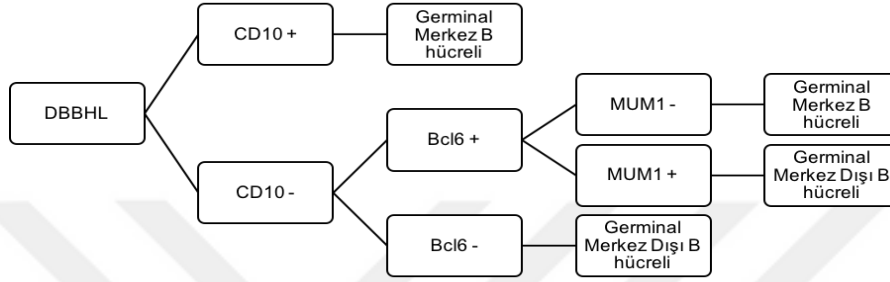
### **Nadir Morfolojik Varyantlar**

DBBHL, NOS vakaları nadiren miksoid stroma ya da fibriller matikse sahiptir. Az sayıda vakada psödorozet formasyonu görülebilir. Bazen neoplastik hücreler iğsi şekilli olabilir veya taşlı yüzük hücre özellikleri gösterebilirler. Aynı zamanda sitoplazmik granüller, mikrovilluslar ve intersellüler bağlantılar izlenebilir.

### **Moleküler Alt Gruplar**

Alizadeh ve arkadaşları DBBHL’da iki alt grup tanımlamıştır (15). Bir grup germinal merkezli B-hücrelerinin (GMB) gen ekspresyon profiline sahiptir (vakaların %45-50) ve diğeri aktive periferik B-hücrelerinin (APB) ekspresyon profiline sahiptir. Bir de üçüncü grup (tip 3 olarak adlandırılan) tanımlanmıştır. Bu GMB ve APB alt gruplarına uymayan vakaların toplandığı bir gruptur (16,17). GMB ve APB grupları farklı kromozomal anomalilere sahiptir. GMB alt grubunda sıklıkla 12q12’de artış dikkati çekerken, APB alt grubunda 3q, 18q21-q22’da artış ve 6q21-q22’de kayıp izlenir (18,19). Polimorfik sentroblast benzeri hücreler ve/veya çok miktarda immunoblast içeren, sentroblastik varyant ve immunoblastik varyant olarak tanımlanan vakalar genellikle APB alt grubunda yer alırlar. Ancak bu özellikler GMB alt grubunda da gözlenebilir. Bu nedenle GBM ve APB alt gruplarını morfolojik olarak ayırmak mümkün değildir. Ayrıca DBBHL’nın gen ekspresyon profiline göre oluşturulan bu alt gruplar (GMB, APB) ile immunhistokimyasal yöntemler kullanılarak oluşturulan alt grupların (germinal merkez benzeri ve germinal merkez olmayan grup) uyumu değişkenlik gösterir (16,20). Bununla birlikte gen ekspresyon profili (GEP) çalışmaları rutinde kullanışlı değildir, çünkü DBBHL, NOS 2008 sınıflamasında immunhistokimyasal algoritmaların tekrarlanabilirliği ve güvenilirliği

konusu üzerine düşülmüştür. Bu nedenle revize sınıflamada bu iki grubun tanınması çok önemlidir. Hans algoritmasının (şekil 2.1) hala en popüler olması ve GEP ile kabul edilebilir korelasyonu olmasına rağmen başka algoritmalar da kullanılabilir (6). Hans algoritması GEP sınıflaması ile yaklaşık %80 konkordans göstermektedir (7).



**Şekil 2.1:** İmmünohistokimyasal yöntemler ile belirlenen hücre orijini

### **İmmünofenotipik Alt Gruplar**

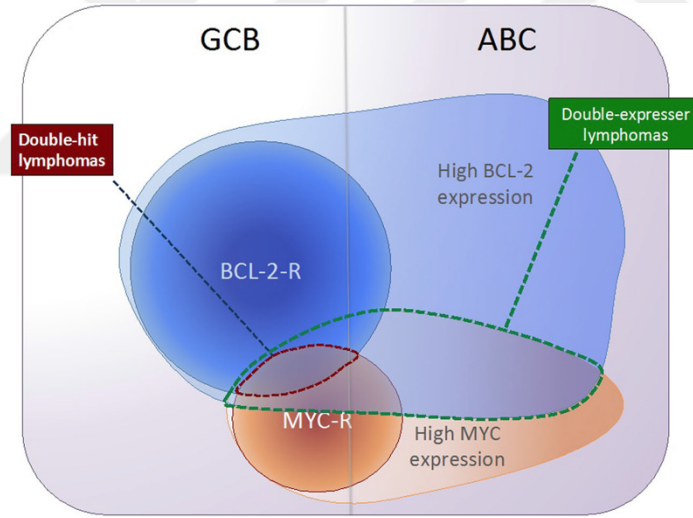
DBBHL, immünofenotipik olarak germinal merkez benzeri grup (GMB), germinal merkez benzeri olmayan grup (non-GMB) ve CD5 pozitif DBBHL olarak üç gruba ayrılmıştır ve bu gruplar CD10, Bcl-6 ve MUM-1 antikoları kullanılarak ayrılır (20).

### **DBBHL İmmünofenotipik Özellikler**

DBBHL'ların immünofenotipi heterojendir ve pan B hücre markerları (CD19, CD20, CD22) ekspres ederler. CD10 %25-50 vakada ekspres edilirken CD5 nadiren ekspres edilir. Bcl-6 %50-90 vakada ekspres edilirken Bcl-2 %60 vakada ekspres olur. Ki-67 proliferasyon indeksi %30-95 arasında değişmektedir. Bcl-2 ekspresyonu, rituksimab tedavisinden önce birçok çalışmada kötü prognoz göstergesi olarak gösterilmiştir. Sitoplazmik immunoglobulin varlığı CD38 ve CD138 gibi plazma hücre markerlarının ekspresyonu ile ilişkili değildir. Her iki marker nadiren CD20 pozitif hücrelerde ekspres edilir. CD30 özellikle anaplastik varyantta ekspres edilebilir (21).

### Klinik Önemi Olan Diğer Fenotipik, Moleküler/Sitogenetik Özellikler

Son yıllarda büyük B hücreli lenfomalarda myc değişikliklerinin daha iyi anlaşılması önemli bir gelişme olmuştur (22). Myc rearranmanı DBBHL, NOS'ların %5-15'inde sıklıkla Bcl-2 ile daha az sıklıkla Bcl-6 rearranmanı ile ilişkilidir ve “çift vuruşlu” veya “üçlü vuruşlu” lenfoma olarak adlandırılmaktadır. Güncellenmiş sınıflamada da ‘Yüksek dereceli lenfoma, myc ve bcl-2 ve/veya bcl-6 rearranmanı ile birlikte’ olarak yer almaktadır. Myc protein ekspresyonu DBBHL’da %30-50 oranında görülmekte; bu vakaların %20-35’inde bcl-2 ekspresyonu ile yüksek konkordansa sahiptir. Bu tümörlerin çoğu myc/bcl-2 genetik değişikliklerini taşımamakta ve “çift ekspresyonlu lenfoma” olarak adlandırılmaktadır. Birçok çalışmada bu vakaların DBBHL, NOS vakalarına göre daha kötü gidişli olduğu, prognostik indikatör olarak düşünülebileceği belirtilmiş ancak DBBHL, NOS’tan ayrı bir kategoriye konulmamıştır (Şekil 2.2)(6).



**Şekil 2.2:** DBBHL’larda hücre orijini ile myc ve bcl-2 ekspresyonu arasındaki ilişki

## **EBV POZİTİF DİFFÜZ BÜYÜK B HÜCRELİ LENFOMA, NOS**

2008 DSÖ lenfoma sınıflamasında yaşlılığın EBV (+) DBBHL olarak yeni bir antite tanımlanmış bu antitenin 50 yaş üzerindeki hastalarla ve EBV pozitifliği ile ilişkisi bulunmuştur. DBBHL'nın bu alt tipinde EBV'ün tümör mikroçevre kompozisyonunda, anti-tümör yanıtını engellemede ve hastalığın progresyonunda rol alabileceği gösterilmiştir (23,24). Bu grup tümörler 2016 yılında lenfoma sınıflamasındaki revizyon sonucu EBV (+) DBBHL, NOS olarak adlandırılmıştır (6). EBV (+) DBBHL immün sistemi sağlam 50 yaşından büyük hastalarda görülür ve EBV (-) hastalara göre daha kötü prognozludur. Ancak bu grup daha genç hastalarda da görülmeye başlanmıştır. EBV (+) DBBHL'nın daha genç yaşlarda ve daha geniş spektrumda görülmeye başlanması sonucu oluşan yeni bilgiler “yaşlılığın” yerine “başka türlü sınıflandırılmayan (NOS)” olarak değiştirilmesine sebep olmuştur.

EBV (+) DBBHL, EBV (+) B hücreli lenfoproliferatif hastalıklar olarak bilinen bir grup hastalığın monoklonal karşılığıdır. Çoğunlukla güney batı Asya'da özellikle Japonlarda görülmekle birlikte daha az sıklıkla Batı ülkelerinde de görülebilir. Bu hastalık yaşlanmayla ilişkili immün sistemin de gerilemesinden kaynaklanan, blastik, klonal B hücre proliferasyonudur (7,21,25).

Erkekler kadınlardan daha fazla etkilenir. Lenf nodlarında ve ektranodal alanlarda (deri, gastrointestinal sistem, akciğer ve tonsil) izlenir. Olguların %50'den fazlasında B semptomları, yüksek LDH, ileri evre hastalık görülürken solid organ ve kemik iliği tutulumu rölatif olarak daha azdır.

EBV (+) DBBHL'nın morfolojik olarak polimorfik ve büyük hücreli olmak üzere iki tipi vardır ve iki morfoloji de aynı spesimende görülebilir. Baskın olan polimorfik alt tipidir ve polimorfik ve monomorfik immünoblast benzeri transforme hücreler, Hodgkin ve Reed-Sternberg benzeri hücreler görülür. Polimorfik alanlarda küçük lenfositler, plazma hücreleri, histiyositler de izlenir. Fokal nekroz alanları görülür.

Tümör hücreleri pan B markerları ile pozitifdir ve germinal merkez dışı immün fenotip gösterir. CD30 vakaların dörtte üçünde pozitifken CD15 negatiftir. EBV bütün vakalarda pozitifdir ve en iyi CISH yöntemi ile EBER'in varlığının gösterilmesi ile tespit edilir (7).

### **III.GEREÇ VE YÖNTEMLER**

Mevcut çalışma Sağlık Bilimleri Üniversitesi Okmeydanı Eğitim ve Araştırma Hastanesi Etik Kurul'unun 20.12.2016 tarihli 562 dosya sayılı kararına göre etik açıdan uygun bulunmuştur.

Sağlık Bilimleri Üniversitesi Okmeydanı Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Patoloji Bölümü'nün rapor arşivinden Ocak 2015-Aralık 2016 tarihleri arasında laboratuvara gönderilmiş doku örneklerinde (tru-cut, eksizyon, rezeksiyon materyali), Diffüz Büyük B Hücreli Lenfoma tanısı almış, 31-90 yaş aralığındaki 61 olguyu patoloji raporları incelendi. Bu olguların tüm Hematoksilen & Eosin (H&E) boyalı tüm kesitleri, bcl-2, bcl-6 ve c-myc immünohistokimyasal boyalı preparatları ile EBER CISH çalışmasına ait preparatları patoloji arşivinden çıkarılarak tekrar değerlendirildi.

Olguların demografik verilerine hastane otomasyon sisteminden ulaşıldı.

Ulaşılan veriler ışığında hastaların cinsiyet, yaşı ve tanı aldığı bölgeler kaydedildi.

#### **İMMÜNHİSTOKİMYASAL YÖNTEM**

İmmünohistokimyasal yöntem, hücre ve doku içinde bulunan bazı enzimlerin ya da makromoleküllerin lokalizasyonlarını incelemeye yardımcı olur. Sistem incelenecek olan bir makromeleküle karşı geliştirilmiş olan bir antikorun ortaya konulmasıdır. Dokuda saptanmaya çalışılan protein antijen, bu proteinin saptanması için yararlanılan protein ise antikordur. Poliklonal ve monoklonal olmak üzere iki antikor kullanılır. Poliklonal antikorlar, bir hayvanı bir antijen ile immunize ederek üretilen antikorlardır. Bir hayvan cinsinden örneğin bir sıçandan alınan bir antijen başka bir hayvan cinsine (tavşan) enjekte edildiğinde yabancı bir madde olarak algılandığından dolayı B lenfositler tarafından, verilen antijene karşı antikor üretilir. Üretilen bu poliklonal antikorlar kandan izole edilip saflaştırılır. Bu antikor artık sıçan dokularında veya hücrelerindeki proteini bağlayarak işaretleyebilir. Monoklonal antikorlar ise tek bir B lenfosit grubunun ürettiği antikorlardır. Bu hücre klonları tek

bir antikor üreten plazma hücrelerinden gelişen bir tümör olan çok yönlü myelomdan gelişir.

İmmunhistokimya için kesitlerin hazırlanması; kesit alma, deparafinizasyon, dehidratasyon ve yıkama basamaklarından oluşur. İmmun boyama; antijen maskesinin kaldırılması, blokaj, primer antikor, sekonder antikor, kromojen, çekirdek boyaması, dehidratasyon, şeffaflandırma ve kapama basamaklarından oluşur (26).

### **Çalışmamızda Değerlendirilen İmmünohistokimyasal Belirleyicilerin Özellikleri ve Değerlendirme Parametreleri**

**1. Bcl-2:** Bcl-2, apoptozisin düzenlenmesinde önemli görevleri olan bir protoonkogenidir. Kromozom 18q21'de lokalize olan Bcl-2 geni, 26-kDa ağırlığında ve programlı hücre ölümü olan apoptozisi inhibe eden bcl-2 proteinini kodlar. Bcl-2 geni, ilk kez t(14;18)(q32;q21) translokasyonu gösteren foliküler lenfomada tanımlanmıştır (27). İmmünglobulin ağır zincirinin bulunduğu 14q32 bölgesi aşırı eksprese olan bir bölgedir. Translokasyon sonrası buraya taşınan Bcl-2 geni de bu sebeple aşırı eksprese olur ve artan Bcl-2 proteini nedeniyle hücreler apoptozdan korunur. Böylece hücreler daha uzun süre yaşar, sayıları artar ve maligniteler meydana gelir.

Bcl-2 proteini, immunhistokimyasal yöntemlerle kolayca tespit edilebilir. Mitokondri iç membranında yerleşmiş olan bcl-2 proteini, normal lenfoid dokuda geniş bir ekspresyona sahiptir. Fakat germinal merkez B hücrelerinde eksprese edilmez. Agresif Non- Hodgkin lenfomalarda, t(14;18) translokasyonu olmaksızın aşırı Bcl-2 ekspresyonu olabilmektedir ve bu kötü prognoz ile ilişkilidir. DBBHL'larda tespit edilen aşırı Bcl-2 protein ekspresyonunun nedeni genellikle Bcl-2 gen amplifikasyonudur. Bcl-2 ekspresyonu DBBHL vakalarının %30-60'ında görülür ve nodal olanlarda daha sıktır.

Çalışmamızda daha önceden Genemed marka Bcl-2-100 klon kullanılarak 1:100 konsantrasyonda boyanmış pozitif kontrollü preparatlar ışık mikroskobu ile değerlendirildi. Sitoplazmik boyanma pozitif olarak kabul edildi. Her vakada boyanma yaygınlığının en yoğun olduğu alanlar tespit edilerek pozitif olanların yüzdesi hesaplandı ve %25'ten az boyanma bir pozitif (+), %25-50 arası boyanma iki pozitif (++), %50'den fazla boyanma üç pozitif (+++) olarak kabul edildi.

**2.Bcl-6:** Bcl-6 geni 3q27'de lokalize olan, germinal merkez B hücrelerinde eksprese edilen spesifik (zinc-finger) bir transkripsiyonel reseptördür. Germinal merkez formasyonunda, lenfosit fonksiyonlarında, diferansiyasyonda ve sağkalımda rol oynamaktadır. Germinal merkez B hücre kökenli hücrelerdeki p53'ü suprese edip apoptozu inhibe etmektedir (21).

Normal lenfoid dokuda germinal merkez hücreleri selektif olarak Bcl-6 proteinini eksprese ederler. Bu nedenle folikül merkezinden köken alan foliküler lenfoma, Burkitt lenfoma ve DBBHL'nın önemli bir kısmında (>80) pozitifdir. Bcl-6 proteini hücre çekirdeğinde tutulduğu için buna karşı geliştirilen monoklonal ve poliklonal antikorlar da hücre çekirdeğinde pozitifdir (8).

Çalışmamızda daha önceden Biocare marka LN22 klon kullanılarak 1:50 konsantrasyonda boyanmış pozitif kontrollü preparatlar ışık mikroskobu ile değerlendirildi. Nükleer boyanma pozitif olarak kabul edildi. Her vakada boyanma yaygınlığının en yoğun olduğu alanlar tespit edilerek pozitif olanların yüzdesi hesaplandı ve %25'ten az boyanma bir pozitif (+), %25-50 arası boyanma iki pozitif (++), %50'den fazla boyanma üç pozitif (+++) olarak kabul edildi.

**3.c-myc:** MYC geni, tüm ökaryotik canlılarda eksprese edilen, 8. kromozomda lokalize, bölünme uyarısına erken cevapta görevli bir protoonkogendir. c-myc proteini N-MYC ve L-MYC gibi transkripsiyon faktörlerini içeren MYC ailesinin bir üyesidir. Ancak bu genin, hücre çoğalmasındaki görevleri net olarak ortaya konabilmiş değildir. Birçok transkripsiyon faktörü ile birlikte, hücre çoğalmasında görevli genleri aktive ederek karsinogeneze rol aldığı düşünülmektedir. Normal koşullarda çalışan MYC genindeki bazı insitu değişiklikler (translokasyon gibi) bu genin protein üretimi ve diğer fonksiyonları üzerinde etkili olarak değişikliğe uğramasına yani onkogene (c-onkogen, 'hücre sel onkogen') dönüşmesine yol açar. Sonuç olarak c-myc proteini sürekli veya fazla salınır. MYC geninde ortaya çıkan bu değişiklikler farklı mekanizmalarla farklı tümörlerin oluşumuna neden olur. (8)

C-myc yeniden düzenlenmesi; Burkitt lenfomanın yanısıra t (8,14) translokasyonu veya 8q24 gen amplifikasyonu sonucu yaklaşık %15 DBBHL hastasında overeksprese edilmektedir. Bununla birlikte farklı yollardan apoptozisi de aktive etmektedir. C-myc yeniden düzenlenmesi daha sık olarak ektranodal

tutulumlu DBBHL veya HIV pozitif hastalarda görülmektedir ve agresif gidiş ile ilişkilidir (22).

Çalışmamızda daha önceden Cell-Marque marka EP121 klon kullanılarak 1:100 konsantrasyonda boyanmış pozitif kontrollü preparatlar ışık mikroskobu ile değerlendirildi. Nükleer boyanma pozitif olarak kabul edildi. Her vakada boyanma yaygınlığının en yoğun olduğu alanlar tespit edilerek pozitif olanların yüzdesi hesaplandı ve %25'ten az boyanma bir pozitif (+), %25-50 arası boyanma iki pozitif (++), %50'den fazla boyanma üç pozitif (+++) olarak kabul edildi.

### **İN SİTU HİBRİDİZASYON YÖNTEMİ (ISH)**

İN situ hibridizasyon (ISH); hücrelerde veya dokulardaki spesifik gen ürünlerini ortaya çıkarmak için kullanılan bir tekniktir. Tamamlayıcı DNA veya RNA (cDNA, cRNA)'nın saptanması için uygulanmaktadır.

ISH; kromozomlar, hücreler veya doku kesitlerinde nükleik asit dizilerinin saptanmasını çift iplikçikli nükleik asit oluşumu temeline dayanarak sağlamaktadır. Tamamlayıcı DNA veya RNA; sitolojik materyallerde ve doku kesitlerinde bir DNA veya RNA probu kullanılarak kolorimetrik veya metalografik teknikler ile görüntülenmektedir. Bu yöntemle gen ekspresyon paterninin belirlenmesi, aynı zamanda gen fonksiyonu ile ilgili de bilgi verilebilmektedir. İşaretleyici prob; floresan bir madde ise immunfloresan mikroskopi ile tespit edilebilir ve yöntem Floresan İN Situ Hibridizasyon (FISH) olarak adlandırılmaktadır.

İşaretleyici probun bu yöntemde olduğu gibi floresan bir madde değil de bir boya maddesi olduğu durumda ise yöntem Kromojenik İn situ Hibridizasyon (CISH) olarak adlandırılmakta ve değerlendirme ışık mikroskopi altında yapılmaktadır. ISH ile aynı zamanda viral, bakteriyel ve fungal organizmaların morfolojik olarak tespit edilebilmesi özelliğinden faydalanarak biz de çalışmamızda EBERS (EBV-encoded small nuclear early regions) (EBV RNA) varlığını saptamak için CISH yöntemini kullandık. Bu yöntem literatürde belirtilen diğer yöntemler olan PCR yöntemiyle EBV ekspresyonu veya immunhistokimyasal (IHK) yöntem ile EBV latent membran proteinin saptanmasına göre daha geçerli ve daha ideal bir yöntemdir (21).

## **Çalışmamızda Değerlendirilen EBER'in Özellikleri ve Değerlendirme Parametreleri**

EBV; Herpes virüs ailesinin bir üyesi olup, diğer herpes virüsler gibi zarflı bir virüstür ve izozahedral bir kapsül ile sarılı DNA koru içeren, tüm dünyada endemik olan bir virüstür. Dünyadaki erişkinlerin %90'ını enfekte etmektedir (29,30). Bir kez enfekte olan kişi ömür boyu virüsü taşımaktadır.

EBV'ü tespit etmek için 3 yöntem kullanılmaktadır. Bunlar başta ISH olmak üzere PCR ve immünohistokimyasal yöntemlerdir.

ISH, EBER RNA tespit edilmesi için önerilen ideal yöntemdir (29). PCR ve CISH yöntemlerinde EBV RNA tespitinde birbirine yakın sensitivite görülse de; immünohistokimyasal teknik EBV'ü saptamada bu iki yöntem kadar sensitif değildir. CISH için PCR yöntemine göre daha büyük dokuya ihtiyaç olsa da; aynı zamanda bu yöntemde enfekte hücre tipinin belirlenmesi avantajdır (29,31).

EBV başta enfeksiyöz mononükleoz olmak üzere; Burkitt lenfomanın, birçok lenfoproliferatif hastalığın, klasik Hodgkin lenfomanın, DBBHL'nın, lenfomatoid granulomatozis, Santral Sinir Sistemi'nin HIV ilişkili lenfomalarının ve nazofaringeal kanser gibi bazı epitelyal kanserlerin etyolojilerinde rol oynayabilmektedir (32).

DBBHL nadir olarak Epstein-Barr virus (EBV) ile ilişkili bulunmakla birlikte eğer görülürse sıklıkla anaplastik ve plazmoblastik varyantta veya daha yaşlı hastalarda saptanmaktadır. Bunun yanı sıra immüno-suprese hastalarda da EBV ile çok kuvvetli birliktelik görülmektedir.

Çalışmamızda daha önceden Bio-Care marka EBV01 klon kullanılarak pozitif kontrollü preparatlar ışık mikroskobu ile değerlendirildi. Koyu mavi/ siyah nükleer boyanma pozitif olarak kabul edildi.

## VI. BULGULAR

Çalışma Ocak 2015-Aralık 2016 tarihleri arasında, Sağlık Bilimleri Üniversitesi Okmeydanı Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Patoloji Bölümü'nde DBBHL lenfoma tanısı almış 61 olgu ile gerçekleştirilmiştir.

Çalışmaya, yaşları 31 ile 90 arasında değişen, ortalama yaşı 61 olan, 28 kadın, 33 erkek olgu alınmıştır. Olgular 50 yaş üstü ve 50 yaş altı olmak üzere iki gruba ayrılmıştır. Olguların %26'sı (n=16) 50 yaş altında, %74'ü (n=45) 50 yaş üstündedir (Tablo 4.1).

**Tablo 4.1:** Tanımlayıcı Özelliklerin Dağılımları

<b>Yaş (yıl)</b>	<i>Min-Mak (Medyan)</i>	31-90 (61)
	<i>Ss</i>	14,97
<b>Cinsiyet; n (%)</b>	<b>Kadın</b>	28 (45,9)
	<b>Erkek</b>	33 (54,1)
<b>Tümörün lokalizasyonu; n (%)</b>	<b>Nodal</b>	26 (42,6)
	<b>Ekstranodal</b>	35 (57,4)
<b>Bcl-2 İHK boyanması; n (%)</b>	<b>Negatif</b>	9 (14,7)
	<b>%0-25</b>	10 (16,4)
	<b>%25-50</b>	5 (8,2)
	<b>&gt;%50</b>	37 (60,7)
<b>Bcl-6 İHK boyanması; n (%)</b>	<b>Negatif</b>	3 (4,9)
	<b>%0-25</b>	8 (13,1)
	<b>%25-50</b>	18 (29,5)
	<b>&gt;%50</b>	32 (52,5)
<b>c-myc İHK boyanması; n (%)</b>	<b>Negatif</b>	6 (9,84)
	<b>%0-25</b>	23 (37,70)
	<b>%25-50</b>	19 (31,15)
	<b>&gt;%50</b>	13 (21,31)
<b>EBER CISH boyanması; n (%)</b>	<b>Pozitif</b>	4 (6,6)
	<b>Negatif</b>	57 (93,4)

İHK: İmmünohistokimya, CISH: Kromojen in situ hibridizasyon

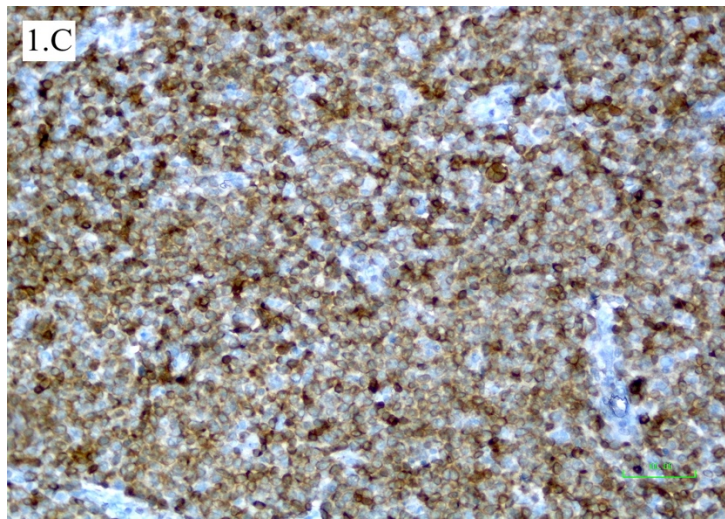
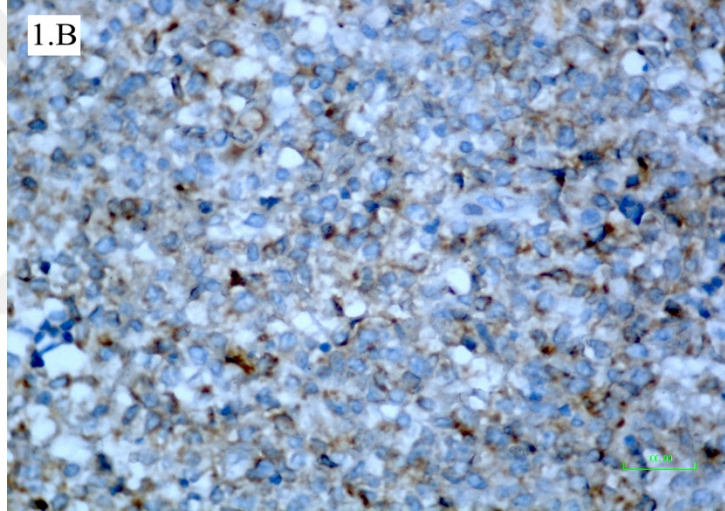
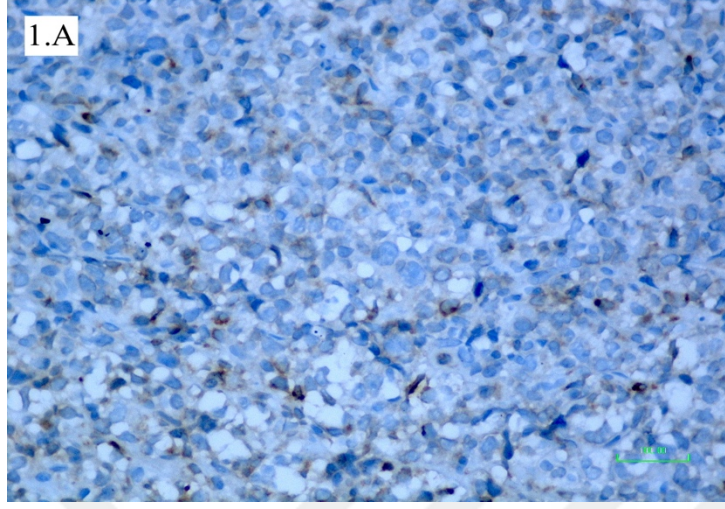
Tümörün lokalizasyonu incelendiğinde %42,6 oranında(n=26) nodal, %57,4 (n= 35) oranında ektranodal saptanmıştır.

Bcl-2 ile %85,3 (n=52), bcl-6 ile %95,1(n=58), c-myc ile %90,2 (n=55)'sinde değişen yüzdelerde pozitif boyanma izlenmiştir.

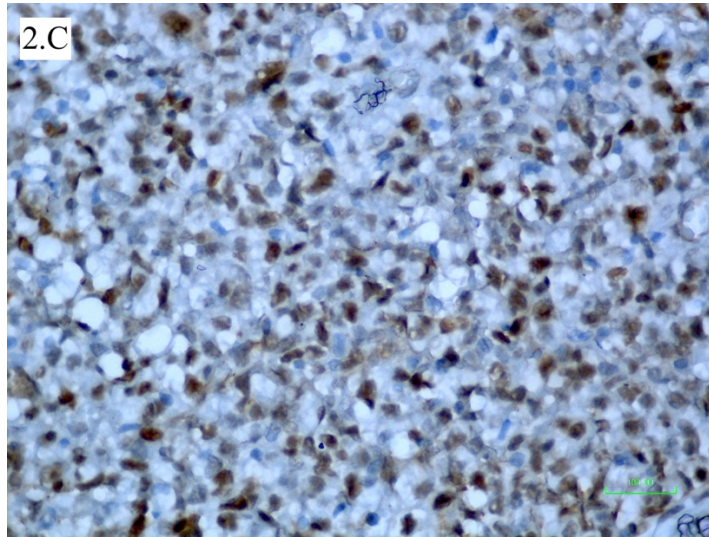
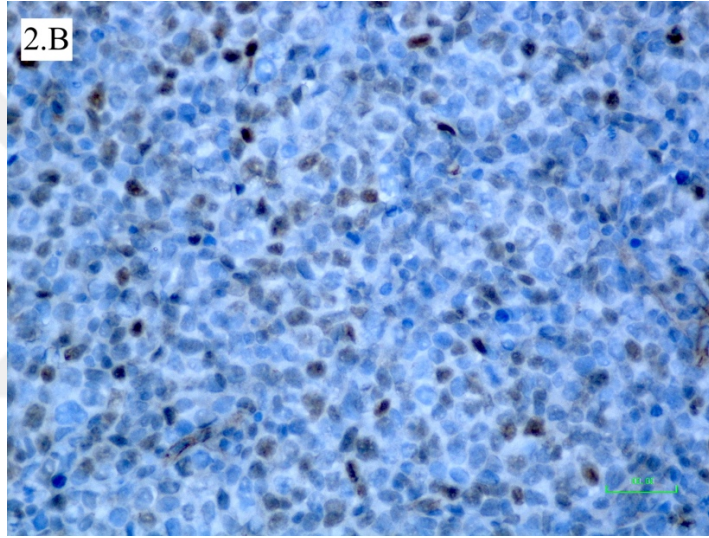
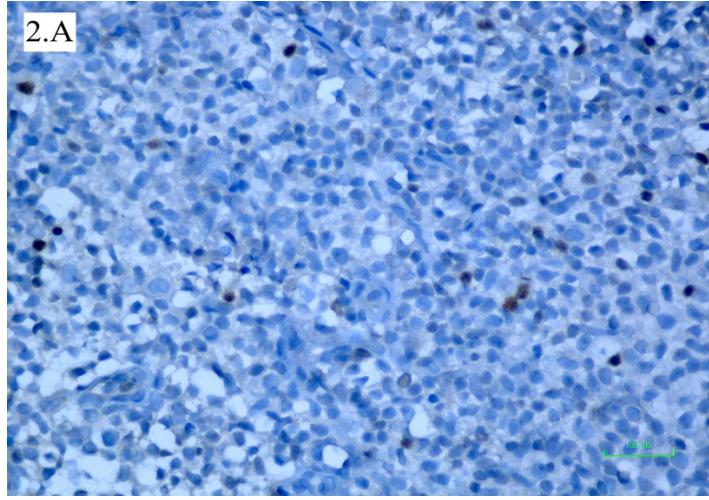
İHK'sal olarak Bcl-2 ile %85,3 (n=52) oranında pozitif boyanma izlenmiş olup olguların %16,4 (n=10)'ünde %0-25 boyanma, %8,2 (n=5)'sinde %25-50 boyanma, %60,7 (n=37)'sinde %50'den fazla sitoplazmik boyanma saptanırken %14,8 (n=9)'inde boyanma izlenmemiştir (Şekil 4.1).

İHK'sal olarak Bcl-6 ile %95,1(n=58)'inde pozitif boyanma izlenmiş olup olguların %13,1 (n=8)'inde %0-25 boyanma, %29,5 (n=18)'inde %25-50 boyanma, %52,5 (n=32)'inde %50'den fazla nükleer boyanma saptanırken %4,9 (n=3)'unda boyanma izlenmemiştir (Şekil 4.2).

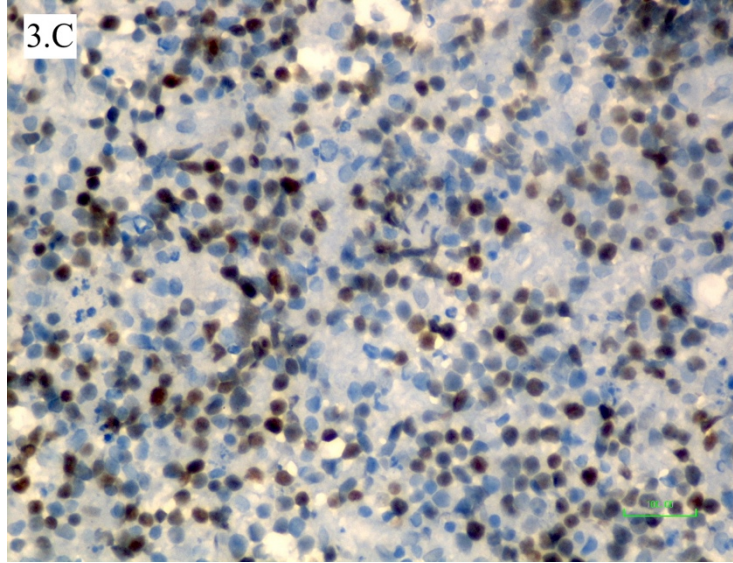
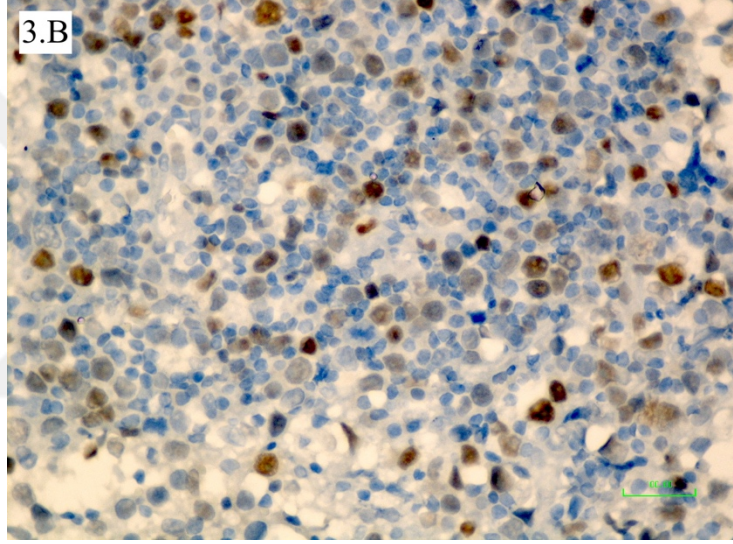
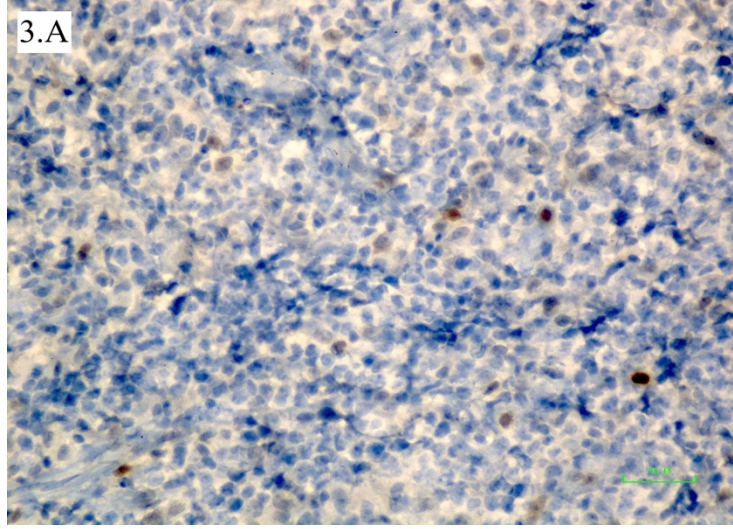
İHK'sal olarak c-myc ile %90,2 (n=55)'sinde pozitif boyanma izlenmiş olup olguların %37,7 (n=32)'ünde %0-25 boyanma, %31,1 (n=19)'inde %25-50 boyanma, %21,3 (n=13)'ünde %50'den fazla nükleer boyanma saptanırken %9,8 (n=6)'inde boyanma izlenmemiştir (Şekil 4.3).



**Şekil 4.1:** Bcl-2 immünohistokimyal yöntem ile sitoplazmik boyanma, %0-25 boyanma (1.A, x400), %25-50 boyanma (1.B, x400), >%50 boyanma (1.C, x200)

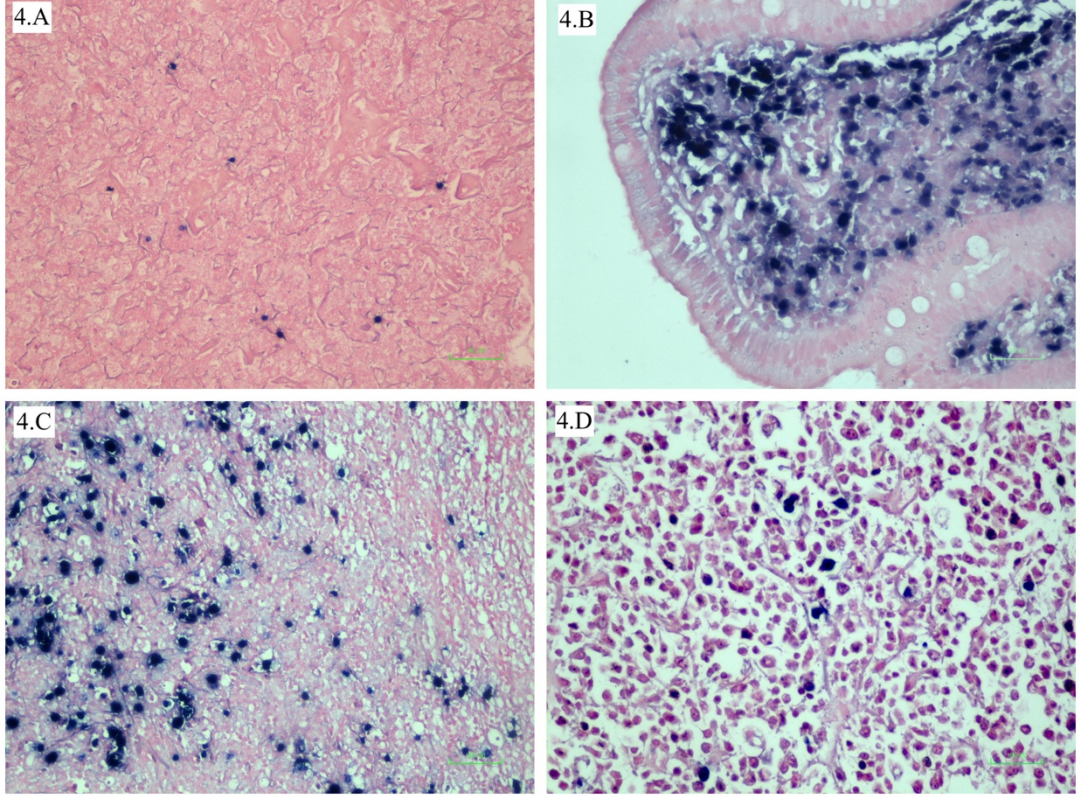


Şekil 4.2: Bcl-6 immünohistokimyal yöntem ile nükleer boyanma %0-25 boyanma (2.A, x400), %25-50 boyanma (2.B, x400), >%50 boyanma (2.C, x400)



**Şekil 4.3:** c-myc ile immünohistokimyasal yöntem ile nükleer boyanma, %0-25 boyanma (3.A, x400), %25-50 boyanma (3.B, x400), >%50 boyanma (3.C, x400)

CISH yöntemi ile yapılan EBER boyanması ile %6,6 (n=4) olguda boyanma saptanırken, 57 (93,4) olguda boyanma izlenmemiştir (Şekil 4.4)



**Şekil 4.4:** EBER CISH ile olgularımızdaki boyanma paternleri, 1. Olgu (4.A, x200), 2. Olgu (4.B, x400), 3. Olgu (4.C, x200), 4. Olgu (4.D, x200)

Yaş grupları arasında değerlendirilen değişkenler açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır ( $p>0.05$ ) (Tablo 4.2).

**Tablo 4.2:** Yaş Grubuna Göre Verilerin Karşılaştırılması

N:61		Yaş <50 (n:16)	Yaş >50 (n:45)		
		n(%)	n(%)	$\chi^2$	p
<b>Lokalizasyon</b>	<b>Nodal</b>	8(50.0)	18(40.0)	0.483	0.487
	<b>Ekstranodal</b>	8(50.0)	27(60.0)		
<b>Cinsiyet</b>	<b>Kadın</b>	6(27.5)	22(48.9)	0.617	0.432
	<b>Erkek</b>	10(62.5)	23(51.1)		
<b><sup>F</sup>Bcl-2 İHK boyanması; n (%)</b>	<b>Negatif</b>	5(31.2)	4(8.9)	6.998	0.072
	<b>%0-25 Boyanma</b>	4(25.0)	6(13.3)		
	<b>25-50 Boyanma</b>	1(6.2)	4(8.9)		
	<b>&gt;50 Boyanma</b>	6(37.5)	31(68.9)		
<b><sup>F</sup>Bcl-6 İHK boyanması; n (%)</b>	<b>Negatif</b>	1(6.2)	2(4.4)	3.308	0.347
	<b>%0-25 Boyanma</b>	2(12.5)	6(13.3)		
	<b>25-50 Boyanma</b>	2(12.5)	16(35.6)		
	<b>&gt;50 Boyanma</b>	11(68.8)	21(46.7)		
<b>c-myc İHK boyanması; n (%)</b>	<b>Negatif</b>	2(12.5)	4(8.9)	1.504	0.681
	<b>%0-25 Boyanma</b>	4(25.0)	19(42.2)		
	<b>25-50 Boyanma</b>	6(37.5)	13(28.9)		
	<b>&gt;50 Boyanma</b>	4(25.0)	9(20.0)		
<b><sup>F</sup>EBER CISH boyanması; n (%)</b>	<b>Negatif</b>	13(81.2)	44(97.8)	5.262	0.052
	<b>Pozitif</b>	3(18.8)	1(2.2)		

Ki Kare, <sup>F</sup>Fischer Exact Ki Kare, İHK İmmünohistokimya, CISH Kromojen in situ hibridizasyon

Cinsiyet grupları arasında değerlendirilen değişkenler açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır ( $p>0.05$ ) (Tablo 4.3).

**Tablo 4.3:** Cinsiyete Göre Verilerin Karşılaştırılması

N:61		Kadın (n:28)	Erkek (n:33)		
		N(%)	N(%)	$\chi^2$	p
<b>Lokalizasyon</b>	<b>Nodal</b>	11(39.3)	15(45.5)	0.236	0.627
	<b>Ekstranodal</b>	17(60.7)	18(54.5)		
<b>Yaş Grubu</b>	<b>&lt;50</b>	6(21.4)	10(30.3)	0.617	0.432
	<b>&gt;50</b>	22(78.6)	23(69.7)		
<b><sup>F</sup>Bcl-2 İHK boyanması; n (%)</b>	<b>Negatif</b>	4(14.3)	5(15.2)	2.503	0.531
	<b>%0-25 Boyanma</b>	4(14.3)	6(18.2)		
	<b>25-50 Boyanma</b>	4(14.3)	1(3.0)		
	<b>&gt;50 Boyanma</b>	16(57.1)	21(63.6)		
<b><sup>F</sup>Bcl-6 İHK boyanması; n (%)</b>	<b>Negatif</b>	1(63.6)	2(6.1)	0.458	1.000
	<b>%0-25 Boyanma</b>	4(14.3)	4(12.1)		
	<b>25-50 Boyanma</b>	8(28.6)	10(30.3)		
	<b>&gt;50 Boyanma</b>	15(53.6)	17(51.5)		
<b>c-myc İHK boyanması; n (%)</b>	<b>Negatif</b>	2(7.1)	4(12.)	0.857	0.836
	<b>%0-25 Boyanma</b>	12(42.9)	11(33.3)		
	<b>25-50 Boyanma</b>	8(28.6)	11(33.3)		
	<b>&gt;50 Boyanma</b>	6(21.40)	7(21.2)		
<b><sup>F</sup>EBER CISH boyanması; n (%)</b>	<b>Negatif</b>	27(96.4)	30 (90.9)	0.753	0.618
	<b>Pozitif</b>	1(3.6)	3(9.1)		

Ki Kare, <sup>F</sup>Fischer Exact Ki Kare, İHK İmmünohistokimya, CISH Kromojen in situ hibridizasyon

EBER pozitifliğine göre değerlendirilen değişkenler açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır ( $p>0.05$ ) (Tablo 4.4).

EBER pozitifliği görülen olguların yaşları 34 ile 78 arasında değişmekte olup ortalama yaş 57'dir.

50 yaş altında 3 vakada, 50 yaş üstünde 1 vakada boyanma izlenmiştir. 50 yaş altındaki olguların ortalama yaşı 43,6'dır.

EBER pozitif olguların tümünde değişen yüzdelerde Bcl-6 ve c-myc ile boyanma izlenmiştir.

EBER pozitif olguların %50'sinde Bcl-2 ile pozitiflik görülmüştür.

**Tablo 4.4:** EBER Boyanmasına Göre Verilerin Karşılaştırılması

N:61		Negatif (n:57)	Pozitif (n:4)		
		N (%)	N (%)	$\chi^2$	p
<sup>F</sup> Lokalizasyon	Nodal	24(42.1)	2(50.0)	0.095	1.000
	Ekstranodal	33(57.9)	2(50.0)		
<sup>F</sup> Yaş Grubu	<50	13(22.8)	3(75.0)	5.262	0.052
	>50	44(77.2)	1(25.0)		
<sup>F</sup> Cinsiyet	Kadın	27(47.4)	1(25.0)	0.753	0.618
	Erkek	30(52.6)	3(75.0)		
<sup>F</sup> Bcl-2 İHK boyanması; n (%)	Negatif	7(12.3)	2(50.0)	3.415	0.223
	%0-25 Boyanma	10(17.5)	0(0.0)		
	25-50 Boyanma	5(8.8)	0(0.0)		
	>50 Boyanma	35(61.4)	2(50.0)		
<sup>F</sup> Bcl-6 İHK boyanması; n (%)	Negatif	3(5.3)	0(0.0)	2.593	0.547
	%0-25 Boyanma	7(12.3)	1(25.0)		
	25-50 Boyanma	18(31.6)	0(0.0)		
	>50 Boyanma	29(50.9)	3(75.0)		
c-myc İHK boyanması; n (%)	Negatif	6(10.5)	0(0.0)	0.783	1.000
	%0-25 Boyanma	21(36.8)	2(50.0)		
	25-50 Boyanma	18(31.6)	1(25.0)		
	>50 Boyanma	12(21.1)	1(25.0)		

Ki Kare, <sup>F</sup>Fischer Exact Ki Kare, İHK İmmünohistokimya, CISH Kromojen in situ hibridizasyon

## İSTATİSTİKSEL İNCELEMELER

İstatistiksel analizler için SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) V21 2012 programı kullanıldı. Çalışma verileri değerlendirilirken tanımlayıcı istatistiksel metodların (Ortalama, Standart Sapma, Medyan, Frekans, Oran, Minimum, Maksimum) yanısıra niteliksel verilerin karşılaştırılmasında ise Fisher

Exact Ki Kare ile Ki Kare testi kullanıldı. Anlamlılık  $p < 0,05$  düzeyinde değerlendirildi.



## V.TARTIŞMA

DBBHL, NHL'ların en sık görülen tipidir ve farklı patogenepler ve klinik antiteler içerir. Hastalığın biyolojik davranışının, yayılımının ve farklı tedavi rejimlerine yanıtının belirlenmesi; uygun yönetim, hastalığın akıbeti ve ilerlemesini önlemek için gereklidir (33). Hücre kökenine göre DBBHL'ların germinal merkez (GM) ve germinal merkez dışı (GMD) olarak ayrımı ilk kez gen ekspresyon profili çalışması ile yapılmıştır (15). GM ve GMD fenotipleri DBBHL'nın akıbetini belirlemede prediktör olabileceği, kemoterapi tedavisi alan hastaların düşük ve yüksek riskli gruplara ayrılabilceği söylenmiştir. İmmünohistokimya alanındaki gelişmelere bağılı olarak modern immünohistokimyasal teknikler ile farklı proteinlerin saptanması sağlanmıştır. Hans ve ark. tarafından immünohistokimyasal olarak bcl-6, CD10 ve MUM-1 ile DBBHL'ların subgruplarının sınıflanabileceği ve klinikte daha uygulanabilir olduğu gösterilmiştir (34). Diğer neoplazilerde olduğu gibi DBBHL'da bu immün belirteçler spesifik değildir. İmmünofenotipteki tanısal farklılıklar genetik özelliklerin rolünün artmasına neden olmuştur. Genetik çalışmalar, klonalite tespiti ve hastalıklara spesifik translokasyonların tespiti açısından değerli hale gelmiştir. Zaman içinde gelişen ek genetik değişiklikler sonucu daha agresif ya da daha selim gidişli neoplazilere dönüşümle sonlanabilir.

DBBHL'ların klinik ve morfolojik özellikleri, tedavi yanıtları, prognozları ve sağkalımlarının kendi içinde farklılık gösteren heterojen bir lenfoma olması nedeniyle; uygun tedavi yöntemlerinin belirlenmesi için genetik ve moleküler çalışmaların yapılması gerekliliğini doğurmuştur. Ancak bu yöntemler pahalı olmaları ve uygulama zorlukları nedeniyle her patoloji laboratuvarında kullanılmamaktadır. Bu da daha ucuz ve uygulanabilir yöntemlerin arayışına neden olmaktadır.

EBV herpes virüs ailesinden bir DNA virüsü olup ilk olarak 1964'te Burkitt lenfomada hücre kültüründe saptanmıştır (35). Çoğu kişi çocukluk ya da erken adölesan dönemde enfekte olur ve vakaların %35-69'unda enfeksiyöz mononükleoza neden olur. EBV enfeksiyonu; Burkitt Lenfoma, Plazmablastik lenfoma, NK/T hücreli lenfoma, Anjiyoimmünoblastik lenfoma, Hodgkin lenfoma, İmmünyetmezlik ilişkili lenfoproliferatif hastalık gibi birçok lenfoproliferatif hastalıkla da ilişkilidir (36).

EBV hem epitelyal hücreleri hem de lenfositleri enfekte eder, CD21 yüksek hafıza B hücrelerine karşı spesifik eğilimi vardır. Bu hücreler de latent enfeksiyon için viral rezervuar oluşturur. Latent viral antijenlerin ekspresyonuna bağlı olarak farklı B hücre diferansiasyon evrelerinde üç latent program ileri sürülmüştür. Bunlar, naiv B hücrelerinde latens tip III (büyüme programı), germinal merkez latens tip II (olağan program) ve hafıza B hücrelerinde latens tip I'dir (37).

Yaşlılığın EBV pozitif DBBHL'sı, 2008 yılında yayınlanan, WHO hematopoetik ve lenfoid doku tümörlerinin sınıflamasının dördüncü baskısında yeni bir antite olarak tanımlanmıştır. 50 yaşından büyük, öncesinde lenfoma öyküsü ve altta yatan immünyetmezliği olmayan hastalarda tanımlanmıştır. İleri evre hastalık ve ektranodal tutulum ile ilişkilidir (38). EBV pozitif DBBHL'nın daha genç yaşlarda ve daha geniş spektrumda görülmeye başlanması sonucu oluşan yeni bilgiler ile bu antite 2016 yılında lenfoma sınıflamasındaki revizyon sonucu EBV (+) DBBHL, NOS olarak değiştirilmiştir (6).

EBV pozitif DBBHL'daki lenfomagenezisin mekanizması latent membran protein-1 (LMP-1) ve azalmış T hücre efektör yanıtı (immün yaşlanma) ile ilişkilidir. Ishtiaq ve ark NHL'larda EBV frekansını %12,7 olarak bulmuşlar ve en sık diffüz büyük B hücreli lenfomada saptamışlardır. Diffüz büyük B hücreli lenfomada %44,4 oranında, 21 vakanın 4'ünü EBV pozitif olarak bulmuşlardır (39). Genç yetişkinlerdeki EBV pozitif DBBHL için az sayıda çalışma bulunmaktadır. Hong ve ark gençlerde görülen EBV pozitif DBBHL'nın, yaşlılığın EBV pozitif DBBHL ile karşılaştırıldığında farklı bir antite olduğunu, ayrı bir patogenez ve davranış gösterdiğini belirtmişlerdir. Hong ve ark. genç yetişkinlerdeki lenfomagenezisin farklı bir mekanizma ile olabileceğini, klinik olarak ayrı antite olarak düşünülmesi gerektiğini belirtmişler; az sayıda vaka ile yaptıkları çalışmalarında 2 olguda kromozom 18'in kısa kolundaki kaybın sık olduğunu bulmuşlardır. Her ne kadar ön sonuçlar olsa da yaşlılardaki ve gençlerdeki EBV pozitif DBBHL'nın farklı genetik ve moleküler değişikliklerin araştırılması gerektiğinin üzerinde durmuşlardır (40). Cohen ve ark bu antitenin sadece yaşlılarla sınırlandırılmayacağını, DSÖ sınıflamasında yaş sınırının revize edilmesini önermiştir (41). 2016 yılında da yapılan revizyon sonucu yaşlılığın terimi kaldırılmış, genç yaşlarda da görülebileceği belirtilmiştir.

Monabati ve ark. yaptığı çalışmada EBV pozitif DBBHL prevalansını %11,6 olarak belirtmiş olup, çalışmalarında 50 yaş üstündeki vaka sayısı 50 yaş altına göre daha fazla bulunmuştur. Genç yaş grubundaki ortalama yaş 41, yaşlı gruptaki ortalama yaş 66,25 olarak belirlenmiştir (36). Bizim çalışmamızda değerlendirdiğimiz DBBHL vakalarında ortalama yaş 61 olup EBV pozitifliği görülme oranı %6,6'dır. EBV pozitif olan vakalardaki ortalama yaş 57 olarak izlenmiştir. Çalışmaya 50 yaş altında 16 vaka, 50 yaş üstünde 45 vaka alınmıştır. 50 yaş altındaki grupta EBV üç olguda pozitif görülmüştür. Bu olguların ortalama yaşı 43,6'dır. Monabati ve ark. yaptığı çalışmaya yakın sonuç elde edilmiştir. 50 yaş üzerinde 78 yaşında bir olguda pozitiflik görülmüştür. Daha geniş serilerde yapılacak olan kapsamlı çalışmalar ile 50 yaş üzerindeki grupta da benzer sonuçlar elde edilebileceğini düşünüyoruz. EBV pozitif prevalansının da daha düşük görülmesi vaka sayısının kısıtlılığına bağlı olabilir.

Moleküler ve genetik çalışmalar, GM ve post germinal merkez B hücrelerinden kaynaklanan en az iki DBBHL profili tanımlamıştır. EBV, iki primer transkript olan BHRF1 ve BART'dan multipl mikroRNA (miRNAs) kodlar. BHRF1 miRNA ekspresyonu viral latent bağliken, BART miRNA tüm latent formlarındaki hücrelerde eksprese olur. Son zamanlarda GM üzerinde anahtar rol oynayan Bcl-6 üzerinde disregülasyona neden olan üç özel EBV ilişkili miRNA gösterilmiştir. EBV nedenli nükleer faktör-kB (NF-kB) yolağı aktivasyonu DBBHL hücrelerinin hayatta kalması için gerekli olabileceğı; NF-kB'nin daha kötü gidişli olan DBBHL'nin post GM varyantında daha fazla ilişkili olabileceğı öngörülmüştür. Buna ek olarak genetik faktörler EBV ilişkili lenfomaların gelişmesinde rol oynamaktadır (25).

EBV pozitif lenfomalar bu nedenle genelde germinal merkez dışı immün fenotip gösterirler. Bcl-6 ve CD10 ile negatifken, MUM-1 ve CD30 eksprese ederler (42). Uccini ve ark yaptığı çalışmada 7 pediatrik EBV pozitif DBBHL olgusunda tümü germinal merkez fenotipte bulunmuştur (43). GM ve GM dışı subtiplerdeki insidansın önemini tanımlamak için ileri çalışmalar gerekmektedir.

DBBHL'da çok sayıda sitogenetik translokasyonlar bulunmuştur. Bcl-2, Bcl-6 ve c-myc lokuslarını etkileyen translokasyonlar en sık görülür ve bu translokasyonların prognostik uyumluluğı tartışmalıdır. Bcl-2 gen reorganizasyonu GM DBBHL ile ilişkili olup bu subtipde kötü prognostik faktördür. Bununla birlikte diğer çalışmalarda Bcl-2'nin prognostik önemi belirlenmemiştir. Bcl-6 translokasyonu GM

dışı DBBHL subtipinde yüksek oranda görülür ancak sağkalım üzerindeki etkisini gösteren çalışmalar çelişkilidir. Myc translokasyonu DBBHL'da %5-10 arasında görülür. Yoğun tedavi gerektiren hasta seçimi için myc statusu kritik faktördür. Son zamanlarda Myc proteinin N-terminalini hedef alan monoklonal antikor gösterilmiştir. Parafin gömülü dokularda sensitif ve spesifik nükleer boyanma sağlar. Bu antikor ile myc translokasyonu olan DBBHL olgularının tanınabilir, İHK ile myc pozitif gelen DBBHL olgularının daha agresif tedavi almaları gerektiği şüphesini uyandırabilir (44).

Fluorescence in situ hybridization (FISH) yöntemi ve karyotip analizi, myc gen anormalliklerini göstermek için kullanılan standart yöntemlerdir. Ancak bu yöntemler pahalı olmaları ve uygulama zorlukları nedeniyle her patoloji laboratuvarında kullanılamamaktadır. Bu da bizleri daha ucuz ve uygulanabilir yöntemler arayışına itmektedir. Bu amaçla çalışmamızda da c-myc antikorunun Bcl-2 ve Bcl-6 antikorları ile EBV pozitifliği arasındaki ilişkisi araştırılmıştır. Yapılan çalışmalarda myc translokasyonu gösteren olgularda immünohistokimya ile %50'den fazla nükleer boyanma izlenmiştir (45). Bellas ve ark da bu boyanma oranını temel alarak yaptıkları çalışmada %29 oranında boyanma izlenmişlerdir. Çoğu çalışmada myc boyanma için kullanılan limit %40 oranındadır (46). Bizim çalışmamızda %50 oranındaki boyanma oranına baktığımızda %21 oranında boyanma izlenmiştir. Literatüre göre benzer boyanma görülen bu olguların myc gen değişiklikleri gösterebileceği ve agresif gidişli olabilecekleri için seçilip uygun agresif tedavi yöntemlerinin uygulanması gerekir.

Bellas ve ark. yaptığı çalışmada 100 DBBHL olgusunun, 20'sinde Bcl-2 translokasyonu saptanmış olup 62 olguda Bcl-2 protein ekspresyonu (E17 klonu) izlenmiştir. Klon 124 kullanıldığında pozitif olgu sayısı 77'ye yükselmiştir. Bcl-2 protein ekspresyonu translokasyon ve amplifikasyon ile uyumlu bulunmuştur. Bcl-2 translokasyonu ile GM fenotipi ile ilişkili iken; bcl-2 protein ekspresyonu ile hücre kökeni arasında korelasyon izlenmemiştir. Bcl-2 over ekspresyonu vakaların yaklaşık %60'ında görülürken, sadece %15-20'sinde translokasyon görülmüştür bu da protein ekspresyonunda başka mekanizmalar olduğunu da göstermektedir (44).

Bizim çalışmaya aldığımız olgularda Bcl-2 ekspresyonu değişen yüzdelerde %85,3 oranında izlenmiştir. Literatüre göre görülen bu fazla boyanma oranı kullanılan klon ile ilgili olabilir. Bellas ve ark yaptığı çalışmasında %50'den fazla boyanmayı pozitif kabul ederek vakaları değerlendirmişlerdir. Bizim çalışmamızın sonuçlarının

Bellas ve ark göre yüksek oranda görülmesi bizim seyrek hücre zayıf görülen boyanmaları da pozitif kabul etmemizden kaynaklandığını düşünüyoruz. Çalışmaya aldığımız olgularda, %50'den fazla boyanma sitoplazmik boyanma oranına baktığımızda sonuçları literatür ile benzer nitelikte olup %60 oranındadır.

Myc ve bcl-2 ile koekspresyonu DBBHL olgularının risk gruplandırılmasında önemli bir araç olarak tanımlanmıştır (46). Myc ve Bcl-2 koekspresyonu sinerjistik bir etki yaratarak proliferasyonu arttırıp apoptozun bloke olmasına neden olur bu da kötü gidişi arttırır.

Bizim çalışmamızda 9 olguda bcl-2 ve myc ile %50'den fazla birlikte boyanma izlenmiştir bu olgular gen değişikliği gösterebileceğini ve yönden de araştırılması gerektiğini düşünmekteyiz.

Bcl-6 normal lenfoid dokuda germinal merkez hücreleri tarafından eksprese edilir. Naz ve ark. yaptığı çalışmada GM subtipinin %86'sında, GM dışı vakaların %70'inde bcl-6 ile boyanma izlenmiştir (33). Bellas ve ark. yaptığı çalışmada 100 olgunun 52'sinde bcl-6 gen değişiklikleri izlenmiştir. Bu genetik değişiklikler 22 olguda translokasyon, 29 olguda amplifikasyon ile birlikte translokasyon, 30 olguda amplifikasyon şeklindedir. Bcl-6 protein ekspresyonu 63 olguda izlenmiştir. Bcl-6 translokasyonu ile protein ekspresyonu arasında ilişki bulunmamıştır (44).

Bizim çalışmamızda ise bcl-6 protein ekspresyonu değişen yüzdelerde %95 oranında izlenmiştir.

Ziarkiewicz ve ark. yaptığı çalışmada EBV pozitif DBBHL'da tümör hücrelerinde azalmış bcl-6 ekspresyonu saptanmıştır. Çalışmadaki EBER pozitif olguların ortalama yaşı 57,9'dur (37). Bizim çalışmamızda EBER pozitif olguların tümünde bcl-6 ile değişen yüzdelerde pozitiflik görülmüştür. Daha geniş serilerle yapılacak daha kapsamlı çalışmalar ile literatür ile benzer sonuçlar elde edilebilir.

Uccini ve ark. EBV pozitif DBBHL olan 7 pediatrik olguda myc ve bcl-2 statüsünü değerlendirmişlerdir. 2 olguda bcl-2 ile %50'den fazla boyanma, myc ile 1 olguda %50'den fazla, 5 olguda %10-50 oranında boyanma izlemişlerdir. Çocuklarda görülen histolojik bulgular, polimorfik ve monomorfik patern, nekroz alanları, EBV ile enfekte tümör hücre oranı, germinal merkez dışı orijin Bcl-2 ve myc translokasyonlarının olmayışı yaşlılarda görülenler ile benzerlik göstermektedir (43).

Bizim çalışmamızda 9 olguda bcl-2 ve myc ile %50'den fazla birlikte boyanma izlenmiş olup bu olgularda EBER negatif olarak bulunmuştur. EBER pozitif 2 olgumuzda bcl-2 ve c-myc ile %50'den fazla birlikte boyanma izlenmemiştir.

Bizim çalışmamızda DBBHL olgularında bcl-2, bcl-6 ve myc ile boyanma yüzdeleri ile EBV varlığı arasındaki ilişki olguların yaşına bakmaksızın saptanmaya çalışılmıştır ancak istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır. Bu durumun vaka sayısının kısıtlılığı ile ilişkili olduğunu ve daha geniş serilerde yapılacak daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç olduğunu düşünüyoruz.



## VI. SONUÇLAR

Bu çalışma; DBBHL'nın immünofenotipik özelliklerini ortaya koymanın yanı sıra; bu olgularda CISH yöntemi ile saptanan EBER varlığının olguların yaş ve cinsiyetleri ile ilişkili olup olmadığını göstermeyi amaçlamaktadır.

Çalışmamızın sonuçlarına göre EBER DBBHL olgularında %6,6 oranında saptanmıştır. Bu olguların yaşları 34 ile 78 arasında değişmekte olup ortalama yaş 57'dir. 50 yaş altında 3 vakada, 50 yaş üstünde 1 vakada boyanma izlenmiştir. 50 yaş altında pozitiflik görülen olguların ortalama yaşı 43,6'dır.

Erkeklerde kadınlara göre daha fazla pozitiflik görülmüştür.

Bcl-2 ile %85,3 (n=52), Bcl-6 ile %95,1(n=58), c-myc ile %90,2 (n=55)'sinde değişen yüzdelerde pozitif boyanma izlenmiştir.

EBER (+) olguların tümünde Bcl-6 ve c-myc ile değişen yüzdelerde pozitif boyanma izlenmiştir. Bcl-2 ile iki olguda pozitiflik izlenmiştir.

9 olguda bcl-2 ve myc ile %50'den fazla birlikte boyanma izlenmiş olup bu olgularda EBER negatif olarak bulunmuştur.

Çalışmamızda EBER varlığının yaş, cinsiyet, bcl-2, bcl-6 ve c-myc ekspresyonu ile ilişkisi istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Bu durumun vaka sayısının kısıtlılığı ile ilişkili olduğunu ve daha geniş serilerde yapılacak daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç olduğunu düşünüyoruz.

## KAYNAKLAR

1. Gunasegaran J. Lymphoid Tissue. İçinde: Textbook of Histology and A Practical Guide. 2. baskı New Delhi: Elsevier; 2010. s. 103–31.
2. Eroschenko VP. Immune System. İçinde: difore's Atlas of Histology with Functional Correlations. 12. baskı Philedelphia: Lippincott William&Wilkins; 2013. s. 239–61.
3. Valk P van der, Meijer CJL. The Lymph Nodes. İçinde: Mills SE, editör. Histology for Pathologists. 4. baskı Philedelphia: Lippincott William&Wilkins; 2012. s. 819–34.
4. Campo E, Jaffe ES, Harris NL. Normal and Reactive Conditions of Hematopoietic Tissues. İçinde: Jaffe ES, Harris NL, Vardiman JW, Campo E, Arber DA, editörler. Hematopathology. Philedelphia: Elsevier Saunders; 2011. s. 97–211.
5. Chan AC, Chan JK. Diffuse Large B Cell Lymphoma. İçinde: Jaffe ES, Vardiman J, Campo E, Arber D, editörler. Hematopathology. 1. baskı Philedelphia: Saunders; 2010. s. 349–81.
6. Swerdlow SH, Campo E, Pileri SA, Harris NL, Stein H, Siebert R, vd. The 2016 revision of the World Health Organization classification of lymphoid neoplasms. Blood. 2016;127(20):2375–91.
7. Slack GW, Hsi ED, Gascoyne RD. Diffuse Aggressive B-Cell Lymphomas. İçinde: Hsi ED, editör. Hematopathology. 2. baskı Philedelphia: Elsevier Saunders; 2012. s. 261–93.
8. Aksu C. Burkitt Lenfoma ve Diffüz Büyük B Hücreli Lenfomalarda c-myc protein immünreaktivitesi. İstanbul Üniversitesi; 2012.
9. Hartge P, Devesa S, Fraumeni JJ. Hodgkin's and non-Hodgkin's lymphomas. Cancer Surv. 1994;19–20:423–53.
10. Roos D, Davi S, Colt J, Blair A, Airola M, Severson R. Residential proximity to industrial facilities and risk of non-Hodgkin lymphoma. Env Res Jan. 2010;110(1):70–8.
11. Stein H, Warnke R, Chan WC, Jaffe ES. Diffuse large B cell lymphoma, not otherwise specified. İçinde: Swerdlow S, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, vd., editörler. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. 4. baskı Lyon: IARC; 2008. s. 233–7.
12. Engelhard M, Brittinger G, Huhn D, Gerhartz H, Meusers P, Siegert W, vd. Subclassification of diffuse large B-cell lymphomas according to the Kiel classification: distinction of centroblastic and immunoblastic lymphomas is a significant prognostic risk factor. Blood. 1997;89(7):2291–7.
13. Lennert K, Feller A. Histopathology of non-Hodgkin's lymphomas. Berlin: Springer Verlag; 1992.
14. Harris N, Jaffe E, Stein H, Banks P, Chan J, Cleary M, vd. A revised European-American classification of lymphoid neoplasms: a proposal from the International Lymphoma Study Group. Blood. 1994;84(5):1361–92.
15. Alizadeh A, Eisen M, Davis R et al. Distinct types of diffuse large B-cell lymphoma identified

- by gene expression profiling. *Nature*. 2000;403(6769):503–11.
16. Hummel M, Bentink S, Berger H. Molecular Mechanisms in Malignant Lymphomas Network Project of the Deutsche Krebshilfe. A biologic definition of Burkitt's lymphoma from transcriptional and genomic profiling. *N Engl J Med*. 2006;354(23):2419–30.
  17. Wright G, Tan B, Rosenwald A, Hurt E et al. A gene expression-based method to diagnose clinically distinct subgroups of diffuse large B cell lymphoma. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2003;100(17):991–6.
  18. Bea S, Zettl A, Wright G, Salaverria I, Jehn P, Moreno V et al. Diffuse large B-cell lymphoma subgroups have distinct genetic profiles that influence tumor biology and improve gene-expression-based survival prediction. *Blood*. 2005;106(9):3183–90.
  19. Tagawa H, Suguro M, Tsuzuki S, Matsuo K, Karnan S, Ohshima K et al. Comparison of genome profiles for identification of distinct subgroups of diffuse large B-cell lymphoma. *Blood*. 2005;106(5):1770–7.
  20. Rosenwald A, Wright G, Chan W, Connors J, Campo E, Fisher R et al. The use of molecular profiling to predict survival after chemotherapy for diffuse large-B-cell lymphoma. *N Engl J Med*. 2002;346(25):1937–47.
  21. Conkbakır Ö. Diffüz büyük B hücreli lenfomalarda sitogenetik olarak alt tiplerin ve bunların prognostik özelliklerinin araştırılması. Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi; 2013.
  22. Piris M, Brown D, Gatter K, Mason D. CD30 expression in non-Hodgkin's lymphoma. *Histopathology*. 1990;17(3):211–8.
  23. Karube K, Campo E. MYC alterations in diffuse large B-cell lymphomas. *Semin Hematol*. 2015;52(2):97–106.
  24. Cohen M, De Matteo E, Narbaitz M, Carreño FA, Preciado M V., Chabay PA. Epstein-Barr virus presence in pediatric diffuse large B-cell lymphoma reveals a particular association and latency patterns: Analysis of viral role in tumor microenvironment. *Int J Cancer*. 2013;132(7):1572–80.
  25. Castillo JJ, Beltran BE, Miranda RN, Paydas S, Winer ES, Butera JN. Epstein-Barr Virus-Positive Diffuse Large B-Cell Lymphoma of the Elderly: What We Know So Far. *Oncologist* [Internet]. 2011;16(1):87–96. Tarihinde adresinden erişildi: <http://theoncologist.alphamedpress.org/cgi/doi/10.1634/theoncologist.2010-0213>
  26. Deveci E. İmmunohistokimya Teknikleri ve Kullanım Alanları. 2012.
  27. Reed J. Bcl-2 family proteins: regulators of apoptosis and chemoresistance in hematologic malignancies. *Semin Hematol*. 1997;34(4,5):9–19.
  28. Tsujimoto Y, Cossman J, Jaffe E, Croce C. Involvement of the bcl-2 gene in human follicular lymphoma. *Science* (80- ). 1985;228(4706):1440–3.
  29. Mahjoub F, Shahsiah R. Detection of epstein barr virus by chromogenic in situ hybridization in cases of extra-hepatic biliary atresia. *Diagn Pathol*. 2008;3:19.
  30. Cohen J. Epstein-Barr virus infection. *N Engl J Med*. 2000;343:481–92.
  31. Hassan R, White L, Stefanoff C et al. Epstein-Barr virus (EBV) detection and typing by PCR:

- a contribution to diagnostic screening of EBV-positive Burkitt's lymphoma. *Diagn Pathol.* 2006;1:17–8.
32. Adam P, Bonzheim I, Fend F. Epstein-barr virus-positive diffuse large B-cell lymphomas of the elderly. *Adv Anat Pathol.* 2011;18:349–55.
  33. Naz E, Mirza T, Danish F. Clinicopathologic Evaluation of Subgroups of Diffuse Large B Cell Lymphoma by Immunohistochemistry. *Asian Pacific J Cancer Prev.* 2011;12:3335–9.
  34. Hans C, Weisenburger D, Greiner T et al. Confirmation of the molecular classification of diffuse large B-cell lymphoma by immunohistochemistry using a tissue microarray. *Blood.* 2004;103:275–82.
  35. Dunleavy K, Roschewski M, Wilson W. Lymphomatoid granulomatosis and other Epstein-Barr virus associated lymphoproliferative processes. *Curr Hematol Malig Rep.* 2012;7:208–15.
  36. Monabati A, Vahedi A, Safaei A, Noori S, Mokhtari M, Vahedi L, vd. Epstein-Barr virus-positive diffuse large B-cell lymphoma: Is it different between over and under 50 years of age? *Asian Pacific J Cancer Prev.* 2016;17(4):2285–9.
  37. Ziarkiewicz M, Wolosz D, Dzieciatkowski T, Wilczek E, Dwilewicz-Trojaczek J, Jedrzejczak WW, et al. Epstein-Barr Virus-Positive Diffuse Large B cell Lymphoma in the Experience of a Tertiary Medical Center in Poland. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz).* 2015;159–69.
  38. Nakamura S, E J, Swerdlow S. EBV positive diffuse large B-cell lymphoma of the elderly. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. İçinde: WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. Lyon: IARC; 2008. s. 243–4.
  39. Ishtiaq S, Hassan U, Mushtaq S et al. Determination of Frequency of Epstein-Barr Virus in Non-Hodgkin Lymphomas Using EBV Latent Membrane Protein 1 (EBVLM1) Immunohistochemical Staining. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2013;14:3963–7.
  40. Hong JY, Yoon DH, Suh C, Huh J, Do IG, Sohn I, vd. EBV-positive diffuse large B-cell lymphoma in young adults: Is this a distinct disease entity? *Ann Oncol.* 2015;26(3):548–55.
  41. Cohen M, Narbaitz M, Metrebian F et al. Epstein-Barr virus-positive diffuse large B-cell lymphoma association is not only restricted to elderly patients. *Int J Cancer.* 2014;135:2816–24.
  42. O'Malley DP, Auerbach A, Weiss LM. Practical Applications in Immunohistochemistry: Evaluation of Diffuse Large B-Cell Lymphoma and Related Large B-Cell Lymphomas. *Arch Pathol Lab Med [Internet].* 2015;139(9):1094–107. Tarihinde adresinden erişildi: <http://www.archivesofpathology.org/doi/10.5858/arpa.2014-0451-CP>
  43. Uccini S, Al-Jadiry MF, Scarpino S, Ferraro D, Alsaadawi AR, Al-Darraj AF, vd. Epstein-Barr virus-positive diffuse large B-cell lymphoma in children: A disease reminiscent of Epstein-Barr virus-positive diffuse large B-cell lymphoma of the elderly. *Hum Pathol [Internet].* Elsevier Inc.; 2015;46(5):716–24. Tarihinde adresinden erişildi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.humpath.2015.01.011>

44. Bellas C, Garcia D, Vicente Y, Kilany L, Abaira V, Navarro B. Immunohistochemical and Molecular Characteristics with Prognostic Significance in Diffuse Large B-Cell Lymphoma. *PLoS One*. 2014;9(6).
45. Kluk MJ, Ho C, Yu H, Chen BJ, Neuberg DS, Cin PD, vd. MYC Immunohistochemistry to Identify MYC-Driven B-Cell Lymphomas in Clinical Practice. *Am J Clin Pathol*. 2016;0:1–14.
46. Johnson N, Slack G, Savage K, Connors J, Ben Neriah S et al. Concurrent expression of MYC and BCL2 in diffuse large B-cell lymphoma treated with rituximab plus cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone. *J Clin Oncol*. 2012;30(34):3452–9.





EK 2. HASTALARIN ÖZELLİKLERİ VE YAPILAN ANALİZLERİN SONUÇLARI

Hasta no	Hasta yaşı	Cinsiyet	Lokalizasyon	Bcl-2 (+/-) (%)	Bcl-6 (+/-) (%)	c-myc (+/-) (%)	EBER (+/-)
1	84	Erkek	Nodal	(+) >%50	(+) %25-50	(-)	(-)
2	84	Kadın	Ekstranodal	(-)	(+) >%50	(+) %25-50	(-)
3	60	Kadın	Nodal	(+) >%50	(+) >%50	(+) >%50	(-)
4	85	Erkek	Ekstranodal	(+) <%25	(+) >%50	(+) %25-50	(-)
5	65	Erkek	Ekstranodal	(+) >%50	(+) %25-50	(+) >%50	(-)
6	72	Kadın	Nodal	(+) <%25	(+) %25-50	(+) >%50	(-)
7	31	Kadın	Nodal	(+) >%50	(+) >%50	(+) >%50	(-)
8	52	Erkek	Ekstranodal	(+) >%50	(+) %25-50	(+) <%25	(-)
9	66	Kadın	Ekstranodal	(+) %25-50	(+) >%50	(+) <%25	(-)
10	79	Kadın	Ekstranodal	(-)	(+) >%50	(+) <%25	(-)
11	65	Kadın	Ekstranodal	(+) >%50	(+) <%25	(+) <%25	(-)
12	<b>34</b>	<b>Kadın</b>	<b>Nodal</b>	<b>(-)</b>	<b>(+) &lt;%25</b>	<b>(+) &lt;%25</b>	<b>(+)</b>
13	69	Erkek	Nodal	(+) >%50	(+) >%50	(+) %25-50	(-)
14	46	Erkek	Ekstranodal	(-)	(+) >%50	(+) %25-50	(-)
15	58	Erkek	Ekstranodal	(-)	(+) <%25	(+) <%25	(-)
16	73	Kadın	Ekstranodal	(+) >%50	(+) >%50	(-)	(-)
17	71	Erkek	Ekstranodal	(+) <%25	(+) %25-50	(+) %25-50	(-)
18	47	Erkek	Ekstranodal	(+) <%25	(+) >%50	(+) %25-50	(-)
19	49	Erkek	Ekstranodal	(-)	(+) >%50	(+) %25-50	(-)
20	58	Kadın	Nodal	(+) %25-50	(+) >%50	(+) <%25	(-)
21	83	Erkek	Ekstranodal	(-)	(+) >%50	(+) <%25	(-)
22	90	Kadın	Ekstranodal	(+) >%50	(+) %25-50	(+) %25-50	(-)
23	50	Erkek	Nodal	(+) >%50	(+) <%25	(+) <%25	(-)

24	57	Erkek	Ekstranodal	(+) %25-50	(+) >%50	(+) >%50	(-)
25	<b>48</b>	<b>Erkek</b>	<b>Ekstranodal</b>	<b>(-)</b>	<b>(+) &gt;%50</b>	<b>(+) &gt;%50</b>	<b>(+)</b>
26	60	Erkek	Ekstranodal	(+) >%50	(+) >%50	(+) >%50	(-)
27	51	Erkek	Ekstranodal	(+) >%50	(+) >%50	(+) %25-50	(-)
28	73	Erkek	Nodal	(+) >%50	(+) <%25	(+) %25-50	(-)
29	74	Kadın	Ekstranodal	(+) >%50	(+) >%50	(+) <%25	(-)
30	68	Erkek	Nodal	(+) >%50	(+) %25-50	(+) <%25	(-)
31	68	Kadın	Ekstranodal	(+) >%50	(+) %25-50	(+) <%25	(-)
32	<b>78</b>	<b>Erkek</b>	<b>Nodal</b>	<b>(+) &gt;%50</b>	<b>(+) &gt;%50</b>	<b>(+) &lt;%25</b>	<b>(+)</b>
33	62	Erkek	Nodal	(+) >%50	(+) >%50	(+) <%25	(-)
34	31	Kadın	Nodal	(+) >%50	(+) %25-50	(+) %25-50	(-)
35	67	Erkek	Nodal	(+) >%50	(+) %25-50	(+) <%25	(-)
36	59	Kadın	Ekstranodal	(+) >%50	(+) <%25	(+) %25-50	(-)
37	65	Kadın	Ekstranodal	(+) %25-50	(+) %25-50	(+) <%25	(-)
38	34	Erkek	Nodal	(+) <%25	(+) >%50	(+) <%25	(-)
39	47	Kadın	Nodal	(-)	(+) <%25	(+) <%25	(-)
40	67	Kadın	Ekstranodal	(+) >%50	(+) >%50	(+) %25-50	(-)
41	82	Erkek	Ekstranodal	(+) >%50	(+) %25-50	(+) %25-50	(-)
42	48	Kadın	Nodal	(+) >%50	(+) >%50	(+) >%50	(-)
43	<b>49</b>	<b>Erkek</b>	<b>Ekstranodal</b>	<b>(+) &gt;%50</b>	<b>(+) &gt;%50</b>	<b>(+) %25-50</b>	<b>(+)</b>
44	40	Erkek	Ekstranodal	(+) >%50	(+) >%50	(+) <%25	(-)
45	75	Kadın	Ekstranodal	(+) <%25	(+) >%50	(+) >%50	(-)
46	68	Erkek	Nodal	(+) >%50	(-)	(+) >%50	(-)
47	63	Kadın	Nodal	(+) <%25	(-)	(-)	(-)
48	52	Erkek	Ekstranodal	(+) >%50	(+) %25-50	(+) %25-50	(-)
49	40	Erkek	Nodal	(+) <%25	(-)	(-)	(-)

50	46	Erkek	Ekstranodal	(+) >%50	(+) %25-50	(+) >%50	(-)
51	39	Kadın	Ekstranodal	(+) %25-50	(+) >%50	(+) %25-50	(-)
52	34	Erkek	Nodal	(+) <%25	(+) >%50	(-)	(-)
53	58	Erkek	Nodal	(+) >%50	(+) <%25	(+) <%25	(-)
54	54	Erkek	Nodal	(+) >%50	(+) >%50	(-)	(-)
55	74	Kadın	Nodal	(+) >%50	(+) %25-50	(+) >%50	(-)
56	70	Kadın	Ekstranodal	(+) <%25	(+) %25-50	(+) %25-50	(-)
57	68	Erkek	Nodal	(+) >%50	(+) %25-50	(+) >%50	(-)
58	77	Kadın	Ekstranodal	(+) >%50	(+) >%50	(+) %25-50	(-)
59	77	Kadın	Ekstranodal	(+) >%50	(+) %25-50	(+) <%25	(-)
60	68	Kadın	Ekstranodal	(+) >%50	(+) >%50	(+) <%25	(-)
61	68	Kadın	Nodal	(+) >%50	(+) >%50	(+) <%25	(-)

## ÖZGEÇMİŞ

### I- Bireysel Bilgiler

Adı-Soyadı: Aytül Buğra

Doğum yeri ve tarihi: Bakırköy- 08.01.1988

Uyruğu: T.C.

Medeni durumu: Evli

İletişim adresi ve telefonu: aytulsargan@gmail.com- 05542865067

Yabancı dili: İngilizce

### II- Eğitimi (tarih sırasına göre yeniden eskiye doğru)

2013-Halen Sağlık Bilimleri Üniversitesi Okmeydanı E.A. Hastanesi Patoloji Kliniğinde eğitim görmekteyim.

2006-2012: İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, İngilizce Tıp

2002-2006: Kağıthane Anadolu Lisesi

1999-2002: Rami Atatürk İlköğretim Okulu

1994-1999: Dumlupınar İlköğretim Okulu

### III- Mesleki Deneyimi

İstanbul Halk Sağlığı Müdürlüğü, Bayrampaşa Toplum Sağlığı Merkezi