



T.C.SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ, İZMİR BOZYAKA
SAĞLIK UYGULAMA VE ARAŞTIRMA MERKEZİ

NON HODGKİN LENFOMA HASTALARINDA
BCL-2, BCL-6 VE MYC PROTEİNLERİNİN İMMÜNOHİSTOKİMYASAL
DEĞERLENDİRMESİNİN
PROGNOZA ETKİSİ

DR. Elmas Gizem GÜLERYÜZ

TIPTA UZMANLIK TEZİ

İZMİR/2022



**T.C. SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ, İZMİR BOZYAKA
SAĞLIK UYGULAMA VE ARAŞTIRMA MERKEZİ**

**NON HODGKİN LENFOMA HASTALARINDA
BCL-2, BCL-6 VE MYC PROTEİNLERİNİN İMMÜNOHİSTOKİMYASAL
DEĞERLENDİRMESİNİN
PROGNOZA ETKİSİ**

DR. Elmas Gizem GÜLERYÜZ

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Oktay BİLGİR

TIPTA UZMANLIK TEZİ

İZMİR/2022

TEŞEKKÜRLER

Anabilim Dalı başkanım, değerli hocam ve tez danışmanım sayın Prof. Dr. Oktay BİLGİR' e,

İç hastalıkları eğitimim boyunca her zaman yanımda olduğunu hissettiren tecrübeleri ve yardımlarıyla her konuda bize yol gösteren başta sayın Prof. Dr. Kadir KAYATAŞ, Prof. Dr. Funda Müşerref TÜRKMEN ve PROF. DR. Refik DEMİRTUNÇ olmak üzere tüm hocalarım ve asistan arkadaşlarıma,

Tezimin hazırlık aşamalarında ve uzmanlık eğitimim boyunca yardımını hiç esirgemeyen sevgili eşim ve meslektaşım sayın Dr. Okan GÜLERYÜZ' e,

Patoloji preparatlarının değerlendirilmesinde ve yorumlanmasında yardımcı olan Dr. Selin CANPOLAT' a;

Hayatım boyunca tüm başarılarımın mimarı annem ve babama, meslektaş olmaktan gurur duyduğum kardeşlerim Dr. Mahmut Burak PARLAKBOLAT ve Dr. Yusuf Safa PARLAKBOLAT' a, teşekkürlerimi sunarım.

Saygılarımla

Dr. Elmas Gizem GÜLERYÜZ

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	İİ
İÇİNDEKİLER	İİİ
KISALTMALAR VE SİMGELER	V
TABLO VE ŞEKİLLER	Vİİ
ÖZET	İX
ABSTRACT	Xİ
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. NON-HODGKİN LENFOMA	3
2.1.1. Tanım ve Sınıflandırma	3
2.1.2. Epidemiyoloji ve Etyoloji	5
2.1.3. Klinik Özellikler	7
2.1.4. Tanı ve Evreleme	8
2.1.5. Prognoz	10
2.1.6. Tedavi	11
2.2. NON HODGKİN LENFOMA ALT TİPLERİ	11
2.2.1. Diffüz Büyük B Hücreli Lenfoma	11
2.2.2. Foliküler Lenfoma	14
2.2.3. Marjinal Zon Lenfoma	17
2.2.4. Mantle Cell Lenfoma	19
2.2.5. Küçük Lenfositik Lenfoma	20
2.2.6. Burkitt's Lenfoma	21

2.2.7. T Hücreli Lenfomalar	21
2.3. ÇALIŞMADA KULLANILAN İMMÜNOHİSTOKİMYASAL BELİRTEÇLER	22
2.3.1. BCL-6	22
2.3.2. BCL-2	23
2.3.3. MYC	24
3. GEREÇ VE YÖNTEM	26
3.1. İSTATİSTİKSEL VERİLER	27
4. BULGULAR	28
4.1. TANIMLAYICI ÖZELLİKLER	28
4.2. SAĞ KALIM ANALİZLERİ	36
4.3. COX REGRESYON ANALİZLERİ	40
5. TARTIŞMA	42
6.SONUÇLAR	50
7. KAYNAKLAR	51
8. ÖZGEÇMİŞ	59
9. EKLER	60

KISALTMALAR VE SİMGELER

ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
ABC	: Activated B Cell
BT	: Bilgisayarlı Tomografi
BNLI	: British National Lymphoma Investigation
CODOX-M	: Cyclophosphamide, Doxorubicin, Vincristine, Methotrexate
DA-EPOCH-R	: Dose-adjusted Etoposide, Prednisone, Vincristine, Cyclophosphamide, Doxorubicin, and Rituximab
DBBHL	: Diffüz Büyük B Hücreli Lenfoma
DEL	: Double Ekspresör Lenfoma
DHL	: Double Hit Lenfoma
ECOG	: Eastern Cooperative Oncology Group
EMZL	: Ekstramedullar Marjinal Zon Lenfoma
FISH	: Floresan İn Situ Hibridizasyon
FL	: Foliküler Lenfoma
FLIPI	: Follicular Lymphoma International Prognostic Index
GCB	: Germinal Center B Cell
G-CSF	: Granülosit- Koloni Uyarıcı Faktörü
HL	: Hodgkin Lenfoma
IG	: İmmünglobulin
IPI	: International Prognostic Index
IVAC	: Fosfamide, Mesna, Etoposide, Cytarabine

KHN	:	Kök Hücre Nakli
KİAB	:	Kemik İliği Aspirasyon Biyopsisi
KLL	:	Küçük Hücreli Lösemi/Lenfoma
LAP	:	Lenfadenopati
LDH	:	Laktat Dehidrogenaz
MCL	:	Mantle Cell Lenfoma
MIPI	:	Mantle Cell Lymphoma International Prognostic Index
MZL	:	Marjinal Zon Lenfoma
NHL	:	Non Hodgkin Lenfoma
NK	:	Naturel Killer
NMZL	:	Nodal Marjinal Zon Lenfoma
NOS	:	Not Otherwise Specified
OKIT	:	Otolog Kemik İliği Transplantasyonu
PET-CT	:	Pozitron Emisyon Tomografisi ve Bilgisayarlı Tomografinin
R-ICE	:	Rituksimab, ifosfamid, karboplatin, etoposid
R-CHOP	:	Rituksimab, Siklofosfamid, Doksorubisin, Vinkristin, Prednizon
SMZL	:	Splenik Marjinal Zon Lenfoma
SSS	:	Santral Sinir Sistemi
THL	:	Triple Hit Lenfoma
TART	:	Tutulu Alan Radtoterapisi
WHO	:	World Healthy Organization

TABLO VE ŞEKİLLER

Tablo 2.1. WHO 2016 sınıflaması matür B hücreli neoplaziler	4
Tablo 2.2. Biyolojik Davranışlara Göre Lenfomalar	5
Tablo 2.3. Revize Ann Arbor evreleme sistemi (Lugona sınıflaması)	8
Tablo 2.4. Agresif lenfomalar için uluslararası prognostik indeks (IPI)	10
Tablo 2.5. ECOG performans skoru	13
Tablo 2.6. Foliküler lenfoma Dünya Sağlık Örgütü sınıflaması	15
Tablo 2.7. T hücreli lenfoma varyantları	21
Tablo 4.1. Hastaların Demografik Özelliklerinin Dağılımı.....	28
Tablo 4.2. Hastaların Klinik Durumları	30
Tablo 4.3. Hastalarda kullanılan tedavi rejimleri	30
Tablo 4.4. Demografik ve klinik özelliklerin prognoza etkisi	31
Tablo 4.5. Laboratuvar değerleriyle prognoz arasındaki ilişki	32
Tablo 4.6. BCL-2, BCL-6, MYC pozitifliği ile yaş, LDH, HMG, ALB ve Kİ-67 ortalamalarının karşılaştırılması	35
Tablo 4.7. Non Hodgkin Lenfoma hastalarında BCL-2, BCL-6 ve MYC' in prognoza etkisi	35
Tablo 4.8. Hastalarda sağ kalıma etki eden etmenler	38
Tablo 4.9. İmmünohistokimyasal parametrelerin birlikteliğinin sağ kalıma etkisi	40
Tablo 4.10. Cox regresyon modelleri ile prognoza etki eden etkenler	41

Şekil 2.1. Tarihsel sırası ile Non Hodgkin Lenfoma sınıflamaları.....	3
Şekil 4.1. BCL-2 protein ekspresyonunun Non Hodgkin Lenfoma alt tiplerine göre dağılımı	33
Şekil 4.2. BCL-6 protein ekspresyonunun Non Hodgkin Lenfoma alt tiplerine göre dağılımı	33
Şekil 4.3. MYC protein ekspresyonunun Non Hodgkin Lenfoma alt tiplerine göre dağılımı	34
Şekil 4.4. Cinsiyetlere göre Genel sağ kalım ve Non Hodgkin Lenfoma hastalarının tümünün Genel sağ kalım eğrileri	36
Şekil 4.5. BCL-2' ye göre Non Hodgkin Lenfomalarda sağ kalım eğrisi	37
Şekil 4.6. BCL-6' ya göre Non Hodgkin Lenfomalarda sağ kalım eğrisi	37
Şekil 4.7. MYC' e göre Non Hodgkin Lenfomalarda sağ kalım eğrisi	38
Şekil 4.8. IPI skoru ve ECOG performansları ile sağ kalım eğrileri	39
Şekil 4.9. MYC ve BCL-2 değerlerinin birlikte pozitif olduğu grup ve 3 parametrenin pozitif olduğu grubun sağ kalım eğrileri	40

ÖZET

Amaç: Non hodgkin lenfoma son yıllarda görülme sıklığı artan birçok alt tipi olan hematoloji malignitelerdendir. WHO 2016 yılında Lenfoma sınıflamasını revize ederek farklı alt tipler eklemiştir. Son sınıflamadaki en çarpıcı yeni tanımlamalardan biri ise diffüz büyük B hücreli lenfoma olgularında tedavi direnci ve kötü prognoz ile ilişkilendirilen C-MYC, BCL-2 ve BCL-6 translokasyonları ile tanımlanan ‘Double Hit Lenfoma’ ve ‘Triple Hit Lenfoma’ kavramları ile birlikte C-MYC ve BCL-2 protein ekspresyonlarının artmış bulunduğu ‘Double Ekspresör Lenfoma’ kavramıdır. Yakın zamanda yapılan çalışmalar immün boyamanın, üç parametre için de translokasyon varlığı ile doğrudan ilişkili olmadığı yönünde bulgular ortaya koymuştur. Bu çalışma ile tüm Non hodgkin lenfoma alt tipleri için bu üç proteinin immünohistokimyasal analizini yaparak hem diğer Non hodgkin lenfoma alt tipleri için de prognoza etkisini araştırmak hem de ulaşılması daha kolay bir yöntem olan immünohistokimyayı kullanarak bu proteinlerin prognostik yönlerini ele almaktır.

Gereç ve Yöntem: Çalışmamıza 2016-2021 yıllar arasında Sağlık Bilimleri Üniversitesi Bozyaka Eğitim ve Araştırma Hastanesi hematoloji kliniğinde takip edilen Non hodgkin lenfoma tanılı 66 hastanın verileri geriye dönük incelenerek patoloji numunelerinde immünohistokimyasal belirteçlerden BCL-2, BCL-6 ve C-MYC proteinlerinin non hodgkin lenfomalar arasında boyanma oranları ve ortalama yaşam süresi ve sağ kalıma etkisi değerlendirildi. Non Hodgkin lenfoma için kullanılan prognostik faktörlerden; ECOG performans durumları, uluslararası prognostik indeksler (IPI, FLİPİ, MİPİ), hastalık evresi, ektranodal tutulum varlığı, kemik iliği tutulumu, Ki-67 yüzde oranı, tanı anındaki laboratuvar değerlerinden de serum LDH, Hemogloblin, Albümin değerleri ile ilişkisi araştırılmıştır.

Bulgular: 66 NHL tanılı hasta grubunda bakılan immünohistokimyasal belirteçlerin pozitif çıkma dağılımı; BCL-2 %75,8’inde, BCL-6 %66,7’sinde, C-MYC %22,7’sinde pozitif. Sağ kalım analizlerinde BCL-2 ve C-MYC pozitif olan hastalarda ortalama sağ kalım süresi kısalma, BCL-6 pozitif olan hastalarda ortalama sağ kalım süresi uzama eğiliminde olmasına rağmen aradaki fark anlamlı değildi. Diğer parametreler ile ilişkilerinde; KI-67 yüzde oranı ortalaması BCL-2 negatif,

BCL-6 pozitif, C-MYC pozitiflerde anlamlı olarak daha yüksektir. C-MYC negatif olanlarda ALB değeri anlamlı olarak düşük saptanmıştır ($p<0,002$). BCL-6'sı pozitif olanların yaş ortalaması anlamlı olarak daha düşüktü. Diğer parametreler ile aralarında anlamlı ilişki bulunmadı. NHL hastalarında daha önce de gözlemlendiği gibi IPI skoru yüksek olanların ve ECOG performansı düşük olanların sağkalım süreleri anlamlı olarak daha düşüktü.

Sonuç: NHL' nın alt sınıflandırmasında BCL-2, BCL-6, MYC protein ekspresyonunun sağ kalım üzerindeki etkilerini ve diğer prognostik belirteçler ile ilişkisini göstermiştir. Prognostik belirteç olarak tüm NHL için kapsamlı çalışmalar ihtiyaç olduğu açıktır.

Anahtar kelimeler: BCL-2, BCL-6, MYC, İmmünohistokimya, Prognoz

ABSTRACT

The Effects of the Immunohistochemical Evaluations of Bcl-2, Bcl-6 and Myc Proteins on Prognosis of Non Hodgkin Lymphoma Patients

Aim: Non hodgkin lymphoma is one of the hematological malignancies with many subtypes, the incidences of which has increased in recent years. WHO revised the lymphoma classification in 2016 and added different subtypes. One of the most striking new definitions in the last classification is the concepts of 'Double Hit Lymphoma' and 'Triple Hit Lymphoma', that is defined by C-MYC, BCL-2 and BCL-6 translocations, which are associated with treatment resistance and poor prognosis in diffuse large B-cell lymphoma cases. It is the concept of 'Double Expressor Lymphoma' in which MYC and BCL-2 protein expressions are increased. Recent studies have revealed findings that immunostaining is not directly related to the presence of translocations for all three parameters. In this study, by making immunohistochemical analysis of these three proteins for all non-hodgkin lymphoma subtypes, to investigate their effects on prognosis for other non-hodgkin lymphoma subtypes as well as to discuss the prognostic aspects of these proteins by using immunohistochemistry, which is the soft option.

Materials and Methods: In our study, data of the 66 patients with Non hodgkin lymphoma which was followed up by hematology clinic of Health Sciences University Bozyaka Training and Research Hospital between the years 2016-2021 was retrospectively analyzed and the immunohistochemical markers of BCL-2, BCL-6 and C-MYC proteins in the pathology samples were found to be among non hodgkin lymphomas. staining rates and the effects on mean lifespan and survival were evaluated. Among the prognostic factors used for non hodgkin lymphoma; ECOG performance status, international prognostic indices (IPI, FLIPI, MIPI), disease stage, presence of extranodal involvement, bone marrow involvement, Ki-67 percent rate, laboratory values at time of diagnosis, LDH, Hemoglobin, Albumin values were investigated.

Results: The distribution of positive immunohistochemical markers in 66 patients with Non hodgkin lymphoma; BCL-2 was positive in 75.8%, BCL-6 in 66.7%, and C-MYC in 22.7%. Although the mean survival time tended to shorten in BCL-2 and C-MYC positive patients, and the meaning of the survival time tended to prolong in BCL-6 positive patients in survival analysis, the difference was not significant. In relation to other parameters, the mean percentage of KI-67 is significantly higher in BCL-2 negative, BCL-6 positive, C-MYC positives. ALB values were found to be significantly lower in C-MYC negative patients ($p<0.002$). The mean age of those who were positive for BCL-6 was significantly lower. There was no significant relationship between them and other parameters. As previously observed in Non hodgkin lymphoma patients, those with high IPI scores and those with low ECOG performances had significantly lower survival times.

Conclusion: In the subclassification of Non hodgkin lymphoma, BCL-2, BCL-6 showed the effects of C-MYC protein expression on survival and their relationships with other prognostic markers. It is clear that comprehensive studies are needed for all the Non hodgkin lymphoma patients as a prognostic marker.

Keywords: BCL-2, BCL-6, C-MYC, Immunohistochemistry, Prognosis

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Lenfoma 1832 yılında patolog Thomas Hodgkin'in postmortem hastalarda yaptığı çalışmalar ile lenfoid dokularda malign hücrelerin keşfi ile ortaya çıkmış, daha sonra Carl Sternberg ve Dorothy Reed bu maligniteyi Hodgkin Lenfoma (HL) olarak tanımlamıştır. Sonraki elli yıl boyunca birçok farklı lenfoma alt tipi tanımlanmış ve 1982 yılında bu maligniteyi HL ve Non-Hodgkin Lenfoma (NHL) olarak ikiye ayrılma gereği doğmuştur (1).

Non hodgkin lenfoma; çoğunlukla B lenfositlerini ve daha az oranda T lenfositlerini ve natürel killer (NK) hücrelerini etkileyen; lenfoid sisteminin olgun ve olgunlaşmamış hücrelerinin malign transformasyonunun sebep olduğu tümörlerdir. Günümüzde tanı yöntemlerindeki gelişmelerle beraber morfolojik, sitogenetik, immunofenotipik ve klinik özelliklerine göre birçok farklı alt tipe ayrılır. Bu durum tedavi seçimi ve prognoz ön görüşü farklılıkları sebebiyle NHL'ların sınıflanması ihtiyacını doğurmuştur. Bu amaçla sınıflamada kullanılabilecek laboratuvar parametreleri, görüntüleme yöntemleri, İmmünojenotiplendirme ve sitogenetik çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalar hem sınıflamanın aydınlatılmasını hem de prognoz tahmini için kullanılabilecek skorlama sistemlerinin oluşturulmasını sağlamıştır (2). Günümüzde World Health Organization (WHO) tarafından son revizyonu 2016 yılında yapılan lenfoma sınıflaması kullanılmaktadır. Skormala sistemi olarak ise NHL morfolojik alt tipleri için özelleşmiş skorlama indeksleri mevcuttur (3).

WHO'nun 2016 yılında yapmış olduğu revizyonun ilgi çekici yönü birçok NHL alt tipinde yeni immünojenotipik ve sitogenetik kategorilerin olmasıydı (4). Bu durum NHL için hala tanımlanmamış alt tiplerin olduğu; tanısal ve prognostik tanımlanmamış yeni belirteçlerin olabileceğini açıkça göstermiştir. Son sınıflamadaki en çarpıcı yeni tanımlamalardan biri ise diffüz büyük B hücreli lenfoma (DBBHL) olgularında tedavi direnci ve kötü prognoz ile ilişkilendirilen C-MYC, BCL-2 ve BCL-6 translokasyonları ile tanımlanan 'double hit lenfoma' (DHL) ve 'triple hit lenfoma' (THL) kavramları ile birlikte C-MYC ve BCL-2 protein ekspresyonlarının artmış bulunduğu 'double ekspressor lenfoma' (DEL) kavramıdır (5). Sınıflamaya giren bu tanımlamalar sonrasında DBBHL hastaları için Floresan In Situ

Hibridizasyon (FISH) yöntemi ile genetik analiz kaçınılmaz hale gelmiştir. FISH yöntemi ile karyotip analizi, BCL-2, BCL-6 ve C-MYC gen anormalliklerini saptamak için kullanılan standart yöntemdir. Ancak bu yöntemin pahalı olması ve uygulamadaki zorluklar nedeniyle her patoloji laboratuvarında kullanılamamaktadır. Bu da bizleri daha yaygın, ucuz ve uygulanabilir yöntemler arayışına itmektedir.

İmmünohistokimya genelde kesin tanıyı koymak ve NHL'leri alt tiplere ayırmak için kullanılsa da son yıllarda yapılan çalışmalar ile prognoz tahmini için de kullanılabileceği gösterilmiştir. Bu çalışmalar ışığında WHO yeni sınıflama revizyonunda immünohistokimyasal alt tipleri sınıflamaya dahil etmiştir. FISH analizi imkânı olmayan merkezlerde immünohistokimya (IHK) yöntemine dayalı bir tanısal ve prognostik belirteçler olması gerekliliği düşünülerek DBBHL hastalarında şimdiye kadarki yapılan çalışmalar C-MYC (bundan böyle MYC olarak anılacak) veya BCL-2'yi aşırı eksprese eden, BCL-6'yı ise düşük eksprese eden hastaların daha kötü prognozlu olduğunu göstermiştir (6,7). Bu çalışmaların ortaya çıkardığı bir başka sonuç ise immün boyamanın, üç parametre için de translokasyon varlığı ile doğrudan ilişkili olmadığıdır (8,9). Şu an için bu üç proteinin sadece DBBHL prognozunu ön gördüğü kanıtlanmış olsa da diğer NHL'ler için de literatürde sunulmuş çalışmalar mevcuttur. Foliküler lenfoma (FL) ve Marjinal zon lenfoma (MZL) hastalarında düşük seriler ile yapılan çalışmalar mevcuttur ve bu proteinlerin ekspresyonu özellikle yüksek dereceli B hücreli lenfomalara translokasyon ile ilişkili bulunmuştur (10-13). Fakat bu alanda literatürde hala çok eksik mevcuttur.

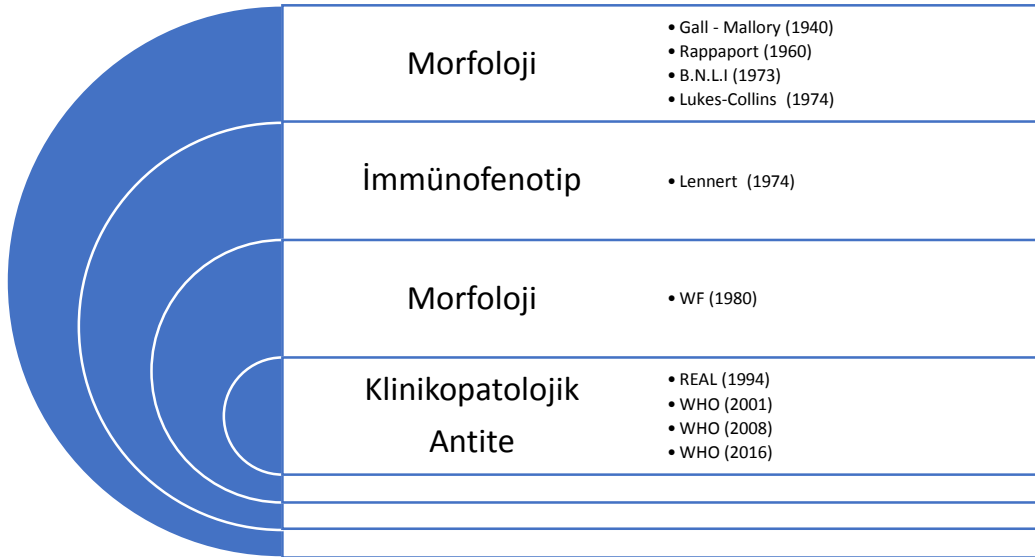
Araştırmamızın amacı kurumumuzda Ocak 2016-2021 tarihleri arasında takip edilen NHL tanılı hastaların kayıtlarını retrospektif olarak tarayarak BCL-2, BCL-6 ve MYC proteinin immünohistokimyasal analizini yapmak ve hem tüm NHL alt tipleri için prognoza etkisini araştırmak hem de ulaşılması daha kolay bir yöntem olan İHK'yi kullanarak bu proteinlerin prognostik yönlerini ele almaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. NON-HODGKİN LENFOMA

2.1.1. Tanım ve Sınıflandırma

Lenfomalar, bağışıklık sistemi hücrelerinden köken alan klonal tümörlerdir. HL ve NHL olmak üzere iki ana başlıkta tanımlanmıştır. NHL; B lenfositlerini (tüm NHL'nin yaklaşık %86'sını temsil eden B hücreleridir) ve daha küçük oranda T lenfositlerini ve NK hücrelerini etkileyen; bağışıklık sisteminin olgun ve olgunlaşmamış hücrelerinin malign transformasyonundan kaynaklanan tümörlerdir (14). NHL günümüzde tanı yöntemlerindeki gelişmelerle beraber morfolojik, sitogenetik, immunofenotipik ve klinik özelliklerine göre birçok farklı alt tipe ayrılır. Bu durum tedavi seçimi ve prognoz ön görüşü farklılıkları sebebiyle NHL'lerin sınıflanması ihtiyacını doğurmuştur. Günümüze kadar birçok sınıflama ortaya çıkmış ve yıllar boyunca tıp alanındaki gelişmeler, bağışıklık sisteminde görev alan hücrelerin immünohistokimyasal ve lenfomagenез moleküler mekanizmalarında ortaya konan yeni özellikler bu sınıflandırmaların değişikliğine sebep olmuştur (15) (şekil 2.1).



Şekil 2.1. Tarihsel sırası ile NHL sınıflamaları

Non hodgkin lenfoma sınıflaması ilk defa 1940 yılında morfoloji ön planda tutularak yapılan Gall-Mallory tarafından yapılmıştır. WHO 2016 sınıflaması lenfomaların morfolojik, klinik, immunolojik ve genetik özellikleri göz önünde bulundurularak revize edilen hala güncelliğini koruyan sınıflamadır (4). WHO sınıflamasında lenfomalar; B hücreli lenfomalar, T /NK hücreli lenfomalar ve HL olmak üzere üç ana gruba ayrılmıştır (tablo 2.1.). Fakat bu sınıflamanın kendi içinde birçok alt grup içermesi nedeniyle klinik pratikte kullanımı güçtür. Günlük pratikte NHL'ler klinik özellik ve tedavi seçimlerine göre indolent (yavaş seyirli) ve agresif (hızlı seyirli) olmak üzere 2 gruba ayrılmıştır (Tablo 2.2.).

Tablo 2.1. WHO 2016 sınıflaması matür B hücreli neoplaziler

• T hücreli prolenfositik lösemi • Kronik lenfositik lösemi/küçük lenfositik lenfoma • Monoklonal B hücreli lenfositoz • B hücreli prolenfositik lösemi • Splenik marjinal zone lenfoma • Hairy cell lösemi (Saçlı hücreli lösemi) • Splenik B hücreli lenfoma/ lösemi, sınıflandırılmayan tip Splenik diffüz kırmızı pulpanın küçük B hücreli lenfoması Hairy cell lösemi varyant • Lenfoplazmositik lenfoma Waldenström makroglobulinemisi • Önemi belirlenemeyen monoklonal gamopati (MGUS), IgM* μ ağır zincir hastalığı, γ ağır zincir hastalığı, α ağır zincir hastalığı • Önemi belirlenemeyen monoklonal gamopati (MGUS), IgG/A • Plasma hücreli myelom	• T hücreli geniş granüler lenfositik lösemi • Diffüz büyük B hücreli lenfoma (DLBCL), NOS Germinal merkez B-hücreli tip Active B hücreli tip • T-hücrelerinden/histiositten zengin büyük B-cell lymphoma • Primer santral sinir sisteminin diffüz büyük B hücreli lenfoması • Primer kütanöz DLBCL, bacak tipi • EBV+ DLBCL, NOS* • EBV+ mukokütanöz ülser* • Kronik inflamasyon ile ilişkili DLBCL • Lenfomatoid granülomatozis • Primer mediastinal (timik) büyük Bhücreli lenfoma • Intravascular büyük B-hücreli lenfoma • ALK+ büyük B-hücreli lenfoma • Plasmablastik lenfoma • Primer effüzyon lenfoması • HHV8+ DLBCL, NOS*
--	--

• Soliter kemik plazmositomu • Extraosseöz plazmositom • Monoklonal immunoglobulin depo hastalıkları • Nodal marginal zon lenfoma • Pediatrik nodal marginal zon lenfoma • Foliküler lenfoma • İn situ foliküler neoplazma • Duodenal-tip foliküler lenfoma • Pediatrik-tip foliküler lenfoma • IRF4 rearanjmanı gösteren büyük B hücreli lenfoma • Primer kütanöz folikül merkez hücreli lenfoma • Mantle hücreli lenfoma • İn situ mantle hücreli neoplazma	• Burkitt lenfoma • 11q aberasyonlu Burkitt-benzeri lymphoma • MYC ve BCL2 ve/veya BCL6 rearanjmanı gösteren yüksek dereceli B– hücreli lenfoma • Yüksek dereceli B–hücreli lenfoma, NOS • DLBCL ve Klasik tip Hodgkin lenfoma arasında özellikler gösteren sınıflandırılmayan tip B-hücreli lenfoma
---	--

Tablo 2.2. Biyolojik Davranışlara Göre Lenfomalar

İndolent Lenfomalar	Agresif Lenfomalar
• Marjinal Zon Lenfoma -Maltoma Zon Lenfoma -Splenic Marjinal Zon Lenfoma -Nodal Marjinal Zon Lenfoma	• Diffüz Büyük B Hücreli Lenfoma
• B Hücreli Kronik Lenfositik Lösemi/ Küçük Lenfositik Lenfoma	• Mantle Hücreli Lenfoma (Subtipleri indolant yada agresif klinik seyir gösterebilir)
• Lenfoplazmositik Lenfoma	• Burkitt Lenfoma
• Folikül Merkezli Lenfoma, Foliküler Tip	• Prekürsör B Hücreli Lösemi/Lenfoma

2.1.2. Epidemiyoloji ve Etyoloji

Non hodgkin lenfoma hastalığının sıklığı son 50 yıldır giderek artmıştır ve insidansı alt tiplerine göre coğrafik farklılık gösterir. T hücreli lenfomalar Asya

lkelerinde sık gözlenirken B hücreli lenfomalar batı ülkelerinde yaygındır. Endemik olarak gözlenen alt tipleri mevcuttur, rneğin; Epstein-Barr virüsüne bağlı (endemik) Burkitt lenfoma (BL) Afrika'da daha yaygındır. Afrika'da BL insidansı Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'nden yaklaşık 50 kat daha fazladır. Burkitt lenfomanın sporadik varyantı ise ABD ve Batı Avrupa'da görülmektedir. Aynı şekilde sporadik BL, Beyaz ırk bireyleri arasında Afrikalı veya Asyalı Amerikalılara göre daha yaygındır ve cinsiyetler arası dağılım 3 veya 4'e 1 erkek: kadın şeklinde (16). GLOBACAN kanser veri tabanı son veri tahminlerine göre 2020'de tüm dünyada 544 352 yeni vaka tespit edilmiş ve tüm kanserler arasında görülme sıklığı açısından 11. Sırada yer almıştır. İnsidansı ise 100.000'de 5.8'dir. Kanser nedenli ölümler arasında ise yine 11. Sıradadır ve mortalite oranı 100.000'de 2,6'dır. Erkeklerde kadınlardan daha fazla görülmektedir; insidansları sırası ile E/K; 6,9/4,8 şeklinde. Yaş arttıkça görülme sıklığı da artmaktadır ve 65 ila 74 yaşları arasında daha yaygındır; medyan yaş 67'dir. Türkiye'deki son verilere bakıldığında 2020 yılında 6237 yeni vaka tespit edilmiş olup en sık gözlenen 10. Kanser türüdür. İnsidansı dünya ortalamasının üstünde olmakla birlikte E/K oranı 100.000 de 7.3/5.5'dir (17).

Lenfomalar tipik olarak kalıtsal olmayan kromozomal translokasyonlarla karakterize edilir. Etyolojisinde ağırlıklı viral olmakla birlikte infeksiyoz ajanlar, immünsupresyon, kimyasal maddelere maruziyet ve tıbbı tedavileri içeren farklı çevresel faktörler suçlanmaktadır (2). Ayrıca, sjögren sendromu, lyak hastalığı, romatoid artrit gibi kronik inflamatuvar hastalıkların da NHL gelişiminde etkisi bulunmaktadır (18). Doğumsal bağışıklık sistemi yetmezlikleri, ataksi telenjiyektazi, Wiscott Aldridge sendromu, subakut kombine immün yetmezlik ve X'e bağlı lenfoproliferatif sendromlar da agresif lenfoma gelişme riskinin arttırmaktadır (19). Aynı zamanda bazı NHL alt tipleri için spesifikleşmiş etyolojik viral etmenler mevcuttur. *Helicobacter Pylori* ile MALT lenfoma, *Epstein Barr Virüs* (EBV) ile Burkitt Lenfoma, Hepatit C virüsü (HCV) ile splenik B hücreli lenfoma ve Büyük B hücreli lenfoma, *Chlamidia Psittaci* ile oküler adneksial lenfoma gelişiminin arttığını kanıtlayan birçok klinik çalışma mevcuttur. Ayrıca *Human Immunodeficiency Virus* (HIV) pozitif hastalarda primer santral sinir sistemi lenfomalarının sıklığı artarken,

oral kavitede görülen plazmoblastik lenfomalı hastaların bir bölümünde de EBV birlikteliği gösterilmiştir (20).

2.1.3. Klinik Özellikler

Non hodgkin lenfoma klinikte, histolojik alt tipine ve tutulum bölgesine göre farklı şekillerde karşımıza çıkabilir. Hastalığın en sık gözlenen bulgusu ağrısız lenfadenopatidir (LAP). Alt tiplerinden bağımsız olarak en sık tutulan LAP ise servikal bölgedir. Fakat Spesifik alt tipleri içinde bile, klinik hastalar arasında büyük farklılıklar gösterir. Agresif formlarında gece terlemesi, kilo kaybı ve ateş gözlenebilir; bu şikayetler B semptomları olarak isimlendirilir. B semptomlarının varlığı genel olarak kötü gidiş göstergesi denilebilir.

Agresif lenfomalar genellikle subakut veya akut hızla büyüyen bir kitle ile ortaya çıkar ve ilerleyen aşamalarda tümör lizis sendromu gelişme ihtimal daha fazladır. Bu lenfomalara örnek olarak DBBHL, Burkitt lenfoma, öncü B ve T lenfoblastik lösemi/lenfoma, yetişkin T hücreli lösemi-lenfoma ve bazı diğer periferik T hücreli lenfomalar bulunur.

İndolent lenfomalar ise genellikle daha sinsidir, aylar veya yıllar boyunca yavaş büyüyen lenfadenopati, hepatomegali, splenomegali ve/veya sitopeni ile kendini gösterir. Yavaş NHL örnekleri arasında FL, Kronik lenfositik lösemi/küçük lenfositik lenfoma (KLL) ve Splenik Marjinal zon lenfoma (SMZL) yer alır.

Ekstranodal tutulum HL ya göre daha sıktır (mide, kolon, beyin akciğer, kemik gibi). En sık ektranodal lenfoma MALT tipi lenfomadır ve en sık midede lokalizedir. NHL hastaları sadece ekstra noduler tutulum ile gelebilirken (primer ektranodal NHL), hastalığın seyri sırasında da ektranodal tutulum gelişebilir (sekonder ektranodal NHL). Tutulum yerine göre klinik farklı gözlenir örneğin: Primer gastrointestinal sistem lenfomalı hastalar anoreksi, erken doyma, kilo kaybı, kusma, abdominal dolgunluk veya viseral obstrüksiyon, perforasyon ve/veya kanama ile başvurabilir (21). Primer merkezi sinir sistemi lenfomalı hastalar ise baş ağrısı, uyuşukluk, fokal nörolojik semptomlar, nöbetler, felç, omurilik sıkışması veya lenfomatöz menenjit ile başvurabilir (20). Kutanoz lenfomalı hastalar, yavaş

ilerleyebilen ve azalan döküntü veya kutanöz plaklar, tümörler veya ülserler ile ortaya çıkabilir.

2.1.4. Tanı ve Evreleme

Non hodgkin lenfoma tanısı, deneyimli bir patolog tarafından değerlendirilen morfoloji, immünohistokimya ve akış sitometrisine, imkân olması halinde kategorize etmek için moleküler çalışmalara bağlıdır. Uygun olan lenf nodundan biyopsi yapılır. Biyopsi seçiminde İnce iğne aspirasyon biyopsisi genellikle önerilmez, yeterli doku sağlamak için bir insizyonel veya eksizyonel biyopsi tercih edilir. Fakat eksizyonel biyopsinin mümkün olmadığı durumlarda nüksü belirlemek için iğne biyopsisi düşünülebilir; bununla birlikte, tanısal olmayan bir numunede insizyonel veya eksizyonel biyopsi yapılmalıdır (22).

Lugano sınıflandırması, NHL'li hastalar için kullanılan güncel evreleme sistemidir. Lugano sınıflandırması, ilk olarak 1974'te HL için geliştirilen ve 1988'de modifiye edilen Ann Arbor evreleme sistemine dayanmaktadır (23). Bu evreleme sistemi, tümörün tutulum yaptığı lenf nodu veya organ sayısına (nodal ve ektranodal) ve bunların lokasyonuna dayanır (tablo 2.3.).

Tablo 2.3. Revize Ann Arbor evreleme sistemi (Lugona sınıflaması)

EVRE	TUTULUM	EKSTRANODAL TUTULUM
Erken Evre		
1	Tek lenf bezi veya komşu lenf bezi grubu	Nodal tutulum olmadan tek ektranodal lezyon Evre I veya II nodal yayılımı sınırlı ve bitişik ektranodal tutulum

2	Diyaframın aynı tarafında 2 veya daha fazla tutulu lenf nodu grubu	Nodal tutulum olmadan tek ektranodal lezyon
2- kitlesel*	Yukarıdaki gibi kitlesel lezyonla evre II hastalık	Evre I veya II nodal yayılımı sınırlı ve bitişik ektranodal tutulum Uygulanmaz
İleri Evre		
3	Diyaframın her iki tarafında nodal tutulum veya dalak tutulumu ile beraber diyafram üstü nodal tutulum	Uygulanmaz
4	Komşu olmayan ekstra lenfatik tutulum	Uygulanmaz
Not: Hastalık yayılımı, pozitron emisyon tomografi-bilgisayarlı tomografi (PET-CT) ile veya bilgisayarlı tomografi (BT) ile belirlenmiştir. Tonsiller, Waldeyer halkası ve dalak nodal doku olarak kabul edilmiştir. Evre 2 kitlesel* hastalık sınırlı veya ileri evre hastalık olarak tedavi edilse bile prognostik faktörlerin sayısı ve histolojiye göre karar verilmelidir. Kitlesel* (bulky) hastalık: Büyük çapı 10 cm'nin üzerinde olan kitle ya da ön/arka akciğer grafisinde torakal 5-6 intervertebral disk düzeyinde hesaplanan en uzun transvers transtorasik çapın 1/3'ünü aşan mediastinal kitle.		

Evreleme yaparken görüntüleme yöntemi olarak bilgisayarlı tomografi (BT) seçilebileceği gibi Pozitron emisyon tomografisi (PET-CT) taraması, çoğu lenfomada yanıtın değerlendirilmesi için standart haline gelmiştir. NHL alt tipleri için, PET ve PET-CT, nodal ve ektranodal bölgeler için BT taramasına göre %10 oranda evrelemenin doğruluğunu artırır (24). Evreleme sistemi tedavi seçiminde ve tedavi süresinde kullanılmaktadır. Fakat sadece hastalık bölgesinin konumu ve sayısını yansıttığı için tümör yükünün gerçek bir ölçüsü değildir. Bu yüzden evre tek başına prognoz göstergesi olarak kullanılmamakla birlikte artık prognostik indekslerde kullanılan faktörlerden sadece biridir.

2.1.5. Prognoz

Non hodgkin lenfoma hastalarının prognoz tayininde çok sayıda yapılan çalışma evreden daha çok histoloji ve tümör derecesinin daha doğru gösterge olduğunu buldu. Bunun yanı sıra yaş, ektranodal hastalık varlığı, performans durumu ve evre gibi parametreler ikincil etki eden sorunlar olarak kabul edilir. Genel olarak düşük gradeli lenfomalarda prognoz iyi, yüksek gradeli lenfomalarda prognoz kötüdür olarak kabul edilmektedir. Hasta yönetiminde kolaylık olması açısından prognostik skorlamalar geliştirilmiştir. Uluslararası Prognostik İndeksi (IPI) tüm NHL varyantlarında yaygın olarak kullanılan genel bir prognostik skor sistemidir (25). IPI skorlama sisteminde; yaş, evre, serum LDH seviyesi, ektranodal tutulum varlığı, performans durumu göz önüne alınarak prognoz tahmini yapılır (tablo 2.4.). Fakat NHL alt tiplerinin her biri için tümör hücresindeki çoklu farklılıklar (sitogenetik, immünofenotip, sitokin üretimi gibi) nedeni ile ayrı ayrı prognostik skorlamalar yapılmaktadır. Bunlara örnek olarak Foliküler Lenfoma Uluslararası Prognostik İndeksi (FLIPI) ve NK/T hücre lenfoma prognostik indeksi verilebilir. Yüksek risk sınıflarının belirlenmesi tedavi rejimlerinin yoğunluğunu belirlemek açısından önemlidir.

Tablo 2.4. Agresif lenfomalar için uluslararası prognostik indeks (IPI)

Prognostik Faktörler	
❖ Yaş ❖ Ann Arbor evresi ❖ Performans durumu ❖ Ektranodal tutulum ❖ Serum LDH düzeyi	➤ >60 ➤ ileri evre (Evre III-IV) ➤ ECOG 2-4 ➤ ≥ 2 alan ➤ > Normal
Her faktör 1 puandır; toplam skor ≤ 1 : düşük, =2:düşük-orta, =3:yüksek-orta, ≥ 4 :yüksek riski gösterir.	

2.1.6. Tedavi

Tedavi seçimi için evre, prognoz skoru ve tümörün histolojik alt tipi önemli belirleyicilerdir. Genel olarak yüksek dereceli lenfomalarda agresif kemoterapi rejimleri kullanılırken indolent lenfomalarda tedavisiz izlem yapılabilir. Kemoterapi rejimlerinden en sık kullanılan siklofosamid, doksorubisin, vinkristin, prednizolon ve Rituksimab (R-CHOP) rejimidir. Bazı özellikli hastalarda tedavi tercihleri değişebilmektedir, bu durumlardan en belirleyiciler yüksek prognostik skor ve histolojik alt tiplerdir.

Yüksek dereceli lenfomalarda tedaviye yanıt değerlendirme amacı ile 3. Veya 4. Kürden sonra kontrol görüntüleme yapılır, kısmi yanıt varlığında başlanan kemoterapi rejimi tamamlanır. Fakat kısmi, yanıtta daha az yanıt alınan hastalarda kemoterapi rejimi değişikliği düşünülmelidir. Tedavi altında progresyon gözlenen hastalarda ise kurtarma tedavisine geçilir. Tedaviye yanıt değerlendirme için Lugano cevap kriterleri kullanılır (22).

Yavaş seyirli lenfomalarda ise hastalık asemptomatik ve evresi düşük, bulky kitle olmaması halinde tedavisiz izlem yapılabilir. İzlem sırasında semptomatik hale gelmesi durumunda kemoterapi veya radyoterapi seçenekleri değerlendirilir. Klorambusil, siklofosamid, vinkristin, prednisolon, fludarabin ve antrasiklinin grubu kemoterapötikler içeren tedaviler seçenekler arasındadır. Bulky kitlesi olanlarda evre 1-2 düşük orta dereceli lenfomalarda radyoterapi önemli bir tedavi seçeneğidir (2).

Tedavisi tamamlanan hastalarda relaps gözlenmesi halinde kurtarma kemoterapi tedavisi sonrası en az parsiyel yanıt sağlandıktan sonra otolog kemik iliği nakli yapılabilmektedir (26).

2.2. NON HODGKİN LENFOMA ALT TİPLERİ

2.2.1. Diffüz Büyük B Hücreli Lenfoma

Diffüz büyük B hücreli lenfoma NHL'ler arasında histolojik olarak en sık görülen tiptir. NHL'ların yaklaşık %25'ini oluşturmaktadır. Avrupa'da insidansı yaklaşık

100.000 kişide 4.9 vakadır (27). Yaşla birlikte görülme sıklığı artmaktadır ve erkek cinsiyette kadına göre daha sık gözlenir. Genellikle sentroblastlara veya immünoblastlara benzer şekilde ‘germinal merkez’(GCB) ve ‘aktive B hücre’(ABC) iki farklı tipte ortaya çıkabilir. GCB alt tipi BCL6’ ya karşı, ABC alt tipi ise MUM-1’ e karşı antikörle boyanır. DBBHL’ nın moleküler patogenezi karmaşıktır. Spesifik olan lezyonları taşıyabilirken (BCL-6’nın yeniden düzenlenmesi), diğer NHL tipleri ile ortaklık gösteren moleküler değişiklikler de içerebilir (1). De nova olarak meydana gelebildiği gibi Richter Sendromu olarak bilinen KLL değişime uğraması şeklinde de ortaya çıkabilir. Son zamanlarda yapılan çalışmalar diğer indolent lenfomaların (FL, MZL gibi) transformasyonu ile de ortaya çıkabileceğini göstermiştir.

Klinikte tipik olarak hızlı büyüyen kitle olarak karşımıza çıkar. Sıklıkla servikal veya batin içi kitle olarak ortaya çıkarken vücudun herhangi bir yerinde oluşabilir. Evre 1 veya 2 hastalığı olanlarda ektranodal tutulum yaygındır. Hastaların yaklaşık %30’unda B semptomları eşlik eder. Laboratuvar değişikliği olarak da serum laktat dehidrogenaz (LDH) yüksekliği gözlenir. DBBHL %40 oranında ektranodal ekstrapredüller dokularda ortaya çıkar. Primer ektranodal tutulum bölgesi gastropredüller sistemdir, bunun yanı sıra mediasten, testis, kemik, santral sinir sistemi, tiroid, karaciğer, deri, böbrek, adrenal, paranasal sinüsler, serviks gibi hemen hemen tüm dokularda primer olarak ortaya çıkabilir (28). Kemik iliği tutulumu %30 vakada mevcuttur ve bu olgular uyumsuz bir histolojik tipte olabilir.

Tanı eksizyonel lenf nodu biyopsisi ile konulur; biyopsi değerlendirmesinde histoloji ve immünofenotip çalışmalar birlikte kullanılır. DBBHL’ da lenfoid yapıda genellikle normal dokunun atipik lenfoid hücreler tarafından silindiğini gözlenir. Tümör hücrelerinin boyutu normal bir lenfositin iki katı olacak şekilde büyüktür. Sıklıkla normal sentroblastlarla veya immünoblastlarla benzerdir. Sentroblastik, immünoblastik ve anaplastik histolojik alt tipleri vardır. Tümör hücreleri immünofenotip olarak genellikle CD19, CD20, CD22, CD79 ve ayrıca CD45’i içerir. Yaklaşık %50-75’inin IgM izotipi olan yüzey veya stoplazmik monoklonal immünglobülin eksprese eder. Nadiren bazı vakalarda agresif hastalıkla ilişkili CD5 ekspresyonu gözlenmektedir (29). Yaklaşık %70 DBBHL’de BCL-6

proteini ifadesi gözlenir. Ve çeşitli çalışmalarda %25-80 oranında BCL-2 proteini ifadesine de rastlanmıştır. Yaygın olarak ifadesi olan başka belirteçler arasında CD10 (vakaların yüzde 30 ila 60'ı) ve MUM1/IRF4 (vakaların yüzde 35 ila 65'i) bulunur (30). Ki-67 boyaması ile belirlenen hücrelerin proliferasyon hızları çoğunlukla %40'dan yüksektir ve bazı vakalarda %90'dan fazla gözlenir; bu durum bazen DBBHL'yi Burkitt lenfomadan ayırt etmeyi zorlaştırır. WHO 2016 sınıflamasında DBBHL için yüksek dereceli B-hücreli lenfoma (NOS) başlığı açılmıştır ve bu sınıf içerisine MYC ve BCL-2 rearanjmanını içeren 'DHL' ve MYC, BCL-2 ve BCL-6 rearanjmanını içeren 'THL' dahil edilmiştir. NOS alt tipine giren DBBHL'lerin prognozunun daha kötü olduğu ve daha yoğun tedavilerin R-CHOP kombinasyon tedavisinden iyi sonuç verdiğini gösteren çalışmalar vardır (6). Bu bilgiler ışığında tedavi planlanırken MYC, BCL-2 ve BCL-6 varlığının FISH ile karyotip analizi yapılması önerilmektedir. FISH ile doğrulanamayan ama immünohistokimyasal olarak pozitiflik saptanan olgular ise 'DEL' olarak isimlendirilmektedir ve bu grup da kötü prognoz olarak değerlendirilir (31).

Hastalığın evrelemesinde Ann Arbor evreleme sistemi kullanılır. Pronoz belirlemede ve tedavi seçiminde de IPI skoru kullanılır. İleri evre hastalık, yüksek IPI skoru, ektranodal tutulum sayısı, hastanın preformans durumu, serum LDH düzeyi, bulky hastalık (5 cm'den büyük lenfadenopati), HIV enfeksiyonu eşlik etmesi genellikle kötü prognostik göstergelerdir.

Hastaların performans durumu ECOG performans skalası ile belirlenir (tablo 2.5.).

Tablo 2.5. ECOG performans skoru

Skor	Karakter
0	Aktiftir
1	Zor fiziksel aktivite kısıtlıdır.
2	Semptomatik, ancak günlük aktivitelerini yapabilir.
3	Günün yarısından çoğu yataktadır ve günlük aktiviteleri kısıtlıdır.
4	Yatağa bağımlıdır.

Tedavinin temel ajanları rituksimab kombinasyonudur. CHOP kemoterapi rejimi 3 hafta aralıklarla genellikle 6-8 hafta kullanılır. Lokalize erken evre hastalık için radyoterapi ve kemoterapi kombinasyonu birlikte kullanılabilir (32). Bulky kitlesi olan hastalar erken evre bile olsa ileri evre KT rejimi ile tedavi edilir (33). Kemoterapi yanında nötrofil sayısında düşüklük olan hastalarda granülosit koloni uyarıcı faktör (G-CSF) destek tedaviler sık kullanılır. Sık G-CSF tedavisine ihtiyaç duyulması kötü prognozla ilişkilidir. Özellikle kemik iliği tutulumu olan hastalarda santral sinir sistemini (SSS) korumak amacı ile profilaktik metotreksat tedavisi sistemik veya intratekal önerilmektedir.

Tedavi değerlendirmesi dört kür kemoterapi sonrası BT veya PET/CT ile yapılır. Tedaviye tam yanıt olan hastalarda 6 küre tamamlanırken kısmi yanıt olan hastalarda 8 küre tamamlanır. Ara değerlendirmeye yanıtsız olan veya progresyon olan hastalarda daha agresif kemoterapi kombinasyonlarına geçme düşünülmelidir (34).

Tedavi sonrası nüks eden hastalarda ise rituksimab, ifosfamid, karboplatin ve etopozid (R-ICE) kemoterapi rejimi etkili olabilir. Tedaviye yanıt veren hastalarda çoğunlukla otolog kemik iliği transplantasyonu (OKIT) uygulanır. WHO 2016 sınıflamasında NOS grubu içerisine dahil edilen DHL ve DEL grubundaki DBBHL'ler R-CHOP tedavisine daha düşük oranda yanıt vermektedir. Son zamanlarda yapılan çalışmalar DA-EPOCH-R, R-Hyper-CVAD veya CODOX - M/IVAC gibi yoğun KT rejimlerinin daha iyi yanıt verdiğini göstermektedir (35). Yine bu grupta yer alan hastalar için SSS profilaksisi önerilmektedir.

2.2.2. Foliküler Lenfoma

Foliküler lenfoma NHL'lerin en sık görülen ikinci alt tipidir. Tüm ırk ve coğrafyalarda görülebilmesinin yanı sıra batı dünyasında vaka tespitinin yapılabilmesi için daha fazla olanak olması nedeni ile daha fazla tespit edilebilmektedir. Avrupa ülkelerinde görülme sıklığı tahmin 100.000' de 2.8 vakadır (27). Görülme sıklığı yaşla birlikte artmakta iken ortanca yaş 65' dir. Cinsiyetler arası görülme oranında belirgin fark yoktur. Etiyolojisi net olarak bilinmemektedir. Az sayıda vakanın ailesel olabildiği gösterilmiştir (36). Vakaların çoğunda BCL-2 ekspresyonuna sebep olan t (14,18) translokasyonu saptanmıştır. Bununla birlikte ek moleküler anormalliklere de rastlanmıştır (37).

Foliküler lenfomanın germinal merkez B hücrelerinden kaynaklandığı hem sentrositleri hem de sentroblastları etkilediği düşünülmektedir. Çoğunlukla kısmen foliküler olan ve mikroskobik olarak nodüler görünümlü bir büyüme paternine sahiptir. Foliküler Lenfoma hücreleri immünofenoti olarak CD10, DC19, CD20, BCL-2 ve BCL-6 pozitifdir. Aynı zamanda çoğu FL hücresinin tedaviden sonra bile yüzey Ig (tipik olarak IgM) eksprese ettiği görülmüştür (38). Erken evrelerinde genellikle asemptomatiktir. Klinikte çoğu hasta periferik ağrısız LAP ile başvurur. Ekstranodal ve ekstralenfatik organ tutulumu DBBHL' ya göre daha düşüktür. Hiler ve mediastinal LAP olabilirken, büyük mediastinal kitle nadirdir. En sık tuttuğu ekstralenfatik organlar ise dalak, karaciğer ve kemik iliğidir (39). B semptomları hastaların %20'sinde gözlenir. Spesifik bir laboratuvar bozukluk olmamasıyla birlikte ileri evre hastalıkta bile serum LDH' da yükselme ve periferik sitopeni az oranda hastada bulunur.

Tanıda altın standart (AS) eksizyonel biyopsidir. WHO 2016 sınıflamasına göre FL 4 alt gruba ayrılmıştır (4).

- 1- İn situ foliküler neoplazi
- 2- Duodenal tip FL
- 3- Testiküler FL
- 4- Diffüz variant

Foliküler Lenfoma ayrıca mikroskobik olarak her büyük büyütme alanındaki sentroblastların sayısına göre sınıflandırılır (tablo 2.6.). Bu 3 gruptan grade 3B hisyolojik olarak daha çok DBBHL ya benzer ve klinik olarak daha agresiftir (4).

Tablo 2.6. Foliküler lenfoma Dünya Sağlık Örgütü sınıflaması

Grade	Tanım
1	0-5 sentroblast/BBA
2	6-15 sentroblast/BBA
3	>15 sentroblast/BBA

3A	Sentroblast + sentrosit
3B	Solid sentroblast organizasyonu
BBA: Büyük büyütme alanı	

Hastalığın evrelemesinde Ann Arbor evreleme sistemi kullanılır. Evreleme tedavi planlanmasında önemli olduğu için doğru bir şekilde yapılmalıdır. Foliküler lenfomada prognoz tayini için yapılan skorlama FL Uluslararası Prognostik İndeks (FLIPI) ve FLIPI 2 skorlamasıdır.

Tedavi seçimi yapılırken lokalize hastalık, erken evre, Kİ tutulumu, ileri evre gibi durumlar göz önünde bulundurulur. FL yavaş seyirli ve genellikle erken evrelerinde asemptomatik seyirli olduğu için tanı anında hastaların yaklaşık %15'i lokalize hastalıktır. Bu hastalarda tutulu alan radyo terapisi (TART) tek başına iyileşme sağlayabilir. Fakat hastalığın tutulum teri nedeniyle radyoterapiye bağlı yan etkiler oluşabilme ihtimali olduğu durumlarda izlem veya Rituksimab monoterapisi önerilen tedavi seçenekleri arasındadır. Yaygın hastalığı olanlarda (evre 2-4) eğer asemptomatikse yine izlem yapılabilir hastalar semptomatik hale geldiğinde KT tedavisine geçilir (40). Tedaviye modifiye GELF kriterleri veya British National Lymphoma Investigation (BNLI) kriterlerine göre başlanır (41). Agresif vakalarda (ileri evre, myelosupresyon, yüksek tümör yükü gibi) kullanılan KT rejimleri genellikle anti CD20 antikoları içeren kombinasyonlardır. Bunlar arasında en çok önerilen rejimler R-CHOP, R-CVP, R-bendamustindir (42). Bu rejimlerle tedavisi tamamlanan hastalara iki ila üç ayda bir idame Rituksimab infüzyonu yapılır.

Evre 2-4 hastalarda hastalığın tekrarlama olasılığı yüksektir. Relaps gözlenen hastalarda ilk tedavi rejimleri ve idame Rituksimab kullanılır. Relaps öyküsü olan hastalarda allojenik kök hücre nakli (KNH) yarar sağlayabilir. Yoğunluğu azaltılmış KT rejimleri sonrası allojenik KNH kullanılabilir (43).

Foliküler lenfoma hastalarında bir diğer risk ise DBBHL' ya transformasyonudur. İleri evre, yüksek FLIPI -IPI skoru, B semptom varlığı, yüksek LDH seviyeleri olan hastalarda %15 oranında transformasyon riski olduğu bildirilmiştir (44). Transformasyon

olan hastalıkta tedavi seçeneği ise 6 kür R-CHOP (başlangıçta antrasiklinli tedavi rejimi alanlarda platin içerikli kurtarma KT rejimi önerilmekte) tedavisini takiben OKİT' dir (45).

İzlem 3-4 kür sonrası PET-CT veya BT ile yapılan görüntüleme ile yapılır. Kİ tutulumu mevcut hastalarda KT sonrası kontrol kemik iliği aspirasyon biyopsisi (KİAB) yapılır. Görüntüleme ile %50'den fazla yanıt alınan hastalarda tedaviye aynı rejim ile devam edilir. Daha düşük yanıt oranı olan veya progresyon gösteren hastalarda tedavi değişikliği önerilir.

2.2.3. Marjinal Zon Lenfoma

Non hodgkin lenfomanın germinal merkez sonrası marjinal bölgeden kaynaklanan B hücreli lenfoma alt tipidir. İmmünofenotip belirteçlerinden CD19, CD20 ve CD22 ve CD5, CD10 pozitifken genellikle CD23 negatiftir. WHO lenfoid neoplazma sınıflandırmasına göre alt tiplere ayrılmıştır.

Bunlar;

- Mukoza ilişkili lenfoid dokunun ektranodal marjinal zon lenfoması (MALT lenfoma)
- Nodal marjinal zon lenfoması
- Dalak marjinal zon lenfoması

Ektranodal marjinal bölge lenfoması (EMZL), marjinal bölge hücrelerine ve plazma hücrelerine dönüşme yeteneğinde olan post-germinal merkez B hücrelerinden kaynaklanan, klinik olarak indolent tip NHL'dir (46). Yapılan çalışmalarda birçok EMZL hastalarında, genellikle bakteriyel, viral veya otoimmün stimülasyon nedeni ile kronik immün yanıt ortamının neden olduğu gösterilmiştir. Örneğin, *Helicobacter pylori* enfeksiyonunun gastrik EMZL gelişiminde en önemli etkenlerdendir ve çoğu zaman *Helicobacter pylori* eradikasyonu yeterli tedavi olmaktadır.

Ektranodal marjinal bölge lenfoması NHL'nin nadir görülen alt tipidir. Ortanca tanı yaşı 66'dır. EMZL tüm ırklarda ortaya çıkabilir, fakat vaka tespit ve teşhisi için gerekli kaynakların yetersizliğinden dolayı bazı ülkelerde epidemiyolojik veriler sınırlıdır dünya çapındaki kesin insidansı bilinmemektedir (47). ABD' de EMZL'nin tahmini insidansı yılda 1 milyon kişide 18.3 vakadır. Beyaz popülasyonda siyah

popölasyona göre daha düşük seviyededir. EMZL erkekler ve kadınlar arasında eşit olarak görülür.

Klinik olarak hastaların çoğu çeşitli bölgelerdeki glandüler epitel dokunun lokalize (evre I veya II) tutulumuna bağı bazı semptomlarla başvurur. En sık midede gözlenir ancak EMZL bağırsak, oküler adneksa, tiroid, gözyaşı ve tükürük bezleri, akciğer, meme, sinovyum, cilt, dura ve yumuşak dokuları içerebilir. Klinik şikayetler tutulan dokuya göre farklılık gösterir (48).

Nodal marjinal zon lenfoma (NMZL), en nadir görülen MZL alt tipidir ve NHL'ların ise %1'ini oluşturur. İnsidansı yılda 1 milyon kişide yaklaşık 6 vakadır. Ortalama tanı yaşı yaklaşık 70'dir. Beyaz ırkta siyah ırka göre daha fazla gözlenir ve erkeklerde kadınlara göre daha sık gözlenir (47). NMZL'li hastaların çoğu ağrısız periferik adenopati ile başvurur. Hastaların %30 kadarında tümör >5 cm'dir (bulky hastalık). Kemik iliğı tutulumu %30-60 oranında gözlenir; nadiren periferik yaymada tümör hücreleri görülebilir (1). Yaygın nodal hastalık gözlenen kişilerde ektranodal bölgelere yayılma görülebilir. Hastaların çoğu tanı anında asemptomatiktir. Hastaların az bir kısmında B semptomlar (%10-20), anemi (%25), trombositopeni (%10), yükselmiş LDH seviyeleri (%12-48), beta-2 mikroglobulin seviyesinde artma (%29-45), monoklonal immünglobülin (%6-33) gözlenebilir (49). Sistemik bulguların olması yüksek dereceli B hücreli lenfomara dönüşüm açısından araştırılması beklenen durumdur.

Splenik marjinal zon lenfoma (SMZL), çoğunlukla lenfositoz ve splenomegali ile seyreden ve dalakta marjinal zon çoğalma paterni ile karakterize bir NHL alt tipidir. Tüm NHL'lerin %1'den azını oluşturur ve splenektomi örneklerinde düşük dereceli B hücreli neoplazmaların %25'ini oluşturur (50). ABD'deki tahmini insidans bir yılda bir milyon kişide 1.3 vakadır. Ortalama tanı yaşı 65 ila 70 yaşlarıdır. 50 yaşından önce çok nadir görülür. SMZL dünyada tüm bölgelerde görülmesine karşın, beyaz ırkta siyah ırka göre iki kat fazla görülür (47).

Etyolojide B hücre uyarılmasına yol açan otoimmün durumlarla ilişkili olabileceğı düşünülmektedir. Bazı çalışmalarda saça uygulanan kimyasalların ve mesleki olarak metal işçiliğinin etyoloji ile ilişkili olabileceğı gösterilmiştir (51). Hastalar klinik olarak splenomegali, lenfositoz, sitopeni (anemi veya trombositopeni) ile başvurur. Çoğu hasta başlangıçta asemptomatiktir fakat bazı hastalarda karında

dolgunluk, ağrı (splenomegaliye bağlı olarak), kanama bulguları (trombositopeni nedeni) gibi şikayetler olabilir. Diğer NHL'lerden farklı olarak, lenfadenopati ve ekstralatenfatik tutulum oldukça nadirdir (52). Tüm alt tiplerinde tanı diğer NHL'lerde olduğu gibi lenf nodu biyopsisidir. Evrelemede Ann Arbor evreleme sistemi kullanılır.

Tedavi için yaklaşımda ise evre 1A hastalık için lokal alan radyoterapisi kür sağlayabilmektedir. Kemoterapi rejimi ihtiyaç duyulduğunda ise diğer düşük dereceli lenfomalarda kullanılan rejimler uygulanabilir. Diğer NHL tiplerinden farklı olarak tedavide splenektominin faydalı olduğu hastalar mevcuttur.

2.2.4. Mantle Cell Lenfoma

Mantle cell lenfoma (MCL) olgunlaşmamış B hücrelerinden kaynaklanan hematolojik malignitedir. Batı toplumlarında lenfomalar arasında %6-9 oranında gözlenir. Yıllık insidansı 100.000 vakada 1-2 şeklindedir. Erkeklerde kadınlara oranla 3 kat daha fazla gözlenirken, insidansı yaşla birlikte artmaktadır. Median yaşı 68'dir. Karakteristik fenotipi CD19, CD5 ve CD22 pozitif, CD23 negatif şeklindedir. Ayrıca t (11,14) translokasyonu ile siklin D1 geninde mutasyon nedeni ile ekspresyonunda artma gözlenir. Patolojik olarak klasik, pleomorfik ve blastoid tip olarak üç farklı morfolojide bulunabilir.

Mantle cell lenfoma sınıflaması 2016 WHO sınıflamasına göre yapılır. Bu sınıflamaya göre klasik MCL ve lösemik MCL olarak ikiye ayrılırken, in situ mantle hücreli neoplazi olarak adlandırılan yeni bir sınıf daha eklenmiştir (53).

- Klasik MCL tipik olarak lenf nodları ve ektranodal organ tutulumu ile seyreden, SOX-11 ekspresyonu içeren formudur. Ek moleküler bozukluklar edinilmesi ile agresif seyir gösterebilir.
- Lösemik MCL da ise lenf nodları korunurken hastalık Kİ ve periferik kanda gözlenir. SOX-11 ekspresyonu negatiftir. Daha yavaş seyirli olmasına rağmen p53 mutasyonu gibi ek mutasyonların eşlik etmesi ile agresif hale gelebilir.
- İn situ mantle hücreli neoplazi sınıfına dahil edilen grup ise MCL tanısı için yeterli düzeyde kanıt olmamakla birlikte siklin D pozitifliği içeren hücrelerin lenf nodlarında mantle zonda bulunması ile karakterizedir. MCL' ye progresyonu nadirdir. Genelde tesadüfen bulunan hastalıktır.

Klinikte genellikle hastalık ileri evrede karşımıza çıkar. Hastaların çoğu lenfadenopati ile başvururken hastaların %30'unda B semptomları mevcuttur. Kİ tutulumu görece sık gözlenmektedir (%60 civarı). Sık tutulan ektranodal bölgeler ise dalak, Waldeyer halkası, Kİ, periferik kan, GİS, meme, plevradır (54).

Tanı eksizyonel biyopsi ile koyulur. Görüntüleme için PET-CT veya BT önerilen seçeneklerdendir. PET-CT Kİ tutulumunu göstermede yetersiz olabilmektedir bu yüzden ihtiyaç duyulan hastalarda KİAB yapılmalıdır.

MCL evrelemesinde Ann Arbor evreleme sistemi kullanılır. Prognoz tayini için MIPI ve MIPI-C skorlama sistemi geliştirilmiştir (55).

Agresif seyirli bir lenfoma olmasına rağmen yaklaşık %15'lik bir hasta grubu indolent seyir gösterebilir. Gidişatın belirleyicisi olarak SOX-11 negatifliği önemlidir (56). Ayrıca tümör yükünün düşük olması MIPI skorunun 6'dan küçük olması, Ki-67'nin %10'dan düşük olması da yavaş seyirli hastalık göstergesi olabilir. Bunun yanı sıra Tp-53 mutasyonunun olması tedaviye dirençli agresif seyirli vakalar olduğu gösterilmiştir ve bu hasta grubunda hedefe yönelik ilaçlara ihtiyaç duyulduğu gösterilmiştir. MCL' de bilinen bir prognoz belirleyici belirteç olmaması hastalığın gidişi hakkında net bir öngörü sağlanamamasına yol açmaktadır.

Hastalığın tedavisinde evre 1 ve 2 hastalarda RT ve kısa KT rejimleri kullanılabilirken; eğer kötü prognostik göstergeler varsa yüksek evre MCL gibi tedavi edilmektedir (57). Evre 3 ve 5, evre 2 bulky hastalığı olan hastalarda R-CHOP VE R-DHAP kombinasyonları kullanılabilirdiği gibi tedaviye yanıt veren hastalarda otolog KHN önerilen seçeneklerdendir (58). Relaps gözlenen hastaların tedavisinde hedefe yönelik tedaviler etkinliği olan ajanlardır. Tek başına lenalidomid, ibrutinib ve bunların Rituksimab ile kombinasyonları kullanılabilir (59).

2.2.5. Küçük Lenfositik Lenfoma

Bu hastalık B hücreli kronik lenfositler lösemi ile benzer immünofenotip ve morfoloji gösteren fakat periferik kanda daha az lösemi hücresi bulunan ve kemik

iliği infiltrasyonuna bağlı sitopeni kliniği oluşturmayan hastaları içerir. Tedavi ve takibi de B hücreli kronik lenfositler lösemi ile aynıdır.

2.2.6. Burkitt's Lenfoma

Endemik veya sporadik formlarda görülebilen oldukça agresif seyirli bir lenfoma talt tipidir. Hemen hemen çoğunda MYC onkogenini içeren t (8;14) translokasyonu bulunur. Etiyolojisinde kronik sıtma enfeksiyonu ve EBV rol oynar. Endemik tipte hastaların çoğu genç yaş grubu genellikle çene kemiğinde büyük LAP ile prezente olan hastaları içerir. Başlangıçta KT ye iyi yanıt veriyor gibi gözüксе de hastalık seyrinde kür nadirdir. Sporadik tipi ise hemen her bölgede görülebilir. Klinikte vücudun çeşitli bölgelerini tutsa da genellikle batın içi dev kitleler ile uyumlu hastalık tablosu oluşturabilir. Histolojik olarak ise proliferasyon indeksi yüksek karakteristikte hücreler içerir. Tedavide yüksek doz metotreksat, sitozin arabinosid, siklofosfamid içeren KT rejimleri kullanılır. Ayrıca hastalara inratekal KT de uygulanır. Endemik tipine göre prognoz daha iyidir.

2.2.7. T Hücreli Lenfomalar

CD4 pozitif fenotipinde nadir görülen lenfoma tipidir. Çeşitli varyantları bulunan heterojen bir lenfoma grubudur (tablo2.7.).

Tablo 2.7. T hücreli lenfoma varyantları

T hücreli lenfoma varyantları
- Periferik T-hücreli non hodgkin lenfoma - Angioimmünoblastik lenfadenopati - Mikozis fungoides - Sezary sendromu - Adult T hücreli lösemi/lenfoma - Enteropati ile ilişkili T hücreli lenfomalar

Ekstranodal hastalık yerine genellikle lenfadenopati ile ortaya çıkarken bazı varyantları spesifik deri lezyonları ile ortaya çıkabilir. Etyolojide spesifik bir virusun sebep olduğu tipi adult T hücreli lösemi/lenfomadır. HTLV-1 enfeksiyonu ile ilişkilidir.

Tedavide R-CHOP gibi KT rejimlerinin yanı sıra histon deasetiaz inhibitörleri, yüksek doz metotreksat, fototerapi, lokal ışınlama, psoralenli fotokemoterapi tedavileri varyantlar ve hastalığının tutulum yerine göre tercih edilebilir. Genel olarak kötü prognozlu ve agresif lenfoma türüdür.

2.3. ÇALIŞMADA KULLANILAN İMMÜNOHİSTOKİMYASAL BELİRTEÇLER

2.3.1 BCL-6

BCL-6 geni; 3q27 bandında bulunan BTP-POZ transkripsiyon faktörü ailesinin 706 aminoasitli nükleer zincirden oluşan bir nükleer proteini kodlar (60). Hücre proliferasyonu ve transkripsiyonunu düzenleyici gen proteinidir ve normal hücredeki net etkisi güçlü bir transkripsiyon baskılayıcısı olmasıdır (61). BCL-6 promotöründe BCL-6 bağlanma bölgelerini içeren hücreler üzerinde negatif feedback yoluyla BCL-6' nın kendisi de dahil olmak üzere birçok gen için bir transkripsiyon baskılayıcı görevi görür, ayrıca kendi nükleer bağlanma bölgeleri dışında diğer DNA bağlanma faktörleri ile birleşerek kendi bağlanma bölgesi olmayan genlerin baskılanmasına da aracılık edebilir.

BCL-6 protoonkogeni ilk olarak DBBHL olgularında 3q27 translokasyonun gösterilmesi ile saptanmış daha sonra FL olgularında da gösterilmiştir (62). BCL-6, lenfoid organın olgun germinal merkez B hücrelerinde eksprese edilir, ancak farklılaşmış hücre soylarında (plazma hücreleri ve hafıza B hücreleri) ifade edilmez. Germinal merkezde follikül biçimlenmesinde görev almaktadır. Bu görevi nedeni ile lenfoid folliküllerdeki germinal merkez hücrelerinde (santosit ve santroblastlar) (benign ya da malign), germinal merkez ayrışma evresindeki hücrelerden kaynaklanan lenfomalarda pozitif nükleer boyanma gösterir (63). B hücre lenfoma hücre dizilerinde BCL-6' nın aşırı ekspresyonu, hücrelerin DNA hasarına yanıt

olarak apoptoza uğramasını önler. BCL-6 ekspresyonunun, normal somatik hipermutasyon ve sınıf değişimi için gerekli olan DNA zincir kırılmalarının, apoptozu tetiklemeden germinal merkezde ilerlemesine izin verdiği varsayılmaktadır (63).

2.3.2. BCL-2

BCL-2 ilk defa foliküler lenfoma olgularında t (14;18) (q32: q21) translokasyonunda yer alması ile keşfedilmiştir. 18q21 kromozom bandında yer alır ve hücrede çoğunlukla dış mitokondriyal membranda bulunan, bir miktar da nükleer membran ve endoplazmik retikulum da lokalize olan 26 kDa' lık bir integral zar proteinini kodlar (64). BCL-2; programlanmış hücre ölümünü (apoptoz) bloke eden bir onkogendir. Apoptozun intrinsik yolağında yer alır. Doğrudan veya dolaylı olarak mitokondriden sitokrom c salınımını baskılayarak ve APAF-1 ile birleşmesini engelleyerek mitokondrial hasarı önlemeyi sağlar. Sitokrom c ve APAF-1 kaspaz kaskadını aktive ederek hücre ölümüne sebep olan proteinlerden biridir (65). BCL-2' nin mitokondrial yolak üzerindeki bu etkisinin ortadan kalkması sonucu apoptozise karşı hücrel direnç ortaya çıkar.

BCL-2 proteini lenfoid dokuda topografik dağılımlıdır, ilk analizler foliküler manto bölgesinin germinal merkesindeki lenfositlerde, plazma hücrelerinin onarımı ile ilgili bölgelerde ve hafıza B hücreleri ve timik medulladaki T hücreleri gibi çeşitli normal dokular ve hemotopoetik hücreler tarafından eksprese edildiğini ortaya çıkardı. Daha sonraki çalışmalar BCL-2 proteinin ayrıca epitel gibi lenfoid olmayan dokularda ve sinir hücreleri gibi uzun ömürlü postmitotik hücrelerde de bulunduğunu doğruladı (66). Sinir sisteminde büyüme faktörü yoksunluğunun sebep olduğu apoptozu engelleyerek nöronların ömrünü uzatmada önemli olduğu gösterildi (67).

Foliküller tip lenfomaların yaklaşık %85'inde karakteristik t(14;18) (q32;q21) translokasyonu bulunur, 14q32 immünglobulin ağır zincirinin bulunduğu bölgedir ve burkitt lenfoma patogenezinde de etkilidir. BCL-2'nin translokasyon yolu ile veya bazı lösemi ve lenfomalarda olduğu gibi mikroRNA' ların azalması ve silinmesinin yol açtığı ekspresyonunda artma olabilir (68). BCL-2 ekspresyonunun aşırı olduğu lenfomalarda belirgin hücre proliferasyonunun aksine azalan hücre ölümü sebebiyle lenfodenopati ve kemik iliği infiltrasyonuna ilerleyen B hücre birikimi olur. Bu

lenfomaların diğer lenfomalarla karşılaştırıldığında daha yavaş seyirli olduğu söylenebilir.

2.3.3. MYC

MYC geni, tüm ökaryotik canlılarda eksprese edilen, 8. kromozomda lokalize, hücre bölünmesinin erken fazında görevli bir protoonkogendir. İlk defa 1970' li yıllarda MCR9 kuş tümörü virüsünün sebep olduğu miyelositomatozis (bu virüsün sebep olduğu lösemi) vakalarında tanımlanmıştır ve V-MYC (*myelositomatozis viral onkogene*) ismi verilmiştir. 1980' lerin başında ise normal insan hücresinde varlığı araştırılmış ve lokalizasyonu gösterilmiştir (69). İnsan tümörlerindeki rolü ise ilk defa Burkitt lenfomalı hastalarda gösterilmiştir. Bu hastalarda kromozom 8' in kromozom 14' e transloke olması ile oluşan t(8,14) mutant kromozom V-MYC' e benzediğinden yeni bulunan bu gene C-MYC (*cellular-myc*) ismi verilmiştir (70).

MYC onkogen ailesi, sırasıyla C-MYC, N-MYC ve L-MYC'i kodlayan C-MYC, MYCN ve MYCL olmak üzere üç üyeden oluşur (71). MYC 62-kDa ağırlığında proteindir ve tüm genomun en az %15' inin transkripsiyonunu potansiyel olarak düzenleyen "süper transkripsiyon faktörleri" olarak adlandırılan bir aileye aittir (72). MYC' nin ana akış aşağı efektörleri, ribozom biyogenezi, protein translasyonu, hücre döngüsü ilerlemesi ve metabolizmasında yer alan, hücre proliferasyonu, farklılaşma, hayatta kalma ve bağışıklık gözetimi gibi geniş bir biyolojik işlev yelpazesi olduğu bilinmektedir. Büyüme faktörlerinin tetiklenmesi ile çoğalma uyarısını alan hücrede MYC protoonkogeni birçok işlevinin yanı sıra MYC onkoproteinini üretir. MYC onkoproteini, MAD ve MAX adlı proteinlerle heterodimerler oluşturmaktadır (73). Oluşan bu heterodimerler hücre çoğalması ve apoptoziste önemli rollere sahiptir. MYC/MAX ve MAD/MAX heterodimerleri aynı DNA sekanslarına bağlanırlar ve transkripsiyon üzerinde karşıt etkilere sahiptirler. MYC' nin MAX ile yaptığı heterodimerler transkripsiyonu aktive ederken, MAD/MAX heterodimerleri transkripsiyonu baskılamaktadır. MYC onkoproteinini istirahatteki hücrelerde tespit edilemeyecek düzeyde azdır. MYC sadece çoğalan hücrelerde ve farklılaşmamış hücrelerde sentezlenir (73).

MYC protoonkogeni normal şartlarda da bütün hücrelerde salınır, sessiz hücre MYC proteinini aldığı zaman hızla hücreyi bölünmeye götürür. MYC ailesi

üyelerinin ifadesi normal hücrelerde sıkı bir şekilde kontrol edilir; bölünmeye başlayan hücrede MYC hızla normal bazal düzeyine iner. Fakat MYC, insan kanserlerinde sıklıkla düzensizdir. Aşırı MYC ekspresyonu; retroviral promotör eklenmesi, kromozomal translokasyon/amplifikasyon MYC geni içindeki süper güçlendiricilerin aktivasyonu ve/veya MYC stabilitesini artıran yukarı akış sinyal yollarının mutasyonu sebebiyle indüklenebilir (69). Bu durumlar onkogenik hücrede bölünme başlangıcı ile birlikte devamlı veya aşırı salınımla MYC proteini üretilmesine sebep olur. MYC geninde ortaya çıkan bu değişiklikler farklı mekanizmalarla farklı tümörlerin oluşumuna neden olur (74).



3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamıza 2016-2021 yılları arasında Sağlık Bilimleri Üniversitesi Bozyaka Eğitim ve Araştırma Hastanesi Hematoloji Kliniğinde takip edilen NHL tanılı 66 hasta alınmıştır. Çalışmamız kesitsel, tanımlayıcı ve retrospektif bir çalışmadır.

Çalışmamız 09.03.2022 tarih ve 2022/46 karar numarası ile SBÜ İzmir Bozyaka Eğitim Araştırma Hastanesi klinik araştırmalar etik kurulu tarafından onaylanmıştır.

Hastalar retrospektif olarak hastanemiz probel sistemi kayıtlarından incelenmiştir. Çalışmaya 18 yaşından büyük olan ve doku örnekleri uzman patoloğ tarafından değerlendirilerek hastalığı kesinleşmiş hastalar dahil edilmiştir. Hastaların başka bir maligniteye sahip olması dışlama kriteri olarak kabul edilmiştir.

Bu kriterler dahilinde incelenen; NHL tanılı ve patoloji numunelerinde immünohistokimyasal belirteçlerden BCL-2, BCL-6 ve MYC proteinlerinin üçünün de çalışıldığı ve sonuçlandığı hastalar çalışmaya dahil edilmiştir.

Hastaların tanı yaşları, cinsiyeti, ECOG performans durumları, uluslararası prognostik skorları (IPI, FLİPİ, MİPİ), hastalık evresi, histopatolojik alt tipleri, ektranodal tutulum varlığı, kemik iliği tutulumu, tanı anındaki laboratuvar değerlerinden; serum LDH, Hemogloblin, serum albümin değerleri ve patoloji numunelerinin immünohistokimyasal değerlendirmesinde BCL-2, BCL-6, MYC, Ki-67 belirteçleri kayıt edildi.

Veriler sınıflandırılırken ECOG performans ölçeğinde 2 puan ve altında puan alan hastalar yüksek performans, 3 puan ve üstünde puan alan hastalar düşük performans grubuna dahil edildi. Ann Arbor evreleme sistemine göre evrelemesi yapılan hastalarda 0-2 evre olan hastalar erken evre, 3-4 evrede olan hastalar ileri evre hastalık grubuna dahil edildi. Kullanılan prognostik skorlamalar; DBBHL, MZL, KLL histolojik alt tipleri için IPI skorlama sistemi kullanıldı. IPI skorunda 0-2 puan düşük-orta risk grubu, 3-5 puan orta-yüksek risk grubu olarak sınıflandırıldı. Foliküler lenfoma hastaları için FLİPI skorlama sistemi kullanıldı; FLİPI skorunda 0-2 puan düşük-orta risk grubu, 3-5 puan orta-yüksek risk grubu olarak sınıflandırıldı.

MCL hastaları için MIPI skorum sistemi kullanıldı; 0-6 puan düşük-orta risk grubu, 6 puan üzeri orta-yüksek riskli grup olarak sınıflandırıldı.

Alınan sonuçlara göre BCL-2, BCL-6, MYC proteinlerinin immünohistokimyasal olarak pozitif ve negatif boyananlar olarak kabul edildi ve subgrupların sağ kalıma etkilerinin olup olmadığı, diğer prognostik belirteçler ile ilişkiler istatistiki olarak araştırıldı.

3.1. İSTATİSTİKSEL VERİLERİ

Veriler IBM SPSS Statistics 23 programında analiz edilmiştir. Sürekli değişkenlerin gruplar arası karşılaştırmalarında Student t test ve Mann Whitney-U testi, kategorik değişkenlerin karşılaştırmalarında ise Ki-kare testi kullanıldı. Sağkalım analizlerinde Kaplan-Meier yöntemi ve grup karşılaştırmalarında Log rank test kullanıldı. Bağımsız değişkenlerin saptanması için Cox Regression Analiz uygulandı. Veriler n ve yüzde olarak, ortalama±SS ve medyan (min-maks) olarak özetlendi. İstatistiksel önem düzeyi 0,05' den küçük olarak kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. TANIMLAYICI ÖZELLİKLER

Bu çalışmada 2016-2021 yılları arasında SBÜ Bozyaka EAH 'da takip edilen 66 NHL'li vaka incelenmiştir. Çalışmamıza alınan hastaların 27'si (%40,9'u) kadın, 39'u (%59,1) erkek hastalardan oluşmaktadır. Hastaların yaş ortalaması $62,7 \pm 13,1$ (23,0-94,0), ortancası 63,5'tir. Hastaların %12,1'i 45 yaş ve altı, %48,5'i 46-65 yaş, %39,4'ü 66 yaş ve üzerindedir (tablo 4.1.).

Hastaların histolojik alt tipi dağılımına bakıldığında; Grubun 42'si (%63,6) Diffüz büyük B hücreli lenfoma, 8'i (%12,1) Foliküler lenfoma ve 5'i (%7,6) Marjinal Zon Lenfoma, 3'ü (%4,5) mantle hücreli lenfoma, 3'ü (%4,5) küçük hücreli lösemi/lenfoma, 2' si (%3) T hücreli lenfoma, 1'i (%1,5) Burkitt Lenfoma ve 2'si (%3) tipi belirsiz yüksek dereceli B hücreli lenfoma olarak belirlendi. 66 NHL tanılı hasta grubunda bakılan immünohistokimyasal belirteçlerin pozitif çıkma dağılımı ise; BCL-2 %75,8' inde, BCL-6 %66,7'sinde, MYC %22,7' sinde pozitif (tablo 4.1.).

Hastaların %56,1'inde tedavi sonrasında tam yanıt gözlendi, %25,8'i tedaviye hiç yanıt vermedi, %18,2'sinde nüks gelişti. Son duruma bakıldığında hastalardan 41'i sağ (%62,1), 25'i (%37,9) ölü idi (tablo 4.1.).

Tablo 4.1. Hastaların Demografik Özelliklerinin Dağılımı

DEĞİŞKEN	Sayı (n)	Yüzde (%)
YAŞ	45 yaş altı	12,1
	46-65 yaş	48,5
	66 yaş ve üzeri	39,4
CİNSİYET	Kadın	40,9
	Erkek	59,1
EVRE	Evre 0-2 arası	18,2
	Evre 3-4 arası	81,8
ECOG	Düşük	43,9
	Yüksek	56,1
IPI SCORU	Düşük	43,9
	Yüksek	56,1
HİSTOLOJİK	Diffüz Büyük B	63,6
	Foliküler	12,1
	Marjinal zon	7,6

ALT TİP	Mantle	3	4,5
	T hücreli	2	3,0
	KLL	3	4,5
	Burkit	1	1,5
	Belirsiz	2	3,0
BCL-2	Pozitif	50	75,8
	Negatif	16	24,2
BCL-6	Pozitif	44	66,7
	Negatif	22	33,3
C-MYC	Pozitif	15	22,7
	Negatif	51	77,3
SON HASTALIK DURUMU	Nüks Var	12	18,2
	Tam yanıt	37	56,1
	Tedaviye rağmen progrese	17	25,8
SON DURUM	Sağ	41	62,1
	Ölü	25	37,9

ECOG.....: Eastern Cooperative Oncology Group

IPI.....: International Prognostic Indeks

Hastaların tanı aldığı andaki klinik durumları; Ann Arbor evreleme sistemine göre vakaların 54' ü (%81,8) ileri, 12' si (%18,2) erken evre hastalıktı. Hastaların %84,1' inde en az 1 adet ektranodal tutulum olmakla birlikte, EN tutulum sayısı 1 olanlar grubun %52,4' ünü oluşturmaktaydı. Ayrıca hastaların 16' sında (%24,2) tanı anında kemik iliği tutulumu mevcuttu (tablo 4.2.). Tanı anında hasta performanslarını sınıflamak için ECOG performans sistemi kullanıldı. ECOG performansı düşük (3 ve üstü puan) olan hastalar %43,9, ECOG performansı yüksek (2 ve altı puan) olan hastalar %56 olarak saptandı. Hastalık prognozunu gösteren skoreleme sistemlerine göre (IPI, FILIPI, MIPI) hastalar yüksek riskli ve düşük riskli olarak hesaplandı, hastaların %43,9' u düşük riskli, %56,1' i yüksek riskli hastalık grubunda idi (tablo 4.2.).

Tablo 4.2. Hastaların tanı anındaki klinik durumları

Evre	N	%
Evre 0-2 arası	12	18,2
Evre 3-4 arası	54	81,8
Total	66	100,0
Kemik iliği tutulumu		
Var	16	24,2
Yok	50	75,8
Total	66	100,0
En tutulum sayısı		
,00	10	15,9
1,00	33	52,4
2,00	15	23,8
3,00	4	6,3
4,00	1	1,6
Toplam	63	100,0
IPI puanı		
Düşük	29	43,9
Yüksek	37	56,1
ECOG performansı		
Düşük	29	43,9
Yüksek	37	56,1

Hastaların toplam izlem süresi ortalama $23,3 \pm 17,3$ (1-60) aydır, ortanca 24,5' tir. Tedavide en sık tek başına KT rejimi olarak R-CHOP kullanıldı. Hastalardan 5 (%7,5) tanesine KT rejimi sonrası OKİT yapıldı (tablo 4.3.).

Tablo 4.3. Hastalarda kullanılan tedavi rejimleri

Tedavi	N	%
R-CHOP	43	65
R-BENDA	5	7,5
R-CVP	5	7,5
OKİT	5	7,5
R-ESHAP	4	6
İDARAM	3	4,5
İZLEM	3	4,5
DİĞER	10	15,0
Total	78	117,5

Hastaların demografik ve klinik özelliklerinin prognoza göre dağılımı Tablo 4.4.'te sunulmuştur. Kadınların 20'si (%74,1) yaşıyor iken 7'si (%25,9) yaşamını yitirmiştir. Erkeklerinse 21'i (%53,8) yaşıyor iken, 18'i (%46,2) yaşamını yitirmiştir, cinsiyetler arası sağ kalım karşılaştırıldığında anlamlı fark bulunamamıştır ($p>0,05$). İleri evredeki hastalardan 22'si (%40,7), Kİ tutulumu olan hastalardan 9'u (%56,3) ölüm oranları daha yüksek olmasına rağmen, erken evre ve Kİ tutulumu olmayan hastaların sağ kalımları aradaki fark anlamlı değildir. IPI skoru yüksek olanlarda ölüm oranı %51,4 iken düşük olanlarda %20,7'dir ve sağ kalım açısından aradaki fark anlamlıdır ($p= 0,011$). ECOG performansı düşük olan hastalarda ölüm oranı %58,6'dır ve ECOG performansı yüksek olan hastalarda ölüm oranı %21,6'dır; aradaki fark anlamlıdır ($p=0,002$) (tablo 4.4.).

Tablo 4.4. Demografik ve klinik özelliklerin prognoza etkisi

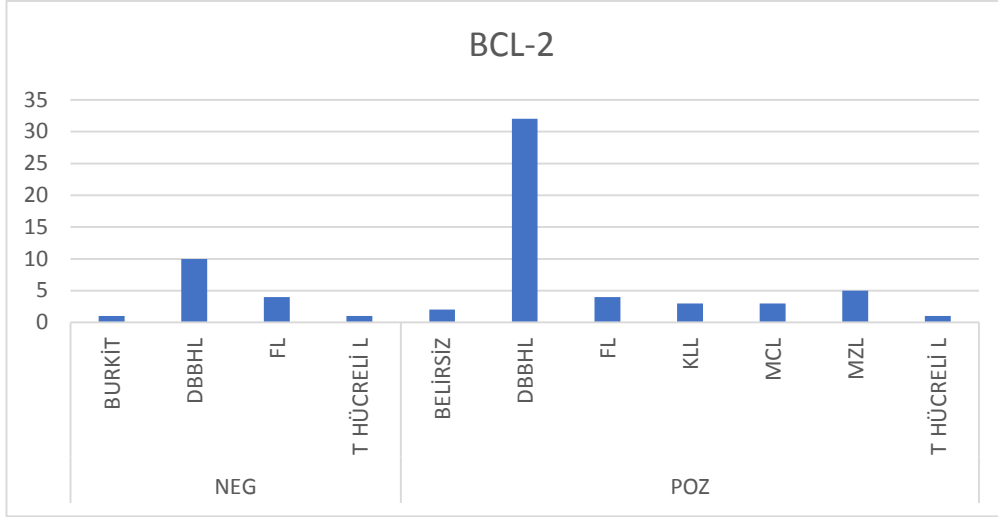
	Sağ		Ex		Toplam	Ki-kare	P
	N	%	N	%			
Cinsiyet						2,774	0,096
Kadın	20	74,1	7	25,9	27		
Erkek	21	53,8	18	46,2	39		
Yaş						0,619	0,734
45 yaş ve altı	4	50,0	4	50,0	8		
46-65 yaş	20	62,5	12	37,5	32		
66 yaş ve üzeri	17	65,4	9	34,6	26		
Tanı							
DBBH NHL	27	64,3	15	35,7	42	0,230	0,632
DBBH dışı NHL	14	58,3	10	41,7	24		
Evre						Fisher	0,512
Erken	9	75,0	3	25,0	12		
İleri	32	59,3	22	40,7	54		
Kemik iliği tutulumu						3,029	0,082
Var	7	43,8	9	56,3	16		
Yok	34	68,0	16	32,0	50		
IPI skoru						6,495	0,011
Düşük	23	79,3	6	20,7	29		
Yüksek	18	48,6	19	51,4	37		
ECOG performansı						9,458	0,002
Düşük	12	41,4	17	58,6	29		
Yüksek	29	78,4	8	21,6	37		
Son hastalık durumu						17,242	0,001
nüks	5	41,7	7	58,3	12		
remisyon	31	83,8	6	16,2	37		
Progrese	5	29,4	12	70,6	17		

Hastaların tanı anındaki laboratuvar değerlerinden serum LDH, hemoglobin (HMG), serum albümin (ALB) değerleri ve immünohistokimyasal değerlendirme ile Ki-67 boyanma oranlarının ortalamaları yaşayan ve yaşamayan hastalarda karşılaştırılmıştır. HMG, ALB, Ki-67 ortalamaları arasında fark saptanmazken, LDH ortalaması yaşamayan grupta ($332,8 \pm 198,9$) anlamlı olarak daha yüksektir ($p=0,025$) (tablo 4.5.).

Tablo 4.5. Laboratuvar değerleriyle prognoz arasındaki ilişki

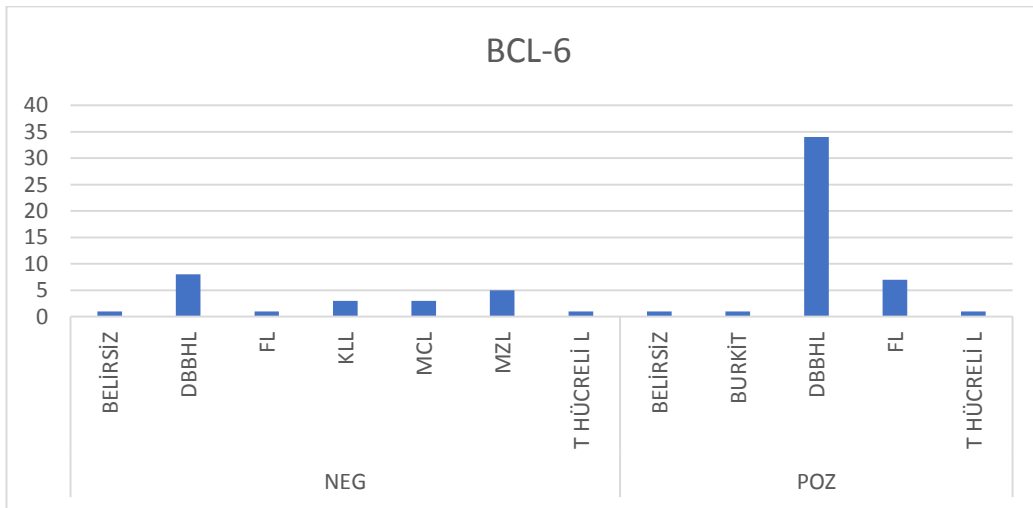
	Son durum	N	Ort	SS	t değeri	p
LDH						
	Yaşıyor	41	249,6	94,1	-1,961	0,025
	Yaşamıyor	25	332,8	198,9		
HMG						
	Yaşıyor	41	12,3	2,2	0,334	0,74
	Yaşamıyor	25	12,2	2,0		
ALB						
	Yaşıyor	41	38,9	4,8	0,633	0,529
	Yaşamıyor	25	38,1	5,0		
Ki-67 yüzde						
	Yaşıyor	37	56,2	28,2	-0,303	0,763
	Yaşamıyor	23	58,4	27,6		

BCL-2, BCL-6, MYC pozitifliğin tanı gruplarına göre dağılımı; BCL-2 pozitifliği histolojik alt tiplere göre DBBHL hastalarından 32'si pozitif 10'u negatif (%76,2 pozitif oranı), FL hastalarından 4'ü pozitif, 4'ü negatif (%50 pozitif oranı), MZL hastalarının 5'i de pozitif, MCL hastalarında 3'ü de pozitif, KLL hastalarının 3'ü de pozitif, T hücreli lenfoma hastalarının 1'i pozitif, 1'i negatif, 1 tane Burkitt lenfoma hastası negatif ve tipi belirlenemeyen 2 tane B hücreli lenfoma hastasının 2'si de pozitif çıkmıştır (şekil 4.1.).



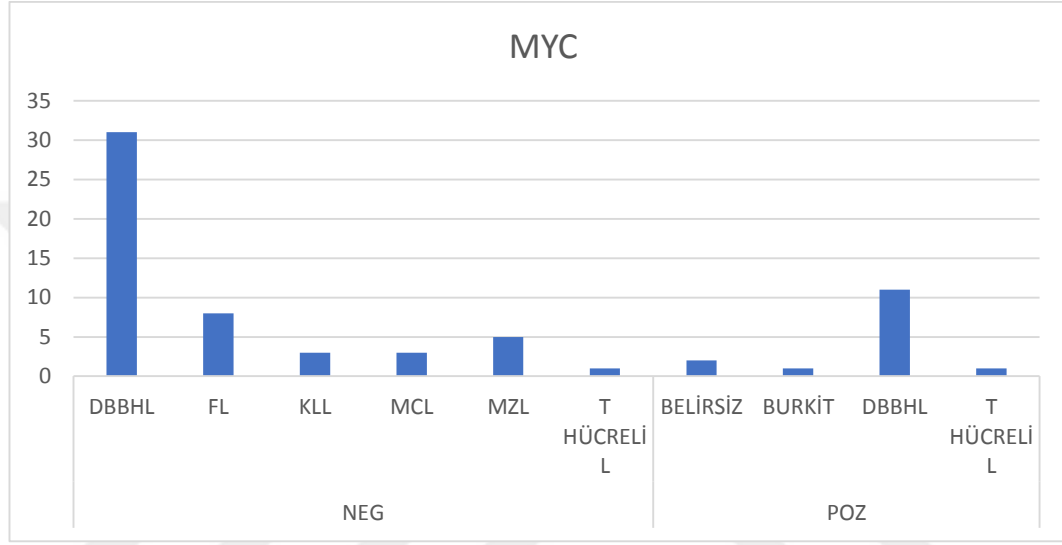
Şekil 4.1. BCL-2 protein ekspresyonunun NHL alt tiplerine göre dağılımı

BCL-6 pozitifliği histolojik alt tiplere göre DBBHL hastalarından 34'ü pozitif 8'i negatif (%80,9 pozitif oranı), FL hastalarından 7'ü pozitif, 1'i negatif (%87,5 pozitif oranı), MZL hastalarının 5'i de negatif, MCL hastalarında 3'ü de negatif, KLL hastalarının 3'ü de negatif, T hücreli lenfoma hastalarının 1'i pozitif, 1'i negatif, 1 tane Burkitt lenfoma hastası pozitif ve tipi belirlenemeyen 2 tane B hücreli lenfoma hastasının 1'i pozitif, 1'i negatif, çıkmıştır (şekil 4.2.).



Şekil 4.2. BCL-6 protein ekspresyonunun Non Hodgkin Lenfoma alt tiplerine göre dağılımı

MYC pozitifliği histolojik alt tiplere göre DBBHL vakalarından 11'i pozitif 31'i negatif (%26,2 pozitif), FL hastalarından 8'i negatif, MZL hastalarının 5'i de negatif, MCL hastalarında 3'ü de negatif, KLL hastalarının 3'ü de negatif, T hücreli lenfoma hastalarının 1'i pozitif, 1'i negatif, 1 tane Burkitt lenfoma hastası pozitif ve tipi belirlenemeyen 2 B hücreli lenfoma hastasının 2'si de pozitif çıkmıştır (şekil 4.3.).



Şekil 4.3. MYC protein ekspresyonunun Non Hodgkin Lenfoma alt tiplerine göre dağılımı

BLC-2, BLC-6, MYC pozitifliği ile yaş, LDH, HMG, ALB ve Ki-67 ortalamaların Tablo 4.6.'da karşılaştırılmıştır. Kİ-67 yüzde oranı ortalaması BLC-2 negatif, BLC-6 pozitif, MYC pozitiflerde anlamlı olarak daha yüksektir. MYC negatif olanlarda ALB değeri anlamlı olarak düşük saptanmıştır ($p < 0,002$). BLC-6'sı pozitif olanların yaş ortalaması anlamlı olarak daha düşüktür (Tablo 4.6.).

Tablo 4.6. BLC-2, BLC-6, MYC pozitifliği ile yaş, LDH, HMG, ALB ve Kİ-67 ortalamalarının karşılaştırılması

		BLC-2					BLC-6					MYC				
		N	Ort	SS	t değeri	p	N	Ort	SS	T	p	N	Ort.	SS	T	P
Yaş	Pozitif	50	63,3	13,6	0,687	0,494	44	60,3	12,5	-2,208	0,031	15	62,7	16,4	0,007	0,994
	Negatif	16	60,8	11,3			22	67,6	13,0			51	62,7	12,1		
LDH	Pozitif	50	271,8	155,8	-0,908	0,453	44	300,3	166,6	1,828	0,072	15	327,2	170,7	1,239*	0,23
	Negatif	16	310,3	116,7			22	242,6	89,5			51	267,5	138,7		
HMG	Pozitif	50	12,1	2,2	-0,827	0,412	44	12,5	2,2	1,475	0,145	15	11,3	2,3	-2,14	0,059
	Negatif	16	12,6	2,0			22	11,7	1,9			51	12,6	2,0		
ALB	Pozitif	50	38,9	4,8	0,988	0,327	44	38,4	5,2	-0,571	0,57	15	35,3	6,0	-3,173	0,002
	Negatif	16	37,6	4,9			22	39,1	4,0			51	39,6	4,1		
Kİ-67 yüzde	Pozitif	46	51,9	27,6	-2,727	0,008	41	63,6	25,7	2,836	0,006	14	76,4	18,7	3,918*	0,00001
	Negatif	14	73,9	21,2			19	42,9	27,4			46	51,2	27,5		

*Varyanslar homojen olmadığında hesaplanan değerler sunulmuştur.

Tüm NHL olguları birlikte değerlendirildiğinde BCL-2 pozitiflerin %42'si, BCL-2 negatif hastaların %25'i yaşamını kaybetmektedir. BCL-6 pozitiflerin %36,4'ü, BCL-6 negatiflerin %40,9'u yaşamını kaybetmektedir. MYC pozitiflerin %46,7' si, MYC negatiflerin %35,3'ü yaşamını kaybetmekle birlikte 3 parametre için de anlamlı fark saptanmamıştır (tablo 4.7.). BLC-2, BLC-6 ve MYC pozitifliği ile evre, kemik iliği tutulumu oranı, IPI skoru ve ECOG performansı arasında anlamlı fark yoktur ($p>0,05$).

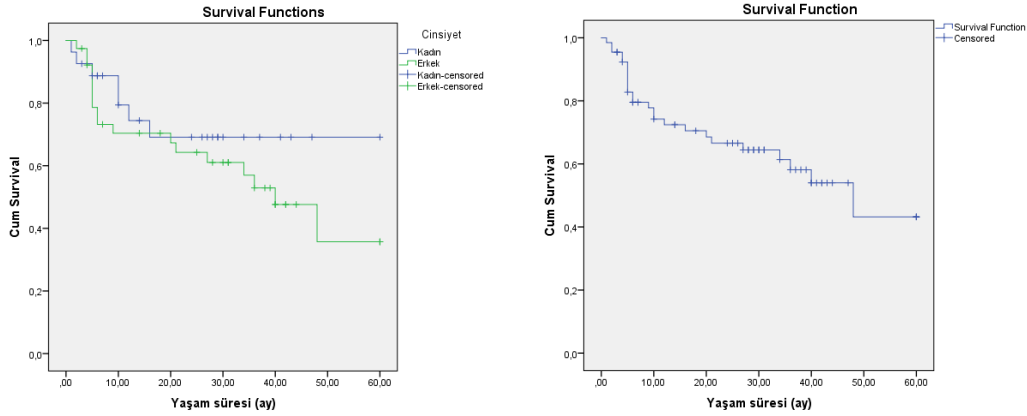
Tablo 4.7. Non Hodgkin Lenfoma hastalarında BCL-2, BCL-6 ve MYC' in prognoza etkisi

	Sağ		Ex		Toplam	Ki-kare	p
	N	%	N	%			
BCL-2						1,489	0,222
Pozitif	29	58,0	21	42,0	50		
Negatif	12	75,0	4	25,0	16		
BCL-6						0,129	0,720
Pozitif	28	63,6	16	36,4	44		
Negatif	13	59,1	9	40,9	22		
MYC						0,637	0,425
Pozitif	8	53,3	7	46,7	15		
Negatif	33	64,7	18	35,3	51		

4.2. SAĞ KALIM ANALİZLERİ

Hastaların sağ kalım sürelerini etkileyen faktörler Kaplan-Meier analizi ile değerlendirildi. Sağ kalım sürelerinin gruplar arası karşılaştırılmasında Log-Rank testi kullanıldı. Sağ kalım süreleri için prognostik faktörlerinin belirlenmesinde Cox Regresyon Analizi kullanıldı. İstatistiksel olarak anlamlılık sınırı $p < 0,05$ kabul edildi. Zaman dağılımı normal olmadığından genel sağ kalım ortanca ile hesaplanmıştır (Şekil 4.4.).

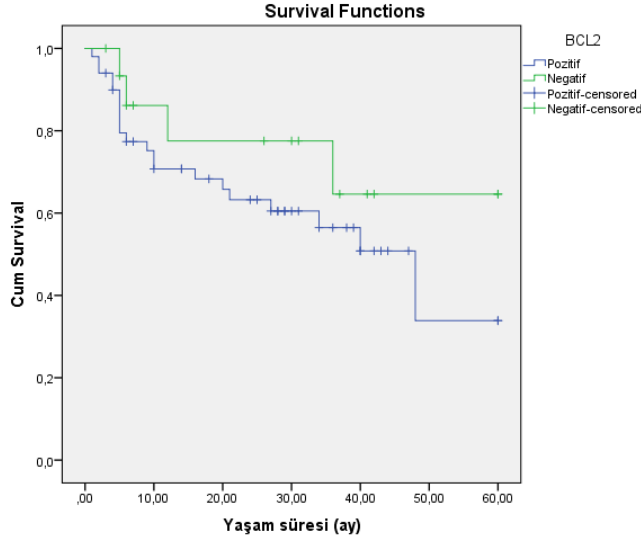
Tüm hastalar için tahmini sağ kalım ortancası $48,0 \pm 9,2$ (30,0-66,0) ay olarak hesaplanmıştır. Ortalama sağ kalım 38,6 (31,8-44,7) ay olarak hesaplandı. Çalışmada birinci yılda hastaların sağ kalım oranı %92,3; ikinci yılda %74,2, üçüncü yılda %64,4, dördüncü yılda %58,1 ve 60. ayda %54'dür.



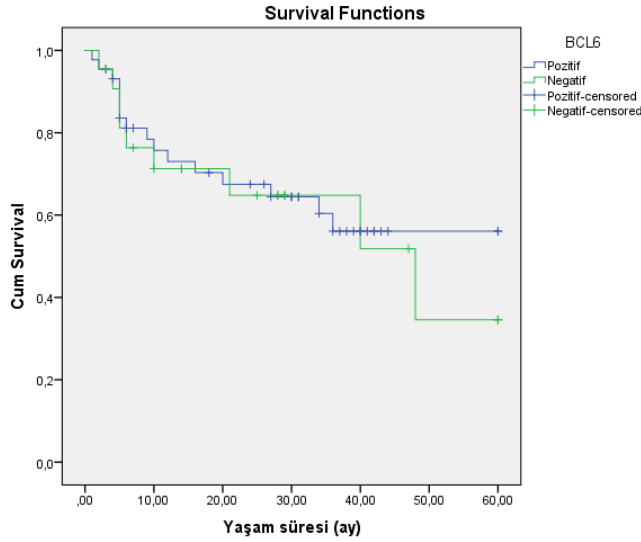
Şekil 4.4. Cinsiyetlere göre Genel sağ kalım ve Non Hodgkin Lenfoma hastalarının tümünün Genel sağ kalım eğrileri

Kadınların ortalama sağ kalım süresi 44,2 (34,3-54,1) ay iken erkeklerin 35,8 (27,8-43,7) aydır ve fark anlamlı değildir. DBBH grubunun sağ kalım ortalaması anlamlı olmamakla birlikte daha düşük saptanmıştır. BCL-2 pozitiflerin ortalama sağ kalım süresi 35,8 (28,3-43,3) ay, BCL-2 pozitif hastaların 1. Yıl sonu sağ kalım oranı %70, 3. yıl sonu sağ kalım oranı %56, BCL-2 negatif hastalarda ise sağ kalım oranları 1.yıl %64, 3. Yıl %64 (şekil 4.5). BCL-6 pozitiflerin 40,2 (32,4-47,7) ay BCL-6 pozitif hastalarda sağ kalım oranları 1.yıl %73, 3. Yıl %56, BCL-6 negatif hastalarda ise sağ kalım oranları 1.yıl %71, 3. Yıl %64 (şekil 4.6.). MYC pozitif hastaların sağ kalım ortalamaları 25,7 (17,0-34,0) ay olmakla birlikte MYC pozitif

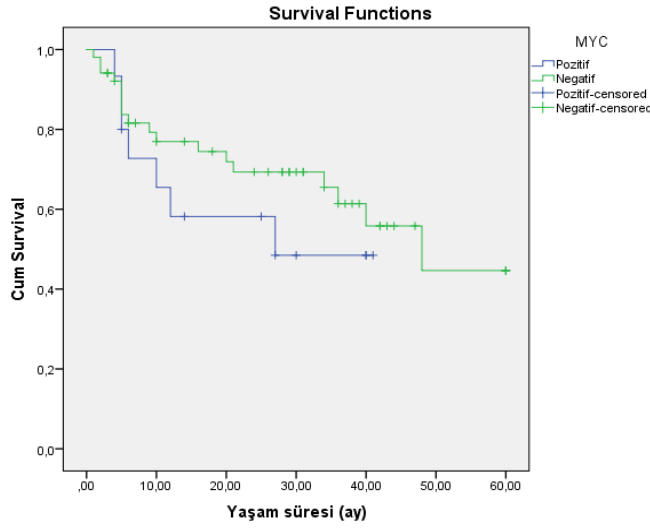
hastalarda sağ kalım oranları 1.yıl %58, 3. Yıl %48, MYC negatif hastalarda ise sağ kalım oranları 1.yıl %76, 3. yıl %61 (şekil 4.7.).



Şekil 4.5. BCL-2' ye göre Non Hodgkin Lenfomalarda sağ kalım eğrisi



Şekil 4.6. BCL-6' ya göre Non Hodgkin Lenfomalarda sağ kalım eğrisi



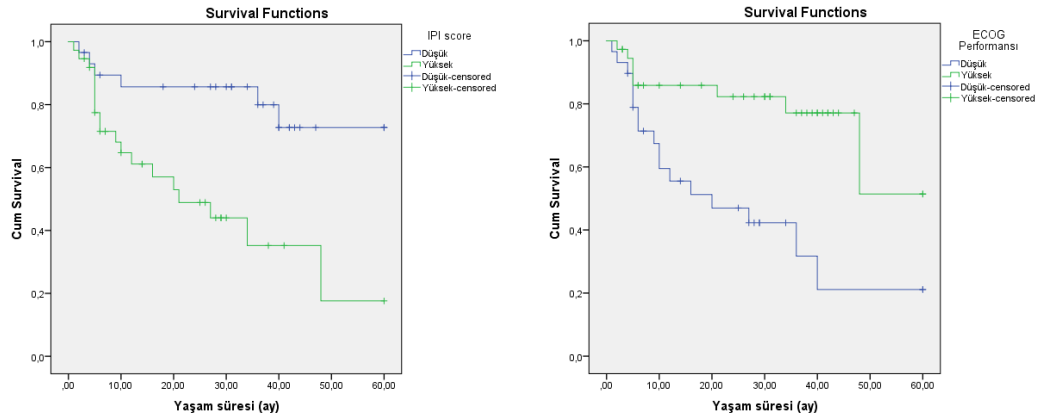
Şekil 4.7. MYC’ e göre Non Hodgkin Lenfomalarda sağ kalım eğrisi

Sağ kalıma etki eden diğer faktörelere bakıldığında evre, Kİ tutulumu, takip sırasında nüks gelişip gelişmemesi ve son hastalık durumları karşılaştırıldığında anlamlı fark saptanmamakla birlikte IPI skoru düşük olanların ve ECOG performansı yüksek olanların sağ kalım süreleri anlamlı olarak fazladır (şekil 4.8.). BCL-2 ve MYC pozitif olan hastalarda ortalama sağ kalım süresi kısa, BCL-6 pozitif olan hastalarda ortalama sağ kalım süresi uzun saptanmıştır, fakat aradaki fark anlamlı değildir (tablo 4.8.).

Tablo 4.8. Non Hogkin Lenfoma Hastalarında sağ kalıma etki eden etmenler

	Ölüm sayısı (%)	Tahmini ortalama (%95 GA) (Ay)	Log-rank testi p
Cinsiyet			0,291
Kadın	7 (25,9)	44,2 (34,3-54,1)	
Erkek	18 (46,2)	35,8 (27,8-43,7)	
Tanı tipi			0,558
DBBH grubu	15 (35,7)	29,6 (23,8-35,3)	
DBBH dışı NHL	10 (41,7)	40,6 (31,5-49,7)	
BCL-2			0,247
Pozitif	21 (42,0)	35,8 (28,3-43,3)	
Negatif	4 (25,0)	45,2 (33,1-57,4)	
BCL-6			0,757
Pozitif	16 (36,4)	40,2 (32,4-47,7)	

Negatif	9 (40,9)	37,1 (26,4-47,8)	
MYC			0,377
Pozitif	7 (46,7)	25,7 (17,0-34,0)	
Negatif	18 (35,3)	39,8 (32,6-46,9)	
Evre			0,169
Erken	3 (25,0)	48,3 (36,6-60,0)	
İleri	22 (40,7)	36,0 (28,8-43,3)	
Kİ tutulumu			0,127
Var	9 (56,3)	29,5 (18,3-40,8)	
Yok	16 (32,0)	42 (34,9-49,2)	
IPI skoru			0,002
Düşük	6 (20,7)	49,3 (41,7-57,0)	
Yüksek	19 (51,4)	19,5 (36,4)	
ECOG performansı			0,002
Düşük	17 (58,6)	26,4 (17,4-35,4)	
Yüksek	8 (21,6)	46,3 (38,2-54,4)	
Son hastalık durumu			0,001
Nüks	7 (58,3)	35,9 (24,7-47,2)	
Remisyon	6 (16,2)	51,3 (45,1-57,6)	
Progrese	12 (70,6)	11,5 (4,3-18,7)	

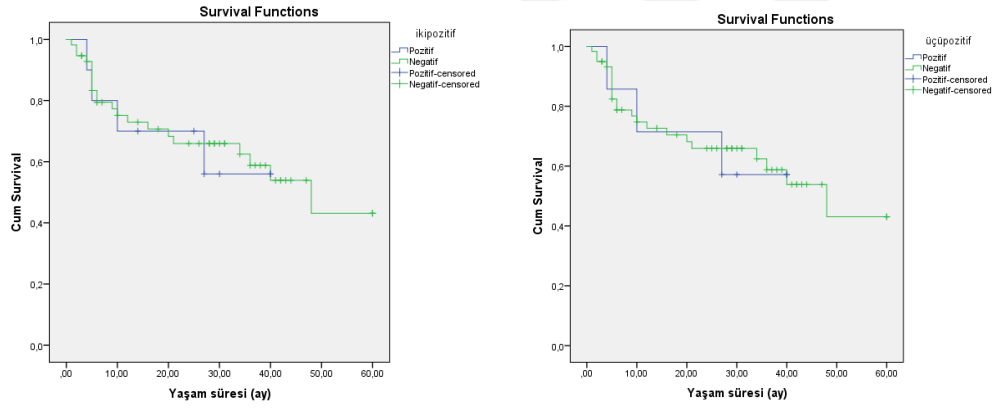


Şekil 4.8. IPI skoru ve ECOG performansları ile sağ kalım eğrileri

BCL-2, BCL-6 ve MYC değerleri için BCL-2 ve MYC aynı anda pozitif olan hasta sayısı 10 olarak saptandı ve bu hastaların 4'ü (%40) ölü idi ve üç parametrenin de birlikte olduğu hasta sayısı ise 7 olarak saptandı bu hastaların 3'ü (%42,8) ölü idi. İki grubun da genel sağ kalım oranlarına bakıldığında anlamlı fark saptanmamıştır (şekil 4.9.) (tablo: 4.9).

Tablo 4.9. İmmünohistokimyasal parametrelerin birlikteliğinin sağ kalıma etkisi

	Ölüm sayısı (%)	Tahmini ortalama (%95 GA) (Ay)	Log-rank testi p
Bcl-2 ve Myc			0,884
var	4 (40)	28,0 (18,6- 37,5)	
yok	21 (37,5)	38,3 (31,4- 45,3)	
Bcl-2, Bcl-6, Myc			0,925
var	3 (42,8)	28,7 (17,9 – 39,46,)	
yok	22 (37,28)	38,3 (31,8- 44,6)	



Şekil 4.9. MYC ve BCL-2 değerlerinin birlikte pozitif olduğu grup ve 3 parametrenin pozitif olduğu grubun sağkalım eğrileri

4.3. COX REGRESYON ANALİZLERİ

Sağ kalımı etkileyen bağımsız faktörleri değerlendirmek amacıyla ki-kare ve log-rank analizlerinde anlamlı saptanan IPI skoru, ECOG performansı ve nüks yaş ve cinsiyete göre standardize edilerek analize alınmıştır. IPI skoru sadece yaş ve cinsiyetle regresyon analizine alındığında anlamlılığını korumuş ve sağ kalım IPI skoru düşük olanlarda 4,3 (%95 GA 1,6-11,4) kat yüksek bulunmuştur (p=0,003). Bununla birlikte çoklu analizlerde anlamlılık ortadan kalkmıştır.

Çoklu analizlerde ECOG performansı düşük olanlarda sağ kalım anlamlı olarak 3,9 (%95 GA 1,5-10,1) kat daha fazladır. Nüks olmayanlarda sağ kalım 6,2 (1,8-20,8) kat fazladır (Tablo 4.10.).

BCL-2, BCL-6 ve MYC ile regresyon modelleri sınanmış ve prognozda herhangi bir etki saptanmamıştır.

Tablo 4.10. Cox regresyon modelleri ile prognoza etki eden etkenler

	B	Sig	OR	Min	Maks
Yaş	-,024	,177	,177	,976	,942
Cinsiyet	-,686	,172	,172	,504	,188
IPI skoru	,476	,376	1,609	,562	4,610
ECOG performansı	1,348	,006	3,851	1,475	10,054
Nüks		,000			
Nüks 1	-,728	,220	,483	,151	1,545
Nüks 2	1,822	,003	6,186	1,844	20,754

5.TARTIŞMA

Non hodgkin lenfoma son yıllarda görülme sıklığı artan birçok alt tipi olan hematoloji malignitelerdendir. Ayrıca immünolojik ve klinik gidiş açısından heterojen alt tipleri mevcuttur. WHO 2016 yılında NHL sınıflamasını revize ederek farklı alt tipler eklemiştir. Bu durum da hala tanımlanmamış alt tipleri olduğu ve tanı ve prognoz tayini için farklı tanı yöntemleri ve prognostik belirteçlere ihtiyaç vardır.

Son sınıflamadaki en çarpıcı yeni tanımlamalardan biri ise DBBHL olgularında tedavi direnci ve kötü prognoz ile ilişkilendirilen MYC, BCL-2 ve BCL-6 translokasyonları ile tanımlanan DHL ve THL kavramları ile birlikte MYC ve BCL-2 protein ekspresyonlarının artmış bulunduğu DEL kavramıdır (5). Sınıflamaya giren bu tanımlamalar sonrasında DBBHL hastaları için FISH analizi kaçınılmaz hale gelmiştir. FISH analizi imkânı olmayan merkezlerde IHK yöntemine dayalı bir tanısal ve prognostik belirteçler olması gerekliliği düşünülerek DBBHL hastalarında şimdiye kadarki yapılan çalışmalar MYC veya BCL-2'yi aşırı eksprese eden, BCL-6'yı ise düşük eksprese eden hastaların daha kötü prognozlu olduğunu göstermiştir (6,7). Bu çalışmaların ortaya çıkardığı bir başka sonuç ise immün boyamanın, üç parametre için de translokasyon varlığı ile doğrudan ilişkili olmadığı idi (8,9).

Şu an için bu üç proteinin sadece DBBHL prognozunu ön gördüğü kanıtlanmış olsa da diğer NHL' lar için de literatürde sunulmuş çalışmalar mevcuttur. FL ve MZL hastalarında ve düşük seriler ile yapılan çalışmalar mevcuttur ve özellikle yüksek dereceli B hücreli lenfomalara dönüşüm ile ilişkili bulunmuştur (10-13). Fakat bu alanda literatürde hala çok eksik mevcuttur.

Agresif lenfomalarda BCL-2'nin aşırı ekspresyonu diğer onkogenlerle sinerjistik etki göstererek tedaviye dirençli lenfoma olguları ortaya çıkarır. Bu etkisi günümüzde DBBHL grubunda kötü prognostik göstergeler arasında kabul edilmektedir (75). Önceki raporlar, NHL hücrelerinde t(14;18) translokasyonunu aşırı BCL-2 ekspresyonu ile ilişkilendirmiş olup bu translokasyonun varlığı BCL-2 ekspresyonunun önüne geçerek kötü prognoz belirteci olmuştur (76-77).

BCL-6 geni normalde germinal merkez içindeki B ve CD4⁺ T hücrelerinde eksprese edilir ve germinal merkez oluşumunu ve T hücrelerine bağlı antijen

yanıtlarını kontrol eder (78). BCL-6 genindeki yapısal değişiklikler, DBBHL'nın %40'ında ve FL'nın %5 ila %10'unda bulunmuştur, DBBHL ve FL biyopsi örneklerinin immünohistokimyasal analizi ise, BCL-6 proteininin, BCL-6 gen yeniden düzenlemelerinin varlığından bağımsız olarak bu tümörlerde saptanabilir olduğunu gösterdi. Bu sonuçlar, BCL-6 geninin ekspresyonunun B hücre farklılaşması sırasında spesifik olarak düzenlendiğini gösterir ve BCL-6'nın germinal merkez gelişimi veya işlevinde bir rolü olduğunu gösterir (79).

MYC, insan genomunun en az %15'inin transkripsiyonunu potansiyel olarak düzenleyen 'süper transkripsiyon faktörleri' olarak adlandırılan bir protoonkogendir. MYC genindeki bir translokasyonun MYC proteininin ekspresyon hızını aşırı artırdığı ve böylece proliferasyon, farklılaşma ve metabolizma gibi hücresel süreçlerdeki önemi kanıtlanmıştır. Bununla birlikte, MYC'in aşırı ekspresyonu yalnızca genin translokasyonu ile ilişkili değildir (80). MYC translokasyonundan bağımsız MYC protein ekspresyonunu gösteren vaka çalışmaları mevcuttur (81,82).

Çalışmamızda 66 hastanın demografik özelliklerine bakıldığında; cinsiyete göre dağılımda %59,09 erkek, %40,90 kadındı ve erkeklerde görülme sıklığı daha fazla bulundu, hastaların ortalama yaşı ise $62,7 \pm 13$ dür. GLOBACAN son verilerine göre NHL en sık 6. Ve 7. Dekatta ve erkeklerde daha sık görülmektedir (17). Çalışmamız; Avrupa ve ABD yaş ortalaması ile cinsiyet dağılımı ile benzerdi. DBBHL tüm NHL hastaları arasında en sık görülen alt tiptir. Çalışmamızda DBBHL tanısı alan hastalar %63,6'lık kısımken sonrasında en fazla orana sahip grup FL grubudur ve %12,2 orana sahip çıkmıştır. Ülkemizde ve dünyada; NHL tanılı hastaların, Ann Arbor evreleme sistemine göre tanı anında %45-%54'ü ileri evrededir, bizim çalışmamızda hastaların tanı anında %81,8'i ileri evre (evre 3 ve 4) olarak bulundu bu oran Avrupa ve ABD ye göre ortalamanın üstünde bulunmuştur (83). Bunun sebebi çalışmamızda hasta gruplarının dağılımının MYC, BCL-2 ve BCL-6'nın boyandığı hastalar olarak seçilmiş olması ve bu belirteçlerin merkezimizdeki standart uygulamada indolent lenfomalarda bakılmamasından kaynaklı heterojeniteden kaynaklı olabilir.

Non hodgkin lenfoma hastalarında prognostik faktör olarak kullanılan birçok parametre vardır. Çalışmamızda kullanılan parametreler ise; Tanı anındaki evre, ECOG performans durumu, her lenfoma tipi için özelleşmiş uluslararası prognostik

indeksler (IPI, FLIPI, MIPI); laboratuvar değerlerinden ise LDH, albümin, hemoglobin değerleridir. Ayrıca proliferasyon indeksi olarak da yaygın kullanılan Ki-67 yüzdesi kullanılmıştır.

Çalışmamızda IPI skoru yüksek olanlar ve performans durumu düşük (ECOG puanı 2 ve üzeri) olanların ölüm oranları anlamlı olarak yüksek bulundu. İleri evre hastalığa sahip olanlarda ve Kİ tutulumu olanlarda sayısal anlamada ölüm oranı yüksek olsa da istatistiki olarak anlamlı bulunmadı. Literatürde ileri evre ve Kİ iliği tutulumu kötü prognostik gösterge olarak kabul edilmiştir (25). Bizim çalışmamızda da Kİ tutulumu olan hastaların ortalama sağ kalım süresi 29,5 (18,3-40,8) ay iken, tutulum olmayan grubun ortalama sağ kalım süresi 42 (34,9-49,2) ay olarak bulunmuştur. İleri evre hastalarda ortalama sağ kalım 36,0 (28,8-43,3) ay iken erken evre hastalarda 48,3 (36,6-60,0) ay olarak bulunmuştur. Sayısal anlamda fark olmasına rağmen istatistiksel anlamlılık açısından literatür ile uyumsuz olarak fark yoktu. Bunun hasta takip süresinin kısa olması nedenli olabileceği düşünüldü. Daha önce yapılan çalışmalarda kötü performans durumunun tedavi yanıtını ve sağ kalımını olumsuz etkilediği çok kez gösterilmiştir, çalışmamız bu açıdan literatür ile uyumludur (26,84).

1993 yılında agresif lenfomalar için; yaş, performans durumu, evre, tutulan ektranodal bölge sayısı ve serum LDH düzeyleri kullanılarak Uluslararası Prognostik İndeks (IPI) geliştirilmiştir daha sonra ise diğer tanı grupları için özelleştirilmiş farklı parametreler kullanılan skorlamalar geliştirilmiştir (85,86). Literatürde skrolama indeksleri ile sağ kalım arasında ilişkiyi gösteren birçok çalışma mevcuttur (87,26). Çalışmamızda; skrolama indekslerine göre düşük riskli ve yüksek riskli olmak üzere 2 gruba ayrıldığında, yüksek risk grubuna dahil olan hastaların ölüm oranları daha yüksekti ve sağ kalım süreleri anlamlı şekilde kısalmıştı. Lenfomalarda artmış proliferasyon hızı ile ilişkili olduğu bilinen serum LDH yüksekliği ve Kİ-67 yüzdesinin yüksekliğinin yapılan çalışmalarda sağ kalımı olumsuz açıdan etkilediği bildirilmiştir (88). Bizim çalışmamızda serum LDH düzeyleri yaşamayan grupta anlamlı olarak daha yüksek ($332,8 \pm 198,9$) bulundu. Ki-67 yüzdesi açısından ise yaşayan ve yaşamayan hastalar arasında anlamlı fark yoktu. Diğer bakılan laboratuvar değerlerinden hemoglobin ve albümin değerlerinde de yaşayan ve yaşamayan hastalar arasında fark yoktu. Bu durum literatür ile

uymamaktadır çünkü anemi varlığı ($Hb \leq 10$ gr/dl) ve hipoalbuminemi yapılan çalışmalarda lenfoma hastalarında tedavi komplikasyonları açısından risk faktörü olarak bulunmuştur ve sağ kalımı olumsuz etkilediği kabul edilmiştir (89,90). Bizim çalışmamızda ise Hemogloblin ve Albümin değerleri çoğu hastada normal aralıkta gözlenmiştir bu nedenle prognoza etkisi anlamlı sonuç vermemiştir.

Çalışmamızda BCL-2, BCL-6 ve MYC onkogenlerinin İHK yöntemi ile değerlendirilerek ekspresyonlarının primer olarak genel sağ kalım ve son hastalık durumu, hastalık evresi, Kİ tutulumu, IPI skoru ve ECOG performansı ile ilişkisine bakılmış olup prognoz tahmini açısından anlamı olup olmamasına bakılmıştır. Sekonder olarak ise yaş, LDH, Albümin, Hemogloblin ve Kİ-67 yüzdesi ile ilişkisine bakılarak hastalık şiddeti ile ilişkisi araştırılmıştır.

168 NHL'li hastada yapılmış olan bir çalışmada t(14;18) translokasyonu içermeyen hastalarda yüksek oranda BCL-2 ekspresyonu (45' in 39'unda) olduğunu göstermiştir (8). Bu çalışmanın bir diğer sonucu ise BCL-2 ekspresyonunun NHL' nin histolojik alt tipleri için spesifik olmadığıydı. Bizim çalışmamızda ise t(14;18) translokasyonuna bakılmaksızın BCL-2 protein ekspresyonu vakaların %75,8' inde pozitifken çoğunluğu oluşturan DBBHL grubunda %78 (41'in 32 si), FL grubunda %50 (8' in 4' ü) , 4 MZL vakasının ve 3 MCL vakasının tamamında BCL-2 pozitif gözlenmişti. BCL-2 ekspresyonunun tek bir NHL alt tipine özgü olmaması açısından literatür ile uyumlu idi. Öte yandan 44 hastayı içeren NHL' nin tüm alt tiplerini içeren bir çalışmada BCL-2 proteini ekspresyonu vakaların %36,4'ünde (44' ün 16' sı) pozitif ve histolojik alt tiplere göre dağılımı ise: FL'nin %62,5'i, MCL'nin %16,7'si ve DBBHL'nin %30'u şeklinde idi (91). Yan ve arkadaşlarının yaptığı 336 hasta içeren DBBHL çalışmasında ise 171 hasta (%51) yüksek BCL-2 ekspresyonu göstermekteydi (92). Ülkemizde BCL-2 ekspresyon oranını gösteren detaylı bir çalışma bulunmamakla birlikte çalışmamızda DBBHL hastalarında daha fazla BCL-2 ekspresyonu gözlenmesinin sebebi coğrafik farklılıklardan dolayı olabilir. DBBHL dışı histolojik alt tipleri için ayrı ayrı hasta sayımız yeterli olmamakla birlikte hepsi birlikte DBBHL dışı NHL olarak değerlendirildiğinde %81 (22'nin 18'i) oranında BCL-2 ekspresyonu mevcuttu. Bu veriler ışığında BCL-2 ekspresyonunun tek bir NHL alt tipi için spesifik bir belirteç olmadığını söyleyebiliriz.

BCL-2 ekspresyonunun sağ kalıma etkisine baktığımızda ise yukarıda bahsedilen 44 NHL hastası ile yapılan çalışmada BCL-2 protein ekspresyonu olan NHL hastalarında önemli ölçüde daha kısa sağ kalım süreleri ortaya çıkardı ($P<0.05$). Tahmini 30 aylık ortalama sağ kalım oranı BCL-2 pozitif hastalarda %44 iken, negatif vakalarda %85 (log sıra 8.7; $P=0.003$) idi. BCL-2 pozitif olgularda BCL-2 negatif gruba göre daha yüksek serum LDH serum düzeyi saptandı ve aradaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($P=0,004$). Öte yandan, yaş, evreleme, hemoglobin düzeyi açısından istatistiksel bir anlam bulunamadı. Bizim çalışmamızda ise Tüm NHL olguları birlikte değerlendirildiğinde BCL-2 pozitiflerin %42'si, BCL-2 negatif hastaların %25'i yaşamını kaybetmektedir ($p:0,222$). BCL-2 pozitiflerin 30 aylık ortalama sağ kalım oranı %60,5, BCL-2 negatif hastalarinki ise %77,5 olarak bulunmuştur. Çalışmamızda sadece DBBH' ler değerlendirmeye alındığında BCL-2 pozitiflerin %43,8'i negatiflerin %10' u yaşamını kaybetmekte idi BCL-2 ekspresyonu pozitif hastalarda ölüm oranı daha fazla gibi görünmekle birlikte aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p:0,068$). Ayrıca cox-regresyon analizinde de BCL-2 bağımsız risk faktörleri arasında değildi. İki grup için de anlamlı bir fark bulunamamıştı. Yan ve arkadaşlarının yaptığı 336 hasta içeren DBBHL çalışmasında ise BCL-2 ekspresyonu CHOP tedavi rejimi alanlarda pozitif vakaların ortalama sağ kalım süreleri düşükken R-CHOP tedavi rejimi alan hastalarda yaşam süresi açısından fark saptanmamış olup aradaki istatistiki farkın Ritiksümap tedavisi ile ilişkisi ortaya çıkmıştır (92). Çalışmanın diğer bir sonucu ise BCL-2 aşırı ekspresyonu, düşük performans durumuyla ilişkilendirildi. Bizim çalışmamızda DBBHL grubunda olan tüm hastalarda Ritiksümap içeren KT rejimlerinin kullanılmış olması ortalama yaşam süresi açısından farkın olmamasının sebebi olabilir.

Diğer prognostik parametreler ile BCL-2 ilişkisine baktığımızda ise çalışmamızda BCL-2 pozitifliği ile yaş, LDH, HMG, ALB ile arasında anlamlı ilişki bulunmamıştır. BCL-2 pozitifliğinin evre, kemik iliği tutulumu oranı, IPI skoru ve ECOG performansı arasında da anlamlı fark yoktur. Öte yandan bizim çalışmamızda Kİ-67 yüzde oranı ortalaması BCL-2 negatif olgularda anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur. 3902 hastadan oluşan toplam 27 çalışma dahil edildiği bir meteanalizde lenfoma hastalarında yüksek Ki-67 ekspresyonunun hem ortalama sağ kalım hem de

hastaliksız sağ kalım için daha kötü prognoz ile ilişkili olduğunu ortaya koydu. Yüksek Ki-67 ekspresyonu, tüm NHL alt tipleri değerli bir prognostik göstergeydi (93). Colomo ve arkadaşlarının DBBHL hastalarında yapmış olduğu çalışmada post germinal merkez olarak ayırmış oldukları CD10 pozitif hasta grubunda BCL-2 mutasyonu varlığı ile ki-67 yüzdesinde düşüklük saptadı (94). Bu çalışma bizim çalışmamızdaki veriyi kısmen destekler nitelikte olsa da BCL-2 ekspresyonu ile doğrudan bir ilişki saptanmamıştı. Bizim çalışmamızdaki BCL-2 ve Ki-67 arasındaki ilişki BCL-2 negatif vaka sayımızın 15 adet olması ve görece az olması nedeni ile açıklanabilir.

Cattoretti ve arkadaşları BCL-6 gen ekspresyonu ile BCL-6 protein ekspresyonunun doğru orantılı olup olmadığını test ettiği çalışmada BCL-6 ekspresyonunun ne normal ne neoplastik GC'den türetilen B hücreleri arasında ne de normal veya yeniden düzenlenmiş bir BCL-6 geni taşıyan DBBHL arasında ayrım yapamayacağını göstermekteydi (95). Daha sonraki çalışmalar ise BCL-6 protein ekspresyonunun tanısai ve prognostik çalışmaları üzerine oldu. Bu amaç ile S. Lossos ve arkadaşları DBBHL' lar üzerinde yapmış olduğu 30 vakalık çalışmada DBBHL tümörlerini BCL-6'yı ifade edip etmediklerine göre ayırdı ve tümörleri BCL-6'yı eksprese eden hastalarda daha iyi ortalama sağ kalım süresi gösterdi. 66 tane primer merkezi sinir sistem lenfoması hastalarında yapılmış olan yakın tarihli bir çalışmada ise yine BCL-6 protein ekspresyonu ile yüksek genel sağ kalım arasındaki ilişkiyi kanıtladı (96). Yan ve arkadaşları yaptığı 336 hasta içeren DBBHL çalışmasında 121 (%36) yüksek BCL-6 ekspresyonu göstermişti, aynı zamanda çalışmanın bir diğeri sonucu ise BCL-6 ekspresyonunun az olmasının kötü prognostik gösterge olduğu idi (92). Bizim çalışmamızda NHL'lerin hepsi dahil edildiğinde %66,7 oranında BCL-6 pozitifliği saptanırken; DBBHL' lar arasında %80,4 (41'in 33'ü), FL'lar arasında ise %87,5 (8'in 7'si) oranında pozitiflik görüldü. BCL-6 pozitiflerin %36,4'ü, BCL-6 negatiflerin %40,9'u yaşamını kaybetmekteydi (p:0,720), DBBHL'ler arasında bakıldığında; BCL-6 pozitiflerin %35,3'ü negatiflerin %37,5'i yaşamını kaybetmektedir (p:1). Sayısal anlamda BCL-6 pozitiflerde ölüm oranı yüksek olsa da istatistik olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır.

BCL-6 ile çalışmamızda kullanılan diğer parametreler arasındaki ilişkiye bakıldığında ise BCL-6 pozitif olan hastaların yaş ortalaması BCL-6 negatiflere göre anlamlı olarak daha düşük bulundu. Ayrıca BCL-6 pozitif hastalarda ki-67 yüzdesi de anlamlı olarak daha yüksek bulundu. Evre, kemik iliği tutulumu oranı, IPI skoru ve ECOG performansı, laboratuvar değerlerinden de serum LDH, alb ve Hmg değerleri arasında anlamlı fark yoktu. 44 kişiyi içeren NHL' lar arasında yapılmış çalışmanın sonuçlarında da BCL-6 pozitif hastalarda yaş ortalaması anlamlı olarak daha düşük gözlenmişti (97). Bu çalışmanın bir diğer sonucu ise BCL-6 pozitif hastalarda daha düşük nüks oranlarının olmasının yanı sıra laboratuvar değerleri ve genel sağ kalım arasında ilişki bulunamadı. Literatürde BCL-6 ekspresyonunun prognostik belirteç olarak kullanılmasını destekleyen sonuçlar içeren çelişkili çalışmalar mevcuttur (98). Lossos ve arkadaşları çalışmasında sağ kalım ile arasında güçlü bir ilişki olabileceğini ileri sürdü (99). Colomo ve arkadaşları 128 hastayı içeren DBBHL hastalarında yapmış olduğu çalışmada ise BCL-6 %91 oranında eksprese edildi ve BCL-6 proteini daha az eksprese eden hastalar erken evre, düşük IPI skoru ve normal serum LDH değeri gösterdi, sağ kalım açısından ise iki grup açısından anlamlı bir fark yoktu (94). BCL-6 ekspresyonu ile ilgili çalışmalar çoğunlukla DBBHL ile sınırlı olup diğer alt tipler için yaygın değildir. Fakat literatürde MCL hastalarında BCL-6 ekspresyonunun saptadığı vaka serileri mevcuttur (100-101). Bu ilginç bir veridir çünkü bugüne kadar BCL-6 proteini germinal merkez belirteci olarak kabul edilmiş ve manto bölgesinde olmadığı düşünülmekte idi. Bizim çalışmamızda 3 tane MCL olgusu mevcuttur ve üçü de BCL-6 ekspresyonu göstermemiştir, bu yönden literatürle uyumlu olsa da NHL alt tipleri için kapsamlı çalışmalar yapılması gerekliliği açıktır.

Çalışmamızda 66 NHL hastasının 15'i (%22,7) MYC protein ekspresyonu gösterdi. Histolojik alt tiplere göre ise DBBHL hastalarından 11'i pozitif (%26,2 pozitif oranı), FL hastalarından 8'i negatif, MZL hastalarının 5'i de negatif, MCL hastalarında 3'ü de negatif, KLL hastalarının 3'ü de negatif, T hücreli lenfoma hastalarının 1'i pozitif, 1'i negatif, 1 tane Burkitt lenfoma hastası pozitif ve tipi belirlenemeyen 2 tane B hücreli lenfoma hastasının 2'si de pozitif çıkmıştır. MYC pozitiflerin %46,7'si, MYC negatiflerin %35,3'ü yaşamını kaybetmektedir. Tüm veriler değerlendirildiğinde sayısal anlamda fark olmasına rağmen istatistiksel olarak

anlamli fark bulunmamıştır. Literatürde MYC pozitifliğinin özellikle B hücreli lenfomalar arasındaki yaygınlığı çelişkili sonuçlar içermektedir, fakat sağ kalım üzerine etkisi çoğunlukla çalışmamıza benzer bulunmuştur. Pagnano ve arkadaşlarının yapmış olduğu 62 agresif NHL vakasını inceleyen çalışmada hastaların %76,5'inde MYC protein ekspresyonu gözlendi ve MYC protein ekspresyonu gösteren hastalar kısa sağ kalım süresi ile ilişkilendirildi (102). Horn ve arkadaşlarının DBBHL hastalarında yaptığı daha kapsamlı bir çalışmada ise 442 hasta prospektif olarak değerlendirildi çalışmaya dahil edilen hastaların %31,8' inde MYC protein ekspresyonu gözlendi; bu çalışmanın 2 farklı sonucu vardı ilki MYC translokasyonu olmayan 241 vakanın 67'sinde (%27,8) MYC protein ekspresyonu gözlenmesiydi. Diğer bir sonuç ise MYC protein ekspresyonun daha yüksek ki-67 yüzdesi ve daha düşük sağ kalım ile ilişkili olduğu idi (103). Yan ve arkadaşlarının yaptığı 336 hasta içeren DBBHL çalışmasında hastaların %51'i yüksek MYC ekspresyonu içeriyordu. Bu çalışmanın bir diğer sonuçları ise MYC ekspresyonu ile yüksek serum LDH seviyesi ve yüksek IPI skoru ile ilişkili bulunmasıydı (92). Bizim çalışmamızda ise prognostik belirteçler ile MYC arasındaki ilişkide KI-67 yüzde oranı ortalaması MYC pozitiflerde anlamlı olarak daha yüksekti. Bu sonuç Horn ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada da vurgulanmıştı. Çalışmamızda MYC pozitifliği ile diğer prognostik belirteçler arasında bir ilişki bulunamadı.

BCL-2, BCL-6 ve C-MYC değerleri için BCL-2 ve MYC aynı anda pozitif olan hasta grubu ve üç parametrenin de birlikte pozitif olduğu hasta grubunun genel sağ kalım oranlarına bakıldığında anlamlı fark saptanmamıştı. Fakat bu veri grubundaki hasta sayısı oldukça düşüktü.

6. SONUÇ

Çalışmamız tüm NHL alt gruplarında BCL-2, BCL-6 ve MYC' in eksprese edildiğini göstermiş olup genel sağ kalım üzerine etkisini sayısal anlamda göstermiş olsa da istatistiksel olarak anlamlı bulunamamıştır. Diğer yandan BCL-2 protein ekspresyonu tüm gruplarda %80' in üstünde bulunmuş olup literatür verilerinin üstündedir. Bu üç proteinin diğer prognostik belirteçlerden özellikle proliferasyon indeksini gösteren Ki-67 oranı ile doğrudan ilişkisi saptanmıştır. Ki-67 yüzde oranı ortalaması BCL-2 negatif, BCL-6 pozitif, MYC pozitiflerde anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur. Bu sonuç BCL-2, BCL-6 ve MYC protein ekspresyonlarının lenfomalarda agresif seyrin göstergesi olabileceğini göstermiştir. IHC'nin FISH'e göre daha yaygın kullanımı ve daha kolay uygulanabilir olması göz önünde bulunarak bu proteinlerin tüm NHL'ler için kullanılabilir bir prognostik belirteç olarak değerlendirilmesi kanaatindeyiz.

Çalışmamızdaki en önemli kısıtlılık IHC olarak bu üç proteinin birlikte çalışıldığı hasta grubunun teknik nedenlerden dolayı sayısal olarak az olmasıydı. Yine aynı sebepten dolayı geçmiş tarihli hastalar çalışmaya alınamamış ve çalışmaya dahil edilen hastaların takip süresi çoğunlukla 60 aydan kısaydı. Ayrıca merkezimizde DBBHL hasta sayısı diğer alt tiplere göre oldukça fazla idi ve bu durum FL, MZL, MCL gibi alt tiplerin değerlendirilmesini kısıtlamıştır. Hasta sayısı ve takip süresi artırılarak; tüm NHL alt tiplerinin değerlendirmeye alınabileceği çalışmaların yapılmasının literatüre önemli bir katkı sağlayacağı açıktır.

7. KAYNAKLAR

1. Armitage, J. O. & Weisenburger, D. D. New approach to classifying non-Hodgkin's lymphomas: clinical features of the major histologic subtypes. Non-Hodgkin's Lymphoma Classification Project. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* 16, 2780–2795 (1998).
2. Evans, L. S. & Hancock, B. W. Non-Hodgkin lymphoma. *Lancet Lond. Engl.* 362, 139–146 (2003).
3. Weltgesundheitsorganisation (2017). WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues, Revised 4th edn. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H et al (eds) World Health Organization classification of tumours. International Agency for Research on Cancer, Lyon, p: 585
4. Swerdlow, S. H. et al. The 2016 revision of the World Health Organization classification of lymphoid neoplasms. *Blood* 127, 2375–2390 (2016).
5. Susanibar-Adaniya, S. & Barta, S. K. 2021 Update on Diffuse large B cell lymphoma: A review of current data and potential applications on risk stratification and management. *Am. J. Hematol.* 96, 617–629 (2021).
6. Howlett, C. et al. Front-line, dose-escalated immunochemotherapy is associated with a significant progression-free survival advantage in patients with double-hit lymphomas: a systematic review and meta-analysis. *Br. J. Haematol.* 170, 504–514 (2015).
7. Maeshima, A. M. et al. Bcl- 2, Bcl- 6, and the International Prognostic Index are prognostic indicators in patients with diffuse large B- cell lymphoma treated with rituximab- containing chemotherapy. *Cancer Sci.* 103, 1898–1904 (2012).
8. Papakonstantinou, G., Verbeke, C., Hastka, J., Bohrer, M. & Hehlmann, R. bcl-2 expression in non-Hodgkin's lymphomas is not associated with bcl-2 gene rearrangements. *Br. J. Haematol.* 113, 383–390 (2001).
9. Perry, A. M. et al. MYC and BCL2 protein expression predicts survival in patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with rituximab. *Br. J. Haematol.* 165, 382–391 (2014).
10. Ichikawa, K. et al. Utility of immunohistochemistry with an antibody against MYC at the initial diagnosis of follicular lymphoma, grade 3A, for predicting a more aggressive clinical course: a case report and review of the literature. *Int. J. Clin. Exp. Pathol.* 8, 7559–7564 (2015).
11. Christie, L. et al. C-MYC translocation in t(14;18) positive follicular lymphoma at presentation: An adverse prognostic indicator? *Leuk. Lymphoma* 49, 470–476 (2008).

12. Voorhees, P. M. et al. Follicular lymphoma with a burkitt translocation--predictor of an aggressive clinical course: a case report and review of the literature. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 128, 210–213 (2004).
13. Jelic, T. M. et al. Nodal Marginal Zone Large B-Cell Lymphoma with Burkitt Translocation and Complex Chromosomal Changes Associated with Overexpression of BCL2, MYC, and BCL6. *J. Clin. Exp. Hematop. JCEH* 55, 175–180 (2015).
14. Miranda-Filho, A. et al. Global patterns and trends in the incidence of non-Hodgkin lymphoma. *Cancer Causes Control CCC* 30, 489–499 (2019).
15. Swerdlow, S. H. & Cook, J. R. As the world turns, evolving lymphoma classifications-past, present and future. *Hum. Pathol.* 95, 55–77 (2020).
16. Bispo, J. A. B., Pinheiro, P. S. & Kobetz, E. K. Epidemiology and Etiology of Leukemia and Lymphoma. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* 10, a034819 (2020).
17. Cancer today. <http://gco.iarc.fr/today/home>. (Internet) 2022 february
18. Anderson, L. A. et al. Population-based study of autoimmune conditions and the risk of specific lymphoid malignancies. *Int. J. Cancer J. Int. Cancer* 125, 398–405 (2009).
19. Ekström-Smedby, K. Epidemiology and etiology of non-Hodgkin lymphoma—a review. *Acta Oncol.* 45, 258–271 (2006).
20. Grommes, C. & DeAngelis, L. M. Primary CNS Lymphoma. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* 35, 2410–2418 (2017).
21. Juárez-Salcedo, L. M., Sokol, L., Chavez, J. C. & Dalia, S. Primary Gastric Lymphoma, Epidemiology, Clinical Diagnosis, and Treatment. *Cancer Control J. Moffitt Cancer Cent.* 25, 1073274818778256 (2018).
22. Cheson, B. D. et al. Recommendations for initial evaluation, staging, and response assessment of Hodgkin and non-Hodgkin lymphoma: the Lugano classification. *J. Clin. Oncol.* 32, 3059 (2014).
23. Moormeier, J. A., Williams, S. F. & Golomb, H. M. The staging of non-Hodgkin's lymphomas. *Semin. Oncol.* 17, 43–50 (1990).
24. Cheson, B. D. Role of functional imaging in the management of lymphoma. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* 29, 1844–1854 (2011).
25. Alici, S., Bavbek, S., Basaran, M. & Onat, H. Prognostic factors in patients with aggressive non-Hodgkin's lymphoma without complete response to first-line therapy. *Adv. Ther.* 23, 534–542 (2006).
26. Ansell, S. M. & Armitage, J. Non-Hodgkin lymphoma: diagnosis and treatment. *Mayo Clin. Proc.* 80, 1087–1097 (2005).

27. Smith, A., Howell, D., Patmore, R., Jack, A. & Roman, E. Incidence of haematological malignancy by sub-type: a report from the Haematological Malignancy Research Network. *Br. J. Cancer* 105, 1684–1692 (2011).
28. Vannata, B. & Zucca, E. Primary extranodal B-cell lymphoma: current concepts and treatment strategies. *Chin. Clin. Oncol.* 4, 10 (2015).
29. Ottensmeier, C. H. & Stevenson, F. K. Isotype switch variants reveal clonally related subpopulations in diffuse large B-cell lymphoma. *Blood* 96, 2550–2556 (2000).
30. Skinnider, B. F., Horsman, D. E., Dupuis, B. & Gascoyne, R. D. Bcl-6 and Bcl-2 protein expression in diffuse large B-cell lymphoma and follicular lymphoma: correlation with 3q27 and 18q21 chromosomal abnormalities. *Hum. Pathol.* 30, 803–808 (1999).
31. Beham-Schmid, C. Aggressive lymphoma 2016: revision of the WHO classification. *Memo - Mag. Eur. Med. Oncol.* 10, 248–254 (2017).
32. Persky, D. O. 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. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* 26, 2258–2263 (2008).
33. Miller, T. P. et al. Chemotherapy alone compared with chemotherapy plus radiotherapy for localized intermediate- and high-grade non-Hodgkin's lymphoma. *N. Engl. J. Med.* 339, 21–26 (1998).
34. Oki, Y. et al. The prognostic value of interim positron emission tomography scan in patients with classical Hodgkin lymphoma. *Br. J. Haematol.* 165, 112–116 (2014).
35. Oki, Y. et al. Double hit lymphoma: the MD Anderson Cancer Center clinical experience. *Br. J. Haematol.* 166, 891–901 (2014).
36. Conde, L. et al. Genome-wide association study of follicular lymphoma identifies a risk locus at 6p21.32. *Nat. Genet.* 42, 661–664 (2010).
37. Pastore, A. et al. Integration of gene mutations in risk prognostication for patients receiving first-line immunochemotherapy for follicular lymphoma: a retrospective analysis of a prospective clinical trial and validation in a population-based registry. *Lancet Oncol.* 16, 1111–1122 (2015).
38. Raffeld, M., Neckers, L., Longo, D. L. & Cossman, J. Spontaneous alteration of idiotype in a monoclonal B-cell lymphoma. Escape from detection by anti-idiotype. *N. Engl. J. Med.* 312, 1653–1658 (1985).
39. Freedman, A. & Jacobsen, E. Follicular lymphoma: 2020 update on diagnosis and management. *Am. J. Hematol.* 95, 316–327 (2020).

40. Ardeshtna, K. M. et al. Long-term effect of a watch and wait policy versus immediate systemic treatment for asymptomatic advanced-stage non-Hodgkin lymphoma: a randomised controlled trial. *Lancet Lond. Engl.* 362, 516–522 (2003).
41. Brice, P. et al. Comparison in low-tumor-burden follicular lymphomas between an initial no-treatment policy, prednimustine, or interferon alfa: a randomized study from the Groupe d'Etude des Lymphomes Folliculaires. Groupe d'Etude des Lymphomes de l'Adulte. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* 15, 1110–1117 (1997).
42. Sutamtewagul, G. & Link, B. K. Novel treatment approaches and future perspectives in follicular lymphoma. *Ther. Adv. Hematol.* 10, 2040620718820510 (2019).
43. Le Gouill, S. et al. Impact of the use of autologous stem cell transplantation at first relapse both in naïve and previously rituximab exposed follicular lymphoma patients treated in the GELA/GOELAMS FL2000 study. *Haematologica* 96, 1128–1135 (2011).
44. Al-Tourah, A. J. et al. Population-based analysis of incidence and outcome of transformed non-Hodgkin's lymphoma. *J. Clin. Oncol.* 26, 5165–5169 (2008).
45. Link, B. K. et al. Rates and outcomes of follicular lymphoma transformation in the immunochemotherapy era: a report from the University of Iowa/MayoClinic Specialized Program of Research Excellence Molecular Epidemiology Resource. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* 31, 3272–3278 (2013).
46. Novak, U., Basso, K., Pasqualucci, L., Dalla-Favera, R. & Bhagat, G. Genomic analysis of non-splenic marginal zone lymphomas (MZL) indicates similarities between nodal and extranodal MZL and supports their derivation from memory B-cells. *Br. J. Haematol.* 155, 362–365 (2011).
47. Perry, A. M. et al. Non-Hodgkin lymphoma in the developing world: review of 4539 cases from the International Non-Hodgkin Lymphoma Classification Project. *Haematologica* 101, 1244 (2016).
48. Khalil, M. O. et al. Incidence of marginal zone lymphoma in the United States, 2001-2009 with a focus on primary anatomic site. *Br. J. Haematol.* 165, 67–77 (2014).
49. Van den Brand, M. & van Krieken, J. H. J. M. Recognizing nodal marginal zone lymphoma: recent advances and pitfalls. A systematic review. *Haematologica* 98, 1003–1013 (2013).
50. Isaacson, P. G., Matutes, E., Burke, M. & Catovsky, D. The histopathology of splenic lymphoma with villous lymphocytes. *Blood* 84, 3828–3834 (1994).
51. Morton, L. M. et al. Etiologic heterogeneity among non-Hodgkin lymphoma subtypes: the InterLymph Non-Hodgkin Lymphoma Subtypes Project. *J. Natl. Cancer Inst. Monogr.* 2014, 130–144 (2014).

52. Matutes, E. et al. Splenic marginal zone lymphoma proposals for a revision of diagnostic, staging and therapeutic criteria. *Leukemia* 22, 487–495 (2008).
53. Jares, P., Colomer, D. & Campo, E. Molecular pathogenesis of mantle cell lymphoma. *J. Clin. Invest.* 122, 3416–3423 (2012).
54. Argatoff, L. H., Connors, J. M., Klasa, R. J., Horsman, D. E. & Gascoyne, R. D. Mantle cell lymphoma: a clinicopathologic study of 80 cases. *Blood* 89, 2067–2078 (1997).
55. Hoster, E. et al. Confirmation of the mantle-cell lymphoma International Prognostic Index in randomized trials of the European Mantle-Cell Lymphoma Network. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* 32, 1338–1346 (2014).
56. Nygren, L. et al. Prognostic role of SOX11 in a population-based cohort of mantle cell lymphoma. *Blood* 119, 4215–4223 (2012).
57. Leitch, H. A. et al. Limited-stage mantle-cell lymphoma. *Ann. Oncol. Off. J. Eur. Soc. Med. Oncol.* 14, 1555–1561 (2003).
58. Dreyling, M. et al. Early consolidation by myeloablative radiochemotherapy followed by autologous stem cell transplantation in first remission significantly prolongs progression-free survival in mantle-cell lymphoma: results of a prospective randomized trial of the European MCL Network. *Blood* 105, 2677–2684 (2005).
59. Wang, M. et al. Lenalidomide in combination with rituximab for patients with relapsed or refractory mantle-cell lymphoma: a phase 1/2 clinical trial. *Lancet Oncol.* 13, 716–723 (2012).
60. Lossos IS, Morgensztern D. Prognostic biomarkers in diffuse large Bcell lymphoma. *J Clin Oncol* 24(6): 995-1007.(2006)
61. Parekh S, Polo JM, Shaknovich R, et al. BCL6 programs lymphoma cells for survival and differentiation through distinct biochemical mechanisms. *Blood*; 110:2067. (2007)
62. Ye BH, Lista F, Lo Coco F, et al. Alterations of a zinc finger-encoding gene, BCL-6, in diffuse large-cell lymphoma. *Science*; 262:747.(1993)
63. Ye BH, Rao PH, Chaganti RSK, Dalla-Favera R: Cloning of BCL-6, the locus involved in chromosome translocations affecting band 3q27 in B-cell lymphoma. *Cancer Res*; 53: 2732. (1993)
64. Perini, G. F., Ribeiro, G. N., Pinto Neto, J. V., Campos, L. T. & Hamerschlak, N. BCL-2 as therapeutic target for hematological malignancies. *J. Hematol. Oncol.* *J Hematol Oncol* 11, 65 (2018).
65. Reed, J. C. Cytochrome c: can't live with it--can't live without it. *Cell* 91, 559–562 (1997).

66. Hockenbery, D. M., Zutter, M., Hickey, W., Nahm, M. & Korsmeyer, S. J. BCL2 protein is topographically restricted in tissues characterized by apoptotic cell death. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 88, 6961–6965 (1991).
67. Korsmeyer, S. J. Bcl-2 initiates a new category of oncogenes: regulators of cell death. *Blood* 80, 879–886 (1992).
68. Graninger, W. B., Seto, M., Boutain, B., Goldman, P. & Korsmeyer, S. J. Expression of Bcl-2 and Bcl-2-Ig fusion transcripts in normal and neoplastic cells. *J. Clin. Invest.* 80, 1512–1515 (1987).
69. Meyer, N. & Penn, L. Z. Reflecting on 25 years with MYC. *Nat. Rev. Cancer* 8, 976–990 (2008).
70. Duesberg, P. H. & Vogt, P. K. Avian acute leukemia viruses MC29 and MH2 share specific RNA sequences: evidence for a second class of transforming genes. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 76, 1633–1637 (1979).
71. Adhikary, S. & Eilers, M. Transcriptional regulation and transformation by Myc proteins. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 6, 635–645 (2005).
72. Dang, C. V. MYC on the Path to Cancer. *Cell* 149, 22–35 (2012).
73. Lüscher, B. & Larsson, L. G. The basic region/helix-loop-helix/leucine zipper domain of Myc proto-oncoproteins: function and regulation. *Oncogene* 18, 2955–2966 (1999).
74. Türk Hematoloji Derneği, Klinisyen-Patolog Ortak Lenfoma Kursu, 6-7 Mart 2004, Grand Cevahir Otel, İstanbul (Internet) (cited: 2022 march; <https://www.google.com/search?q=T%C3%BCrk+Hematoloji+Derne%C4%9Fi%2C+Klinisyen>)
75. Anthony G. Letai, Diagnosing and exploiting cancer's addiction to blocks in apoptosis. *Nature Reviews Cancer* volume 8, pages121–132 (2008)
76. Smith, M. R. et al. Antisense oligodeoxyribonucleotide down-regulation of bcl-2 gene expression inhibits growth of the low-grade non-Hodgkin's lymphoma cell line WSU-FSCCL. *Cancer Gene Ther.* 2, 207–212 (1995).
77. Kitada, S., Takayama, S., De Riel, K., Tanaka, S. & Reed, J. C. Reversal of chemoresistance of lymphoma cells by antisense-mediated reduction of bcl-2 gene expression. *Antisense Res. Dev.* 4, 71–79 (1994).
78. Bihui H. Ye et al, The BCL-6 proto-oncogene controls germinal-centre formation and Th2-type inflammation, *Nature Genetics* volume 16, pages161–170 (1997)
79. Lossos, I. S. et al. Expression of a single gene, BCL-6, strongly predicts survival in patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Blood* 98, 945–951 (2001).
80. Judith A Ferry, Burkitt's lymphoma: clinicopathologic features and differential diagnosis, *Oncologist*, 11(4):375-83 (2006).

81. Testoni, M. et al. Gains of MYC locus and outcome in patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with R-CHOP. *Br. J. Haematol.* 155, 274–277 (2011).
82. Stasik, C. J. et al. Increased MYC gene copy number correlates with increased mRNA levels in diffuse large B-cell lymphoma. *Haematologica* 95, 597–603 (2010).
83. Anderson, J. R., Armitage, J. O. & Weisenburger, D. D. Epidemiology of the non-Hodgkin's lymphomas: distributions of the major subtypes differ by geographic locations. Non-Hodgkin's Lymphoma Classification Project. *Ann. Oncol. Off. J. Eur. Soc. Med. Oncol.* 9, 717–720 (1998).
84. Nicolaides, C., Dimou, S. & Pavlidis, N. Prognostic Factors in Aggressive Non-Hodgkin's Lymphomas. *The Oncologist* 3, 189–197 (1998).
85. Ruppert, A. S. et al. International prognostic indices in diffuse large B-cell lymphoma: a comparison of IPI, R-IPI, and NCCN-IPI. *Blood* 135, 2041–2048 (2020).
86. Batlevi, C. L. et al. Follicular lymphoma in the modern era: survival, treatment outcomes, and identification of high-risk subgroups. *Blood Cancer J.* 10, 74 (2020).
87. Ye, H. et al. Smoldering mantle cell lymphoma. *J. Exp. Clin. Cancer Res.* CR 36, 185 (2017).
88. Couderc, B. et al. The management of adult aggressive non-Hodgkin's lymphomas. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* 35, 33–48 (2000).
89. Kim, Y. R. et al. Risk factors for neutropenic fever in non-Hodgkin's lymphoma patients with primary granulocyte colony-stimulating factor prophylaxis. *Korean J. Intern. Med.* 36, 1181–1189 (2021).
90. Zelenetz, A. D. Risk models for chemotherapy-induced neutropenia in non-Hodgkin's lymphoma. *Oncol. Williston Park* N 17, 21–26 (2003).
91. Hu, S. et al. MYC/BCL2 protein coexpression contributes to the inferior survival of activated B-cell subtype of diffuse large B-cell lymphoma and demonstrates high-risk gene expression signatures: a report from The International DLBCL Rituximab-CHOP Consortium Program. *Blood* 121, 4021–4031 (2013).
92. Yan, L.-X. et al. MYC Expression in Concert with BCL2 and BCL6 Expression Predicts Outcome in Chinese Patients with Diffuse Large B-Cell Lymphoma, Not Otherwise Specified. *PLoS ONE* 9, e104068 (2014).
93. He, X. et al. Ki-67 is a valuable prognostic predictor of lymphoma but its utility varies in lymphoma subtypes: evidence from a systematic meta-analysis. *BMC Cancer* 14, 153 (2014).
94. Colomo, L. et al. Clinical impact of the differentiation profile assessed by immunophenotyping in patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Blood* 101, 78–84 (2003).

95. Cattoretti, G. et al. BCL-6 Protein Is Expressed in Germinal-Center B Cells. *Blood* 86, 45–53 (1995).
96. Levy, O., DeAngelis, L. M., Filippa, D. A., Panageas, K. S. & Abrey, L. E. Bcl-6 predicts improved prognosis in primary central nervous system lymphoma. *Cancer* 112, 151–156 (2008).
97. Mahmoud, H. M. & El-Sakhawy, Y. N. Significance of Bcl-2 and Bcl-6 immunostaining in B-Non Hodgkin's lymphoma. *Hematol. Rep.* 3, e26 (2011).
98. Höller, S. et al. A cytomorphological and immunohistochemical profile of aggressive B-cell lymphoma: high clinical impact of a cumulative immunohistochemical outcome predictor score. *J. Hematop.* 2, 187–194 (2009).
99. Lossos, I. S. et al. Ongoing immunoglobulin somatic mutation in germinal center B cell-like but not in activated B cell-like diffuse large cell lymphomas. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 97, 10209–10213 (2000).
100. Gualco, G., Weiss, L. M., Harrington, W. J. & Bacchi, C. E. BCL6, MUM1 AND CD10 EXPRESSION IN MANTLE CELL LYMPHOMA. *Appl. Immunohistochem. Mol. Morphol. AIMM Off. Publ. Soc. Appl. Immunohistochem.* 18, 103–108 (2010).
101. Chuang, S.-S. et al. Mantle cell lymphoma in Taiwan: clinicopathological and molecular study of 21 cases including one cyclin D1-negative tumor expressing cyclin D2. *Pathol. Int.* 56, 440–448 (2006).
102. Pagnano, K. B. B., Vassallo, J., Lorand-Metze, I., Costa, F. F. & Saad, S. T. O. p53, Mdm2, and c-Myc overexpression is associated with a poor prognosis in aggressive non-Hodgkin's lymphomas. *Am. J. Hematol.* 67, 84–92 (2001).
103. Horn, H. et al. MYC status in concert with BCL2 and BCL6 expression predicts outcome in diffuse large B-cell lymphoma. *Blood* 121, 2253–2263 (2013).