



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

**DİFFÜZ BÜYÜK B HÜCRELİ LENFOMALARDA K-RAS
MUTASYONU VE C-MYC AŞIRI EKSPRESYONUNUN
PROGNOZA ETKİSİ**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. Şule Ketenci ERTAŞ

KAYSERİ-2014



T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

DİFFÜZ BÜYÜK B HÜCRELİ LENFOMALARDA K-RAS
MUTASYONU VE C-MYC AŞIRI EKSPRESYONUNUN
PROGNOZA ETKİSİ

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. Şule Ketenci ERTAŞ

Danışman
Prof. Dr. Ali ÜNAL

KAYSERİ-2014

TEŞEKKÜR

Tezimin hazırlanması sürecinde derin bilgi birikimi ve tecrübesiyle bana rehberlik eden tez hocam Prof. Dr. Ali ÜNAL'a;

Özellikle tezimin yazım aşamasında beni yönlendiren; katkılarını ve değerli zamanını bana ayıran Doç. Dr. Leylagül KAYNAR'a ve tüm Hematoloji ekibine;

İç Hastalıkları uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım başta Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Oktay OYMAK olmak üzere, tüm değerli hocalarıma;

Tıbbi Patoloji Ana Bilim Dalı'ndan tez hastalarımı değerlendiren hocalarım Prof. Dr. Olgun KONTAŞ ve Prof. Dr. Özlem CANÖZ'e; dokuların hazırlanmasındaki katkılarından dolayı Münevver BARAN'a;

Tıbbi Genetik Ana Bilim Dalı'ndaki analizleri yürüten hocam Prof. Dr. Yusuf Özkul' a; testlerimi çalışan Hilal AKALIN'a;

İstatistik aşamasındaki yardımları için Arş. Gör. Gökmen ZARARSIZ'a;

Hasta dosyalarına ulaşmamda emek sarfeden başta Şenol YETKİN; Gülşah YAYLALIOĞLU ve Serkan YILMAZ olmak üzere tüm hematoloji sekreterlerine;

Yıllardır birlikte çalıştığımız asistan arkadaşlarım, hemşirelerimiz ve tüm yardımcı personele;

Yaşamımın her anında sevgi ve desteklerini hissettiğim kardeşlerim Hikmet ve Melda'ya; hayatımdaki maddi ve manevi en büyük destekçim, benim için hiçbir fedakarlıktan kaçınmayan sevgili annem Tülay KETENCİ'ye; hekimliğe duyduğu sevgi ve saygı ile bu mesleği seçmemde en büyük paya sahip, en zor anlarımda bana güç ve moral veren değerli babam Doç. Dr. İbrahim KETENCİ'ye;

Ve bu zorlu süreçte her zaman yanımda olan; benden sevgisini, sabrını ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen sevgili eşim Dr. Ragıp ERTAŞ'a ve hayatıma anlam ve mutluluk katan biricik oğlum Ali Emir'e

Teşekkürü borç bilirim...

Şule Ketenci ERTAŞ

Mayıs 2014, KAYSERİ

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER	iii
TABLolar LİSTESİ	v
ŞEKİLLER LİSTESİ	vi
KISALTMALAR	vii
ÖZET	ix
ABSTRACT	xi
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. LENFOMALAR	3
2.1.1. Hodgkin Lenfoma (HL)	3
2.1.2. Hodgkin Dışı Lenfomalar (HDL)	4
2.1.2.1. Epidemiyoloji	4
2.1.2.2. Etyoloji	5
2.1.2.3. Sınıflandırma	5
2.1.2.4. Evreleme	7
2.1.2.5. Klinik Özellikler ve Tanı	8
2.1.3. Diffüz Büyük B Hücreli Lenfoma (DBBHL)	9
2.1.3.1. DBBHL ve Genetik	13
3. GEREÇ VE YÖNTEM	18
3.1. Çalışma Protokolü	18
3.2. K-Ras Mutasyon Analizi	21
3.3. C-Myc Gen Ekspresyon Analizi	22
3.4. İstatistiksel Analiz	22

4. BULGULAR	24
5. TARTIŞMA	33
6. SONUÇLAR	43
KAYNAKLAR	45
TEZ ONAY SAYFASI.....	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.

TABLÖLER LİSTESİ

Tablo 2.1.	Hodgkin Dışı Lenfomada DSÖ Sınıflaması	6
Tablo 2.2.	Biyolojik Davranışlarına Göre Lenfomalar	7
Tablo 2.3.	Ann Arbor evreleme sisteminin Cotswolds modifikasyonu	8
Tablo 2.4.	WHO 2008 sınıflamasına göre DBBHL varyantları, altgrupları ve alttipleri.	10
Tablo 2.5.	Uluslararası Prognostik indeks (IPI)	11
Tablo 2.6.	Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) Performans Durumu.....	12
Tablo 2.7.	B Hücreli lenfomalarda görülen bazı kromozomal translokasyonlar	13
Tablo 3.1	Tedavi yanıtının değerlendirilmesinde IWG kriterleri.....	20
Tablo 4.1.	Hasta ve kontrol gruplarının yaş ortalamaları.....	24
Tablo 4.2.	Hasta ve kontrol gruplarının cinsiyet oranları	24
Tablo 4.3.	Takip sonunda cinsiyet-sağ kalım oranları	25
Tablo 4.4.	Cinsiyete göre toplam sağkalım süreleri.....	26
Tablo 4.5.	Cinsiyete göre hastalıksız sağkalım süreleri.....	26
Tablo 4.6.	K-ras mutasyonu ile toplam ve hastalıksız sağkalım süreleri.....	28
Tablo 4.7	C-myc aşırı ekspresyonu ile toplam ve hastalıksız sağkalım süreleri	30

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1.	Burkitt Lenfoma’da görülen translokasyonlar	15
Şekil 4.1.	K-ras mutasyonu ve toplam sağ kalım grafiği	27
Şekil 4.2.	K-ras mutasyonu ve hastalıksız sağ kalım grafiği.....	28
Şekil 4.3.	C-myc aşırı ekspresyonu ve toplam sağkalım grafiği	29
Şekil 4.4.	C-myc aşırı ekspresyonu ve hastalıksız sağkalım grafiği	30

KISALTMALAR

AB	: Aktive B-hücre
ALK	: Anaplastik lenfoma kinaz
BHL	: B hücreli lenfoma
BL	: Burkitt Lenfoma
CHOP	: Siklofosamid, Doksorubisin, Vinkristin, Prednizon
CVP	: Siklofosamid, Vinkristin, Prednizolon
DBBHL	: Diffüz Büyük B Hücreli Lenfoma
DHL	:Double Hit Lenfoma
DLBCL	: Diffuse large B-cell lymphoma
DNA	: Deoksiribonükleik asit
DSÖ-WHO	: Dünya Sağlık Örgütü
EBV	: Epstein-Barr virüs
ECOG	: Eastern Cooperative Oncology Group
EGFR	: Epitelyal Growth Factor Reseptor
ESHAP	: Etoposid, Sisplatin, Sitarabin, Metilprednizolon
FFPE	: Formalin Fixed Parafin Embedded
FISH	: Floresan in situ hibridizasyon
FL	: Foliküler Lenfoma
GDP	: Guanozin Difosfat
GEF	: Guanin nükleotid exchange factors
GM	: Germinal Merkez
GMB	: Germinal merkez B-hücre
GTP	: Guanozin Trifosfat
HCV	: Hepatit C virüsü

HDL	: Hodgkin Dışı Lenfoma
HL	: Hodgkin Lenfoma
Ig μ	: İmmünglobulin ağır zinciri
Ig κ ve λ	: İmmünglobulin hafif zincirileri
Ig	: İmmünglobulin
IPI	: Uluslararası Prognostik İndeks
IWG	: Uluslararası Çalışma Grubu
KLL	: Küçük Lenfositik Lenfoma
LDH	: Laktat dehidrogenaz
LN	: Lenf nodu
MHL	: Mantle Hücreli Lenfoma
NHL	: Non-Hodgkin's Lymphoma
NK	: Naturel Killer
OKİT	: Otolog Kemik İliği Nakli
PCR	: Polimeraz zincir reaksiyonu
PET	: Pozitron Emisyon Tomografisi
R-CHOP	: Rituksimab, Siklofosamid, Doksorubisin, Vinkristin, Prednizon
REAL	: Revised European Lymphoma Study Group
RT-PCR	: Real-Time Polimeraz Chain Reaction
SSS	: Santral Sinir Sistemi
WF	: Working Formulation
WHO	: World Health Organization
β 2M	:Beta 2 mikroglobulin
μ g	: Mikrogram
μ L	: Mikrolitre

DİFFÜZ BÜYÜK B HÜCRELİ LENFOMALARDA K-RAS MUTASYONU VE C-MYC AŞIRI EKSPRESYONUNUN PROGNOZA ETKİSİ

ÖZET

Amaç: Diffüz büyük B hücreli lenfomalar (DBBHL) kötü seyirli lenfomaların prototipidir. Erişkinde görülen Hodgkin dışı lenfomaların (HDL) yaklaşık olarak % 30-40'ını oluşturur. DBBHL'da sıklıkla çeşitli genetik anormallikler, translokasyon, delesyon, duplikasyon ve diğer tanımlanmamış karyotip bozuklukları ile karşılaşmaktadır. Bu anormalliklerin hastalığın gelişimi ve prognozu üzerine değişik etkileri olduğu bilinmektedir. Bu çalışmanın amacı DBBHL hastalarında k-ras mutasyonu ve c-myc aşırı ekspresyonu varlığını ve prognoza etkisini araştırmaktır.

Hastalar ve Yöntem: Çalışmaya lenf nodu biyopsisi DBBHL olarak raporlanan 28 hasta ve lenf nodu biyopsisi reaktif olarak gelen 29 kişi kontrol grubu olarak alındı. Retrospektif olarak hasta kayıtlarından; cinsiyet, tanı anındaki yaş, hastalığın evresi, splenomegali, kemik iliği tutulumu, balki durumu, tutulan ektranodal bölge sayısı, performans durumu, laktat dehidrogenaz düzeyi, aldığı kemoterapi ve radyoterapi, kür sayısı, tedavi yanıtı, otolog kemik iliği nakli olup olmaması ile ilgili veriler elde edildi. Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı'nda hasta ve kontrol grubunun parafin bloklarına ulaşıldı. Buradan alınan örneklerde Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'nda k-ras mutasyonu ve c-myc ekspresyonu analiz edildi. C-myc ve k-ras değerlerinin toplam ve hastalıksız sağkalıma olan etkisini değerlendirmede Kaplan-Meier yöntemi kullanıldı ve Log-Rank testi ile karşılaştırmalar yapıldı.

Bulgular: 28 hastanın 3'ünde (% 10,7) k-ras mutasyonu tespit edildi. Geriye kalan hastalarda ve kontrol grubunda mutasyona rastlanmadı. K-ras mutasyonu saptananlarda ortalama sağkalım süresi 28 ay iken, mutasyon saptanmayan hastalarda bu süre 49 ay olarak bulundu. İki grup arasında gözlenen bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p=0.093$). K-ras mutasyonu olanlarda ortalama hastalıksız sağkalım süresi 17,6 ay iken mutasyon saptanmayan hastalarda 45 ay olarak tespit edildi. Hastalıksız sağkalım açısından iki grup arasında rakamsal olarak fark olsa da istatistiksel açıdan önemli değildi ($p=0.072$).

C-myc aşırı ekspresyonu hastaların 17'sinde (% 61) saptandı. Aşırı ekspresyon olmayan hastalarla toplam sağkalım açısından anlamlı fark yoktu. Hastalıksız sağkalım sürelerine bakıldığında da iki grup arasında anlamlı fark yoktu. Erkek hastaların ortalama genel sağkalımı 33 ay iken, kadın hastaların 65 ay idi. Aradaki fark anlamlıydı (**p=0,006**). Erkek hastaların ortalama hastalıksız sağkalım süresi 23 ay; kadın hastaların ise 64 ay idi. Arada anlamlı fark bulundu (**p=0,003**). Aşırı ekspresyon sınır değeri 2,48 alındığında c-myc aşırı eksprese eden grupta tam remisyon oranı % 30 iken etmeyen grupta % 69 idi. Aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi (**p=0,02**).

Sonuç: K-ras varlığının ve c-myc aşırı ekspresyonunun DBBHL hastalarında toplam ve hastalıksız sağkalım üzerine etkisinin olmadığı tespit edildi. C-myc aşırı ekspresyonunun tam remisyona girme açısından olumsuz bir faktör olduğu görüldü. Bu çalışmada cinsiyetin toplam ve hastalıksız sağkalımı etkilediği ve kadın cinsiyetin daha iyi prognoza sahip olduğu bulundu.

Anahtar kelimeler: Diffüz büyük B hücreli lenfoma, k-ras, c-myc

IMPACT on PROGNOSIS of K-RAS MUTATION and C-MYC OVEREXPRESSION at DIFFUSE LARGE B-CELL LYMPHOMAS

ABSTRACT

Objective: Diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) is the prototype of aggressive lymphomas. It is a kind of adult non-Hodgkin's lymphomas (NHL) form an approximately 30 to 40 %. Various genetic abnormalities often translocation, deletion, duplication and other unspecified karyotype abnormalities are encountered in DLBCL. These abnormalities are stated to have an effect on progress of the disease and the prognosis with various levels. The aim of this study is to investigate the presence and impact on prognosis of k-ras mutation and c-myc overexpression in patients with DLBCL.

Patients and Methods: This study involved 28 patients with a diagnosis of DLBCL and 29 healthy volunteers, whom diagnostic lymph node biopsy were reactive, were included as a control group. Once accepted into the study; age, sex, stage of disease, splenomegaly, bone marrow involvement, bulky status, extranodal number of regions, performance status, lactate dehydrogenase level, received chemotherapy and radiotherapy, number of chemotherapy cycle, treatment response, autologous bone marrow transplantation, whether in terms of were evaluated. Paraffin blocks were achieved for patients and the control group in the Department of Pathology. The samples were analyzed in the Department of Medical Genetics for k-ras mutations and c-myc expressions. Kaplan-Meier method was used in the evaluation of the effects of c-myc and k-ras on the sum of and disease free survival. But comparisons were made with the Log-Rank test.

Findings: Of the 28 patients, three (10.7 %) k-ras mutations were detected. No mutations were detected in the control group and remaining patients. K-ras mutations that cases with an average survival time of 28 months, while those without the mutation was found to be 49 months this time. There was no significant difference in survival between the two groups. K-ras mutations in patients with an average duration of disease-free survival of 17.6 months, while those without the mutation has been identified as 45 months. Disease-free survival did not differ significantly between the two groups ($p=0.072$).

C-myc overexpression in 17 patients (61 %) was detected. In patients without overexpression was no significant difference in terms of overall survival. Regarding disease-free survival also there was no significant difference between the two groups. Median overall survival was 33 months in male patients, while 65 months in female patients. The difference was significant (**p = 0.006**). Median disease-free survival time was 23 months in male patients although 64 months in female patients. The difference was significant (**p = 0.003**). At the cut-off 2,48; complete remission rate was 30 % in c-myc overexpression group, while 69 % in remaining group. The difference was significant (**p = 0.02**).

Results: The presence of k-ras and c-myc overexpression in patients with DLBCL has no effect on overall and disease-free survival. C-myc overexpression is a negative factor in terms of complete remission. In this study, gender was found to be effective on the overall and disease free survival meanwhile female gender was found to have a better prognosis.

Key Words: Diffuse large B-cell lymphoma, k-ras, c-myc

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Diffüz büyük B hücreli lenfoma (DBBHL) erişkinlerde en sık görülen lenfoid neoplazi olup, tüm dünyada her yıl yaklaşık 30.000 yeni olgu tanı almaktadır. Tüm Hodgkin dışı lenfomaların (HDL) % 40'ını DBBHL oluşturmaktadır (1).

Lenfomalarda hastalığın seyrinin tahmininde uzun zamandır prognostik risk skorum sistemleri kullanılmaktadır. Bu amaçla tedavi öncesi elde edilen fizik muayene bulguları, laboratuvar parametreleri, görüntüleme bulguları ve biyopsi sonuçları kullanılır. Hastalığın yayılımı, prognozu ve tümörün planlanan tedaviye vereceği yanıt kabaca tahmin edilse de elde edilen sonuçlar klinikte arzulanan etkinliği sağlayamamaktadır (2).

Antrasiklin türevi kemoterapilerin kullanılmasına rağmen sürekli remisyon, hastaların ancak % 40-50'sinde elde edilebilmektedir (3). Yoğun kemoterapi uygulanan hastalar gereksiz yan etkilere maruz kalırken, yetersiz bir tedavi yaklaşımında ise hastalığın tekrarlama olasılığı artmaktadır (4).

Son yıllarda DBBHL konusundaki çalışmalar özellikle farklı prognostik belirteçlerin ve farklı risk gruplarının belirlenmesi ve bu yolla yeni tedavi stratejilerinin geliştirilmesi üzerine yoğunlaşmıştır.

Birçok kanserin, proto-onkogen aktivasyonu veya mutasyonu sonucu oluştuğu bilinmektedir. İnsanlarda görülen kanserlerde en sık rastlanan onkogenler ras ailesi

üyeleridir. Bu amaçla k-ras, h-ras ve n-ras gibi örnekler üzerinde çalışmalar yapılmaktadır (5).

Myc protein ekspresyonu ise DBBHL vakalarının büyük bir kısmında görülmektedir. Bazı çalışmalarda aşırı ekspresyonun kötü prognoz ile ilişkilendirildiği görülmüştür. Ancak bu olumsuz etkinin tek başına myc değişikliklerinden mi yoksa farklı mutasyonlar ve mekanizmalarla birlikte mi geliştiği henüz netlik kazanmamıştır (6).

Bu çalışmada; DBBHL'lar için risk faktörlerinin belirlenmesi ve genetik değişikliklerin tanımlanması, gelecekte standart tedavilerle başarısız olunan alt grupların daha iyi yönetilmesi ve hedefe yönelik tedavilerin belirlenmesi için DBBHL'larda k-ras mutasyonu ve c-myc aşırı ekspresyonunun prognoza etkisinin olup olmadığı araştırılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. LENFOMALAR

Bağıışıklık sisteminin malign hastalıkları; kemik iliğindeki immatür lenfoid hücrelerden veya ekstramedüller lenfoid dokulardaki daha olgun lenfoid hücrelerde oluşan bazı genetik değışiklikler sonucu gelişir. Ekstramedüller lenfoid dokudan gelişen lenfoid maligniteler lenfoma olarak adlandırılır. İstemsiz olarak çoğalan lenfoid hücrelerin periferik kanda ve kemik iliğinde de tespit edilir hale gelmesi ile lösemik formdan bahsedilir. Lenfomalar genel olarak Hodgkin lenfoma (HL) ve Hodgkin dışı lenfomalar (HDL) olarak iki büyük gruba ayrılarak incelenir (7).

2.1.1. Hodgkin Lenfoma (HL)

1832 yılında Thomas Hodgkin tarafından yayınlanan makalede; yedi hastada sifiliz, inflamasyon ve tüberkülozdan farklı olan semptomlar bildirilmiştir (8). 1902 yılında Dorothy Reed, Hodgkin Lenfomaya özgün olan mononükleer Hodgkin hücrelerini ve multinükleer Reed-Stenberg hücrelerini tanımlamıştır (9).

Son yıllarda Hodgkin lenfoma (HL) insidansında hafif bir artma dikkat çekmektedir. Genel bir değerlendirme yapıldığında, HL tüm kanser olgularının % 1'ini, tüm lenfoma olgularının ise % 14'ünü oluşturmaktadır (10).

Hodgkin lenfoma etiyolojisinden sorumlu olduğu düşünölen çok sayıda faktör tanımlanmıştır. Genetik faktörler, sosyoekonomik durum, immünsupresyon, başta Ebstein-Barr virüs (EBV) olmak üzere çok sayıda virüs, çevresel ve mesleki etkenler bu faktörlerden bazılarıdır (11).

Hodgkin lenfoma % 90 olguda ağrısız ve lastik kıvamında lenf nodu (LN) büyümesi ile ortaya çıkar. Hastalık genellikle supradiafragmatik lenf nodlarından başlar. Olguların % 50-60'ında mediastinal lenf nodu tutulumu vardır. % 10-20 olguda tek başına infradiafragmatik hastalık şeklinde başlayabilir (12).

Erken evre hastalıkta mevcut tedaviler ile uzun süreli sağkalım (% 90) elde edilebilirken, ileri evre hastalıkta bu oran daha düşüktür (% 50–60) (13). HL'da kullanılan iki primer tedavi radyoterapi ve kombinasyon kemoterapisidir.

2.1.2. Hodgkin Dışı Lenfomalar (HDL)

Hodgkin dışı lenfomalar; lenfositlerden köken alan heterojen bir malignite grubudur. Lenfositler, hematopoetik kök hücrelerden gelişirler ve hücre yüzey reseptörlerine göre farklı morfolojiler gösterirler. Lenfoid tümör hücreleri, farklılaşma aşamasında duraksamış bu öncül hücrelerin klonal çoğalmasından oluşan malign formlardır. Kromozomal translokasyonlar, HDL olgularının % 90'ında gösterilmiştir. Moleküler düzeyde, eşlik eden kromozomal kayıplar ve mutasyonlar olsun ya da olmasın, bu translokasyonlar, onkojen aktivasyonunu veya tümör baskılayıcı gen inaktivasyonunu hızlandırır (14).

2.1.2.1. Epidemiyoloji

Hodgkin dışı lenfomaların insidansında artış, gelişmiş ölkelerde ve batı toplumlarında Asya ve Afrika'dan daha fazladır (10). Batı ölkeleri ile karşılaştırıldığında Türkiye'de HDL ile daha genç yaşta karşılaşmaktadır. Erkeklerde daha sıktır. Beş büyük merkezin verileri toplandığında 3704 hastanın % 80.1'i HDL, % 19.9'u HL olarak bildirilmiştir. Tüm lenfomalar içerisinde en sık görölen histopatolojik tiplerin sırası ile **DBBHL** (% 30.1), **küçük lenfositik lenfoma (KLL)** (% 10.4) ve **foliküler lenfoma (FL)** (% 5.6) olduğu bildirilmiştir (15).

2.1.2.2. Etyoloji

Hodgkin dışı lenfoma etyolojisi bazı tipler dışında kesin bilinmemektedir (16). Çevresel ajanlar ve kazanılmış genetik bozuklukların hastalığın etyolojisinde yeri olduğu düşünülmektedir. Enfeksiyon durumuna bağlı olarak epidemik Burkitt lenfoma (BL) hemen daima EBV ile ilişkilidir; sporadik BL'da EBV pozitifliği % 10-30 arasında değişiklik gösterir (17). Konjenital (primer) immün yetmezlikli hastaların hayatlarının bir döneminde malign hastalık gelişme ihtimali % 25 iken bunların yarısı HDL'dir. Organ transplantasyonu, kök hücre nakli ve otoimmün hastalıklarda kullanılan immünsupresif tedavinin de HDL oluşum riskini artırdığı kanıtlanmıştır (18). Hepatit C virüsü (HCV) E2 proteininin kronik antijenik uyarısının, poliklonal B hücre çoğalmasına yol açarak lenfoma gelişiminden sorumlu olduğu düşünülmektedir. Lenfoma hastalarında HCV prevalansı % 13'tür (19).

2.1.2.3. Sınıflandırma

Hodgkin dışı lenfomalar klinik ve patolojik olarak çok heterojen hastalıklardır. Dolayısıyla histopatolojik sınıflama; lenfomaların biyolojik davranışlarının, prognozlarının ve tedavi protokollerinin standardizasyonu için önemlidir. Klinik, histolojik ya da immünolojik özellikler göz önüne alınarak pek çok sınıflama yapılmışsa da halen kusursuz bir sınıflama yoktur (16).

Lenfoid maligniteler için halen yaygın olarak kullanılan Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ-WHO) sınıflamasında; B hücreli, T / Naturel Killer (NK) hücreli ve Hodgkin lenfoma olmak üzere üç ana başlık oluşturulmuştur. B hücreli ve T / NK hücreli malign hastalıklar 'prekürsör ve olgun' olmak üzere iki alt gruba ayrılmıştır. WHO sınıflamasında bir diğer sınıflama olan Working Formulation (WF)'dan farklı olarak lenfomaların klinik seyir özelliklerinden çok patolojik özelliklerine vurgu yapılmıştır (20) (Tablo 2.1).

Tablo 2.1. Hodgkin Dışı Lenfomada DSÖ Sınıflaması (20)

<i>B Hücre Neoplazileri</i>
Prekürsör B hücre neoplazileri Prekürsör B hücreli lenfoblastik lösemi/lenfoma B lenfoblastik lösemi/lenfoma (tekrarlayan genetik anomalilerle ilişkili)
Olgun (Periferal) B hücre neoplazileri Kronik lenfositik lösemi/ B hücreli küçük lenfositik lenfoma B hücreli prolenfositik lösemi Lenfoplazmositik lenfoma Splenic marjinal zon B hücreli lenfoma Tüylü hücreli lösemi Diffüz büyük B hücreli lenfoma Burkitt lenfoma/lösemisi
<i>T ve NK (Naturel Killer) hücre neoplazileri</i>
Prekürsör T hücre neoplazileri Prekürsör T lenfoblastik lösemi/lenfoma (Prekürsör T akut lenfoblastik lösemi)
Olgun (Periferik) T hücre neoplazileri T hücreli prolenfositik lösemi T hücreli büyük granüler lenfositik lösemi Agresif NK hücreli lösemi Adult T-cell lymphoma/leukemia (HTLV-1+) Ekstranodal NK/T hücreli lenfoma, nazal tip Enteropati Tip T hücreli lenfoma Subkutan pannikülit benzeri T hücreli lenfoma Mycosis fungoides/Sezary sendromu Primer kutanöz anaplastik büyük hücreli lenfoma Sınıflanamayan periferik T hücreli lenfoma Anjioimmunoblastik T hücreli lenfoma Primer sistemik anaplastik büyük hücreli lenfoma Hepatosplenik gamma/delta T hücreli lenfoma

Biyolojik davranışlarına göre HDL; indolent, agresif, yüksek derecede agresif ve lokalize indolent olarak gruplandırılmıştır (21) (Tablo 2.2).

Tablo 2.2. Biyolojik Davranışlarına Göre Lenfomalar (21)

İndolent Lenfomalar	Agresif Lenfomalar
• Folliküler Lenfoma • Küçük lenfosittik lenfoma • Lenfoplazmositik lenfoma • Mantle hücreli lenfoma • Splenik marjinal zone B hücreli lenfoması • Nodal marjinal zone B hücreli lenfoması • Mikozis fungoides • T hücre granüler lenfosit lösemi	• Diffüz büyük B hücreli lenfoma • Periferik T hücreli lenfoma
	Yüksek Derecede Agresif Lenfomali
	• Burkitt lenfoma • Lenfoblastik Lenfoma
	Lokalize İndolent Lenfomalar
	• Ekstranodal marjinal zone B hücreli lenfoma • Primer kutanöz anaplastik büyük hücreli lenfoma

2.1.2.4. Evreleme

Hodgkin dışı lenfoma evrelemede HL için geliştirilen Ann Arbor evreleme sisteminin Cotswolds modifikasyonu kullanılır (Tablo 2.3). Evreleme yaparken hastalığın anatomik yayılımı ve eşlik eden sistemik belirtilerin olup olmadığı dikkate alınır (22). Genel olarak lokalize hastalığın (evre I-II) seyri; ileri evre (evre III-IV) hastalığa göre daha iyidir.

Tablo 2.3. Ann Arbor evreleme sisteminin Cotswolds modifikasyonu (22)

EVRE I	Bir tek lenf nodu bölgesi veya lenfoid yapı tutulumu (örn: dalak, timus, Waldayer halkası)	
EVRE II	Diafragmanın aynı tarafında iki ya da daha fazla lenf nodu bölgesinin tutulması (mediastinal alan tek bölge olarak kabul edilir, hiler LN alanları sağ ve sol olarak ayrılır)	
EVRE III	Diafragmanın her iki tarafında da lenf nodu bölgelerinin tutulumu	
	III-1	Diafragma altındaki hastalık üst abdominal bölge tutulumu gösteriyorsa, splenik, çölyak veya portal lenf nodlarını içeren tutulum
	III-2	Paraaortik, iliak veya mezenterik lenf nodlarının tutulumu. Üst abdominal bölge tutulumu olabilir veya olmayabilir
EVRE IV	Ekstralenfatik organlardan veya dokulardan birinin lenf nodututulumuya da tutulumsuz yaygın veya ilerlemiş hastalığı	
A: Sistemik semptom yok. B: Son 6 ay içinde bazal vücut ağırlığının %10’undan daha fazlasının kaybı, yineleyen ve açıklanamayan 38°C’nin üzerindeki ateş, yineleyen gece terlemeleri X: Balky hastalık; mediasteninin %33’ten fazla genişlemesi ya da 10 cm’den büyük kitle E: Ekstranodal tutulum		

2.1.2.5. Klinik Özellikler ve Tanı

Hodgkin dışı lenfomaların en sık görülen başlangıç bulgusu sıklıkla servikal, supraklavikular ve aksiller bölgelerde gelişen ağrısız lenfadenopatilerdir (23). Olguların yaklaşık % 30'unda tanı sırasında ateş, kilo kaybı, terleme gibi sistemik belirtiler de bulunabilir. Bu belirtilerin bulunması B semptomları varlığı olarak adlandırılır ve kötü prognoz bulgusu olarak kabul edilir (1). Tanı sırasında değişen derecelerde sitopenilere de rastlanabilir. Bu durum yaygın kemik iliği tutulumu sonucu olabileceği gibi immün (hemolitik anemi/lökopeni/trombositopeni) veya immün olmayan (hipersplenizm) nedenlerle de gelişebilmektedir. HDL'ların önemli bir klinik bulgusu da ektranodal tutulumun sık görülmesidir. En sık ektranodal tutulum bölgesi de gastrointestinal sistem ve Waldeyer halkasıdır (24).

Hodgkin dışı lenfomalarda, biyopsi dışında tanı koydurucu nitelikte bir laboratuvar bulgusu yoktur. Beta 2 mikroglobulin (β 2M) ve laktat dehidrogenaz (LDH) yüksek bulunabilir ve prognozun kötü olduğunu gösterir. Lenfoma tanısını doğrulamak için etkilenmiş bir lenf nodunun eksizyonel biyopsisi yapılır ve histolojik olarak incelenir. Ekstranodal yerleşimli

hastalıkta ise tutulmuş bölgeden uygun bir biyopsi alınır. Histolojik tanı konmuş hastalarda evrelemek için, kemik iliği biyopsisi yapılmalıdır (25).

2.1.3. Diffüz Büyük B-Hücreli Lenfoma (DBBHL)

Diffüz büyük B hücreli lenfomalar agresif lenfomaların prototipidir. Erişkin HDL'ların yaklaşık olarak % 30-40'ını oluşturur (26). İlk kez 'Revised European Lymphoma Study Group' (REAL) sınıflamasında ayrı bir lenfoma tipi olarak tanımlanmıştır. En son Dünya Sağlık Örgütü (WHO) sınıflamasında yine ayrı bir tip olarak ve eklenen alt tipleriyle birlikte yerini almıştır (20) (Tablo 2.4).

Birçok morfolojik ve fenotipik türünün oluşu hastalık prognozunun ve tedavi stratejisinin zor belirlenmesine yol açmaktadır (26). HDL'nin en geniş grubu olan DBBHL çocuklar dahil her yaş grubu ve her iki cinsiyette görülebilmekle beraber sıklıkla orta ve ileri yaşlarda görülmekte; erkeklerde kadınlara nazaran daha sık görülmektedir (27).

Klinik olarak kötü seyirli bir lenfoma olan diffüz büyük B hücreli lenfomalar lenf nodu ve/veya ektranodal alanlarda görülür. En sık ektranodal tutulum alanları gastrointestinal bölge, cilt, kemik iliği, paranazal sinuslar, tiroid, merkezi sinir sistemi, karaciğer ve dalak gibi bölgelerdir (23). Ancak başvuru sırasında kemik iliği ve/veya periferik kan tutulumu nadirdir (28). DBBHL'da hastalar tipik olarak hızlı büyüyen lenfadenopati şikayeti ile başvurur. Tutulan lenf nodu bölgesi sıklıkla boyun, mediasten ya da abdomendedir. Sistemik B semptomları (ateş, kilo kaybı ve gece terlemeleri) hastaların % 30'unda görülürken, LDH yüksekliği hastaların yarısından fazlasında mevcuttur (1).

DBBHL'da malign B lenfositleri lenf düğümünün normal yapısını ya da lenf düğümü dışındaki bir bölgeyi yaygın olarak infiltre ettikleri için bu şekilde tanımlanmıştır. Hücreler büyük transforme lenfositler olup ileri morfolojik tiplerine ayrılırlar. Histomorfolojik olarak DBBHL'nın **anaplastik, sentroblastik, immünoblastik ve T hücreden zengin histiyositik B hücreli lenfoma** olmak üzere çeşitli varyantları mevcuttur. Fakat son yıllarda geliştirilen lenfoma sınıflama sistemlerinde bu histomorfolojik varyantların hiçbirisinin ayrı olarak prognostik bir önemi saptanamamıştır (29).

Tablo 2.4. WHO 2008 sınıflamasına göre DBBHL varyantları, altgrupları ve alttipleri (20)

Diffüz Büyük B Hücreli Lenfoma, başka yerde sınıflandırılmayan
Yaygın morfolojik varyantlar Sentroblastik İmmünoblastik Anaplastik Nadir morfolojik varyantlar
Moleküler altgruplar Germinal merkez B-hücre (GMB) benzeri Aktive B-hücre (AB) benzeri
İmmünolojik altgruplar CD5-pozitif DBBHL Germinal merkez B-hücre benzeri (GMB) Germinal merkez B-hücre benzeri dışı (AB veya non-GMB)
DBBHL alttipleri T-hücre/histiyositten zengin büyük B hücreli lenfoma Santral Sinir Sistemi (SSS)'nin primer DBBHL'sı Primer kutanöz DBBHL, bacak tipi Yaşlılarda EBV pozitif DBBHL
Diğer büyük B-hücreli lenfomalar (BBHL) Primer mediastinal (timik) DBBHL İntravasküler büyük B hücreli lenfoma Kronik inflamasyon ilişkili DBBHL Lenfomatoid granülomatosis ALK (anaplastik lenfoma kinaz)-pozitif büyük B hücreli lenfoma (BHL) Plasmablastik lenfoma HLV-8 ilişkili multisentrik Castleman hastalığı zemininde gelişen büyük BHL Primer effüzyon lenfoması
Sınırdaki vakalar DBBHL ile Burkitt lenfoma (BL) arasında kalan ve sınıflandırılmayan BHL DBBHL ile Klasik Hodgkin Lenfoma arasında kalan ve sınıflandırılmayan BHL

Klinik parametreler ile prognoz ilişkisini göstermek için Uluslararası Prognostik İndeks (IPI) geliştirilmiştir (Tablo 2.5). Histolojik tipin agresif olması, kemik iliği tutulumu, serum LDH yüksekliği, ileri klinik evre (evre III veya IV), tanı konulduğu zamanki yaşı 60'tan büyük olması, beta 2 mikroglobulin (β 2M) düzeyinin yüksek olması, B semptomlarının bulunması, hastanın ECOG (Eastern Cooperative Oncology Group) performans skorunun düşük olması (Tablo 2.6), ektranodal tutulan bölge sayısının 2 veya daha fazla oluşu, büyük tümör kitlelerinin varlığı (10 cm' den büyük) ve Ki-67 antijen pozitifliği hastalığın kötü prognoz kriterleridir (16, 30).

Beyin ve testis gibi ektranodal bölgeler özel tedavi stratejileri gerektirmekte ve bu bölgelerden gelişen DBBHL olguları kötü prognozlu seyretmektedir (31). Ancak risk gruplarını belirlemede IPI skorunun yetersiz kaldığı durumlar da mevcuttur. Örneğin erken evre hastalıkta; evre ve ektranodal tutulumdan düşük puan alan hastalarda risk kesin olarak belirlenememektedir ve modifikasyona ihtiyaç duyulmaktadır (32).

Tablo 2.5 Uluslararası Prognostik indeks (IPI) (31)

Prognostik faktörler
Yaş >60
Ann-Arbor Evresi İleri evre (Evre III-IV)
Performans durumu ECOG 2-4
Serum LDH düzeyi >1xNormal
Extranodal tutulum >1
Risk kategorisi Prognostik faktör
Düşük 0-1
Düşük orta 2
Yüksek orta 3
Yüksek 4-5

Tablo 2.6. Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) Performans Durumu (16,30)

0	Kısıtlamasız normal aktivite
1	Ayaktan gündelik işlerini, ofis ve ev işlerini yapabiliyor, ağır fiziksel aktiviteler sınırlı
2	Ayakta geçirmesi gereken sürenin <%50'sinde yatağa bağımlı
3	Ayakta geçirmesi gereken sürenin >%50'sinde yatağa veya sandalyeye bağımlı
4	Yatağa bağımlı, yardımsız hiçbir iş yürütemiyor

WHO sınıflaması, HDL'de klinik farklılıklara göre oluşturulmuş ve tüm dünyada kabul edilmiş bir sınıflama olmasına rağmen; tedavi ile ilgili birçok klinik çalışma, yavaş seyirli (indolent) ve kötü seyirli (agresif) lenfoma ayırımına dayanarak yapılmıştır.

Tümör yükü düşük ve asemptomatik olan yeni tanı almış indolent lenfomalarda, “izle ve bekle” kabul gören bir yaklaşımdır. İzlem sırasında, hastada yakınmaların ortaya çıkması halinde tedavi verilmesi önerilmektedir. Hastaların çoğunda tanı anında yaygın hastalık mevcuttur. Önerilen kimyasal tedaviler; siklofosamid, vinkristin, prednizolon (CVP) kombinasyonu, fludarabin, klorambusil ve antrasiklin içeren tedavilerdir. Bütün bu tedavilerin, yan etkileri farklı olmasına rağmen, genel sağkalım süresine etkileri benzerdir. İnterferon eklenmesi, tedaviye yanıt oranlarını arttırmıştır. B hücrelerinin CD20 antijenine karşı geliştirilmiş kimerik bir antikor olan Rituximab; nüks gelişen ve tedaviye dirençli CD20(+) B hücreli indolent lenfomalarda, tek ajan olarak veya diğer tedaviler ile birlikte kullanıldığında etkili bulunmuştur (33-35).

Kötü seyirli lenfomalarda, en sık kullanılan sistemik tedavi; siklofosamid, doksorubisin, vinkristin ve prednizondan oluşan CHOP tedavisidir. Erken evre lokalize agresif

lenfomalarda, radyoterapi ile sistemik kemoterapi birlikte kullanılmaktadır. CHOP ve rituximabın birlikte kullanımı, diffüz büyük B hücreli lenfomada kabul görmüş bir tedavidir. Ototolog hematopoetik kök hücre destekli yüksek doz kemoterapi, nüks hastalık için önerilmektedir. Agresif lenfomalarda, yüksek riskli hasta grubunda, hem başlangıç tedavisine tam yanıt alındıktan sonra birincil tedavi olarak; hem de kimyasal tedaviye duyarlı fakat nüks olmuş hastalarda, otolog hematopoetik kök hücre destekli yüksek doz kemoterapi uygulanması daha uzun sağkalım ile sonuçlanmaktadır (23).

2.1.3.1. DBBHL ve Genetik

DBBHL’ de sıklıkla çeşitli genetik anormallikler, translokasyon, delesyon, duplikasyon ve diğer tanımlanmamış karyotip bozuklukları ile karşılaşılmaktadır (28, 36). Bu anormalliklerin hastalığın gelişimi ve prognozu üzerine değişik etkileri olduğu bilinmektedir. Kromozom translokasyonları vakaların yaklaşık % 50’sinde olur, kromozom dengesizlikleri ise yaklaşık % 70’inde görülür. En sık karşılaşılan anormallikler bcl-6, bcl-2 ve c-myc gen ekspresyonunda artış olmasıdır (28). B hücreli lenfomalarda sık görülen translokasyonlar Tablo 2.7’de görülmektedir.

Tablo 2.7. B Hücreli lenfomalarda görülen bazı kromozomal translokasyonlar (16)

Lenfoma Tipi	Translokasyon	Onkogen	Onkogen Özelliği
Burkitt	t (8; 14), t (2;8) ve t (8; 22)	myc	Transkripsiyon faktörü
Foliküler	t (14;18)	bcl-2	Apopitoz inhibitörü
Mantle hücreli	t (11;14)	bcl-1 (cyclin-D1)	Hücre siklus regülatörü
Lenfoplazmasitik	t(14;19)	bcl-3	Transkripsiyon faktörü
DBBHL	t(3;14), t(3;22)	bcl-6	Transkripsiyon faktörü
	t(14;18)	bcl-2	Apopitoz inhibitörü
	t(8;22)	myc	Transkripsiyon faktörü

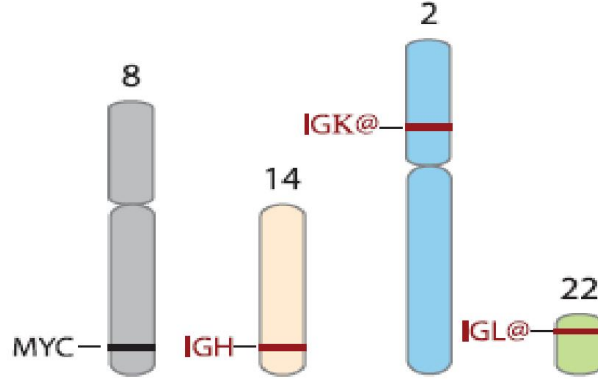
İnsanlarda görülen kanserlerin % 70'e yakınında yüksek myc ekspresyon düzeyleri mevcuttur. Diğer hematolojik malignitelerle karşılaştırıldığında en yüksek düzeyler EBV ile ilişkili malignitelerde görülür (37). Myc gen ailesinin üyelerinin (c-myc, n-myc, l-myc) malignite potansiyelleri vardır. Kromozomal translokasyonlar ve amplifikasyonlar sonucunda aktive olup onkogenlere dönüşürler (38). C-myc geni; hücre çekirdeğinde bulunan bir transkripsiyon faktörü olan c-myc proteinini kodlar. Görevi çoğalma sinyaline cevap olarak gen ekspresyonunu düzenlemektir. Artmış myc ekspresyonu; hedef gendeki transkripsiyonu c-myc/max heterodimerleri oluşturarak arttırır ya da baskılar. Myc onkogenlerinin genetik değişiklikler sonucu aktive olması da myc proteininin aşırı ekspresyonunu beraberinde getirir (39).

C-myc onkogenini kodlayan 8q24 kromozomundaki translokasyonlar, Hodgkin dışı lenfomaların onkogeneğinde önemli rol oynar. Bu translokasyonlar sonucu c-myc onkogeninin ekspresyonu artar. C-myc, helix-loop-helix denilen bir transkripsiyon faktörünü kodlar ve pek çok hücreyel olayın düzenlenmesinde görev alır. Büyümeyi düzenleyen rolü yanında artmış myc ekspresyonunun apoptozu uyardığı da gösterilmiştir. (37, 40).

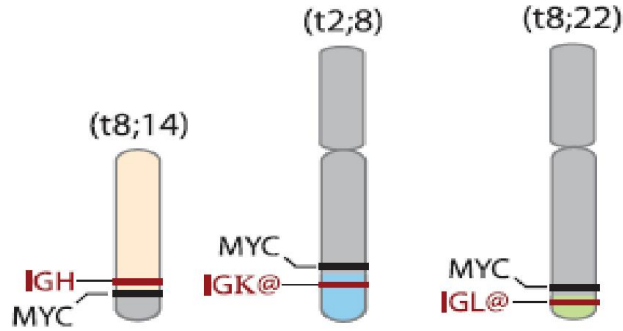
C-myc ve immünglobulin (Ig) geni arasındaki translokasyonlar; t(8;14)(q24;q32) / t(2;8)(p13;q24) / t(8;22)(q24;q11) şeklindedir. C-myc yeniden düzenlenmesi ile sonuçlanan bu translokasyonlar, hemen tüm Burkitt lenfoma (BL) olgularında saptanır (Şekil 2.1). BL için oldukça karakteristik olmasına rağmen, spesifik değildir. Her ne kadar BL'daki c-myc ekspresyonunun görülme sıklığı, DBBHL'ya göre yüksek olsa da tüm Hodgkin dışı lenfomalara baktığımızda BL ancak % 1-2'lik yer kaplarken; DBBHL, yaklaşık % 30 oranında görülür. Dolayısı ile c-myc (+) bir yüksek dereceli lenfoma ile karşılaştığımızda, bunun DBBHL olma olasılığı yüksektir. Klinik, morfolojik ve immünfenotipik bulgular birlikte değerlendirilip bir sonuca varılmalıdır (41)

Hunt ve ark.'nın çalışmasına göre DBBHL olguların üçte birinde c-myc genini içeren t(8;14)(q24;q32) translokasyonu mevcuttur (41, 42).

Normal Kromozomlar



BL' de görülen kromozomal translokasyonlar



Şekil 2.1. Burkitt lenfoma'da görülen translokasyonlar

BL'da görülen c-myc aşırı ekspresyonu; 8. Kromozomdaki c-myc proto-onkogeni ile kromozom 14, 2 veya 22'de immünglobulin ağır zincir (μ) ve hafif zincirleri (κ ve λ) kodlayan genler arasındaki translokasyonlar sonucu oluşur (41).

Son yayınlarda c-myc proteininin hücresel düzeyde yerleştiği yerin de BL ve DBBHL ayırımında kullanılabileceği belirtilmiştir. Bir çalışmada BL vakalarının % 88'inde c-myc proteini genellikle çekirdekte yerleşirken DBBHL vakalarının % 95'inde sitoplazmaya yerleşmiştir. Araştırmanın devamında sekonder lenfoid organlardaki normal olgun B hücrelerinde ve myc aşırı ekspresyonu görülmeyen DBBHL vakalarında c-myc proteini sitoplazmik yerleşimli iken; myc aşırı ekspresyonu tespit edilen DBBHL'ların büyük çoğunluğunda BL'lara benzer şekilde çekirdekte yerleştiği görülmüştür. Ayrıca klasik

BL'dan farklı olarak DBBHL' larda karmaşık kromozomal translokasyonların bulunduğu öne sürülmüştür (43).

Myc disregülasyonu tek başına lenfomaya neden olmamakta, t(8;14) ise sağlıklı bireylerin kan ve kemik iliklerinde oldukça düşük düzeylerde bulunmaktadır. Yani bu genetik değişiklik kendiliğinden lenfomagenezi tetiklememektedir (6).

Pek çok çalışma; double-hit lenfomaları (hem c-myc hem bcl-2 genlerinde değişiklik olan lenfomalar) başlatan asıl olayın İg ağır zinciri (Ig μ) ve bcl-2 değişikliği ile sonuçlanan t(14;18)(q32;q21) translokasyonu olduğu ancak myc değişiklikleri olana kadar subklinik ya da düşük dereceli hastalık olarak kaldığı hipotezine dayanmaktadır. Myc değişikliği sonrasında ise hastalık yüksek dereceli lenfomaya dönüşmektedir (44).

Burkitt lenfoma dışı lenfomalarda, c-myc aşırı ekspresyonu daha agresif fenotipler, düşük yanıt oranları, kısa toplam ve hastalıksız sağkalım süreleri ile negatif bir prognostik faktördür. BL yanında c-myc değişiklikleri DBBHL, folliküler lenfoma, mantle hücreli lenfoma, T-hücreli lenfoma, plazmoblastik lenfoma ve kronik lenfositik lösemide de görülmektedir (45). Burkitt lenfomalı hastalarda santral sinir sistemi (SSS) relapsı bilinen bir risktir ve tedavi rejimine kemoprofilaksi eklenmelidir (ör: intratekal metotreksat). Tüm vakalar arasında SSS relaps sayısı az olsa da Savage ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada R-CHOP ile tedavi edilen DBBHL hastalarında myc değişikliğinin diğer risk faktörlerine göre daha fazla oranda SSS relapsına neden olduğu bulunmuştur. Bu sonuçlar kötü prognoza sahip bu populasyonun SSS profilaksisi içeren BL rejimleriyle tedavi edilmesi gerekli mi sorusunu gündeme getirmektedir. Myc gen değişiklikleri R-CHOP ile kür ihtimali az ve SSS relaps riski yüksek olan küçük bir grubu tanımlamaktadır. DBBHL hastalarında myc değişikliklerini tespit eden klinik, histolojik ya da immünohistokimyasal bir özellik bulunmamaktadır. Tüm bu nedenlerle Savage ve arkadaşları; DBBHL hastalarına myc değişikliklerini ve aşırı ekspresyonunu saptayan floresan in situ hibridizasyon (FISH) ve karyotip analizlerinin yapılması gerektiğini, myc (+) DBBHL grubunun farklı bir alttip olarak kabul edilip BL rejimlerine benzer tedaviler uygulanmasının daha uygun olabileceğini öne sürmüştür (46).

K-ras; k-ras proto-onkogeni ile kodlanan ve normal hücre çoğalması sinyal iletiminde görev alan bir proteindir. Mutasyona uğrayan k-ras güçlü bir onkogen haline gelmektedir. K-ras kendisine guanozin trifosfat (GTP) molekülü bağlıyken aktif ve guanozin difosfat (GDP) molekülü bağlandığında inaktif olan iki halde bulunur. GTP nin GDP molekülü ile yer değiştirmesi guanin nükleotid exchange factors (GEF) proteini ile gerçekleşir. K-ras geninin 12. veya 13. deoksiribonükleik asit (DNA) kodon dizisinde meydana gelen mutasyonlar, proteininin GTP ye bağlı kalma halinin uzamasına sebep olur ve hücre içerisinde normalden fazla oranda hücre çoğalma sinyali üretilmiş olur. Bu durum bazı dokularda (kalın barsak, pankreas ve akciğer başta olmak üzere) diğer gen değişikliklerinin de olduğu şartlarda kanser hücrelerinin oluşmasına yol açmaktadır. Kanser tedavisinde hücre içi sinyal iletiminin k-ras proteini öncesindeki aşamalarını durduran ilaçların kullanılması, mutasyonlu k-ras genini taşıyan ve k-ras aktivasyonu çok güçlü olan hücrelerde yeterli cevabı sağlayamamakta ve bu hastaların klinik olarak bu tür kanser ilaçlarından yararlanmasına engel olmaktadır. Epiteyal growth factor reseptör (EGFR) hücre reseptörünü hedef alan Cetuximab (Erbix) ve Panitumumab (Vectibix) kemoterapi ilaçlarının kullanılmadan önce kanser dokusunda yapılan genetik test ile k-ras geninin mutasyonlu olup olmadığı araştırılmalıdır. Çünkü mutasyonlu k-ras geni saptanan hastalarda yukarıdaki ilaçlar kullanılmasına rağmen yeterli klinik cevap alınamamaktadır (47).

K-ras'ın bu hücre düzeyindeki fonksiyonlarının yanında myc proteinini stabilize ettiği de gösterilmiştir. Böylece myc ve ras çeşitli mekanizmalarla tümör gelişimini uyarmaktadır (48, 49). Yapılan çeşitli çalışmalar myc kaybı ya da inhibisyonunun myc aşırı eksprese eden tümörlerde gerilemeyle sonuçlandığını tespit etmiştir. Son zamanlarda myc geninin; mutant ras bağımlı akciğer tümörlerinin progresyonunda kritik bir rol oynadığı ve myc inhibisyonu ile tümörün gerilediği bildirilmiştir. Ayrıca myc ve ras'ın birlikte hedef alınmasının akciğer kanseri ve lenfomaların tedavisinde faydalı olabileceği öne sürülmüştür. Ancak henüz hastaların tedavisinde myc'in hedeflenmesi başarılamamıştır (50).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Çalışma Protokolü

Çalışma Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Hematoloji Bilim Dalı'nda yapıldı. Çalışma protokolü Erciyes Üniversitesi Senatosunun Etik Kurulu tarafından 08.12.2010 tarih ve 2010/16 no'lu kararı ile incelenerek kabul edildi. Erciyes Üniversitesi Araştırma Projeleri birimi tarafından TSU-11-3675 proje numarası ile kabul edilerek, çalışmadaki tüm finansal giderler (genetik ve patoloji testleri) Araştırma Projeleri birimi tarafından karşılandı. Bu çalışmada Nisan 2004–Eylül 2013 tarihleri arasında hematoloji polikliniğine başvuran, diffüz büyük B hücreli lenfoma (DBBHL) tanısı alan ve takip edilen olguların tıbbi kayıtları retrospektif olarak tarandı. Verileri yeterli olan, patolojik dokularına ulaşılabilen 31 hasta çalışmaya dahil edildi. Lenf nodu örneği yetersiz bulunan 3 hasta çalışmadan çıkarıldı. Kontrol grubu olarak malignite tanısı olmayan, tanısal amaçlı lenf nodu eksizyonu yapılan ve sonuç olarak reaktif ya da benign lenf nodu olarak raporlanan 29 kişi çalışmaya alındı.

Bu çalışmada materyal olarak formalinle fikse edilmiş parafine gömülü (Formalin Fixed Parafin Embedded, FFPE) DBBHL dokuları ve kontrol grubuna ait reaktif lenf nodu doku örnekleri kullanıldı. Hasta verilerine Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi dosya arşivinden, bilgisayar kayıtlarından ve hematoloji poliklinik dosyalarından ulaşıldı. Aşağıdaki parametreler kayıt edildi ve tanı anındaki IPI değerleri hesaplandı.

1. Yaş
2. Cinsiyet
3. Hastalığın evresi
4. Splenomegali
5. Kemik iliği tutulumu
6. Balki durumu (10 cm üzeri var olarak değerlendirildi)
7. Ekstranodal bölge sayısı
8. EKOĞ performans skoru
9. LDH
10. Aldığı kemoterapi
11. Kür sayısı
12. Kemoterapi yanıtı
13. Radyoterapi alıp almaması
14. Otolog kemik iliği nakli olup olmaması

Hastalar Costwolds evreleme sistemine göre evrelendirildi. Klinik evreleme için hastaların hikayeleri ve fizik muayeneleri değerlendirildi. Rutin biyokimyasal testleri istendi ve batın ultrasonu yapıldı. Hastalara evrelendirme için toraks ve batın tomografisi veya Pozitron Emisyon Tomografisi (PET) çekildi. Kemik iliği biyopsisi yapıldı. Hastalardan gece terlemesi, ateş ve 6 ay içinde vücut ağırlığını % 10'undan fazla kilo kaybı olanlar Evre B alt grubu olarak kabul edildi. Tedavi yanıtının değerlendirilmesinde Uluslararası Çalışma Grubunun (IWG) önerileri temel alındı (51) (Tablo 3.1).

Tablo 3.1 Tedavi yanıtının değerlendirmesinde IWG kriterleri (51)

Tam yanıt
Bütün klinik ve radyolojik bulguların, bütün hastalık ile ilişkili yakınmaların kaybolması ve hastalık ile ilişkili biyokimyasal bozuklukların düzelmesi Bütün lenf nodu kitlelerinin normal boyuta gerilemesi Herhangi bir organdaki lenfoma tutulumu olarak yorumlanan makroskopik nodüllerin kaybolması Lenfoma tutulumuna bağlı olarak büyümüş olduğu düşünölen karaciğer, dalak gibi organların normal boyuta gerilemesi Eğer daha önce kemik iliği tutulumu varsa kaybolması
Kanıtlanamamış tam yanıt
Rezidüel lenf bezinin 1.5 cm'den büyük olması ancak başlangıca göre % 75'ten fazla gerilemesi Belirsiz kemik iliği
Kısmi yanıt
En büyük lenf nodunda ya da nodal kitlede % 50'den fazla gerileme Diğer lenf nodlarının, karaciğerin veya dalağın boyutlarında artış olmaması Diğer organlardaki tutulumun saptanabilmesi ama ölçölememesi Karaciğer ve dalaktaki nodüllerin % 50'den fazla gerilemesi Kemik iliği tutulumunun saptanması ama ölçölememesi Başka yeni hastalık bölgesi olmaması
Durağan hastalık
Kısmi yanıt ile ilerleyen hastalık arası durum
İlerleyen hastalık
Dalak veya karaciğer büyüklüğünde % 50'den fazla artış olması Yeni lenf nodu eski gelişmesi veya eski lenf nodlarında % 50'den fazla artış olması Yeni kitlelerin ortaya çıkması veya kitlelerin boyutlarında artış olması

Çalışmaya alınma ölçütleri:

- a. Yaşları 18 ile 85 yaş arasında olan,
- b. Lenf bezi, kemik iliği, gastrointestinal sistem vb. doku biyopsilerinin patolojik incelemesinde DBBHL tanısı almış olan,
- c. Başka bir merkezde DBBHL tanısı almış ise biyopsi materyallerinin Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji ABD tarafından tekrar değerlendirilerek tanıları doğrulanmış olan,
- d. Tedavi ve poliklinik takipleri Hematoloji bölümümüzde yapılan bu hastalar çalışmaya alınmıştır.

Çalışmadan dışlanma ölçütleri:

Başka bir malignite, AIDS veya organ nakli sonrası immün süpresyon sonucu DBBHL tanısı almış olan hastalar çalışma dışı bırakılmıştır.

Hastaların toplam ve hastalıksız sağkalım süreleri tespit edildi. Hayatta olan hastalar 3-6 ay aralıklarla kontrole çağırılarak değerlendirildi.

Dosyalarında yeterli bilgiye ulaşılan ve takiplerine Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Hematoloji polikliniğinde devam eden 28 DBBHL hastasının ve kontrol grubuna alınan 29 kişinin Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı'ndaki parafin bloklarına ulaşıldı. Bloklardan 2 ayrı ependorf tüpüne 3'er kesit alındı. Kesitlerden Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'nda k-ras mutasyonu ve c-myc ekspresyonu analiz edildi.

3.2. K-ras Mutasyon Analizi

Diffüz büyük B hücreli lenfoma tanısı konmuş 28 hastanın ve kontrol grubu olarak alınan 29 kişinin parafin bloklu lenf nodundan alınan kesitlerinden, dokudan DNA izolasyon kiti ile DNA izolasyonu yapıldı. Daha sonra hastaların ve kontrol grubunun DNA örneklerinden k-ras kiti ile kodon 12, 13 ve 61 mutasyonları çalışıldı. Yöntemin prensibi kodon 12, 13 ve 61'i hedefleyen primerler kullanılarak PCR'de çoğaltılan ürünlerin Streptavidin Sepharose High Performance boncuklarıyla immobilize edilmesine dayanmaktadır. Bu örneklerden

tek zincirli DNA hazırlanılarak, uygun sekans primerlerinin DNA üzerine bağlanması sağlanmaktadır. Örnekler daha sonra Pyromark Q24 MDx ile analiz edildi. (QIAGEN, 971460)

3.3. C-myc Gen Ekspresyon Analizi

Diffüz büyük B hücreli lenfoma tanısı konmuş 28 hastanın ve kontrol grubuna alınan 29 kişinin lenf nodundan alınan kesitlerinden elde edilen parafin bloklardan Shadan tipi mikrotonla 4 µm kalınlığında 2 ml'lik ependorf tüplerine 3-5 kesit alındı. Parafin kesitlerden Qiagen miRNeasy **FFPE** kiti kullanılarak RNA izolasyonu yapıldı. Elde edilen RNA'lar spektrofotometrede (NanoDrop ND-1000, NanoDrop Technologies, ABD) 260 nm dalga boyunda ölçülerek mikrolitredeki (µL) mikrogram (µg) değerleri belirlendi. cDNA sentezi için transcriptor high fidelity cDNA synthesis kit (ROCHE) kullanıldı. Elde edilen RNA'lar RT-PCR'da 05081955001 katalog numaralı transcriptor high fidelity cDNA synthesis kit (ROCHE) ile cDNA'ya çevrildi. C-myc geninin mRNA ifade düzeyi, niceleyici Real-Time PCR yöntemi ile Light Cyclor 480 (Roche Diagnostik, Almanya) cihazı kullanılarak araştırıldı. Araştırılan genlerin cDNA'larına özgül olan primer dizileri aşağıda verilmiştir. Amplifikasyonlar 20 µL toplam tepkime hacmi içerisinde; cDNA, mRNA'ya özgü primerler, UPL probu, LightCycler TaqMan Master karışımı (Roche, Almanya) ve distile su kullanılarak gerçekleştirildi. C-myc geni ifade miktarlarını normalize etmek için housekeeping gen olan Beta-Aktin mRNA ifade düzeyi referans olarak alındı. Her bir konsantrasyon için deney iki kez tekrarlandı. Örnekler için hedef gen konsantrasyonları ile referans gen konsantrasyonları Relative Quantification yapılarak Efficiency= 2 metodu ile $2^{-\Delta\Delta C_q}$ metodu uygulandı.

Beta Aktin gen primerleri: GGCCAGGTCATCACCATT

C-myc gen primerleri: TGGCCGAAATGAAAGAGAAG

3.4. İstatistiksel Analiz

Verilerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro-Wilk testi ile değerlendirildi. Gruplar arası karşılaştırmalarda nicel değişkenler için bağımsız iki örneklem T testi ile Mann-Whitney U

testleri, nitel değişkenler için Pearson ki-kare yöntemi ile Fisher kesin kıkare testleri kullanıldı. C-myc'in negatif prognostik etkisini değerlendirmede ROC analizi kullanıldı ve eğri altında kalan alan değeri % 95 güven düzeyi ile birlikte hesaplandı. Ayrıca c-myc için optimum eşik değerini belirlemek için Youden indexi kullanıldı ve bu eşik değere ilişkin duyarlılık ve özgüllük değerleri hesaplandı. Ayrıca, c-myc ve k-ras değerlerinin toplam ve hastalıksız sağkalıma olan etkisini değerlendirmede Kaplan-Meier yöntemi kullanıldı ve Log-rank testi ile karşılaştırmalar yapıldı. Verilerin analizi IBM SPSS Statistics 20.0 (IBM Inc, Chicago, ILL, USA) ile değerlendirildi. $p < 0.05$ anlamlılık düzeyi kabul edildi

4. BULGULAR

Çalışmaya alınan hastaların ortalama yaşı 58 ± 13 ; kontrol grubunun ortalama yaşı 59 ± 9 idi (Tablo 4.1).

Tablo 4.1. Hasta ve kontrol gruplarının yaş ortalamaları

Grup	n	Ortalama	standart sapma	p
Hasta	28	58.28	13.75	0,61
Kontrol	29	59.86	9.31	

Çalışmaya alınan hastaların 13 (% 46,4)'ü erkek; 15 (% 53,6)'i kadındı. Kontrol grubunun 15 (% 51,7)'i erkek; 14 (% 48,3)'ü kadındı (Tablo 4.2).

Hasta ve kontrol grubu arasında yaş ($p=0,61$) ve cinsiyet ($p=0,79$) açısından anlamlı fark yoktu.

Tablo 4.2. Hasta ve kontrol gruplarının cinsiyet oranları

Grup	Erkek n (%)	Kadın n (%)	Toplam n (%)	p
Hasta	13 (% 46.4)	15 (% 53.6)	28 (% 100)	0,79
Kontrol	15 (% 51.7)	14 (% 48.3)	29 (% 100)	
Toplam	28 (% 49.1)	29 (% 51.9)	57 (% 100)	

Hastaların 23 tanesi ilk sıra tedavi olarak R-CHOP; 3 tanesi CHOP; 1 tanesi CVP ve 1 tanesi de ESHAP (etoposid, sisplatin, sitarabin, metilprednizolon) kemoterapisi almıştı. 13'ünde tam yanıt; 9'unda kısmi yanıt gözlenmişti. Hastaların 2'si stabil kalırken 4 kişi tedaviye yanıtızsız idi.

Hastaların tanı anındaki IPI skorları hesaplandı: 3 hastanın skoru: 0; 15 hastanın skoru 1; 4 hastanın skoru 2; 2 hastanın skoru 3; 2 hastanın skoru 4 ve 2 hastanın skoru 5 idi.

Takipte nüks gelişen 4 hastaya otolog kemik iliği nakli (OKİT) yapıldı. 4 hastaya kemoterapi yanında radyoterapi uygulandı. Radyoterapi; planlanan kemoterapi bitiminde konsolidasyon amaçlı verildi.

Çalışma sonlandığında hastaların sağkalımları ile cinsiyet karşılaştırıldığında; kadın hastaların % 80'i hayatta iken, erkek hastalarda bu oran sadece % 23'tü. Aradaki fark anlamlıydı (**p=0,007**) (Tablo 4.3).

Tablo 4.3. Takip sonunda cinsiyet-sağ kalım oranları

Cinsiyet	n	Sağ n (%)	p
Erkek	13	3 (% 23.1)	0,007
Kadın	15	12 (% 80)	
Toplam	28	15 (% 100)	

Bu çalışmaya alınan hastaların ortalama takip süresi 37.75 ay; toplam sağkalım ortalaması ise 50 ay idi. Erkek hastaların ortalama genel sağ kalımı 33 ay iken, kadın hastaların 65 ay idi. Aradaki fark anlamlıydı (**p=0,006**) (Tablo 4.4).

Tablo 4.4. Cinsiyete göre toplam sağkalım süreleri

Genel sağ kalım Cinsiyet	Ortalama ay	Standart sapma	p
Erkek	33.43	6.82	0,006
Kadın	65.86	6.82	
Toplam	50.1	5.79	

Hastaliksız sağkalım açısından bakıldığında hastaların ortalama hastaliksız sağkalım süresi 46 ay idi. Erkek hastaların ortalama hastaliksız sağkalım süresi 23 ay; kadın hastaların ise 64 ay idi. Arada anlamlı fark bulundu (**p=0,003**) (Tablo 4.5).

Tablo 4.5. Cinsiyete göre hastaliksız sağkalım süreleri

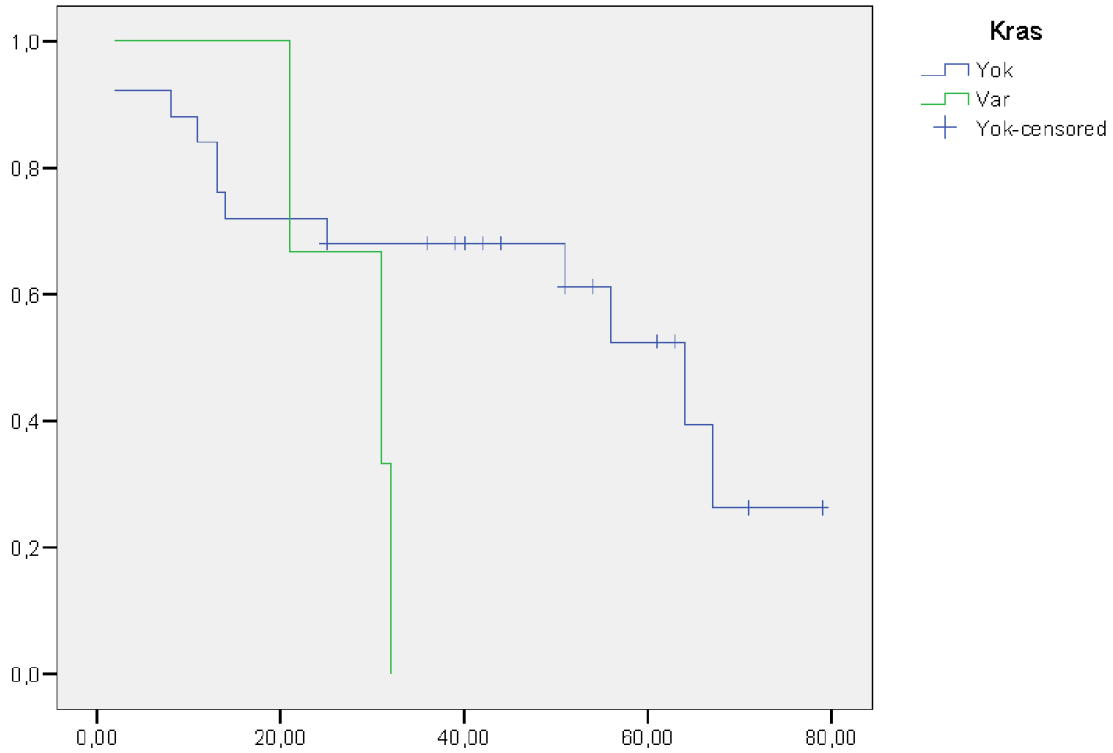
Hastaliksız sağ kalım Cinsiyet	Ortalama ay	Standart sapma	p
Erkek	23.20	6.32	0,003
Kadın	64.65	7.48	
Toplam	46.16	6.66	

28 hastanın 3'ünde (% 10,7) k-ras mutasyonu tespit edildi. Geriye kalan 25 hastada k-ras mutasyonu saptanmadı. Kontrol grubunda mutasyona rastlanmadı.

Çalışmanın sonunda k-ras saptanan 3 hastanın hepsi ölürken, k-ras saptanmayan 25 hastanın 12'si (% 48) öldü.

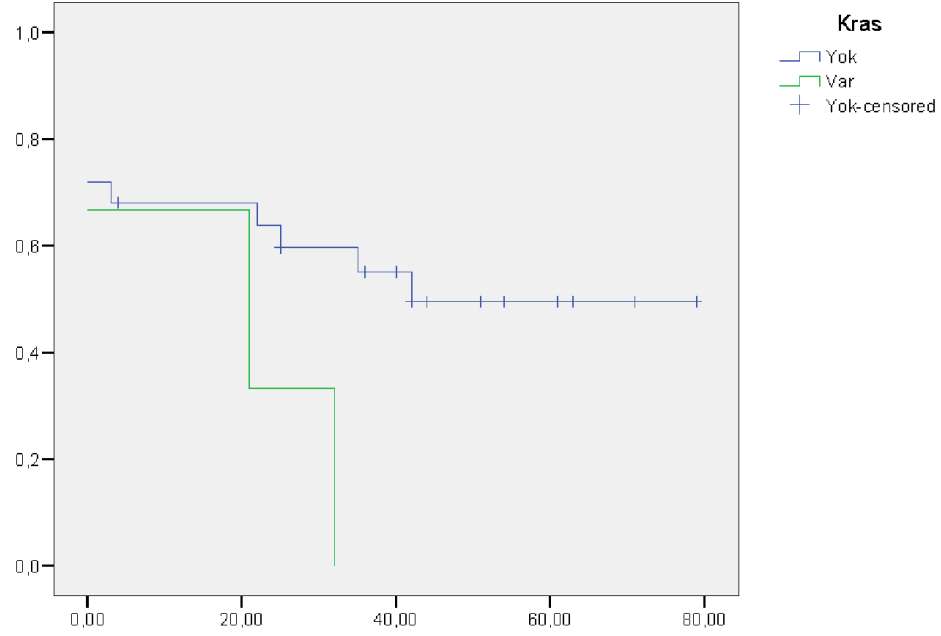
7 no'lu hastada GGT-TGT; 8 nolu hastada GGT-GCT ve 31 no'lu hastada GGC-GAC mutasyonu tespit edildi. Nokta mutasyonlarının hepsi 12. kodonda idi.

K-ras mutasyonu saptananlarda ortalama sağkalım süresi 28 ay iken, mutasyon saptanmayanlarda bu süre 49 ay olarak bulundu. Sağkalım açısından iki grup arasında anlamlı fark yoktu ($p=0,093$) (Şekil 4.1) (Tablo 4.6).



Şekil 4.1. K-ras mutasyonu ve toplam sağ kalım grafiği

K-ras mutasyonu olanlarda ortalama hastalıksız sağkalım süresi 17,6 ay iken mutasyon saptanmayanlarda 45 ay olarak tespit edildi. Hastalıksız sağkalım açısından iki grup arasında anlamlı fark yoktu ($p=0,072$) (Şekil 4.2) (Tablo 4.6).



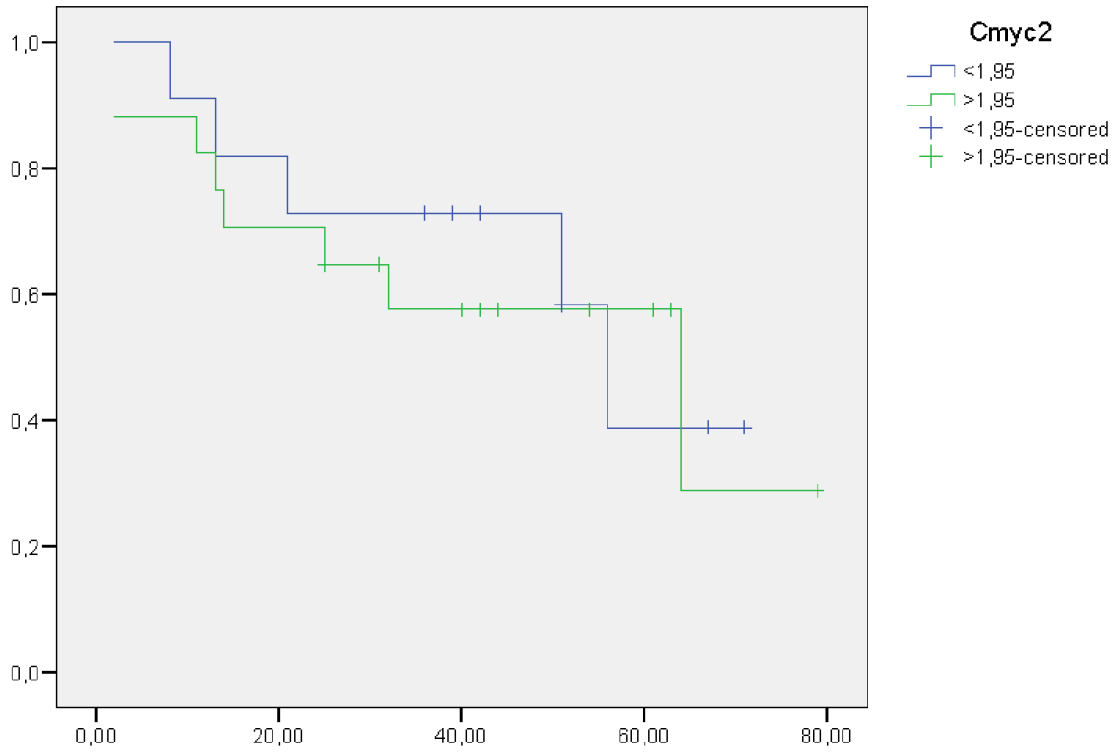
Şekil 4.2. K-ras mutasyonu ve hastalıksız sağ kalım grafiği

Tablo 4.6. K-ras mutasyonu ile toplam ve hastalıksız sağkalım süreleri

			Ortalama Toplam Sağkalım (ay)	Ortalama Hastalıksız Sağkalım (ay)
K- ras	Var	3 (% 10.7)	28	17.66
	Yok	25 (% 89.3)	49.78	45.07
p			0.093	0.072

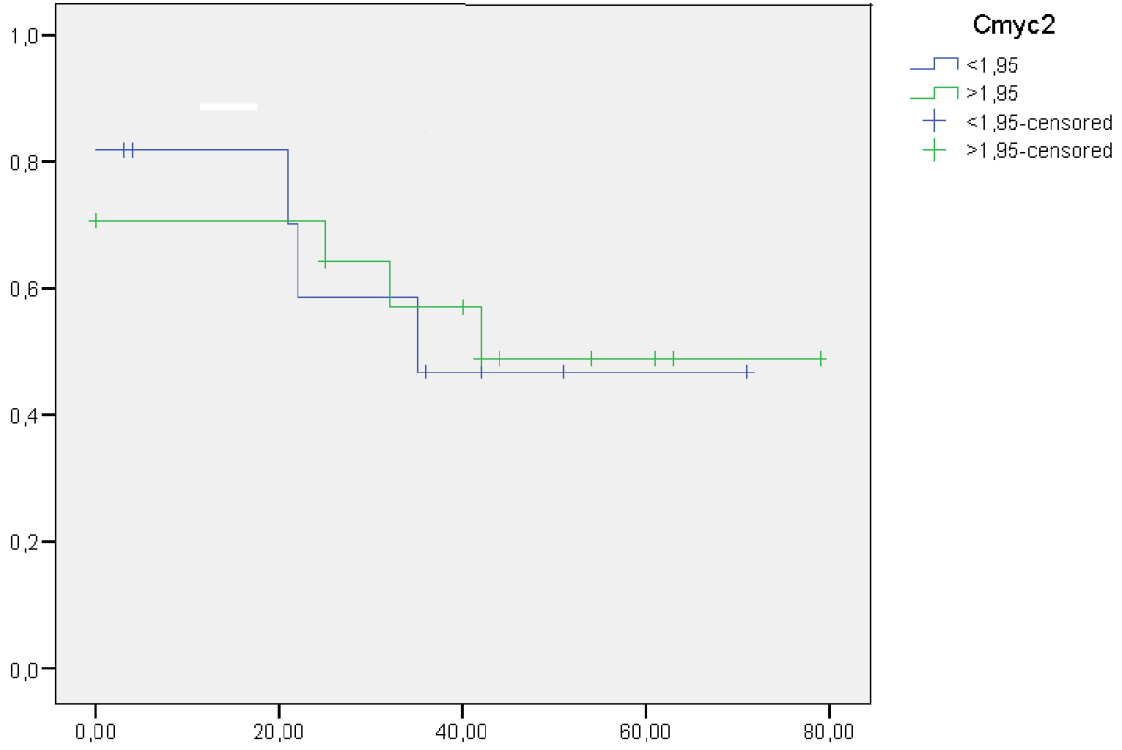
C-myc ekspresyonu hem hasta grubu hem de kontrol grubunda saptandı. İki grubun ekspresyon değerleri arasında anlamlı fark vardı (**p=0,001**). Optimum eşik değer olan 1,95; sınır değer olarak seçildi; bu değerın üzeri ekspresyon kabul edildi.

C-myc aşırı ekspresyonu hastaların 17'sinde (% 61) saptandı. Bu hastaların ortalama sağkalımı 47 aydı. Geriye kalan 11 hastanın ortalama sağkalımı 49 ay olup iki grup arasında anlamlı fark yoktu ($p=0,74$) (Şekil 4.3) (Tablo 4.7).



Şekil 4.3 C-myc aşırı ekspresyonu ve toplam sağkalım grafiği

Hastalıksız sağkalım sürelerine bakıldığında C-myc aşırı ekspresyonu olan hastalarda 45 ay; diğer grupta ise 42 ay olduğu görüldü. Bu açıdan iki grup arasında anlamlı fark yoktu ($p=0,92$) (Şekil 4.4) (Tablo 4.7).



Şekil 4.4 C-myc aşırı ekspresyonu ve hastalıksız sağkalım grafiği

Tablo 4.7 C-myc aşırı ekspresyonu ile toplam ve hastalıksız sağkalım süreleri

		n (%)	Ortalama Toplam Sağkalım (ay)	Ortalama Hastalıksız Sağkalım (ay)
C-myc	<1,95	11 (%39)	49,63	42.31
	>1,95	17 (%61)	47,36	45.93
p			0.74	0.92

Hastaların k-ras varlığına göre ilk sıra kemoterapi sonrası tam remisyona girme durumlarına bakıldı. K-ras pozitif ve negatif grup arasında fark görülmedi (p=0,58).

C-myc aşırı eksprese eden hastalar ile etmeyen hastalar ilk sıra kemoterapi sonrası tam remisyona girme durumuna göre karşılaştırıldığında; aşırı ekspresyon grubunun % 46'sında diğer grubun ise % 53'ünde tam remisyon saptandı. Arada anlamlı fark yoktu ($p=0,24$). Ancak sınır değeri optimum değer olan 1,95 almak yerine duyarlılığı düşürüp özgüllüğü arttırdığımızda ve 2,48 sınır değeri kabul ettiğimizde tam remisyon oranlarında anlamlı değişiklik tespit edildi. C-myc aşırı eksprese eden grupta tam remisyon oranı % 30 iken etmeyen grupta % 69 idi. Aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi ($p=0,02$).

Hem k-ras mutasyonu olup hem de c-myc ekspresyonu sınır değer üzerinde olan sadece 2 hasta vardı. Bu iki hastanın ortalama yaşam süresi 32 ay; geriye kalan hastaların ortalama yaşam süresi ise 50 ay idi. Fark anlamlı değildi ($p=0,82$).

Hastalar IPI skorlarına göre düşük (IPI=0, 1, 2) ve yüksek (IPI=3, 4, 5) riskli grup olmak üzere ikiye ayrıldı. Düşük IPI grubundaki 22 hastanın toplam sağkalım süresi ortalama 51 ay; yüksek IPI grubunun ise ortalama 42 aydı. Bu değerler istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p=0,77$).

Düşük ve yüksek IPI değerine göre ayırdığımız iki grubun hastalıksız sağkalım ortalamaları sırasıyla 48 ay ve 35 aydı. Aradaki fark anlamlı değildi ($p=0,61$).

Hastalar IPI skorlamasındaki sınır değer olan 60 yaşa göre iki gruba ayrıldı. 60 yaş altında 15; 60 yaş üstünde 13 hasta vardı. 60 yaş altındaki hastaların ortalama sağkalım süresi 54 ay; 60 yaş üstünün ise 44 aydı. Aralarında anlamlı fark bulunmadı ($p=0,51$). Hastalıksız sağkalım oranları da benzerdi. 60 yaş altında 49 ay; 60 yaş üstünde ise 39 ay olup arada istatistiksel fark yoktu ($p=0,58$).

Hasta grubu LDH değerleri açısından da değerlendirildi. Çalışılan laboratuvarın sınır değeri olan 280'e göre hastalar iki gruba ayrıldı. Tanı anında hastaların 16'sının LDH değeri 280'in altındayken; 12'sinin 280 üzerindeydi. Toplam sağkalım açısından bakıldığında LDH değeri düşük ve yüksek olan grupların ortalaması sırasıyla 53 ay ve 41 ay idi ($p=0,51$). Hastalıksız sağkalım ortalamaları ise sırasıyla 48 ay ve 37 aydı ($p=0,70$). Aradaki farklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.

Hastalar evrelerine göre erken evre (evre 1, 2) ve ileri evre (evre 3, 4) olarak ikiye ayrıldı. Hastaların % 50 si erken; % 50 si ise ileri evredeydi. Erken evredeki hastaların toplam sağkalım süresi ortalama 52 ay; ileri evredeki hastaların ise 45 ay idi ($p=0,84$). Hastalıklı sağkalım sürelerinin ise sırasıyla 50 ay ve 37 ay olduğu görüldü ($p=0,57$). Aralarında anlamlı fark bulunamadı.

5. TARTIŞMA

Hodgkin dışı lenfomaların birçok alt türü olmakla beraber en sık görülen tipleri; diffüz büyük B hücreli lenfoma (DBBHL), foliküler lenfoma (FL) ve mantle hücreli lenfoma'dır. DBBHL, % 30 görülme sıklığıyla toplumda en sık rastlanan HDL alt tipidir (15). DBBHL heterojen bir alt grup olup bu durum tanı ve tedavi süreçlerini zorlaştırmakta, farklı tedavi yaklaşım gereksinimlerini de beraberinde getirmektedir.

CHOP kemoterapisi uzun yıllardır bu hastalığın başlıca tedavisidir. Ancak tüm hastalar için yeterli ve istenilen sonuç bu tedaviyle de elde edilememektedir. CHOP kemoterapisi Rituksimab (anti CD20 monoklonal antikoru) ilavesiyle daha verimli sonuçlar vermektedir. Coiffier ve ark.nın 2002 yılında yaptığı çalışmada, CHOP tedavisine Rituksimab ilavesinin (R-CHOP) yeni DBBHL tanısı konmuş ve sekiz kür bu tedaviyi almış hastalar üzerinde tam yanıt oranını arttırdığı ve tedavi başarısızlığı oranını düşürdüğü belirtilmiştir (52). Ancak hastalığın heterojen yapısı sebebiyle, DBBHL tanı ve tedavisine yönelik bilimsel çalışmalar yoğun olarak devam etmektedir.

DBBHL çocuklar dahil her yaş grubu ve her iki cinsiyette görülebilmekte; erkeklerde kadınlara nazaran daha sık tespit edilmektedir (27). DBBHL'lerde ortanca yaş altıncı ve yedinci dekat olup; BL ve primer mediastinel lenfoma gibi agresif alt tipler daha erken yaşlarda görülmektedir (31).

Türkiye’de 18 yıllık takip sonucunda 470 HDL hastasının değerlendirildiği bir çalışmada hastaların % 62,2’sinin erkek; % 37,8’inin kadın olduğu bulunmuştur. Hastaların yaşları 16 ile 85 arasında değişmekte olup ve ortanca değeri 44 olarak saptanmıştır (53). Yaptığımız çalışmada hastaların ortalama yaşı 58 ± 13 idi. Erkek ve kadın oranları ise sırasıyla % 46,4 ve % 53,6 idi.

Kronik lenfositik lösemi gibi bazı hematolojik malignitelerde erkek cinsiyetin kötü prognostik faktörlerden biri olduğu uzun yıllardır bilinmektedir (54). Tomita ve ark. nın DBBHL hastalarında prognostik faktörleri değerlendirdiği çalışmada erkek cinsiyetin toplam sağkalım üzerine olumsuz etkisinden bahsedilmiştir (55). Biz de çalışmamızda DBBHL hastalarında cinsiyetin prognoza etkisi olup olmadığını değerlendirdik. Sonuçta erkeklerde hem toplam hem de hastalıksız sağkalım süreleri kadınlara göre anlamlı ölçüde düşük bulundu ($p=0.006$) ($p=0.003$). Bu durum erkek cinsiyet olan hastalarda eğer performans durumları uygun ise daha agresif tedaviler tercih edelim mi sorusunu akla getirmektedir. Bu konuyla ilgili prospektif randomize çalışmalara ihtiyaç vardır.

Günümüzde tanı ve tedavideki tüm yeni gelişmelere rağmen halen DBBHL hastalarının % 40’ı kısa süre içinde relapsla karşımıza gelmekte ve hastalığa bağlı nedenlerle ölmektedirler (56). Hastalar yüksek etkinliğe sahip kemoterapi protokolleriyle tedavi edileceği için; primer tedavi öncesi başarısızlığı önlemek adına hastaların risk durumlarını belirlemek hayati öneme sahiptir (57).

Hemen tüm kanser tiplerinde olduğu gibi heterojen bir yapıya sahip olan DBBHL hastalığında da teşhis ve tedavide yönlendirici moleküler belirteçlere büyük ihtiyaç duyulmaktadır. Bu hastalık ile ilgili gen ifade profillemesi çalışmaları (Alizadeh ve ark. 2000, Rosenwald ve ark. 2002, Shipp ve ark. 2002) DBBHL’nin tedavisinin yönlendirilmesinde etkin olabilecek, IPI’dan ve Ann Arbor tümör evrelendirme sistemi gibi kriterlerden bağımsız olarak kullanılabilecek yeni moleküler belirteçlerin belirlenmesi gerektiğini ortaya koymuştur (58-60).

Gen ekspresyon profili çalışmaları DBBHL’yi gen ekspresyonundaki benzerliklere göre alt gruplara ayırmıştır. Bu çalışmalardan birinde Alizadeh ve arkadaşları gen ekspresyon

paternlerine göre DBBHL'yi germinal merkez (GM) B hücreli ve aktive B (AB) hücreli olarak iki alt gruba ayırmışlardır. Bu ayırım aynı zamanda hücre orijinlerini de yansıtmaktadır (germinal merkez / post germinal merkez). Çalışmada GM B hücreli DBBHL'nin 5 yıllık sağkalım oranının diğer alt gruba göre üstün olduğu görülmüştür (sırasıyla % 76 ve % 16) (52). GM profili gösteren olgular, AB profili gösterenlere göre daha iyi prognoza sahiptir (61).

İmmunglobulin gen değişikliklerinin ve bu genlere uygun moleküler problemlerin keşfi ile B ve T hücre serilerindeki bozuklukların; monoklonalitenin dolayısı ile de az sayıdaki neoplastik hücrelerin tespiti kolay hale gelmiştir. Yakın zamana kadar zaman alan ve karmaşık southern blot analizleri bu amaçla kullanılmaktaydı. Ancak bu teknik oldukça zaman alan, taze/donmuş dokudan ya da hücre süspansiyonundan fazla miktarda DNA eldesi yapılması gereken bir yöntemdir. Polimeraz zincir reaksiyon (PCR) tekniklerinin kullanıma girmesi ile bu olumsuzluklar aşılmıştır. PCR ile hemen her tür klinik örnekten hızlı klonal analizlerle antijen reseptör genler elde edilmektedir (62).

Tsang ve arkadaşlarının primer mediastinal B hücreli lenfomaları üzerinde yaptığı çalışmada c-myc gen mutasyonlarının PCR yöntemiyle ekzon 1'in 3' ucunda bulunduğu tespit edilmiştir. Bu mutasyonlar southern blot analizinde ortaya çıkmamış ancak PCR ile hastaların % 19'unda saptanmıştır (63).

Yapılan çalışmaların çoğunda dokulardaki c-myc ekspresyon düzeylerine FISH yöntemiyle bakılmış; ardından patoloğlar ekspresyon oranlarını yüzde olarak belirtmişlerdir. Aşırı ekspresyon sınırının kaç olacağı ile ilgili henüz standart bir değer bulunmamaktadır. Bazı çalışmalar hasta grubunun median değerini sınır kabul ederken bazı çalışmalar % 50-60 üzerinde boyanmayı aşırı ekspresyon kabul etmiştir ancak bu sonuçlar subjektiftir.

Yaptığımız çalışmada FISH'den çok daha hassas olan ve insan kaynaklı hataları önleyen gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyon (real-time PCR) yöntemi kullanıldı. Sınır değer olarak hasta ve kontrol grubunun istatistiksel farkını ortaya koyan optimal sınır değeri kabul edildi ve prognoza etkisi araştırıldı. Ayrıca duyarlılık düşürülüp özgüllük artırılarak farklı sınır değerlerle de analizler tekrarlandı.

Myc ve lenfoma ilişkisini araştıran yayınlar, Adams ve ark.nın 1985 yılında yaptığı çalışmayı örnek göstermektedir. Bu çalışmada BL'deki translokasyon modeli oluşturulmuş ve kontrollü olarak myc ekprese eden transgenik farelerde 4-6 haftalık bir bekleme süresi sonunda pre-B ve B hücreli lenfomalar gelişmiştir (37, 64).

Myc aktivitesinin lenfositlerdeki tüm gen ekspresyonları üzerine etkisi yoğun bir biçimde çalışılmıştır (65-67). Smith ve ark. nın myc ekprese eden transgenik farelerde yaptığı çalışmada yüksek ekspresyon düzeylerinin T hücreli lenfomalarla; düşük düzeylerin ise monositik tümörlerle ilişkili olduğu gösterilmiştir (37).

Dave ve ark. c-myc ekspresyonunun BL için karakteristik olduğunu belirtse de Schrader ve ark. DBBHL altgruplarında da olabileceğini ve prognostik önemi olduğunu bildirmişlerdir. Schrader'in çalışmasında yüksek c-myc indeksinin erken ölüm oranlarını 3.4 kat arttırdığı bulunmuştur (68,69).

Barrans ve ark. nın yaptığı çalışmada daha önce tedavi edilmemiş ve folliküler lenfoma kanıtı olmayan 303 DBBHL hastasında FISH tekniği ile myc, bcl-6, t(14;18)/bcl-2 değişikliği araştırılmıştır. 245 biyopsi materyalinin 35'inde (% 14) myc değişikliği görülmüştür (70,71).

Magić ve ark.nın çalışmasında B hücreli HDL hastalarının yaklaşık üçte birinde (% 29) PCR yöntemiyle belirgin c-myc gen aşırı ekspresyonu tespit edilmiştir (62).

Green ve ark. nın çalışmasında 205 DBBHL hastasının 35'inde (% 17) myc aşırı ekspresyonu tespit edilmiştir. Ayrıca myc proteininin hücre çekirdeğinde yerleşiminin; myc gen değişikliklerini tahmin etmede oldukça yüksek özgüllük ve duyarlılığa sahip olduğuna değinilmiştir (72).

Gualco ve arkadaşlarının pediatrik nodal DBBHL hastalarında yaptığı çalışmada FISH yöntemi ile 16 hastanın 6'sında (% 37) c-myc translokasyonu saptanmıştır. Literatüre bakıldığında pediatrik nodal DBBHL larda c-myc translokasyonu % 35; erişkinlerde % 5 oranında görülmektedir denmiştir (73).

Bizim çalışmamızda c-myc aşırı ekspresyonu hastaların % 61'inde tespit edildi. C-myc pozitifliğinin yukarıdaki çalışmalardan daha yüksek oranda bulunması RT-PCR tekniğinin FISH yöntemiyle farklı duyarlılıkta oluşuna bağlandı. Gelecekte planlanacak olan çalışmalarda eş zamanlı FISH ve PCR teknikleriyle analizler yapılmasının bu farklılığı daha net ortaya koyacağı düşünülmektedir.

Klapper ve ark. nın yaptığı çalışmada FISH yöntemiyle dokuları değerlendirilen 177 DBBHL hastasının 14'ünde (% 7.9) myc değişikliği görülmüştür. Myc (+) hastaların sağkalımları myc (-) gruba göre belirgin olarak düşükken ($p=0,047$) hastalıksız sağkalım arasında belirgin fark bulunmamıştır ($p=0,062$) (57).

Savage ve arkadaşlarının R-CHOP tedavisi alan hastalarda yaptığı çalışmada; 135 DBBHL hastasının 12'sinde (% 8.8) myc değişikliği saptanmış; myc ilişkili DBBHL ile diğer tüm DBBHL tipleri karşılaştırıldığında hem 5 yıllık hastalıksız sağkalım (% 31 ve % 66, $p=0,006$) hem de toplam sağkalım (% 33 ve % 72, $p=0,016$) oranlarının myc (+) grupta anlamlı derecede düşük olduğu bulunmuştur. Ayrıca yaptıkları analizde IPI skoru, AB hücre fenotipi, ektranodal ve kemik iliği tutulumunun da hastalıksız sağkalıma olumsuz etkisi tespit edilmiştir. SSS relapsı sonlanım noktası kabul edildiğinde; myc değişikliği bulunmasının R-CHOP'la tedavi edilen hastalarda SSS relapsı için prediktif olduğu ifade edilmiştir (74).

Nitsu ve arkadaşlarının anormal karyotipli 252 DBBHL hastasında yaptığı çalışmada hastalar 8q24 translokasyonu olanlar ve diğer kromozomal anormalliklere sahip olanlar olarak ikiye ayrılmıştır. 8q24 translokasyonları olan 28 hasta diğer gruba göre belirgin olarak kötü prognoz göstermiştir. Aynı çalışmada sadece 8q24 translokasyonu olan 28 DBBHL hastası kendi içinde değerlendirildiğinde; ilave $t(14;18)(q32;q21)$ saptanan 8 hastanın 5 yıllık sağkalım oranı % 0 iken saptanmayan 20 hastada % 74.9 bulunmuş ($p<0.0001$); 5 yıllık hastalıksız sağkalım oranları ise sırasıyla % 0 ve % 46.5 olup istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur ($p<0.0001$). Multivaryant analizlerde de 8q24'ün sağkalımla kuvvetli ilişkisi tespit edilmiştir. 8q24 translokasyonu tespit edilen DBBHL hastalarının tedavisinde daha agresif kemoterapiler ile Rituksimab kombinasyonu etkinliğini araştıran çalışmalara ihtiyaç vardır denilmiştir (75).

Le Gouill ve ark. da Nitsu çalışmasını destekler şekilde 8q24 translokasyonu ile beraber t(14;18) içeren DBBHL hastalarının germinal merkez profiline sahip olduğu ve daha kötü prognozla gittiğini göstermiştir (76).

Akasaka ve arkadaşları inverse PCR yöntemiyle c-myc translokasyonu çalışmışlar; c-myc (+) DBBHL grubunda (n=12) 2 yıllık sağ kalımı % 37,2 bulurken c-myc (-) DBBHL grubunda (n=191) % 62,6 bulmuşlardır. C-myc (+) grup belirgin olarak kötü prognoz göstermiştir (p=0,04). Ancak 5 yıllık sağkalımlar arasında belirgin fark saptanmamıştır (77).

Au ve arkadaşları 8q24 translokasyon grubu ile diğer kromozomal anormalliklere sahip grubu karşılaştırmışlar ve 8q24 translokasyon grubunun daha kötü prognoza sahip olduğunu rapor etmişlerdir (p=0,042) (78).

Hummel ve ark. nın 2006'da yaptığı çalışmada myc translokasyonlarını taşıyan DBBHL hastalarının daha agresif klinik gösterdiği ve translokasyon olmayan hastalara göre 5 yıllık sağkalım oranının düşük olduğu bulunmuştur (37, 79).

Poirel ve arkadaşlarının pediatrik yaş grubundaki DBBHL hastalarında yaptıkları çalışmada; erişkinlere göre daha iyi seyretmesine rağmen 8q24 varlığının (olguların yaklaşık üçte biri) hastalısız sağkalımı 6 kat azalttığı görülmüştür (45, 80).

Myc ve bcl-2 değişikliklerini birlikte içeren lenfomalar double-hit lenfomalar (DHL) olarak adlandırılmaktadır. Bu grup kötü prognozlu olup kemoterapi almasına rağmen hastaların çoğunun 1 yıl içinde öldüğü belirtilmektedir. Ekstranodal tutulum, kemoterapiye geçici cevap, tekrarlayan relapslar, agresif hastalık ve sık SSS nüksü bu grubun özelliklerindendir (81). Fenotipik olarak DHL'ler genellikle germinal merkez fenotipi gösterirken; hemen her zaman bcl-2 eksprese eder ve KI-67 oranı % 90 civarındadır (82).

Green ve ark.nın çalışmasında DBBHL hastalarında myc kırıklarının toplam sağkalımı olumsuz etkilediği; hastalısız sağkalıma ise etkisinin bulunmadığı sonucuna ulaşılmıştır. Ancak hastaların % 52'sinde myc yanında bcl-2 ekspresyonu da bulunmaktaymış. Bu DHL

özelliği gösteren hastalar dışlanıp analiz tekrarlandığında myc'in toplam ya da hastalıksız sağkalıma etkisi bulunmadığı görülmüştür (56).

Johnson ve ark.nın R-CHOP'la tedavi edilen DBBHL hastalarında yaptığı iki bağımsız kohort çalışmasında; sağkalım ile myc ve bcl-2 protein varlığı arasındaki korelasyon araştırılmıştır. Hastaların yaklaşık üçte birinde myc protein ekspresyonu görülmüş; myc translokasyonu ve myc aşırı ekspresyonu ise sadece % 11 oranında bulunmuştur. Univaryant analizlerde myc protein ekspresyonu ve translokasyonunun tek başına sağkalıma etkisi olmadığı görülmüştür. Myc translokasyon varlığı, yüksek mRNA düzeyi ve protein ekspresyonunun ancak bcl-2 proteini varlığında sağkalım ve hastalıksız sağkalıma etki ettiği tespit edilmiştir (83). Bu çalışmada dikkat çeken bir nokta da myc translokasyonunun her zaman myc protein ekspresyonuna eşlik etmemesidir. Yani translokasyon olmadan da protein ekspresyonu olabilmekte; bu da farklı yolların protein sentezi/aşırı ekspresyonunu uyarabileceğini düşündürmektedir .

Bizim çalışmamızda görüldüğü gibi normal popülasyonda myc protein sentezi gerçekleşmekte ancak bu seviyeler hasta grubundan anlamlı derecede düşük olmaktadır (**p=0,001**). Kritik sınır değerlerin tespit edilmesi ve standart hale gelmesi için yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

Nitsu çalışmasında ayrıca 8q24 translokasyonu bulunan DBBHL ve BL hastalarının toplam ve hastalıksız sağkalımları karşılaştırılmış; arada anlamlı fark bulunamamış. 8q24 translokasyonu olan B hücreli lenfomaların bu iki hastalıktan bağımsız kötü prognozlu bir grup olabileceği ileri sürülmüştür. DBBHL hastalarının tam remisyona girme oranları ise 8q24 translokasyon grubunda % 67 iken diğer grupta % 83 bulunmuştur ($p=0,02$) (75). Benzer şekilde bizim çalışmamızda da c-myc aşırı ekspresyonu olan hasta grubunun tam remisyona girme oranları aşırı ekspresyon olmayan gruba göre belirgin olarak düşüktü (**p=0,02**) (cut-off =2.48).

Myc aşırı ekspresyonu mantle hücreli lenfomalarda (MHL) % 5-40 oranında görülmektedir. Oberley ve ark.nın yaptığı çalışmada yüksek myc ekspresyonunun MHL'larda tek başına kötü prognoz ve KI-67 proliferasyon indeksi ile ilişkili olduğu bulunmuştur. Ayrıca sınır

değerlerin yüksek tutulmasının prediktif değeri arttıracakı öne sürülmüştür (84). Bizim çalışmamızda da sınır değeri yükseltildiğinde c-myc aşırı eksprese eden grubun tam remisyona girme oranlarının belirgin ölçüde düşük olduğu tespit edildi ($p=0,02$).

Offit ve ark.nın çalışması (8;14) translokasyonu olan HDL hastaları ile diğer karyotip anormalliklere sahip HDL hastalarının sağkalımları arasında anlamlı fark olmadığını ortaya koymuştur (75, 85).

Kramer ve ark. nın çalışmasında myc bcl-2 gibi belirteçlerin prognostik öneminin olmadığından bahsedilmiştir (74, 86).

Copie-Bergman ve ark. nın çalışmasında R-CHOP ile tedavi edilen 119 DBBHL hastasının dokularında FISH yöntemiyle bcl-2, bcl-6 ve c-myc kırılmaları araştırılmıştır. Ayrıca immünohistokimyasal yöntemlerle de prognoza etki edebilecek belirteçlerin düzeyleri ölçülmüş ancak IPI skorundan bağımsız olarak hiçbir parametrenin sağkalıma etkisi bulunamamıştır (87).

Bizim çalışmamızda c-myc aşırı ekspresyonunun toplam ve hastalıksız sağkalıma etkisi bulunamadı. Bu sonuç; hasta sayısının az oluşuna bağlandı. Ayrıca son yıllarda DHL'ların önemi anlaşılmış ve kötü prognozla gittiği tespit edilmiştir. Çalışmamızda bcl-2 değişikliğinin bakılamamış olması DHL grubunu gözden kaçırmamıza sebep olmuş olabilir. Ayrıca bu çalışmada ortalama takip süresi 37 aydı. Hasta verilerinin toplanması sona erdiğinde halen remisyonda olan hasta sayısı 13 idi. Hastaların takip süreleri 5 yıla tamamlanırsa c-myc'in sağkalıma etkisi bulunabileceği düşünülmektedir. Geniş hasta gruplarıyla ve Türk toplumu için standardize edilen sınır değerlerle büyük ölçekli çalışmalar yapılması literatüre katkı sağlayacaktır.

Magić ve ark. nın çalışmasında k-ras nokta mutasyonu 31 B hücreli HDL vakasının 2'sinde (% 6.45) tespit edilirken; h-ras nokta mutasyonu yalnızca 1 vakada tespit edilmiştir (% 3.23). Diğer hasta ve sağlıklı kontrollerde mutasyona rastlanmamıştır (62).

Tsang ve ark.nın 16 primer mediastinal B hücreli lenfoma hastasında yaptığı çalışmada h-, k-, ve n-ras mutasyonu taranmış (kodon 12, 13, 61); ancak herhangi bir mutasyon bulunamamıştır (63).

Bizim çalışmamızda 28 DBBHL hastasının 3'ünde (% 10.7) k-ras mutasyonu saptanırken kontrol grubunda herhangi bir mutasyona rastlanmadı. K-ras varlığının toplam ve hastalıksız sağkalıma etkisi istatistiksel olarak bulunamadı. Ancak rakamsal olarak fark oldukça belirgindi. Daha büyük hasta gruplarıyla çalışmaları yapılmasının literatüre katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

Tran ve ark.nın yaptığı çalışma; gelecekte hedefe yönelik tedavilerin tümörün gerilemesiyle sonuçlanabileceğini göstermektedir. Bu çalışmada myc ve k-ras'ın tümörögenezdeki işbirliği ve bu onkogenlerin inaktivasyonunun tümör gerilemesi ile sonuçlanmasının doku tiplerine bağlı olduğu bulunmuştur. Tümörögenezin başlatılması ve devamında myc ve k-ras onkogenlerinin nasıl işbirliği yaptıklarını incelemek için, çift koşullu transgenik akciğer adenokarsinomu ve lenfoma tümör modeli oluşturulmuştur. Myc, k-ras veya myc/k-ras kaynaklı lenfomalar; onkogenlerin teker teker ya da birlikte inaktive edildiği durumlarda sürekli gerileme sergilemiştir. Akciğer kanserinde ise durum farklı bulunmuştur. Myc kaynaklı akciğer tümörü onkogen bağımlı değilken; k-ras bağımlı akciğer kanseri k-ras inaktivasyonu sonrası tamamen gerilemiştir. Akciğer kanseri tedavisinde k-ras yolağının daha önemli bir hedef olduğu öne sürülmüştür. Yine aynı çalışmada indüklenen lenfomalarda myc'in k-ras'a göre daha potent bir onkogen olduğu; hastalık gelişene kadar geçen ortalama latent sürenin sırasıyla 13 hafta ve >100 hafta olduğu görülmüştür. Ancak bu iki onkogenin lenfomadaki işbirliğinin akciğer kanseri oluşumunda görülmediği bildirilmiştir. Sonuçta myc ve k-ras birlikte inaktive edildiğinde hem lenfomalarda hem de akciğer kanserinde tam gerileme tespit edilmiştir. Tedavide tek onkogenin hedef alınması kanser tedavisinde her vakada başarılı olamadığına değinilmiştir. Önemli yayınlar deneysel myc aşırı ekspresyonuna bağlı oluşan ancak sonradan k-ras mutasyonu gelişen meme adenokanserlerinin; myc'in inaktivasyonu sonrası sürekli gerileme gösteremediğini tespit etmiştir. Bulunan sonuçlar eş zamanlı myc ve mutant k-ras inaktivasyonunun tümör gerilemesinde etkili olacağı yönündedir (48).

Moleküler belirteçler; tanı anında riskin belirlenmesi ve doğru hastaya doğru tedavinin verilebilmesi için büyük öneme sahiptir. Bu konuda gelecekte yapılacak randomize kontrollü çalışmalara ihtiyaç vardır.

6. SONUÇLAR

1. Yaş ve cinsiyet oranları açısından kontrol grubu ile hasta grubu arasında fark bulunmadı.
2. DBBHL hastalarında erkek cinsiyetin toplam ve hastalıksız sağkalım açısından olumsuz bir prognostik faktör olduğu tespit edildi.
3. K-ras mutasyonu hastaların % 10.7'sinde tespit edildi. Kontrol grubunda mutasyona rastlanmadı.
4. K-ras mutasyonu olan hastaların toplam ve hastalıksız sağkalım süreleri, mutasyon olmayan gruba göre rakamsal olarak düşük bulundu ancak istatistiksel açıdan bu fark anlamlı değildi.
5. C-myc ekspresyonu hem kontrol grubunda hem de hasta grubunda saptandı. Ancak iki grubun ekspresyon dereceleri arasında anlamlı fark vardı.
6. C-myc aşırı ekspresyonu hastaların % 61'inde tespit edildi. Bu değer literatüre göre daha yüksek idi.
7. C-myc aşırı ekspresyonunun toplam ve hastalıksız sağkalıma etkisi saptanmadı.
8. C-myc aşırı ekspresyonunun ilk sıra kemoterapi sonrası tam remisyona girme oranlarını düşürdüğü bulundu.

9. IPI skorunun, yaşı, LDH düzeyinin, evrenin toplam ve hastalıksız sağkalıma etkisi bulunmadı.
10. Pek çok yeni alt tipi belirlenen DBBHL hastalığında standart tedaviler yetersiz kalmaktadır. Riskli hasta gruplarının tanı anında belirlenmesi ve yoğun tedavi protokollerinin tercih edilmesi için mevcut skorlama sistemlerinden bağımsız olarak mortaliteyi belirleyecek moleküler belirteçlere ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

1. Armitage JO, Weisenburger DD. New approach to classifying non-Hodgkin's lymphomas: clinical features of the major histologic subtypes. Non-Hodgkin's Lymphoma Classification Project. J Clin Oncol. 1998; 16: 2780-95.
2. Hasenclever D, Diehl V. A prognostic score for advanced Hodgkin's disease. International Prognostic Factors Project on Advanced Hodgkin's Disease. N Engl J Med. 1998; 339: 1506-14.
3. Coiffier B. Diffuse large cell lymphoma. Curr Opin Oncol. 2001; 13: 325-34.
4. Hoppe RT. Hodgkin's disease: complications of therapy and excess mortality. Ann Oncol. 1997;8 Suppl 1: 115-8.
5. Corominas M, Perucho M, Newcomb EW, et al. Differential expression of the normal and mutated K-ras alleles in chemically induced thymic lymphomas. Cancer Res. 1991; 51: 5129-33.
6. Ott G, Rosenwald A, Campo E. Understanding MYC-driven aggressive B-cell lymphomas: pathogenesis and classification. Hematology Am Soc Hematol Educ Program. 2013; 2013: 575-83.
7. Weisenburger DD. Pathological classification of non-Hodgkin's lymphoma for epidemiological studies. Cancer Res. 1992; 52: 5456s-5462s; discussion 5462s-5464s.
8. Hodgkin. On some Morbid Appearances of the Absorbent Glands and Spleen. Med Chir Trans. 1832; 17: 68-114.
9. Bouroncle BA. Sternberg-Reed cells in the peripheral blood of patients with Hodgkin's disease. Blood. 1966; 27: 544-56.
10. Ferlay J, Bray F, Pisani P, et al. GLOBOCAN 2002: Cancer Incidence Mortality and Prevalence Worldwide. IARC Cancer Base No. 5, version2.0, Lyon (France): IARC Press, 2004

11. Chang ET, Smedby KE, Hjalgrim H, et al. Family history of hematopoietic malignancy and risk of lymphoma. *J Natl Cancer Inst.* 2005; 97: 1466-74.
12. Stein RS, Morgan DS. Hodgkin Disease. In: Greer JP, Foester J, Lukens J, Radgers GM, Paraskeuas F, Glader B, (eds). *Wintrobe's Clinical Hematology*. 12th ed. Philadelphia: Williams&Wilkins. 2009. p.2311–2341.
13. Rosen PJ, Lavey RS, Haskell CM. Hodgkin's Disease In: Haskell CM (ed). *Cancer treatment*. 4th ed. Philadelphia. W.B. Saunder Company. 1995; 951-979.
14. Fisher SG, Fisher RI. The epidemiology of non-Hodgkin's lymphoma. *Oncogene*. 2004; 23: 6524-34.
15. Ruacan Ş. THD, WHO Sınıflamasına Genel Bakış Epidemiyoloji ve Türkiye Dökümü. *Klinisyen Patolog Ortak Lenfoma Kursu* 2004; Mart: 14-17.
16. Yamaç K. Hodgkin dışı lenfoma. İçinde İliçin G, Biberoğlu K, Süleymanlar G, Ünal S (editörler) *İç Hastalıkları*. Ankara: Güneş Kitabevi, 2005:1913-1918
17. Minnicelli C, Barros MH, Klumb CE, et al. Relationship of Epstein-Barr virus and interleukin 10 promoter polymorphisms with the risk and clinical outcome of childhood Burkitt lymphoma. *PLoS One*. 2012;7: e46005.
18. Müller AM, Ihorst G, Mertelsmann R, et al. Epidemiology of non-Hodgkin's lymphoma (NHL): trends, geographic distribution, and etiology. *Ann Hematol*. 2005 Jan;84: 1-12.
19. Gisbert JP, García-Buey L, Arranz R, et al. The prevalence of hepatitis C virus infection in patients with non-Hodgkin's lymphoma. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2004; 16: 135-8.
20. Campo E, Swerdlow SH, Harris NL, et al. The 2008 WHO classification of lymphoid neoplasms and beyond: evolving concepts and practical applications. *Blood*. 2011; 117: 5019-32.

21. Chan JK. The new World Health Organization classification of lymphomas: the past, the present and the future. *Hematol Oncol.* 2001; 19: 129-50.
22. Provan D, Singer CRJ, Baglin T, et al. *Oxford Handbook of Clinical Haematology: Chapter 5: Hodgkin Lymphoma* (3. Ed) Oxford University Press Inc. New York, 2009; pp206-220
23. Ansell SM, Armitage J. Non-Hodgkin lymphoma: diagnosis and treatment. *Mayo Clin Proc.* 2005; 80: 1087-97.
24. Møller MB, Pedersen NT, Christensen BE. Diffuse large B-cell lymphoma: clinical implications of extranodal versus nodal presentation: a population-based study of 1575 cases. *Br J Haematol.* 2004; 124: 151-9.
25. Bears MH, Berkow R (eds) . *The Merck Manual of Diagnosis and Therapy.* 17th ed. West Point, Merck & Co, 1999: 847-1000
26. Berglund M, Thunberg U, Amini RM, et al. Evaluation of immunophenotype in diffuse large B-cell lymphoma and its impact on prognosis. *Mod Pathol.* 2005; 18: 1113-20.
27. Groves FD, Linet MS, Travis LB, et al. Cancer surveillance series: non-Hodgkin's lymphoma incidence by histologic subtype in the United States from 1978 through 1995. *J Natl Cancer Inst.* 2000; 92: 1240-51.
28. Said J. Diffuse aggressive B-cell lymphomas. *Adv Anat Pathol.* 2009; 16: 216-35.
29. Harris NL, Jaffe ES, Stein H, et al. A revised European-American classification of lymphoid neoplasms: a proposal from the International Lymphoma Study Group. *Blood.* 1994; 84: 1361-92.
30. Stein RS, Greer JP, Flexner JM, et al. Large-cell lymphomas: clinical and prognostic features. *J Clin Oncol.* 1990; 8: 1370-9.
31. Martelli M, Ferreri AJ, Agostinelli C, et al. Diffuse large B-cell lymphoma. *Crit Rev Oncol Hematol.* 2013; 87: 146-71.

32. Yoo C, Yoon DH, Kim JE, et al. Prognostic implications of tumor extent in early-stage diffuse large B-cell lymphoma. *Int J Hematol.* 2013; 97: 232-9.
33. Brandt L, Kimby E, Nygren P, et al; SBU-group. Swedish Council of Technology Assessment in Health Care. A systematic overview of chemotherapy effects in indolent non-Hodgkin's lymphoma. *Acta Oncol.* 2001;40: 213-23.
34. Evans LS, Hancock BW. Non-Hodgkin lymphoma. *Lancet.* 2003; 362: 139-46.
35. Fisher RI. Overview of non-Hodgkin's lymphoma: biology, staging, and treatment. *Semin Oncol.* 2003; 30: 3-9.
36. Beà S, Colomo L, López-Guillermo A, et al. Clinicopathologic significance and prognostic value of chromosomal imbalances in diffuse large B-cell lymphomas. *J Clin Oncol.* 2004; 22: 3498-506.
37. Klapproth K, Wirth T. Advances in the understanding of MYC-induced lymphomagenesis. *Br J Haematol.* 2010; 149: 484-97.
38. Facchini LM, Penn LZ. The molecular role of Myc in growth and transformation: recent discoveries lead to new insights. *FASEB J.* 1998; 12: 633-51.
39. Sakamuro D, Prendergast GC. New Myc-interacting proteins: a second Myc network emerges. *Oncogene.* 1999; 18: 2942-54.
40. D'Angelo S, Liebermann D, Hoffman B. The c-myc apoptotic response is not intrinsic to blocking terminal myeloid differentiation. *J Cell Physiol.* 2008; 216: 120-7.
41. Nakamura N, Nakamine H, Tamaru J, et al. The distinction between Burkitt lymphoma and diffuse large B-Cell lymphoma with c-myc rearrangement. *Mod Pathol.* 2002; 15: 771-6.
42. Hunt KE, Reichard KK. Diffuse large B-cell lymphoma. *Arch Pathol Lab Med.* 2008; 132: 118-24.

43. Ruzinova MB, Caron T, Rodig SJ. Altered subcellular localization of c-Myc protein identifies aggressive B-cell lymphomas harboring a c-MYC translocation. *Am J Surg Pathol*. 2010; 34: 882-91.
44. Dunn RG, Foot NJ, Ffolkes L, et al. Transformation from follicular lymphoma to biphasic high-grade large B-cell lymphoma with immunophenotypically and genetically distinct diffuse large B cell and Burkitt-like components. *J Clin Pathol*. 2013; 66: 357-60.
45. Smith SM, Anastasi J, Cohen KS, et al. The impact of MYC expression in lymphoma biology: beyond Burkitt lymphoma. *Blood Cells Mol Dis*. 2010; 45: 317-23
46. Savage KJ, Johnson NA, Ben-Neriah S, et al. MYC gene rearrangements are associated with a poor prognosis in diffuse large B-cell lymphoma patients treated with R-CHOP chemotherapy. *Blood*. 2009; 114: 3533-7.
47. Chang YS, Yeh KT, Hsu NC, et al. Detection of N-, H-, and KRAS codons 12, 13, and 61 mutations with universal RAS primer multiplex PCR and N-, H-, and KRAS-specific primer extension. *Clin Biochem*. 2010; 43: 296-301.
48. Tran PT, Fan AC, Bendapudi PK, et al. Combined Inactivation of MYC and K-Ras oncogenes reverses tumorigenesis in lung adenocarcinomas and lymphomas. *PLoS One*. 2008; 3: e2125.
49. Yeh E, Cunningham M, Arnold H, et al. A signalling pathway controlling c-Myc degradation that impacts oncogenic transformation of human cells. *Nat Cell Biol*. 2004;6: 308-18.
50. Gramling MW, Eischen CM. Suppression of Ras/Mapk pathway signaling inhibits Myc-induced lymphomagenesis. *Cell Death Differ*. 2012; 19: 1220-7.
51. Cheson BD, Horning SJ, Coiffier B, et al. Report of an international workshop to standardize response criteria for non-Hodgkin's lymphomas. NCI Sponsored International Working Group. *J Clin Oncol*. 1999; 17: 1244.

52. Coiffier B, Lepage E, Briere J, et al. CHOP chemotherapy plus rituximab compared with CHOP alone in elderly patients with diffuse large-B-cell lymphoma. *N Engl J Med.* 2002; 346: 235-42.
53. Barista I, Tekuzman G, Firat D, et al. Non-Hodgkin's lymphomas in Turkey: eighteen years' experience at the Hacettepe University. *Jpn J Cancer Res.* 1994; 85: 1200-7.
54. Rai KR, Sawitsky A, Cronkite EP, et al. Clinical staging of chronic lymphocytic leukemia. *Blood.* 1975; 46: 219-34
55. Tomita N, Kodama F, Motomura S, et al. Prognostic factors in diffuse large B-cell lymphoma treated by risk-adopted therapy. *Intern Med.* 2006;45: 247-52.
56. Green TM, Young KH, Visco C, et al. Immunohistochemical double-hit score is a strong predictor of outcome in patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with rituximab plus cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone. *J Clin Oncol.* 2012; 30: 3460-7.
57. Klapper W, Stoecklein H, Zeynalova S, et al; German High-Grade Non-Hodgkin's Lymphoma Study Group. Structural aberrations affecting the MYC locus indicate a poor prognosis independent of clinical risk factors in diffuse large B-cell lymphomas treated within randomized trials of the German High-Grade Non-Hodgkin's Lymphoma Study Group (DSHNHL). *Leukemia.* 2008; 22: 2226-9.
58. Alizadeh AA, Eisen MB, Davis RE, et al. Distinct types of diffuse large B-cell lymphoma identified by gene expression profiling. *Nature.* 2000; 403: 503-11.
59. Rosenwald A, Wright G, Chan WC, et al; Lymphoma/Leukemia Molecular Profiling Project. The use of molecular profiling to predict survival after chemotherapy for diffuse large-B-cell lymphoma. *N Engl J Med.* 2002; 346: 1937-47.
60. Shipp MA, Ross KN, Tamayo P, et al. Diffuse large B-cell lymphoma outcome prediction by gene-expression profiling and supervised machine learning. *Nat Med.* 2002; 8: 68-74.

61. Jaffe ES, Haris NL, Stein H, et al. World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and Genetics Tumours of Haematopoietic And Lymphoid Tissues. Lyon, IARC Press, 2001; 171-176.
62. Magić Z, Novković T, Cikota B, et al. Genetic alterations in B-cell non-Hodgkin's lymphoma. *Vojnosanit Pregl.* 2005; 62: 87-96.
63. Tsang P, Cesarman E, Chadburn A, et al. Molecular characterization of primary mediastinal B cell lymphoma. *Am J Pathol.* 1996; 148: 2017-25.
64. Adams JM, Harris AW, Pinkert CA, et al. The c-myc oncogene driven by immunoglobulin enhancers induces lymphoid malignancy in transgenic mice. *Nature.* 1985; 318: 533-8.
65. Li F, Wang Y, Zeller KI, et al. Myc stimulates nuclearly encoded mitochondrial genes and mitochondrial biogenesis. *Mol Cell Biol.* 2005; 25: 6225-34.
66. Schlosser I, Hölzel M, Hoffmann R, et al. Dissection of transcriptional programmes in response to serum and c-Myc in a human B-cell line. *Oncogene.* 2005; 24: 520-4.
67. Schlee M, Hölzel M, Bernard S, et al. C-myc activation impairs the NF-kappaB and the interferon response: implications for the pathogenesis of Burkitt's lymphoma. *Int J Cancer.* 2007; 120: 1387-95.
68. Schrader A, Bentink S, Spang R, et al. High Myc activity is an independent negative prognostic factor for diffuse large B cell lymphomas. *Int J Cancer.* 2012; 131: E348-61.
69. Dave SS, Fu K, Wright GW, et al; Lymphoma/Leukemia Molecular Profiling Project. Molecular diagnosis of Burkitt's lymphoma. *N Engl J Med.* 2006; 354: 2431-42.
70. Li S, Lin P, Young KH, et al. MYC/BCL2 double-hit high-grade B-cell lymphoma. *Adv Anat Pathol.* 2013; 20: 315-26.

71. Barrans S, Crouch S, Smith A, et al. Rearrangement of MYC is associated with poor prognosis in patients with diffuse large B-cell lymphoma treated in the era of rituximab. *J Clin Oncol*. 2010; 28: 3360-5.
72. Green TM, Nielsen O, de Stricker K, et al. High levels of nuclear MYC protein predict the presence of MYC rearrangement in diffuse large B-cell lymphoma. *Am J Surg Pathol*. 2012; 36: 612-9.
73. Gualco G, Weiss LM, Harrington WJ Jr, et al. Nodal diffuse large B-cell lymphomas in children and adolescents: immunohistochemical expression patterns and c-MYC translocation in relation to clinical outcome. *Am J Surg Pathol*. 2009; 33: 1815-22.
74. Savage KJ, Johnson NA, Ben-Neriah S, et al. MYC gene rearrangements are associated with a poor prognosis in diffuse large B-cell lymphoma patients treated with R-CHOP chemotherapy. *Blood*. 2009; 114: 3533-7.
75. Nitsu N, Okamoto M, Miura I, et al. Clinical significance of 8q24/c-MYC translocation in diffuse large B-cell lymphoma. *Cancer Sci*. 2009; 100: 233-7.
76. Le Gouill S, Talmant P, Touzeau C, et al. The clinical presentation and prognosis of diffuse large B-cell lymphoma with t(14;18) and 8q24/c-MYC rearrangement. *Haematologica*. 2007; 92: 1335-42.
77. Akasaka T, Akasaka H, Ueda C, et al. Molecular and clinical features of non-Burkitt's, diffuse large-cell lymphoma of B-cell type associated with the c-MYC/immunoglobulin heavy-chain fusion gene. *J Clin Oncol*. 2000; 18: 510-18.
78. Au WY, Horsman DE, Gascoyne RD, et al. The spectrum of lymphoma with 8q24 aberrations: a clinical, pathological and cytogenetic study of 87 consecutive cases. *Leuk Lymphoma*. 2004; 45: 519-28.
79. Hummel M, Bentink S, Berger H, et al. A biologic definition of Burkitt's lymphoma from transcriptional and genomic profiling. *N Engl J Med*. 2006; 354: 2419-30.

80. Poirel HA, Cairo MS, Heerema NA, et al. FAB/LMB 96 International Study Committee. Specific cytogenetic abnormalities are associated with a significantly inferior outcome in children and adolescents with mature B-cell non-Hodgkin's lymphoma: results of the FAB/LMB 96 international study. *Leukemia*. 2009; 23: 323-31.
81. Tomita N, Tokunaka M, Nakamura N, et al. Clinicopathological features of lymphoma/leukemia patients carrying both BCL2 and MYC translocations. *Haematologica*. 2009; 94: 935-43.
82. Pillai RK, Sathanoori M, Van Oss SB, et al. Double-hit B-cell lymphomas with BCL6 and MYC translocations are aggressive, frequently extranodal lymphomas distinct from BCL2 double-hit B-cell lymphomas. *Am J Surg Pathol*. 2013; 37: 323-32.
83. Johnson NA, Slack GW, Savage KJ, et al. Concurrent expression of MYC and BCL2 in diffuse large B-cell lymphoma treated with rituximab plus cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone. *J Clin Oncol*. 2012; 30: 3452-9.
84. Oberley MJ, Rajguru SA, Zhang C, et al. Immunohistochemical evaluation of MYC expression in mantle cell lymphoma. *Histopathology*. 2013; 63: 499-508.
85. Offit K, Wong G, Filippa DA, et al. Cytogenetic analysis of 434 consecutively ascertained specimens of non-Hodgkin's lymphoma: clinical correlations. *Blood*. 1991; 77: 1508-15.
86. Kramer MH, Hermans J, Wijburg E, et al. Clinical relevance of BCL2, BCL6, and MYC rearrangements in diffuse large B-cell lymphoma. *Blood*. 1998; 92: 3152-62.
87. Copie-Bergman C, Gaulard P, Leroy K, et al. Immuno-fluorescence in situ hybridization index predicts survival in patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with R-CHOP: a GELA study. *J Clin Oncol*. 2009; 27: 5573-9.

T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI'NA

Dr. Şule Ketenci ERTAŞ'a ait "Diffüz Büyük B Hücreli Lenfomalarda K-Ras Mutasyonu ve C-Myc Aşırı Ekspresyonunun Prognosta Etkisi"adlı çalışma, jürimiz tarafından İç Hastalıkları Anabilim Dalı'nda Tıpta Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tarih: 28.05/2014

İmza

Başkan : Prof. Dr. Mehmet Yücesoy

Üye : Prof. Dr. Ali CİVAZ

Üye : Doç. Dr. Ali İhsan Güneş