

UNIVERZITET U NOVOM SADU
MEDICINSKI FAKULTET



EKSPRESIJA MOLEKULSKIH MARKERA KAO
FAKTOR PROGNOZE LEČENJA DIFUZNOG B-
KRUPNOĆELIJSKOG LIMFOMA
IMUNOHEMIOTERAPIJOM

-doktorska disertacija-
(radna verzija)

Kandidat: Asist. Dr Lazar Popović Mentor: Prof. dr Slavica Knežević-Ušaj

Novi Sad, 2013.

**UNIVERZITET U NOVOM SADU
MEDICINSKI FAKULTET NOVI SAD**

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

Redni broj: RBR	
Identifikacioni broj: IBR	
Tip dokumentacije: TD	Monografska dokumentacija
Tip zapisa: TZ	Tekstualni štampani materijal
Vrsta rada VR	Doktorska disertacija
Ime i prezime autora: AU	Lazar Popović
Mentor (titula, ime, prezime, zvanje): MN	Prof. Dr Slavica Knežević-Ušaj
Naslov rada: NR	Ekspresija molekulskih markera kao faktor prognoze lečenja difuznog B-krupnoćelijskog limfoma imunohemioterapijom
Jezik publikacije: JP	srpski
Jezik izvoda: JI	srpski / engleski
Zemlja publikovanja: ZP	Srbija
Uže geografsko područje: UGP	Vojvodina
Godina: GO	2014.
Izdavač: IZ	autorski reprint
Mesto i adresa: MA	21000 Novi Sad, Srbija, Hajduk Veljkova 3

Fizički opis rada: FO	(broj poglavlja 8 / stranica 221/ slika 18 / grafikona 71 /tabela 69/ referenci 395/ priloga/)
Naučna oblast: NO	Medicina
Naučna disciplina: ND	Onkologija
Predmetna odrednica, ključne reči: PO	Limfom, B-krupnoćelijski, Difuzni; Antitela, Monoklonska, Mišja; Imunoterapija; Prognoza; Ishod lečenja; Antineoplastični lekovi; Biološki markeri
UDK	616.428-006.44-08-037
Čuva se: ČU	U biblioteci Medicinskog fakulteta u Novom Sadu, Hajduk Veljkova 3
Važna napomena: VN	

Izvod: IZ	<p>Difuzni B-krupnoćelijski limfom (DLBCL) je najčešći podtip Non-Hodgkin limfoma u Evropi i Severnoj Americi. Ishod lečenja ove bolesti najviše zavisi od broja faktora rizika uključenih u Internacionalni prognosni skor (IPI). Međutim, ni IPI ni, kasnije dizajniran, revidirani IPI (R-IPI) ne mogu u potpunosti da odgovore na pitanje koji će bolesnici dobro odgovoriti na terapiju i koji će bolesnici doživeti relaps, nakon inicijalnog odgovora na lečenje. Zbog toga je započela era pronalaženja molekulskih markera koji će moći bolje da odgovore na data pitanja. U ovom radu ispitivali smo odgovor na lečenje, dužinu preživljavanja bez povratka bolesti i ukupno preživljavanje u odnosu na imunohistohemijsku ekspresiju molekula: Ki67, CD10, MUM-1, Bcl-2, Bcl-6, CD20, CD5, CD30, CD43, Cox2, EBV-LMP1, VEGF-A, BAFF-R, BCMA, TACI. Takodje ispitivali smo uticaj demografsko-kliničkih i laboratorijskih parametara: pola, starosti, kliničkog stadijuma, prisustva B simptoma, ektranodalne lokalizacije, IPI skora, nivoa albumina, nivoa hemoglobina i apsolutnog broja limfocita na ishod lečenja bolesnika. U ispitivanju je učestvovalo 140 bolesnika lečenih na Institutu za onkologiju Vojvodine u periodu 2003.-2010. godina. Svi bolesnici su lečeni kombinacijom rituksimaba i CHOP (ciklofosfamid, doksorubicin, vinkristin, prednizon) i CHOP-u sličnih protokola. Procenat kompletnih odgovora na lečenje bio je 74.14%. IPI skor je jedini parametar koji je uticao na postignutu stopu kompletnih remisija. Trogodišnje preživljavanje bez progresije bolesti postignuto je u 56.5% bolesnika dok je ukupno trogodišnje preživljavanje bilo 64%. Bolesnici sa visokim IPI skorom, nižim brojem limfocita, niskim nivoom albumina i bolesnici muškog pola imaju kraće vreme do progresije bolesti. Takođe, bolesnici bez ekspresije BCMA receptora imaju kraće vreme do progresije bolesti. Bolesnici sa visokim IPI skorom, nižim brojem limfocita, niskim nivoom albumina, te ekspresijom CD5 receptora imaju kraće vreme do progresije bolesti. Sa druge strane bolesnici sa ekspresijom BCMA i BAFF-R imaju značajno duže ukupno preživljavanje. Ostali ispitivani parametri nisu uticali na ishod lečenja. Osim standardnih parametara, ekspresija različitih molekulskih markera može značajno doprineti u proceni prognoze lečenja bolesnika sa DLBCL.</p>
-----------	---

Datum prihvatanja teme od strane NN veća: DP	30.09.2011.
Datum odbrane: DO	
Članovi komisije: (ime i prezime / titula / zvanje / naziv organizacije / status) KO	predsednik: Prof. dr Darjana Jovanović, redovni profesor, Medicinski fakultet Novi Sad član: Prof. dr Dušan Jovanović, redovni profesor, Medicinski fakultet Novi Sad član: Prof. dr Biljana Mihaljević, vandredni profesor, Medicinski fakultet Beograd član: Prof. dr Živka Eri, redovni profesor, Medicinski fakultet Novi Sad član: Prof. dr Aleksandar Savić, vandredni profesor, Medicinski fakultet Novi Sad

**UNIVERSITY OF NOVI SAD
FACULTY OF MEDICINE NOVI SAD**

**KEY WORD
DOCUMENTATION**

Accession number: ANO	
Identification number: INO	
Document type: DT	Monograph documentation
Type of record: TR	Textual printed material
Contents code: CC	PH. D. thesis
Author: AU	Lazar Popovic
Mentor: MN	Prof. dr Slavica Knežević-Ušaj
Title: TI	The expression of molecular markers as a prognostic factor of diffuse large B-cell lymphoma treatment with immunochemotherapy
Language of text: LT	Serbian
Language of abstract: LA	Serbian/ English
Country of publication: CP	Serbia
Locality of publication: LP	Vojvodina
Publication year: PY	2014.
Publisher: PU	Author's reprint
Publication place: PP	21000 Novi Sad, Serbia, Hajduk Veljkova 3

Physical description: PD	Parts 8 / pages 221/ pictures 18 / graphs 71 /tables 69/ references 395
Scientific field SF	Medicine
Scientific discipline SD	Oncology
Subject, Key words SKW	Lymphoma, Large B-cell, Diffuse; Antibodies, Monoclonal, Murine-Derived; Immunotherapy; Prognosis; Treatment Outcome; Antineoplastic Agents; Biological Markers
UC	616.428-006.44-08-037
Holding data: HD	Library of the Faculty of Medicine, Novi Sad, 21000, Novi Sad, Hajduk Veljkova 3
Note: N	

<p>Abstract: AB</p>	<p>Diffuse B - large cell lymphoma (DLBCL) is the most common subtype of non - Hodgkin's lymphoma in Europe and North America. The outcome of treatment of this disease depends on the number of risk factors included in the International Prognostic Score Index (IPI). However, neither IPI nor later designed, revised IPI (R- IPI) can not fully predict which patient will respond well to the therapy and which patient will experience relapse after initial response to the treatment. Therefore, the era of the molecular markers that will be able to give better answer to this issues, has started. In this study we examined the response to treatment, duration of progression -free survival and overall survival compared to the immunohistochemical expression of a molecules: Ki67, CD10, the MUM - 1, Bcl - 2, Bcl - 6, CD20, CD5, CD30, CD43, COX2, EBV-LMP1, VEGF - A, BAFF - R, BCMA, TACI. In addition, we investigated the impact of demographic, clinical and laboratory parameters such are sex, age, clinical stage, presence of B symptoms, extranodal localization, IPI score, albumin level, hemoglobin level and the absolute lymphocyte count on the treatment outcome. This study included 140 patients treated at the Oncology Institute of Vojvodina in the period from year 2003 to 2010. All patients were treated with the combination of rituximab and CHOP (cyclophosphamide, doxorubicin, vinksristin, prednisone) or CHOP-like protocol. Complete remission was reached in 74.14 % of patients. IPI score was the only parameter that affected the rates of complete remission. Three-year progression-free survival was achieved in 56.5 % of patients, while three-year overall survival was 64 %. Patients with a high IPI score, low lymphocyte count, low albumin level and male patients have a shorter time to progression. Also, patients who did not express BCMA receptor have a shorter time to progression. Patients with high IPI score, low lymphocyte count, low albumin level and the expression of CD5 receptor had shorter progression free survival. On the other hand, patients expressing BCMA and BAFF - R have a significantly longer survival time. The other parameters did not affect the outcome of treatment. Besides the standard parameters, the expression of various molecule markers can contribute significantly to the prediction of treatment outcome of patients with DLBCL.</p>
-------------------------	---

Accepted on Scientific Board on: AS	September 30, 2011
Defended: DE	
Thesis Defend Board: DB	president: Prof. dr Darjana Jovanovic, fulltime professor, Faculty of medicine Novi Sad member: Prof. dr Dusan Jovanovic, fulltime professor, Faculty of medicine Novi Sad member: Prof. dr Biljana Mihaljevic, associate professor, Faculty of medicine Belgrade member: Prof. dr Zivka Eri, fulltime professor, Faculty of medicine Novi Sad member: Prof. dr Aleksandar Savic, associate professor, Faculty of medicine Novi Sad

SADRŽAJ

I UVOD.....	1
1.1. Non-Hodgkin limfomi	1
1.1.1. Etiologija NHL.....	1
1.1.2. Patogeneza NHL.....	3
1.1.3. Klasifikacija NHL.....	6
1.1.4. Klinička prezentacija i određivanje kliničkog stadijuma (staging).....	9
1.2. Difuzni B-krupnoćelijski limfom.....	12
1.2.1. Dijagnoza.....	12
1.2.2. Podela DLBCL.....	13
1.2.2.1. DLBCL-drugačije neoznačen (DLBCL-not otherwise specified, NOS).....	13
1.2.2.1.1. Etiologija.....	13
1.2.2.1.2. Klinička slika.....	13
1.2.2.1.3. Morfologija.....	14
1.2.2.1.4. Imunofenotip.....	15
1.2.2.1.5. Genetika.....	15
1.2.2.1.5.1. Profil genske ekspresije (GEP).....	16
1.2.2.1.6 Imunohistohemijski surogati profila genske ekspresije.....	17
1.2.2.2. Krupnoćelijski B-limfom bogat T-ćelijama/histiocitima (T cell/histiocyte-rich large B-cell Lymphoma, TCHRLBCL).....	17
1.2.2.2.1. Klinička slika.....	17
1.2.2.2.2. Morfologija.....	17
1.2.2.2.3. Imunofenotip.....	18
1.2.2.2.4. Genetika.....	18
1.2.2.3. Primarni difuzni B-krupnoćelijski limfom centralnog nervnog sistema (CNS DLBCL).....	19
1.2.2.3.1. Etiologija.....	19
1.2.2.3.2. Klinička slika.....	19
1.2.2.3.4. Morfologija.....	20
1.2.2.3.5. Imunofenotip.....	20
1.2.2.3.6. Genetika.....	21

1.2.2.4. Primarni kožni difuzni B-krupnoćelijski limfom, tip noge (Primary cutaneous diffuse large B-cell Lymphoma, leg type (PCLBCL)).....	21
1.2.2.4.1. Klinička slika.....	21
1.2.2.4.2. Morfologija.....	21
1.2.2.4.3. Imunofenotip.....	22
1.2.2.4.4. Genetika.....	22
1.2.2.5. EBV pozitivan difuzni B-krupnoćelijski limfom kod starijih (EBV+ DLBCL).....	22
1.2.2.5.1. Etiologija.....	22
1.2.2.5.2. Klinička slika.....	23
1.2.2.5.3. Morfologija.....	23
1.2.2.5.4. Imunofenotip.....	23
1.2.2.5.5. Genetika.....	23
1.2.2.6. Difuzni B-krupnoćelijski limfom udružen sa hroničnom inflamacijom (DLBCL-ACI).....	24
1.2.2.6.1. Etiologija.....	24
1.2.2.6.2. Klinička slika.....	24
1.2.2.6.3. Morfologija.....	25
1.2.2.6.4. Imunofenotip.....	25
1.2.2.6.5. Genetika.....	25
1.2.2.7. Limfomatoidna granulomatoza (LYG).....	26
1.2.2.7.1. Etiologija.....	26
1.2.2.7.2. Klinička slika.....	26
1.2.2.7.3. Morfologija.....	26
1.2.2.7.4. Imunofenotip.....	27
1.2.2.7.5. Genetika.....	27
1.2.2.8. Primarni medijastinalni (timusni) B-krupnoćelijski limfom (PMBL).....	28
1.2.2.8.1. Klinička slika.....	28
1.2.2.8.2. Morfologija.....	29
1.2.2.8.3. Imunofenotip.....	29
1.2.2.8.4. Genetika.....	29

1.2.2.9. Intravaskularni B-krupnoćelijski limfom (Intravascular large B-cell Lymphoma, IVLBCL).....	30
1.2.2.9.1. Klinička slika.....	30
1.2.2.9.2. Morfologija.....	30
1.2.2.9.3. Imunofenotip.....	31
1.2.2.9.4. Genetika.....	31
1.2.2.10. ALK-pozitivan B-krupnoćelijski limfom (ALK+LBCL).....	31
1.2.2.10.1. Klinička slika.....	31
1.2.2.10.2. Morfologija.....	31
1.2.2.10.3. Imunofenotip.....	32
1.2.2.10.4. Genetika.....	32
1.2.2.11. Plazmablasni limfom (PBL).....	32
1.2.2.11.1. Klinička slika.....	33
1.2.2.11.3. Morfologija.....	33
1.2.2.11.4. Imunofenotip.....	33
1.2.2.11.5. Genetika.....	34
1.2.2.12. B-krupnoćelijski limfom nastao iz HH8-vezane Castlemanove bolesti (Large B-cell lymphoma arising in HH8-associated Castleman disease, LBL HH8-MCD).....	34
1.2.2.12.1. Morfologija i imunofenotip.....	34
1.2.2.12.2. Genetika.....	34
1.2.2.13. Primarni efuzioni limfom (Primary effusion lymphoma, PEL).....	35
1.2.2.13.1. Etiologija.....	35
1.2.2.13.2. Klinička slika.....	35
1.2.2.13.3. Morfologija i imunofenotip.....	35
1.2.2.14. B-ćelijski limfom koji deli karakteristike difuznog B-krupnoćelijskog limfoma i Burkitt limfoma.....	36
1.2.2.14.1. Morfologija i imunofenotip.....	36
1.2.2.14.2. Genetika.....	36
1.2.2.15. B-ćelijski limfom koji deli karakteristike difuznog B-krupnoćelijskog limfoma i Hodgkinovog limfoma.....	37

1.2.2.15.1. Klinička slika.....	37
1.2.2.15.2. Morfologija.....	37
1.2.2.15.3. Imunofenotip.....	38
1.2.2.16. Entiteti koji nisu obuhvaćeni WHO klasifikacijom iz 2008. godine.....	38
1.2.2.16.1. „Double hit lymphomas“ (DHL).....	38
1.2.2.16.2. Difuzni B-krupnoćelijski limfom nastao transformacijom iz limfoma nižeg stepena malignosti.....	39
1.2.3. Prognoza toka i ishoda DLBCL.....	40
1.2.3.1. Prognoza u zavisnosti od osobina limfomskog klon.....	41
1.2.3.1.1. Prognostički indeksi.....	41
1.2.3.1.2. Molekulski markeri u prognozi lečenja DLBCL.....	43
1.2.3.1.3 Prognoza u odnosu na profil ekspresije gena (GEP).....	46
1.2.3.1.4. Prognoza u odnosu na podtip DLBCL.....	47
1.2.3.2. Prognoza u odnosu biološki potencijal bolesnika.....	48
1.2.3.2.1. Starost bolesnika i performans status.....	48
1.2.3.2.2. Pol bolesnika.....	48
1.2.3.2.3. Prisustvo komorbiditeta.....	49
1.2.3.3. Prognoza u odnosu na rani terapijski odgovor.....	50
1.2.4. Lečenje DLBCL.....	50
1.2.4.1. Lečenje starih bolesnika (60-80 godina starosti).....	50
1.2.4.2. Veoma stari bolesnici (>80 godina).....	51
1.2.4.3. Mlađi bolesnici (18-60 godina).....	52
1.2.4.3.1. Mlađi bolesnici niskog stepena rizika.....	52
1.2.4.3.2. Mlađi bolesnici visokog stepena rizika.....	53
1.2.4.4. Terapije sa manjim broj ciklusa.....	54
1.2.4.5. Uloga radioterapije u lečenju DLBCL.....	55
1.2.4.6. Lečenje relapsa/refrakternih bolesnika.....	55
1.2.4.7. CNS profilaksa.....	56
1.2.4.8. Nove terapijske strategije.....	57
1.3. Molekulski markeri.....	59
1.3.1. BAFF i njegovi receptori BAFF-R, TACI, BCMA.....	59

1.3.1.1.Funkcija BAFF-a.....	59
1.3.1.2.Receptori za BAFF.....	60
1.3.1.3. Uloga BAFF-a, APRIL-a i njihovih receptora u nastanku i prognozi limfoproliferativnih bolesti.....	61
1.3.1.4.BAFF-ciljana terapija.....	62
1.3.2. GCB i nonGCB fenotip.....	62
1.3.2.1.Imunohistohemijski surogati.....	63
1.3.2.2.Značaj određivanja GEP podtipa u prognozi ishoda lečenja DLBCL.....	64
1.3.2.3.Terapijski značaj određivanja GEP.....	64
1.3.3. CD10, Bcl-6 i MUM-1.....	65
1.3.4. Ciklooksigenaza-2 (COX-2).....	65
1.3.4.1.Mehanizam delovanja COX-2 u karcinogenezi.....	66
1.3.4.2. Značaj COX-2 u prognozi NHL.....	67
1.3.4.3. COX-2 inhibitori u u lečenju malignih bolesti.....	67
1.3.5. Vaskularni endotelijalni faktor A (VEGF-A).....	67
1.3.5.1. Mehanizam tumorske angiogeneze.....	68
1.3.5.2. Prognozni značaj VEGF-a i njegovih receptora kod NHL.....	69
1.3.5.3. Uloga blokiranja angiogeneze u terapiji DLBCL.....	69
1.3.6. Epstein Barr virus (EBV).....	70
1.3.6.3.Uloga EBV u nastanku i proliferaciji NHL.....	70
1.3.6.4. EBV+ DLBCL.....	72
1.3.7. B-cell Lymphoma gen-2 (Bcl-2).....	72
1.3.7.3. Bcl-2 i apoptoza.....	72
1.3.7.4. Ekspresija Bcl-2 i prognoza DLBCL.....	73
1.3.8. CD30.....	74
1.3.8.3. Prognoza DLBCL u odnosu na ekspresiju CD30.....	75
1.3.9. CD5.....	75
1.3.9.1. Prognoza DLBCL u odnosu na ekspresiju CD5.....	75
1.3.10. CD43.....	76
1.3.11. Ki67.....	76
II PROBLEM, PREDMET I CILJ ISTRAŽIVANJA.....	77

2.1. Pregled problema.....	77
2.2. Ciljevi istraživanja.....	77
III HIPOTEZE ISTRAŽIVANJA.....	78
IV MATERIJAL I METODE.....	79
4.1. Bolesnici i dijagnoza.....	79
4.2. Standardne patohistološke metode.....	79
4.3. Imunohistohemijske metode (IHH).....	80
4.3.1. Korišćena antitela.....	80
4.3.2. Imunohistohemijski metod za antitela BAFF-R, EBV, COX2, Ki-67 i CD43.....	80
4.3.3. Imunohistohemijski metod za antitela TACI, BCMA, CD20 i Bcl-2.....	81
4.3.4. Imunohistohemijski metod za antitela CD30, CD5, MUM1.....	81
4.3.5. Imunohistohemijski metod za antitela VEGF, Bcl6 i CD10.....	81
4.4. Imunohistohemijska analiza ekspresije antitela.....	81
4.4.1. Analiza ekspresije Ki-67.....	81
4.4.2. Analiza ekspresije CD20.....	82
4.4.3. Analiza ekspresije MUM1.....	83
4.4.4. Analiza ekspresije CD10.....	83
4.4.5. Analiza ekspresije Bcl-6.....	84
4.4.6. Analiza ekspresije Bcl-2.....	85
4.4.7. Analiza ekspresije CD5.....	85
4.4.8. Analiza ekspresije CD30.....	86
4.4.9. Analiza ekspresije CD43.....	87
4.4.10. Analiza ekspresije EBV-LMP1.....	87
4.4.11. Analiza ekspresije VEGF.....	88
4.4.12. Analiza ekspresije COX2.....	89
4.4.13. Analiza ekspresije BAFF-R.....	90
4.4.14. Analiza ekspresije TACI.....	90
4.4.15. Analiza ekspresije BCMA.....	91
4.5. Odredjivanje stadijuma bolesti i odgovor na lečenje.....	92
4.6. Metode statističke obrade.....	92
V REZULTATI.....	93

5.1. Demografski podaci.....	93
5.2. Stadijum bolesti i IPI skor.....	94
5.3. Ekstranodalna lokalizacija.....	95
5.4. Broj analiziranih bolesnika u podgrupama i procenat ekspresije molekulskih markera.....	96
5.5. Studije korelacije.....	96
5.5.1. CD10.....	97
5.5.2. MUM-1.....	98
5.5.3 Bcl-6.....	99
5.5.4. Bcl-2.....	100
5.5.5. Ki67.....	101
5.5.6. CD20.....	102
5.5.7. CD30.....	103
5.5.8. CD43.....	104
5.5.9. CD5.....	105
5.5.10. COX-2 i VEGF-A.....	106
5.5.11. EBV-LMP1.....	108
5.5.12. BAFF-R, BCMA, TACI.....	109
5.6. Primenjena terapija.....	111
5.7. Rezultati lečenja.....	112
5.7.1. Odgovor na primenjeno lečenje.....	112
5.7.1.1. Uticaj starosti i pola na postizanje kompletne remisije.....	112
5.7.1.2. Uticaj kliničkog stadijuma bolesti na postizanje kompletne remisije.....	113
5.7.1.3. Uticaj IPI skora na postizanje kompletne remisije.....	113
5.7.1.4. Uticaj laboratorijskih parametara na postizanje kompletne remisije.....	114
5.7.1.5. Uticaj patohistoloških podtipova DLBCL na postizanje kompletne remisije.....	114
5.7.1.6. Uticaj ekstranodalne lokalizacije na postizanje kompletne remisije.....	115
5.7.1.7. Uticaj ekspresije molekulaskih markera na postizanje kompletne remisije.....	115
5.7.2. Vreme do progresije bolesti i ukupno preživljavanje bolesnika.....	117
5.7.2.1. Uticaj dubine odgovora na ukupno preživljavanje.....	118
5.7.2.2. Uticaj starosti bolesnika na PFS i OS.....	118

5.7.2.3. Uticaj pola bolesnika na PFS i OS.....	120
5.7.2.4. Uticaj Ann Arbor stadijuma bolesti i prisustva B simptoma na PFS i OS.....	121
5.7.2.5. Uticaj IPI skora na PFS i OS.....	123
5.7.2.6. Uticaj ekstranodalne lokalizacije na PFS i OS.....	125
5.7.2.7. Uticaj laboratorijskih parametara na PFS i OS.....	126
5.7.2.7.1. Uticaj nivoa laktat dehidrogenaze (LDH) na PFS i OS.....	126
5.7.2.7.2. Uticaj nivoa hemoglobina (anemije) na PFS i OS.....	127
5.7.2.7.3. Uticaj apsolutnog broja limfocita na PFS i OS.....	128
5.7.2.7.4. Uticaj nivoa albumina na PFS i OS.....	129
5.7.2.8. Uticaj patohistoloških podtipova DLBCL na PFS i OS.....	130
5.7.2.8.1. Uticaj morfološkog podtipa na PFS i OS.....	130
5.7.2.8.2. Uticaj GCB/nonGCB podtipa na PFS i OS.....	131
5.7.2.9. Uticaj ekspresije molekulaskih markera na PFS i OS.....	132
5.7.2.9.1. Uticaj ekspresije CD10 na PFS i OS.....	132
5.7.2.9.2. Uticaj ekspresije MUM-1 na PFS i OS.....	133
5.7.2.9.3. Uticaj ekspresije Bcl-6 na PFS i OS.....	134
5.7.2.9.4. Uticaj ekspresije Bcl-2 na PFS i OS.....	135
5.7.2.9.5. Uticaj procenta ekspresije Ki67 na PFS i OS.....	136
5.7.2.9.6. Uticaj procenta ekspresije CD20 na PFS i OS.....	137
5.7.2.9.7. Uticaj ekspresije CD30 na PFS i OS.....	138
5.7.2.9.8. Uticaj ekspresije CD43 na PFS i OS.....	139
5.7.2.9.9. Uticaj ekspresije CD5 na PFS i OS.....	140
5.7.2.9.10. Uticaj ekspresije COX-2 na PFS i OS.....	141
5.7.2.9.11. Uticaj ekspresije VEGF-A na PFS i OS.....	142
5.7.2.9.12. Uticaj ekspresije EBV-LMP1 na PFS i OS.....	143
5.7.2.9.13. Uticaj ekspresije BAFF-R na PFS i OS.....	144
5.7.2.9.14. Uticaj ekspresije BCMA na PFS i OS.....	145
5.7.2.9.15. Uticaj ekspresije TACI na PFS i OS.....	146
5.7.2.9.16. Zajednički uticaj BAFF-R, BCMA i TACI na PFS i OS.....	147
5.7.2.10. Multivarijantna analiza preživljavanja.....	149
VI DISKUSIJA.....	151

VII ZAKLJUČCI.....	177
VIII LITERATURA.....	179
SPISAK SKRAĆENICA.....	218

I UVOD

1.3. Non-Hodgkin limfomi

Limfomi su solidni tumori imunog sistema. Hodgkin limfom predstavlja oko 10% slučajeva, dok su ostalo Non-Hodgkin limfomi (NHL). Non-Hodgkin limfomi su grupa bolesti sa različitim histološkim prezentacijama i raznolikom kliničkom slikom, što čini postavljanje dijagnoze težim (1). Limfomi nisu retka oboljenja, u Velikoj Britaniji (UK) je 2009. godine dijagnostikovano 12294 nova slučaja NHL i 4452 bolesnika su umrli od ove bolesti (2,3). U Sjedinjenim Američkim Državama (USA) zabeleženo je 65540 novih slučajeva 2007. godine, dok je preko 20 hiljada bolesnika umrlo (4). NHL su peti po učestalosti malignitet u UK sa približno istim procentom kod muškaraca i žena. Incidenca je oko 15 slučajeva na 100000 stanovnika. Više od dve trećine slučajeva su bolesnici stariji od 60 godina (2,3). Incidenca različitih histoloških podtipova NHL znatno varira u zavisnosti od regiona. Adultni T-ćelijski limfom asociiran sa humanim T-ćeliskim limfotropnim virusom (HTLV-1) je mnogo češći u Aziji, kao i natural killer (NK)-ćelijski ili T-ćeliski limfom uzrokovan infekcijom Epstein-Barr virusom (EBV), dok je, recimo, folikularnim limfom (FL) znatno učestaliji u zapadnoj Evropi i Severnoj Americi. Difuzni B-krupnoćelijski limfom (DLBCL) je među najčešćim limfomima svuda u svetu (5).

Incidenca NHL je u stalnom porastu. U UK incidenca u poslednjih 30 godina je porasla za 35%. Sličan trend je zapažen i u USA sa 3.7% godišnjim porastom od 1975-1991 i nešto nižim porastom od 0.3% godišnje od 1992-2007. Incidenca je takođe u porastu u Japanu, Singapuru, Brazilu, Indiji i zapadnoj Evropi (6-10). Osim porasta incidence, došlo je i do produžetka preživljavanja ovih bolesnika, zahvaljujući savremenim trendovima u dijagnostici i lečenju. U UK je desetogodišnje preživljavanje ovih bolesnika, lečenih poslednje četiri decenije 50.8%, dok je preživljavanje bolesnika dijagnostikovanih ranih 70-tih godina prošlog veka samo 21.8% (11).

1.3.1. Etiologija NHL

Etiologija NHL je nepoznata, međutim postoji povezanost određenih činilaca: genetskih faktora, imunodeficijencija, infekcija i jonizujućeg zračenja, sa nastankom ovih bolesti (12). Postojanje limfoma u porodici povećava rizik za pojavu bolesti. U najvećem riziku su braća i sestre obolelih.

Polimorfizam gena za tumor necrosis factor α (TNF- α) i interleukin-10 (IL-10) je povezan sa učestalijom pojavom DLBCL. Određeni urođeni oblici imunodeficijencija kao što su ataxia teleangiectasia, Wiscott-Aldrich sindrom, hipogamaglobulinemije, su povezani sa većom incidencom NHL. Slična je situacija i sa reumatoid artritismom (RA), sistemskim eritemskim lupusom, celijakijom, psorijazom, ulceroznim kolitisom, Crohnovom bolešću, Sjogrenovim sindrom i drugim autoimunim bolestima. Bolesnici sa RA češće obolevaju od DLBCL, dok bolesnici oboleli od glutenske enteropatije češće obolevaju od T-ćelijskih limfoma, pre svih enteropathy-associated T-cell limfoma (EATL). Imunosupresija izazvana zbog alogene transplantacijom koštane srži ili transplantacije solidnih organa povezana je sa razvojem postranslantacione limfoproliferativne bolesti (PTLD), dok je kod HIV pozitivnih bolesnika veća učestalost različitih agresivnih limfoma i HL (12).

Infekcije određenim mikroorganizmima se takođe dovode u vezu sa nastankom limfoma. Bakterijske infekcije se, zbog hronične genske stimulacije, dovode u značajnu vezu sa limfomima asociranim sa mukoznim tkivom (MALT limfomima) različitih lokalizacija. Najutemeljenije je utvrđena povezanost infekcije *Helicobacter pylori* (HLO) i želudačnog MALT limfoma (13). Dokazi su činjenice da se B-ćelijski klon nalazi i bioptičkom materijalu kod hroničnih gastritisa i pre manifestacije limfoma, in vitro studije koje su dokazale da se razvoj limfoma može izazvati u kulturi sa HLO, kao i činjenica da se kod nekih bolesnika sa gastričnim limfomom može postići višegodišnje remisija samom eradikacijom HLO (13). Manje utemeljene korelacije postoje između MALT limfoma i infekcije tankog creva sa *Campylobacter jejuni*, primarnog kutanog limfoma marginalne zone i infekcije sa *Boreliom burgdorferi*, te limfoma okularnih adneksa i infekcije *Chlamydia psittaci* (12).

Epstein-Barr virus je povezan sa nekoliko tipova limfoma, naročito sa Burkitt limfomom (BL), HL i PTLD (14). Hronična infekcija virusom hepatitisa C (HCV) je povezana sa većom učestalošću B-ćelijskih NHL, naročito sa spleničnim limfomom marginalne zone (SMZL) (15). Humani herpes virus-8 (HHV-8) je povezan sa nekoliko benignih i malignih limfoproliferativnih bolesti, među njima i sa plazmablastnom varijantom Castlemanove bolesti koja može da se transformiše u HHV-8 pozitivni plazmablastni limfom (12).

Određena zanimanja su povezana sa većim rizikom za nastanak limfoma. Farmeri i poljoprivrednici su pod većim rizikom za nastanak limfoma, verovatno zbog izloženosti pesticidima i, možda, zbog kontakta sa životinjama (12).

1.3.2. Patogeneza NHL

Non-Hodgkin limfomi su heterogena grupa oboljenja, 85-90% porekla B-limfocita, dok je ostatak porekla T-limfocita ili NK ćelija. Najveći broj ovih bolesti nastaju u limfnim čvorovima, ali se mogu javiti gotovo u bilo kom organu. Mogu ispoljiti potpuno indolentan tok kao kod folikularnog limfoma, ili agresivno ponašanje kao kod DLBCL ili BL (1). Da bi se razumeo mogući patofiziološki mehanizam nastanka limfoma, potrebno je poznavati razvoj i sazrevanje normalnih B i T limfocita, jer na svakom stupnju razvoja ovih ćelija može doći do poremećaja u reparaciji DNK i do klonalne proliferacije što dovodi do pojave limfoma (1).

Razumevanje patogeneze NHL poreklom iz B-limfocita zahteva poznavanje razvoja ove loze i reakcije koje se događaju u susretu B-ćelija sa antigenom. B-limfociti vode poreklo iz hematopoeznih matičnih ćelija kosne srži. Kosna srž je i primarni limfni organ u kojoj se odvijaju rane faze razvoja B-limfocita, dok se njihov preobražaj u imunokompetentne ćelije događa posle susreta sa antigenima u sekundarnim limfnim organima. Dakle, razvoj B-limfocita protiče kroz dve glavne faze, antigen nezavisnu koja se završava stvaranjem zrelih B-ćelija i antigen zavisnu koja počinje susretom B-limfocita sa antigenom i završava stvaranjem zrelih plazmocita sposobnih za produkciju antitela. Stadijumi razvoja B-limfocita se razlikuju prema ekspresiji površinskih markera, veličini ćelija i njihovoj proliferativnoj aktivnosti i stanju rearanžmana imunoglobulinskih (Ig) gena (12,16). Stadijumi razvoja B-limfocita sa osnovnim površinskim markerima (imunofenotip) prikazani su u tabeli 1.

Antigen-nezavisna faza razvoja B-limfocita započinje u limfocitnim prekursorima (matične ćelije i limfoblasti), odvija se u primarnim limfnim organima (kosna srž) i rezultuje stvaranjem zrelih, ali imunološki naivnih (nevinih) B-limfocita. Posle susreta sa antigenom limfociti doživljavaju blastnu transformaciju, odnosno, vraćanje u ćelije sa visokim proliferativnim potencijalom čime se obezbeđuje brzo stvaranje imunokompetentnog B-limfocitnog kлона. Limfoproliferativne bolesti proistekle iz proliferativnog kompartmana ćelija, u antigen nezavisnoj i antigen-zavisnoj fazi razvoja B-limfocita, imaju agresivni tok, dok bolesti sa izvorom u naivnim ili imunokompetentnim ćelijama efektorskog pula imaju indolentni tok (12). Neoplazme prekursorskih ćelija (limfoblastna leukemija-limfom) su češće kod dece, a neoplazme zrelih efektorskih ili memorijskih ćelija (limfoplazmocitni limfom) kod odraslih.

Antigen	Matična ćelija	Pro-B ćelije			Pre-B ćelije		Nezrela B-ćelija	Zrela B-ćelija
CD34	+	+	+	+	-	-	-	-
CD45	-	+	+	+	+	+	+	+
CD43	-	+	+	+	-	-	-	-
CD19	-	-	+	+	+	+	+	+
CD10	-	-	+	+	+	+	+	-
CD40	-	-	-	-	-	+	+	+
CD23	-	-	-	-	-	-	-	+
sIgM-	-	-	-	-	-	-	+	+
sIgD	-	-	-	-	-	-	-	+
CD20	-	-	-	-	-	-	-	+
CD22	-	-	-	-	-	-	-	+
CD79a,b	-	-	-	-	-	-	+	+

Tabela 1: Razvojni imunofenotip B-limfocita

Prekursori B-limfocita (pro-B limfociti) eksprimiraju CD34 antigen, marker matičnih ćelija, MCH II antigene (HLA-DR), TdT koja se nalazi i na T-limfocitima i common acute leukemia antigen (CD10). Pored navedenih, pro-B ćelije eksprimiraju i specifične pan-B antigene CD45 (CD220) i CD43, CD19 i CD79a koji se zadržavaju u kasnijim stadijumima sazrevanja B-limfocita. Raniji B-limfocitni prekursori eksprimiraju citoplazmatski, a kasniji prekursori površinski CD22. Iz prekursorskog pro-B limfocita nastaje nezreli B-limfocit koji eksprimira površinski IgM i antigene CD19, CD10, CD40 i CD45. Zreli naivni B-limfocit je krajnji stadijum antigen-nezavisnog razvoja B-limfocita. Naivni B-limfocit gubi CD10 i TdT, a eksprimira pan-B-limfocitne antigene (CD19, CD20, CD22, CD40 i CD79a), molekule MCH klase II, površinske Ig i receptore komplementa (CD21,CD35) i CD44. Deo naivnih B-limfocita eksprimira i pan-T limfocitni antigen CD5, a njihovi površinski imunoglobulini reaguju sa autoantigenima (12). Najčešće CD5 pozitivne limfoproliferativne bolesti su hronična limfocitna leukemija (40%) i mantle cell limfom (80%), dok je učestalost CD5 pozitivnih de novo DLBCL značajno manja

(17). Svi navedeni molekuli na površini B-limfocita imaju značajnu ulogu u razvoju i funkciji ovih ćelija i kontaktu sa drugim ćelijama i strukturama u njihovoj mikrookolini.

Antigen-zavisna faza razvoja B-limfocita se odvija u sekundarnim limfnim organima (limfne žlezde, slezina, limfno tkivo u mukozi digestivnog-MALT i respiratornog-BALT trakta). U primarnom, T-ćelijski nezavisnom, imunom odgovoru B-limfociti se transformišu u IgM-pozitivne blastne ćelije (imunoblasti) koji proliferišu i sazrevaju u plazmocyte koji secerniraju IgM. U toku sazrevanja do plazmocita gubi se ekspresija površinskog IgD i pan-B limfocitnih antigena. Limfoproliferativne bolesti sa IgM-pozitivnim limfoplazmocitima su limfoplazmocitni limfom i Waldenstromova makroglobulinemija. Kasni primarni i sekundarni imuni odgovor se zasniva na razvoju naivnih B-limfocita u kontaktu sa T-ćelijski zavisnim antigenima sa kojima se sreću u germinalnom centru limfnih folikula. Proliferišući IgM-pozitivni limfoblasti naseljavaju germinalni centar gde se sreću sa antigenom posredstvom folikulskih dendritičnih ćelija, a zatim sazrevaju u centroblaste. Ove ćelije ne ekspimiraju sIg i bcl-2 protein, a javlja se ekspresija bcl-6 gena. Bcl-6 protein je cink finger transkripcioni faktor koji je ekspimiran samo na ćelijama germinalnog centra (centroblasti i centroцитi). Centroblasti posle somatske mutacije varijabilnog (V) regiona Ig gena pomognutog bcl-6 prometerom stižu afinitet prema kontaktnom antigenu i prelaze u centrocite koji stvaraju svetlu zonu germinativnog centra. Centroцитi kod kojih somatske mutacije Ig gena nisu povećale specifični afinitet prema antigenu podležu apoptozi, a kvalitetni centroцитi prezentuju antigen T-limfocitima. Kontakt sa folikularnim dendritičnim ćelijama preko CD23 antigena ubrzava diferencijaciju u plazmocyte, a kontakt sa T-limfocita preko CD40 liganda stvaranje specifičnih memorijskih ćelija (16)(slika 1). Folikularni limfom i neki oblici DLBCL sa translokacijom t(14:18)(q32;q21) nemaju normalnu promenu ekspresije bcl-2 gena i ne podležu fiziološkoj apoptozi u germinalnom centru (17).

Oko svetle zone germinalnog centra locirana je asimetrična plaštana (mantle) zona. Antigen specifične B-ćelije stvorene u reakciji germinalnog centra napuštaju folikule i sele se u mantle zonu formirajući marginalnu zonu. Marginalna zona je posebno uočljiva u mezenterijalnim limfnim žlezdama, Peyerovim pločama i slezini. B-ćelije marginalne zone imaju nepravilna jedra slična centroцитnim, ali sa obilnijom i jasnijom citoplazmom. B-ćelije marginalne zone iz slezine i Peyerovih ploča imaju mutiran gen za Ig varijabilni region i pri ponovnom susretu sa antigenom brzo produkuju antigen specifične plazmocyte i memorijske B-

ćelije. Memorijski B-limfociti se mogu naći u perifernoj krvi gde mogu biti IgM i CD5 pozitivne. Tumori sa ovom populacijom daju limfom splenične marginalne zone (12,17).

Plazmociti koji produkuju IgA i IgG nakupljaju se u meduli limfnog čvora dok deo prekursora plazma ćelija napušta limfni čvor i seli se u kosnu srž. Plazma ćelijama kosne srži nedostaje sIg i pan-B ćelijski antigeni, a sadrže citoplazmatske IgG i ekspimiraju CD38 i CD138, antigene važne za adheziju na stromu kosne srži. Limfoproliferativne bolesti iz ovog ćelijskog pula su plazmocitom, mijelom, bolest odlaganja monoklonskih imunoglobulina, bolest teških lanaca (12,16).

U MALT (Peyerove ploče, Waldeyerov prsten, mezenterijalne limfne žlezde) dešava se jednak odgovor na antigen, ali B-ćelije završne faze razvoja i plazmociti radije ostaju na ovim lokacijama nego što se sele u udaljene limfne žlezde ili kosnu srž. MALT se karakteriše reaktivnim folikulima sa germinalnim centrima i jasnim marginalnim zonama i brojnim plazma ćelijama u lamina propria. B-ćelije marginalne zone u normalnom MALT tipično infiltrišu površni epitelijum i formira limfoepitelijum. MALT limfomi imaju somatski mutirane Ig gene (17).

Poznavanje razvojnih etapa B i T limfocita i elemenata imunog odgovora, mogućnost imunofenotipizacije razvojnih stadijuma i povezanost imunofenotipa sa genskim promenama je poslužilo kao osnova za dinamični proces klasifikacije NHL.

1.3.3. Klasifikacija NHL

Pokušaji da se limfomi klasifikuju datiraju još od ranih 70-tih godina prošlog veka (18) (tabela 2.). Naime prve klasifikacije koje su samo uključivale morfologiju ćelija bile su Lukes-Collinsova i Rappaportova, a nakon toga je 1975. Lennert modifikovao ovu klasifikaciju u Kielu, gradu po kojem je i dobila ime (19). Dvadesetak godina kasnije International Lymphoma Study Group je stvorila moderne osnove za današnje klasifikacije stvarivši REAL (Revisited European and American Lymphoma) klasifikaciju (12). Ova klasifikacija uključuje morfologiju, imunofenotip, hromozomsko-genske promene i kliničke karakteristike. Dalja saznanja u ovoj oblasti dovela su do potrebe stvaranja nove klasifikacije. Svetska zdravstvena organizacija (WHO) je napravila ovu klasifikaciju 2001. godine (20).

Predominating component cell(s)	Rappaport classification	"Old classification"
Primitive reticular cell	Malignant lymphoma, reticulum cell type, undifferentiated*	Large cell lymphosarcoma; reticulum cell sarcoma
Histiocyte	Malignant lymphoma, reticulum cell type, histiocytic*	
	[Malignant lymphoma Hodgkin's type*] †	
Histiocyte and lymphocyte	Malignant lymphoma, mixed cell type (histiocytic-lymphocytic)	Large cell lymphosarcoma; lymphoblastic lymphosarcoma
Lymphocytic cells Poorly differentiated lymphocyte	Malignant lymphoma, lymphocytic type, poorly differentiated*	
Differentiated lymphocyte	Malignant lymphoma, lymphocytic type, well-differentiated*	Small cell lymphosarcoma; lymphocytic lymphosarcoma
*Malignant lymphomas with follicular pattern have been integrated into this classification and are designated by adding follicular to the cytologically appropriate term.		(Giant) follicular lymphoma

Tabela 2: Istorijske klasifikacije limfoma (18)

WHO klasifikacija (20) izdvaja pet kategorija limfoproliferativnih bolesti: neoplazme prekursorskih B i T ćelija, neoplazme zrelih B-ćelija, neoplazme zrelih T/NK ćelija, Hodgkinov limfom i limfoproliferativne bolesti udružene sa imunodefijencijom. Klasifikacija uključuje pedesetak različitih entiteta i varijanti. WHO podela razlikuje i tri glavne kategorije u odnosu na kliničku prezentaciju: dominantno diseminovane bolesti koje često zahvataju koštanu srž, primarno ekstanodalni limfomi i bolesti sa nodalnom lokalizacijom i čestom diseminacijom. Poslednja modifikacija WHO klasifikacije napravljena je 2008. godine (21). Iako poboljšana i dalje uključuje podtipove kod kojih se očekuju dalje podele kao što su DLBCL-not otherwise specified (NOS) i periferni T-ćelijski limfom-NOS (PTCL-NOS), dve granične kategorije B-ćelijski limfom sive zone između DLBCL i BL i limfom sive zone između DLBCL i HL, kao i nekoliko nedovoljno definisanih entiteta (22) (tabela 3.). Sve ovo govori u prilog činjenici da će se klasifikacije u narednim godinama menjati i dopunjavati.

Mature B-cell neoplasms
Chronic lymphocytic leukemia/small lymphocytic lymphoma
B-cell prolymphocytic leukemia
Splenic marginal zone lymphoma
Hairy cell leukemia
Splenic lymphoma/leukemia, unclassifiable*
Splenic diffuse red pulp small B-cell lymphoma*
Hairy cell leukemia variant*
Lymphoplasmacytic lymphoma
Waldenström macroglobulinemia
Heavy chain diseases
α Heavy chain disease
γ Heavy chain disease
μ Heavy chain disease
Plasma cell myeloma
Solitary plasmacytoma of bone
Extrasosseous plasmacytoma
Extranodal marginal zone lymphoma of mucosa-associated lymphoid tissue (MALT lymphoma)
Nodal marginal zone lymphoma
Pediatric nodal marginal zone lymphoma*
Follicular lymphoma
Pediatric follicular lymphoma*
Primary cutaneous follicle centre lymphoma
Mantle cell lymphoma
Diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL), NOS
T-cell/histiocyte rich large B-cell lymphoma
Primary DLBCL of the CNS
Primary cutaneous DLBCL, leg type
EBV-positive DLBCL of the elderly*
DLBCL associated with chronic inflammation
Lymphomatoid granulomatosis
Primary mediastinal (thymic) large B-cell lymphoma
Intravascular large B-cell lymphoma
ALK-positive large B-cell lymphoma
Plasmablastic lymphoma
Large B-cell lymphoma arising in HHV8-associated multicentric Castlemann disease
Primary effusion lymphoma
Burkitt lymphoma
B-cell lymphoma, unclassifiable, with features intermediate between diffuse large B-cell lymphoma and Burkitt lymphoma
B-cell lymphoma, unclassifiable, with features intermediate between diffuse large B-cell lymphoma and classical Hodgkin lymphoma
Mature T-cell and NK-cell neoplasms
T-cell prolymphocytic leukemia
T-cell large granular lymphocytic leukemia
Chronic lymphoproliferative disorder of NK cells*
Aggressive NK-cell leukemia
Systemic EBV-positive T-cell lymphoproliferative disease of childhood
Hydroa vacciniforme-like lymphoma
Adult T-cell leukemia/lymphoma
Extranodal NK/T-cell lymphoma, nasal type
Enteropathy-associated T-cell lymphoma
Hepatosplenic T-cell lymphoma
Subcutaneous panniculitis-like T-cell lymphoma
Mycosis fungoides
Sézary syndrome
Primary cutaneous CD30 ⁺ T-cell lymphoproliferative disorders
Lymphomatoid papulosis
Primary cutaneous anaplastic large cell lymphoma
Primary cutaneous γδ T-cell lymphoma
Primary cutaneous CD8 ⁺ aggressive epidermotropic cytotoxic T-cell lymphoma*
Primary cutaneous CD4 ⁺ small/medium T-cell lymphoma*
Peripheral T-cell lymphoma, NOS
Angioimmunoblastic T-cell lymphoma
Anaplastic large cell lymphoma, ALK-positive
Anaplastic large cell lymphoma, ALK-negative*

NOS indicates not otherwise specified; ALK, anaplastic lymphoma kinase; HHV8, human herpesvirus 8; and NK, natural killer.

*These histologic types are provisional entities for which the WHO Working Group felt there was insufficient evidence to recognize as distinct diseases at this time.

†These lesions are classified according to the leukemia or lymphoma to which they correspond.

Tabela 3. Klasifikacija Svetske zdravstvene organizacije iz 2008. (22)

Hodgkin lymphoma
Nodular lymphocyte predominant Hodgkin lymphoma
Classical Hodgkin lymphoma
Nodular sclerosis classical Hodgkin lymphoma
Lymphocyte-rich classical Hodgkin lymphoma
Mixed cellularity classical Hodgkin lymphoma
Lymphocyte-depleted classical Hodgkin lymphoma
Histiocytic and dendritic cell neoplasms
Histiocytic sarcoma
Langerhans cell histiocytosis
Langerhans cell sarcoma
Interdigitating dendritic cell sarcoma
Follicular dendritic cell sarcoma
Fibroblastic reticular cell tumor
Intermediate dendritic cell tumor
Disseminated juvenile xanthogranuloma
Posttransplantation lymphoproliferative disorders (PTLDs)
Early lesions
Plasmacytic hyperplasia
Infectious mononucleosis-like PTLD
Polymorphic PTLD
Monomorphic PTLD (B- and T/NK-cell types)†
Classical Hodgkin lymphoma type PTLD†

NOS indicates not otherwise specified; ALK, anaplastic lymphoma kinase; HHV8, human herpesvirus 8; and NK, natural killer.

*These histologic types are provisional entities for which the WHO Working Group felt there was insufficient evidence to recognize as distinct diseases at this time.

†These lesions are classified according to the leukemia or lymphoma to which they correspond.

Tabela 3. Klasifikacija Svetske zdravstvene organizacije iz 2008. (nastavak) (22)

1.3.4. Klinička prezentacija i određivanje kliničkog stadijuma (staging)

Klinička slika bolesnika sa NHL zavisi od mesta zahvaćenog limfomom, prirodnog toka određenog histološkog podtipa i prisustva B simptoma (gubitak telesne mase više od 10% za manje od šest meseci, noćno preznojavanje, povišene temperature preko 38C). Dve trećine bolesnika u kliničkoj slici ima bezbolnu limfadenomegaliju, koja se kod limfoma niskog stepena malignosti ispoljava kao spor rast limfnih čvorova, čak sa povremenim smanjivanjem istih, dok su kod agresivnih podtipova simptomi fulminantniji i zahtevaju bržu dijagnostiku i početak lečenja (1).

Za razliku od većine solidnih tumora gde uznapređovaliji stadijum bolesti obavezno znači i lošiju prognozu, kod NHL to nije uvek slučaj. NHL se klasifikuju prema Ann-Arbor staging sistemu koji je dizajniran pre više od 40 godina (tabela 4.) (23).

Kompjuterizovana tomografija (CT) grudnog koša, abdomena i male karlice su standardne pretrage za svakog bolesnika sa limfomom. Magnetna rezonanca je superiornija u odnosu na CT kod detektovanja prisustva bolesni u centralnom nervnom sistemu (CNS) i kostima (24,25), iako se ne preporučuje kao rutinska metoda određivanja stadijuma bolesti, već samo kao dopuna u slučaju kliničke sumnje na proširenost bolesti u navedenim organima.

Stadijum	Opis stadijuma
I	Zahvaćena jedna grupa limfnih žlezda ili pojedinačnog ekstralimfatičnog organa ili tkiva (IE)
II	Zahvaćenost dve ili više grupa limfnih žlezda sa iste strane dijafragme (II) ili lokalna zahvaćenost ekstralimfatičnog organa ili tkiva (IIE)
III	Zahvaćenost više grupa limfnih žlezda sa obe strane dijafragme (III) ili lokalna zahvaćenost ekstralimfatičnog organa ili tkiva (IIIE) ili slezine (IIIS) ili oba (IIISE)
IV	Difuzna ili diseminovana zahvaćenost jednog ili više ekstralimfatičnih organa, uključujući jetru i kosnu srž, sa ili bez zahvaćenosti limfnih žlezda.

Tabela 4.: Ann Arbor stadijumi limfoma (23)

Poslednjih desetak godina funkcionalni imidžing, odnosno 2-(18F)fluoro-2-deoksi-D-glukoza (FDG) PET/CT je zauzeo važnu ulogu u dijagnostici i praćenju odgovora kod bolesnika sa limfomom. Različiti podtipovi imaju različitu avidnost za FDG, pa tako DLBCL, FL i mantle-cell limfomi imaju stalnu FDG avidnost, dok su limfomi marginalne zone, limfom malih limfocita i PTCL promenljive avidnosti (26). Preterapijski PET/CT može bolesnika premestiti bolesnika u viši stadijum bolesti u odnosu na CT. Ipak najveću korist od PET/CT je na kraju lečenja kada se na osnovu CT ne može proceniti da li je bolesnik u kompletnoj remisiji kada perzistiraju uvećani limfni čvorovi (1, 27).

Patohistološki pregled bioptata limfnog čvora je najvažniji postupak u dijagnozi limfoma. Najpouzdaniji je pregled ekstirpiranog limfnog čvora iz kojeg se može dobiti najveći broj patohistoloških preparata i najbolje videti stepen narušenosti arhitekture limfnog čvora. Optimalno je da se hirurški odstrani ceo limfni čvor jer fragmentacija limfnog čvora otežava patohistološku ekspertizu. Materijal dobijen klinastom resekcijom ili core biopsijom limfnog čvora, koja se sve češće koristi u dijagnostici limfoproliferativnih bolesti, nije idealan za patohistološki i imunohistološki pregled jer je materijal fragmentiran i veoma često nedovoljan za kvalitetnu analizu. Pre biopsije je vrlo važno izabrati odgovarajući limfni čvor za biopsiju. Najbolje je biopsirati limfni čvor čije je uvećanje najranije registrovano ili čiji je rast najbrži. Biopsijom kosti dobija se materijal za patohistološku procenu zahvaćenosti kosne srži limfomom, a povremeno, kada je limfom zahvatio samo kosnu srž, ili kada je u pitanju medijastinalna ili intraabdominalna lokalizacija limfoma biopsija kosti služi i za inicijalnu dijagnozu (12).

Patohistološki pregled bioptata limfnog čvora ili drugih organa i tkiva je prvi korak u dijagnostici DLBCL i diferencijalnoj dijagnozi limfoproliferativnih bolesti, ali u najvećem broju slučajeva nedovoljan za decidnu i tačnu dijagnozu. Imunofenotipizacijom se poboljšava tačnost i reproducibilnost dijagnoze, pa je imunohistohemijski pregled specifičnim monoklonskim antitelima standardna procedura u dijagnostici DLBCL i diferencijalnoj dijagnozi limfoproliferativnih bolesti (28). U tabeli 5. su prikazani najčešći imunohistohemijski markeri koji se koriste u diferencijalnoj dijagnozi B-ćelijskih limfoma.

Tip limfoma	CD 20	CD 79a	CD 10	Bcl-6	CD5	CD 23	CyclinD1	Bcl-2	Ostalo
Folikularni limfom	+	+	+/-	+	-	-/+	-	+/-	MUM1 -
Sitnoćelijski limfom	+	+	-	-	+	+	-	+	
Limfoplazmocitni lim.	+	+	-	-	-	-	-	+	CD25 +/-
Limfom marginalne zone	+	+	-	-	-	-	-	+	CD 11 c +/-
Splen. Limfom m. zone	+	+	-	-	-	-	-	+	DBA 44 +/-
MALT	+	+	-	-	-	-	-	+	CD 11c +/-
Mantle cell limfom	+	+	-	-	+	-	+	+	MUM1 -
DLBCL	+	+	+/-	+	+/-	-/+	-	+/-	MUM1 -/+
Burkitt limfom	+	+	+	+	-	-	-	-	MUM1 -
Multipli mijelom	-/+	+/-	-	-	-	-	-/+	-	CD138 +
Hairy cell leukemija	+	+	-	-	-	-	-/+	+/-	TRAP +

Tabela 5.: Imunofenotip B-ćelijskih non-Hodgkin limfoma

1.4. Difuzni B-krupnoćelijski limfom

Difuzni B-krupnoćelijski limfom (DLBCL) je najučestaliji limfom u Evropi i Severnoj Americi. DLBCL čini oko 35% svih limfoma u svetu i predstavlja oko 90% agresivnih B-ćelijskih NHL. Zbog svoje agresivnosti, ima brz klinički tok i ukoliko se ne leči dovodi do smrtnog ishoda. Novija saznanja dovela su do podele ovog tipa limfoma na velik broj podtipova koji imaju različitu kliničku prezentaciju, različitu prognozu i u poslednj vreme drugačiji terapijski pristup (29, 30).

1.2.1. Dijagnoza

Klinička slika DLBCL je nespecifična i veoma zavisi od lokalizacije tumorske mase. Obično se bolesnici javljaju zbog brzorastuće tumorske mase koja može biti poreklom iz limfnih čvorova, kada govorimo o nodalnoj lokalizaciji ili u nekom organu kada govorimo o ekstranodalnom limfomu. Dijagnoza se postavlja biopsijom, ili uvećanog limfnog čvora, ili ekstranodalnog organa zahvaćenog tumorskim procesom.

Patohistološki DLBCL je neoplazma velikih B limfocita, difuznog rasta, sa veličinom jedra jednakom ili većom od jedra normalnog makrofaga, odnosno dva puta većeg od jedra normalnog limfocita. Na osnovu brojnih kliničkih, morfoloških, bioloških i citogenetskih studija Svetska Zdravstvena Organizacija (WHO) je podelila DLBCL na velik broj različitih podtipova (30). Tri su osnovne morfološke varijante: centroblastni, imunoblastni i anaplastični, dok su analizom profila genske ekspresije (GEP) indentifikovana zasad dva podtipa: podtip sa ćelijama sličnim ćelijama germinalnog centra (germinal centre B-cell like, GCB) i podtip sa ćelijama slični aktiviranim B-ćelijama (activated B-cell like, ABC) (29). Uzevši u obzir ove analize kao i određene kliničke, epidemiološke i etiološke parametre WHO je 2008. izdala novu podelu hematoloških maligniteta, koja uključuje velik broj podtipova DLBCL o čemu će nadalje biti više reči.

1.2.2. Podela DLBCL

1.2.2.1. DLBCL-drugačije neoznačen (DLBCL-not otherwise specified, NOS)

DLBCL, NOS čini 25-30% NHL odraslih u zemljama zapadnog sveta, dok je procenat u zemljama u razvoju još veći. Medijana pojavljivanja je u sedmoj deceniji života, ali se može javiti i u dece i mlađih ljudi i nešto je češći kod muškaraca (31,32).

1.2.2.1.1. Etiologija

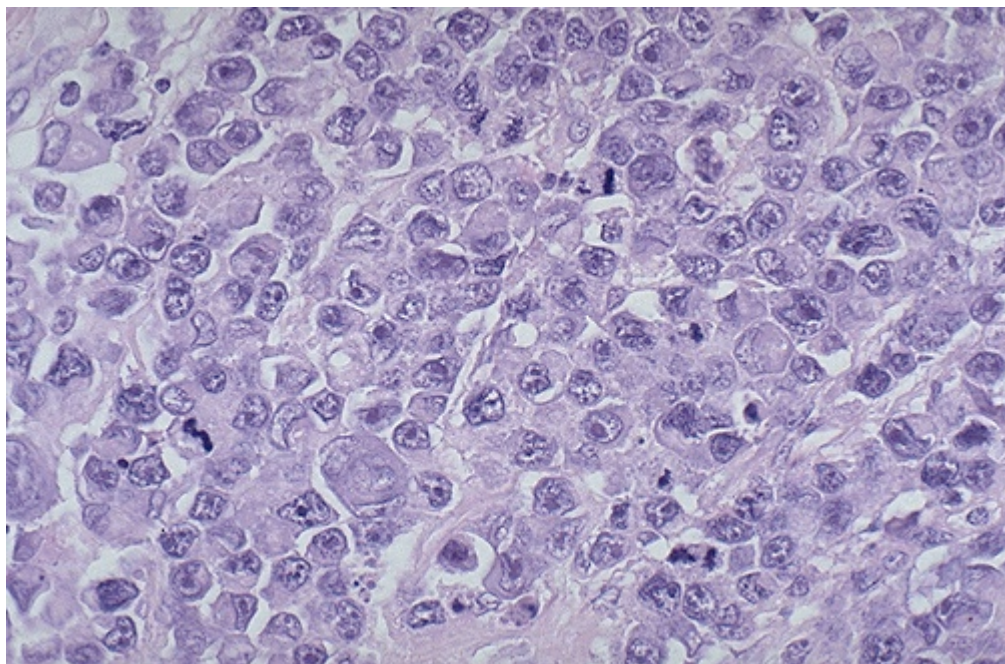
Etiologija DLBCL, NOS je nepoznata. Može se javiti de novo ili biti posledica transformacije limfoma niže malignosti: hronične limfocitne leukemija/limfoma malih limfocita (HLL/SLL), folikularnog limfoma (FL), limfoma marginalne zome (MZL) i Hodgkinovog limfoma sa nodularnom predominacijom limfocita (NLPHL). Imunodeficijencija je značajan faktor za razvoj DLBCL, NOS, pa su tako DLBCL, NOS koji se javljaju kod imunosuprimiranih bolesnika češće pozitivni na Epstein-Barr virus (EBV), dok se kod imunokompetentnih bolesnika sa DLBCL, NOS EBV infekcija viđa u oko 10% slučajeva (33,34).

1.2.2.1.2. Klinička slika

Bolesnici se najčešće javljaju zbog brzorastućeg tumora. Više od polovine bolesnika su u I i II stadijumu po Ann Arboru (23) i većina je bez simptoma, a kada postoje simptomi zavise od mesta pojave tumora. DLBCL, NOS može biti nodalnog porekla, ili ektranodalna u oko 40% slučajeva. Najčeša ektranodalna lokalizacija je gastrointestinalni trakt, dok su druge učestale lokalizacije kost, testis, slezina, Walderejev prsten, pljuvačne žlezde, štitna žlezda, bubreg i nadbubrežna žlezda. Kosna srž je zahvaćena u 11-27% slučajeva i najčešće se patohistološki razlikuje, odnosno pokazuje prisustvo limfoma niskog stepena malignosti (35-38).

1.2.2.1.3. Morfologija

U limfnim čvorovima zahvaćenim DLBCL, NOS uočava se difuzna proliferacija velikih limfoidnih ćelija koje brišu normalnu arhitekturu limfnog čvora. Ređe, kada se javi parcijalno zahvatanje limfnog čvora, ono može biti interfolikularnog rasporeda ili retko sinusoidalnog rasporeda. Često se uočavaju sklerotični delovi. (Slika 1.)



Slika 1. Difuzni B-krupnoćelijski limfom. HE preparat

Tri su osnovne morfološke varijante DLBCL, NOS: centroblasni, imunoblasni i anaplastični (29). Centroblasni podtip je najčešća morfološka varijanta DLBCL, NOS. Centroblasti su srednje veličine ili velike limfoidne ćelije sa ovalnim ili okruglim jedrom koje sadrži fini hromatin. Prisutna su i dva do četiri jedarceta vezana za membranu. Citoplazma je najčešće oskudna. Ćelije centoblasnog DLBCL su najčešće polimorfne sa prisustvom centoblasta i imunoblasta, dok je u pojedinim slučajevima tumor sastavljen isključivo od centoblasta (39,40). Imunoblasnu varijantu DLBCL sačinjavaju imunoblasti, preko 90% ćelija. To su ćelije sa jednim centralno postavljenim jedrom sa nešto većom količinom bazofilne citoplazme. Imunoblasti sa plazmocitoidnom diferencijacijom takođe mogu biti prisutni i ponekad je to problem u diferencijalnoj dijagnozi sa plazmablasnim limfomom ili multiplim mijelomom nezrelih ćelija (35). Imunoblasna varijanta

ima nešto lošiju prognozu (41). Anaplastična varijanta se karakteriše velikim, odnosno džinovskim ovalnim ćelijama, sa bizarnim pleomorfnim nukleusima koje često mogu ličiti na Reed-Sternbergove ćelije ili ćelija ALCL. Ćelije često imaju sinusoidalni i kohezivan raspored, što takođe može biti problem u diferencijalnoj dijagnozi sa loše diferencijalnim karcinomom (35,42).

1.2.2.1.4. Imunofenotip

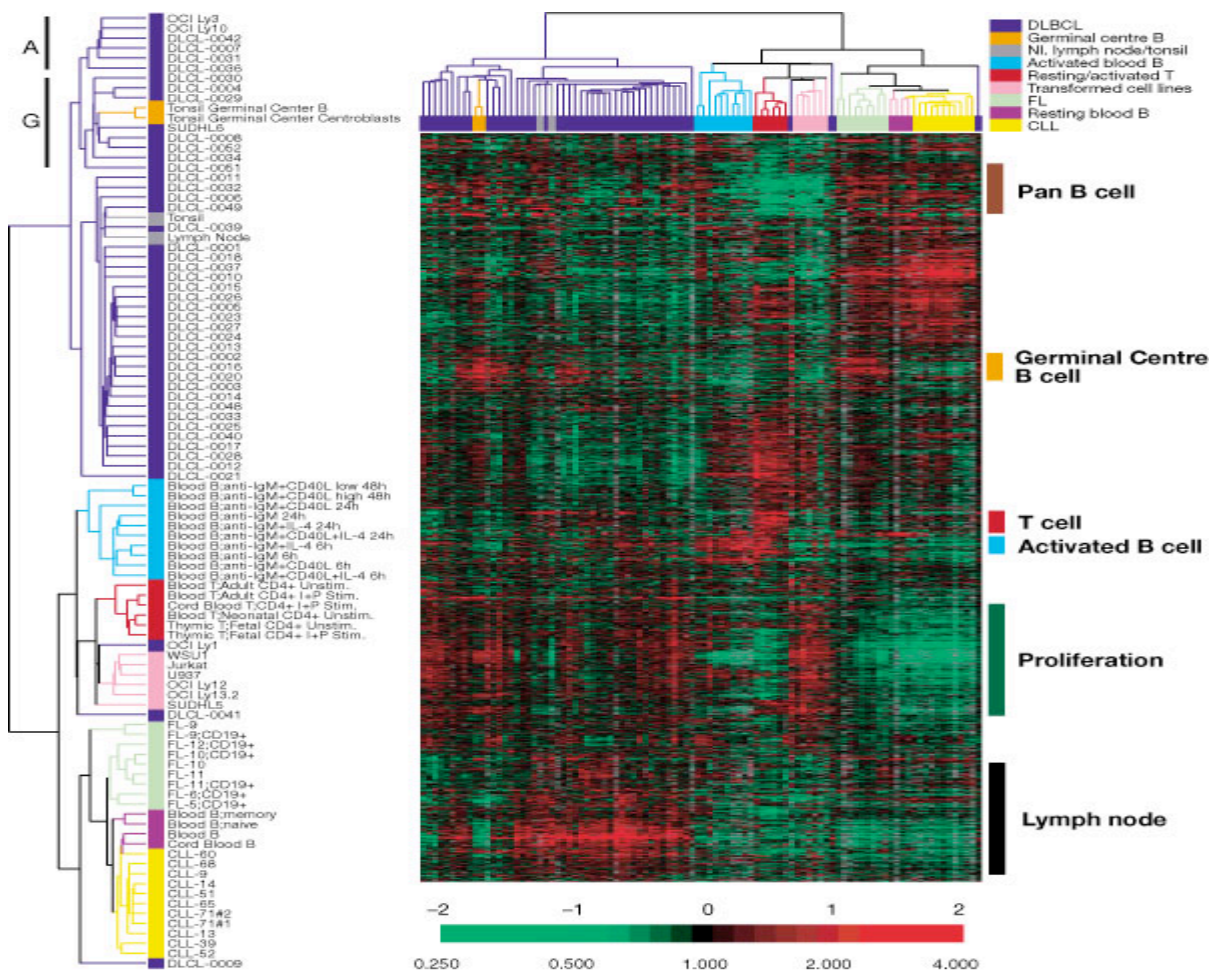
Ćelije DLBCL, NOS ekspresiraju pan B-ćelijske markere CD19, CD20, CD22 i CD79a, ali povremeno neki od ovih markera mogu nedostajati. CD20 je prisutan u 99% slučajeva. Površinski imunoglobulini, od kojih je načešći IgM, mogu biti prisutni u 50-75% (35,43,44). CD30 je najčešće ekspresiran u anaplastičnoj varijanti. U 10% slučajeva neoplastične ćelije ekspresiraju CD5 antigen. Incidencija ekspresije CD10, IRF4/MUM1 i BCL6 markera je različita. Ekspresija CD10 je nađena u 30-60%, BCL6 60-90%, dok je ekspresija IRF4/MUM1 nađena u 35-65% slučajeva (35). Visoka ekspresija FOXP1 markera je prisutna u slučajevima koji nisu GCB-like fenotipa i koji ekspresiraju IRF4/MUM1 i BCL6 u odsustvu translokacija (14;18) (45). Proliferacioni indeks Ki67 je obično visok, najčešće visoko preko 40%, a može biti viši od 90% (46,47). P53 je ekspresiran u 20-60% slučajeva (35).

1.2.2.1.5. Genetika

Genetske promene na receptoru za antigen nisu retke. Klonalni rearanžman na genima za teške i lake lance imunoglobulina se često detektuje (35). Somatske hipemutacije uočene su na genima PIMI, MYC, RHOH/TTF (ARHH) i PAX5, najčešće su multiple u detektuju se u više od 50% slučajeva DLBCL. Smatra se da učestvuju u procesu onkogeneze kod ovog podtipa limfoma (35, 48). Najčešće translokacije viđaju se u 3q27 regionu, delu na kojem je BCL6 gen i identifikuju se u oko 39% slučajeva kod DLBCL. Translokacija (14;18) za BCL2 gen, tipična za folikularni limfom, viđa se u 20-30% slučajeva DLBCL. Ekspresija MYC gena uočava se u oko 10% slučajeva. Oko 20% MYC+ slučajeva takođe ekspresira i rearanžman za BCL2 i/ili BCL6 gene. Ovakvi slučajevi obično imaju Ki67 indeks preko 90% i svrstavaju se u grupu neklasifikovanih limfoma između DLBCL i Burkitt limfoma (35).

1.2.2.1.5.1. Profil genske ekspresije (GEP)

Pre 13 godina Alizadeh i saradnici identifikovali su dve podgrupe DLBCL na osnovu GEP analiza (49): GCB-like (45-50% slučajeva) i drugu grupu ABC-like (Slika 2.). Njihovo otkriće potvrđeno je u još jednom istraživanju (50). U početku je bila definisana i treća grupa, koja se ne može svrstati ni u jednu od ove dve podgrupe, ali nije bila poseban entitet nego je bila mešavina osobina ove dve velike podgrupe (51). Dve definisane grupe imaju različite hromozomske aberacije. ABC grupa ima najčešće višak hromozoma 3q, 18q21-q22 i gubitak dela hromozoma 6q21-q22, dok GCB grupa ima u višku deo hromozoma 12q12. BCL2 rearanžama se češće videju kod GCB podgrupe (52,53,54). Morfološki imunoblastni DLBCL češće pripada ABC podgrupi (35).



Slika 2. GEP analiza DLBCL (49)

1.2.2.1.6 Imunohistohemijski surogati profila genske ekspresije

Obzirom da je svaka genska analiza skupa i nije dostupna svim laboratorijama, nekoliko autora je pokušalo da pronađe imunohistohemijski surogat za određivanje podtipa DLBCL, odnosno podjelu na GCB-like i ABC-like, odnosno nonGCB podtipove. Hans i saradnici (55) su pokušali korišćenjem tri antitela CD10, BCL6 i IRF4/MUM1 da diferenciraju ova dva podtipa. Svi slučajevi koji su CD10+ su GCB-like, kao i slučajevi koji su CD10-, a BCL6+ i MUM1-, dok su ostali ABC-like podtipovi. Iako veoma često korišćen, Hans algoritam ne korelira u potpunosti sa GEP analizom (50). Dodavanjem BCL2 i Cyclina D2 bi moglo pomoći u diferenciranju podtipa (56).

1.2.2.2. Krupnoćelijski B-limfom bogat T-ćelijama/histiocitima (T cell/histiocyte-rich large B-cell Lymphoma, TCHRLBCL)

Krupnoćelijski B-limfom bogat T-ćelijama/histiocitima (TCHRLBCL) karakteriše prisustvo relativno malog broja rasutih, atipičnih, velikih B-ćelija ugrađenih u obilan infiltrat T-ćelija i često histiocita (35). TCHRLBCL se obično dijagnostikuje okod muškaraca srednje životne dobi i čini manje od 10% svih DLBCL.

1.2.2.2.1. Klinička slika

TCHRLBCL najčešće zahvata limne čvorove, ali zahvatanje kosne srži, jetre i slezine se često viđaju kod ovog podtipa. Bolesnici se najčešće javljaju sa pojavom febrilnosti, slabosti i hepatosplenomegalijom. Više od 50% su u uznapredovalom stadijumu i imaju srednji do visok IPI skor. Bolest je često refrakтерна na standardnu terapiju (35).

1.2.2.2.2. Morfologija

Difuzni ili nejasno nodularni infiltrat koji briše normalnu građu limfnog čvora je karakteristika TCHRLBCL. Sastavljen je od razbacanih velikih B-ćelija u plaštu sitnih T-limfocita i manjem ili većem broju histiocita. Ovakva slika čest je problem u diferencijalnoj dijagnozi između

Hodgkinovog limfoma sa nodularnom predominacijom limfocita (NLPHL), mada su obično kod TCHRLBCL očiglednije su razlike u veličini ćelija, iako se često pomešaju sa Reed-Sternbergovim i/ili Hodgkinovim ćelijama (35,57). Pozadina infiltrata su T-limfociti, dok se eozinofili i plazma ćelije ne viđaju. Osim toga što su problem u diferencijalnoj dijagnozi zabaleženi su slučajevi histološke transformacije NLPHL u TCHRLBCL, u kojem je infiltrat potpuno difuzan i patohistološki izgled nije moguće razlikovati od de novo TCHRLBCL (35). Kada je zahvaćena slezina TCHRLBCL obično se vidi multifokalno i/ili mikronodularno zahvatanje bele pulpe, dok se kod jetre limfomski fokusi nalaze u portalnim prostorima (57). U recidivu bolesti, broj atipičnih ćelija je veći, kada histološka slika više podseća na klasični DLBCL. Ova pojava najavljuje lošu prognozu (35,58). Određen broj studija su prepoznale limfome sa istom morfologijom, ali bez histiocita u infiltratu i postavile pitanje da li je to isti entitet sa TCHRLBCL. Dalja istraživanja i novije klasifikacije će odgovoriti na dato pitanje (59).

1.2.2.2.3. Imunofenotip

Velike, atipične ćelije TCHRLBCL ekspimiraju B-ćelijske markere i BCL6, varijabilno BCL2 i EMA, dok CD15, CD30 i CD138 ne ekspimiraju. Pozadinski infiltrat sačinjavaju različit broj CD68+ histiocita i CD3 i CD5 pozitivne T-ćelije. Odsustvo IgD pozitivnih mantle ćelija i mreže folikularnih dendritičnih ćelija, je takođe od dijagnostičke pomoći u razlikovanju TCHRLBCL od NLPHL (60).

1.2.2.2.4. Genetika

Tumorske ćelije imaju isti rearanžman za gene za imunoglobuline kao i ćelije germinalnog centra. Studije genske hibridizacije pokazale su veći stepen genske nestabilnosti kod NLPHL nego kod TCHRLBCL.

1.2.2.3. Primarni difuzni B-krupnoćelijski limfom centralnog nervnog sistema (CNS DLBCL)

Primarni difuzni B-krupnoćelijski limfom centralnog nervnog sistema (CNS DLBCL) predstavlja limfom nastao u mozgu ili u oku. U ovu grupu ne spadaju limfomi dure, intravaskularni DLBCL, limfomi sa sistemskim zahvatanjem, limfomi koji sekundarno progrediraju u CNS, kao i limfomi nastali zbog imunodeficientnih stanja. CNS DLBCL predstavljaju manje od 1% svih NHL i oko 2-3% tumora mozga. Medijana starosti je oko 60 godina i nešto je učestaliji kod muškaraca.

1.2.2.3.1. Etiologija

Epstein-Barr virus je obično negativan kod CNS DLBCL kod imunokompetentog bolesnika. Prisustvo ili odsustvo određenih citokina i njihovih receptora, pre svih CXCL13, može korelirati sa mestom nastanka tumora (61). Tumorske i endotelne ćelije intereaguju aktivacijom IL4 i stvaraju povoljan milje za tumorski rast (62). CNS DLBCL pokazuje tendenciju pojave na mestima zaštićenim od imunog sistema (mozak, oko, testis). Velik broj DLBCL CNS-a i testisa pokazuje sniženu ili odsutnu ekspresiju HLA molekula klase I i II što dozvoljava tumorskim ćelijama da izbegnu imunološku odbranu organizma (35,63).

1.2.2.3.2. Klinička slika

Oko 60% CNS DLBCL je lokalizovano supratentorijalno. Između 20-40% slučajeva javljaju se multiple lezije. Na MR snimku CNS DLBCL je obično homogena lezija, ali često praćena i centralnom nekrozom. Leptomeninge su zahvaćene u oko 5% slučajeva. Intraokularni tumori se javljaju u oko 20% svih CNS DLBCL. U 80-90% bolesnika sa DLBCL tokom bolesti javlja se pojava tumora i kontralateralno u oku i/ili u parenhimu mozga. Diseminacija u ekstraneuralna mesta je ekstremno retka i to obično u kosnu srž (35). Fokalni neurološki deficiti su razlog javljanja lekaru u 50-80% bolesnika sa CNS DLBCL. Psihijatrijski simptomi se mogu javiti u oko 20-30% slučajeva, dok se povremeno javljaju i simptomi povišenog intrakranijalnog pritiska. Leptomeningealno zahvatanje obično dovodi do glavobolje ili asimetrične neuropatije kranijalnih nerava. Intraokularni limfomi obično se prezentuju pogoršanjem vida (35) (slika 3.).



Slika 3. Primarni DLBCL CNS-a

1.2.2.3.4. Morfologija

Većina intraparenhimnih limfoma pokazuje difuzan rast, karakteristično tumorske ćelije se nalaze u perivaskularnim prostorima. Tumorske ćelije su obično centroblasti i mogu biti okružene aktiviranim limfocitima, makrofagima, aktiviranim mikroglialnim ćelijama kao i astrocitima. Velike plaže nekroze mogu postojati, naročito u bolesnika koji su lečeni velikim dozama kortikosteroida. Ovaj fenomen se zove „isčezavajući tumor“ („vanishing tumour“) (35).

1.2.2.3.5. Imunofenotip

CNS DLBCL su pozitivni na B-ćelijske markere. CD10 je pozitivan u 10-20% slučajeva, BCL6 u 60-80%, a MUM1 u oko 90% (35). BCL2 ekspresija nezvezana za t(14;18) neretko je prisutna (64).

1.2.2.3.6. Genetika

CNS DLBCL imaju učestale somatske hipermutacije. Učestalost mutacija za VH gene, pre svih VH4/34 ukazuje na antigen-zavisnu proliferaciju. Mutacije takođe zahvataju gene BCL6, PIM1, MYC, RhoH/TTFn i PAX5 (65). Oko 30-40% CNS DLBCL imaju BCL6 vezane translokacije, dok su t(14;18)(q32;q21) i t(8;14)(q24;q32) iznimno retke (64). Česte su delecije 6q i višak na mestu 12q, 22q i 18q21 sa povećanje broj kopija ili pojačanom amplifikacijom BCL2 i MALT1 (66). Homozigotne i heterozigotne delecije zahvataju 9q21 i utiču na CDKN2A/p16 (64). Male delecije zahvataju 6p21.3 regiju i utiču na gubitak ekspresije HLA i i II (63).

1.2.2.4. Primarni kožni difuzni B-krupnoćelijski limfom, tip noge (Primary cutaneous diffuse large B-cell Lymphoma, leg type (PCLBCL))

Primarni kožni difuzni B-krupnoćelijski limfom, tip noge (PCLBCL), je neoplazma koja se inicijalno pojavljuje na koži, najčešće donjih ekstremiteta sačinjena od velikih transformisanih B-ćelija. Predstavlja 4% svih kutanih limfoma i 20% primarni B-ćelijskih kutanih limfoma (67). Najčešći je u sedmoj deceniji života, 3-4 puta češći kod žena (35).

1.2.2.4.1. Klinička slika

PCLBCL, tip noge se pojavljuje kao crvena ili plavo-crvena izraslina na jednoj ili obe potkolenice. Često se tokom bolesti šire na druga ekstrakutana mesta (35).

1.2.2.4.2. Morfologija

Konfluenti slojevi imunoblasta i centroblasta koji čine difuzni, monotoni infiltrat, koji nema tendenciju zahvatanja epidermisa, glavna su karakteristika PCLBCL (35).

1.2.2.4.3. Imunofenotip

Neoplastične ćelije ekspimiraju CD20 i CD79a. Za razliku od primarnog kutanog limfoma folikularnog centra, PCLBCL snažno ekspimirira BCL2, MUM1 i FOX-P1 (35). U oko 10% slučajeva BCL2 i MUM1 su negativni (68). BCL6 je ekspimiran u gotovo svim slučajevima, dok je CD10 najčešće negativan (69).

1.2.2.4.4. Genetika

PCLBCL deli gotovo sve genetske abnormalnosti kao DLBCL, NOS. GEP PCLBCL najčešće pokazuje ABC-like podtip (35).

1.2.2.5. EBV pozitivan difuzni B-krupnoćelijski limfom kod starijih (EBV+ DLBCL)

EBV pozitivan difuzni B-krupnoćelijski limfom kod starijih (EBV+ DLBCL) je EBV+ klonalna proliferacija B-ćelija koja se javlja kod starijih od 50 godina, bez znakova imunodefijencije (70). Veoma retko, slučajevi sličnog limfoma mogu se javiti i kod mladih osoba. U takvim situacijama treba tragati za imunodefijencijom (35). U azijskim zemljama EBV+ DLBCL čini oko 8-10% svih DLBCL (70). Unutar bolesnika sa DLBCL povećava se broj EBV+ slučajeva sa starošću bolesnika, pa tako 20-25% DLBCL kod bolesnika preko 90 godina su EBV+. Medijana starosti je 71 godina dok je odnos muškaraca i žena 1.4:1 (35).

1.2.2.5.1. Etiologija

Smatra se da je za nastanak EBV+ DLBCL odgovorno slabljenje imunološkog sistema što je deo fiziološkog procesa starenja (70).

1.2.2.5.2. Klinička slika

Ekstranodalna prezentacija se javlja u preko 70% slučajeva, najčešće na koži, plućima, tonzilama ili želucu, sa ili bez simultanog zahvatanja limfnih čvorova. Više od polovine bolesnika imaju srednje-visok ili visok rizik prema IPI skoru (35).

1.2.2.5.3. Morfologija

Za razliku od infektivne mononukleoze, kod EBV+ bolesti koje zahvata limfne čvorove, arhitektura zahvaćenog tkiva kod limfoma je zbrisana. Često se vide Hodgkin-like i/ili Reed-Sternberg-like ćelije. Postoje dve varijante EBV+ DLBCL: polimorfna i varijanta sa velikim ćelijama. U polimorfnoj varijanti maligne B-ćelije su na različitom stepenu zrelosti, sa obilnim infiltratom reaktivnih ćelija u mikrookolini. U obe varijante vide se velika polja nekroze (35,70).

1.2.2.5.4. Imunofenotip

CD20 i CD79a su obično pozitivni, BCL6 i CD10 su najčešće negativni, dok je MUM1 često pozitivan. Slučajevi sa imunoblasnom ili plazmablasnom diferencijacijom mogu biti CD20- i imaju detektabilan citoplazmatski imunoglobulin. Neoplastičke ćelije su pozitivne na LMP1 i EBNA-2 u 94% odnosno 28% slučajeva. Varijabilna je ekspresija CD30, dok je CD15 negativan (35,70).

1.2.2.5.5. Genetika

Genetskim analizama se dokazuje klonalost, što je bitno u slučajevima kada je otežana diferencijalna dijagnoza u odnosu na infektivnu mononukleozu kod starijih (35).

1.2.2.6. Difuzni B-krupnoćelijski limfom udružen sa hroničnom inflamacijom (DLBCL-ACI)

Difuzni B-krupnoćelijski limfom udružen sa hroničnom inflamacijom (DLBCL-ACI) je neoplazma koja je takođe vezana za EBV i nastaje zbog inflamacije koja dugo traje. Prototip ovog oboljenja je limfom udružen sa pitoraksom (Pyothorax associated lymphoma-PAL) koji nastaje u pleuralnoj šupljini zbog hroničnog pitoraksa (35). Interval koji prođe od nastanka upalnog oboljenja do razvoja limfoma je obično duži od deset godina. Medijana nastanka PAL je oko 65-70 godine, i više od 12 puta je češći kod muškaraca. Najveći broj slučajeva zabeležen je u Japanu, dok je u Evropi veoma redak.

1.2.2.6.1. Etiologija

Jatrogeni pneumotoraks koji je nekad bio hirurški vid lečenja tuberkuloze jedini je faktor rizika za nastanak PAL, u grupi bolesnika sa hroničnim pitoraksom (71,72). PAL je u direktoj vezi sa EBV, jer eksprimira EBNA-2 i/ili LMP-1 zajedno sa EBNA-1 (35). Najverovatniji mehanizam nastanka je taj da hronični inflamatorni proces omogućava EBV+ klonalnim B-limfocitima da izbegnu imuni odgovor, produkcijom IL-10, kao antiinflamatornog citokina, i omogućavajući rast parakrinom stimulacijom IL-6 i pripadajućeg receptora (73,74). Za DLBCL-ACI nastalog na bazi druge vrsta hronične inflamacije, kao što su hronični osteomijelitis, metalni implant, ili hronični kožni ulkus, B-limfociti su takođe EBV+ (75,76).

1.2.2.6.2. Klinička slika

Najčešće mesto nastanka je pleuralna šupljina, kost (obično femur), zglobovi i periartikularna meka tkiva. Kod PAL tumorska masa je veća od 10cm u više od 50% slučajeva. Tumor infiltrira okolne strukture, ali je ograničen na toraks u više od 70% slučajeva. Na taj način se PAL razlikuje od primarnog efuzionog limfoma (Primary Effusion Lymphoma-PEL), po tome što se PEL karakteriše efuzijama bez vidljive tumorske mase. Bolesnici sa reumatoidnim artritismom mogu razviti DLBCL-ACI, oko zglobova, ali su ti slučajevi obično EBV negativni (35, 77).

Bolesnici sa PAL obično se javljaju zbog bola u grudnom košu, bola u leđima, povišene temperature, oticanjem u predelu grudi ili respiratornim tegobama kao što su kašalj, hemoptizije ili gušenje. Radiološkim ispitivanjem vidi se tumor pleure (80%), pleure i pluća (10%), pluća blizu pleure (7%). Laktat dehidrogenaza je najčešće povišena (35,78,79). Bolesnici sa limfom na drugom mestu obično imaju bolove vezane za pojavu tumorske mase (35).

1.2.2.6.3. Morfologija

Morfološke karakteristike se ne razlikuju od DLBCL-NOS i najveći broj DLBCL-ACI je mešane centoblasne/imunoblasne morfologije. Prisutna je obično masivna nekroza (35).

1.2.2.6.4. Imunofenotip

Najveći broj slučajeva ispoljava CD20 i CD79a, ali postoji i određen broj slučajeva sa plazmocitnom diferencijacijom sa gubitkom ovih markera i ispoljavanjem MUM-1, CD138. CD30 može biti esprimiran. Pojedinačni slučajevi mogu ispoljavati T-ćelijske markere, što može praviti problem u patohistološkoj dijagnostici. Već je napomenuto da DLBCL-ACI ekspirimira EBV markere (35).

1.2.2.6.5. Genetika

DLBCL-ACI ispoljava TP53 mutacije u oko 70% slučajeva, koje su obično vezane za dipirimidinska mesta, što vodi do mutacija koje nastaju zbog delovanja jonizujućeg zračenja (72). Iako su morfološki gotovo jednaki DLBCL-NOS i DLBCL-ACI ekspimiraju različite gene (80). Jedan od najrazličitije ekspimiranih gena jer interferon-inducibilan 27 gen (IFI27), za koji se zna da je indukovano u B-limfocitima koji su stimulisani interferonom- α , što pokazuje važnost hronične inflamacije kod ovog podtipa limfoma. Smanjena ekspresija HLA klase I kod DLBCL-ACI ima za posledicu izbegavanje klonalnih B-limfocita imunološkom napadu citotoksičnih T-limfocita i nesmetan rast malignog klona (81,82).

1.2.2.7. Limfomatoidna granulomatoza (LYG)

Limfomatoidna granulomatoza (LYG) je angiocentrično i angiodestruktivno limfoproliferativno oboljenje koje zahvata ekstranodalna mesta. LYG je sačinjena od EBV+ B ćelije pomešanih sa reaktivnim T-ćelijama, kojih obično ima u većem broju. LYG je retka bolest, najčešće se javlja u odraslih, mada zabeleženi su i slučajevi javljanja kod dece sa urođenom imunodeficijencijom. Dvosstruko je češća u muškaraca i nešto je češća u zapadnim zemljama nego u Aziji (35, 83).

1.2.2.7.1. Etiologija

Kao i kod prethodnih entiteta EBV ima ključnu ulogu u nastanku LYG. Bolesnici sa imunodeficientim stanjima su u najvećem riziku. Predisponirajući faktori su alogena transplantacija organa, Wiskott-Aldrich sindrom, infekcija virusom humane imunodeficijencije (HIV), za X hromozom vezan limfoproliferativni sindrom. Čak i kod bolesnika sa do tada neprepoznatom imunodeficijencijom, pažljivom kliničkom i laboratorijskom obradom, imunodeficijencija se otkiva (84-86).

1.2.2.7.2. Klinička slika

Zahvatanje pluća se javlja u preko 90% slučajeva i gotovo je uvek prisutno inicijalno. Druga česta mesta pojave su: mozak (26%), bubreg (32%), jetra (29%) i koža (25-50%). Relativno retko su zahvaćeni gastrointestinalni trakt i gornji disajni putevi, dok su limfni čvorovi i slezina veoma retko zahvaćeni (35). Bolesnici se najčešće žale na respiratorne tegobe kašalj, dispneju i bol u predelu grudnog koša. Često postije simptomi poput visoke temperature, malakslosti, gubitka težine, bolova u mišićima i zglobovima kao i neurološki i gastrointestinalni simptomi. Manje od 5% ima asimptomatsku bolest (35, 87).

1.2.2.7.3. Morfologija

Makroskopski LYG se prezentuje kao čvorovi u plućima raličitih dimenzija, koji su najčešće raspoređeni bilateralno u bazalnim i srednjim delovima pluća. Veći nodusi mogu imati centralnu

nekrozu sa kavitacijom. Slične lezije se mogu naći i u bubregu i mozgu, obično sa centralnom nekrozom. Kožne promene se veoma različito prezentuju, obično su u subkutisu, ali i dermalna lokalizacija nije retka, često sa ulceracijom i nekrozom. Ređe se prezentuju kako kutani plakovi ili makulopapulozni raš (35, 82). LYG karakteriše angiocentrični i angiodestruktivni polimorfni limfocitni infiltrat. Limfociti, koji predominiraju, pomešani su sa plazmocitima, imunoblastima i histiocitima. Limfociti su porekla B-ćelija, EBV su pozitivni sa inflamatornom mikrookolinom. EBV+ ćelije pokazuju određen nivo atipije, mogu ličiti na imunoblaste, ili ređe Hodgkinove ćelije. Ponekad se viđaju i multinuklearne ćelije. Granulomi se viđaju u plućima i drugim organima (35,88). Vaskularne promene su karakteristika LYG. Limfocitni vaskulitis sa infiltracijom zida krvnog suda se viđa u najvećem broju slučajeva. Ovakav vaskulitis može dovesti do okluzije krvnog suda sa nekrozom irigiranog područja. Vaskularna oštećenja u vidu fibrinoidne nekroze su takođe učestala i povezana su sa lučenjem citokina indukovanog EBV (35,89). Za LYN je, takođe karakteristično gradiranje koje se oslanja na stepen atipije ćelija, te EBV pozitivnost. Tako gradus 1 čini polimorfni limfoidni infiltrat bez ćelijske atipije sa manje od 5% EBV+ ćelija u vidnom polju (high power field, hpf), u gradusu 2 postoje imunoblasti ili velike limfoidne ćelije koje se farbaju na CD20 dok je broj EBV+ ćelija 5-20/hpf. Gradus 3 je praktično DLBCL sa agregatima CD20+ velikih limfoidnih ćelija i brojem EBV+ ćelija in situ hibridizacijom preko 50/hpf (35,88).

1.2.2.7.4. Imunofenotip

EBV+ ćelije eksprimiraju i CD20, povremeno CD30, dok je CD15 negativan. Limfociti u mikrookolini su CD3 pozitivni sa predominacijom CD4+ ćelija (35).

1.2.2.7.5. Genetika

Obično kod LYG gradusa 2 i 3 geni za imunoglobuline pokazuju klonalnost, dok je to ređe u gradusu 1 bolesti. Određeni slučajevi LYG su poliklonalni. Nisu nađene promene u onkogenima kod ovog oboljenja (35).

1.2.2.8. Primarni medijastinalni (timusni) B-krupnoćelijski limfom (PMBL)

DLBCL koji se pojavljuje u medijastinumu, nastao iz timusnih B-limfocita predstavlja primarni medijastinalni (timusni) B-krupnoćelijski limfom (PMBL). PMBL čini oko 2-4% svih NHL i uglavnom se javlja kod mladih žena, srednje starosti oko 35 godina (90-93) (Slike 4.)



Slika 4. Primarni medijastinalni B-krupnoćelijski limfom (RTG snimak)

1.2.2.8.1. Klinička slika

PMBL nastaje u timusu i bolesnici se javljaju zbog tegoba koje stvara tumor u prednjem, gornjem medijastinumu. Tumor je često veći od 10cm i invadira okolne strukture: pluća, pleuru i perikard. Ponekad se javlja širenje i u supraklavikularne i vratne limfne čvorove. Odsutvo uvećanja ostalih limfnih čvorova i odsutvo infiltracije kosne srži su dve stavke koje razlikuju PMBL od DLBCL-NOS (90,91).

Simptomi su vezani za pritisak tumorske mase u prednjem medijstinumu i bolesnici se često javljaju sa sindromom gornje šuplje vene. Tokom progresije može se javiti diseminacija u druga

ekstranodalna mesta kao što su bubreg, nadbubrežna žlezda, jetra i CNS, dok je diseminacija u kosnu srž veoma retka (35).

1.2.2.8.2. Morfologija

PMBL pokazuje različite morfološke varijante. Često je udružen sa alveolarnom fibrozom. Tumorske ćelije su srednje do velikih, sa obilnom, bledom citoplazmom i pravilnim ovalniom ili okruglim jedrom. U određenim slučajevima ćelije imaju pleomorfno i multilobulirano jedro koje veoma liče na Reed-Sternbergove ćelije, te je u takvim slučajevima otežana diferencijalna dijagnoza prema Hodgkinovom limfomu (94,95). Povremeno su to „limfomi sive zone“, koji kombinuju odlike PMBL i klasičnog HL (94).

1.2.2.8.3. Imunofenotip

PMBL ispoljava klasične B-limfocitne antigene CD12, CD20, CD22 i CD79a, ali ne i imunoglobulin. CD30 je prisutan u više od 30% slučajeva, ali obično slabo i heterogeno u odnosu na ispoljavanje kod Hodgkinovog limfoma (96,97). CD15 je retko eksprimiran (98). Tumoreske ćelije su pozitivne na MUM-1 u 75% i na CD23 u 70% slučajeva, dok BCL-2 i BCL-6 imaju veoma varijabilnu ekspresiju. CD10 je ređe prisutan (8-32%). Tumorske ćelije su takođe pozitivne na MAL antigen, CD54, CD95 koeksprimiraju TRAF1 i nuklearni REL (35). Varijabilna ekspresija klase I i II HLA nađena je u većini slučajeva (98).

1.2.2.8.4. Genetika

Geni za imunoglobuline su klonalno preuređeni sa velikim brojem somatskih hipermutacija (35). Od citogenetskih abnormalnosti višak na 9p24 se javlja do 75% slučajeva i 2p15 u oko 50%, ali i na hromozomima Xp11.4-21 i Xq24-26. Geni koji su zahvaćeni ovim promenama su REL i BCL11A, ali i JAK2, PDL1 i PDL2. Iako PMBL ima originalan genski potpis često deli određene genske karakteristike sa klasičnim HL. PMBL ima konstitutivno aktiviran NF- κ B i JAK2-STAT signalni put koji inaktivira mutaciju za SOCS1. Preuređenja BCL2, BCL6 i MYC gena su veoma retka ili odsutna dok se inaktivacije p16 i TP53 gena povremeno pronalaze (35).

1.2.2.9. Intravaskularni B-krupnoćelijski limfom (Intravascular large B-cell Lymphoma, IVLBCL)

Intravaskularni B-krupnoćelijski limfom (IVLBCL) je redak podtip ekstrapnodalnog krupnoćelijskog limfoma za kojeg je karakterističan rast unutar zidova krvnih sudova, uglavnom kapilara. Medijana javljanja ovog limfoma je 67 godina sa približno jednakom incidencijom među polovima.

1.2.2.9.1. Klinička slika

IVLBCL je obično diseminovan po različitim ekstrapnodalnim mestima, uključujući i kosnu srž i praktično može zahvatiti bilo koji organ, dok su limfni čvorovi najčešće pošteđeni (35). U odnosu na geografsku pojavu razlikuje se podtip koji se javlja u zapadnim zemljama i podtip koji se javlja najčešće u Aziji. IVLBCL koji se javlja u zapadnom svetu karakterišu simptomi organa koji je primarno zahvaćen, uglavnom su to CNS i/ili koža. Kod azijskog podtipa bolesnici se prezentuju sa insuficijencijom velikog broja organa, hepatosplenomegalijom, pancitopenijom i hematofagocitnim sindromom. B simptomi su veoma često prisutni (55-76%). Slučajevi IVLBCL sa izolovano kožnom prezentacijom zabeleženi su i obično se javljaju kod žena u zapadnim zemljama i imaju bolju prognozu (35, 99). Konvencionalne procedure određivanja stadijuma bolesti često imaju lažno negativne rezultate zbog otežanog detektovanja tumorskih masa (35).

1.2.2.9.2. Morfologija

Limfomske ćelije obično zahvataju lumen malih i srednjih krvnih sudova različitih organa. Fibrinski trombi, hemoragija i nekroza se mogu videti. Tumorske ćelije su velike sa izraženim jedrom i velikim brojem mitozama. Retki slučajevi se viđaju sa manjim ćelijama anaplastičnog izgleda. Mogu se videti i pojedinačne ekstravaskularne ćelije. U jetri, slezini i kosnoj srži se viđa sinusoidalni raspored, a maligne ćelije se mogu detektovati i u perifernoj cirkulaciji (35, 100).

1.2.2.9.3. Imunofenotip

Tumorske ćelije ekspimiraju B-ćelijske antigene, CD5 je ekprimiran u 38%, dok je CD10 u 13% slučajeva. Gotovo svi CD10- slučajevi su MUM-1+. Intravaskularni rast je najverovatnije posledica defekta u receptorima za adheziju, kao što je nedostatak CD29 (β 1-integrina) i CD54 (ICAM-1) (35,101).

1.2.2.9.4. Genetika

Postoji preuređenje gena za imunoglobuline. Otkriven je određen broj somatskih mutacija, ali na veoma malom broju slučajeva (35).

1.2.2.10. ALK-pozitivan B-krupnoćelijski limfom (ALK+LBCL)

ALK-pozitivan B-krupnoćelijski limfom (ALK+LBCL) je redak podtip DLBCL kojeg sačinjavaju ALK+ monomorfni imunoblasti, ponekad sa plazmablasnom diferencijacijom. Do sada je zabeleženo samo 40 slučajeva ovog limfoma. Tri puta je češći kod muškaraca, zahvata sve starosne grupe, medijana starosti je 36 godina (9-77) (35, 102).

1.2.2.10.1. Klinička slika

ALK+LBCL je najčešće nodalnog tipa i obično zahvata medijastinum. Zabaležena je i pojava ekstranodalno sa zahvatanjem nazofarinksa, jezika, želuca i mekih tkiva. Najveći broj bolesnika je u III ili IV stadijumu (35).

1.2.2.10.2. Morfologija

ALK+LBCL pokazuje sinusoidalni rast monomorfnih ćelija sličnih imunoblastima sa okruglim bleđim jedrom, centralno posdavljenim jedarcetom i obilnom citoplazmom. Mogu se videti i oblici sa multilobuliranim jedrom, a pojedini slučajevi pokazuju plazmablastičnu diferencijaciju (35).

1.2.2.10.3. Imunofenotip

ALK+LBCL je definisan snažnom ekspresijom ALK proteina. Takođe ovaj podtip snažno eksprimira EMA i markere plazmocita CD138 i VS38, a negativan je na CD3, CD20 i CD79a. CD45 je negativan ili veoma slabo pozitivan. CD30 je negativan. Većina eksprimira citoplazmatski Ig (najčešće IgA). Kao što je opisano u pojedinačnim plazmocitnim tumorima pojedinačni slučajevi su pozitivni na citokeratin, što zajedno sa EMA ekspresijom može dovesti do pogrešne dijagnoze karcinoma (35,103). ALK+LBCL može biti povremeno pozitivan i na CD4, CD7, CD57, MUM-1, CD43 i perforin (103). U diferencijalnoj dijagnozi treba razlikovati ALK+ ALCL, druge B-ćelijske limfome sa sinusoidalnim rastom, kao i ALK- plazmablasne limfome koji se najčešće javljaju kod HIV+ bolesnika u ustima (104).

1.2.2.10.4. Genetika

Geni za imunoglobuline su preuređeni. Tumor može da eksprimira ALK u punoj dužini, međutim najčešća je ekspresija fuzionog proteina, koja nastaje kao rezultat alteracije hromozoma 2. Za razliku od ALK+ALCL gde je najčešća translokacija t(2;5)(p23;35), kod ALK+LBCL najčešća je translokacija t(2;17)(p23;q23) odgovorna za ekspresiju Clathrin-ALK fuzionog proteina (35).

1.2.2.11. Plazmablasni limfom (PBL)

Plazmablasni limfom (PBL) je proliferacija velikih ćelija koje liče na imunoblaste, ali imunohistohemijski ekspimiraju markere svojstvene plazmocita. Kada je otkriven smatralo se da se uvek nalazi u usnoj duplji, međutim kasnije je pokazano da se može naći na bilo kom ektranodalnom mestu. PBL je redak limfom, najčešći je u HIV+ osoba, sa predominacijom muškaraca. Takođe može biti udružen sa bilo kojim stanjem imunodeficijencije, uključujući i slabljenje imunog sistema usled starenja. Medijana javljanja je oko 50 godina, ali su zabeleženi i retki slučajevi kod dece (35).

1.2.2.11.1. Klinička slika

PBL se obično pojavljuje kao tumorska masa u usnoj duplji, ali se javlja i u drugim organima, pre svih sinusima, orbiti, koži, kostima, mekim tkivima i gastrointestinalnom traktu. Zahvatanje limfnih čvorova je retko, nešto češće kod HIV negativnih slučajeva (35,104). Većina bolesnika je u III ili IV stadijumu i sa srednjim ili visokim IPI skorom (104-106). U određenom broju slučajeva bolesnici sa plazmocitnim tumorima, pre svih multiplim mijelomom, mogu doživjeti transformaciju bolesti i tada treba razlikovati ovu vrstu plazmablasne transformacije od de novo PBL (35).

1.2.2.11.3. Morfologija

Ćelije PBL pokazuju morfološki spektar od onih koje najviše podsećaju na imunoblaste do onih koje imaju diferencijaciju plazma ćelija, kada je teško razlikovati ovaj podtip od multiplog mijeloma. Obično je prisutan velik broj mitozna. Slučajevi sa gotovo potpuno uniformnom plazmablasnom diferencijacijom javljaju se obično u HIV+ bolesnika u oralnoj i nazalnoj regiji. Sa druge strane, slučajevi sa plazmocitnom diferencijacijom imaju tendenciju nastanka više na drugim ektranodalnim mestima (104,105). Prisutvo viokog proliferativnog indeksa, ektranodalna lokalizacija, imunodeficijencija i prisustvo EBV na in situ hibridizaciji, govore u prilog PBL u odnosu na anaplastični ili plazmablasni multipli mijelom (35).

1.2.2.11.4. Imunofenotip

Neoplastične ćelije ekspimiraju plazmocitne markere CD138, CD38, Vs38c, i MUM-1 i negativne su ili veoma slabo pozitivne na CD45, CD20, PAX5. CD79a je pozitivan u 50-85% slučajeva. Citoplazmasti imunoglobulini su ekspimirani u 50-70% slučajeva, najčešće IgG i kappa ili lambda laki lanac. CD56 je obično negativan u oralnom podtipu, ali može biti ekspimiran u plazmocitnom podtipu, kada treba posumnjati na multipli mijelom. EMA i CD30 su često ekspimirani. Ki67 indeks je načešće preko 90%. EBV EBER na in situ hibridizaciji pozitivan je u 60-75% slučajeva, ali je LMP-1 veoma retko ekspimiran. EBV je pozitivan u gotovo 100% slučajeva PBL kod HIV+, dok je HHV8 uvek odsutan (35, 104-106).

1.2.2.11.5. Genetika

Klonalno preuređenje imunoglobulina se detektuje, čak i kad Ig nije eksprimiran imunohistohemijski (35).

1.2.2.12. B-krupnoćelijski limfom nastao iz HH8-vezane Castlemanove bolesti (Large B-cell lymphoma arising in HH8-associated Castleman disease, LBL HH8-MCD)

B-krupnoćelijski limfom nastao iz HH8-vezane Castlemanove bolesti (LBL HH8-MCD) je proliferacija sačinjena od HH8 virusom inficiranih limfoidnih ćelija, koje podsećaju na plazmablaste, eksprimiraju IgM i nastaju iz multicentrične Castlemanove bolesti, obično kod HIV+ bolesnika. Obično se javlja u endemskim područjima HH8 virusa, Africi i Mediteranu. Karakteristično zahvata limfne čvorove i slezinu, ali se širi i na druge organe krvotokom. U kliničkoj slici dominira uvećanje limfnih čvorova i slezine, a često je udružen i sa Kapoši sarkomom (35).

1.2.2.12.1. Morfologija i imunofenotip

Morfološki u limfnim čvorovima postoje konfluenti slojevi HH8 latentnog nuklearnog antigena (LAMA-1) pozitivnih ćelija koje narušavaju arhitektoniku limfnog čvora i /ili slezine.

Imunohistohemijski snažna je ekspresija nuklearnog LAMA-1 proteina, virusnog interleukina-6, kao i ekspresiju cIgM sa restrikcijom lambda lakih lanaca. Ćelije su CD20 + ili -, CD79a-, CD138-, CD38-/+, CD27- i EBV EBER negativne (35,107).

1.2.2.12.2. Genetika

Aktivacija signalnog puta interleukin-6 receptora verovatno ima ulogu u razvoju LBL HH8-MCD (35).

1.2.2.13. Primarni efuzioni limfom (Primary effusion lymphoma, PEL)

Primarni efuzioni limfom (PEL) je neoplazma B-limfoidnih ćelija koja se karakteriše izlivima u seroznim šupljinama bez detektabilnih tumorskih masa. Uvek je udružen sa HHV8 infekcijom i nastaje u stanjima imunodeficijencije. Neki bolesnici sa PEL sekundarno razviju solidne tumore pleure. Retko se PEL pojavljuje kao solitarna tumorska masa i tada se naziva ekstrakavitarni PEL. Većinom nastaje u mladim muškaraca zaraženih HIV-om, ali su zabeleženi i slučajevi PEL kod bolesnika sa transplantiranim organima. Ponekad oboljenje nastaje i bez imunodeficijencije, najčešće kod starijih u endemskim područjima za HHV8 (35, 108, 109).

1.2.2.13.1. Etiologija

Neoplastične ćelije su pozitivne na HHV8, većinom i na EBV, koji verovatno nema ulogu u patogenezi. HHV8 učestvuje u genskim poremećajima u ćeliji i dovodi do povećanja proliferativnog i antiapoptotskog potencijala ćelija (35).

1.2.2.13.2. Klinička slika

PEL se najčešće javlja u pleuralnoj, peritonealnoj i perikardnoj šupljini. Povremeno se i javljaju ekstrakavitarni tumori u plućima, gastrointestinalnom traktu i CNS-u, ili u limfnim čvorovima (35). Bolesnici se obično javljaju sa izlivima bez limfadenomegalije ili organomegalije. Često je PEL udružen sa Kaposi sarkomom i/ili Castlemanovom bolešću.

1.2.2.13.3. Morfologija i imunofenotip

Ćelije pokazuju različit izgled od velikih imunoblastnih, odnosno plazmablastnih ćelija do potpuno anaplastičnih ćelija. Povremeno mogu ličiti i na Reed-Sternbergove ćelije. Obično ekspimiraju CD45, ali ne i B-ćelijske markere i BCL-6 je obično negativan. Plazmocitni markeri CD138, CD38, V_β38c, kao i HLA-DR, CD30 i EMA neretko su prisutni. Povremeno se aberantno pojavljuju markeri T-loze. Jedra neoplastičnih ćelija su pozitivna na HHV8 LAMA-1 protein. Iako je EBV EBV in situ hibridizacijom pozitivan, LMP-1 se obično ne ekspimirira (35).

Zabaleženi su i slučajevi T-ćelijskog PEL (110, 111).

1.2.2.14. B-ćelijski limfom koji deli karakteristike difuznog B-krupnoćelijskog limfoma i Burkitt limfoma

B-ćelijski limfom koji deli karakteristike difuznog B-krupnoćelijskog limfoma i Burkitt limfoma je neoplazma koja morfološke i genetske karakteristike DLBCL i BL, ali zbog bioloških i kliničkih osobina ne može se svrstati ni u jedan od ovih podtipova. Kod ovog limfoma ćelije su obično manje nego kod klasičnog DLBCL, ali najčešće veće nego kod klasičnog BL. Najčešće je agresivnog toka, sa visokim proliferativnim indeksom, kao i šemom rasta po tipu zvezdanog neba, što je karakteristika BL. Treba napomenuti da dijagnoza ovog limfoma ne uključuje tipičan DLBCL sa MYC ekspresijom ili tipičan BL koji je MYC negativan (35).

Javlja se u populaciji odraslih, u više od pola slučajeva ekstranodalno i za razliku od BL nema tendenciju da se javi ileocekalno ili u vilici. Kosna srž može biti zahvaćena (35).

1.2.2.14.1. Morfologija i imunofenotip

Tipičan izgled predstavljaju srednje do velike ćelije koje su raspoređene u mreži sitnih limfocita, kao i slika zvezdanog neba, klasičnog za dijagnozu BL. Imunohistohemijski ispoljava B-markere. Slučajevi koji morfološki najviše odgovaraju BL mogu biti svrstani u ovu kategoriju ako snažno ekspimiraju BCL-2. Ki67 je, takođe veoma bitan marker u diferencijalnoj dijagnozi u odnosu na BL, ali je takođe veoma inkonzistentan i varira između 50 i 100%. Tumori koji ekspimiraju MYC i BCL 2 su najverovatnije „double hit“ limfomi, a ukoliko uz ova dva markera ekspimiraju TdT, najverovatnije se radi o limfoblastnom limfomu (35,112).

1.2.2.14.2. Genetika

Oko 35-50% slučajeva ima 8q24/MYC translokaciju (112), ali kod BL MYC je obično translociran na neki od imunoglobulinskih gena (IG-MYC) dok kod ovog kompozitnog limfoma najčešće to nije slučaj. BCL2 translokacija se viđa u oko 15% slučajeva, ponekad zajedno sa

MYC translokacijom. Ređe BCL6 translokacija je udružena sa MYC ili BCL2 translokacijom. Incidenca ovih „double“ ili „triple-hit“ raste sa starošću bolesnika.

Kod limfoma kod kojih je identifikovan non IG-MYC translokacija uočene su multiple promene u kariotipu, što nije slučaj kod BL (113).

1.2.2.15. B-ćelijski limfom koji deli karakteristike difuznog B-krupnoćelijskog limfoma i Hodgkinovog limfoma

B-ćelijski limfom koji deli karakteristike difuznog B-krupnoćelijskog limfoma i Hodgkinovog limfoma je specifična grupa limfoma koja se najčešće pojavljuje u medijastinumu. Obično se javlja u mladih muškaraca između 20-40 godina u zapadnim zemljama, kod belaca (35).

Etiologija je nepoznata, EBV sekvence se nalaze u oko 20% slučajeva.

1.2.2.15.1. Klinička slika

Najčešće se bolesnici viđaju sa velikom tumorskom masom u prednjem medijastinumu, sa ili bez zahvatanja supraklavikularnih limfnih čvorova. Ostali periferni limfni čvorovi su ređe zahvaćeni. Per continuitatem se mogu širiti na pluća, a mogu biti zahvaćeni i jetra, slezina i kosna srž. Za razliku od PMBL ne-limfoidni organi su veoma retko zahvaćeni. Velika tumorska masa u medijastinumu neretko izaziva sindrom gornje šuplje vene ili respiratorni distres. Ono što je karakteristika ove vrste „limfoma sive zone“ je da se tokom vremena menjaju patohistološke karakteristike, pa tako se javlja da je inicijalno dijagnostikovano HL, dok kasnije u toku rebiopsijom se dobija da je u pitanje PMBL, ili obrnuto (35, 114).

1.2.2.15.2. Morfologija

Tipična slika je pojava u slojevima infiltrata pleomorfnih tumorskih ćelija i fibroznoj stromi. Ćelije su veće i heterogenijeg izgleda u odnosu na klasičan PMBL. Pleomorfne ćelije koje podsećaju na lakunarne ćelije i Hodgkinove ćelije čine najveći deo infiltrata. Karakteristika je i pojava različitih infiltrata u različitim delovima tumorskog tkiva. Pojava nekroze je česta, ali za razliku od cHL nekrotične zone ne sadrže neutrofilne granulocite.

1.2.2.15.3. Imunofenotip

Neoplastične ćelije obično eksprimiraju CD45, B-ćelijski markeri su takođe prisutni, ali aberanto eksprimirani u zajedništvu sa ekspresijom HL markera CD30 i CD15. CD20 i CD79a su često pozitivni. Imunoglobulini obično nisu eksprimirani. Transkripcioni faktori BOB.1, PAX5, OCT-2 su obično prisutni, BCL6, je varijabilno eksprimiran, dok je CD10 obično negativan, kao i ALK. MAL marker, karakterističan za PMBL je eksprimiran kod medijastinalnih lokalizacija, kao i REL/p65. P53 je pozitivan u najvećem broju ispitanih slučajeva (35,115, 116).

1.2.2.16. Entiteti koji nisu obuhvaćeni WHO klasifikacijom iz 2008. godine

1.2.2.16.1. „Double hit lymphomas“ (DHL)

„Double hit lymphomas“ (DHL) su limfomi sa multiplim genskim poremećajima od kojih je uvek jedan u zoni MYC gena, dok je drugi najčešće BCL2, nešto ređe BCL6, a još ređe CCND1 i drugi geni. U suštini „double hit“ je neprecizan termin jer uz promene u MYC genu često budu udružene još dve ili tri genetske abnormalnosti kada se radi o „triple hit“ ili „quadriple hit“ limfomima. Aukema i sar. (117) su analizirali baze podataka u kojima su ispitane genske abnormalnosti kod različitih podtipova limfoma. U toj analizi od 689 MYC+ limfoma 326 (47%) su bili DHL, dok je od 804 DLBCL 17% bilo MYC+. Od pomenutih 804 bolesnika 109 je bilo BCL2+/MYC+ ili BCL6/MYC+ (14%). Najveći broj DHL su BCL2+/MYC+ (62%), sa BCL6 su ređi oko 8%, odnosno ređi su i od „triple hit“ limfoma BCL2+/BCL6+/MYC+ koji čine oko 16%. Iako ova grupa nije uvrštena u WHO 2008 klasifikaciju, najveći broj DHL pripada podgrupi B-ćelijskih limfoma koji dele karakteristike difuznog B-krupnoćelijskog limfoma i Burkitt limfoma. Najveći broj DHL, imunohistohemijskom analizom, je GCB fenotipa gde je CD10+ u 88% slučajeva, BCL6 75%, dok je MUM-1 pozitivan u oko 17% slučajeva. BCL2 protein je eksprimiran u 95% slučajeva dok je Ki67 od 50% do 100%, sa medijanom oko 90%. Obično DHL nastaju de novo, i minimalan broj nastaje transformacijom iz limfoma nižeg stepena malignosti. Najveći broj bolesnika je u uznapredovalom stadijumu bolesti, sa povišenom laktat dehidrogenazom (LDH). Ekstranodalna zahvaćenost je česta sa pojavom limfoma u kosnoj srži i

CNS-u. Često se viđaju pleuralni izlivi. Kao rezultat svega navedenog bolesnici su najčešće u visokom riziku prema IPI skoru (117).

1.2.2.16.2. Difuzni B-krupnoćelijski limfom nastao transformacijom iz limfoma nižeg stepena malignosti

DLBCL neretko nastaje transformacijom iz limfoma niskog stepena malignosti, najčešće iz folikularnog limfoma, hronične limfocitne leukemije (HLL), limfoma marginalne zone, a može nastati i transformacijom nodularnog Hodgkinovog limfoma sa limfocitnom predominacijom (118-121).

Transformacija FL se javlja u 20-30% slučajeva tokom 10 godina praćenja. Podaci sa obdukcija bolesnika umrlih od limfoma pokazuju i do 70% histoloških transformacija u agresivne limfome (122). Dijagnoza se postavlja rebiopsijom ili ukoliko je biopsija teško moguća kliničkim i laboratorijskim parametrima: skokom LDH minimum dva puta iznad normalnih vrednosti, brzim rastom tumorskih masa u određenim područjima, novonastalim zahvatanjem ekстранodalnog mesta, pojavom B simptoma koji se do tada nisu javljali i/ili ravojem hiperkalcemije. Indirektno dijagnoza transformacije se može postaviti i PET/CT snimanjem. U retrospektivnoj analizi serije od 28 bolesnika sa kliničkom sumnjom na transformaciju, kod bolesnika sa standard uptake value (SUV) na PET/CT višom od 14 specifičnost i senzitivnost dijagnoze transformacije bile su 93.9%, odnosno 95.3%, nakon potvrde biopsijom (123). Faktori rizika za transformaciju FL u DLBCL su visok Ann Arbor stadijum, zahvatanje ekстранodalnog mesta koje nije kosna srž, gradus 3 bolesti, viši Follicular Lymphoma International Prognostic Index (FLIPI), lečenje bez antraciklina i nepostizanje kompletne remisije indukcijom terapijom (120).

Richterov sindrom (RS) predstavlja transformaciju HLL u DLBCL. Javlja se u oko 10% slučajeva tokom desetogodišnjeg toka HLL i može biti klonalno vezana za prethodnu HLL i klonalno drugačija od prethodnog HLL. Faktori rizika za nastanak RS su ekspresija CD38 proteina, odsustvo del13q14, veličina limfnih čvorova više od 3cm i najviše pojava TP53 mutacije, odnosno 17p13 delecije kod malignog klona. Rana dijagnoza RS bitna je za određivanje terapije i prognozu bolesti (121).

1.2.3. Prognoza toka i ishoda DLBCL

Činioci koji utiču na prognozu toka i ishoda lečenja DLBCL mogu se podeliti u tri grupe: činioci same bolesti, odnosno limfomskog klona, biološkog potencijala bolesnika, te činiocima terapije o kojima će biti reči u posebnom poglavlju.

1.2.3.1. Prognoza u zavisnosti od osobina limfomskog klona

Veliki broj različitih parametara vezanih sa osobine samog limfoma utiče na ishod lečenja. Pre svih tu su klinički i laboratorijski parametri, najčešće objedinjeni u prognozne skorove, zatim različiti molekularni markeri koji se eksprimiraju na ćelijama limfomskog klona, genski parametri, kao i posebni prognozni parametri vezani za podtip DLBCL.

1.2.3.1.1. Prognostički indeksi

Jedan od najznačajnijih prognoznih parametara je veličina tumorske mase i njena distribucija. Standardni način merenja raširenosti bolesti je određivanje stadijuma bolesti prema Ann Arbor klasifikaciji (tabela 4.)(23). Odmakli stadijumi bolesti su znak loše prognoze jer ukazuju na to da je dijagnoza bolesti postavljena kasno i na to da će primenjena terapija imati lošiji efekat nego kod bolesnika sa manjom limfomskom masom. Pored veličine tumorske mase prognozni značaj ima i njena distribucija u organizmu bolesnika.

Primarno lokalizovani limfomi u ekstralimfatičnim organima i tkivima imaju, po pravilu, lošiju prognozu od nodalnih DLBCL I i II stadijuma, naročito ako je lokalna tumorska masa velika. Velika lokalizovana tumorska masa (bulky disease) je znak loše prognoze u ranim i kasnim stadijumima bolesti. Serumski nivo beta-2 mikroglobulina i laktat dehidrogenaze (LDH), pored stadijuma bolesti, dobro korelira sa veličinom tumorske mase u organizmu bolesnika sa DLBCL (12).

Internacionalni prognostički indeks (IPI) konstruisan 1993. godine (124) za bolesnike lečene hemioterapijom, obuhvatio je prognostičke činioce vezane za biološki potencijal bolesnika (starost i performance status) i veličinu limfomske mase u organizmu bolesnika (stadijum bolesti, zahvaćenost ekstralimfatičnih organa, nivo serumske LDH). IPI skor izdvaja četiri prognozne

grupe bolesnika sa dobrom, intermedijernom i lošom prognozom (tabela 5.) sa statistički značajnim razlikama u dužini preživljavanja bolesnika i dužini preživljavanja bez bolesti.

Grupa rizika	Broj faktora rizika	% bolesnika	5 godina bez relapsa	preživljavanje > 5 godina
Nizak	0, 1	35	70%	73%
Nizak-intermedijerni	2	27	50%	51%
Visok-intermedijerni	3	22	49%	43%
Visok	4,5	16	40%	26%

Faktori rizika:
starost bolesnika > 60 godina, ECOG performance status =>2, stadijum III i IV,
zahvaćenost => 2 ekstralimfatična organa ili tkiva, povišen nivo serumske LDH

Tabela 5.: IPI u prognozi DLBCL (124)

Konstruisan na grupi bolesnika lečenim u to doba standardnom hemioterapijom IPI skor se nije pokazao dovoljno tačnim za bolesnike lečene intenzivnom hemioterapijom i transplantacijom hematopoeznih matičnih ćelija pa je učinjena njegova revizija i prilagođavanje starosti bolesnika podelom na bolesnike starije i mlađe od 60 godina: age-adjusted IPI (aaIPI) (125) (tabela 6.). Sledeću reviziju IPI skor je doživeo posle uvođenja rituksimaba u standardnu terapiju DLBCL. Sahn i sar (126) su na grupi od 325 bolesnika sa DLBCL lečenih kombinacijom rituksimab + CHOP konstruisali revidirani IPI (R-IPI). R-IPI odvaja tri prognostičke grupe bolesnika sa značajnim razlikama u dužini preživljavanja bolesnika i preživljavanja bez bolesti (tabela 7.).

Grupa rizika	Faktori rizika	% Bol.	CR	Vreme bez relapsa		Preživljavanje	
				2god.	5god.	2god.	5god.
Bolesnici mlađi od 60 godina							
Nizak	0	22	92%	88%	86%	90%	83%
Nizak/intermedijerni	1	32	78%	74%	66%	79%	69%
Visok/intermedijerni	2	32	57%	62%	53%	59%	46%
Visok	3	14	46%	61%	58%	37%	32%
Bolesnici stariji od 60 godina							
Nizak	0	18	91%	75%	46%	80%	56%
Nizak/intermedijerni	1	31	71%	64%	45%	68%	44%
Visok/intermedijerni	2	35	56%	60%	41%	48%	37%
Visok	3	16	36%	47%	37%	31%	21%
Faktori rizika: ECOG performance status =>2, stadijum III i IV, povišen nivo serumske LDH							

Tabela 6.: IPI prilagođen starosti bolesnika (aaIPI) u prognozi DLBCL (125)

Grupa rizika	Broj faktora rizika	% bolesnika	4 godina bez relapsa	preživljavanje > 4 godine
Vrlo dobra	0	10	94%	94%
Dobra	1,2	45	80%	79%
Loša	3,4,5	45	53%	55%
Faktori rizika: starost bolesnika > 60 godina, ECOG performance status =>2, stadijum III i IV, zahvaćenost => 2 ekstralimfatična organa ili tkiva, povišen nivo serumske LDH				

Tabela 7.: IPI prilagođen bolesnicima lečenim R-CHOP režimom (R-IPI) (126)

Poslednja metaanaliza prospektivnih studija Zieperta i sar. (127) 1062 bolesnika sa DLBCL tretiranih rituksimabom i hemioterapijom govori u prilog validnosti IPI skora i kod bolesnika tretiranih imunohemioterapijom. Naime, rituksimab je popravio preživljavanje u svim IPI grupama, ali je IPI skor ostao validan alat kako za prognozu vremena do progresije bolesti, tako i za prognozu ukupnog preživljavanja.

1.2.3.1.2. Molekulski markeri u prognozi lečenja DLBCL

IPI skor se rutinski koristi u identifikovanju bolesnika sa lošom prognozom. Međutim, još uvek ne postoji način da se prospektivno identifikuju bolesnici sa niskim i nisko-srednjim IPI indeksom koji imaju lošu prognozu odnosno koji će imati refrakternu bolest ili će relapsirati nakon postizanja remisije. U tu svrhu je ispitiva molekulski potpis limfoma, odnosno velik broj molekularskih markera koji manje ili više utiču na prognozu bolesti. Dosadašnja ispitivanja su identifikovala, već spominjana dva molekularna podtipa DLBCL GCB-like i ABC-like podtip (29,128). Osim ove podele velik broj drugih markera je ispitivan, međutim većina njih pre ere rituksimaba koji je danas apsolutni standard lečenja DLBCL (129). Da bi određen marker bio uvršten kao parametar prognoze trebao bi da bude reproducibilan, ispitan u studijama sa rituksimabom i da tehnologija kojom se otkriva bude uniformna, što uključuje i njegove vrednosti koje definišu pozitivnost. Takođe, marker bi trebao da bude nezavisan prognozni parametar u odnosu na IPI skor i nezavisan u odnosu na druge prognozne markere. Najveći broj dosadšnjih studija ispitivao je gene/proteine uključene u apoptozu, ćelijski ciklus, aktivaciju, B-ćelijskog receptora i ontogeniju i diferencijaciju B-ćelija (128). U tabelama 8. i 9. prikazani su do sada ispitivani markeri, sa njihovom ulogom i rezultatima studija u smislu njihove prediktivne i prognozne vrednosti. Marker koji ćemo mi koristiti u radu biće obrađeni u posebnom poglavlju.

Marker (literatura)	Uloga	Metoda	“Cut-off” vrednost
Choi algoritam (130)	GCET1, MUM1, FOXP1, CD10, BCL6	IHH	Kombinacija ekspresije antigena
Immuno-FISH (131)	FOXP1, MUM1, BCL6	IHH, FISH	Kombinacija ekspresije antigena
FOXP1 (132)	Transkripcioni faktor	IHH	100% vs <100%
LMO2 (133)	Nepoznata, vezan za GCB fenotip	IHH	≤30% vs >30%
BCL2 (132,134,135)	Antiapoptotski protein	IHH	<50% vs >50%
BCL6 (136)	Transkripcioni faktor	IHH	Bilo koja pozitivnost vs negativan
HIF-1α (137)	Regulator ekspresije gena kod ćelijske hipoksije	IHH	Bilo koja nuklearne pozitivnost vs negativan
L-kynurenine (138)	Enzim, imunomodulacija	HPLC	Serumski nivo ≥1.5 vs <1.5 μm
Indoleamine-2,3-dioxygenase (139)	Enzim, imunomodulacija	IHC	Difuzno poz. vs fokalno poz. vs negativan
Solubilni Fas (CD95) (140)	Proapoptotski protein	ELISA	≥3 vs <3ng/ml
Skp2 (141)	Regulacija ćelijskog ciklusa	IHC	≥40% vs <40%
CD5 (142)	Marker T-limfocita	Protočna citometrija	Pozitivan vs negativan
Interleukin-18 (143)	Imunostimulatorni citokin	ELISA	≥500 vs <500pg/ml
VEGFR2 (144)	Angiogeneza	IHC	>30% vs 5-30% vs <5%
P53 (145)	Tumor supresor	IHC	>50% vs ≤50%
BAFF (146)	B-ćelijski factor aktivacije	ELISA	Serumski nivo ≥1258 vs <1258 pg/ml
Preuređenje MYC (147)	Onkogen	FISH	Prisutno vs odsutno
P21 (148)	Inhibitor ćelijske proliferacije	IHC	Pozitivan vs negativan

Tabela 8. Molekulski markeri, njihova uloga, metoda određivanja i „cut-off“ vrednosti u različitim studijama

Marker (literatura)	Broj bolesnika	Rezultati (p-vrednost)	Prognostički uticaj	Multivarijantna analiza
Choi algoritam (130)	63	3-god OS 87% vs 44% (GCB vs ABC) p<0.001	Prediktivan (OS i PFS)	Prediktivan (OS i PFS)
Immuno-FISH indeks (131)	119	5-god OS 44% vs 78% p=0.01	Prediktivan (OS)	Prediktivan (OS)
FOXP1 (132)	117	2-god OS 96% vs 85% p=NS	Nema	Nema
LMO2 (133)	80	4-god OS 82% vs 56% P=0.03; 4-god PFS 72% vs 47% p=0.01	Povoljan (OS i PFS)	Prediktivan (OS i PFS)
BCL2 (132)	117	2-god OS 82% vs 97% p=0.034; 2-god PFS 71% vs 97% p=0.001	Neopovoljan (OS i PFS)	Prediktivan (OS i PFS)
BCL2 (134)	140	4-god OS 69% vs 75% p=NS; 4-god PFS 73% vs 75% p=NS	Nema	Nema
BCL2 (135)	155	2-god OS 67% vs 72% p=NS; 2-god PFS 58% vs 60% p=NS	Nema	Nema
BCL6 (136)	107	2-god OS 74% vs 76% P=NS; 2-god PFS 64% vs 75% p=NS	Nema	Nema
HIF-1 α (137)	78	5-god OS 75% vs 54% p=0.025; 5-god PFS 72% vs 43% p=0.019	Povoljan (OS i PFS)	Prediktivan (OS i PFS)
L-kynurenine (138)	73	3-god OS 58% vs 89% p<0.005	Nepovoljan (OS)	Prediktivan (OS)
Indoleamine-2,3-dioxygenase (139)	119	3-god OS 50% vs 60% vs 81% p=0.001	Nepovoljan (OS)	Nije objavljeno
Solubilni Fas (CD95)(140)	75	3-god OS 55% vs 92% p<0.01	Nepovoljan (OS)	Prediktivan (OS)
Skp2 (141)	246	3-god OS 50% vs 83% p<0.001; 3-god PFS 45% vs 70% p<0.001	Nepovoljan (OS i PFS)	Prediktivan (OS i PFS)
CD5 (142)	121	2-god OS 45% vs 91% p=0.001; 2-god PFS 18% vs 79% p<0.001	Nepovoljan (OS i PFS)	Prediktivan (OS i PFS)
Interleukin-18 (143)	154	5-god PFS 52% vs 79% p<0.0001	Nepovoljan (PFS)	Prediktivan (PFS)

VEGFR2 (144)	162	2-god OS 76% vs 84% vs 100% p=0.0028	Nepovoljan (OS)	Prediktivan (OS)
P53 (145)	78	P=0.012	Nepovoljan (OS)	Prediktivan (OS)
BAFF (146)	66	OS p=0.0003 PFS 0.0019 (PFS)	Nepovoljan (OS i PFS)	Prediktivan (OS i PFS)
Preuređenje MYC (147)	135	5-god OS 33% vs 72% p=0.016; 5-god PFS 31% vs 66% p=0.006	Nepovoljan (OS i PFS)	Prediktivan (OS i PFS)
P21 (148)	102	5-god FFS 61% vs 38% p=0.05	Povoljan (FFS)	Prediktivan (FFSi OS)

“Cut-off” vrednosti za markere u Choi algoritmu i Immuno-FISH indeksu dati u originalnoj literaturi. ABC (Activated B cell-like, slične aktiviranim B-ćelijama); BAFF (B-cell activating factor of the tumor necrosis factor family, B-ćelijski aktivator porodice faktora nekroze tumora; BCL2 B-cell lymphoma 2, B-ćelijski limfom 2; BCL6 B-cell lymphoma 6, B-ćelijski limfom 6; ELISA enzyme-linked immunosorbent assay; za enzim vezan imunosorbent test; FFS failure free survival, vreme do neuspeha terapije; FISH fluorescence in situ hybridisation, fluorescentna in situ hibridizacija; FOXP1 forehead boxprotein 1, GCB germinal center B-cell-like, B-ćelije slične onima u germinalnom centru; HIF-1 α hypoxia-inducible factor 1 α -hipoksijom inducibilan faktor 1 α ; HPLC high performance liquid chromatography, tečna hromatografija visokih performansi; IHH imunohistohemija; LMO2 LIM domain only 2; MUM-1 multiple myeloma oncogene 1, multipli mijelom onkogen 1; NS not significant, nije značajan; OS overall survival, ukupno preživljavanje; PFS progression free survival, vreme do progresije bolesti; Skp2 S-phase kinase-associated protein 2, protein vezan za kinazu S-faze; VEGFR2 vascular endothelial growth factor receptor2, receptor 2 vaskularnog endotelialnog faktora rasta.

Tabela 9. Uloga molekularnih markera u prognozi DLBCL (različite studije)

1.2.3.1.3 Prognoza u odnosu na profil ekspresije gena (GEP)

Studije profila genske ekspresije kod DLBCL, izdiferencirale su najmanje dva podtipa ove bolesti, ABC i GCB, sa oko 15% bolesnika koji se ne mogu klasifikovati ni u jednu od ovih kategorija (49,50). Ova molekularna razlika imala je i prognozni značaj koji je naročito bio izražen pre ere rituksimaba (49). Rituksimab je poboljšao ishod bolesti u obe kategorije, ali je i dalje trogodišnje vreme do progresije bolesti duže kod GCB podtipa 75% u odnosu na ABC podtip 40% (p<0.001) (149).

1.2.3.1.4. Prognoza u odnosu na podtip DLBCL

THRLBCL smatra se agresivnim podtipom DLBCL. Slučajevi sa predominacijom histiocita predstavljaju grupu sa veoma agresivnim ponašanjem i lošijim odgovorom na standardnu terapiju (58).

CNS DLBCL je do otkrića terapije visokim dozama metotreksata imao izuzetno lošu prognozu. Obično relapsira u CNS, ali se sporadično događaju i sistemski relapsi, često u testis ili dojku (150).

Petogodišnje preživljavanje kod PCLBCL je oko 50% (151). Prisustvo više kožnih lezija je faktor loše prognoze. Inaktivacija CDKN2A je loš prognosni parametar (152).

Klinički tok EBV+ DLBCL je agresivan sa medijanom preživljavanja oko dve godine. Ni IPI skor, niti GEP podtip nemaju uticaja na prognozu. Jedina dva prognosna parametra koja čine mini skor su starost >70 godina i prisustvo B simptoma. Bolesnici koji imaju skor 0,1 ili 2 imaju medijanu preživljavanja od 56, 25, odnosno 9 meseci (70).

DLBCL-ACI takođe ima agresivno ponašanje i preživljavanje kraće od DLBCL-NOS. Pet godina preživi 25-30% bolesnika. Kod bolesnika kod koji se postigne kompletna remisija preživljavanje je oko 50%. Kompletna resekcija tumora, takodje poboljšava stopu izlečenja. Loš performans status, visok LDH, visoka urea i uzapredovao stadijum bolesti su loši prognosni faktori (78,153,154).

Jedan broj bolesnika sa LYG doživi spontanu remisiju bez terapije. Međutim, najveći broj bolesnika ima agresivan tok bolesti sa medijanom preživljavanja ispod dve godine (83). Noviji podaci pokazuju da je preživljavanje poboljšano dodavanjem rituksimaba u terapiju kod gradusa 3 oboljenja, dok bolesnici sa gradusom 1 i 2 LYG imaju dugotrajno preživljavanje nakon lečenja Interferonom- α 2b (86). LYG može da se transformiše u EBV+ DLBCL (86).

PMBL obično ima dobru prognozu nakon primene intezive hemioterapije, sa ili bez ozračivanja. Širenje na okolne strukture medijastinuma, pleuralni i/ili perikardni izliv kao i loš performans status su povazani sa lošijim preživljavanjem (90-92). Prema poslednjim radovima preživljavanje kod PMBL je minimum isto kao kod DLBCL NOS, a prema nekim studijama je i za nisajnsu bolje sa platoom na krivama preživljavanja nakon dve godine. Prema Rosewaldu i sar. PMBL ima bolje preživljavanje u odnosu na subgrupe GCB i ABC DLBCL-NOS (90-93,155).

IVLBCL je agresivno oboljenje koje loše odgovara na hemioterapiju. Loša prognoza je delom i zbog toga što se kasno dijagnostikuje. Bolju prognozu imaju slučajevi ograničeni na kožu (35, 99).

Medijana preživljavanja kod ALK+ DLBCL je 11 meseci. Dugotrajno preživljavanje se postiže kod dece. Ovi tumori su obično CD20-, pa se ne leče rituksimabom (35,102).

Klinički tok plazmablasnog limfoma je veoma agresivan i većina bolesnika umire tokom prve godine nakon dijagnoze (104-106). Preživljavanje je bolje, boljom kontrolom HIV infekcije (35). Slično PBL i LBL HH8-MCD i PEL imaju medijanu preživljavanja od nekoliko meseci (35).

Limfomi između DLBCL i Burkitt limfoma su najčešće „double hit“ limfomi i kako je već navedeno imaju lošiju prognozu od DLBCL-NOS. Slično tome i limfomi sive zone između PMBL i HL imaju lošiju prognozu od svakog pojedinačnog podtipa verovatno zbog suboptimalne terapije koju ovi bolesnici dobijaju (35).

1.2.3.2. Prognoza u odnosu biološki potencijal bolesnika

1.2.3.2.1. Starost bolesnika i performans status

Odavno je poznato da su odmakla životna dob i loš performans status povezani sa lošijom prognozom ishoda lečenja DLBCL. Osim kao direktni činioci lošije prognoze diriguju i izbor manje intenzivne terapije koja, sama po sebi doprinosi lošoj prognozi (12). Oba činioca uključena su u IPI skor (124). Najnovije studije takođe potvrđuju rezultate objavljene pre 20 i više godine, vezane za ova dva prognozna faktora. U studiji van de Schansa i sar. (156) analizirano je lečenje 419 bolesnika sa DLBCL starijih od 75 godina. Samo 46% je primilo optimalnu CHOP-like hemioterapiju dok su ostali dobili manje agresivne terapije. U 67% slučajeva na terapiju se razvila značajna toksičnost gradusa 3 i 4. Sve je ovo uticalo na niže ukupno preživljavanje.

1.2.3.2.2. Pol bolesnika

Ranijih godina, kada rituksimab nije bio standard u lečenju DLBCL pol bolesnika nije uticao na ishod lečenja. Poslednjih godina pokazano je da pol bolesnika ipak ima uticaj. Muller i sar. (157) pokazali su da bolesnice ženskog pola imaju veći benefit dodavanja rituksimaba CHOP

hemioterapiji. Ispitivana je farmakokinetika rituksimaba i pokazano je da muškarci brže metaboliziraju rituksimab i da ga imaju u manjoj koncentraciji u serumu. Ovo je naročito izraženo kod muškaraca sa većim indeksom telesne mase.

1.2.3.2.3. Prisustvo komorbiditeta

Prisustvo različitih udruženih bolesti kod bolesnika utiču na ishod lečenja DLBCL. Slično kao i starost i performans status komorbiditeti utiču kako direktno na preživljavanje, tako i indirektno izborom manje agresivne terapije. Liang-lin i sar. (158) su analizirali 333 bolesnika sa DLBCL starijih od 60 godina, da bi pokazali da li starost ili komorbiditeti više utiču na ishod lečenja. U ovoj studiji bolesnici su dobijali različite kombinacije hemioterapije sa ili bez rituksimaba i sa ili bez antraciklina (COP/R-COP;CHOP/R-CHOP). Medijana ispitanika bila je 73 godine. U univarijantnoj analizi bolesnici sa ≤ 70 godina, boljim performans statusom, nižim, u stadijumima I/II, sa normalnim LDH i $\beta 2$ -mikroglobulinom češće su bili tretirani antraciklinskom terapijom. Od 308 bolesnika koji su dobijali hemioterapiju 62.7% dobilo je planiran broj ciklusa. Bolje preživljavanje imala je grupa koja je dobila antracikline u terapiji, ali je ta grupa u startu bila prognostički povoljnija. Davanje rituskimaba na preživljavanje uticalo je samo u grupi bez antraciklini, dok u grupi koja je dobijala CHOP, dodavanje rituksimaba nije uticalo na preživljavanje. U ovoj seriji niži Charlsonov komorbiditetni skor je takođe uticao na preživljavanje kao i ženski pol i staros manja od 70 godina. Da bi isključili starost i vrstu terapije kao prognoze činioce Anđelić i sar. (159) su retrospektivno analizirali 145 bolesnika svih starosnih doba,unifromno lečeneih R-CHOP imunohemioterapijom. Ispitivana su tri komorbiditetna indeksa: Adult Comorbidity Evaluation-27 (ACE-27) (160), Modified Cumulative Illness Rating Scale (M-CIRS) (161) i Haematopoietic Stem Cell Transplantation-specific comorbidity index (HCT-CI) (162). U univarijantnoj analizi, bolesnici sa komorbiditetima su, prema ACE-27 ($p=0.007$) i HCT-CI ($p=0.03$) skoru, imali niže ukupno preživljavanje, dok M-CIRS skor nije uticao na preživljavanje. U multivarijantnoj analizi skor baziran na aalPI i HDC-CI bio je najbolji prediktor preživljavanja.

1.2.3.3. Prognoza u odnosu na rani terapijski odgovor

Jedan od najvažnijih ciljeva lečenja malignih bolesti je rana procena odgovora na primenjenu terapiju, kako zbog predviđanja prognoze i preživljavanja bolesnika, tako i zbog rane promene modaliteta lečenja. Različiti klinički i laboratorijski parametri su korišćeni u tu svrhu sa manje ili više uspeha (12). Pojava pozitron emisione tomografije (PET) naparvila je odrđen pomak na ovom polju. Za razliku od studija sa Hodgkinovom limfomom, gde je prognoza odgovora PET/CT snimanjem nakon drugog ciklusa gotovo postala standard (163), kod DLBCL je situacija manje jasna. Naime studije rane procene odgovora kod DLBCL dale su zbnjujuće rezultate. I dok je u svim studijama negativna prediktivna vrednost ranog PET/CT veoma dobra, pozitivna prediktivna vrednost se razlikuje i iznosi od 20% do 80%. Dalje istraživanje na ovom polju i standardizacija očitavanja rezultata PET/CT trebalo bi da donesu napredak u ranoj predikciji odgovora kod DLBCL (164).

1.2.4. Lečenje DLBCL

Lečenje bolesnika sa DLBCL bi trebalo započeti odmah nakon postavljanja dijagnoze i održivanja stadijuma bolesti. Ukoliko se DLBCL ne leči, medijana preživljavanje je kraće od jedne godine (165). Pre otkrivanja rituksimaba, terapija bazirana na antraciklinskim citostaticima kombinovana sa zračnom terapijom bila je osnova lečenja DLBCL (166,167). Uvođenje rituksimaba, krajem 90-tih godina prošlog veka donelo je značajno poboljšanje lečenja DLBCL i postavilo nove standarde u lečenju ove bolesti (168-170).

1.2.4.1. Lečenje starih bolesnika (60-80 godina starosti)

Oko 50% bolesnika sa DLBCL su stariji od 60 godina (171). Na bazi dobrih rezultata iz II faze ispitivanja Groupe d'Etudes des Lymphomes de l'Adulte (GELA) je dizajnirala studiju u kojoj je poredila 8 ciklusa R-CHOP terapije sa osam ciklusa CHOP protokola svakih 21 dan, kod bolesnika starijih od 60 godina. Dodavanje rituksimaba do tada standardnoje terapiji je značajno povećalo procenat kompletnih remisija (76% vs 63%; $p=0.0005$), kao i dvogodišnjeg preživljavanja (70% vs 57%; $p=0.007$) (172). Ovi rezultati su potvrđeni i nakon petogodišnjeg,

odnosno desetogodišnjeg praćenja gde je rituksimab doprineo produžavanju PFS, OS i vremena do povratka bolesti (disease free survival, DFS) (173,174). Rezultati GELA grupe su potkrepljeni rezultatima američke E4494 studije (175). Rezultati RICOVER-60 (176) su doneli novu informaciju o šemi doziranja R-CHOP terapije. Naime, ova studija je komparirala 6 i 8 ciklusa CHOP14 terapije sa ili bez 8 ciklusa rituksimaba, kod bolesnika između 60-80 godina. Rezultati su govorili u prilog tome da intenzivniji protokoli davanja R-CHOP terapije (6 ciklusa R-CHOP14+2R) mogu poprimiti rezultate lečenja, pre svih u grupi bolesnika sa lošom prognozom. Osam ciklusa hemioterapije nije donelo benefit u odnosu na 6 ciklusa. Komplijansa sa intenzivnim doznim režimom (98% za 6 ciklusa i 95% za osam ciklusa) je doprinelo dobrim rezultatima. Tome je svakako doprinelo davanje G-CSF svakom bolesniku u studiji, kao i uvođenje pretrentmana vinkristinom 1mg i prednizolonom 100mg, pre prvog ciklusa, što je doprinelo smanjenju incidence nusfektata prvog ciklusa i uspešnom završetku terapije kod većine bolesnika (176,177). Iako je studija RICOVER-60 imala veoma zapažene rezultate intenzivnijeg režima R-CHOP terapije na 14 dana, randomizovane studije koje su poredile dvonedeljni sa tronedeljnim režimom nisu pokazale benefit frekventijeg davanja terapije kod starijih bolesnika (178-180). Nemačka grupa je u studiji DENSE-R-CHOP14 ispitivala intenzivirano davanje rituksimaba u prve tri nedelje terapije (4 doze u tri nedelje, ukupno 12) sa standardnim režimom R-CHOP14 (181). Ovakav intenzivirani način davanja rituksimaba doprineo je povećanju stope kompletnih remisija kod bolesnika sa lošom prognozom (IPI3-5) (81% vs 68%), kao i jednogodišnje vreme do pojave neželjenog događaja (event free survival, EFS) (74% vs 65%), ali bez uticaja na OS.

1.2.4.2. Veoma stari bolesnici (>80 godina)

Najveći broj kliničkih studija kao kriterijum isključivanja navodi starost veću od 80 godina. Zbog toga ne postoji standardni tretman ovih bolesnika (182). U retrospektivnoj analizi Italiano i sar. Su pokazali da dodatak rituksimaba smanjenim dozama CHOP terapije donosi dobar kompromis između efikasnosti i toksičnosti (183). U prospektivnoj analizi Peyrada i sar. Dvogodišnje preživljavanje lečenjem R-miniCHOP terapijom je 59% (184). Kod bolesnika kod kojih nije moguće primeniti CHOP hemioterapiju kombinacija rituksimaba sa drugim citostaticima je jedna

od opcija. Kombinacija bendamustina i rituksimaba terapija daje solidne rezultate u lečenju ove populacije bolesnika (185).

1.2.4.3. Mlađi bolesnici (18-60 godina)

Lečenje DLBCL kod mlađih bolesnika sprovodi se prema rizičnim grupama određenim aaIPI skorom.

1.2.4.3.1. Mlađi bolesnici niskog stepena rizika

MINT studija je prva studija koja je pokazala benefit dodavanja rituksimaba CHOP hemioterapiji. U toj studiji bolesnici stari 18-60 godina, sa IPI skorom 0 ili 1 randomizovani su u dva grupe jednu koja je dobijala CHOP ili CHOP-like režime bez rituskimaba i drugu grupu koja je dobijala istu hemioterapiju sa dodatkom rituksimaba. Obe grupe su dobijale po 6 ciklusa terapije, praćene radioterapijom kod bulky bolesti i kod prisustva ektranodalnih lokalizacija. Poslednji izveštaj ove studije govori u prilog produženja PFS (79.9% vs 63.8%; $p < 0.0001$) i OS (89.8% vs 80%; $p = 0.001$) za grupu bolesnika koji su dobijali rituksimab. Multivarijantna analiza je pokazala da EFS, PFS i OS nisu zavisili samo od dodavanja rituksimaba, već i od aaIPI skora i prisustva bulky bolesti. Zbog toga su definisane dve podpe mlađih bolesnika sa dobrom prognozom: jedna sa veoma dobrom prognozom (aaIPI=0, bez bulky bolesti) i sa nešto lošijom prognozom (aaIPI=1, bulky bolest) (186). Na bazi ovih rezultata nemačka grupa za ispitivanje agresivnih NHL (DSHNHL) je započela FLYER studiju u kojoj pokušavaju da smanje intezitet lečenja kod mlađih bolesnika sa veoma dobrom prognozom komparirajući četiri sa šest ciklusa CHOP21 zajedno sa šest aplikacija rituksimaba. Paralelno sa ovom studijom započeta je i studija UNFOLDER gde se kod manje povoljno prognozne grupe poredi inetzivniji R-CHOP14 režim sa standardnim R-CHOP21 (29). Studija LNH03-2B GELA grupe poredila je 8 ciklusa intezivirane terapije R-ACVBP (rituksimab, doksorubicin, ciklofosamid, vinkristin, bleomicin i prednizolon) sa standardnim R-CHOP21 protokolom, kod mlađih bolesnika sa aaIPI skorom 1. Bolesnici lečeni R-ACVBP režimom imali su duži trogodišnji EFS (80.9% vs 66.7%; $p = 0.0035$), PFS (86.8% vs 74.4%; $p = 0.0015$) i OS (92.2% vs 83.8%; $p = 0.0071$) u odnosu na bolesnike lečene R-CHOP21 terapijom. Međutim R-ACVBP je bio udružen sa većim brojem neželjenih događaja

gradusa 3 i 4 (187). Obzirom da je studija relativno nova, duže praćenje će odgovoriti da li je R-ACVBP novi standard u lečenju ove podgrupe bolesnika.

1.2.4.3.2. Mladi bolesnici visokog stepena rizika

Imunohemioterapija R-CHOP je standard kod ovih bolesnika iako nije validirana u randomizovanim, prospektivnim studijama. Ne postoji konsenzus o lečenju ovih bolesnika sa aaIPI 2-3 i najbolja opcija za te bolesnike je da budu uključeni u kliničke studije, koje obično kao kontrolnu grupu koriste R-CHOP (29). Bilo je pokušaja da se u standardnu terapiju doda etopozid (CHOEP), pre ere rituksimaba. Iako je dodatak etopozida tada doprineo poboljšanju preživljavanja, rituksimab je u kasnijim studijama izbrisao benefit etopozida, ali kod mladih bolesnika sa dobrom prognozom (186, 188). Danska limfomska grupa, je u nedavnoj studiji pokazala benefit R-CHOEP14 režima u odnosu na R-CHOP14 i mladih bolesnika sa aaIPI skorom 2-3 (4-god OS 75% vs 62%; p=0.04) (189). Cancer and Leukemia Group B (CALGB) je istraživala uticaj različitih biomarkera kod bolesnika lečenih R-EPOCH terapijom sa prilagođavanjem doze (dose adjusted) DA-R-EPOCH (190). Studija je pokazala da je DA-R-EPOCH poboljšava lečenje kod MYC+ DLBCL i poništava negativnu prognoznu vrednost ovog markera (191). Jedno od najvećih neodgovorenih pitanja je uloga visokodozne hemioterapije (high dose chemotherapy, HDCT) praćene autolognom transplantacijom matičnih ćelija hematopoeze (autologous stem cell transplantation, ASCT) kod ove grupe bolesnika. Meta-analiza 15 randomizovanih studija nije pokazala jasan benefit HDCT u prvoj liniji terapije (192). Nakon ove meta-analize objavljeni su rezultati još četiri randomizovane studije koje su inkorporirale rituksimab u lečenje. U studija GOELAMS075 8 ciklusa R-CHOP14 terapije rezultiralo je jednakim trogodišnjim PFS u odnosu na HDCT (76% vs 83%), uz napomenu da je R-CHOP14 imao manju toksičnost (193). Slično tome, studija DSHNHL je poredila R-MegaCHOEP14 sa istom terapijom praćenom HDCT u dobila jednake rezultate. Osim toga, bolesnici sa aaIPI 2 imali su čak bolji ishod sa konvencionalnom terapijom (194). Sa druge strane, Vitolo i sar. (195) su pokazali, poredeći četiri ciklusa R-CHOP14 praćenih HDCT+ASCT sa standardnom R-CHOP14 terapijom, da dovodi do boljeg dvogodišnjeg PFS, ali ne i OS. Rezultati, nedavno prikazane studije SWOG S9704 takođe su demonstrirali benefit HDCT u odnosu na standardnu hemioterapiju. U ovoj studiji su svi bolesnici dobili pet ciklusa CHOP21 +/-

rituksimab i nakon toga randomizovani u grupu koja je nastavila konvencionalnu terapiju i grupu koja je dobila HDCT+ASCT. Dvogodišnji PFS je bio 69% za HDCT u odnosu na 56% kod konvencionalne hemioterapije ($p=0.005$), ali takođe nije bilo razlike u OS 71%vs 74%. Najveći benefit od HDCT su imali bolesnici sa sva tri faktora prema aalPI (196).

1.2.4.4. Terapije sa manjim broj ciklusa

Kod bolesnika u nižem stadijumu bolesti (I i II stadijum bez bulky bolesti) pokušano je da se smanji broj ciklusa hemioterapije, a da se to nadomesti dodavanjem radioterapije po „involved fieldu“ (IFRT). Prednosti ovakve terapije su smanjenje kardiotoksičnosti, zbog manje kumulativne doze doksorubicina, primena dva različita modaliteta lečenja koji nemaju unakrsnu rezistenciju i direktna aplikacija radioterapije na zahvaćena mesta (197). Pre upotrebe rituksimaba kao standarda lečenja, SWOG je pokazao da su tri ciklusa CHOP praćena IFRT superiornija u odnosu na 8 ciklusa CHOP terapije kod bolesnika sa nižim lokalizovanim DLBCL (197). Međutim, dužim praćenjem ovih bolesnika ova prednost nestaje i većim broj relapsa se pojavljuje nakon kraće primene hemioterapije (198). Sledeća studija, takođe sprovedena od strane SWOG grupe, je pokazala da dodatak četiri ciklusa rituksimaba skraćenom CHOP praćenom IFRT je superiornije od 8 ciklusa CHOP-a. Slično prethodnoj studiji nema platoa u krivi preživljavanja, što pokazuje da skraćivanje terapije ne eradicira maligni klon u potpunosti i da će se javiti veći broj kasnih relapsa (199). Sehn i sar. (200) pokušali su da pomoću PET/CT-a skroje optimalnu terapije za bolesnike sa lokalizovanim DLBCL. Oni su nakon tri ciklusa R-CHOP kod bolesnika radili PET/CT. Bolesnici sa negativnim PET/CT-om su doobijali još jedan ciklus R-CHOP, dok su oni sa pozitivnim nalazom dobijali IFRT. Sedam od 103 bolesnika sa negativnim nalazom PET/CT-a je relapsiralo sa trogodišnjim OS od 96%. Sa druge strane 9 od 30 bolesnika sa pozitivnim nalazom je relapsiralo, čime je pokazano da je IFRT nedovoljno dobra terapija sa bolesnika sa pozitivnim nalazom PET/CT-a. Obzirom na dobre rezultate kod bolesnika sa negativnim PET/CT nalazom, studija je pokazala da postoje bolesnici kojima se može skratiti lečenje i da je PET/CT veoma dobar način da se takvi bolesnici pronađu.

1.2.4.5. Uloga radioterapije u lečenju DLBCL

Uloga radioterapije u lečenju DLBCL još uvek nije u potpunosti definisana. Iako su navedene studije (197-199) pokazale izvestan benefit dodavanja radioterapije u ranoj fazi praćenja, duže praćenje bolesnika je pokazalo da su kasni relapsi česti kod ovakve vrste lečenja. MINT studija (186) je dala određene pomake u definisanju uloge radioterapije kod DLBCL. U ovoj studiji konsolidaciona radioterapija je davana bolesnicima sa bulky bolešću. Bulky bolest je pored davanja radioterapije ostala negativan prognozni faktor preživljavanja, dok je kod bolesnika nižeg stadijuma, bez bulky bolesti preživljavanje bilo preko 90% iako su lečeni samo imunohemioterapijom (201). Porodjenjem dveju studija DSHNHL grupe, pokazano je da konsolidaciona radioterapija ne donosi benefit kod bulky bolest, kod starijih bolesnika koji su postigli kompletnu remisiju R-CHOP14 režimom, ali daje dobre rezultate kod bolesnika kod kojih je postignuta samo parcijalna remisija (202). U poslednje vreme ide se u pravcu sprovođenja radioterapije na PET-pozitivna mesta nakon sprovedene kompletne imunohemioterapije. U seriji od 196 bolesnika sa uznapredovalim DLBCL koji su imali masu veću od 2cm na CT snimanju uradjena su snimanja na PET/CT. Bolesnici sa negativnim PET/CT-om su praćeni, dok su bolesnici sa pozitivnim nalazom dobijali konsolidaciju radioterapijom. Obe grupe su imali jednako preživljavanje, što govori u prilog radioterapiji kao metodi izbora u lečenju PET pozitivnih rezidualnih masa nakon sprovedene imunohemioterapije (203).

1.2.4.6. Lečenje relapsa/refrakternih bolesnika

I pored poboljšane efikasnosti lečenja DLBCL u prvoj liniji značajan broj bolesnika doživi progresiju bolesti ili relaps. Prognoza takvih bolesnika je veoma loša, sa medijanom preživljavanja oko 6 meseci (204,205). Standardno lečenje ove grupe bolesnika je HDCT+ASCT. Pre ere rituskimaba, PARMA studija je demonstrirala produžen EFS i OS u hemiosenzitivnih bolesnika koji su dobili HDCT u odnosu koji su lečeni samo protokolom DHAP (deksazon, cisplatin, visoke doze citozin-arabinozida) (206,207). Od tada se pojavio veliki broj takozvanih „salvage“ prokola: ESHAP (208,209), EPOCH (210), CEPP (211,212), ICE (213,214).

Pojavom riruksimaba, ponovo su reevaluirani bolesnici koji dožive relaps na inicijalno lečenje. U studiji CORAL (215) je prospektivno randomizovano 396 relaps /refrakternih (R/R) bolesnika sa

DLBCL. Jedna grana je dobijala R-ICE (ifosfamid, karboplatin, etopozid), dok je druga dobijala R-DHAP imunohemioterapiju. Nije bilo značajne razlike između ova dva protokola. Multivarijantna analiza je pokazala da bolesnici sa aaIPI skorom 2 ili 3, relapsom koji se javio posle manje od 12 meseci nakon inicijalne terapije i bolesnici koji su u inicijalnom lečenju dobili rituksimab imaju lošije preživljavanje. Osim toga naknadna evaluacija u odnosu na podtipom DLBCL demonstrirala je da bolesnici sa GCB-like podtipom imaju bolje ishoda lečenja ako su dobili R-DHAP u odnosu na R-ICE terapiju (216). Dugotrajno preživljavanje bolesnika koji su dobili pun tretman uključujući i HDCT+ASCT je samo oko 20% što ukazuje na to da je pronalaženje novih modaliteta lečenja R/R DLBCL od velike važnosti (215).

Alogena transplantacija matičnih ćelija hematopoeze (AlloSCT) je jedna od strategija lečenja R/R bolesnika koji ne odreaguju na „salvage“ režime sa ili bez HDCT+ASCT. Ova metoda lečenja je rezervisana za refrakterne bolesnike ili bolesnike koji relapsiraju nakon ASCT (217). Iako je određen broj studija pokazao rezultate ovim oblikom lečenja, velika stopa smrtnosti zbog terapije smanjila je entuzijazam kliničara za njenom upotrebom (218). AlloSCT sa kondicionim režimima redukovano intenziteta (RICalloSCT) je pokazala obećavajuće rezultate. U francuskoj studiji uključeno je 68 bolesnika koji su R/R na dve prethodne terapijske linije dvogodišnji OS bio je 49%. Takođe je pokazano da ishod ne zavisi od prethodne upotrebe rituksimaba (219). Ovako dobar rezultat se objašnjava graft-versus-lymphoma efektom koji se javlja nakon AlloSCT.

Bolesnici koji zbog godina starosti ili pratećih bolesti nisu kandidati za ASCT su poseban problem. Različiti protokoli su testirani kod ove grupe bolesnika i najbolji rezultati su dobijeni kombinovanjem rituksimaba, gemcitabina i oksaliplatin (R-GEMOX) (220,221).

1.2.4.7. CNS profilaksa

Incidenca sekundarnog zahvatanja CNS-a kod bolesnika sa DLBCL je između 4-8% (222-224). Pregled likvora značajna poporavlja detekciju okultne leptomeningealne bolesti i obično se preporučuje kod ukoliko su limfomom zahvaćena više od dva ektranodalna mesta, paranazalni sinusi, testisi, kosna srž ili postoji epiduralna infiltracija (225). Iako većina kliničkih vodiča, uključujući ESMO i NCCN daje preporuku za profilaksu CNS relapsa kod bolesnika sa visokim rizikom (bolesnici sa visokim rizikom prema IPI skoru, zahvatanje više od jednog ektranodalnog

mesta, loš performans status, povišen LDH, kao i zahvatanje paranazalnih sinusa, testisa ili orbita), ne postoji konsenzus koja bi to terapijska opcija bila (29). Subanaliza RICOVER-60 studije ukazuje na to da intratekalni metotreksat ne smanjuje incidencu pojave CNS relapsa kod bolesnika lečenih modernom imunoheioterapijom (226). Novija saznanja govore u prilog sistemskoj terapiji koja prolazi krom hematoencefalnu barijeru (pre svega visoke doze metotreksata) igraju najveću ulogu u prevenciji CNS relapsa, smanjujući ovaj događaj na 2-3% bolesnika u poređenju sa 5-6% na standardnoj imunoheioterapiji (227, 228).

Rituksimab u prvoj liniji lečenja takođe smanjuje incidencu CNS relapsa, što je pokazano u pomenutoj RICOVER-60 studiji (226), što je nakon toga potvrđeno i u narednim istraživanjima. Ovo se naročito odnosi na bolesnike koji su ušli u kompletnu remisiju nakon primenjene R-CHOP terapije (229).

1.2.4.8. Nove terapijske strategije

Otkrićem rituskimaba, krajem prošlog veka, započeta je era „ciljanih terapija“ u onkologiji. Od tada je razvijen čitav niz novih lekova za različite onkološke bolesti, međutim nijedan lek još uvek nije ušao u standardnu upotrebu kod bolesnika obolelih od limfoma. Poslednjih godina velik broj kliničkih studija sa pozitivnim rezultatima ukazuje na to da će i u oblasti NHL novi lekovi zauzeti svoje mesto (230). Trenutno velik broj monoklonskih antitela (MAB) je u različitoj fazi ispitivanja kod bolesnika sa DLBCL. Uspešan koncept anti-CD20 terapija naveo je istraživače da razvijaju nova, poboljšana, antitela koja ciljaju ovaj antigen. Ofatumumab (Arzerra, GSK) je MAB koje pojačava komplementom zavisu citotoksičnost u odnosu na rituksimab, tako što se snažnije vezuje Fc fragmentom za C1q komponentu komplementa. Efikasan je kod relapsa FL i HLL i odobren je od strane FDA za ove indikacije (230). U studiji Matasar i sar. (231) ukupan odgovor na kombinaciju ofatumumaba i DHAP ili ICE protokola bio je 61% uz 37% kompletnih remisija kod rituksimabom pretretiranih bolesnika. Drugo anti-CD20 antitelo, obinutuzumab (GA-101, Roche) je dizajnirano tako da poveća antitelom-zavisnu citotoksičnost u odnosu na rituksimab pojačanim vezivanjem Fc fragmenta na FcR efektorske ćelije (230). U GAUGUIN studiji monoterapija obinutuzumabom kod R/R DLBCL pokazala je ukupan odgovor od 37% u dozi 1600mg prvi ciklus, 800mg naredni ciklusi i 20% ukupnog odgovora kod bolesnika refrakternih na rituksimab (232). Ostala antitela koja su uglavnom u fazama I/II ispitivanja su

inotuzumab-ozogamicin, anti-CD22 antitelo za kalihemicinom vezanim za Fc fragment, zatim sličan koncept vezivanja citotoksičnog agensa vezanog za anti-CD19 antitelo, te anti-TRAIL-R1 antitelo mapatumumab, anti-TRAIL-R2 antitelo lexatumumab i biklonkso antitelo koje ima za cilj CD19, a vezuje se Fc fragmetnom za CD3-blinatumumab (230). Osim monoklonskih antitela razvijaju se i različiti „mali moleukli“ koji inhibiraju signalne puteve malignih ćelija. Enzastaurin je inhibitor protein kinaze C-beta (PKC). U studiji faze II u kombinaciji kod bolesnika sa DLBCL visokog rizika enzastaurin u kombinaciji sa R-CHOP terapijom dao je veću stopu kompletnih remisija u odnosu na sam R-CHOP 36% vs 26% i jednogodišnji PFS 71% vs 52% bez veće razlike u toksičnosti (233). Receptor za B-ćelijski antigen (BCR) je važan faktor za proliferaciju B-ćelijskih maligniteta, sa Brutonovom kinazom kao esencijalnim elementom BCR signalnog puta. Ibrutinib je inhibitor Brutonove kinaze (Btk) (230). Ovaj lek je ispitivan u fazi IA studije pokazao efikasnost kod bolesnika sa R/R DLBCL kao monoterapija (234). Ohrabreni ovim rezultatima Younes i sar. su realizovali studiju faze IB. Primarni cilj je bio pronalaženje doze ibrutiniba u kombinaciji sa standardnim R-CHOP protokolom. Makismalna doza tolerancije za ibrutinib bila je 560mg i u sa ovom dozom kombinacija IR-CHOP pokazala je ORR od 100% i CR od 70% (235). Stalna aktivnost nuklearnog faktora kappa B je jedan od glavih uzroka loše prognoze kod bolesnika sa activated B-cell like (ABC) DLBCL. Inhibitori proteozoma, odnosno bortezomib kao njihov prvi i najviše ispitivani predstavnik, inhibiraju aktivaciju ovog signalnog puta, te je taj koncept iskorišćen u ispitivanju ovog leka kod ABC DLBCL (230). U studiji faze I/II kombinovan je bortezomib sa R-CHOP protokolom. Kod 35 bolesnika sa DLBCL ORR bio je 100% sa 90% kompletnih remisija. Hansovim metodom su razdvojeni bolesnici u GCB i non-GCB podgrupu i dvogodišnji PFS je bio jednak u obe grupe i iznosio je 70% (236). U drugoj studiji bortezomib je davan bolesnicima sa R/R DLBCL u kombinaciji sa EPOCH hemioterapijom. ORR bio je 40% sa medijanom preživljavanja od 8 godina. Kada su razdvojeni bolesnici na non-GCB i GCB podtip, pokazano je da je značajno bolji odgovor postignut u non-GCB grupi 83% vs 13%, uz duže preživljavanje u non-GCB grupi bolesnika (237). Imunomodulatorni lekovi su, slično bortezomibu, najviše ispitivani kod bolesnika sa muliplim mijelomom. U fazi II kod 108 bolesnika sa R/R DLBCL lečenih monoterapijom lenalidomidom ORR je bio 28% sa medijanom PFS od 2.3 meseca (238). Slično bortezomibu i lenalidomid pokazuje veću efikasnost kod non-GCB podgrupe bolesnika (239).

Osim nabrojanih lekova ispituju se i druge različite mogućnosti inhibicije signalnih puteva proliferacije ćelija: spleen tyrosine kinaza inhibitori (Syk), inhibitori mammalian target of rapamycine (mTOR), histon deacetilaza inhibitori, STAT3 inhibitori i mnogi drugi (230).

1.3. Molekulski markeri

1.3.6. BAFF i njegovi receptori BAFF-R, TACI, BCMA

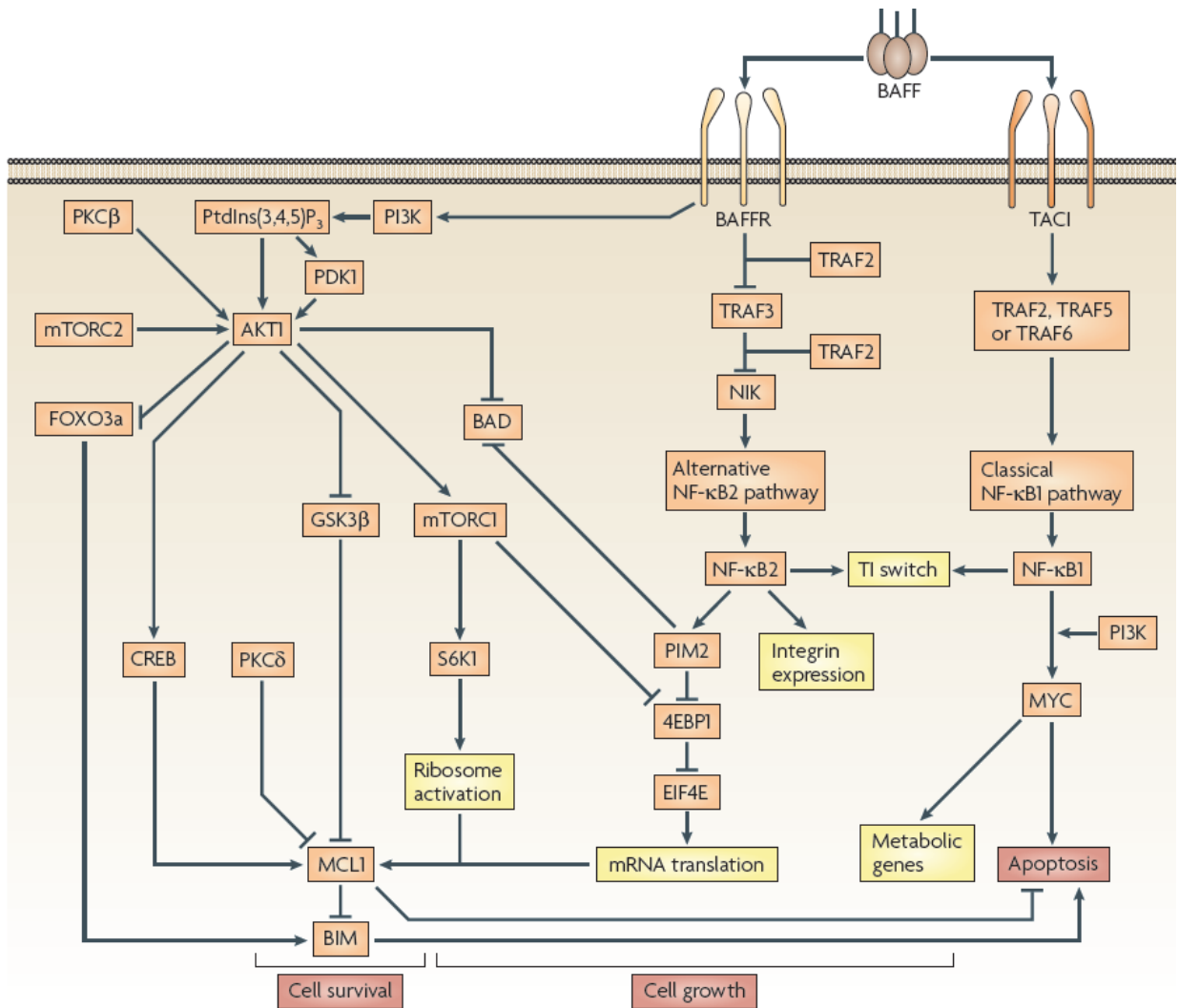
B-limfocitni stimulator (BlyS), takođe poznat i kao B-ćelijski faktor aktivacije (B-cell activating factor, BAFF) je molekul koji pripada familiji faktora nekroze tumora (Tumor necrosis factor, TNF). BAFF igra važnu ulogu u razvoju B-limfocita i uključen je patogenezu autoimunih bolesti i B-ćelijskih maligniteta (240-242). In vitro eksperimenti su pokazali da vezivanjem BAFF-a na receptore, dolazi do proliferacije i promocije opstanka B-ćelija (243). Kod miševa kojima je poništen BAFF gen dolazi do nerazvijanja B-ćelija u zrele forme. Sa druge strane prekomerna produkcija ovog molekula dovodi do pojave simptoma autoimunih bolesti. U poslednje vreme primećeno je da BAFF ima moguću ulogu i u proliferaciji malignih B-limfocita (243).

1.3.6.1. Funkcija BAFF-a

BAFF se sintetiše od strane makrofaga, monocita i dendritičnih ćelija. On je transmembranski protein koji nakon razdvajanja od membrane ćelija koje ga stvaraju, stvara homotrimere, kao funkcionalne oblike koji se vezuju za efektorske receptore (243, 244). BAFF se vezuje za B-limfocite i stimuliše njihovu proliferaciju. U kosnoj srži se odvija razvoj B-ćelija od progenitora do nezrelih formi. Nakon napuštanja kosne srži, nezrele B-ćelije dolaze u periferne limfoidne organe i razvijaju se u dva prelazna oblika T1 i T2. T2 B-ćelije se razvijaju na dva načina. Većina ovih ćelija (oko 80%) postaju ćelije folikularnog centra, dok se oko 20% ćelija razvije u zrele B-limfocite marginalne zone. Delecija BAFF gena kod miša dovodi do gubitka obe vrste ovih ćelija. Broj T1 oblika B-ćelija gotovo da nije redukovano, tako da je BAFF apsolutno neophodan u razvoju T2 B-limfocita iz T1 faze. Sa druge strane visoka ekspresija BAFF-a dovodi do pojave autoimunih fenomena te je zaključak da je BAFF ključan u homeostazi B-limfocita (243,245).

1.3.6.2. Receptori za BAFF

BAFF se vezuje sa tri receptora: B-ćelijski antigen sazrevanja (B-cell maturation antigen, BCMA), transmembranski aktivator i kalcijumski modulator i interaktor ciklofilinskih liganada (transmembrane activator and calcium modulator and cyclophilin ligand interactor, TACI) i BAFF receptor (BAFF-R). BCMA i BAFF-R su eksprimirani isključivo na B-limfocitima, dok je TACI, osim na ovim ćelijama, eksprimiran i na aktiviranim T-limfocitima. Nakon vezivanja za receptore BCMA i TACI reaguju sa TNF-receptor asociranim faktorima (TRAF) i aktiviraju klasičan NF- κ B1 signalni put i na taj način povećavaju nivo ekspresije anti-apoptotskih gena Bcl-XL i Bcl-2. Sa druge strane BAFF-R direktno aktivira alternativni NF- κ B2 signalni put te preko PIM2, te preko MCL1 gena deaktivira pro-apoptotski gen BIM i promovise opstanak ćelije (243, 248). Osim toga interakcija BAFF-BAFF-R dovodi do aktivacije puta fosfatidil-inozitol-3-kinaze (PI3K) i mammalian target of rapamycine (mTOR) što takođe promovise ćelijsku proliferaciju (248). Osim BAFF-a za BCMA i TACI se vezuje i ligand koji indukuje proliferaciju (a proliferation inducing ligand, APRIL) koji je takođe član TNF familije. APRIL je nisko ekprimiran u zdravim tkivima, ali je pokazao visoku ekspresiju u malignim tumorima kolona, štitne žlezde i limfoproliferativnim oboljenjima (244). Njegova uloga nije potpuno jasna, ali se pretpostavlja da se delom vezuje za BCMA i TACI receptore, aktivirajući klasičan NF- κ B put (243).



Grafikon 1. Signani putevi BAFF i TACI receptora (248)

1.3.6.3. Uloga BAFF-a, APRIL-a i njihovih receptora u nastanku i prognozi limfoproliferativnih bolesti

Osim kod normalnih B-limfocita receptori za BAFF i APRIL mogu biti eksprimirani i kod B-ćelijskih neoplazmi. Na in vitro modelima pokazano je da BAFF i APRIL štite B-ćelije od apoptoze i promovišu njihovo preživljavanje (249-253). Najverovatnije same maligne ćelije-autokrino proizvode ova dva molekula (243). Nekoliko manjih studija je ispitalo ekspresiju receptora za BAFF i APRIL. U studiji Rodig i sar. (254) ekspresiju BAFF-R na normalnim ljudskim limfocitima i na različitim podtipovima limfoma. Većina normalnih B-limfocita i mali broj T-limfocita eksprimira BAFF-R. Od ukupno 116 slučajeva B-ćelijskog limfoma 78% je

ekspimiralo BAFF-R imunohistochemijsko i/ili analizom na protočnom citometru. Za razliku od zrelih B-ćelijskih NHL (FL, MZL, HLL, DLBCL), limfomi prekursorških B-ćelija i Burkittov limfom, kao i Hodgkinov limfom, te svi T-ćelijski limfomi, nisu ekspimirali BAFF-R. Wada i sar. (255) ispitivali su ekspresiju BAFF-R i TACI kod reaktivnog limfoidnog tkiva i kod NHL, imunohistohemijom. BAFF-R je bio ekprimiran u svim slučajevima MCL i FL dok je kod DLBCL bio pozitivan u 63% slučajeva, dok je kod mijeloma bio negativan. Sa druge strane TACI je bio ekspimiran u 100% slučajeva mijeloma, dok je kod DLBCL bio pozitivan u 58%, a kod MCL i FL u 25% slučajeva. Ova studija je pokazala duže preživljavanje kod bolesnika sa BAFF-R pozitivnim DLBCL, dok TACI nije uticao na preživljavanje. Dvadeset sedam od 61 bolesnika sa DLBCL bili su BAFF-R pozitivni. U studiji Takahate i sar. (256). BAFF-R je bio pozitivan češće u bolesnika sa GCB fenotipom i korelirao je sa nižim Ki67 proliferacionim indeksom. Osim receptora ispitivana je uloga solubilnog BAFF i APRIL kod bolesnika sa NHL. U najvećem broju studija koncentracije BAFF-a i APRIL-a su veće u bolesnika sa NHL u odnosu na normalnu populaciju (257). Bolesnici sa višim nivoom solubilnog BAFF, imaju lošiju prognozu (258).

1.3.6.4. BAFF-ciljana terapija

Razvijeno je nekoliko koji ciljaju BAFF, APRIL i njihove receptore. Belimumab je anti BAFF antitelo koje je registrovano za lečenje sistemskog eritemskog lupusa (259). Tabalumab je takodje anti-BAFF antitelo do sada ispitivano u I fazi za lečenje multiplog mijeloma, ataccept TACI-Ig koje blokira solubilni BAFF i APRIL (261), dok su anti-APRIL antitela u prekliničkoj fazi razvoja (262).

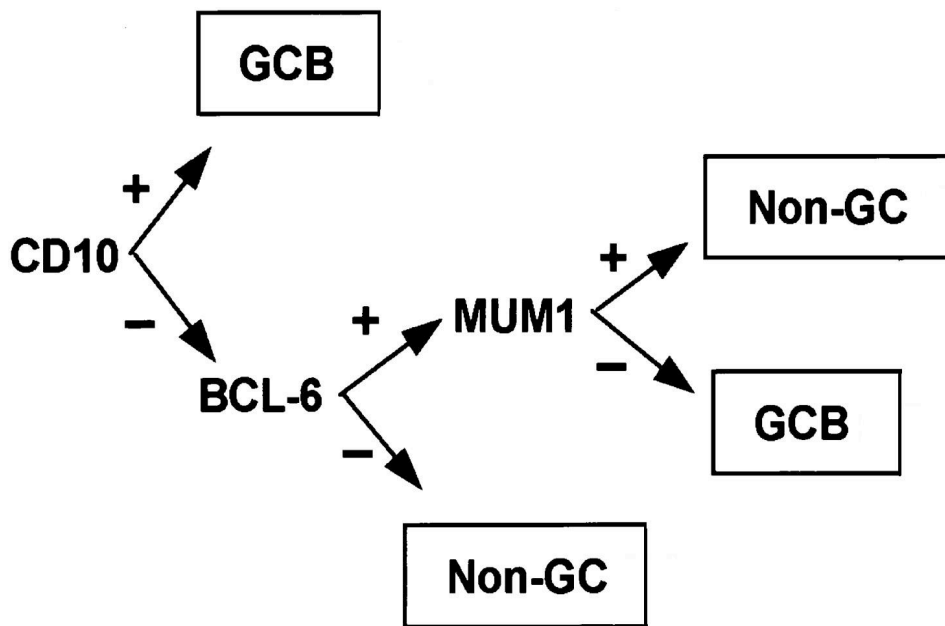
1.3.7. GCB i nonGCB fenotip

Već je u ranijim delovima ove disertacije, ukratko, bilo govora o profilu genske ekspresije i imunohistochemijskim surogatima za dijagnostičko razdvajanje ove dve grupe. Prvi put ova podela je objavljena 2000. godine od strane Alizadeha i sar. (49). On je tehnologijom mikročipova našao vezu između ekspresije određenih gena i podtipa DLBCL, te je podelio ovo oboljenje na dva potipa GC-like jer su ćelije DLBCL imale sličnu ekspresiju gena kao ćelije

germinativnog centra limfnog čvora, i grupu ABC-like, zbog sličnosti ovih ćelija sa genskim potpisom aktiviranog B-limfocita. Osim toga u ovom radu je pokazano da bolesnici sa GC-like fenotipom imaju bolju prognozu. Shipp i sar. (263) su dve godine kasnije objavili sličnu studiju, gde su validirali otkriće Alizadeha, ali nisu dobili razliku u preživljavanju. Rosewald i sar. (50) su na 240 slučajeva DLBCL potvrdili postojanje GC-like i ABC-like potipova, ali su dodali i treći podtip koji se ne uklapa ni u jednu od ovih grupa, odnosno predstavlja mešavinu gena obe podgrupe.

1.3.7.1. Imunohistohemijski surogati

Tehnologija mikročipova je veoma skupa i zahteva sveže ili zamrznuto tkivo, te njena aplikacija nije široko primenjiva. Nekoliko autora koristeći različite markere, pokušalo je da napravi imunohistohemijski pandam ovoj podeli, koji bi mogao biti korišćen u rutinskom radu za razdvajanje ove dve podgrupe bolesnika. Ubedljivo najšire korišćeni imunohistohemijski algoritam dizajniran je od strane Hans i sar. (55). Korišćenjem tri antitela CD10, BCL6 i IRF4/MUM1, oni su pokušali da diferenciraju ova dva podtipa. Svi slučajevi koji su CD10+ su GCB-like, kao i slučajevi koji su CD10-, a BCL6+ i MUM1-, dok su ostali ABC-like podtipovi (grafikon 2.). Iako veoma često korišćen, Hans algoritam ne korelira u potpunosti sa GEP analizom (50). Nakon toga su Choi i sar. (264) dizajnirali novi drugačiji algoritam koristeći pet imunohistohemijskih markera: GCET1, CD10, BCL6, MUM1 i FOXP1. Ovaj metod je imao konkordantnost sa mikročip metodama u previđanju podtipa GEP u 87% slučajeva, što je rezultat koji je bolji u odnosu na Hans metod. Treći imunohistohemijski algoritam dizajnirali su Meyer i sar. (265) i nazvao ga „Tally“ metod. I ovaj metod je imao saglasnost sa mikročip analizama preko 80%.



Grafikon 2. Hans metod (55) za određivanje GCB/nonGCB podtipa DLBCL

1.3.7.2. Značaj određivanja GEP podtipa u prognozi ishoda lečenja DLBCL

Inicijalne studije analize profila genske ekspresije pokazale su da bolesnici sa GC-like fenotipom imaju bolje preživljavanje u odnosu na bolesnike iz nonGC-like grupe (49,50). Međutim ove studije su rađene pre ere rituksimaba. U eri rituksimaba rezultati preživljavanja nisu konzistentni. Rezultati većine autora govore u prilog izjednačavanja prognoze ova dva podtipa u eri rituksimaba (267-269). Međutim, postoje i analize koje pokazuju da i dalje postoje razlike u preživljavanju, bez obzira na uključivanje rituksimaba u terapiju (270,271). Ove studije su koristile imunohistohemijske algoritme za razdvajanje podgrupa DLBCL. U jedinoj studiji koja je koristila mikročipove (149) bolesnici sa GC-like fenotipom imali su bolji ishod lečenja.

1.3.7.3. Terapijski značaj određivanja GEP

Iako zvanične preporuke, još uvek nisu uzele u obzir GEP kao značajan faktor u izboru terapije, postoje rezultati, naročito kod relaps/refrakternih bolesnika koji govore u prilog različite efikasnosti drugačijih terapija kod GCB i nonGCB DLBCL. Subanaliza CORAL studije, BioCORAL (216) je pokazala da bolesnici sa R/R DLBCL nonGCB fenotipa imaju bolji ishod

lečenja ukoliko dobiju R-DHAP u odnosu na R-ICE terapiju. Osim toga, bortezomib i lenalidomid su pokazali veću efikasnost kod bolesnika sa nonGCB fenotipom (237, 239).

1.3.8. CD10, Bcl-6 i MUM-1

Markeri CD10, Bcl-6 i MUM-1 su nam u prvom redu od značaja za određivanje GCB i nonGCB fenotipa (55, 271, 272).

CD10 antigen je eksprimiran na normalnim i malignim ćelijama hematopoeznog porekla i na nekim ćelijama nehematopoeznih tkiva. Nalazi se na pro-B i pre-B ćelijama i na zrelim B-limfocitima, germinalnog centra. CD10 je neutralna endopeptidaza čiji su supstrati važni peptidi kao bradikinin, enkefalin, angiotenzin I, oksitocin, supstanca P i f-MLP peptid. Aktivacija CD10 zavisi od vezivanja cinka i reguliše B-ćelijsku proliferaciju i diferencijaciju, redukuje inflamatorni odgovor i enkefalinom izazvanu analgeziju. Visoka ekspresija CD10 je povoljan prognostički činilac u DLBCL (273, 274)

Bcl-6 protein pripada familiji cink finger proteina, inhibitora transkripcije. Biološke efekte ostvaruje preko modifikacije ekspresije preko 500 gena uključenih u kontrolu ćelijskog ciklusa, diferencijaciju i gensku nestabilnost u DLBCL. Visok nivo ekspresije Bcl-6 je povezan sa GCB podtipom DLBCL i dobrom prognozom (273, 274).

MUM-1/IRF-4 (Multiple myeloma oncogene-1/ Interferon regulatory factor 4) je član familije regulatornih receptora za interferon. Obično je ekprimiran na plazma ćelijama i pojedinim ćelijama germinativnog centra. MUM-1 pozitivni DLBCL je češće imunoblastnog podtipa. U maloj studiji bolesnika lečenih kombinacijom CHOP bez rituksimaba MUM-1 se pokazao kao negativan prognozni parametar (128).

1.3.9. Ciklooksigenaza-2 (COX-2)

Eikosanoidi, prostaglandini i leukotrijeni su metabolički aktivni lipidi uključeni u različite patološke procese kao što su inflamacija i karcinogeneza. Njihov metabolizam je vezan za arahidosku kiselinu, odnosno enzime ciklooksigenazu i lipooksigenazu, koji pretvaraju arahidosku kiselinu u navedene forme biološki aktivnih lipida (275). Postoje dve forme ciklooksigenaza COX-1 i COX-2. COX-1 je stalno eksprimirana, najčešće u ćelijama koje se ne

nalaze u fazi proliferacije, i održava stalni, bazični nivo prostaglandina. Sa druge strane, COX-2, obično nije eksprimirana u ćelijama koje nisu aktivirane. Ona je indukovana različitim stimulusima i medijator je povećane produkcije prostaglandina tokom inflamacije (276). COX-2 je takođe visoko eksprimirana u različitim solidnim tumorima: karcinomu dojke, prostate, debelog creva i pluća (277). Osim kod solidnih tumora i kod hematoloških maligniteta COX-2 je visoko eksprimirana u poređenju sa normalnim ćelijama hematopoeze (278-280). U određenim vrstama tumora ekspresija COX-2 korelira sa lošijem prognozom (280, 281).

1.3.9.1. Mehanizam delovanja COX-2 u karcinogenezi

COX-2, uglavnom preko svojih produkata prostaglandina, na različite načine učestvuje u karcinogenezi i proliferaciji malignih ćelija (275). Prostaglandini utiču na nekoliko signalnih puteva indukujući proliferaciju i inhibirajući apoptozu (275). Kod ćelija karcinoma debelog creva i pluća prostaglandin E2 (PGE2) indukuje signalni put Ras-Erk, dok kod karcinoma dojke pojačava proizvodnju aromataze i posledičnu produkciju estrogena, te stimulaciju rasta malignih ćelija. Takođe, PGE2 stimuliše signalni put PI3K-Akt-PPAR δ , zatim pojačava stvaranje BCL-2 i NF- κ B, te štiti ćeliju od apoptoze. Sa druge strane prostaglandin F2 (PGF2) indukuje proliferaciju malignih ćelija kroz signalni put fibroblasnog faktora rasta (FGF) (275). Prostaglandini su najvažniji imunomodulatori i procesu hronične inflamacije koja je jedan od najznačajnijih faktora nastanka kako hematoloških malignih bolesti, tako i različitih solidnih tumora. PGE2, takođe, menja mikookolinu tumora, te svojom stimulacijom smanjuje anti-tumorski TH1 odgovor i pojačava imunosupresivni TH2, odgovor kroz modulaciju citokina: smanjenja TNF α , interferona- γ i interleukina-2, a povećanu sintezu intreleukina 4, 10 i 6 (IL-4, IL-10, IL-6) (275). Jedna od najvažnijih funkcija COX-2 je stimulacija angiogeneze, procesa bitnog u rastu i metastaziranju tumora. PGE2 stimuliše stvaranje vaskularnog endotelnog faktora rasta (VEGF) indukcijom različitih signalnih molekula. Indukuje ekspresiju CXCL1, proangiogenog citokina, i aktivacijom EP2 receptora indukuje ekspresiju fibroblasnog faktora rasta 2 (FGF2) kroz veliki broj različitih kinaza, a takođe i indukuje sekreciju VEGF preko signalnog puta epidermalnog faktora rasta (EGFR). Sa druge strane VEGF i FGF2 indukuju ekspresiju COX2 i posledično stvaranje viška prostaglandina (275).

1.3.9.2. Značaj COX-2 u prognozi NHL

COX-2 je faktor loše prognoze kod različitih vrsta solidnih tumora (277,281). Osim toga ekspresija COX-2 je faktor lošije prognoze i kod različitih hematoloških maligniteta, uključujući hroničnu limfocitnu leukemiju (278), Hodgkinov limfom (279) i multipli mijelom (280). U studiji Hazar i sar. imunohistohemijskom metodom je određivana ekspresija COX-2 kod bolesnika sa NHL. Od 42 bolesnika 57% je ekspresiralo COX-2. Autori su našli korelaciju COX-2 ekspresije i višeg stadijuma bolesti te značajne razlike u stopi kompletnih remisija kod COX-2- i COX-2+ bolesnika (70.6% vs 20.8%; $p=0.001$), ali nije bilo razlike u ukupnom preživljavanju (282). Li i sar. su demonstrirali ekspresiju COX-2 kod bolesnika sa MALT limfomima. Procenat ekspresije bio je 69%. COX-2 ekspresija je pozitivno korelirala sa Ki67 ekspresijom, pojačanom proliferacijom i akumulacijom p53 u ćelijama (283). Paydas i sar. su analizirali prognozu lečenja 88 bolesnika sa DLBCL u odnosu na ekspresiju različitih imunohistohemijskih markera (284). U ovoj studiji 71.6% bolesnika su bili COX-2+. COX-2 ekspresija nije bila značajan faktor ukupnog preživljavanja u ovoj grupi bolesnika ($p=0.2$).

1.3.4.3. COX-2 inhibitori u u lečenju malignih bolesti

COX-2 inhibitor, celekoksib je odobren za prevenciju nastanka raka debelog creva kod bolesnika sa familijarnom adenomatoznom polipozom (275). Velik je broj prekliničkih studija koje su demonstrirale efikasnost COX-2 inhibitora kod različitih maligniteta (276). Međutim, ovi lekovi nikada nisu učli u rutinsku kliničku primenu. Nakon dve studije faze II kod karcinoma pluća i pankreasa koje su pokazale negativne rezultate (275) smanjio se entuzijazam za ispitivanje ovih lekova u kliničkoj praksi.

1.3.10. Vaskularni endotelijalni faktor A (VEGF-A)

Angiogeneza predstavlja značajan korak u karcinogenezi, važan za rast i metastatsko širenje tumora. Vaskularni endotelijalni faktor rasta-A (VEGF-A) igra najvažniju ulogu u stvaranju novih krvnih sudova u velikom broju maligniteta. Osim angiogeneze, odnosno

stvaranja novih krvnih sudova, limfangiogeneza, tj. stvaranje novih limfnih sudova drugi je važan put u progresiji i metastaziranju malignih tumora (285, 286, 287).

Neovaskularizacija igra važnu patogenetsku ulogu u genezi limfoma. Stvaranje novih krvnih i limfnih sudova, bilo autokrinom stimulacijom, bilo stimulacijom od strane ćelija tumorske strome važan je korak u proliferaciji malignih limfoma. Najnoviji radovi, koji analiziraju kako angiogenezu kod malignih ćelija tako i vaskularnu mikrookolinu tumora, govore u prilog da je stvaranje novih krvnih i limfnih sudova od izuzetnog značaja za progresiju bolesti kod različitih podtipova limfoma (288).

1.3.10.1. Mehanizam tumorske angiogeneze

Najvažniji posrednik angiogeneze, takozvani „prekidač angiogeneze“ je vaskularni endotelijalni faktor rasta (VEGF). VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D i faktor rasta placente (PlGF) su članovi VEGF familije. Oni deluju preko tri receptora VEGFR1, VEGFR2 i VEGFR3 i na taj način regulisu angiogenezu i limfangiogenezu. VEGF-A produkuju ćelije mnogobrojnih tumora, ali i ćelije tumorske strome (289,290). VEGF-A se vezuje za dva receptora sa tirozin kinazama u svom sastavu VEGFR1 i VEGFR2. VEGFR2 je receptor koji šalje mitogene signale u endotelijalnim ćelijama. Ovo čini preko dva signalna puta: Raf-Mek-Erk i puta fosfatidil inozitol-3-kinaza-Akt (PI3K/Akt). VEGFR1 reguliše sprovođenje signala različito kod različitih vrsta ćelija. Najbitniji je za stvaranje novih krvnih sudova kod malignog tumora. VEGF-C i VEGF-D su uključeni u proces limfangiogeneze u interakciji sa VEGFR3 i VEGFR2 (288).

Ekspresija gena za VEGF regulisana je transkripcionim hipoksija-indukcionim faktorom-1 (HIF-1) koji se sintetiše kao odgovor na hipoksiju tkiva. Njegovu sintezu reguliše von Hippel-Lindau (VHL) tumor supresor gen. U okolnostima sa normalnim dotokom kiseonika u tkiva inhibiše sintezu HIF-1. Inaktivacija VHL gena dovodi do akumulacije HIF-1 i posledičnog povećavanja stvaranja VEGF (7). Čitav niz gena utiče na regulaciju HIF-1/VHL sistema: TGF α , TGF β , Insulin-like GF, p53, AKT, PTEN, Erb2 i drugi, kroz komplikovanu shemu signalnih puteva (8).

1.3.5.2. Prognozni značaj VEGF-a i njegovih receptora kod NHL

Ekspresija VEGF postoji u više podtipova limfoma: perifernim T-ćelijskim limfomima (PTCL), difuznom B-krupnoćelijskom limfomu (DLBCL), mantle cell limfomima (MCL) primarnom efuzionom limfomu (PEL), kao i hroničnoj limfocitnoj leukemiji (SLL /HLL) (291). Za razliku od ovih histoloških podtipova, samo u malom broju slučajeva folikularnog limfoma je ispoljen VEGF, ali je povećana ekspresija kod limfoma u transformaciji (292,293).

VEGF i njegovi receptori su često ispoljeni kod bolesnika sa HLL. VEGF signal kroz VEGFR1 i VEGFR2 receptore dovodi do blokiranja apoptoze i razvijanja malignog kлона. Blokiranje autokrine stimulacije neoangiogeneze kod ovih tumora dovodi do apoptoze i smrti ćelije. Kod DLBCL VEGF ekspresija detektovana je u 42-60% slučajeva (294).

Imunohistohemijskom i tissue-microarray analizom Gratzinger i saradnici su zaključili da VEGF ekspresija statistički značajno korelira sa nivoom VEGFR1 i VEGFR2, što potkrepljuje tvrdnju o autokrinoj stimulaciji limfomskih ćelija na angiogenezu (295). Osim toga, ista grupa je zaključila da bolesnici sa pozitivnom VEGF/VEGFR ekspresijom imaju dobru prognozu ako su tretirani antraciklinskom terapijom, te verovatno antraciklini prekidaju ovaj krug autokrine stimulacije (296). Sa druge strane nekoliko je studija koje govore u prilog lošijoj prognozi bolesnika sa povećanom VEGF-A i C i VEGFR1 ekspresijom kod DLBCL (284,297,298) Slična situacija je kod MCL (299,300), što je, uz dokaze da na životinjskim modelima anti-VEGF terapija daje rezultate (301), predstavljalo istraživačima dobru racionalu za započinjanje kliničkih studija sa bevacizumabom (Avastin, Roche) i drugim antiangiogenim agensima.

1.3.8.4. Uloga blokiranja angiogeneze u terapiji DLBCL

Prototip antiangiogenog leka je bevacizumab (Avastin, Roche). On deluje tako što se vezuje za VEGF-A i na taj način prekida autokrinu i parakrinu stimulaciju angiogeneze (288). U kombinaciji sa hemioterapijom produžava vreme do progresije bolesti kod kolorektalnog karcinoma, dojke, i nesitnoćelijskog karcinoma pluća (302,303,304). Nakon solidnih rezultata u fazi II ispitivanja (294), Seymour i sar. su uradili randomizovanu, placebo-kontrolisanu studiju III faze gde su poredili standard terapije R-CHOP sa ili bez bevacizumaba kod bolesnika sa

novodijagnostikovanim DLBCL (305). Dodavanje bevacizumaba nije poboljšalo rezultate lečenja, samo je pokazalo veću kardiovaskularnu toksičnost. Osim bevacizumaba i sorafenib, inhibitor VEGF i RAF tirozin-kinaza ispitivan je u fazi II kod R/R DLBCL, ali je pokazao skromene rezultate (306).

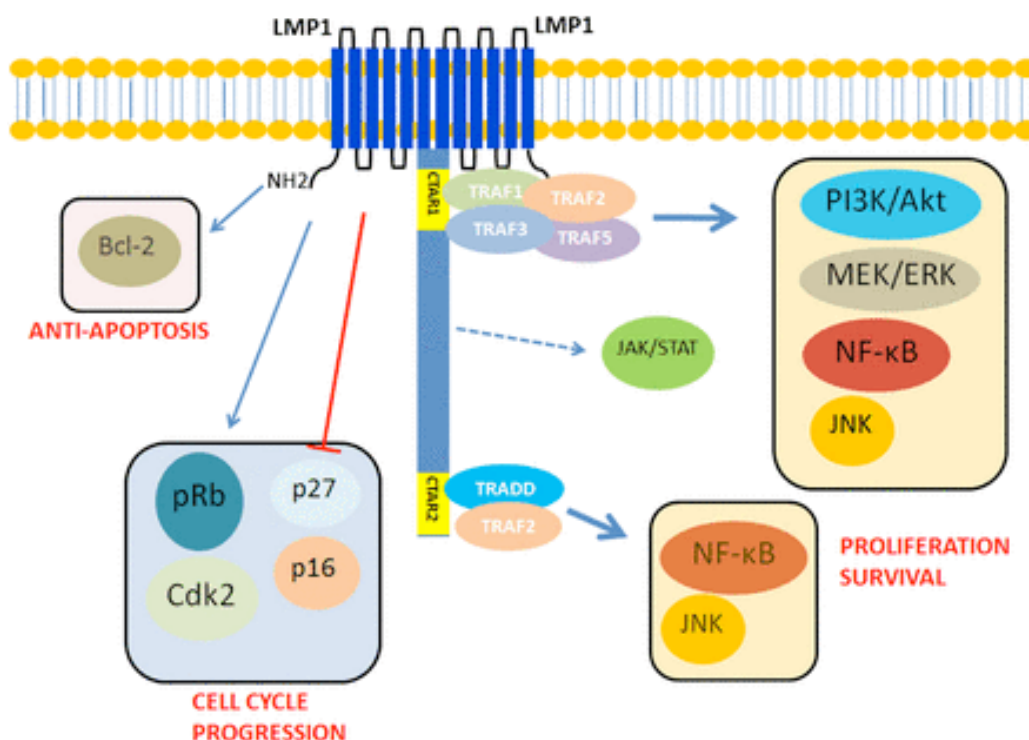
1.3.9. Epstein Barr virus (EBV)

EBV pripada familiji herpes virusa i inficira B limfocite i epitelne ćelije čoveka. EBV indukuje povećanu sintezu proangiogenetskih i igra značajnu ulogu u progresiji nekih maligniteta. Njegovo prisustvo je najčešće kod bolesnika sa limfomom koji su HIV+. U bolesnika koji su HIV negativni EBV je, korišćenjem EBV-encodirana RNK 1-in situ hibridizacije (EBER-ISH), pronađen u 7.4% B-ćelijskih i 31% T-ćelijskih NHL. Kod DLBCL EBV+ bilo je 9-12% slučajeva kada je korišten EBER-ISH, dok je korišćenjem EBV-latentnog membranskog proteina 1 (EBV-LMP1) pozitivnost uočena u 3% slučajeva (284). EBV pozitivnost je češća u starijih bolesnika sa DLBCL, pa je tako WHO u svoju najnoviju klasifikaciju iz 2008. godine uvela nov entitet-EBV+ DLBCL kod starijih (35).

1.3.6.1. Uloga EBV u nastanku i proliferaciji NHL

Starenjem dolazi do slabljenja imunološkog sistema. Odnos imunološkog odgovora i blokiranja imunološkog odgovora su disregulisani što dovodi do hroničnog proinflatarnog stanja. Kod starijih osoba smanjen je broj T-ćelija koje imaju aktivan odgovor protiv EBV, te do tada latentni EBV dovodi do promena u B-ćelijama domaćina, hroničnog inflamatornog odgovora i posledičnog stvaranja malignog klona (307, 308). EBV je limfotropan virus i napada B-ćelije. Kod većine ljudi citotoksični T-limfociti odstranjuju zaražene B-ćelije nakon prvog kontakta organizma sa EBV. Međutim određen broj EBV ostaje u ovim ćelijama zahvaljujući mogućnosti prelaska u latentno stanje. Citogenetskim istraživanjem zaraženih B-limfocita otkrivena su tri tipa latencije karakteristična za EBV: tip I, II i III. Tip III latencije je karakterističan za infektivnu mononukleozu i posttransplantacionu limfoproliferativnu bolest (PTLD). Tip II je karakterističan za Hodgkinov limfom i određene oblike PTLD, dok je tip I karakterističan za Burkittov limfom (309). EBV+ DLBCL deli karakteristike tipa II i III latencije (310). EBV+ DLBCL karakteriše

stalna aktivnost klaičnog i alternativnog NF- κ B puta, sa većinom slučajeva koji pripadaju ABC-like podtipu (311). Iako je aktivnost NF- κ B puta obično vezana sa ABC-like podtipom DLBCL, izgleda da je veza EBV i NF- κ B mnogo snažnija. Naime Montes-Moreno i sar. su pronašli veza NF- κ B aktivacije kod ABCL-like DLBCL, ali i kod GC-like DLBCL kod EBV+ slučajeva. Verovatno se radi o aktivaciji NF- κ B preko c-rel gena koji je vezan isključivo za GC-like imunofenotip DLBCL (311). Iako je EBER-ISH senzitivnija metoda za određivanje prisutnosti EBV (309), za stvaranje i proliferaciju malignog klona je najverovatnije odgovoran LMP1 protein, koji se može određivati imunohistohemijski. LMP1 je odgovoran za aktivaciju NF- κ B puta, ali i puta mitogen-aktivirane protein kinaze (MAPK)-PI3K-Akt. Aktiviranjem c-Jun N-terminalne kinaze (JNK)/AP-1. Osim toga, LMP1 povećava ekspresiju Ciklin zavisne kinaze 2 (Cdk2) i posledične fosforilacije retinoblastoma (Rb) proteina. Na taj način inhibira p27. Takođe LMP1 povećava ekspresiju BCL-2 i na taj štiti ćelije od apoptoze (309). Signalni putevi i moguće terapijske intervencije EVB-LMP1 su prikazani na grafikonu 3.



Grafikon 3. Intraćelijski Signalni putevi EBV-LMP1 proteina (309)

1.3.6.2. EBV+ DLBCL

EBV+ DLBCL se najčešće javlja u starijoj populaciji. Sama definicija EBV+ DLBCL uključuje uz EBV pozitivnost i dob stariju od 50 godina (35). Međutim, ova starostna granica je arbitrarna, jer se limfomi sa ovakvim histopatološkim karakteristikama i EBV pozitivnošću javljaju i u mlađoj populaciji (309). EBV+ DLBCL je neoplazma koju karakteriše loš odgovor na terapiju i kraće preživljavanje u odnosu na EBV- DLBCL. Bolesnici sa EBV+ DLBCL kod starijih imaju lošije preživljavanje kada se porede samo sa grupom ABC-like DLBCL i sa grupom starijih bolesnika sa EBV- tumorima, što govori u prilog za EBV kao nezavisini prediktor lošeg ishoda lečenja. Pokazan je i trend višeg stadijuma i češćeg zahvatanja kosne srži kod EBV+ slučajeva (311). U studiji Paydasa i sar. (284) EBV-LMP1 ekspresija je nađena u 22% slučajeva DLBCL i bila je povezana sa visokim nivoom LDH. Takođe EBV pozitivnost je bila jedan od najboljih indikatora prognoze ukupnog preživljavanja, jer je prosečno preživljavanje EBV- slučajeva bilo 106 meseci, a EBV+ 21 mesec ($p=0.0001$). I druge studije su uniformno prikazale da su EBV+ limfomi udruženi sa starijom životnom dobi, višim Ann Arbor stadijumom, višim IPI skorom i lošijim odgovorom na primenjenu terapiju (312).

1.3.7. B-cell Lymphoma gen-2 (Bcl-2)

B-cell Lymphoma-2 (Bcl-2) je otkriven pre skoro 30 godina kada je uočena njegova ekspresija kao posledica translokacije (14;18) kod bolesnika sa folikularnim limfomom (313). Nakon toga je otkriveno niz strukturalno sličnih proteina koji su važni regulatori programirane ćelijske smrti (314). Ranijih godine se smatralo da je inhibitorni efekat Bcl-2 na apoptozu ključni uzrok rezistencije na hemioterapiju, što je i potvrđeno u kliničkim studijama gde je ekspresija Bcl-2 negativno korelirala sa preživljavanjem bolesnika sa DLBCL (315, 316). Pojavom rituksimaba, postavilo se pitanje da li je Bcl-2 i dalje marker loše prognoze kod bolesnika sa DLBCL.

1.3.7.1. Bcl-2 i apoptoza

Programirana ćelijska smrt ili apoptoza je skup gena i njihovih signalnih puteva kojima se efiksano odstranjuju nepotrebne ili oštećene ćelije. Apoptoza je neophodna za održavanje

normalne homeostaze organizma, odstranjivanja štetnih ćelija i na taj način sprečavanja različitih oboljenja od kojih su maligna među najvažnijim. Poremećena funkcija nekog od gena koji učestvuje u putevima apoptoze može dovesti do besmrtnosti ćelija, te njihovog nekontrolisanog bujanja i nastanka malignog tumora (317).

Apoptoza je kontrolisana dvema signalnim putevima, spoljašnjim i unutrašnjim, koji su međusobno povezani i utiču jedan na drugi. Spoljašnji signalnim put je vezan za takozvane „receptore smrti“: TNF α (Fas, CD95) i TRAIL (tumor necrosis factor-related ligand) receptorima. Kada se na ove receptore vežu pripadajući ligandi pokreće se kaskada signalnih procesa sa aktivacijom FADD koji aktivira kaspazu 8. Kaspaza 8 zatim aktivira BID protein. BID protein spada u BCL-2 familiju i ima proapoptotski efekat. U ovom delu se susiće spoljašnji i unutrašnji put apoptoze. Unutrašnji put apoptoze kontrolišu proteini iz BCL-2 familije. Neki od njih su proapoptotski (BIM, BID, BIK, Puma, BMF, BAD, Noxa) i oni antagonizuju antiapoptotski efekat antiapoptotskih proteina iz iste familije (Bcl-2, Bcl-XL, BAX, BAK). Aktivacijom BID proteina inhibira se zaštitni efekat antiapoptotskih Bcl-2 i Bcl-XL na BAX i BAK proteine te se nastavlja aktivacija apoptoze. Tada se aktiviraju citohrom C i SMAC/DIABLO protein, koji aktiviraju najvažniju efektorsku kaspazu 9 koja lizira ćeliju (317).

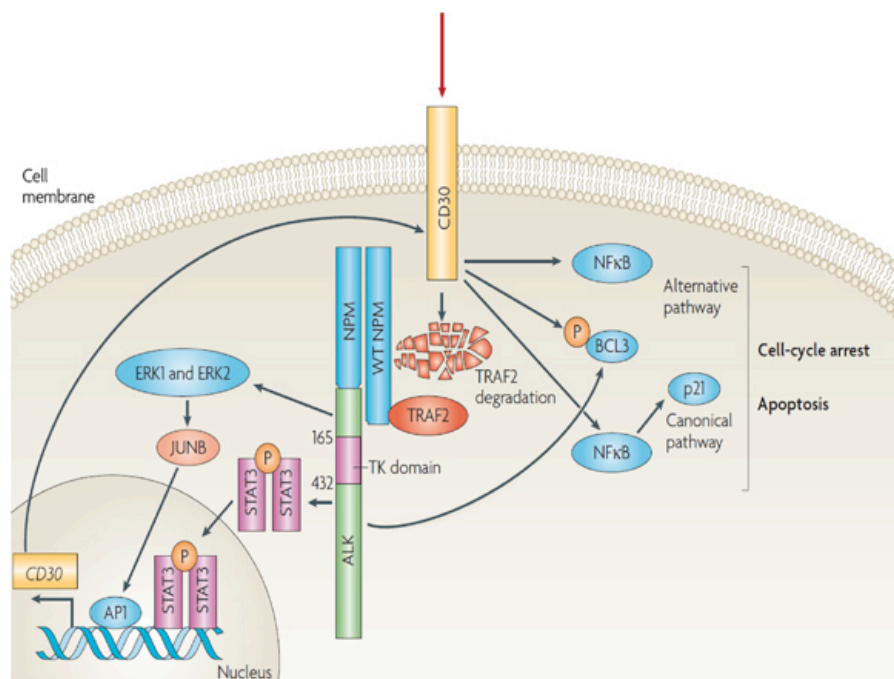
1.3.7.2. Ekspresija Bcl-2 i prognoza DLBCL

Već je u uvodu ovog poglavlja rečeno da je ekspresija Bcl-2 značila lošiju prognozu lečenja DLBCL (315, 316). Međutim ove studije su rađene u vreme kada je CHOP bez rituksimaba bio standard lečenja. Tri novije studije su pokušale da odgovore na ovo pitanje, međutim rezultati su bili kontraverzni. Wilson i sar. (136) su analizirali Bcl-2 status kod 90 bolesnika. Nije bilo razlike u pogledu PFS (Bcl-2- 75% vs Bcl-2+ 73% p=0.51) niti OS (Bcl-2- 75% vs Bcl-2+ 69% p=0.41). Sa druge strane Nyman i sar. (132) su analizirali preživljavanje bolesnika u odnosu na GCB ili nonGCB fenotip, ispoljavanje FOXP1 proteina, te ispoljavanje Bcl-2. Nije bilo razlike između GCB i nonGCB fenotipa niti između FOXP1 pozitivnih i negativnih slučajeva DLBCL. Bcl-2 je i pored lečenja rituksimabom ostao značajan prognostički faktor za PFS (Bcl-2- 97% vs Bcl-2+ 71% p=0.001) i OS (Bcl-2- 97% vs Bcl-2+ 82% p=0.034). Ova razlika je ostvarena na račun nonGCB slučajeva, što govori u prilog značajnijeg uticaja aktivacije NF- κ B i posledične ekspresije Bcl-2

kao patogenetskog mehanizma kod nonGCB DLBCL u odnosu na t(14;18) koja se gotovo isključivo vide i u vezi je sa Bcl-2 ekspresijom kod GCB slučajeva (317).

1.3.8. CD30

Pojavom brentuximab-vedotina istraživanje CD30 markera dobilo je na značaju (318). CD30 je transmembranski protein koji pripada velikoj familiji tumor necrosis factor (TNF) proteina. Citoplazmatski deo ovog proteina sadrži TRAF (TNF-receptor associated factor) koji modifikuje aktivaciju nuklearnog faktora kappaB (NF- κ B). Prekomerna ekspresija CD30 dovodi do stalne aktivacije NF- κ B, nezavisne od postojanja liganda za CD30, što dovodi do bloka apoptoze i neograničenog preživljavanja ćelija. Fiziološka uloga CD30 molekula još nije definisana. Smatra se da učestvuje u imunom odgovoru, ali je ekspimiran na malom broju B i T –limfocita, dok mu se ekspresija povećava sa prisutvom interleukina 4, pri aktivaciji T-limfocita (319). Sa druge strane na Reed-Sternbergovim ćelijama Hodgkinovog limfoma, kao i na ćelijama ALCL, ekspresija CD30 proteina je izrazito visoka. To ga čini veoma atraktivnom metom za ciljnu terapiju, jer je veoma selektivno ekspimiran na malignim ćelijama (320). Osim toga visok nivo solubilnog CD30 korelira sa lošijom prognozom kod bolesnika sa HL (321). (grafikon 4.)



Grafikon 4. Signalni putevi CD30 receptora

1.3.8.1. Prognoza DLBCL u odnosu na ekspresiju CD30

Još pre 12 godina Maes i sar. su analizirali ekspresiju i diferencijalnu dijagnozu kod različitih podtipova CD30+ NHL. Od ukupno 273 bolesnika 61% su činili DLBCL. U toj studiji je prvi put pokazano da bolesnici sa CD30+ DLBCL imaju povoljniju prognozu od CD30- DLBCL sličnu onoj kod ALK- ALCL (322). Definitivnu potvrdu ovoj tvrdnji i u eri rituksimaba dali su Hu i sar. (323). Oni su analizirali preko 900 novotkrivenih slučajeva DLBCL. U oko 14% slučajeva CD30 je bio pozitivan. Bolesnici sa CD30+ DLBCL su imali petogodišnji OS 79% vs 59% ($p=0.001$), kao i značajno duži PFS ($P=0.03$). Ovaj povoljan prognozni efekat CD30 markera je bio prisutan kako u GC, tako i u nonGC DLBCL podgrupama.

1.3.9. CD5

CD5 antigen je eksprimiran na T-limfocitima, NK ćelijama i nekim subpopulacijama B-limfocita. CD5 je dijagnostički marker hronične limfocitne leukemije, a broj CD5 pozitivnih ćelija je povećan u reumatoidnom artritisu i drugim autoimunim bolestima (324). Njegova fiziološka uloga nije u potpunosti poznata, ali je pokazano da je CD5 negativni regulator ekspresije B-ćelijskog receptora (BCR), te da aktivira različite signalne puteve ćelijskog opstanka kao što je ERK1/2, PI3K, kalcineurin. Takođe CD5 promoviše opstanak B-ćelije kroz autokrinu proizvodnju interleukina 10 (324).

1.3.9.1. Prognoza DLBCL u odnosu na ekspresiju CD5

CD5 je eksprimiran u 5-10% DLBCL. Javlja se obično u starijih, češći je kod žena i obično sa povišenim LDH, B simptomima, ektranodalnim zahvatanjem i lošijim performans statusom. Takođe češći je u uznapredovalom kliničkom stadijumu i prisustvom bolesti u CNS-u. Bolesnici sa CD5+ DLBCL imaju manji procenat kompletnih remisija, kao i kraće PFS i OS u odnosu na CD5- slučajeve (326, 327). Dodavanje rituksimaba terapiji poboljšalo je ishod lečenja bolesnika sa CD5+ DLBCL; ali je ishod i dalje lošiji u odnosu na CD5- bolesnike (142).

1.3.12. CD43

CD43 je transmembranski glikoprotein koji je eksprimiran na različitim hematopoeznim ćelijama. Njegova fiziološka uloga nije kompletno razjašnjena, ali koekspresija sa CD20 sugerije na dijagnozu maligne hemopatije. CD43 je faktor loše prognoze kod bolesnika tretiranih R-CHOP terapijom, ali ne i kod bolesnika lečenih CHOP protokolom (266).

1.3.13. Ki67

Ki67 je marker proliferacije. Eksprimiran je na ćelijama koja se dele i koristan je u dijagnostici i terapiji različitih malignih bolesti. Njegov prognostički značaj kod DLBCL nije u potpunosti definisan iako je ispitivan u nekoliko studija. Rezultati ovih istraživanja uglavnom govore da je visok Ki67 ima negativan uticaj na PFS i OS (47, 266).

II PROBLEM, PREDMET I CILJ ISTRAŽIVANJA

2.1. Pregled problema

Prognoza DLBCL je različita i zavisi od niza kliničkih, laboratorijskih i genetskih faktora koji su inkorporirani u različite prognostičke skorove. Najčešće korišćen prognostički skorovi su International Prognostic Index-IPI (124), odnosno starosti prilagođen IPI (age adjusted-IPI, aa-IPI) (125), koju su dizajnirani kada u lečenju DLBCL nije korišćen rituksimab, Nakon uvođenja rituksimaba u terapiju Sehn i kolege (126) modifikovali IPI skor i nazvali ga R-IPI (revisited IPI). Međutim, niti IPI ni R-IPI ne mogu u potpunosti da odgovore na pitanje koji će bolesnici dobro odgovoriti na terapiju i koji će bolesnici doživeti relaps, nakon inicijalnog odgovora na lečenje. Zbog toga je započela era pronalaženja molekulskih markera koji će moći bolje da odgovore na data pitanja. Velik broj markera je ispitivan. Iako su mnogi od ispitivanih markera pokazali određenu prognostičku i prediktivnu vrednost, još uvek nisu napravljeni novi prognostički skorovi koji se baziraju na molekulskoj prognozi (128). Stalna je potreba za pronalaženjem novih molekularnih markera koji definišu prognozu DLBCL. U našem radu ćemo ispitati ulogu molekulskih markera, navedenih prethodno u uvodu, na prognozu lečenja DLBCL imunoheмотerapijom.

2.2. Ciljevi istraživanja

- U materijalu tumorskog tkiva dobijenim biopsijom odrediti učestalost ekspresije molekulskih markera BAFF-R, TACI, BCMA, Bcl-2, Bcl-6, CD5, VEGF, COX-2, EBV-LMP1, Ki-67, CD10, MUM-1, CD30, CD43.
- Ispitati povezanost ekspresije markera BAFF-R, TACI, BCMA, Bcl-2, Bcl-6, CD5, VEGF, COX-2, EBV, Ki-67, CD10, MUM-1, CD30, CD43 sa ukupnim odgovorom na lečenje, vremenom do progresije bolesti i ukupnim preživljavanjem bolesnika.
- Ispitati povezanost kliničkih i laboratorijskih prognoznih faktora: pola, životnog doba, stadijuma bolesti, International Prognostic Index Score (IPI) i revisited-IPI (R-IPI), nivoa LDH, nivoa albumina i broja limfocita, na početku lečenja, sa ukupnim

odgovorom na lečenje, vremenom do progresije bolesti i ukupnim preživljavanjem bolesnika.

III HIPOTEZE ISTRAŽIVANJA

- Bolesnici sa IPI skorom ≥ 2 i bolesnici sa R-IPI skorom ≥ 1 imaju lošiju prognozu nego bolesnici sa IPI skorom 0,1 i R-IPI skorom 0.
- Bolesnici sa ekspresijom CD5, BAFF-R, TACI, BCMA, Bcl-2, VEGF, COX-2, EBV-LMP1, MUM-1, CD43 antigena imaju lošiju prognozu u odnosu na bolesnike koji ne ekprimiraju ove antigene na ćelijama DLBCL.
- Bolesnici sa ekspresijom CD10, Bcl-6, CD30 imaju bolju prognozu u odnosu na bolesnike koji ne ekprimiraju ove antigene na ćelijama DLBCL.
- Bolesnici sa DLBCL visokog proliferativnog indeksa (Ki67>70%) imaju lošiju prognozu u odnosu na bolesnike sa DLBCL sa niskim proliferativnim indeksom.

IV MATERIJAL I METODE

4.1. Bolesnici i dijagnoza

Istraživanjem je obuhvaćeno 140 bolesnika, kod kojih je dijagnostikovano CD20 pozitivan difuzni B-krupnoćelijski limfom. Svi bolesnici su lečeni na Institutu za onkologiju Vojvodine u periodu od 2003. do 2010. godine. Klinički podaci prikupljeni su iz istorija bolesti, nalaza i onkoloških kartona Poliklinike Instituta za onkologiju Vojvodine u Sremskoj Kamenici. Dijagnoza DLBCL postavljena je morfološkom i imunohistohemijskom analizom bioptiranog limfnog čvora ili ekstrapnodalnog mesta zahvaćenog limfomom. Podela na podtipove DLBCL je vršena prema WHO klasifikaciji iz 2008. godine (21). Bolesnici su lečeni kombinacijom rituksimaba i CHOP protokola (ciklofosamid, doksorubicin, vinkristin, prednizolon) ili CHOP-u sličnim protokolima. Bolesnici su praćeni do januara 2013.

4.2. Standardne patohistološke metode

Nakon hirurškog odstranjenja limfni čvorovi i / ili drugi tkivni uzorci su dostavljani na patologiju u 10% puferisanom formalinu. Makroskopski su opisani, uzeti su isečci i fiksirani u 10% puferisanom formalinu tokom 18-24h. Standardnom procedurom dovedeni su do kalupljenja u parafinu, te sećeni na rezove debljine 4-5 μ m. Deparafinisani histološki rezovi su bojeni standardnom metodom hematoksilin eozin (HE). Bioptati koštane srži su dostavljeni na patologiju u 10% puferisanom formalinu. Nakon fiksacije u trajanju od 18-24 sata, uzorci su dekalcinisani u mravljoj kiselinu jedan ili dva dana, zavisno od veličine, zatim obrađeni prema standardnoj proceduri i ukalupljeni u parafin. Svi uzorci su sećeni na rezove debljine do 5 μ m. Deparafinisani histološki rezovi su bojeni standardnom metodom hematoksilin-eozin (HE). Ovako spremljeni preparati su patohistološki analizirani optičkim mikroskopom na malom, srednjem i velikom uvećanju. Dijagnoza je postavljena standardnom morfološkom i imunohistohemijskom analizom bioptičkog materijala prema klasifikaciji WHO iz 2008. godine. (21)

4.3. Imunohistohemijske metode (IHH)

4.3.1. Korišćena antitela

Ki-67, Dako, Mouse monoclonal antibody, Clone MIB-1 (M7240), razređenje 1:100
CD20, Thermo Scientific, Mouse monoclonal antibody, Clone L26 (MS-340-S), razređenje 1:250
MUM1, Dako, Mouse monoclonal antibody, Clone MUM1p (M7259), razređenje 1:30
CD10, Thermo Scientific, Mouse monoclonal antibody, Clone 56C6 (MS-728-S), razređenje 1:50
BCL6, DAKO, Mouse monoclonal antibody, Clone PG-B6p (M7211), razređenje 1:10
BCL2, DAKO, Mouse monoclonal antibody, Clone 124 (M0887), razređenje 1:75
CD5, DAKO, Mouse monoclonal antibody, Clone CD5/54/F6 (M7194), razređenje 1:50
CD30, Thermo Scientific, Mouse monoclonal antibody, Clone Ber-H2 (MS-361-S), razređenje 1:60
CD43, DAKO, Mouse monoclonal antibody, Clone DF-T1 (N1559), ready-to-use
EBV LMP, DAKO, Mouse monoclonal antibody, Clones CS.1-4 (M0897), razređenje 1:100
VEGF, DAKO, Mouse monoclonal antibody, Clone VG1 (M7273), razređenje 1:75
COX2, Thermo Scientific, Rabbit polyclonal antibody (RB-9072-P), razređenje 1:150
BAFF-R, Abcam, Rabbit polyclonal antibody (ab5965), razređenje 1:500
TACI, Abcam, Rabbit polyclonal antibody (ab79023), razređenje 1:500
BCMA, Abcam, Rabbit polyclonal antibody (ab5972), razređenje 1:1000

4.3.2. Imunohistohemijski metod za antitela BAFF-R, EBV, COX2, Ki-67 i CD43

Nakon sečenja i sušenja vršeno je demaskiranje antigena kuvanjem u citratnom puferu, PH6 u PT Link-u (Thermo Scientific) na rađen je toplotni pretretman u PT Link-u, pufer PT Module buffer 1 (100X-Citrate Buffer, pH6), šifra proizvoda TA-250-PM1X, Thermo Scientific; 20 minuta na 98°C u trajanju od 20 minuta. Nakon inhibicije endogene peroksidaze 3% H₂O₂, vršena je inkubacija primarnim antitelom u optimalnoj koncentraciji, azatim je pripremljen kit za

vizualizaciju Ultra Vision LP Detection System (TL-125-HL). Kao hromogeni supstrat korišćen je DAB. Kontrastiranje je vršeno hematoksilinom.

4.3.3. Imunohistohemijski metod za antitela TACI, BCMA, CD20 i Bcl-2

Procedura za indentifikaciju ovih antigena je bila identična prethodno opisanoj, osim što je za vizualizaciju korišćen kit Leica Novolink Polymer Detection System (RE7150-K

4.3.4. Imunohistohemijski metod za antitela CD30, CD5, MUM1

Kao kit za vizualizaciju korišćen je DAKO EnVision FLEX/HRP (SM802), a svi ostali postupci bili su identični prethodno opisanim.

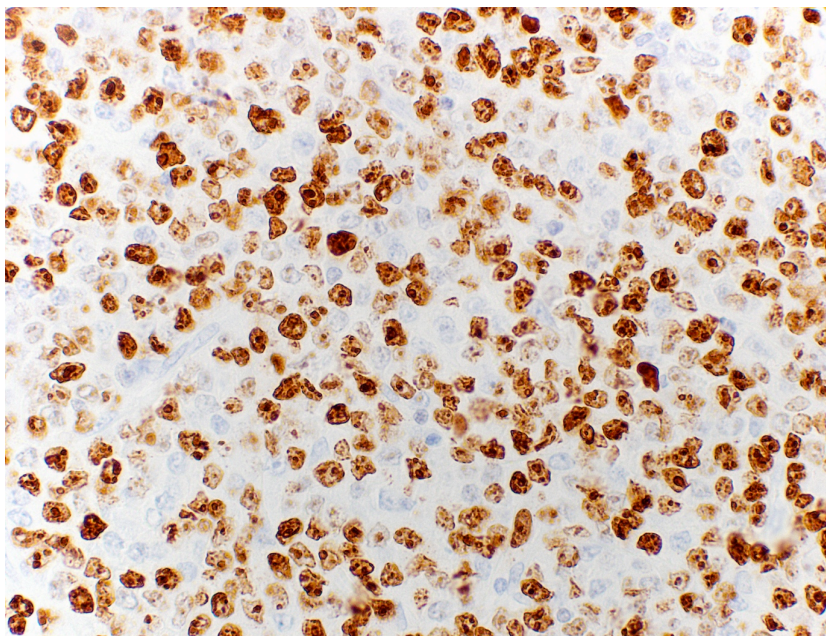
4.3.5. Imunohistohemijski metod za antitela VEGF, Bcl6 i CD10

Za identifikaciju navedenih antitela korišćen je pufer EnVision FLEX Target Retrieval Solution, High pH, 50X (DM828), a kao kit za vizualizaciju Thermo Scientific, UltraVision LP Detection System (TL-125-HL). Ostali postupci bili su identični prethodno opisanim.

4.4. Imunohistohemijska analiza ekspresije antitela

4.4.1. Analiza ekspresije Ki-67

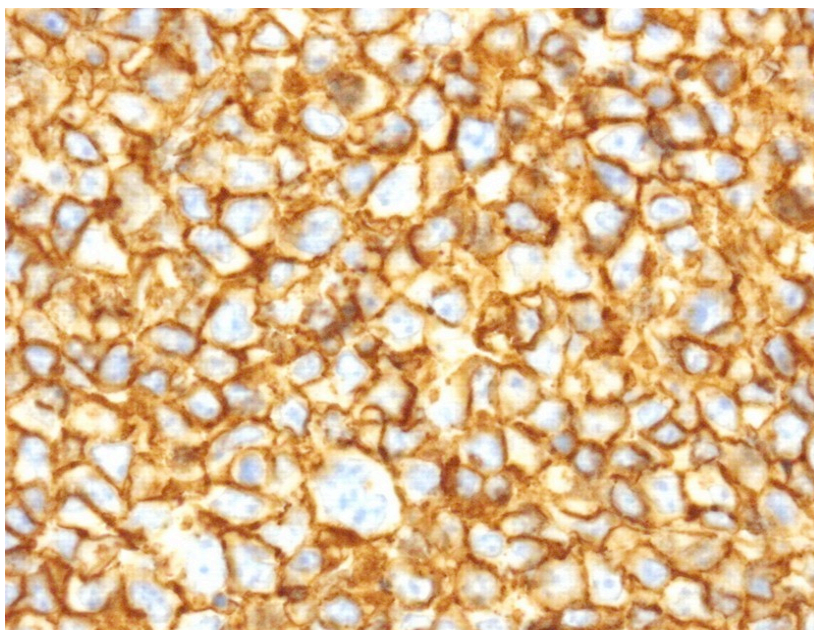
Ekspresija Ki-67 semikvantitativno je procenjena na osnovu udela pozitivnih tumorskih ćelija (obojeno jedro) u odnosu na ukupan broj tumorskih ćelija, nezavisno od intenziteta bojenja. Na 10 vidnih polja velikog uveličanja je procenjen prosečan broj pozitivnih tumorskih ćelija i izražen u procentima u odnosu na ukupan broj ćelija. Pozitivna kontrola su ćelije na dnu kripti tankog i debelog creva (Slika 5.).



Slika 5. Ki-67, 400x, Oko 70% pozitivnih tumorskih ćelija

4.4.2. Analiza ekspresije CD20

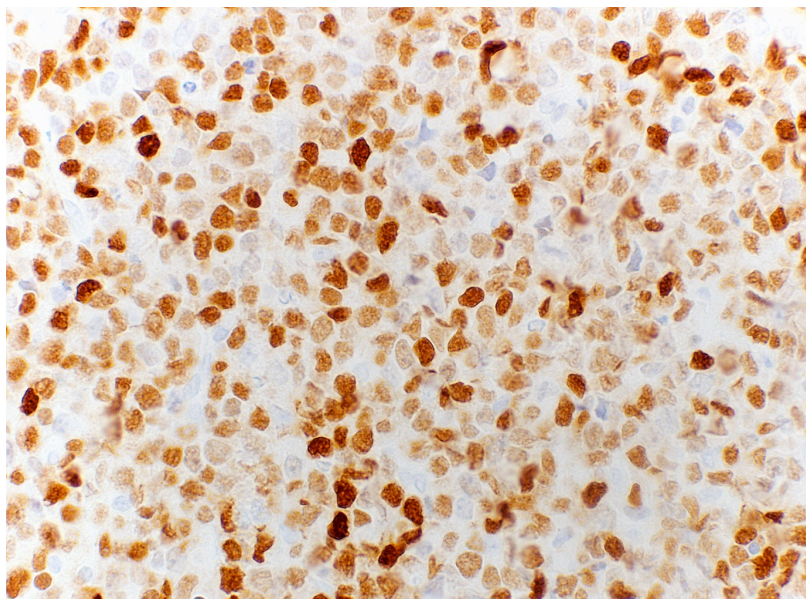
U proceni ekspresije CD20 semikvantitativno je procenjen udeo tumorskih ćelija sa obojenom ćelijskom membranom, nezavisno od intenziteta bojenja. Na 10 vidnih polja je procenjen prosečan broj pozitivnih tumorskih ćelija u odnosu na ukupan broj tumorskih ćelija. Nalaz više od 30% pozitivnih tumorskih ćelija je računat kao pozitivan. (55) Pozitivna kontrola su B limfociti tonzile (Slika 6.).



Slika 6. CD20, 600x, Oko 95-100% pozitivnosti

4.4.3. Analiza ekspresije MUM1

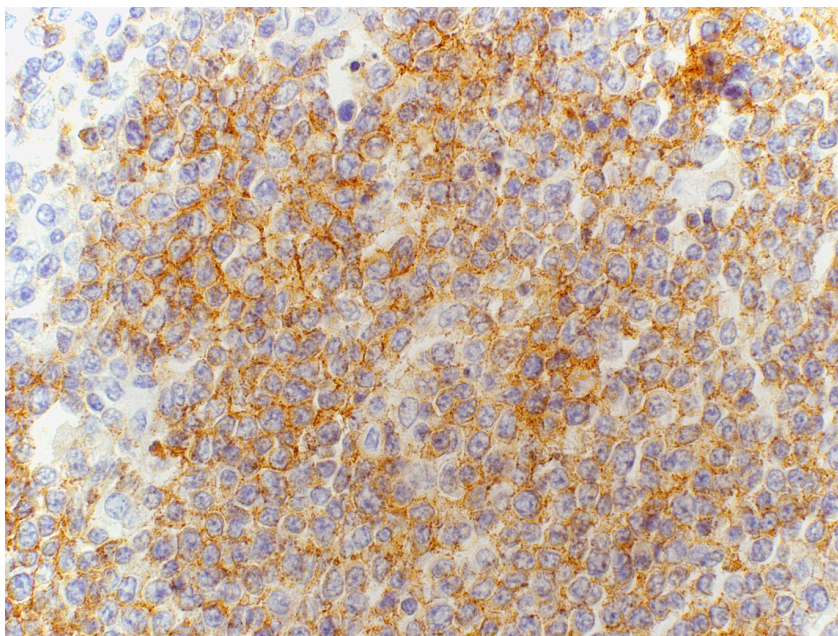
U proceni ekspresije MUM1 semikvantitativno je procenjen udeo tumorskih ćelija sa obojenim jedrima, nezavisno od intenziteta bojenja. Na 10 vidnih polja je procenjen prosečan broj pozitivnih tumorskih ćelija u odnosu na ukupan broj tumorskih ćelija. Nalaz više od 30% pozitivnih tumorskih ćelija je računat kao pozitivan (55). Pozitivna kontrola su plazma ćelije u tonzili (Slika 7.).



Slika 7. MUM1, 400x, Pozitivan nalaz

4.4.4. Analiza ekspresije CD10

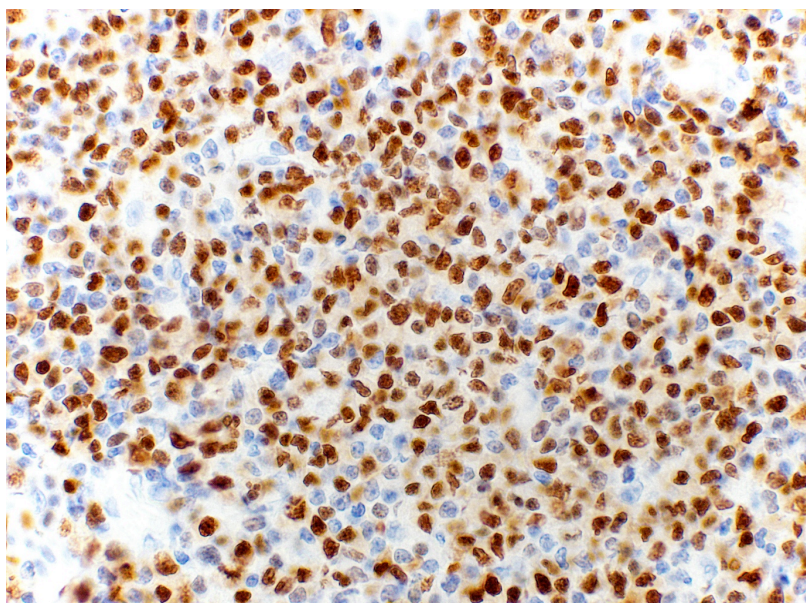
Ekspresija CD10 semikvantitativno je procenjena na osnovu udela pozitivnih tumorskih ćelija u odnosu na ukupan broj tumorskih ćelija, nezavisno od intenziteta bojenja. Bojenje je membransko. Procena je izvršena na 10 vidnih polja velikog uveličanja. Nalaz više od 30% tumorskih ćelija sa obojenom membranom je računat kao pozitivan (55). Pozitivna kontrola je tanko crevo (Slika 8.).



Slika 8. CD10, 400x, Pozitivan nalaz

4.4.5. Analiza ekspresije Bcl-6

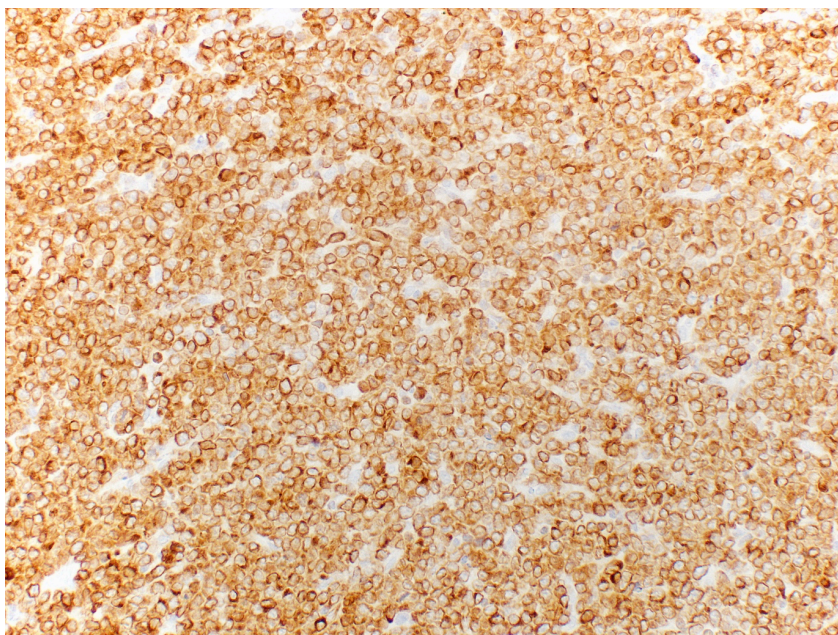
U proceni ekspresije Bcl6 semikvantitativno je procenjen udeo tumorskih ćelija sa obojenim jedrima, nezavisno od intenziteta bojenja. Na 10 vidnih polja je procenjen prosečan broj pozitivnih tumorskih ćelija u odnosu na ukupan broj tumorskih ćelija. Nalaz više od 30% pozitivnih tumorskih ćelija je računat kao pozitivan. (55) Kao pozitivna kontrola poslužili su centroblasti u tonzili (Slika 9).



Slika 9. Bcl-6, 400x, Pozitivan nalaz

4.4.6. Analiza ekspresije Bcl-2

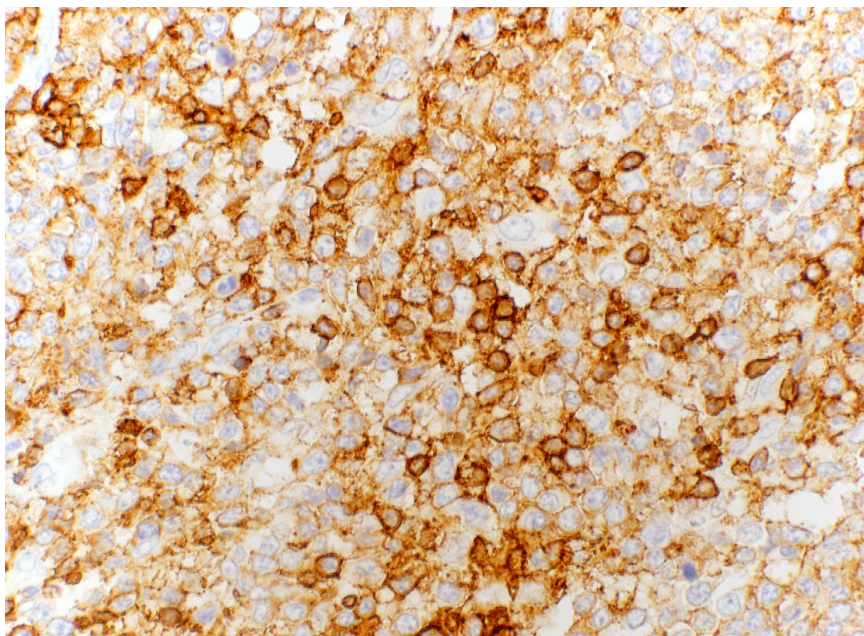
Ekspresija Bcl2 semikvantitativno je procenjena na 10 vidnih polja velikog uveličanja. Procenjen je udeo tumorskih ćelija sa citoplazmatskim perinuklearnim bojenjem, nezavisno od intenziteta bojenja, u odnosu na ukupan broj tumorskih ćelija . Nalaz više od 30% pozitivnih tumorskih ćelija je računat kao pozitivan (55). Pozitivna kontrola su bili limfociti mantle zone u limfnom čvoru (Slika 10.).



Slika 10. Bcl-2, 200x, Pozitivan nalaz

4.4.7. Analiza ekspresije CD5

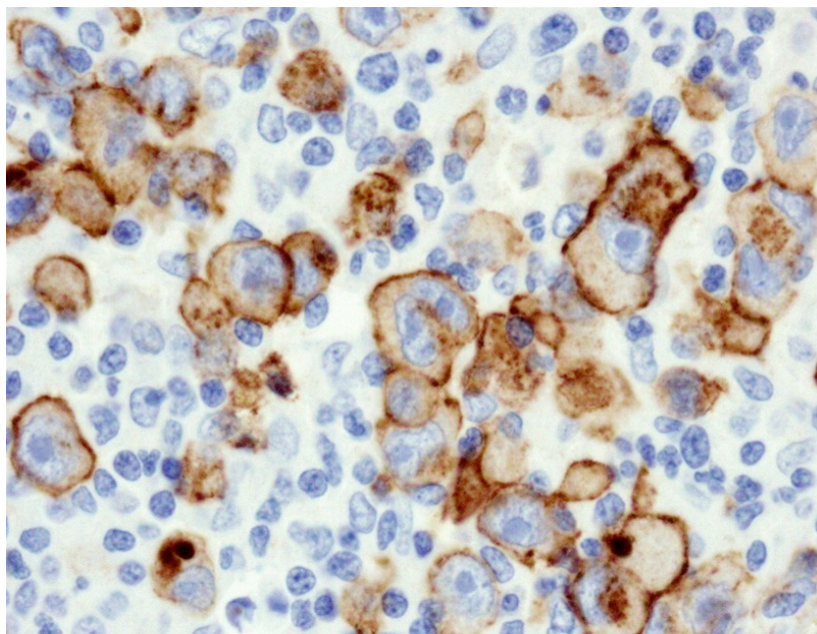
U proceni ekspresije CD5 semikvantitativno je procenjen udeo tumorskih ćelija sa obojenom membranom, nezavisno od intenziteta bojenja. Na 10 vidnih polja je procenjen broj pozitivnih tumorskih ćelija u odnosu na ukupan broj tumorskih ćelija . Nalaz više od 30% pozitivnih tumorskih ćelija je računat kao pozitivan (55). Pozitivna kontrola su bili T limfociti u tonzili (Slika 11.).



Slika 11. CD5, 400x, Pozitivan nalaz

4.4.8. Analiza ekspresije CD30

U proceni ekspresije CD30 semikvantitativno je procenjen udeo tumorskih ćelija sa obojenom membranom i ili citoplazmom i ili paranuklearnom Golgi zonom, nezavisno od intenziteta bojenja. Na 10 vidnih polja je procenjen broj pozitivnih tumorskih ćelija u odnosu na ukupan broj tumorskih ćelija . Nalaz više od 10% pozitivnih tumorskih ćelija je računat kao pozitivan. Pozitivna kontrola su Reed Sternberg ćelije i Hodgkin ćelije u Hodgkin limfomu (Slika 12.).



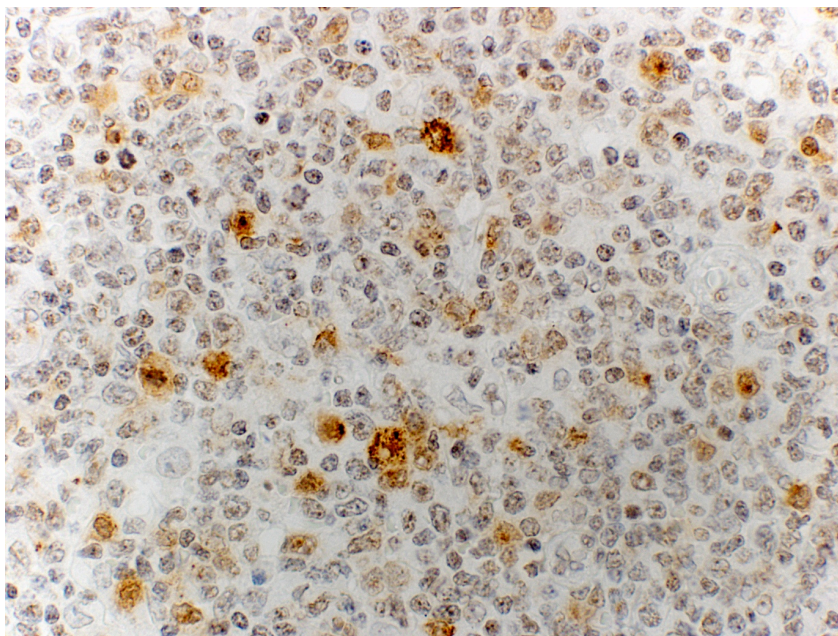
Slika 12. CD30, 600x, Pozitivan nalaz CD30 u anaplastičnom difuznom krupnoćelijskom B limfomu

4.4.9. Analiza ekspresije CD43

U proceni ekspresije CD43 semikvantitativno je procenjen udeo tumorskih ćelija sa obojenom ćelijskom membranom, nezavisno od intenziteta bojenja. Na 10 vidnih polja je procenjen prosečan broj pozitivnih tumorskih ćelija. Nalaz više od 30% pozitivnih tumorskih ćelija je računat kao pozitivan. Pozitivna kontrola su bili interfolikularni T limfociti u tonzili.

4.4.10. Analiza ekspresije EBV-LMP1

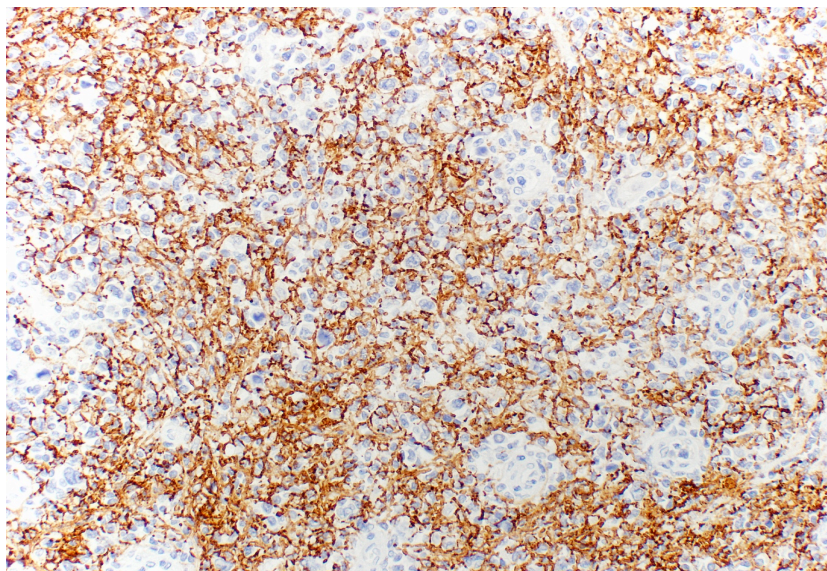
U proceni ekspresije EBV-LMP1 semikvantitativno je procenjen udeo tumorskih ćelija sa obojenom citoplazmom i ili membranom, nezavisno od intenziteta bojenja. Na 10 vidnih polja je procenjen broj pozitivnih tumorskih ćelija u odnosu na ukupan broj tumorskih ćelija. Nalaz više od 10% pozitivnih tumorskih ćelija je računat kao pozitivan. Pozitivna kontrola su Reed Sternberg ćelije i Hodgkin ćelije iz dobro poznatog slučaja Hodgkin limfoma mešovite celularnosti (Slika 13.).



Slika 13. EBV LMP, 400x, Pozitivan nalaz

4.4.11. Analiza ekspresije VEGF

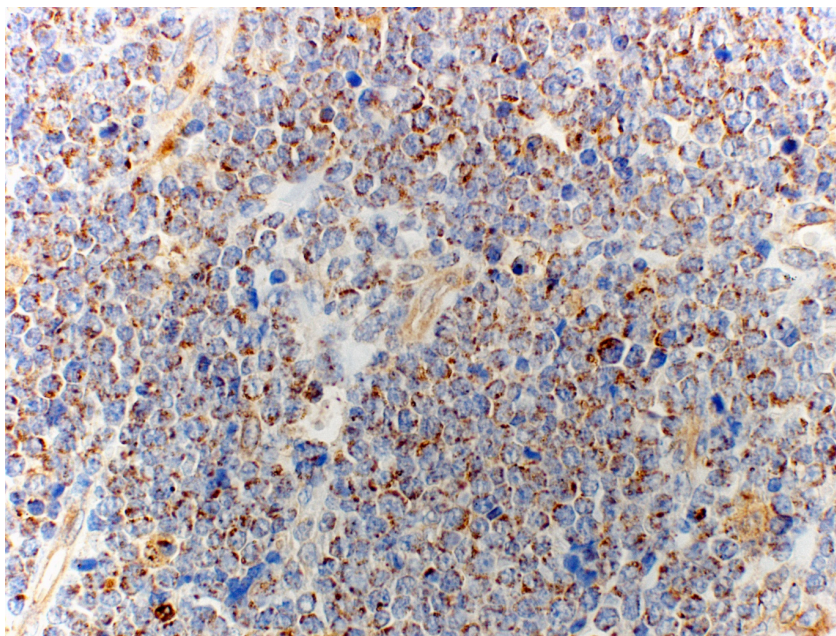
U proceni ekspresije VEGF semikvantitativno je procenjen udeo tumorskih ćelija sa obojenom citoplazmom i ili membranom, nezavisno od intenziteta bojenja. Na 10 vidnih polja je procenjen broj pozitivnih tumorskih ćelija u odnosu na ukupan broj tumorskih ćelija. Nalaz više od 10% pozitivnih tumorskih ćelija je računat kao pozitivan. Endometrijum je poslužio kao pozitivna kontrola (Slika 14.).



Slika 14. VEGF, 200x, Pozitivan nalaz

4.4.12. Analiza ekspresije COX2

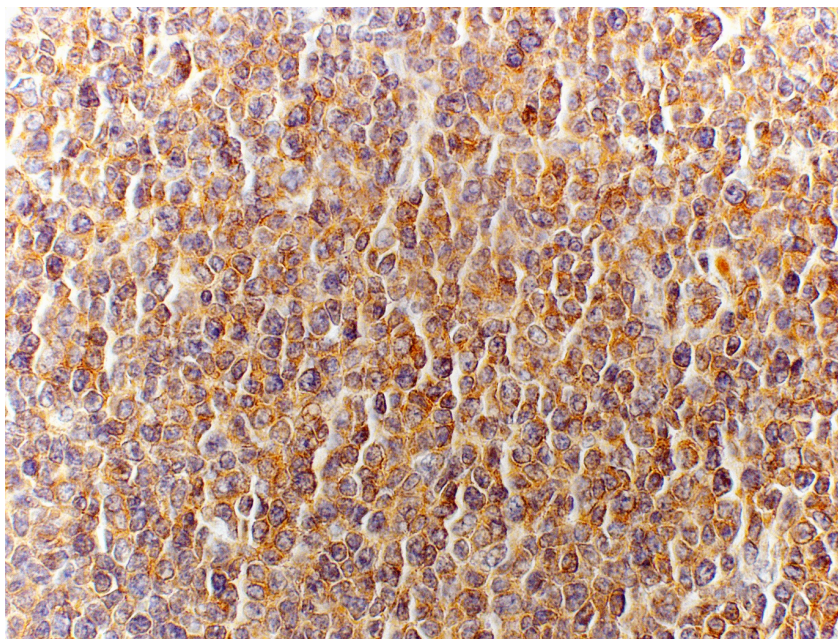
U proceni ekspresije COX2 semikvantitativno je procenjen udeo tumorskih ćelija sa citoplazmatskim i ili membranskim bojenjem, nezavisno od intenziteta bojenja. Na 10 vidnih polja je procenjen broj pozitivnih tumorskih ćelija u odnosu na ukupan broj tumorskih ćelija. Nalaz bilo koje pozitivnosti je računat kao pozitivan. Pozitivna kontrola je adenokarcinom debelog creva (Slika 15.).



Slika 15. COX2, 400x, Pozitivan nalaz

4.4.13. Analiza ekspresije BAFF-R

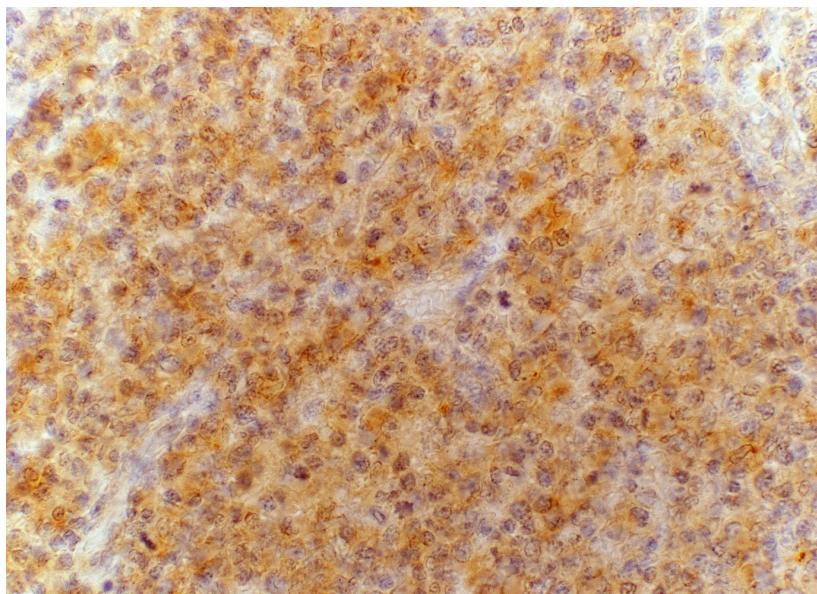
U proceni ekspresije BAFF-R semikvantitativno je procenjen udeo tumorskih ćelija sa obojenom membranom i ili citoplazmom, nezavisno od intenziteta bojenja. Na 10 vidnih polja je procenjen broj pozitivnih tumorskih ćelija u odnosu na ukupan broj tumorskih ćelija. Nalaz bilo kakve pozitivnosti tumorskih ćelija je računat kao pozitivan. Pozitivna kontrola su limfociti slezine (Slika 16.).



Slika 16. BAFF-R, 400x, Pozitivan nalaz

4.4.14. Analiza ekspresije TACI

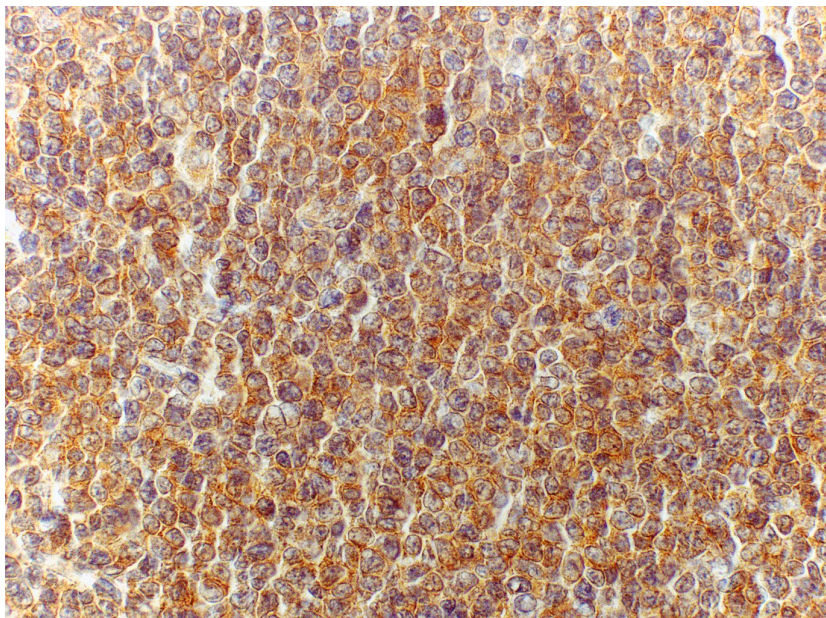
U proceni ekspresije TACI semikvantitativno je procenjen udeo tumorskih ćelija sa obojenom ćelijskom membranom (dozvoljava se i obojenost citoplazme i jedra), nezavisno od intenziteta bojenja. Na 10 vidnih polja je procenjen broj pozitivnih tumorskih ćelija u odnosu na ukupan broj tumorskih ćelija. Nalaz bilo kakve pozitivnosti tumorskih ćelija je računat kao pozitivan. Pozitivna kontrola su B i T limfociti slezine (Slika 17.).



Slika 17. TAC1, 400x, Pozitivan nalaz

4.4.15. Analiza ekspresije BCMA

U proceni ekspresije BCMA semikvantitativno je procenjen udeo tumorskih ćelija sa obojenom ćelijskom membranom i/ili perinuklearnim bojenjem, nezavisno od intenziteta bojenja. Na 10 vidnih polja je procenjen broj pozitivnih tumorskih ćelija u odnosu na ukupan broj tumorskih ćelija. Nalaz bilo kakve pozitivnosti tumorskih ćelija je računat kao pozitivan. Pozitivna kontrola je parenhim slezine, B limfociti (Slika 18.).



Slika 18. BCMA, 400x, Pozitivan nalaz

4.5. Odredjivanje stadijuma bolesti i odgovor na lečenje

Svim bolesnicima je radjena anamneza, klinički pregled, laboratorijske analize, zatim kompjuterizovana tomografija (CT) grudnog koša, abdomena i male karlice. U slučajevima sumnje na zahvaćenost kosne srži, rađena je biopsija kosne srži. Stadijum bolesti je odredjivan prema Ann-Arbor klasifikaciji (23). Odgovor na primenjenu terapiju praćen je pomoću kriterijuma International Working Group (IWG) (328). Takođe praćeno je vreme do progresije bolesti (Progression free survival, PFS) i ukupno praživljavanje bolesnika (Overall survival). Vreme do progresije bolesti je definisano kao vreme od dijagnoze bolesti do dijagnoze refrakternosti ili pojave relapsa nakon inicijalne kontrole bolesti ili do smrtnog ishoda iz bilo kog razloga. Ukupno preživljavanje je definisano kao vreme od dijagnoze bolesti do smrtnog ishoda iz bilo kog razloga.

4.6. Metode statističke obrade

U statističkoj obradi rezultata su korišćeni kompjuterski programi Microsoft Excel i Medcalc. Podaci su prikazani tabelarno i grafički. Statistička obrada dobijenih rezultata izvršena je osnovnim statističkim metodama: srednja vrednost, standardna devijacija, standardna greška, medijana, minimum, maksimum. Obzirom da smo koristili samo neparametrijska obeležja ispitivanje postojanja međusobne korelacije podataka izvršeno je Spearmanovim testom korelacije ranga i Kendalovim Tau B koeficijenom ranga korelacije. Ispitivanje uticaja pojedinih parametara na stopu kompletne remisije rađeno je testom proporcija. Statistička značajnost je definisana nivoom od $p \leq 0,05$. Ispitivanje verovatnoće preživljavanja i uticaja pojedinih varijabli na PFS i OS bolesnika je izračunato prema Kaplan-Meier-ovom algoritmu, a statistička razlika je izračunavana log rank testom i izražavana je kroz hazard ratio (HR). Statistička značajnost je definisana nivoom od $p \leq 0,05$. U multivarijantnoj analizi uticaja pojedinih faktora na PFS i OS koristili smo Cox regresionu analizu. Statistička značajnost je definisana nivoom od $p \leq 0,05$.

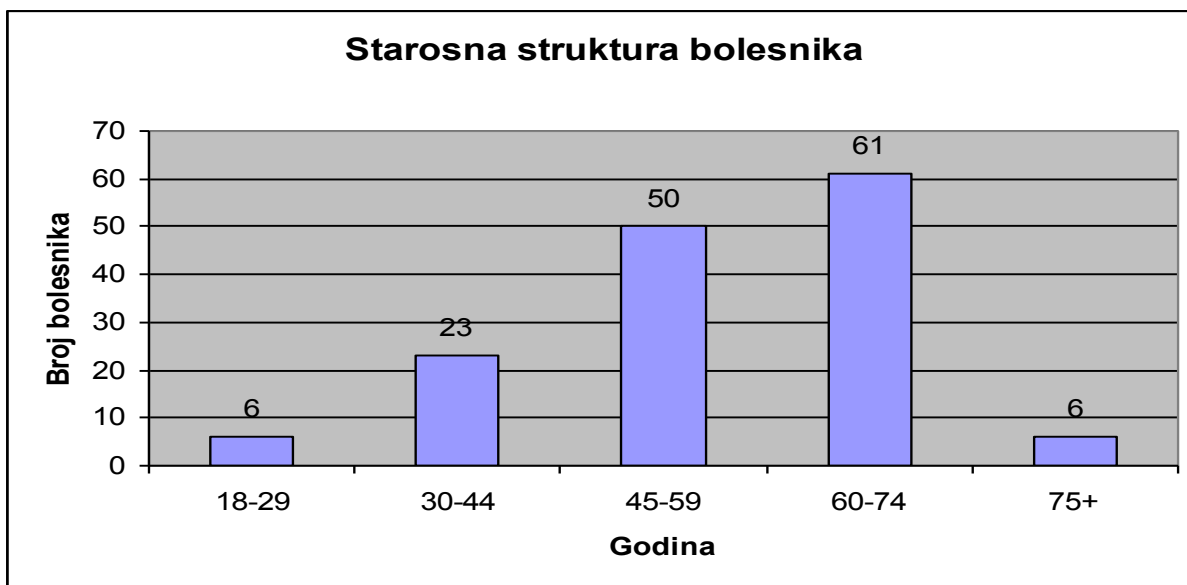
V REZULTATI

5.1. Demografski podaci

U istraživanje je uključeno ukupno 138 bolesnika. Muškaraca je bilo 75 (53.5%), a žena 65 (46.5%) (Grafikon 5.). Medijana starosti bolesnika je 58 godina (23-82). Starosna struktura bolesnika prikazana je na grafikonu 6.



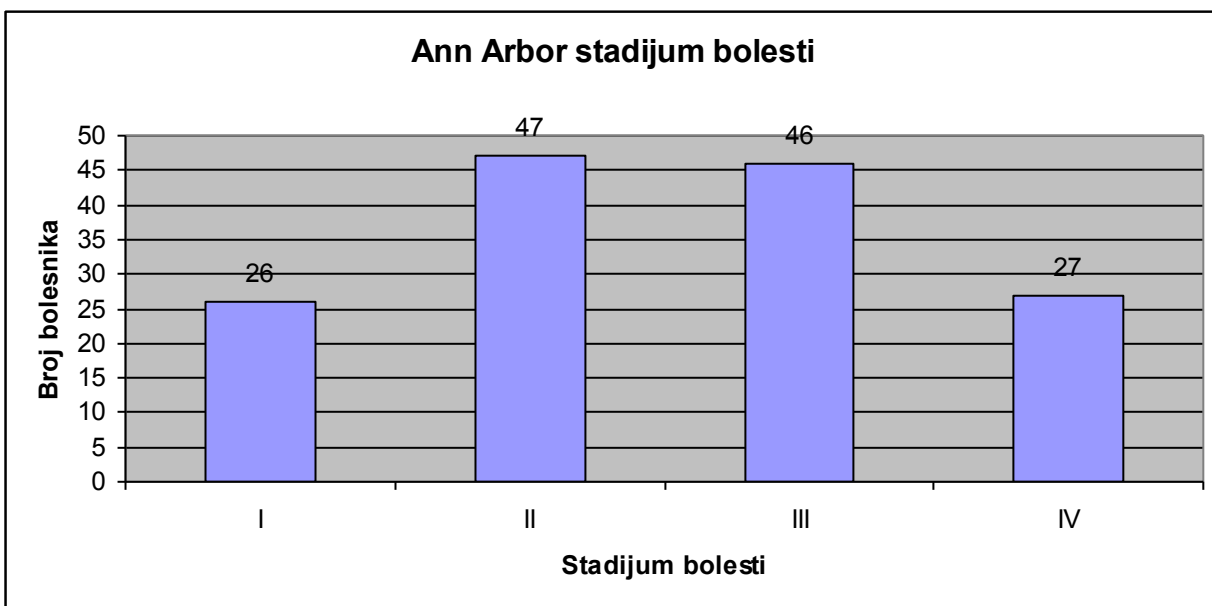
Grafikon 5. Polna struktura bolesnika



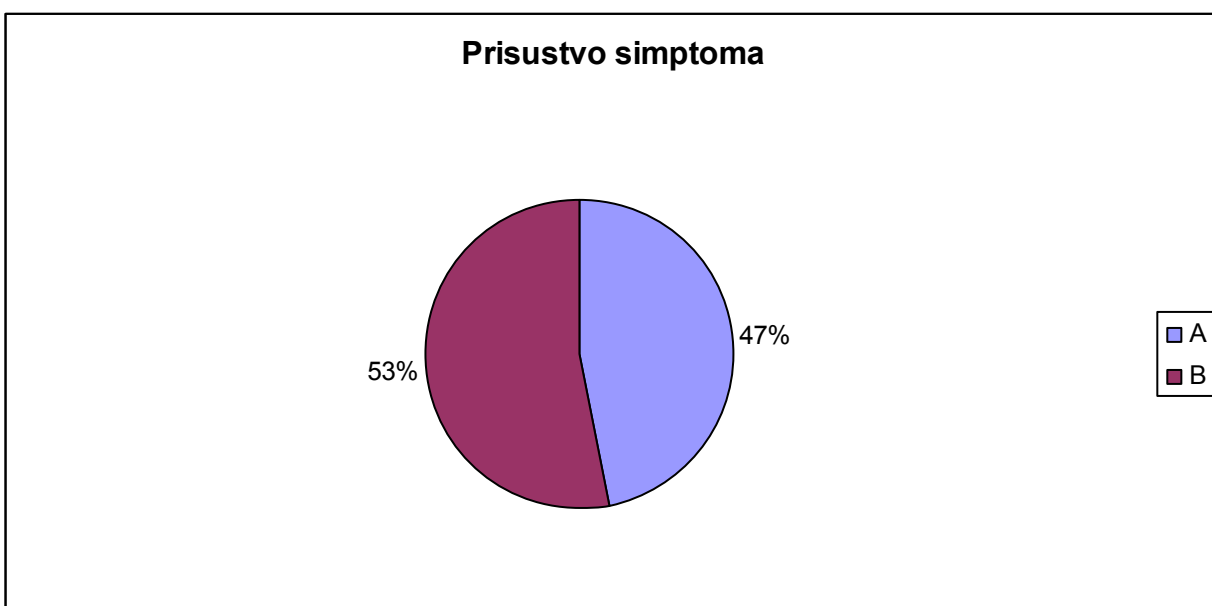
Grafikon 6. Starosna struktura bolesnika

5.2. Stadijum bolesti i IPI skor

Bolesnicima je određivan stadijum bolesti po Ann Arboru i IPI skor. Najveći broj bolesnika bio je u II kliničkom stadijumu- 47 (34.07%), u III 46 (33.33%), u I stadijumu bilo je 26 bolesnika (18.84%), do je u IV stadijumu bilo njih 27 (19.56%) (grafikon 7.). B simptome je imalo 52.94% bolesnika (grafikon 8.).

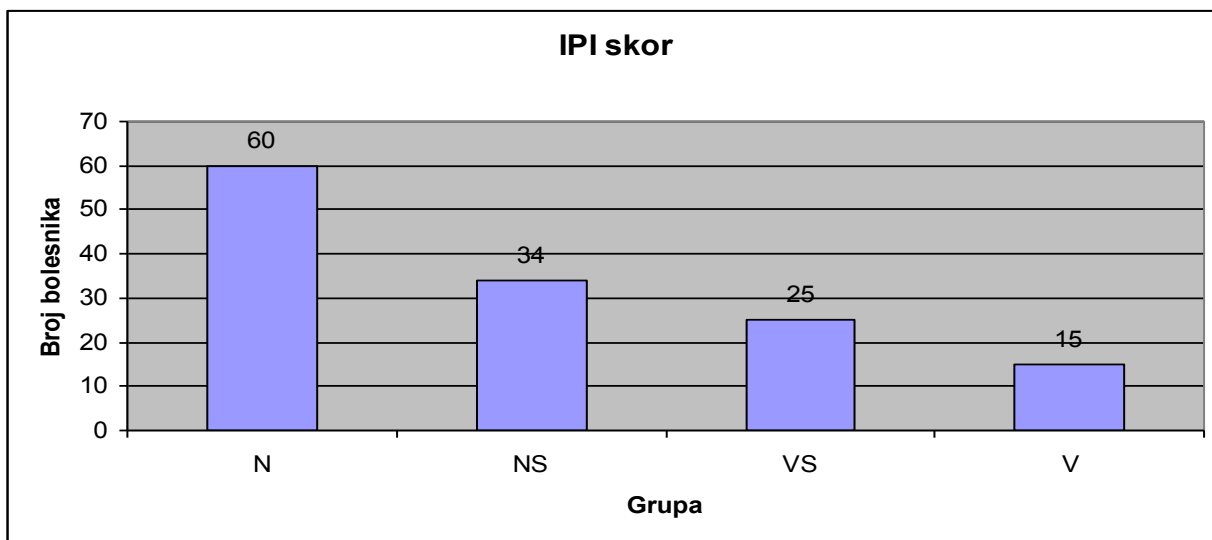


Grafikon 7. Ann Arbor stadijum bolesti



Grafikon 8. Prisustvo B simptoma

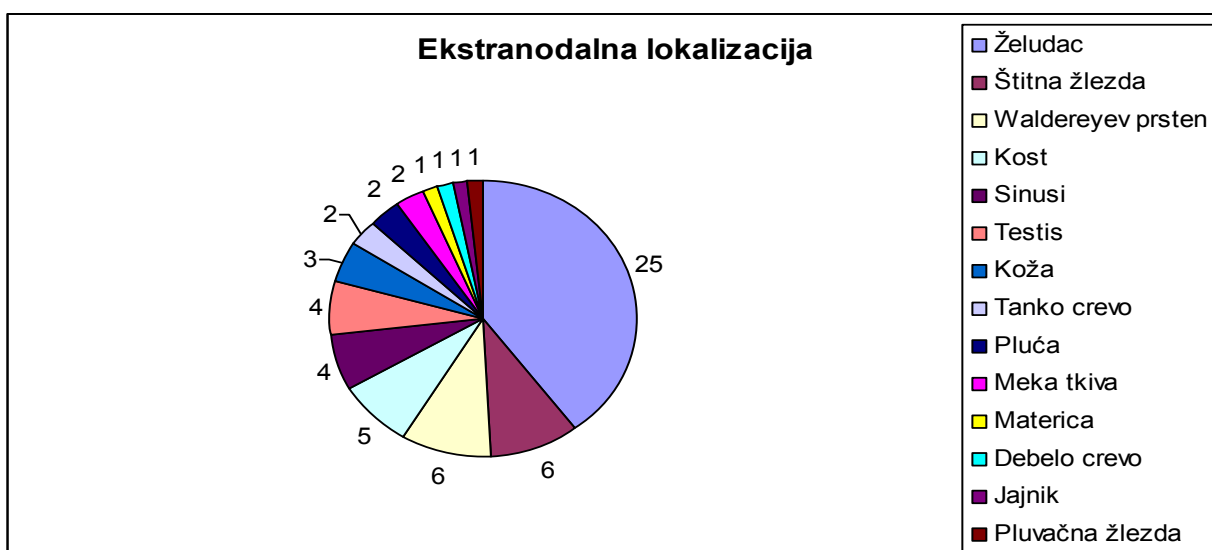
U našoj seriji bolesnika najviše je bilo u grupi niskog rizika po IPI skoru 60 (44.77%). U grupi srednje-niskog rizika bilo je 34 bolesnika (25.37%), u grupi visoko-srednjeg rizika 25 bolesnika (18.65%), a u grupi visokog rizika 15 (11.19%) (grafikon 9.).



Grafikon 9. IPI skor

5.3. Ekstranodalna lokalizacija

Od ukupno 140 bolesnika 65 (46.42%) je imalo primarno ekstranodalnu lokalizaciju. Ubedljivo najviše ekstranodalnih DLBCL bilo je locirano u želucu. Ostale lokalizacije prikazane su na grafikonu 10.



Grafikon 10. Ekstranodalna lokalizacija

5.4. Broj analiziranih bolesnika u podgrupama i procenat ekspresije molekularskih markera

U našoj studiji GCB/nonGCB fenotip je analiziran kod 85 bolesnika. GCB fenotipa bilo je 26 (30.5%), dok je bolesnika sa nonGCB fenotipom bilo 59 (69.5%). Od 82 analizirana bolesnika 49 (59.75%) je imalo centroblastni podtip DLBCL, 1 bolesnik (1.2%) je imao anaplastičan podtip, dok je 32 (39.02%) bolesnika pripadalo imunoblastnom podtipu.

U tabeli 10. prikazana su rezultati broja analiziranih bolesnika te procenta ekspresije različitih molekularskih markera.

Marker	Broj bolesnika	Broj i procenat pozitivnih	Broj i procenat negativnih
CD10	88	18 (20.45%)	70 (79.55%)
MUM-1	91	57 (62.64%)	34 (37.36%)
Bcl-6	95	46 (48.42%)	49 (51.58%)
Bcl-2	100	41 (41%)	59 (59%)
Ki67>70%	98	31 (31.63%)	67 (68.37%)
CD20>60%	54	45 (83.33%)	9 (16.66%)
CD30	88	10 (11.36%)	78 (88.64%)
CD43	89	16 (17.97%)	73 (82.03%)
CD5	98	7 (7.14%)	91 (92.86%)
COX-2	66	42 (63.63%)	24 (36.37%)
VEGF-A	63	29 (46.03%)	34 (53.97%)
EBV-LMP1	64	25 (39.06%)	39 (60.94%)
BAFF-R	63	44 (69.84%)	19 (30.16%)
BCMA	64	16 (25%)	48 (75%)
TACI	64	18 (28.12%)	46 (71.88%)

Tabela 10. Procenat ekspresije molekularskih markera

5.5. Studije korelacije

Da bi uočili odnose između dva parametra korelirali smo molekularske markere sa različitim kliničkim i laboratorijskim parametrima, patohistološkim podtipovima, te markere međusobno. Ovi odnosi su prikazani u tri različite tabele za svaki marker.

5.5.1. CD10

CD10 nije statistički značajno korelirao ni sa jednim parametrom (tabele 11.,12.,13.). Nismo analizirali odnos ovog markera sa GCB/nonGCB podtipom jer je sastavni deo algoritma za dijagnozu podtipa DLBCL.

Parametar	P	R
Ženski pol	0.2285	0.129
≥65 godina	0.1332	-0.160
CS	0.6414	-0.0500
B simptomi	0.5491	-0.0651
Extranodal	0.0743	0.189
Albumin	0.5765	-0.0735
BrLY >1	0.1792	0.146
Hgb ≤110	0.4436	-0.104
LDH	0.4934	-0.0744
IPI ≥2	0.4073	0.0905

Tabela 11. Korelacija CD10 sa kliničkim i laboratorijskim parametrima

Parametar	P	R
GCB	-	-
Imunoblastni	0.1051	-0.197

Tabela 12. Korelacija CD10 sa patohistološkim podtipovima

Parametar	P	R
CD10	-	-
MUM-1	0.2168	-0.135
Bcl-6	0.1743	0.146
Bcl-2	0.6864	0.0439
Ki67>70%	0.9275	-0.0103
CD20>60%	0.9657	0.00612
CD30	0.5689	-0.0673
CD43	0.5620	-0.0658
CD5	0.2543	0.125
COX-2	0.7026	0.0483
VEGF-A	0.9466	0.00853
EBV-LMP1	0.5313	-0.0791
BAFF-R	0.4842	0.0890
BCMA	0.5718	0.0714
TACI	0.0735	0.223

Tabela 13. Korelacija CD10 sa ekspresijom ostalih molekularnih markera

5.5.2. MUM-1

Protein MUM-1 je češće eksprimiran kod bolesnica ženskog pola ($p=0.0114$) i pozitivno korelira sa pojavom anemije kod novodijagnostikovanih bolesnika ($p=0.0012$). Takođe učestalija je pozitivnost MUM-1 kod imunoblastnog podtipa ($p=0.0003$) i kod Bcl-2 pozitivnih slučajeva ($p=0.0546$) (tabele 14.,15.,16.)

Parametar	P	R
Ženski pol	0.0114	0.264
≥65 godina	0.6768	0.0438
CS	0.9383	0.0814
B simptomi	0.1619	0.149
Extranodal	0.4427	0.0806
Albumin	0.6117	0.0647
BrLY >1	0.4411	-0.0817
Hgb ≤110	0.0012	0.416
LDH	0.3488	0.0994
IPI ≥2	0.7953	0.0277

Tabela 14. Korelacija MUM-1 sa kliničkim i laboratorijskim parametrima

Parametar	P	R
GCB	-	-
Imunoblastni	0.0003	0.424

Tabela 15. Korelacija MUM-1 sa patohistološkim podtipovima

Parametar	P	R
CD10	0.2168	-0.135
MUM-1	-	-
Bcl-6	0.5542	0.0632
Bcl-2	0.0546	0.203
Ki67>70%	0.5110	-0.0736
CD20>60%	0.4084	0.114
CD30	0.2049	0.149
CD43	0.5343	0.0714
CD5	0.3556	0.101
COX-2	0.5128	0.0826
VEGF-A	0.5926	-0.0682
EBV-LMP1	0.4389	0.0977
BAFF-R	0.5305	0.0798
BCMA	0.1461	0.182
TACI	0.0911	0.211

Tabela 16. Korelacija MUM-1 sa ekspresijom ostalih molekularnih markera

5.5.3 Bcl-6

Ekspresija Bcl-6 se češće javlja kod bolesnika sa normalnom koncentracijom albumina (p=0.0490). Bcl-6 pozitivno korelira sa kespresijom Ki67 većom od 70%, te sa ekspresijom VEGF-A proteina (p=0.0372) (tabele 17.,18.,19.)

Parametar	P	R
Ženski pol	0.9219	0.0102
≥65 godina	0.8420	-0.0205
CS	0.3570	-0.0945
B simptomi	0.9719	0.00368
Extranodal	0.7464	-0.0333
Albumin	0.0490	-0.243
BrLY >1	0.3141	-0.106
Hgb ≤110	0.6687	0.0550
LDH	0.6082	-0.0533
IPI ≥2	0.3358	-0.100

Tabela 17. Korelacija Bcl-6 sa kliničkim i laboratorijskim parametrima

Parametar	P	R
GCB	-	-
Imunoblastni	0.2456	-0.136

Tabela 18. Korelacija Bcl-6 sa patohistološkim podtipovima

Parametar	P	R
CD10	0.2168	-0.135
MUM-1	0.5542	0.0632
Bcl-6	-	-
Bcl-2	0.3826	0.0906
Ki67>70%	0.0009	0.352
CD20>60%	0.3739	-0.118
CD30	0.1606	0.160
CD43	0.8433	0.0222
CD5	0.6689	-0.0471
COX-2	0.3722	0.113
VEGF-A	0.0372	0.261
EBV-LMP1	0.6702	-0.0538
BAFF-R	0.6892	-0.0510
BCMA	0.5172	0.0818
TACI	0.5957	0.0670

Tabela 19. Korelacija Bcl-6 sa ekspresijom ostalih molekularnih markera

5.5.4. Bcl-2

Osim već pomenute korelacije sa MUM-1 (p=0.0546) proteinom, Bcl-2 pozitivno korelira i sa markerima CD43 (p=0.0048), CD5 (0.0209) i statistički granično sa COX-2 (p=0.0629) (tabele 20.,21.,22.).

Parametar	P	R
Ženski pol	0.8430	0.0199
≥65 godina	0.6248	0.0485
CS	0.6762	-0.0414
B simptomi	0.4475	0.0764
Extranodal	0.5993	-0.0521
Albumin	0.1957	-0.156
BrLY >1	0.3171	-0.101
Hgb ≤110	0.4703	-0.0884
LDH	0.4993	0.0677
IPI ≥2	0.7690	0.0296

Tabela 20. Korelacija Bcl-2 sa kliničkim i laboratorijskim parametrima

Parametar	P	R
GCB	0.9957	0.000593
Imunoblastni	0.8861	-0.0165

Tabela 21. Korelacija Bcl-2 sa patohistološkim podtipovima

Parametar	P	R
CD10	0.6864	0.0439
MUM-1	0.0546	0.203
Bcl-6	0.3826	0.0906
Bcl-2	-	-
Ki67>70%	0.5498	-0.0639
CD20>60%	0.7232	-0.0467
CD30	0.1504	0.160
CD43	0.0048	0.300
CD5	0.0209	0.239
COX-2	0.0629	0.232
VEGF-A	0.6952	-0.0499
EBV-LMP1	0.8453	-0.0247
BAFF-R	0.4405	0.0981
BCMA	0.3439	-0.119
TACI	0.7925	0.0333

Tabela 22. Korelacija Bcl-2 sa ekspresijom ostalih molekularnih markera

5.5.5. Ki67

Visok proliferativni indeks preko 70% pozitivno korelira jedino sa ekspresijom Bcl-6 proteina (p=0.0009) (tabele 23.,24.,25.).

Parametar	P	R
Ženski pol	0.6590	-0.0449
≥65 godina	0.1944	0.130
CS	0.0267	-0.222
B simptomi	0.3905	-0.0882
Extranodal	0.2662	0.111
Albumin	0.9317	0.0111
BrLY >1	0.6731	0.0436
Hgb ≤110	0.3984	0.106
LDH	0.8470	-0.0197
IPI ≥2	0.2647	-0.114

Tabela 23. Korelacija Ki67 sa kliničkim i laboratorijskim parametrima

Parametar	P	R
GCB	0.9898	0.00147
Imunoblastni	0.7665	0.0351

Tabela 24. Korelacija Ki67 sa patohistološkim podtipovima

Parametar	P	R
CD10	0.9275	-0.0103
MUM-1	0.5110	-0.0736
Bcl-6	0.0009	0.352
Bcl-2	0.5498	-0.0639
Ki67>70%	-	-
CD20>60%	0.2315	0.155
CD30	0.4449	-0.0895
CD43	0.3891	0.0982
CD5	0.6978	-0.0427
COX-2	0.1678	0.182
VEGF-A	0.1393	0.197
EBV-LMP1	0.9782	0.00363
BAFF-R	0.7650	0.0401
BCMA	0.5896	-0.0717
TACI	0.7004	-0.0512

Tabela 25. Korelacija Ki67 sa ekspresijom ostalih molekularnih markera

5.5.6. CD20

Analizirali smo korelaciju ekspresije CD20 u više ili manje od 60% ćelija. Bolesnici sa primarno ektranodalnom lokalizacijom i imunoblastnim podtipom DLBCL imaju veći procenat ekspresije CD20 proteina ($p=0.0374$, $p=0.0063$ respektivno). Sa druge strane CD5+ DLBCL ima češće nisku ekspresiju CD20 ($p=0.0086$) (tabele 26.,27.28.).

Parametar	P	R
Ženski pol	0.5495	-0.0756
≥65 godina	0.8136	0.0298
CS	0.2113	-0.157
B simptomi	0.3551	0.118
Extranodal	0.0374	0.259
Albumin	0.3701	0.135
BrLY >1	0.8145	-0.0302
Hgb ≤110	0.8271	-0.0339
LDH	0.4029	-0.106
IPI ≥2	0.4430	-0.0976

Tabela 26. Korelacija CD20 sa kliničkim i laboratorijskim parametrima

Parametar	P	R
GCB	0.1704	-0.191
Imunoblastni	0.0063	0.346

Tabela 27. Korelacija CD20 sa patohistološkim podtipovima

Parametar	P	R
CD10	0.9657	0.00612
MUM-1	0.4084	0.114
Bcl-6	0.3739	-0.118
Bcl-2	0.7232	-0.0467
Ki67>70%	0.2315	0.155
CD20>60%	-	-
CD30	0.5414	0.0826
CD43	0.1301	-0.207
CD5	0.0086	-0.354
COX-2	0.6180	0.0792
VEGF-A	0.3553	0.148
EBV-LMP1	0.1658	-0.218
BAFF-R	0.5548	-0.0950
BCMA	0.4550	-0.118
TACI	0.6764	0.0663

Tabela 28. Korelacija CD20 sa ekspresijom ostalih molekularnih markera

5.5.7. CD30

Ekspresija CD30 obrnuto korelira sa IPI skorom ($p=0.0393$), odnosno veći broj bolesnika sa ekspresijom CD30 pripadaju grupi niskog i nisko-srednjeg rizika po IPI skoru. CD30 pozitivno korelira sa ekspresijom BCMA ($p=0.0004$) proteina (tabele 29.,30.,31.).

Parametar	P	R
Ženski pol	0.2094	0.135
≥65 godina	0.1969	-0.139
CS	0.3026	-0.111
B simptomi	0.1629	-0.152
Extranodal	0.2029	-0.137
Albumin	0.8948	0.0184
BrLY >1	0.7889	-0.0291
Hgb ≤110	0.7945	-0.0324
LDH	0.1441	0.159
IPI ≥2	0.0393	-0.223

Tabela 29. Korelacija CD30 sa kliničkim i laboratorijskim parametrima

Parametar	P	R
GCB	0.3323	-0.116
Imunoblastni	0.9263	0.0112

Tabela 30. Korelacija CD30 sa patohistološkim podtipovima

Parametar	P	R
CD10	0.5689	-0.0673
MUM-1	0.2049	0.149
Bcl-6	0.1606	0.160
Bcl-2	0.1504	0.160
Ki67>70%	0.4449	-0.0895
CD20>60%	0.5414	0.0826
CD30	-	-
CD43	0.6543	0.0519
CD5	0.4445	-0.0873
COX-2	0.0705	0.229
VEGF-A	0.0604	0.240
EBV-LMP1	0.8670	-0.0214
BAFF-R	0.4123	0.105
BCMA	0.0004	0.432
TACI	0.1213	0.197

Tabela 31. Korelacija CD30 sa ekspresijom ostalih molekularnih markera

5.5.8. CD43

Ekspresija CD43 pozitivno korelira sa ekspresijom Bcl-2 (p=0.0048) i ekspresijom CD5 (p=0.0312) (tabele 32.,33.,34.).

Parametar	P	R
Ženski pol	0.6978	0.0415
≥65 godina	0.2314	-0.128
CS	0.5142	-0.0701
B simptomi	0.7155	0.0394
Extranodal	0.9708	0.00391
Albumin	0.5812	0.0746
BrLY >1	0.9941	0.000805
Hgb ≤110	0.7945	-0.0324
LDH	0.3991	0.0915
IPI ≥2	0.7246	-0.0383

Tabela 32. Korelacija CD43 sa kliničkim i laboratorijskim parametrima

Parametar	P	R
GCB	0.1728	-0.156
Imunoblastni	0.4862	0.0840

Tabela 33. Korelacija CD43 sa patohistološkim podtipovima

Parametar	P	R
CD10	0.5620	-0.0658
MUM-1	0.5343	0.0714
Bcl-6	0.8433	0.0222
Bcl-2	0.0048	0.300
Ki67>70%	0.3891	0.0982
CD20>60%	0.1301	-0.207
CD30	0.6543	0.0519
CD43	-	-
CD5	0.0312	0.234
COX-2	0.9418	-0.00924
VEGF-A	0.9919	0.00130
EBV-LMP1	0.2355	0.149
BAFF-R	0.7591	0.0391
BCMA	0.1955	-0.163
TACI	0.4884	-0.0875

Tabela 34. Korelacija CD43 sa ekspresijom drugih molekularnih markera

5.5.9. CD5

Bolesnici sa CD5 pozitivnim DLBCL su češće ženskog pola ($p=0.0693$) i kod njih su češće prisutni B simptomi ($p=0.0306$). Već je rečeno da ekspresija CD5 pozitivno korelira sa ekspresijom Bcl-2 ($p=0.0209$), niskom ekspresijom CD20 ($p=0.086$) i CD43 (0.0312) (tabele 35.,36.,37.).

Parametar	P	R
Ženski pol	0.0693	0.183
≥65 godina	0.4465	0.0770
CS	0.5996	0.0534
B simptomi	0.0306	0.220
Extranodal	0.7591	-0.0309
Albumin	0.5730	0.0718
BrLY >1	0.6781	-0.0429
Hgb ≤110	0.2816	0.136
LDH	0.2793	0.111
IPI ≥2	0.0937	0.172

Tabela 35. Korelacija CD5 sa kliničkim i laboratorijskim parametrima

Parametar	P	R
GCB	0.6385	0.0527
Imunoblastni	0.6884	0.0481

Tabela 36. Korelacija CD5 sa patohistološkim podtipovima

Parametar	P	R
CD10	0.2543	0.125
MUM-1	0.3556	0.101
Bcl-6	0.6689	-0.0471
Bcl-2	0.0209	0.239
Ki67>70%	0.6978	-0.0427
CD20>60%	0.0086	-0.354
CD30	0.4445	-0.0873
CD43	0.0312	0.234
CD5	-	-
COX-2	0.4618	0.0929
VEGF-A	0.2431	-0.148
EBV-LMP1	0.3103	0.128
BAFF-R	0.5790	0.0707
BCMA	0.4138	0.103
TACI	0.5295	-0.0794

Tabela 37. Korelacija CD5 sa ekspresijom drugih molekularnih markera

5.5.10. COX-2 i VEGF-A

COX-2 i VEGF-A imaju ulogu u stvaranju krvnih sudova tumora, međusobno pozitivno koreliraju ($p=0.004$) te će zbog toga biti opisani u jednom poglavlju. Bolesnici sa DLBCL koji ekspresiraju COX-2 češće inicijalno imaju broj limfocita manji od $1 \times 10^9/l$ ($p=0.0116$, negativna korelacija). COX-2 ekspresija, takođe korelira sa BCMA ekspresijom ($p=0.0045$) i kao što je već rečeno granično korelira sa ekspresijom Bcl-2 ($p=0.0629$) (tabele 38.,40.,42.).

VEGF-A ekspresija je češća kod imunoblastnog podtipa DLBCL, a i kao što je navedeno korelira i sa Bcl-6 ekspresijom ($p=0.0372$) i granično sa CD30 ($p=0.0604$) (tabele 39.,41.,43.).

Parametar	P	R
Ženski pol	0.7221	0.0453
≥65 godina	0.2342	-0.151
CS	0.7071	-0.0479
B simptomi	0.6278	0.0623
Extranodal	0.8453	-0.0249
Albumin	0.5053	-0.108
BrLY >1	0.0116	-0.316
Hgb ≤110	0.2519	0.170
LDH	0.6026	0.0674
IPI ≥2	0.6026	-0.0674

Tabela 38. Korelacija COX-2 sa kliničkim i laboratorijskim parametrima

Parametar	P	R
Ženski pol	0.9247	-0.0121
≥65 godina	0.2376	-0.151
CS	0.6033	0.0667
B simptomi	0.7068	0.0487
Extranodal	0.5792	0.0712
Albumin	0.2981	-0.171
BrLY >1	0.3851	-0.112
Hgb ≤110	0.3546	0.138
LDH	0.8881	-0.0184
IPI ≥2	0.7155	0.0476

Tabela 39. Korelacija VEGF-A sa kliničkim i laboratorijskim parametrima

Parametar	P	R
GCB	0.5122	0.0834
Imunoblastni	0.1921	0.179

Tabela 40. Korelacija COX-2 sa patohistološkim podtipovima

Parametar	P	R
GCB	0.2573	0.145
Imunoblastni	0.0041	0.385

Tabela 41. Korelacija VEGF-A sa patohistološkim podtipovima

Parametar	P	R
CD10	0.7026	0.0483
MUM-1	0.5128	0.0826
Bcl-6	0.3722	0.113
Bcl-2	0.0629	0.232
Ki67>70%	0.1678	0.182
CD20>60%	0.6180	0.0792
CD30	0.0705	0.229
CD43	0.9418	-0.00924
CD5	0.4618	0.0929
COX-2	-	-
VEGF-A	0.0040	0.355
EBV-LMP1	0.6579	0.0560
BAFF-R	0.5305	0.0798
BCMA	0.0045	0.348
TACI	0.7198	0.0454

Tabela 42. Korelacija COX-2 sa ekspresijom ostalih molekularnih markera

Parametar	P	R
CD10	0.9466	0.00853
MUM-1	0.5926	-0.0682
Bcl-6	0.0372	0.261
Bcl-2	0.6952	-0.0499
Ki67>70%	0.1393	0.197
CD20>60%	0.3553	0.148
CD30	0.0604	0.240
CD43	0.9919	0.00130
CD5	0.2431	-0.148
COX-2	0.0040	0.355
VEGF-A	-	-
EBV-LMP1	0.2375	-0.150
BAFF-R	0.9126	0.0141
BCMA	0.1143	0.199
TACI	0.5260	0.0807

Tabela 43. Korelacija VEGF-A sa ekspresijom ostalih molekularnih markera

5.5.11. EBV-LMP1

Ekspresija EBV-LMP1 korelira pozitivno sa ekspresijom BAFF-R ($p=0.0117$) i BCMA receptora ($p=0.0227$) (tabele 44.,45.,46.).

Parametar	P	R
Ženski pol	0.8874	-0.0180
≥65 godina	0.9191	0.0130
CS	0.4589	0.0942
B simptomi	0.0852	0.219
Extranodal	0.1174	0.198
Albumin	0.9284	-0.0147
BrLY >1	0.6696	0.0548
Hgb ≤110	0.7661	0.0446
LDH	0.7997	0.0329
IPI ≥2	0.7997	0.0329

Tabela 44. Korelacija EBV-LMP1 sa kliničkim i laboratorijskim parametrima

Parametar	P	R
GCB	0.6595	-0.0561
Imunoblastni	0.8803	0.0208

Tabela 45. Korelacija EBV-LMP1 sa patohistološkim podtipovima

Parametar	P	R
CD10	0.5313	-0.0791
MUM-1	0.4389	0.0977
Bcl-6	0.6702	-0.0538
Bcl-2	0.8453	-0.0247
Ki67>70%	0.9782	0.00363
CD20>60%	0.1658	-0.218
CD30	0.8670	-0.0214
CD43	0.2355	0.149
CD5	0.3103	0.128
COX-2	0.6579	0.0560
VEGF-A	0.2375	-0.150
EBV-LMP1	-	-
BAFF-R	0.0117	0.313
BCMA	0.0227	0.282
TACI	0.9657	-0.00544

Tabela 46. Korelacija EBV-LMP1 sa ekspresijom ostalih molekularnih markera

5.5.12. BAFF-R, BCMA, TACI

BAFF-R, BCMA i TACI pripadaju istoj familiji receptora te će biti analizirani zajedno. Sva tri međusobno pozitivno koreliraju: BAFF-R i BCMA (p=0.0123), BAFF-R i TACI (p=0.0243), BCMA i TACI (p=0.0273). BAFF-R još pozitivno korelira sa EBV-LMP1 (p=0.0117), BCMA pozitivno sa CD30 (p=0.0004) i COX-2 (p=0.0045), dok ekspresija TACI korelira sa višim kliničkim stadijomom (III/IV) po Ann-Arboru (p=0.0438) (tabele 49.-57.).

Parametar	P	R
Ženski pol	0.2907	0.135
≥65 godina	0.8743	-0.0203
CS	0.6409	-0.0599
B simptomi	0.7159	-0.0472
Extranodal	0.9381	0.00998
Albumin	0.2072	-0.207
BrLY >1	0.3750	0.115
Hgb ≤110	0.0999	-0.243
LDH	0.7223	0.0464
IPI ≥2	0.4656	-0.0952

Tabela 49. Korelacija BAFF-R sa kliničkim i laboratorijskim parametrima

Parametar	P	R
GCB	0.8423	0.0256
Imunoblastni	0.4258	0.111

Tabela 50. Korelacija BAFF-R sa patohistološkim podtipovima

Parametar	P	R
Ženski pol	0.1529	0.181
≥65 godina	0.2192	-0.156
CS	0.6671	-0.0548
B simptomi	0.8191	-0.0294
Extranodal	1.0000	0.0000
Albumin	0.6200	0.0808
BrLY >1	0.8991	-0.0163
Hgb ≤110	0.3446	0.141
LDH	0.7713	-0.0377
IPI ≥2	0.1427	-0.188

Tabela 51. Korelacija BCMA sa kliničkim i laboratorijskim parametrima

Parametar	P	R
GCB	0.8453	0.0249
Imunoblastni	0.9544	-0.00789

Tabela 52. Korelacija BCMA sa patohistološkim podtipovima

Parametar	P	R
Muskarci=0	0.1583	0.178
≥65 =1	0.4176	-0.103
CS	0.0438	0.253
B simptomi	0.2598	0.144
Extranodal	0.3009	0.131
Albumin	0.3196	0.161
BrLY >1	0.4930	-0.0880
Hgb ≤110	0.5220	0.0958
LDH	0.5831	0.0711
IPI ≥2	0.2705	0.142

Tabela 53. Korelacija TACI sa kliničkim i laboratorijskim parametrima

Parametar	P	R
GCB	0.3375	0.122
Imunoblastni	0.5670	-0.0789

Tabela 54. Korelacija TACI sa patohistološkim podtipovima

Parametar	P	R
CD10	0.4842	0.0890
MUM-1	0.5305	0.0798
Bcl-6	0.6892	-0.0510
Bcl-2	0.4405	0.0981
Ki67>70%	0.7650	0.0401
CD20>60%	0.5548	-0.0950
CD30	0.4123	0.105
CD43	0.7591	0.0391
CD5	0.5790	0.0707
COX-2	0.5305	0.0798
VEGF-A	0.9126	0.0141
EBV-LMP1	0.0117	0.313
BAFF-R	-	-
BCMA	0.0123	0.311
TACI	0.0243	0.281

Tabela 55. Korelacija BAFF-R sa ekspresijom ostalih molekularnih markera

Parametar	P	R
CD10	0.5718	0.0714
MUM-1	0.1461	0.182
Bcl-6	0.5172	0.0818
Bcl-2	0.3439	-0.119
Ki67>70%	0.5896	-0.0717
CD20>60%	0.4550	-0.118
CD30	0.0004	0.432
CD43	0.1955	-0.163
CD5	0.4138	0.103
COX-2	0.0045	0.348
VEGF-A	0.1143	0.199
EBV-LMP1	0.0227	0.282
BAFF-R	0.0123	0.311
BCMA	-	-
TACI	0.0273	0.274

Tabela 56. Korelacija BCMA sa ekspresijom ostalih molekularnih markera

Parametar	P	R
CD10	0.2168	-0.135
MUM-1	0.0911	0.211
Bcl-6	0.5957	0.0670
Bcl-2	0.7925	0.0333
Ki67>70%	0.7004	-0.0512
CD20>60%	0.6764	0.0663
CD30	0.1213	0.197
CD43	0.4884	-0.0875
CD5	0.5295	-0.0794
COX-2	0.7198	0.0454
VEGF-A	0.5260	0.0807
EBV-LMP1	0.9657	-0.00544
BAFF-R	0.0243	0.281
BCMA	0.0273	0.274
TACI	-	-

Tabela 57. Korelacija TACI sa ekspresijom ostalih molekularnih markera

5.6. Primenjena terapija

Svi ispitivani bolesnici dobili su u svom lečenju rituksimab. Od 140 bolesnika 125 (89.3%) dobilo je kombinaciju rituksimab, ciklofosamid, doksorubicin, prednison svake tri nedelje (R-CHOP21). Dva bolesnika (1.4%) su dobila uz ovu kombinaciju i etopozid (R-CHOEP21).

Četrnaest bolesnika (10%) je dobilo kombinaciju bez antraciklina (doksorubicina), od toga 12 R-CVP, a dva R-CVPE (kombinaciju sa etopozidom).

5.7. Rezultati lečenja

5.7.1. Odgovor na primenjeno lečenje

Nakon završenog lečenja procenjivali smo procenat remisija kod naših bolesnika. Kompletnu remisiju (CR) je postiglo 74.24% bolesnika, parcijalnu (PR) 14.65%, dok je progresiju bolesti (PD) doživelo 11.11% bolesnika. Ukupan odgovor na primenjeno lečenje (ORR) (CR+PR) postignut je u 88.89% slučajeva.

5.7.1.1. Uticaj starosti i pola na postizanje kompletne remisije

Bolesnici stariji od 65 godina imaju stopu kopletnje remisije od 62.79%, što je statistički granično niže od mlađih bolesnika 79.78% (p=0.06). Pol nije značajno uticao na postizanje kompletne remisije u našoj seriji bolesnika. (tabele 58. i 59.)

Parametar	<65 n	CR%	≥65 n	CR%	P value	CI %
<65 vs ≥65	89	79.78%	43	62.79%	0.0601	-0.315/ 34.838

Tabela 58. Uticaj starosti bolesnika na procenat postignutih kompletnih remisija

Parametar	Muški n	CR%	Ženski	CR%	P value	CI %
Pol bolesnika	71	71.83%	61	77.05%	0.6283	-10.849/ 20.658

tabela 59. Uticaj pola bolesnika na procenat postignutih kompletnih remisija

5.7.1.2. Uticaj kliničkog stadijuma bolesti na postizanje kompletne remisije

Stadijum bolesti značajno utiče na dubinu postignute remisije. Kod bolesnika u nižem kliničkom stadijumu (I,II) kompletna remisija se postiže u 83.08% slučajeva, dok se kod bolesnika u uznapređovalom stadijumu (III, IV) CR postiže u 66.67% slučajeva (p=0.04) (tabela 60.).

Parametar	I/II n	CR%	III/IV n	CR%	P value	CI %
Klinički stadijum	65	83.08%	66	66.67%	0.0498	0.519/ 31.489

tabela 60. Uticaj kliničkog stadijuma na procenat postignutih kompletnih remisija

5.7.1.3. Uticaj IPI skora na postizanje kompletne remisije

IPI skor je najznačajniji parametar koji utiče na postizanje kompletne remisije. Bolesnici sa niskim rizikom prema IPI skoru imaju stopu kompletnih remisija od 90%, za razliku od bolesnika sa visokim rizikom koji postižu kompletnu remisiju u 28.57% slučajeva. U tabelama 61. i 62. prikazani su rezultati CR kod različitih IPI grupa i njihova međusobna poređenja.

Parametar	N (+)	CR% (+)	N (-)	CR% (-)	P value	CI %
IPI 0 vs IPI 1-5	20	95%	110	70%	0.0391	3.437/ 3.567
IPI 0,1 vs IPI 2-5	60	90%	70	60%	0.0002	14.399/ 43.888
IPI 0-2 vs IPI 3-5	93	80.65%	37	56.76%	0.0100	5.159/ 42.701
IPI 0-3 vs IPI 4,5	116	79.31%	14	28.57%	0.0002	20.005/ 72.089

tabela 61. Uticaj IPI skora na procenat postignutih kompletnih remisija

IPI skor	N	SN	SV	V
% CR	90%	63.64%	73.91%	28.57%

Tabela 62. Procenat kompletnih remisija prema grupama rizika IPI skora

5.7.1.4. Uticaj laboratorijskih parametara na postizanje kompletne remisije

Od laboratorijskih parametara koje smo analizirali jedino povišena laktat dehidrogenaza (LDH) značajno utiče na postizanje kompletne remisije . Bolesnici sa povišenim vrednostima ovog enzima pre započinjanja lečenja postizali su kompletnu remisiju u 62.5% slučajeva dok je kod bolesnika sa normalnim vrednostima LDH CR bila 85.29% (p=0.005). Nivo albumina, hemoglobina i broj limfocita nisu uticali na stopu postizanja kompletnih remisija. (tabela 63.).

Parametar	N (+)	CR% (+)	N (-)	CR% (-)	P value	CI %
LDH E(+) vs N (-)	64	62.5%	68	85.29%	0.0052	6.877/ 37.753
Hgb ≤110 (+) vs >110 (-)	37	72.97%	94	74.47%	0.9641	-15.111/ 20.562
Ly≤1 (+) vs >1 (-)	35	68.57%	93	77.24%	0.4358	-8.928/ 28.262
Albumin N (+) vs L (-)	61	72.13%	16	68.75%	0.9645	-0.648/ 32.814

tabela 63. Uticaj laboratorijskih parametara na procenat postignutih kompletnih remisija

5.7.1.5. Uticaj patohistoloških podtipova DLBCL na postizanje kompletne remisije

Cetroblasni i imunoblasni podtip DLBCL nisu se razlikovali u procentu kompletnih remisija (p=0.96). Takođe ni nonGCB i GCB podtipovi nisu se razlikovali u postizanju CR (p=0.67) (tabela 64.).

Parametar	N (+)	CR% (+)	N (-)	CR% (-)	P value	CI %
Centroblast (+) vs Imunoblast (-)	49	76.51%	30	73.33%	0.9607	-17.094/ 25.288
nonGCB (+) vs GCB (-)	58	74.14%	24	66.67%	0.6782	-14.6/ 31.883

Tabela 64. Uticaj patohistoloških podtipova DLBCL na postizanje kompletne remisije

5.7.1.6. Uticaj ekstranodalne lokalizacije na postizanje kompletne remisije

Procenat postignutih kompletnih remisija nije se razlikovao kod bolesnika sa primarnom nodalnom odnosno ekstranodalnom lokalizacijom DLBCL (tabela 65.).

Parametar	N (+)	CR% (+)	N (-)	CR% (-)	P value	CI %
Nodal (+) vs Extranodal (-)	73	71.23%	59	77.97%	0.4964	-9.417/ 22.034

Tabela 65. Uticaj ekstranodalne lokalizacije na postizanje kompletne remisije

5.7.1.7. Uticaj ekspresije molekulaskih markera na postizanje kompletne remisije

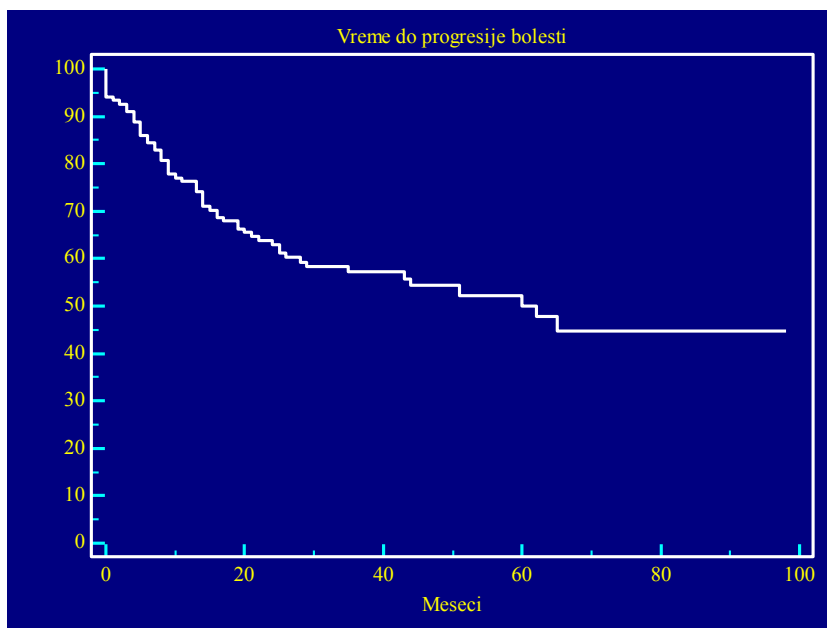
Molekulski markeri se nisu pokazali kao dobri prediktori postizanja dubine odgovora na lečenje. Nijedan od ispitivanih markera (tabela 66.) nije značajno uticao na stopu kompletne remisije kod naših bolesnika.

Parametar	N (+)	CR% (+)	N (-)	CR% (-)	P value	CI %
CD10	17	74.47%	68	70.59%	0.9868	-24.574/ 25.331
Bcl-6	46	69.57%	46	69.57%	1.000	-19.894/ 19.894
Bcl-2	43	72.09%	56	73.21%	0.9175	-17.344/ 20.314
CD30	10	80%	76	75%	0.9637	-31.786/ 25.789
CD5	7	85.71%	88	75%	0.8585	-33.721/ 28.074
CD43	15	80%	71	74.65%	0.9144	-24.329/ 24.919
BAFF-R	44	72.73%	18	78.78%	0.8610	-22.111/ 27.882
BCMA	17	88.24%	46	69.57%	0.2359	-9.078/ 37.132
VEGF-A	28	82.14%	34	67.65%	0.3144	-9.724/ 26.155
COX-2	41	78.05%	22	68.18%	0.5793	-13.956/ 35.584
TACI	46	76.09%	17	70.59%	0.9052	-18.694/ 34.362
Ki67 <70%	41	73.17%	54	72.22%	0.8970	-18.745/ 19.691

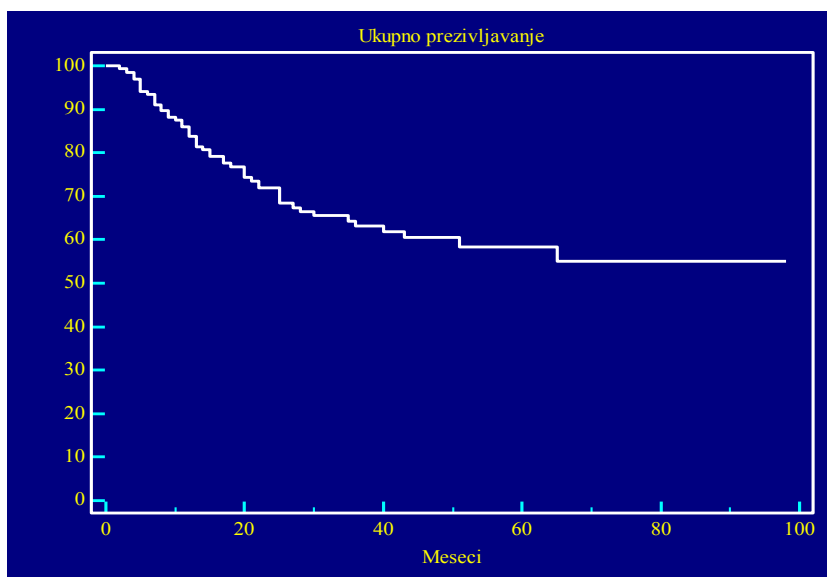
Tabela 66. Uticaj ekspresije molekularskih markera na postizanje kompletne remisije

5.7.2. Vreme do progresije bolesti i ukupno preživljavanje bolesnika

Trogodišnje vreme do progresije kod naših bolesnika iznosilo je 56.5%, medijana PFS 62 meseca dok je trogodišnje ukupno preživljavanje 64 %, medijana nije dostignuta (NR) (Grafikoni 11. i 12.).



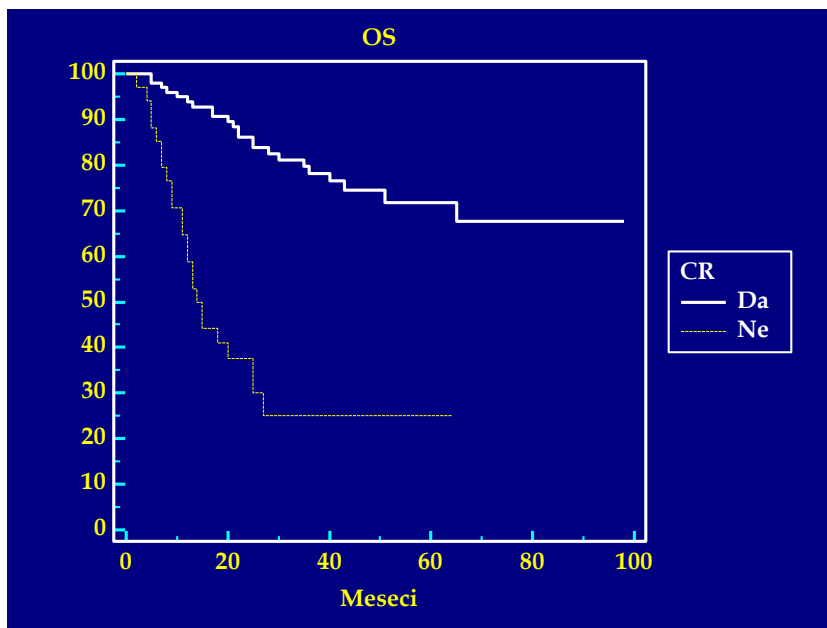
Grafikon 11. Vreme do progresije bolesti



Grafiko 12. Ukupno preživljavanje

5.7.2.1. Uticaj dubine odgovora na ukupno preživljavanje

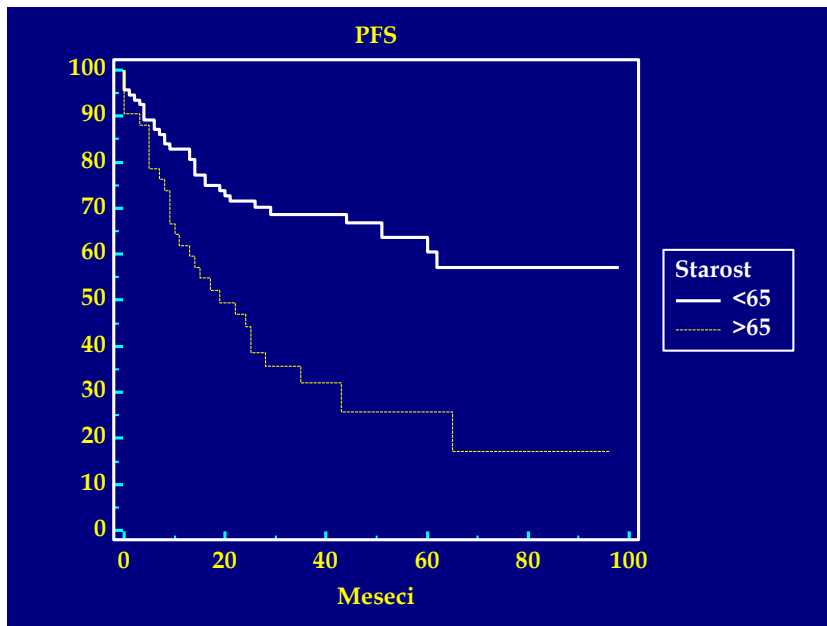
Uticaj dubine odgovora smo prikazali kao razliku u preživljavanju bolesnika kod kojih je postignuta kompletna remisija u odnosu na one kod kojih nije. Kompletna remisija se pokazala kao dobar prediktor dužeg ukupnog preživljavanja bolesnika (3 god-78.12% vs 25%; medijana NR vs 14 meseci HR 0.4030 $p < 0.0001$) (Grafikon 13.).



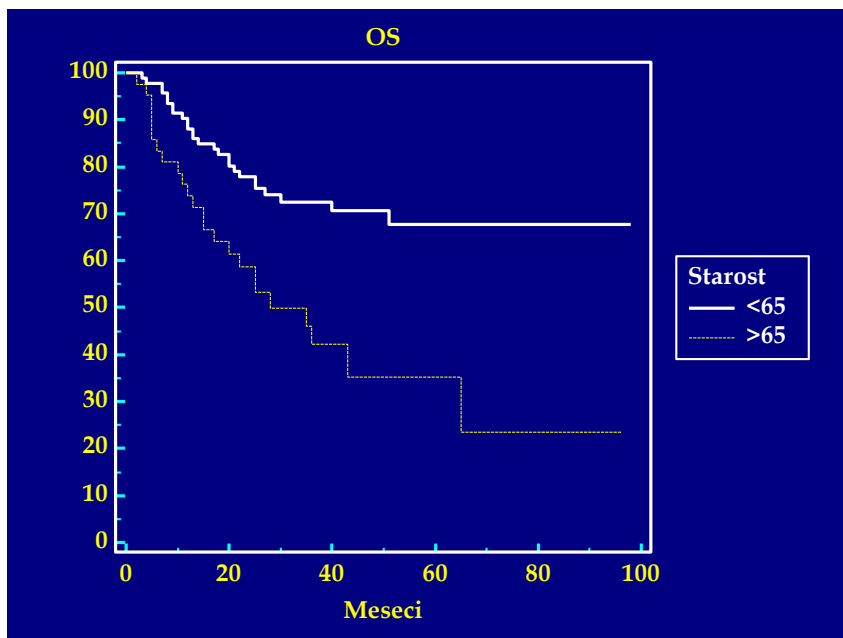
Grafikon 13. Uticaj kompletne remisije na dužinu preživljavanja

5.7.2.2. Uticaj starosti bolesnika na PFS i OS

Bolesnici mlađi od 65 godina imali su duže trogodišnje preživljavanje bez progresije bolesti (68.81% vs 32.08%; medijana NR vs 19 meseci; HR 0.6872; $p = 0.0001$) i trogodišnje OS (72.57% vs 42.48%; medijana NR vs 28 meseci; HR 0.7235; $p = 0.0004$) u odnosu na bolesnike starije od 65 godina (Grafikoni 14. i 15.).



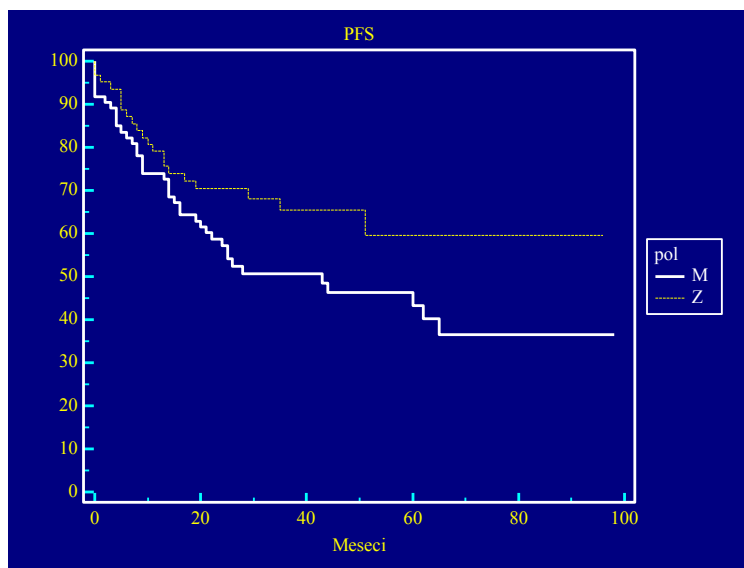
Grafikon 14. Uticaj starosti bolesnika na PFS



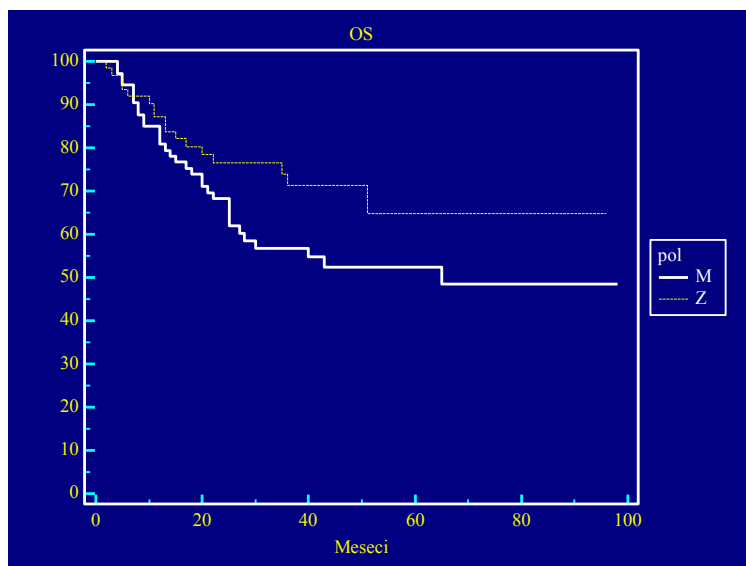
Grafikon 15. Uticaj starosti bolesnika na OS

5.7.2.3. Uticaj pola bolesnika na PFS i OS

Bolesnici muškog pola u našoj grupi bolesnika imaju kraći PFS (3god 50.90% vs 65.51%; medijana 43 meseca vs NR; HR 0.6071; p=0.0586) i statistički granično kraći OS (3 god 56.78% vs 71.23%; medijana 43 meseca vs NR; HR 0.6104; p=0.0921)(Grafikoni 16. i 17.).



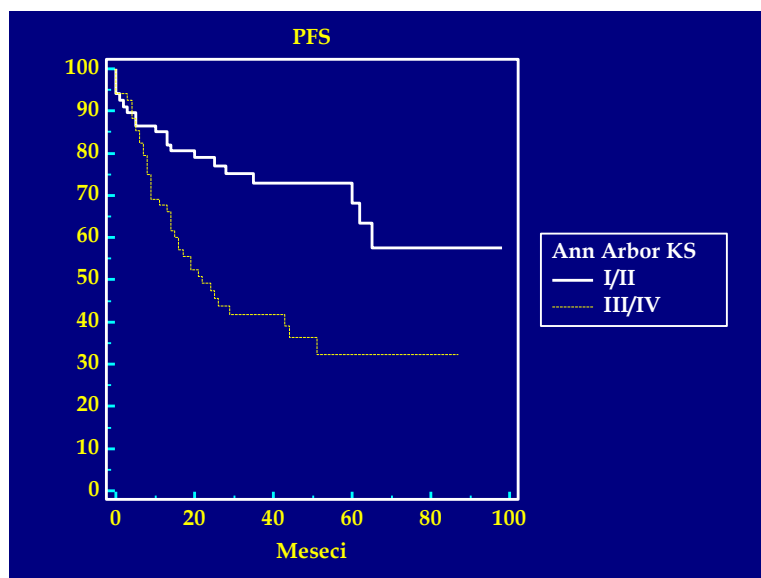
Grafikon 16. Uticaj pola bolesnika na PFS



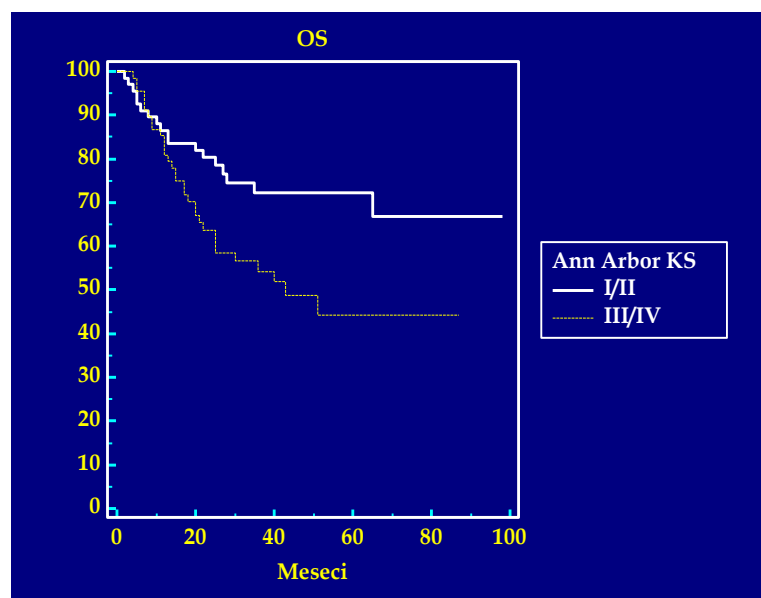
Grafikon 17. Uticaj pola bolesnika na OS

5.7.2.4. Uticaj Ann Arbor stadijuma bolesti i prisustva B simptoma na PFS i OS

Bolesnici sa Ann Arbor stadijumom I/II imaju duži PFS (3 god 72.79% vs 41.81%; medijana NR vs 22 meseca; HR 0.3986; $p=0.0004$) i OS (3 god 72.35% vs 56.64%; medijana NR vs 22 meseca; HR 0.5097; $p=0.0186$) (Grafikoni 18. i 19.).

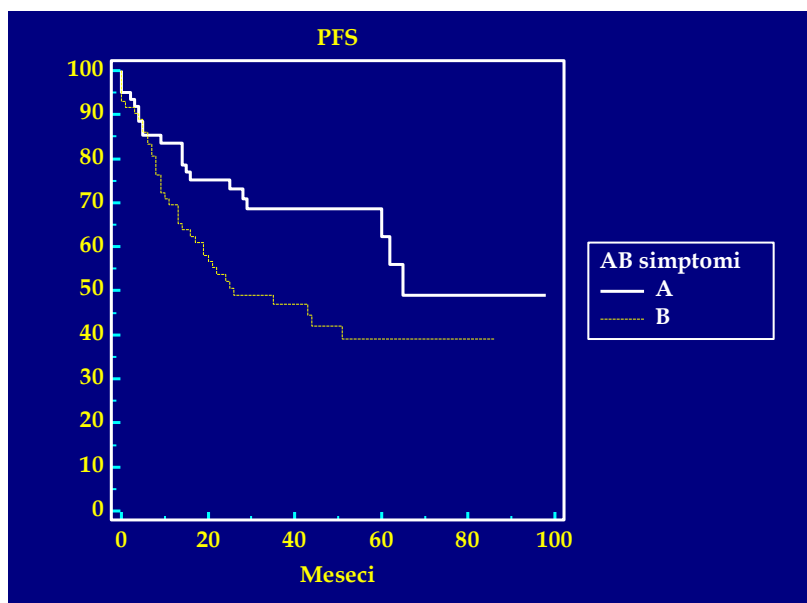


Grafikon 18. Uticaj Ann Arbor KS na PFS

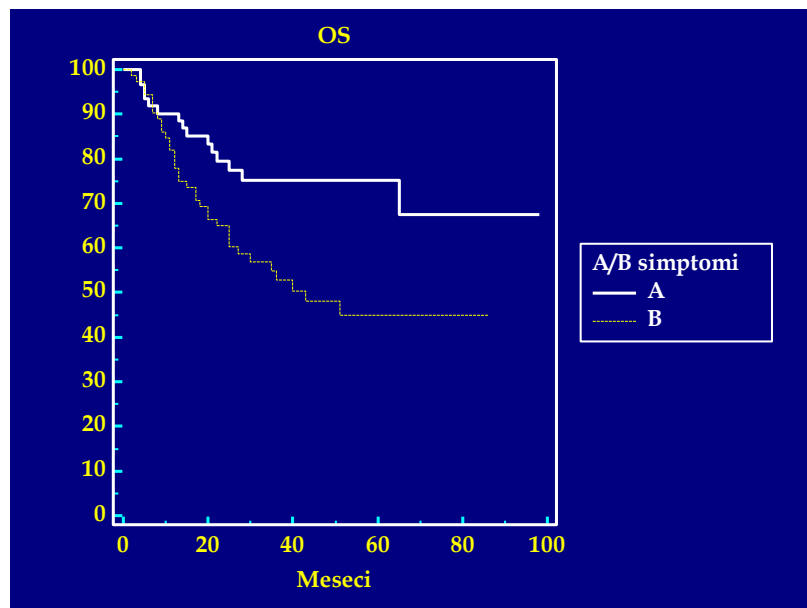


Grafikon 19. Uticaj Ann Arbor KS na OS

Bolesnici sa B simptomima imaju kraći PFS (A 3-god 68.81%, medijana 65 meseci; B 3-god 46.90%, medijana 26 meseci; HR 0.5560; p=0.0256) i OS (A 3-god 75.22%, medijana NR; B 3-god 52.88%, medijana 43 meseca; HR 0.4657; p=0.0106) (Grafikoni 20. i 21.).



Grafikon 20. Uticaj prisustva B simptoma na PFS



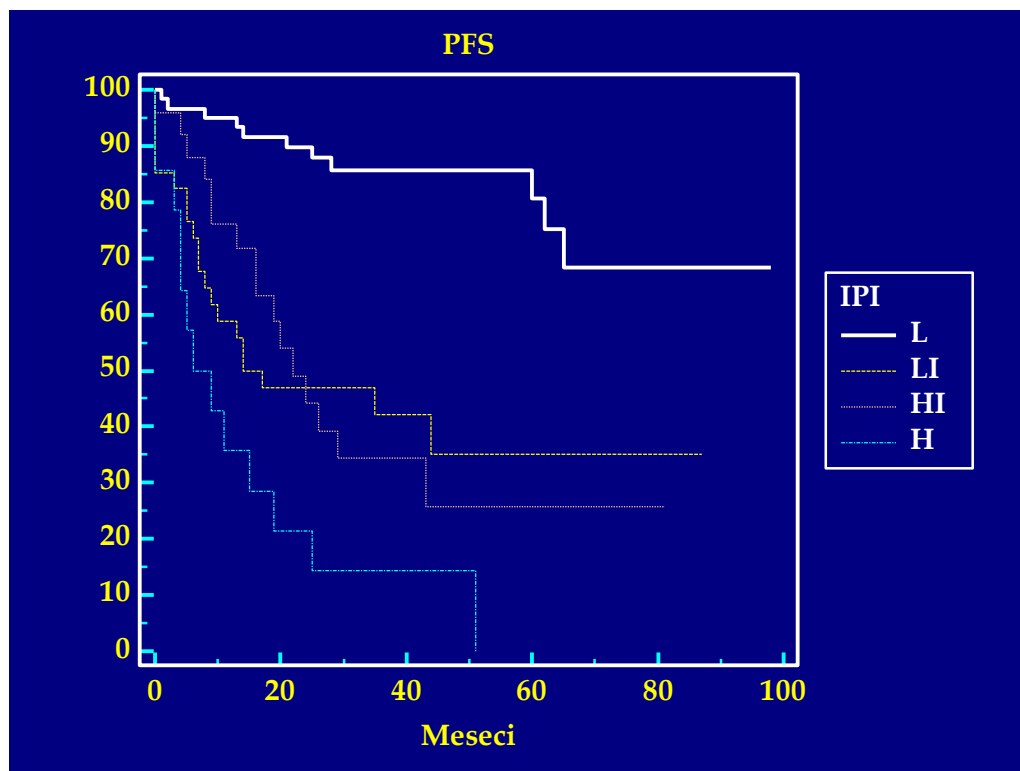
Grafikon 21. Uticaj prisustva B simptoma na OS

5.7.2.5. Uticaj IPI skora na PFS i OS

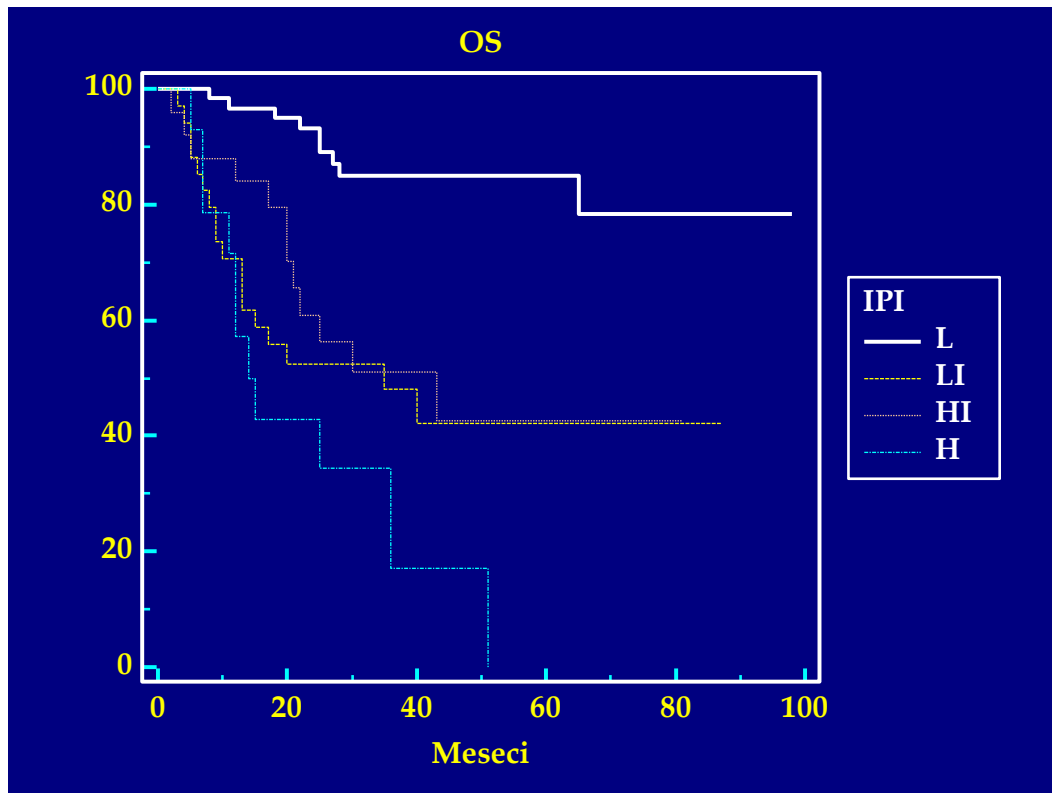
IPI skor je jedan od najboljih prediktora PFS i OS. I u našoj grupi bolesnika IPI je davao dobru predikciju koje grupe bolesnika će imati dugotrajno prživljavanje. U tabeli 67. su data trogodišnja peživljavanja i medijane preživljavanja po grupama IPI skora ($p < 0.0001$ za PFS i OS) (Grafikoni 22. i 23.).

IPI skor	L	LI	HI	H
3 god PFS	85.71%	42.19%	34.60%	14.29%
Medijana PFS	NR	14 m	22 m	7.5 m
3 god OS	86%	47.99%	51.12%	17.19%
Medijana OS	NR	35 m	43 m	14.5 m

Tabela 67. Dužina PFS i OS u odnosu na grupu rizika prema IPI skoru



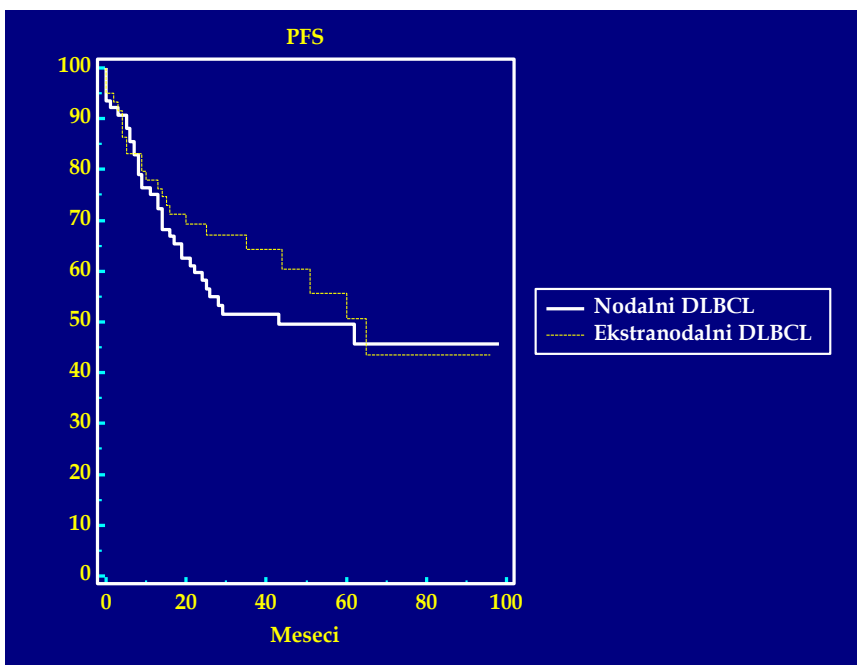
Grafikon 22. Uticaj IPI skora na PFS



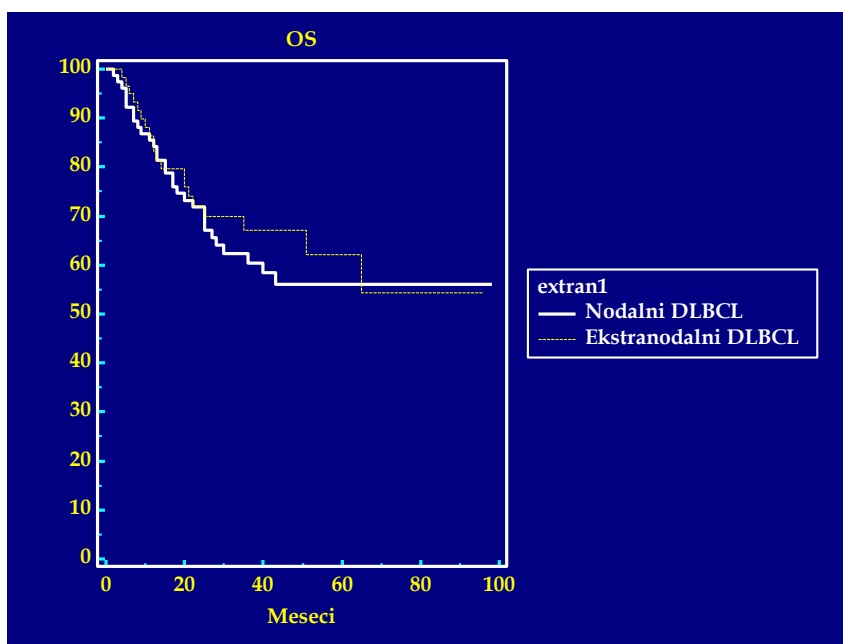
Grafikon 23. Uticaj IPI skora na OS

5.7.2.6. Uticaj ekstranodalne lokalizacije na PFS i OS

Primarno ekstranodalna lokalizacija nije uticala na PFS (Ekstranod. 3-god 64.32%; medijana 65 vs Nodal 51.71%; 46 meseci; HR 0.8056; p=0.4026) ni na OS (Extranod. 3-god 67.09%; medijana NR; Nodal 60.47%; medijana NR; HR 0.8610; p=0.6014) (Grafikoni 24. i 25.).



Grafikon 24. Uticaj ekstranodalne lokalizacije na PFS

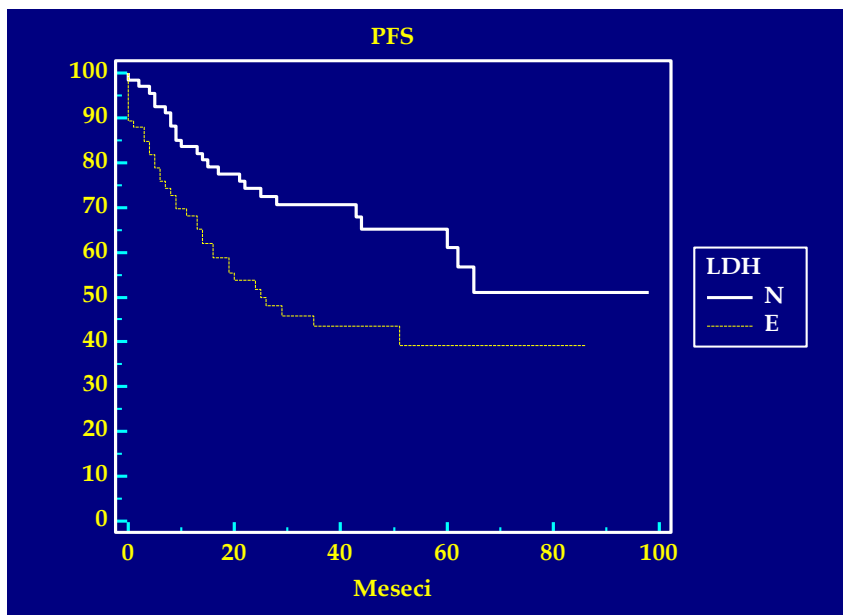


Grafikon 25. Uticaj ekstranodalne lokalizacije na OS

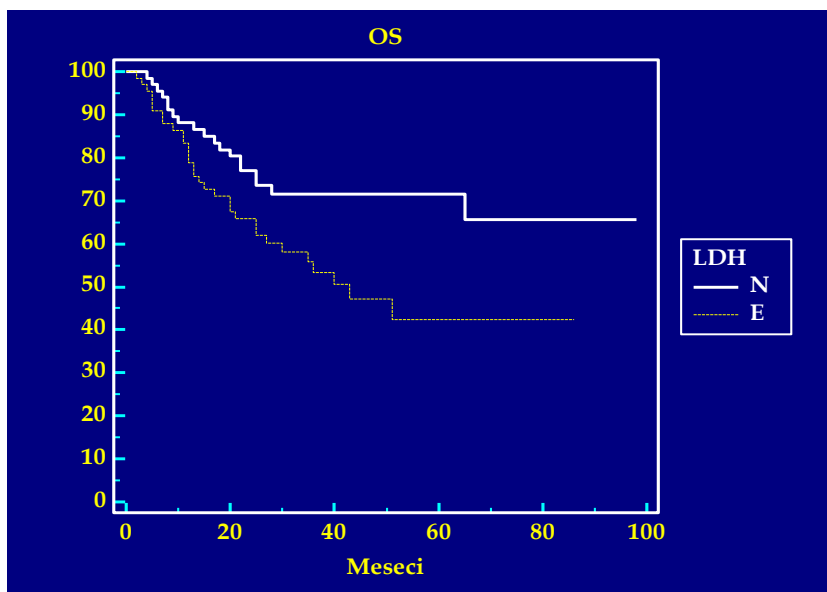
5.7.2.7. Uticaj laboratorijskih parametara na PFS i OS

5.7.2.7.1. Uticaj nivoa laktat dehidrogenaze (LDH) na PFS i OS

Bolesnici sa povišenim nivoom LDH u serumu pre početka lečenja imali su kraći PFS (3-god 43.75% vs 71.65%; medijana 25 meseci vs NR; HR 0.5163; $p=0.0097$) i OS (3-god 53.35% vs 71.65%; medijana 43 meseca vs NR; HR 0.5201; $p=0.0212$) (Grafikoni 26. i 27.).



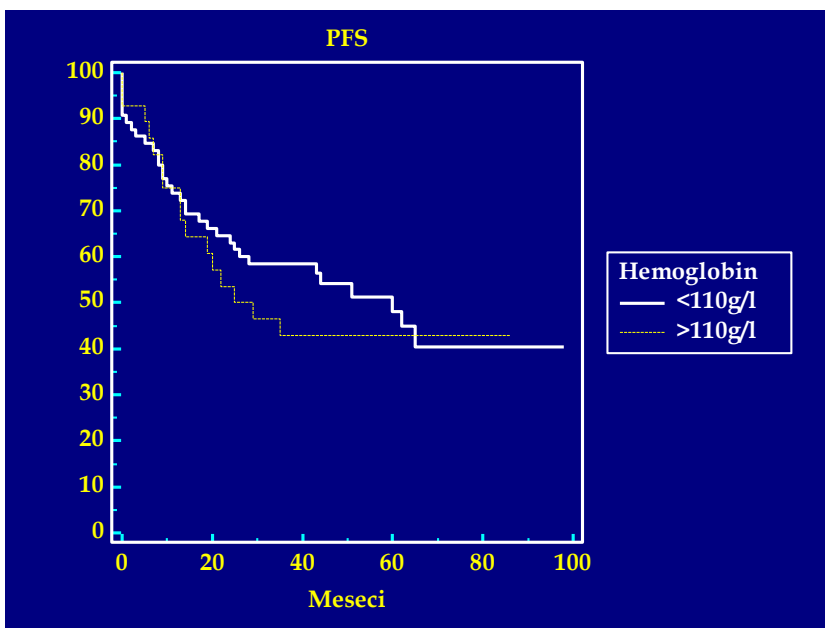
Grafikon 26. Uticaj nivoa LDH na PFS



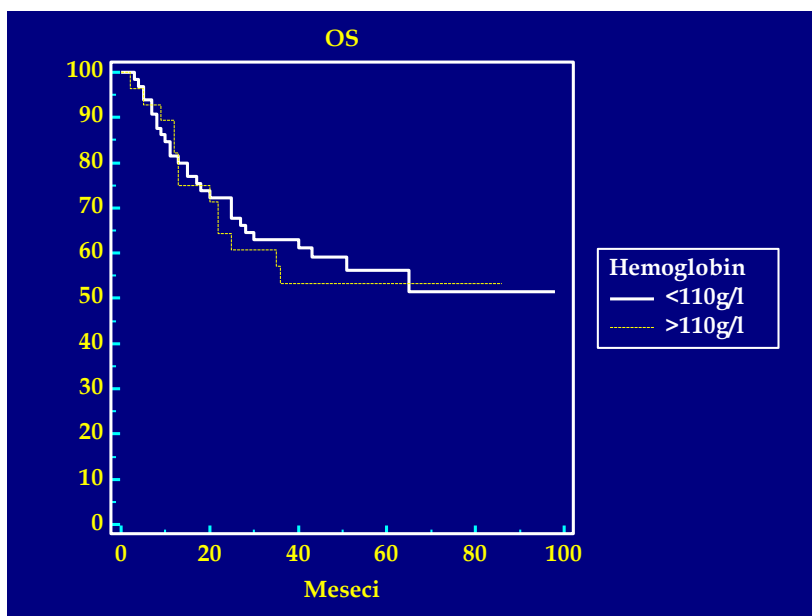
Grafikon 27. Uticaj nivoa LDH na OS

5.7.2.7.2. Uticaj nivoa hemoglobina (anemije) na PFS i OS

Nivo hemoglobina $\leq 110\text{g/l}$, odnosno prisustvo anemije pre započinjanja lečenja, nije značajno uticalo na PFS (Hgb $\leq 110\text{g/l}$ 3-god 43.25%, medijana 29 meseci; Hgb $> 110\text{g/l}$ 3-god 57.75%, medijana 60 meseci; HR 0.8709; $p=0.6456$) ni na OS (Hgb $\leq 110\text{g/l}$ 3-god 52.75%, medijana NR; Hgb $> 110\text{g/l}$ 3-god 63.24%, medijana NR; HR 0.9139; $p=0.7870$)(Grafikoni 28. i 29.).



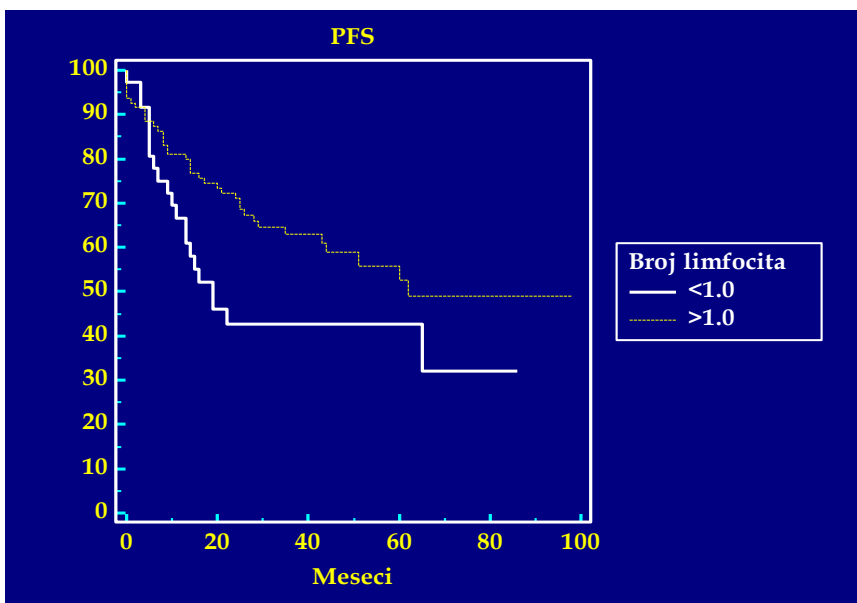
Grafikon 28. Uticaj anemije na PFS



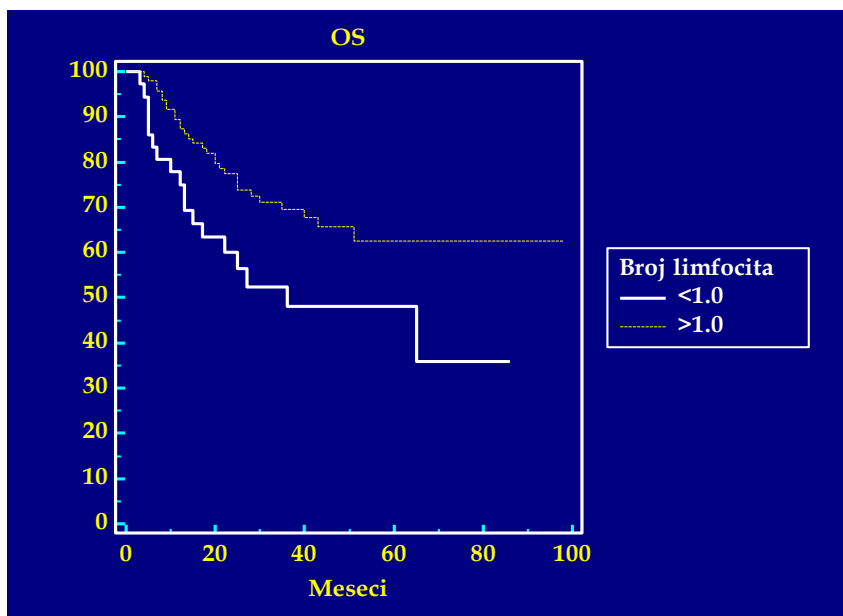
Grafikon 29. Uticaj anemije na OS

5.7.2.7.3. Uticaj apsolutnog broja limfocita na PFS i OS

Bolesnici koji imaju broj limfocita $\leq 1,0 \times 10^9/l$ imaju kraći PFS (3-god 42.70% vs 62.83%; medijana 19 meseci vs 62 meseca; HR 0.5692; $p=0.0336$) i OS (3-god 48.01% vs 69.47%; medijana 36 meseci vs NR; HR 0.5047; $p=0.0185$) u odnosu na bolesnike koji imaju apsolutni broj limfocita veći od tog broja (Grafikoni 30. i 31.).



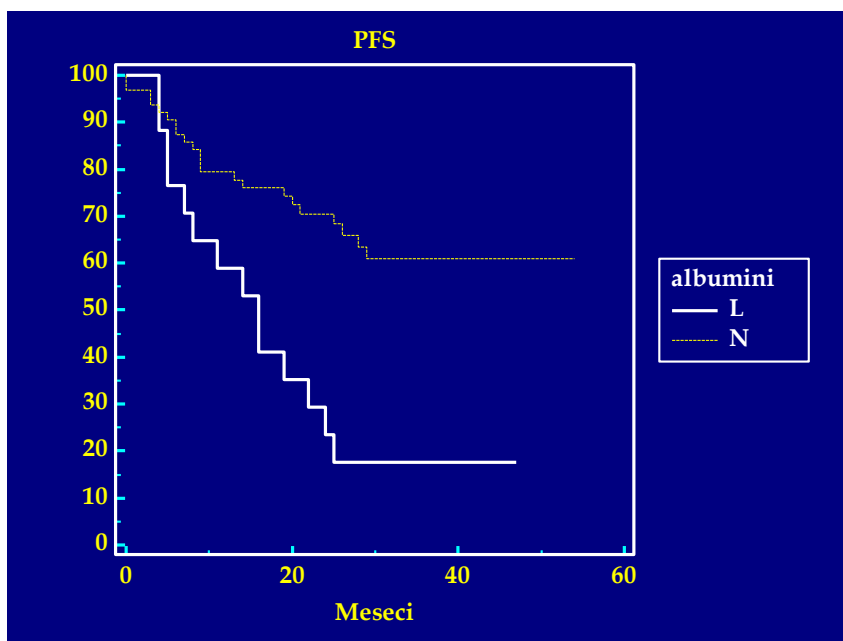
Grafikon 30. Uticaj apsolutnog broja limfocita na PFS



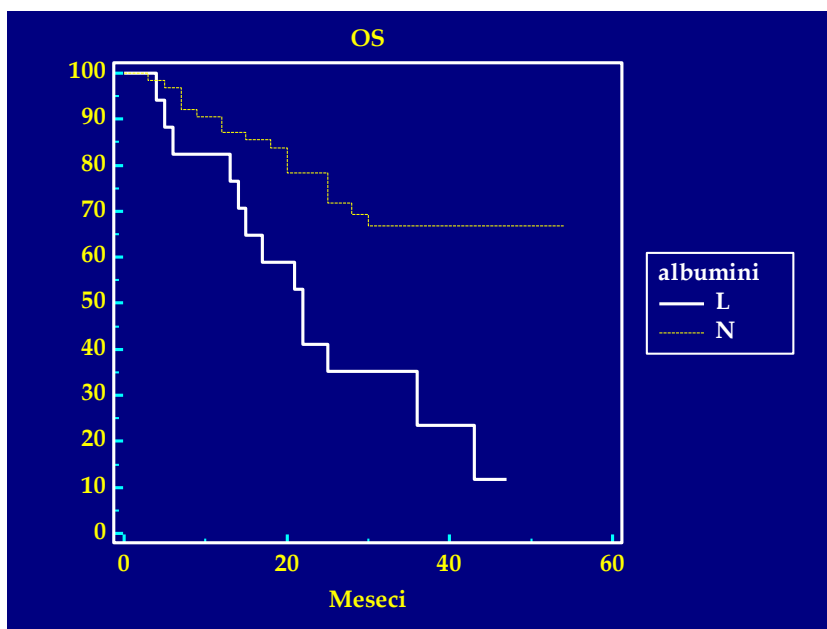
Grafikon 31. Uticaj apsolutnog broja limfocita na OS

5.7.2.7.4. Uticaj nivoa albumina na PFS i OS

Bolesnici sa nivoom albumina nižim od normalnog imali su kraće PFS (3-god 18.63% vs 61.06%; medijana 16 meseci vs NR; HR 0.3227; $p=0.0004$) i OS (3-god 23.45% vs 66.81%; medijana 22 meseca vs NR; HR 0.3053; $p=0.0005$) u odnosu na bolesnike sa normalnim nivoom albumina merenim pre započinjanja lečenja (Grafikoni 32. i 33.).



Grafikon 32. Uticaj nivoa albumina na PFS

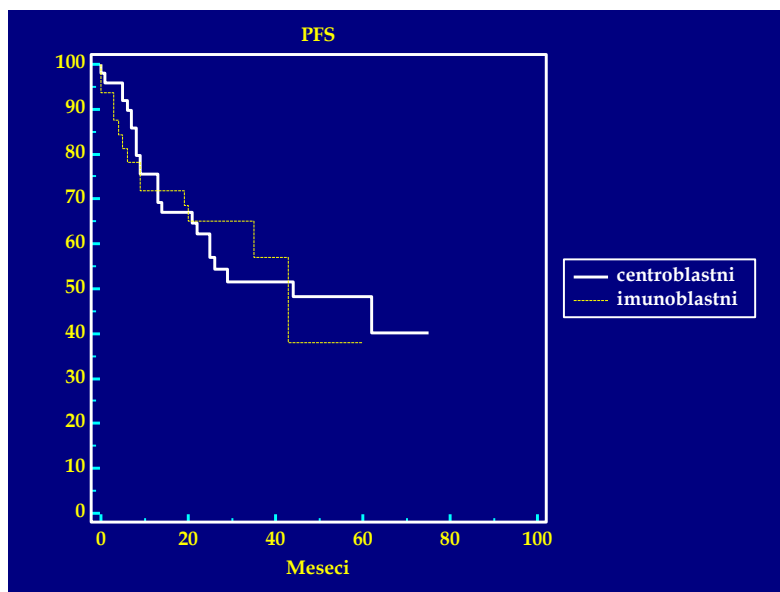


Grafikon 33. Uticaj nivoa albumina na OS

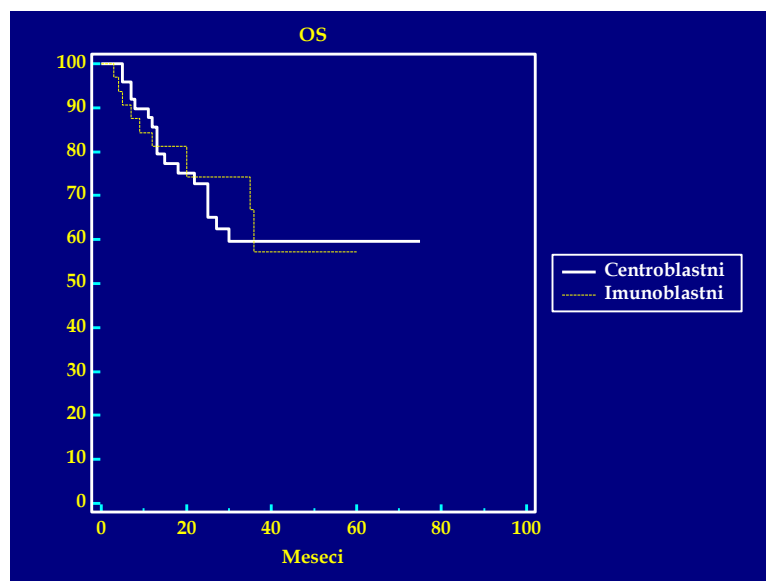
5.7.2.8. Uticaj patohistoloških podtipova DLBCL na PFS i OS

5.7.2.8.1. Uticaj morfološkog podtipa na PFS i OS

Morfološka podela na centroblastni i imunoblastni podtip nije uticala na PFS (Centrob. 3-god 51.51%, medijana 44 meseca; Imunob. 3-god 56.90%, medijana 43 meseca; HR 0.9602; $p=0.9038$) i OS (centrob. 3-god 51.90%, medijana NR; imunob. 3-god, medijana NR; HR 0.8974; $p=0.7815$)(Grafikoni 34.i 35.).



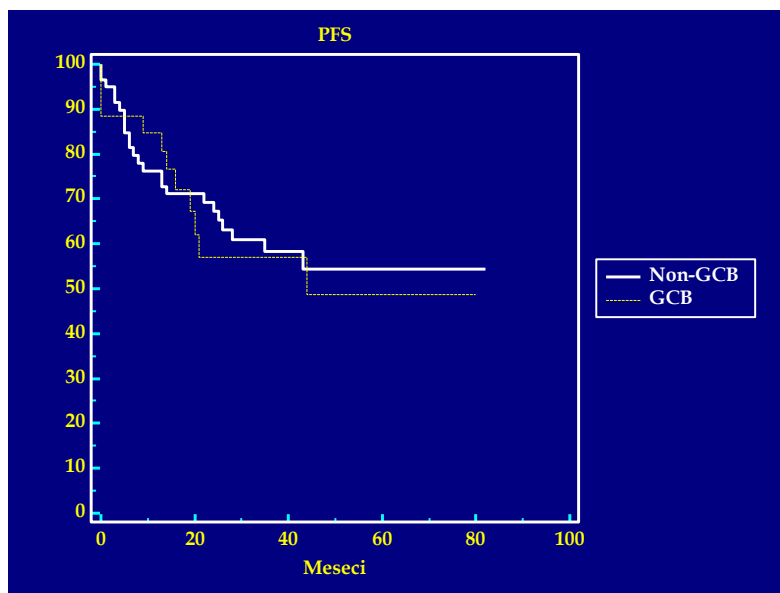
Grafikon 34. Uticaj morfološkog podtipa na PFS



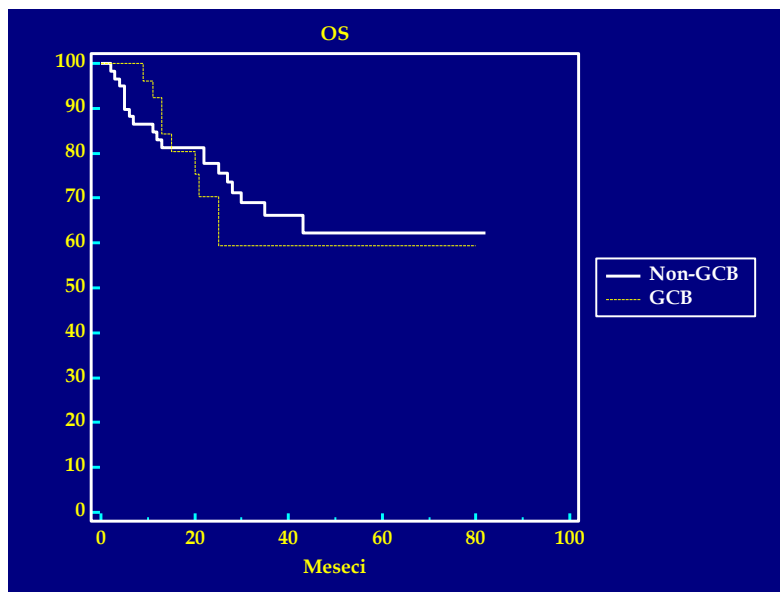
Grafikon 35. Uticaj morfološkog podtipa na OS

5.7.2.8.2. Uticaj GCB/nonGCB podtipa na PFS i OS

Podela na GCB/nonGCB podtipove DLBCL prema Hans metodi (55) nije značajno uticala na PFS (nonGCB 3-god 58.19%, medijana NR; GCB 3-god 56.90%, medijana 44 meseca; HR 0.9115; $p=0.7971$) i OS (nonGCB 3-god 66.16%, medijana NR; GCB 3-god 59.48%, medijana NR; HR 0.8708; $p=0.7299$) (Grafikoni 36. i 37.).



Grafikon 36. Uticaj GCB/nonGCB podtipa na PFS

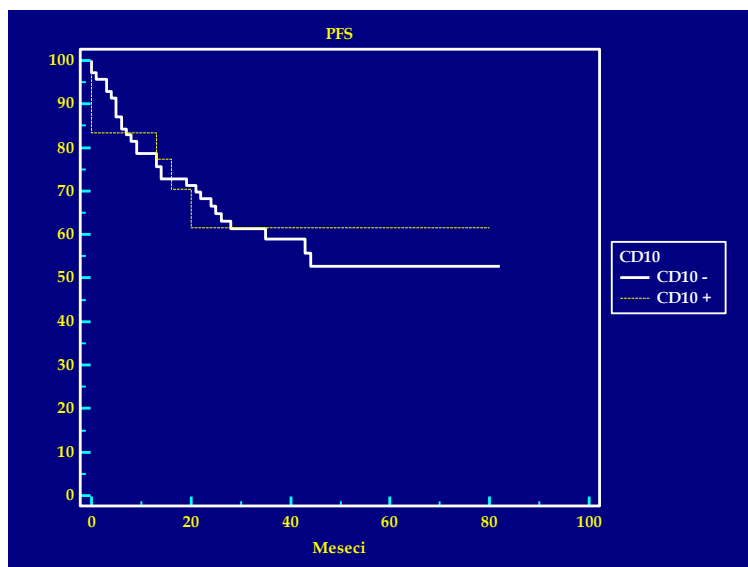


Grafikon 37. Uticaj GCB/nonGCB podtipa na OS

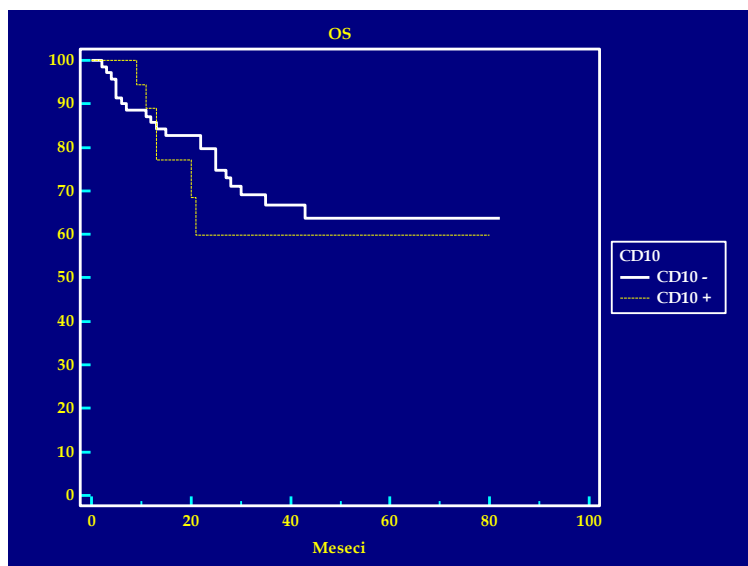
5.7.2.9. Uticaj ekspresije molekulaskih markera na PFS i OS

5.7.2.9.1. Uticaj ekspresije CD10 na PFS i OS

Ekspresija CD10 nije uticala na PFS (CD10- 3-god 58.79%, medijana NR; CD10+ 3-god 61.51%, medijana NR; HR 0.9292; p=0.8687) i OS (CD10- 3-god 66.74%, medijana NR; CD10+ 3-god 59.83%, medijana NR; HR 0.7745; p=0.5736) (Grafikoni 38. i 39.).



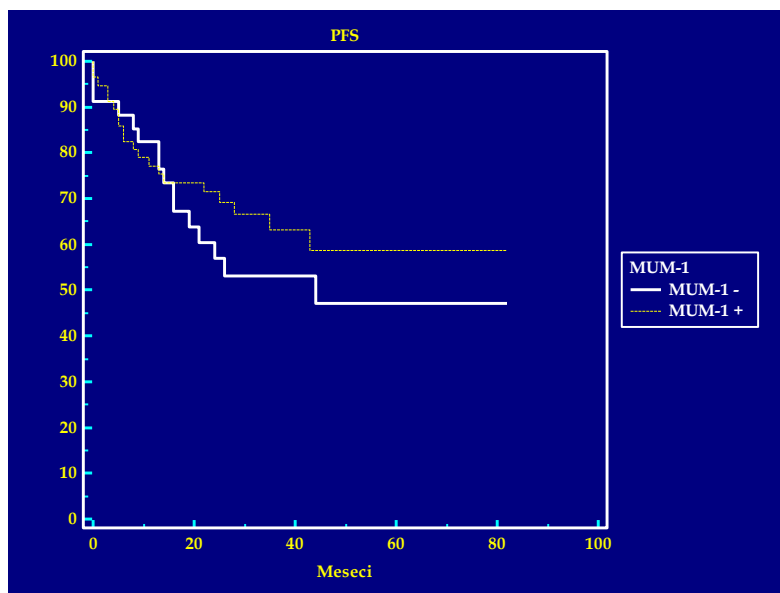
Grafikon 38. Uticaj ekspresije CD10 na PFS



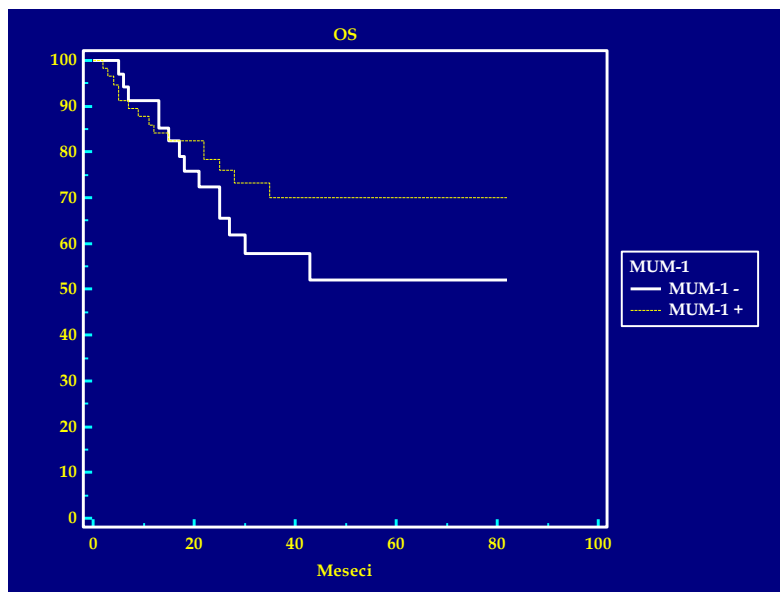
Grafikon 39. Uticaj ekspresije CD10 na OS

5.7.2.9.2. Uticaj ekspresije MUM-1 na PFS i OS

Ekspresija MUM-1 nije uticala na PFS (MUM-1- 3-god 52.90%, medijana 44 meseca; MUM-1+ 3-god 63.28%, medijana NR; HR 0.7459; p=0.3764) i OS (MUM-1- 3-god 57.68%, medijana NR; MUM-1+ 3-god 69.92%, medijana NR; HR 0.6549; p=0.2486) (Grafikon 40. i 41.).



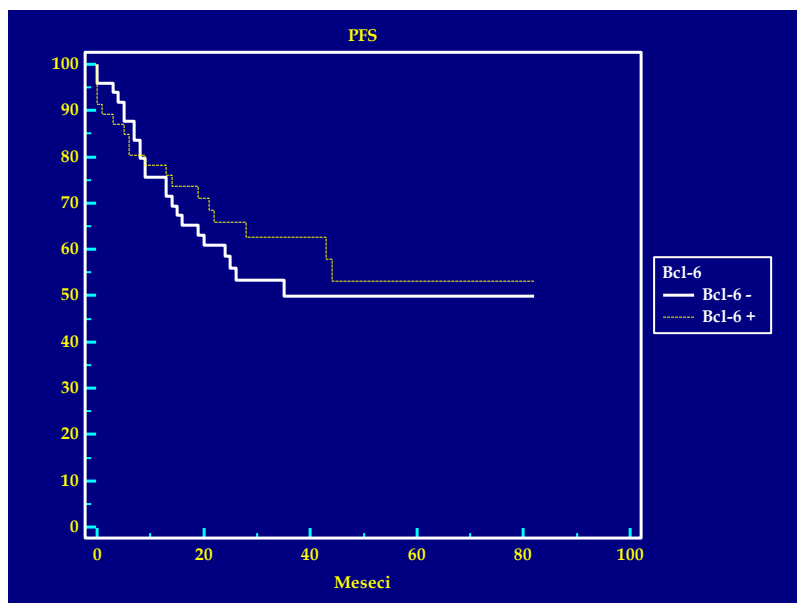
Grafikon 40. Uticaj ekspresije MUM-1 na PFS



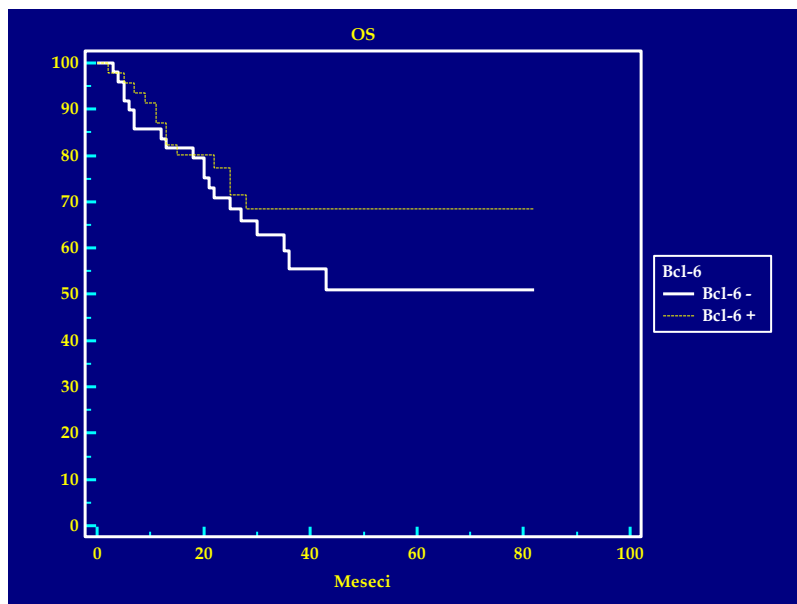
Grafikon 41. Uticaj ekspresije MUM-1 na OS

5.7.2.9.3. Uticaj ekspresije Bcl-6 na PFS i OS

Ekspresija Bcl-6 ne utiče na PFS (Bcl-6- 3-god 49.58%, medijana 35 meseci; Bcl-6+ 3-god 62.76%, medijana NR; HR 0.8283; p=0.5451) i OS (Bcl-6- 3-god 55.65%, medijana NR; Bcl-6+ 3-god 68.41%, medijana NR; HR 0.6917; p=0.2947) (Grafikoni 42. i 43.).



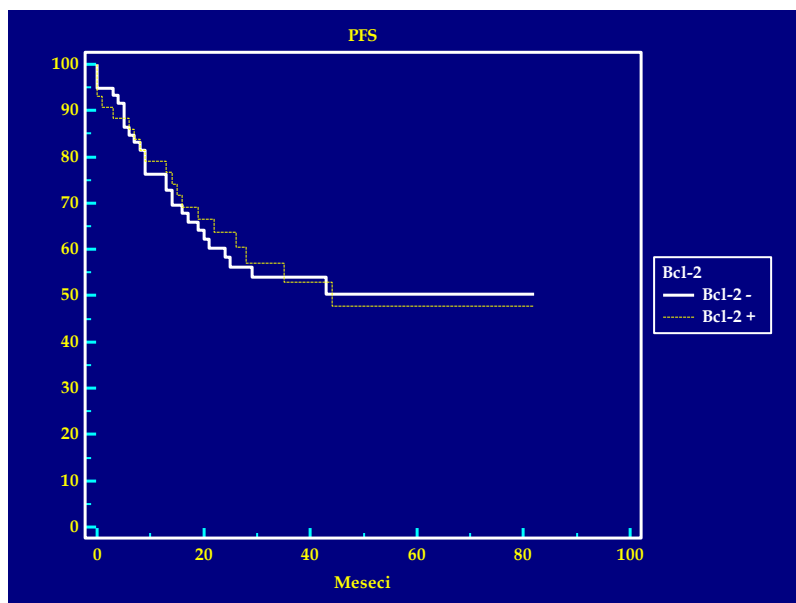
Grafikon 42. Uticaj ekspresije Bcl-6 na PFS



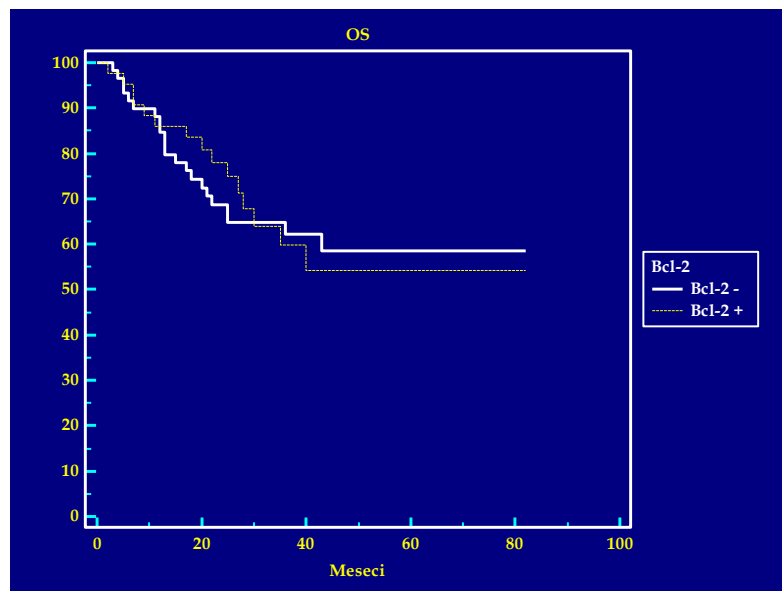
Grafikon 43. Uticaj ekspresije Bcl-6 na OS

5.7.2.9.4. Uticaj ekspresije Bcl-2 na PFS i OS

Ekspresija Bcl-2 nije uticala na PFS (Bcl-2- 3-god 53.97%, medijana NR; Bcl-2+ 3-god 52.93%, medijana 44 meseca; HR 0.9798, p=0.9452) i OS (Bcl-2- 3-god 62.34%, medijana NR; Bcl-2+ 3-god 59.62%, medijana NR; HR 0.9621, p=0.9076) (Grafikoni 44. i 45.).



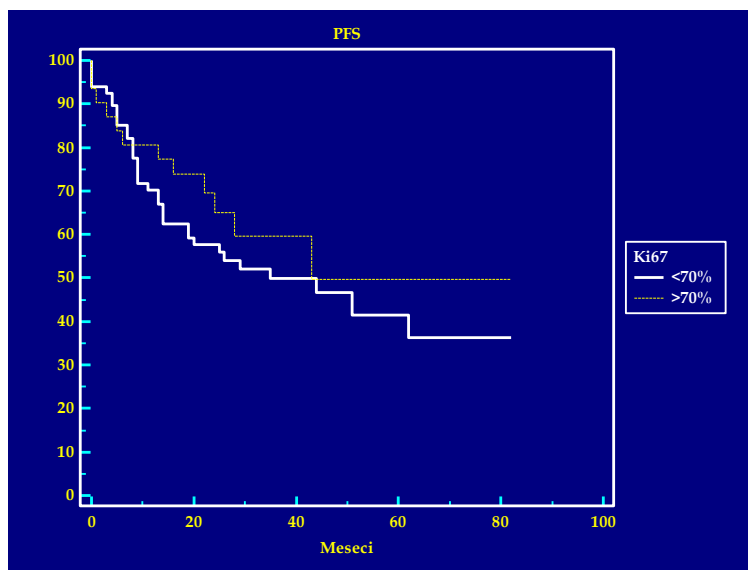
Grafikon 44. Uticaj ekspresije Bcl-2 na PFS



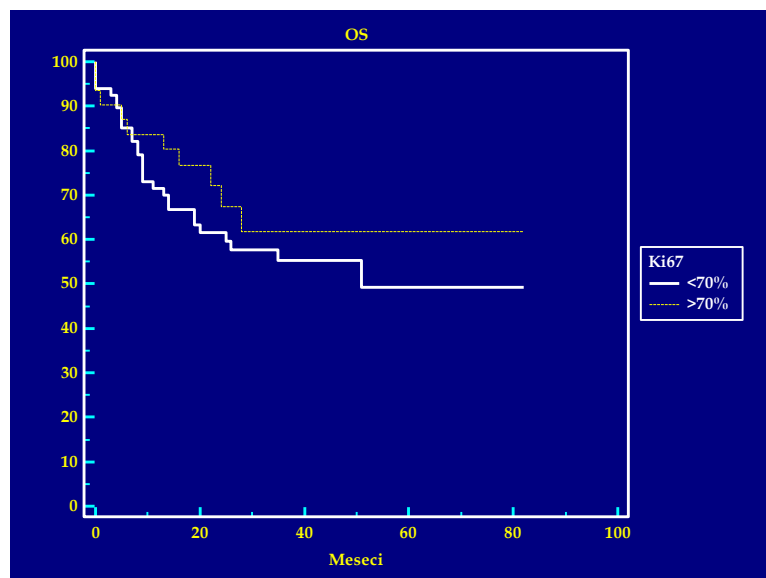
Grafikon 45. Uticaj ekspresije Bcl-2 na OS

5.7.2.9.5. Uticaj procenta ekspresije Ki67 na PFS i OS

Ispitali smo uticaj ekspresije Ki67 $\leq 70\%$ u odnosu na ekspresiju $>70\%$. Nije bilo uticaja na PFS ($\leq 70\%$ 3-god 49.79%, medijana 35 meseci; $>70\%$ 59.21%, medijana 43 meseca; HR 0.7407; $p=3620$) i OS ($\leq 70\%$ 3-god 55.23%, medijana 51 mesec; $>70\%$ 61.72%, medijana NR; HR 0.7379; $p=0.400$) (Grafikoni 46. i 47.).



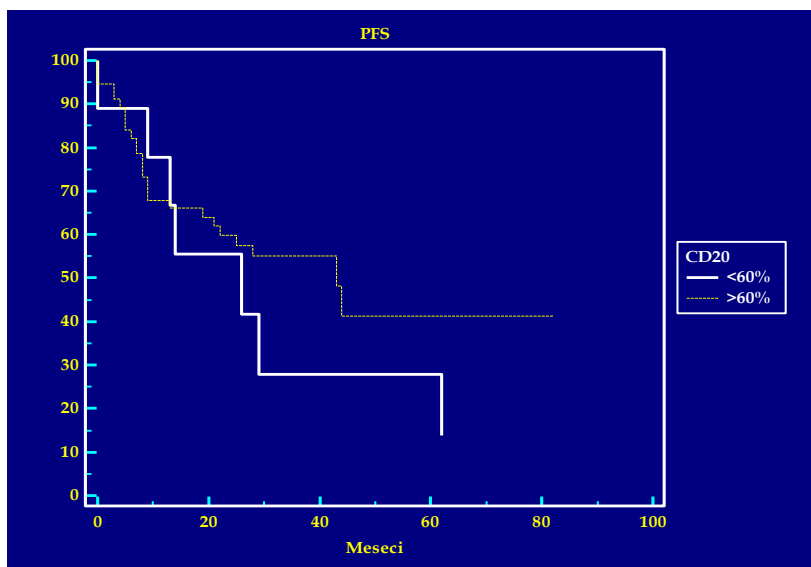
Grafikon 46. Uticaj Ki67 ekspresije na PFS



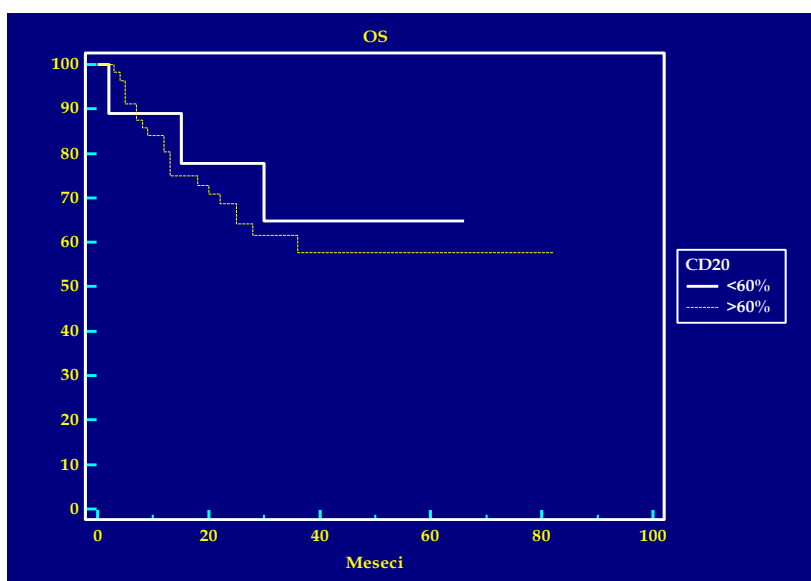
Grafikon 47. Uticaj Ki67 ekspresije na OS

5.7.2.9.6. Uticaj procenta ekspresije CD20 na PFS i OS

Ispitali smo uticaj procenta ćelija DLBCL pozitivnih na CD20. Grupe smo podelili na grupu koja eksprimira CD20 na $\leq 60\%$ ćelija i grupu koja eksprimira CD20 na $>60\%$ ćelija. Iako nije bilo statistički značajne razlike postoji tendencija ka kraćem PFS kod grupe sa nižom ekspresijom CD20. PFS ($\leq 60\%$ 3-god 27.82%, medijana 26 meseci; $>60\%$ 3-god 55.23%, medijana 43 meseca; HR 0.6780; $p=0.3485$), OS ($\leq 60\%$ 3-god 64.64%, medijana NR; $>60\%$ 3-god 57.53%, medijana NR; HR 0.7882; $p=0.6963$) (Grafikoni 48. i 49.).



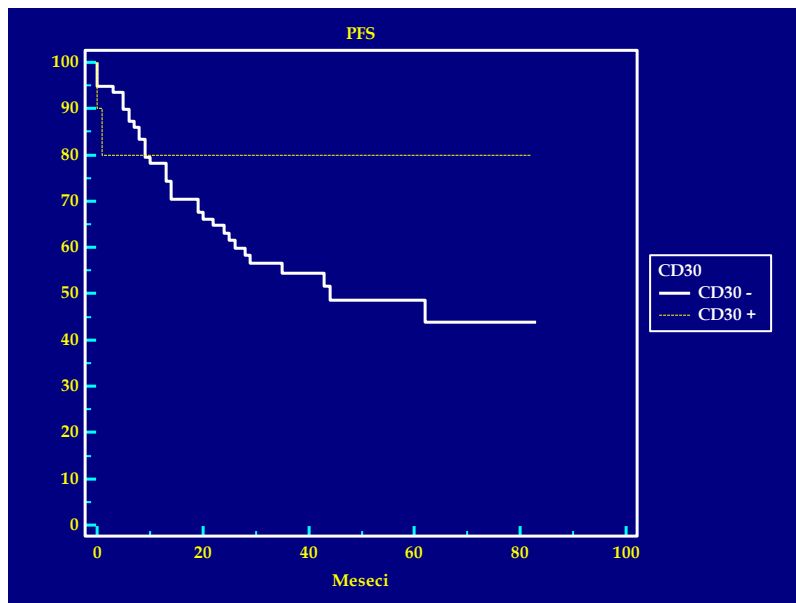
Grafikon 48. Uticaj procenta ekspresije CD20 na PFS



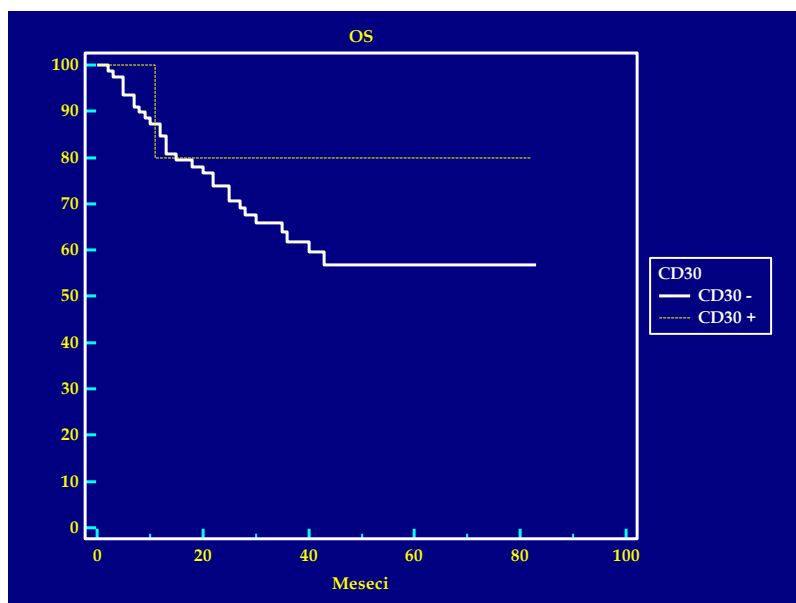
Grafikon 49. Uticaj procenta ekspresije CD20 na OS

5.7.2.9.7. Uticaj ekspresije CD30 na PFS i OS

I pored vidljive tendencije ka dužem PFS i OS kod bolesnika sa CD30+ DLBCL, mali broj ovih bolesnika je doprineo rezultatu koji nije statistički značajan. PFS (CD30- 3-god 54.39%, medijana 44 meseca; CD30+ 3-god 79.92%, medijana NR; HR 0.3750; p=0.1543), OS (CD30- 3-god 61.32%, medijana NR; CD30+ 3-god 79.92%, medijana NR; HR 0.4591; p=0.2713) Grafikoni 50. i 51.).



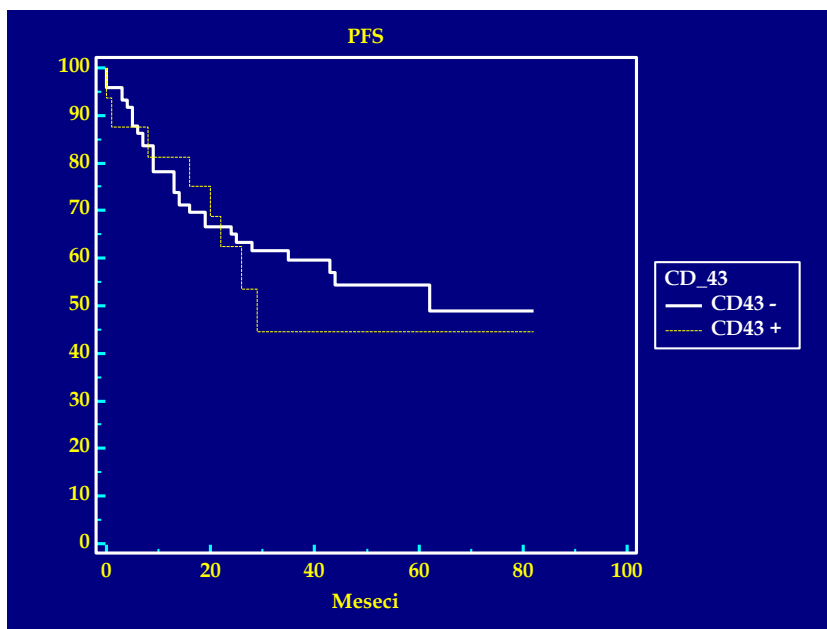
Grafikon 50. Uticaj ekspresije CD30 na PFS



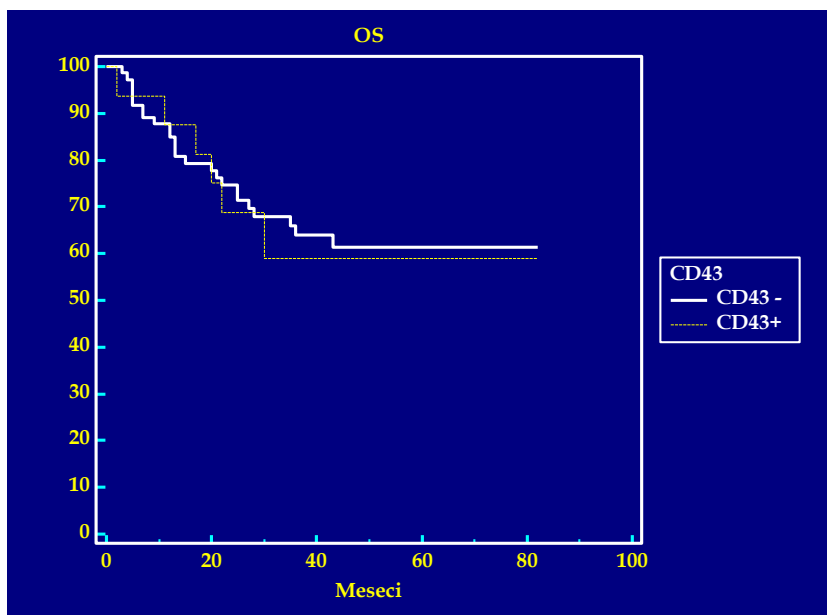
Grafikon 51. Uticaj ekspresije CD30 na OS

5.7.2.9.8. Uticaj ekspresije CD43 na PFS i OS

Ekspresija CD43 nije uticala na PFS (CD43- 3-god 59.48%, medijana 62 meseca; CD43+ 3-god 44.61%, medijana 29 meseci; HR 0.8247, p=0.6229) i OS (CD43- 3-god 63.79%, medijana NR; CD43+ 3-god 58.84%, medijana NR; HR 0.8745, p=0.7659) (Grafikoni 52. i 53.).



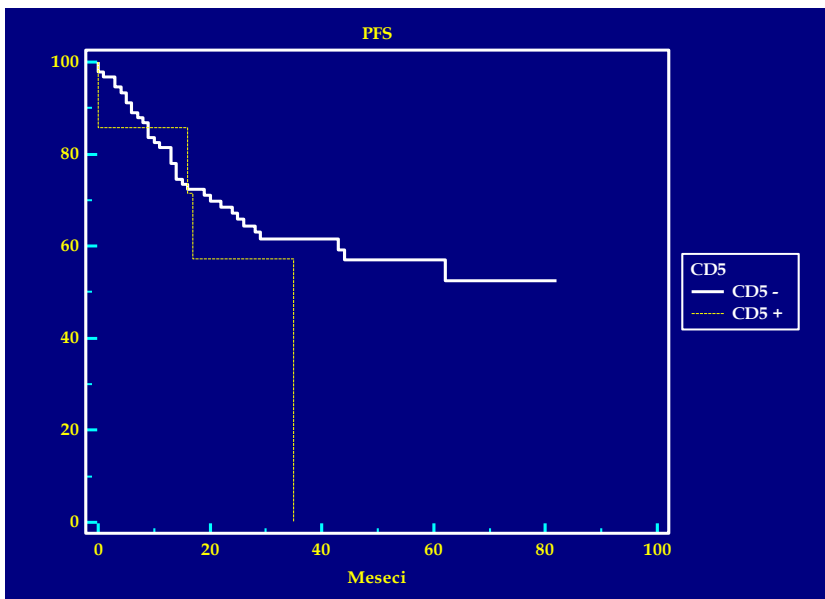
Grafikon 52. Uticaj ekspresije CD43 na PFS



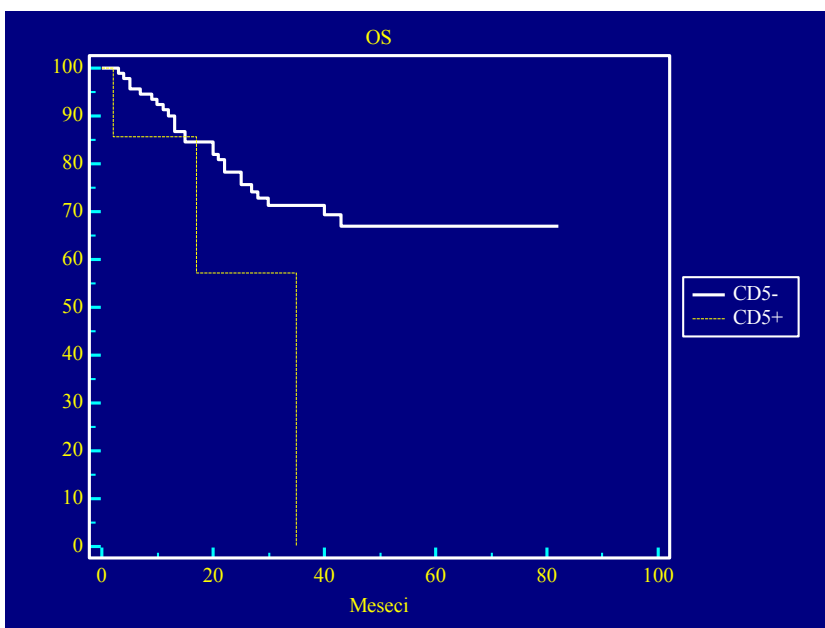
Grafikon 53. Uticaj ekspresije CD43 na OS

5.7.2.9.9. Uticaj ekspresije CD5 na PFS i OS

Bolesnici sa CD5+ DLBCL imali su tendenciju ka kraćem PFS (CD5- 3-god 61.75%, medijana NR; CD5+ 3-god 0%, medijana 35 meseci; HR 0.5835; p=0.2959) i statistički značajno kraći OS (CD5- 3-god 71.62%, medijana NR; CD5+ 3-god 0%, medijana 35 meseci; 0.5835; p=0.2959; HR 0.3613; p=0.0460) (Grafikoni 54. i 55.).



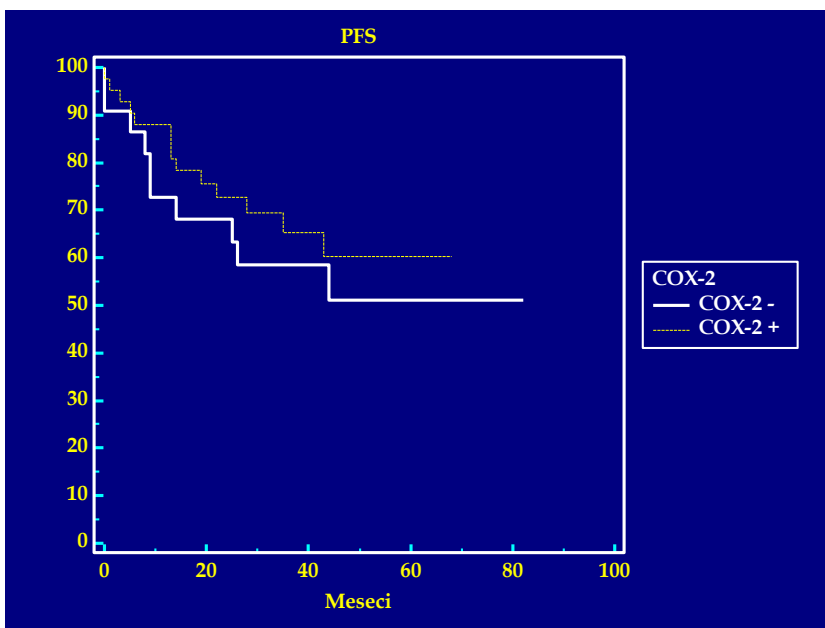
Grafikon 54. Uticaj ekspresije CD5 na PFS



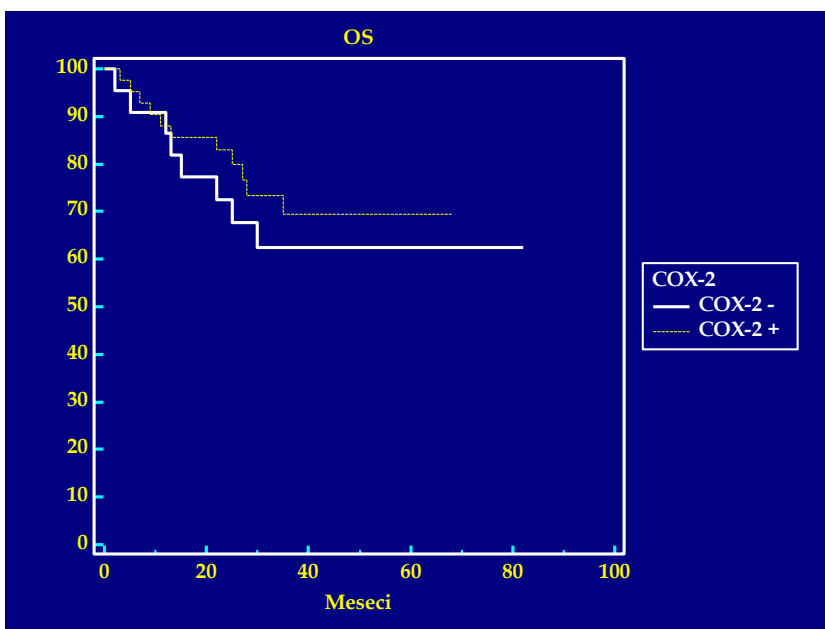
Grafikon 55. Uticaj ekspresije CD5 na OS

5.7.2.9.10. Uticaj ekspresije COX-2 na PFS i OS

Ekspresija COX-2 nije uticala na PFS (COX-2- 3-god 58.41%, medijana NR; COX-2+ 3-god 65.30%, medijana NR; HR 0.7273, p=0.4364) i OS (COX-2- 3-god 62.50%, medijana NR; COX-2+ 3-god 69.40%, medijana NR; HR 0.7282, p=0.4911) (Grafikoni 56. i 57.).



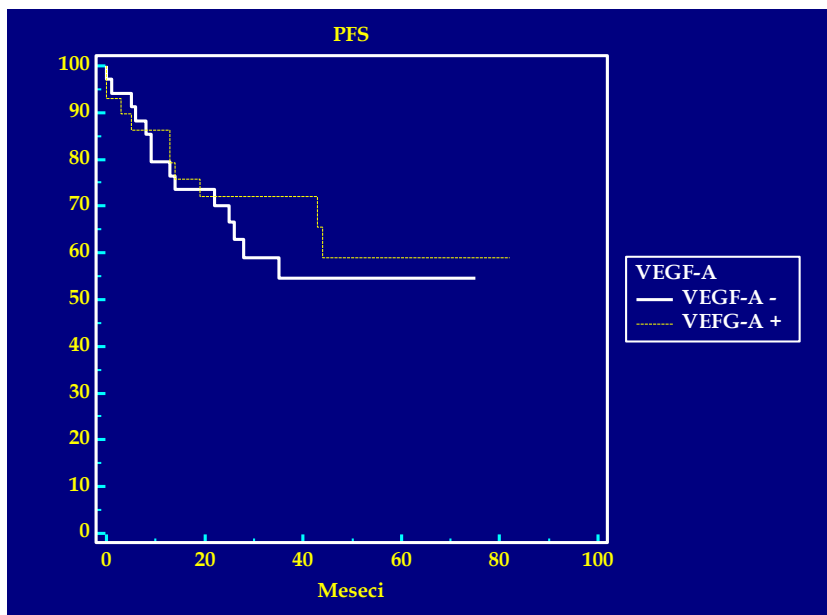
Grafikon 56. Uticaj COX-2 ekspresije na PFS



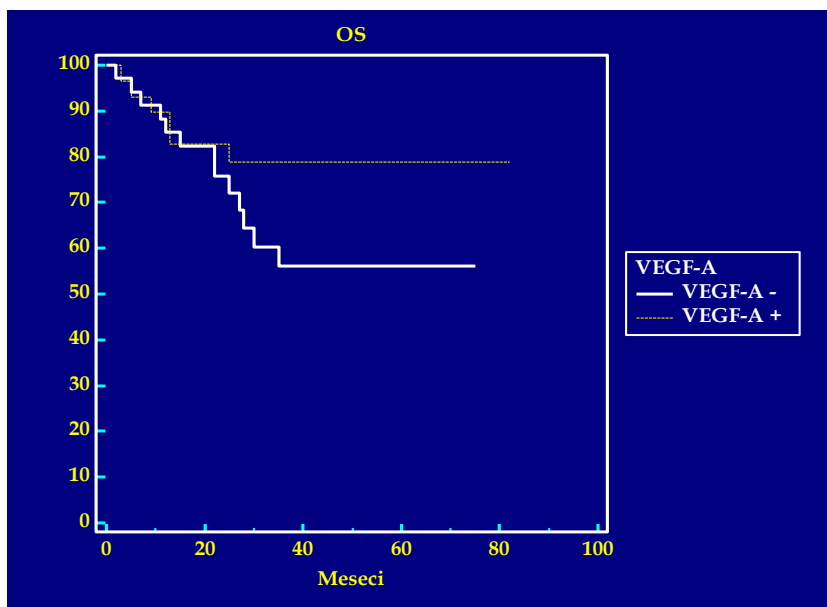
Grafikon 57. Uticaj COX-2 ekspresije na OS

5.7.2.9.11. Uticaj ekspresije VEGF-A na PFS i OS

Ekspresija VEGF-A nije uticala na PFS (VEGF-A- 3-god 54.74%, medijana NR; VEGF-A+ 3-god 71.98%, medijana NR; HR 0.8009; p=0.5881), ali je postojala tendencija ka dužem ukupnom preživljavanju bolesnika iz VEGF-A+ grupe (VEGF-A- 3-god 56.03%, medijana NR; VEGF-A+ 3-god 78.88%, medijana NR; HR 0.5023; p=0.1525)(Grafikoni 58. i 59.).



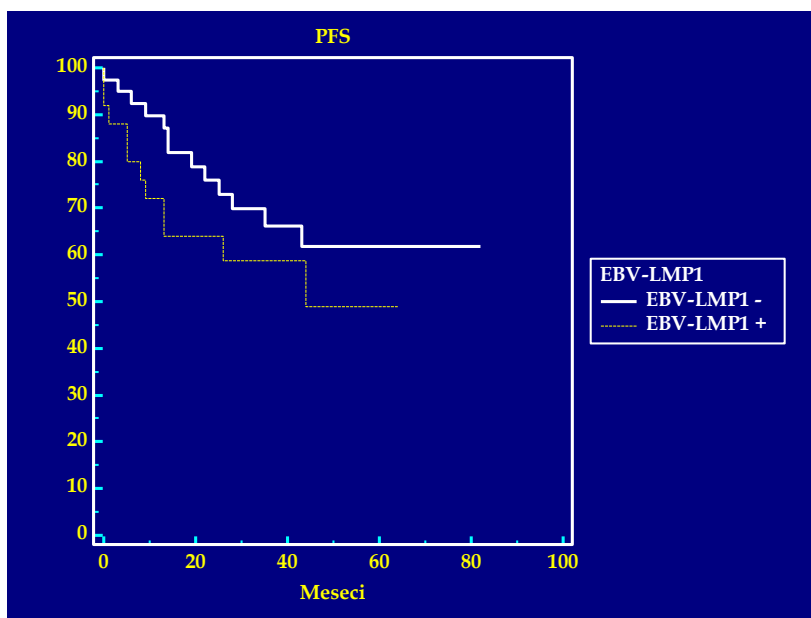
Grafikon 58. Uticaj ekspresije VEGF-A na PFS



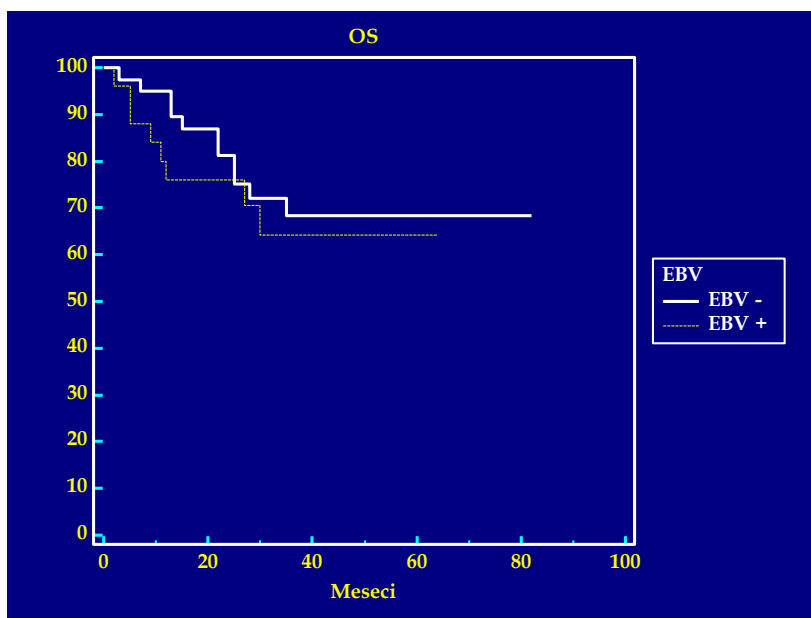
Grafikon 59. Uticaj ekspresije VEGF-A na OS

5.7.2.9.12. Uticaj ekspresije EBV-LMP1 na PFS i OS

Ekspresija EBV-LMP1 proteina nije uticala na PFS (EBV- 3-god 66.16%, median NR; EBV+ 58.62%, medijana 44 meseca; HR 0.6241; p=0.2413) i OS (EBV- 3-god 68.32%, median NR; EBV+ 64.22%, medijana NR; HR 0.7701; p=0.5708) (Grafikon 60. i 61.).



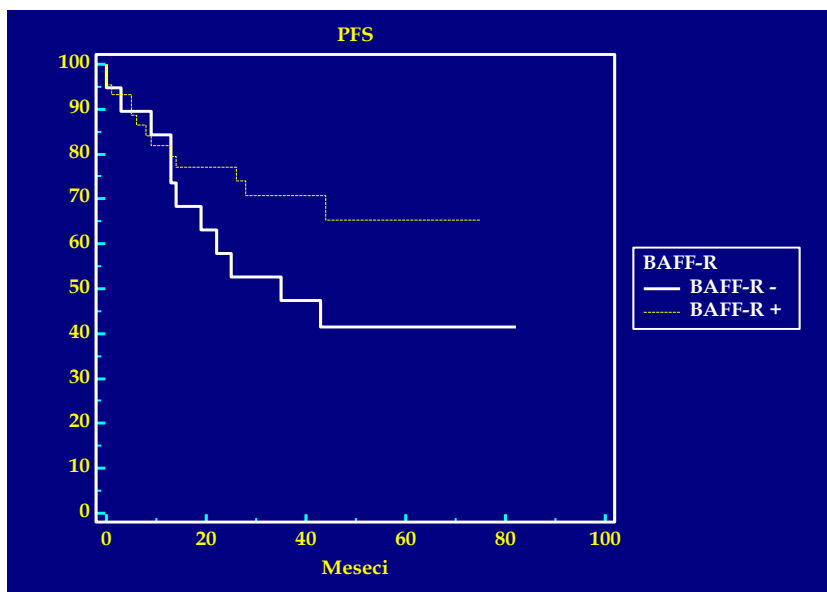
Grafikon 60. Uticaj ekspresije EBV-LMP1 na PFS



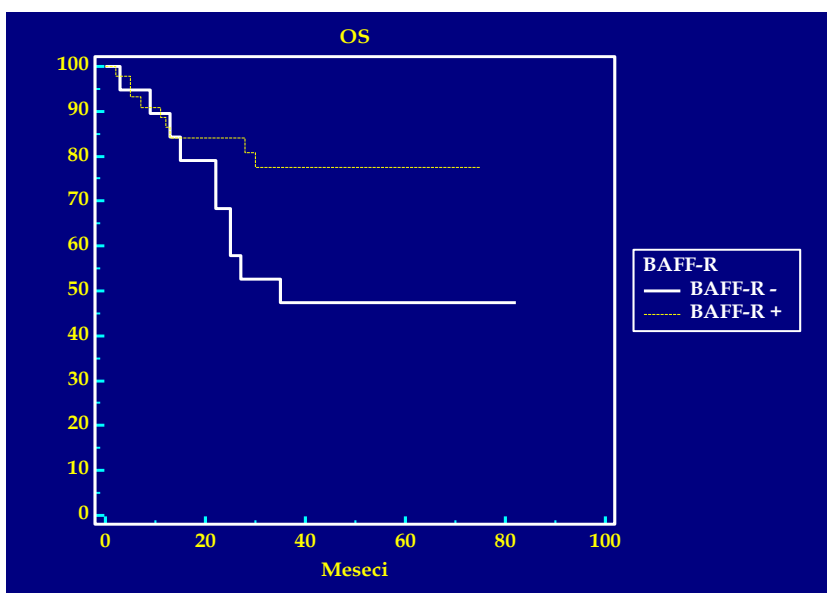
Grafikon 61. Uticaj ekspresije EBV-LMP1 na OS

5.7.2.9.13. Uticaj ekspresije BAFF-R na PFS i OS

Ekspresija BAFF-R je znak dobre prognoze kod bolesnika sa DLBCL. Bolesnici sa BAFF-R+ DLBCL imaju marginalno značajno duži PFS (BAFF-R- 3-god 47.41%, medijana 35 meseci; BAFF-R+ 3-god 70.91%, medijana NR; HR 0.5315; p=0.1138) i statistički značajno duži OS (BAFF-R- 3-god 47.41%, medijana 35 meseci; BAFF-R+ 3-god 77.37%, medijana NR; HR 0.3971; p=0.0364) (Grafikoni 62. i 63.).



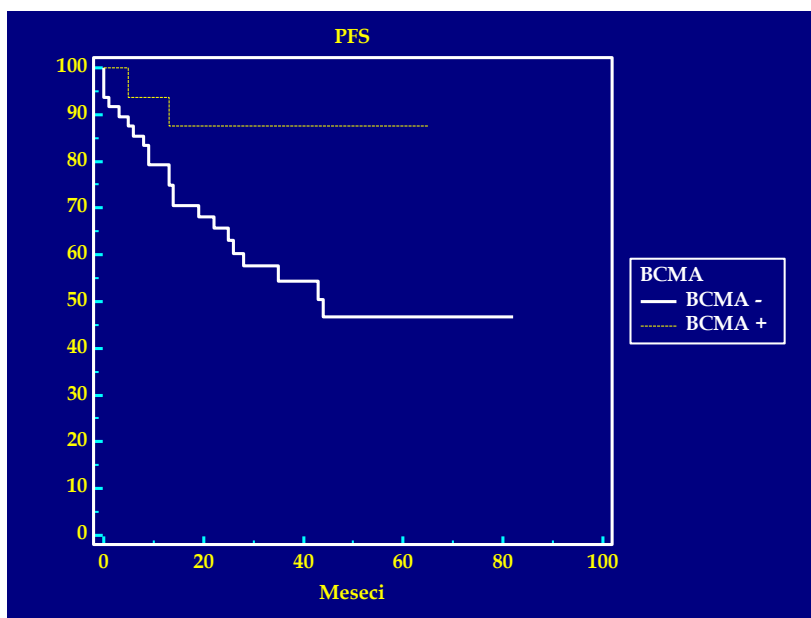
Grafikon 62. Uticaj ekspresije BAFF-R na PFS



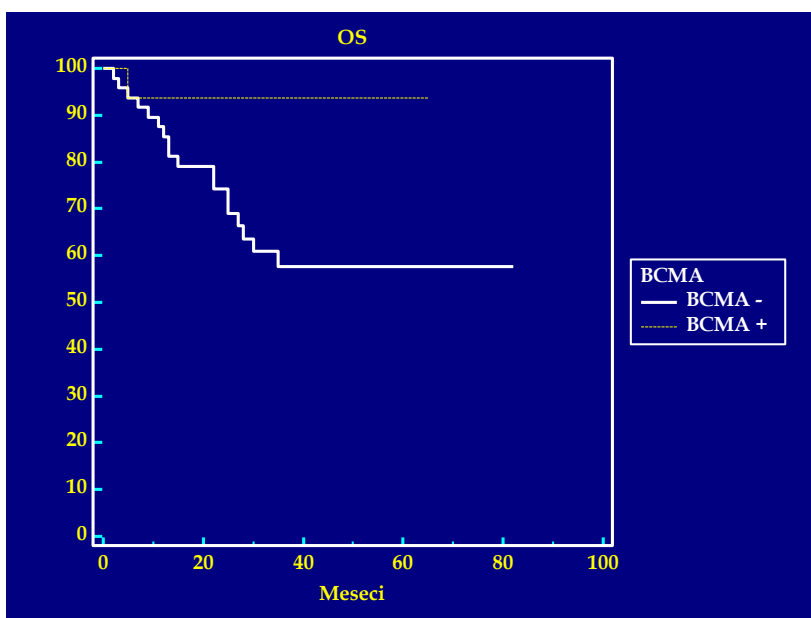
Grafikon 63. Uticaj ekspresije BAFF-R na OS

5.7.2.9.14. Uticaj ekspresije BCMA na PFS i OS

Slično BAFF-R i pozitivnost na BCMA utiče povoljno na PFS (BCMA- 3-god 54.53%, medijana 44 meseca; BCMA+ 3-god 87.50%, medijana NR; HR 0.2210; p=0.0236) i OS (BCMA- 3-god 57.54%, medijana NR; BCMA+ 3-god 93.75%, medijana NR; HR 0.1387; p=0.0234) kod bolesnika sa DLBCL(Grafikoni 64. i 65.).



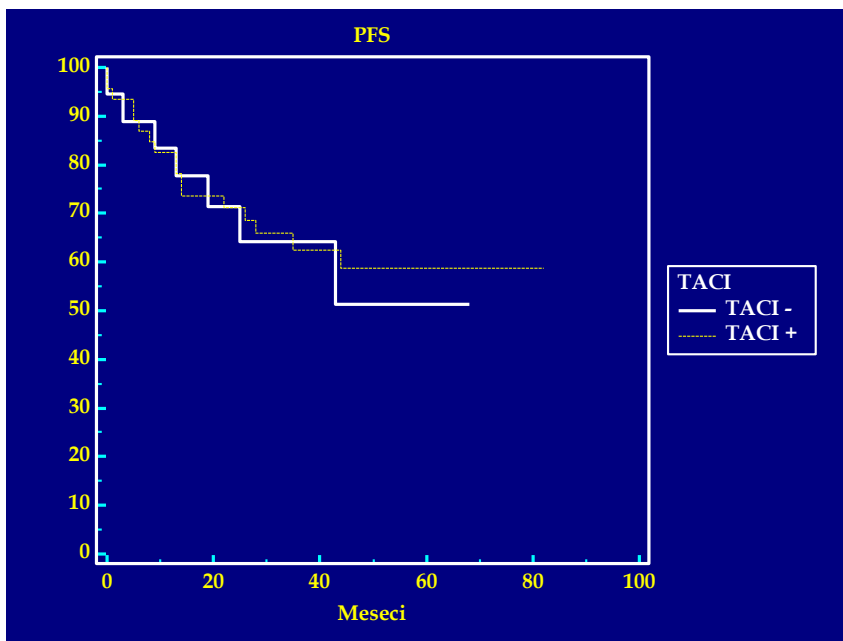
Grafikon 64. Uticaj ekspresije BCMA na PFS



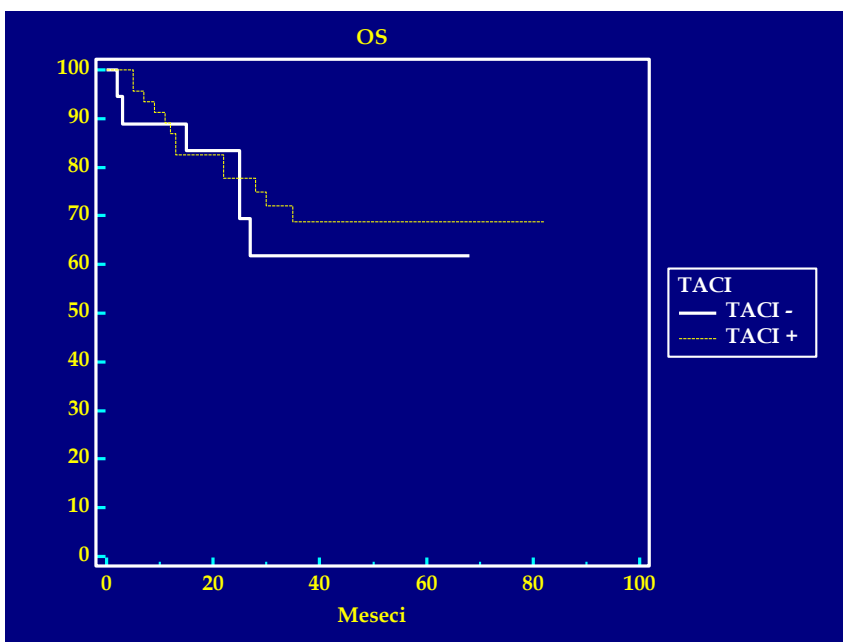
Grafikon 65. Uticaj ekspresije BCMA na OS

5.7.2.9.15. Uticaj ekspresije TACI na PFS i OS

Ekspresija TACI nije uticala na PFS (TACI- 3-god 64.22%, medijana NR; TACI+ 3-god 62.50%, medijana NR; HR 0.9057; $p=0.8239$) i OS (TACI- 3-god 60.75%, medijana NR; TACI+ 3-god 62.50%, medijana NR; HR 0.7962; $p=0.6417$) (Grafikoni 66. i 67.).



Grafikon 66. Uticaj ekspresije TACI na PFS

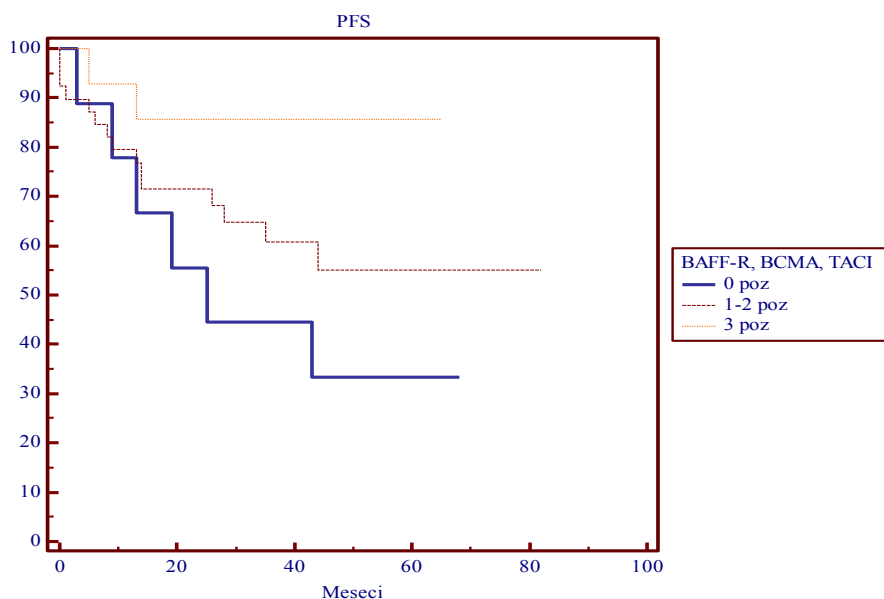


Grafikon 67. Uticaj ekspresije TACI na OS

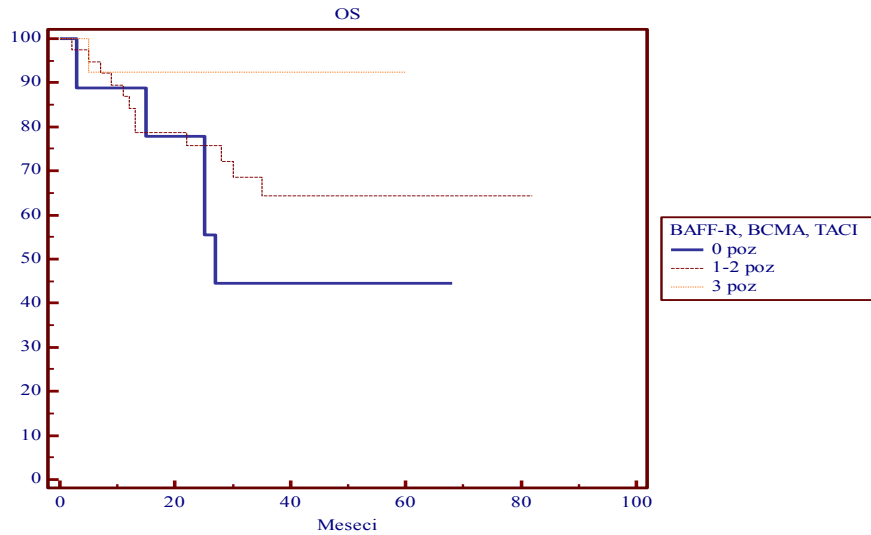
5.7.2.9.16. Zajednički uticaj BAFF-R, BCMA i TACI na PFS i OS

Nakon ispitivanja uticaja pojedinih markera na PFS i OS ispitivali smo uticaj više markera na ova dva parametra.

Ispitali smo kombinaciju kada su sva tri markera pozitivna, kada su jedan ili dva pozitivna i kada nije ni jedan pozitivan. Kada ni jedan marker nije pozitivan trogodišnji PFS bio je 44.54% kod 1-2 pozitivna 60.84%, a kada su sva tri pozitivna 85.69%. Ovaj rezultat je bio statistički granične značajnosti ($p=0.0846$). Sličan rezultat je viđen i kada smo ispitivali OS: 0-poz. 44.54%, 1-2 poz. 64.05%, 3-poz. 92.29% ($p=0.0761$). Kada smo u analizi ostavili samo grupe sa tri pozitivna i tri negativna markera dobili smo visoku statističku značajnost (za PFS $p=0.0217$; za OS $p=0.0177$)(grafikoni 68.i 69.).

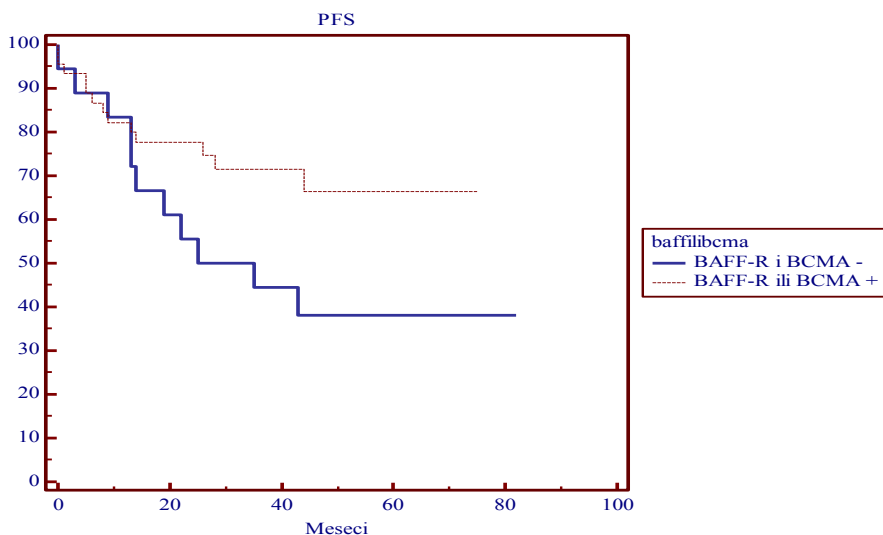


Grafikon 68. Uticaj BAFF-R, BCMA i TACI na PFS

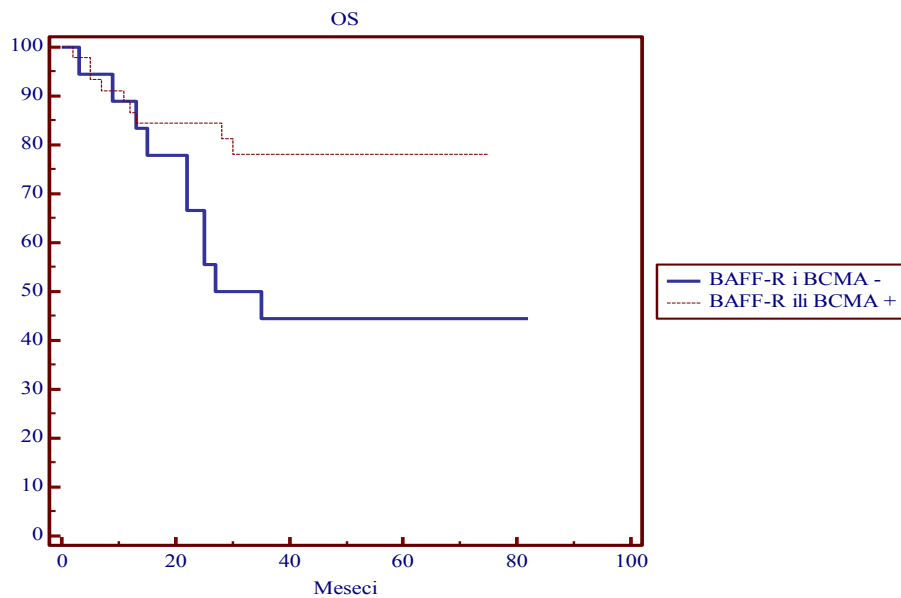


Grafikon 69. Uticaj BAFF-R, BCMA i TACI na OS

Nakon toga smo analizirali da li pozitivnost jednog od dva receptora BAFF-R i BCMA utiče na PFS i OS u odnosu na grupu sa negativna oba navedena receptora. Grupa sa pozitivnim jednim od navedena dva receptora imala je granično duži PFS (3-god 44.54% vs 71.76%, medijana 25 meseci vs NR; $p=0.0615$; HR 0.4757) i duži OS (3-god 44.54% vs 78.17%, medijana 31 mesec vs NR; $p=0.0177$; HR 0.3590) u odnosu na grupu sa oba negativna receptora (Grafikon 70. i 71.).



Grafikon 70. Uticaj BAFF-R i BCMA na PFS



Grafikon 71, Uticaj BAFF-R i BCMA na OS

5.7.2.10. Multivarijantna analiza preživljavanja

U multivarijantnu analizu vremena do progresije bolesti i ukupnog preživljavanja ubacili smo parametre koji su se u univarijantnoj analizi pokazali kao značajni. Nismo uneli nivo albumina u multivarijantnu analizu zbog manjeg broja bolesnika za koje smo imali ovaj podatak, te previše malog uzorka za multivarijantnu analizu. Osim toga parametar CD5 nismo uzeli u obzir u multivarijantnoj analizi jer je bio pozitivan u manje od 10% uzorka. Što se molekularnih markera tiče uzeli smo u obzir kombinaciju kada je jedan od dva markera BAFF-R ili BCMA pozitivan kao najznačajniji parametar u univarijantnoj analizi. Rezultati su prikazani u tabelama xi y.

Parametar	b	SE	Wald	P	Exp(b)	95% CI of Exp(b)
Pol	-0.2399	0.4856	0.2440	0.6213	0.7867	0.3052 to 2.0280
B simptomi	0.3746	0.6524	0.3296	0.5659	1.4544	0.4075 to 5.1904
IPI skor	0.7573	0.2569	8.6925	0.0032	2.1326	1.2923 to 3.5191
Limfociti ≤1	-0.4937	0.4875	1.0257	0.3112	0.6103	0.2359 to 1.5792
BAFF-R i/ili BCMA+	-0.4736	0.4661	1.0323	0.3096	0.6228	0.2509 to 1.5455

Tabela 68. Multivarijantna analiza vremena do progresije bolesti

Covariate	b	SE	Wald	P	Exp(b)	95% CI of Exp(b)
Pol	-0.3044	0.5386	0.3194	0.5720	0.7376	0.2580 to 2.1082
B simptomi	-0.1171	0.7264	0.02599	0.8719	0.8895	0.2158 to 3.6670
IPI skor	0.7312	0.3016	5.8783	0.0153	2.0775	1.1539 to 3.7406
Limfociti ≤1	-1.1125	0.5312	4.3869	0.0362	0.3287	0.1167 to 0.9261
BAFF-R i/ili BCMA	-0.6344	0.5300	1.4329	0.2313	0.5302	0.1886 to 1.4904

Tabela 69. Multivarijantna analiza ukupnog preživljavanja

U multivarijantnoj analizi PFS jedino je IPI skor imao značajan uticaj ($p=0.0032$), dok su u analizi ukupnog preživljavanja IPI skor ($p=0.0153$) i broj limfocita ($p=0.0362$) najznačajniji parametri prognoze. U multivarijantnoj analizi molekularni markeri nisu imali uticaj na PFS i OS.

VI DISKUSIJA

Non-Hodgkin limfomi su peti po učestalosti malignitet u zapadnoj Evropi i Americi sa incidencom od 15 slučajeva na 100000 stanovnika. Javljaju se sa podjednakom incidencom u oba pola. Oko dve trećine bolesnika su stariji od 60 godina (2,3,4). U analizi Srpske limfomske grupe (SLG) na 917 bolesnika lečenih u našoj zemlji 55.3% su činili muškarci, 96.4% je bilo starijih od 30 godina (329). Difuzni krupnoćeliski limfom je najčešći NHL i čini oko 35% svih limfoma i predstavlja oko 90% agresivni B-ćelijskih NHL. Zbog svoje agresivnosti prirodni tok mu je uvek fatalan (29). U Srbiji 95.7% čine B-ćelijski limfomi. Od ovog procenta 50.8% su agresivni limfomi, a DLBCL čini 80.7% agresivnih B-ćelijskih NHL (329).

U ovom radu predstavljena je grupa od 140 bolesnika lečenih na Institutu za onkologiju Vojvodine u sedmogodišnjem periodu od kraja 2003. do 2010. godine. Ova grupa bolesnika je praćena do januara 2013. tako do je svaki bolesnik praćen najmanje dve godine. Medijana starosti bolesnika bila je 58 godina (23-82), dok je 47.85% starijih od 60 godina. U odnosu na radove drugih autora u našoj populaciji DLBCL ima tendenciju dijagnostikovanja u nešto mlađoj populaciji. Naime, u seriji bolesnika Wilsona i sar. medijana je bila 63 godina, 59% bolesnika je bilo starije od 60 godina (134). Nyman i sar. su analizirali grupu od 117 bolesnika gde je medijana starosti bila 63 godine i 61% bolesnika bilo je starije od 60 godina (132). Perry i sar. u svojoj analizi na 125 bolesnika su pokazali medijanu starosti sličnu našoj, 57 godina, ali takođe sa većinom bolesnika (54%) starijih od 60 godina (264). Gratzinger i sar.(144) su takođe prikazali predominaciju bolesnika starijih od 60 godina (69.78%). I globalne epidemiološke analize govore u prilog pojavljivanju bolesnika starijih od 60 godina u dve trećine slučajeva (2,3,29). Koji je razlog ove tendencije javljanja DLBCL u našoj populaciji nije potpuno jasno. Moguće da se radi o nešto lošijim uslovima života u odnosu na populaciju zapadne Evrope i za to vezane hronične infekcije i inflamacije, verovatno su tome doprinela i ratna dešavanja u periodu 1991-1999, ali siugurno i velik broj poljoprivrednika koji u Vojvodini radi sa pesticidima, koji su poznati kao faktor rizika za razvoj limfoma (12).

U našoj grupi bolesnika 53.57% su činili muškarci. Ova blaga predominacija muškog pola 1.15: 1 je prikazana u većini studija (132, 264), dok su Gratzinger i sar. prikazali neznatnu predominaciju DLBCL kod žena (144). U studiji SLG takođe smo prikazali blagu predominaciju

mušakaraca 55.3%, ali kod svih oblika NHL (329). Na osnovu ovih rezultata možemo reći da se DLBCL javlja podjednako često u oba pola i da se naši rezultati uklapaju u takav zaključak.

Za određivanje kliničkog stadijuma bolesti, već više od 40 godina, koristi se sistem razvijen inicijalno za Hodgkinov limfom u Ann Arboru, USA (23). Najveći broj naših bolesnika je bio u II (34.07%) i u III stadijumu bolesti (33.33%), dok su u I stadijumu bilo 18.84%, a u IV 19.56% bolesnika. Ovo sve u zbiru čini da je podjednak broj bolesnika dijagnostikovani inicijalno u ranom (I/II) (47.11%) i uznapredovalom stadijumu DLBCL (III/IV) (52.89%). Studije drugih autora su dale različite rezultate po ovom pitanju. U studijama Nyman i sar. (132), Wilsona i sar. (134) i Ozbalaka i sar. (330) većina bolesnika je imala uznapredovali stadijum bolesti: 63%, 78% i 55% respektivno. Sa druge strane Gratzinger i sar. u svojoj grupi bolesnika dijagnostikovali su DLBCL u uznapredovalom stadijumu u 42% slučajeva (144). Bolesnici analizirani u grupi Lija i sar. su imali uznapredovali stadijum bolesti u 45.08% slučajeva (331). Ako uporedimo navedene studije sa rezultatima ovog rada vidimo da se naša grupa nalazi negde u sredini po broju slučajeva dijagnostikovanih u uznapredovalom stadijumu bolesti te da se rezultati slažu sa literaturnim podacima.

Povišena telesna temperatura, noćno preznojavanje i gubitak telesne mase preko 10% za šest meseci predstavljaju B simptome kod obolelih od limfoma. Obično se javljaju između 45-60% slučajeva DLBCL (12). Studije relativno retko prikazuju procenat B-simptoma u svojim grupama DLBCL (132,134,264). Gratzinger i sar. (144) su prijavili da 25% bolesnika ima B simptome što je daleko niži procenat u odnosu na našu grupu ispitanika, gde je B simptome imalo 53% bolesnika. U studiji SLG (329) B-simptome je imalo 50% bolesnika sa različitim tipovima NHL. DLBCL primarno ektranodalne lokalizacije se dijagnostikuje između 25 i 50% slučajeva. Ove razlike u procentima najverovatnije su posledica različitog definisanja primarnog ektranodalnog DLBCL, naročito kada je bolest u III ili IV stadijumu. Takođe, obzirom na različitu učestalost *Helicobacter pylori* infekcije u zavisnosti od razvijenosti određenog dela sveta, primarni gastrični DLBCL ima različitu incidencu, te utiče na ukupan procenat primarno ektranodalnih DLBCL (332). U našoj grupi bolesnika primarno ektranodalna lokalizacija je pristuna u 65 (46.42%) slučajeva što je približno literaturnim podacima (332). Kao i u drugim grupama bolesnika (332) i u ovom radu najveći broj ektranodalnih limfoma se nalazi u želucu. Dvadeset pet od ukupno 65 (38%) ima DLBCL u želucu, dok je još značajna lokalizacija u štitnoj žlezdi, Waldereyevom

prstenu sa po šest bolesnika, dok je pet bolesnika imalo primarni DLBCL kosti. Primarno ekstrapodalna lokalizacije nije uticala na prognozu lečenja naših bolesnika sa DLBCL.

IPI skor je i dalje najvažniji parametar u prognozi DLBCL (127). Dizajniran je pre tačno 20 godina kada se u lečenju nije koristio rituksimab (124). Deli bolesnike sa DLBCL na četiri kategorije koje sa sobom nose različitu prognozu lečenja. U originalnom radu (124) bolesnici sa niskim rizikom (IPI skor 0 i 1) imali su petogodišnji preživljavanje od 70%. Bolesnici sa niskosrednjim rizikom (IPI 2) imali su petogodišnji OS 51%. Četrdeset posto bolesnika je preživelo pet godina u grupi srednje-visokog rizika (IPI 3), dok je petogodišnji OS bio 26% u grupi visokog rizika (IPI 4 i 5). Ovaj prognostički skor je konstruisan ne samo u vremenu kada nije korišćen rituksimab, već i kada nije korišćena intezivirana i visokodozna hemioterapija i transplantacija matičnih ćelija hematopoeze. Tada je IPI skor doživeo svoju prvu reviziju i stvoren je age adjusted IPI skor (125). Navedeni skor izbacuje starost bolesnika kao validan faktor te se i dalje veoma često koristi kada se analiziraju grupe starijih ili mlađih od 60 godina. Drugu reviziju IPI skor je imao nakon pojave rituksimaba kao zlatnog standarda terapije. U to vreme se smatralo da IPI skor nije validan prognostički parametar za bolesnike lečene rituksimabom. Tada su Sehn i sar. stvorili revidirani IPI (R-IPI) (126) koji uključuje iste parametre kao IPI samo su drugačije raspoređeni u podgrupe. Međutim Ziepert i sar. (127) su u metaanalizi na 1062 bolesnika lečenih kombinacijom rituksimaba i hemioterapije pokazali da je i dalje IPI skor veoma validan pokazatelj ishoda lečenja bolesnika sa DLBCL. Ova metaanaliza uključila je tri velike studije koje ispitivale uticaj rituksimaba u odnosu na dotadašnji standard terapije: MINT (333), RICOVER-60 (176) i MegaCHOEP (334,335,336). Uzevši u obzir svih 1062 bolesnika 57% je imalo nizak IPI skor, 21% srednje-nizak, 17% srednje visok i 10% je bilo u grupi visokog rizika. U našoj grupi bolesnika sa niskim rizikom po IPI skoru bilo je 44.77%, srednje-niskim rizikom 25.37%, visoko-srednjeg rizika 18.65%, dok je u grupi visokog rizika bilo 11.19%. Dakle, uprkos nešto manjem procentu u grupi niskog rizika naša grupa bolesnika bila je slična onoj u Ziepertovoj metaanalizi. Bolesnici u studiji Nymana i sar. su u 61% slučajeva imali IPI skor 0-2, što je nešto niži procenat nego u našoj grupi bolesnika. Wilsonova grupa bolesnika (134) imala je nešto lošije prognozne parametre sa 31% bolesnika IPI skora 0 i 1. Ozbalak i sar. su prikazali grupu bolesnika u kojoj je 45% bilo niskog IPI skora (330). Pedeset i pet posto bolesnika imlo je IPI 0-2 u studiji Perry i sar. (264). Obzirom da se procenat bolesnika u grupi niskog rizika u literaturi kretao između 31-57%, a procenat bolesnika u visokom riziku

između 10-22% možemo zaključiti da se naša kohorta bolesnika ni po ovom pitanju nije razlikovala od grupa dostupnih u literaturi (124, 134, 330).

Odgovor na terapiju baziranu na rituksimabu u različitim studijama bio je od 71,4% u studiji MegaCHOEP (336), preko 75% u LNH-98.5 studiji (172), pa do 86% u studiji MINT (333). U našoj studiji stopa potpunih remisija bila je 74.24%, parcijalnim remisija je bilo 14.65%, što čini ukupan odgovor na terapiju 88.89%. Progresiju bolesti na inicijalni tretman doživelo je 11.11% bolesnika. U odnosu na MINT studiju naša kohorta ima nižu stopu CR, međutim u MINT studiji su uključivani samo bolesnici sa IPI skorom 0 i 1.

Trogodišnje preživljavanje bez progresije bolesti u našoj grupi bolesnika bilo je 56.5%, medijana vremena do progresije bolesti 62 meseca, dok medijana za ukupno preživljavanje nije dostignuta, a tri godine je preživelo 64% bolesnika. Kohorta koja je dobijala rituksimab u studiji MINT (333) imala je trogodišnji PFS 86.3%, a OS 92.9%, međutim ovu studiju nije adekvatno porediti sa našom jer su uključivani samo bolesnici sa IPI skoro 0 i 1, mlađi od 60 godina. Studiju MegaCHOEP (336) takođe nije najadekvatnije porediti sa našim rezultatima jer su ovoj studiji samo mlađi bolesnici sa IPI skorom ≥ 2 , a i terapija je bila daleko agresivnija. U ovoj studiji trogodišnji PFS bio je 71.1%, dok je OS bio 75.3%. Najzad u RICOVER-60 studiji trogodišnji PFS bio je 76.4%, a OS 75.3% (176). U ovoj studiji su uključivani bolesnici stariji od 60 godina, ali je jedna podgrupa dobijala R-CHOP terapiju na 14 dana. U metaanalizi koja je uključivala sve ove studije (127) ukupan trogodišnji PFS bio je 76.4%, dok je OS 81.5%. U ovim studijama PFS i OS su duži nego u našoj kohorti bolesnika. Razlog za to je što su ove studije prospektivne sa uključivanjem bolesnika za koje se u startu zna da imaju prognozu za preživljavanje bar šest meseci, obično su dobrog performans statusa i u stanju da dobiju maksimalno agresivnu hemioterapiju. U ovim studijama takođe je primenjivana nešto agresivnija terapija (R-CHOP14, R-CHOEP, R-MegaCHOEP) koja se, iako toksičnija ipak pokazala efikasnijom u odnosu na R-CHOP21 koji je u našoj studiji dobilo skoro 90% bolesnika. Takođe u našoj kohorti skoro 15% bolesnika je dobilo suboptimalnu terapiju. Osim toga u našoj grupi ne mali broj bolesnika je preminuo od drugih bolesti, pa čak i u saobraćajnim nezgodama, bez relapsa limfoma, te je i to uticalo na našu statistiku. Malo je drugačija situacija u retrospektivnim studijama sličnim našoj. Wilson i sar. su zabeležili 69% četvorogodišnji OS u svojoj grupi bolesnika (134). U oko 750 analiziranih bolesnika (CD30 negativnih) u studiji Hua i sar. petogodišnji OS bio je 59% (323).

Oybalak i sar. (330) su demonstrirali trogodišnji PFS od 70% i OS od 77.3% u svojoj grupi bolesnika.

U našoj studiji bolesnici koji su na inicijalno lečenje postigli kompletnu remisiju imali su trogodišnje preživljavanje u 78.12%, a petogodišnje 71.65%. Sa druge strane bolesnici koji su imali samo parcijalni odgovor ili su doživeli progresiju bolesti imali su plato nakon treće godine na krvi preživljanja na 25%. Ovo govori u prilog izuzetnoj važnosti postizanja kompletne remisije kod bolesnika sa DLBCL.

Stariji bolesnici imaju nešto kraće vreme do progresije bolesti kao i kraće ukupno preživljavanje u odnosu na mlađu populaciju bolesnika. Zbog ove činjenice starost bolesnika preko 60 godina je uvrštena kao nezavisni parametar prognoze u IPI skor (12,29,124). Osim što starija populacija češće ima brojne komorbiditete, teže podnosi terapiju, svi ovi faktori utiče i na izbor suboptimalne, manje agresivne, terapije za ove bolesnike. U našoj kohorti bolesnika bilo je 31.1% bolesnika koji su stari 65 i više godina. Kao i u nekim drugim analizama (158) i u našoj grupi bolesnika određen procenat je dobio suboptimalnu terapiju bez antraciklina. Od 14 bolesnika koji su dobili terapiju bez antraciklina 12 je bilo starije od 65 godina. Obzirom da smo u našoj kohorti imali 42 bolesnika starija od 65 godina to znači da je 28.6% bolesnika iz ove subpopulacije dobilo suboptimalnu terapiju za ovaj tip limfoma. Procenat kompletnih remisija kod bolesnika starijih od 65 godina bio je niži u odnosu na mlađu populaciju bolesnika 79.78% vs 62.79% ($p=0.0601$). Stariji bolesnici su imali i kraći PFS (68.81% vs 32.08%, $p=0.0001$) i OS (72.57% vs 42.48%, $p=0.0004$). U LNH-98.5 studiji (174) u kohorti lečenoj rituksimabom petogodišnji EFS bio je 47.5%, dok je petogodišnji OS bio 58%. Ova razlika je posledica već navedenih inkluzionih kriterijuma u randomizovane studije u kojima se ne uključuju bolesnici sa ECOG statusom 3-5 i bolesnici u veoma teškom opštem stanju koji su uključeni u našu statistiku. Takođe u studiji LNH-98.5 svi bolesnici su primili antracikline, dok je u našoj kohorti starijih bolesnika antracikline primilo 72%. Takođe u našoj grupi bolesnici su bili stariji od 65 godina, bez gornje granice starosti, a u francuskoj studiji od 60-80 godina. Još su bolji rezultati RICOVER-60 studije gde je trogodišnji PFS bio 66.5%, a OS 67.7%. U ovoj studiji bolesnici su dobijali šest ciklusa R-CHOP svakih 14 dana (176).

Muški pol je bio prediktor lošije prognoze kod bolesnika u našoj grupi. Iako se procenat kompletnih remisija nije razlikovao (M: 71.83%; Ž: 77.05%; $p=0.6283$), muškarci su imali statistički marignalno kraći PFS (M: 50.9% vs Ž: 65.51%; $p=0.0586$) i OS (M: 56.78% vs Ž:

71.23%; $p=0.0921$). Muller i sar. (157) su prošle godine uradili farmakokinetiku analizu davanja rituksimaba sa CHOP14 protokolom kod muškaraca i žena. Dobili su da muškarci imaju brži klirens i manju koncentraciju rituksimaba u krvi pri doziranju od 375mg/m². Takođe ova grupa autora je izvukla rezultate iz RICOVER-60 studije i pokazala da žene imaju duži PFS i OS. Nakon toga je italijanaska grupa na čelu sa Carellom (337) napravila retrospektivnu analizu 1793 bolesnika iz 43 institucija u Italiji i Brazilu. Dobili su da je muški pol prediktivni faktor terapije bazirane na rituksimabu kako u univarijantnoj, tako i u multivarijantnoj analizi kada su bolesnici podeljeni u grupe prema IPI skoru. Slično je dokazala i finska grupa koja je analizirala DLBCL i folikularne limfome lečene rituksimabom i hemioterapijom (338). Kod obe vrste NHL četvorogodišnji PFS je bio kraći kod muškaraca (75% vs 60%; $p=0.013$ za DLBCL) i (68% vs 52%; $p=0.036$ za FL) bez uticaja na ukupno preživljavanje. Tendencija lošijeg preživljavanja naših bolesnika muškog pola ka kraćem preživljavanju uklapa se u najnovije literaturne podatke i predstavlja sigurno jedan od najznačajnijih rezultata u ovom radu.

Stadijum bolesti i nivo laktat dehidrogenaze su parametri veličine tumorske mase kod obolelih od NHL (12). U našoj grupi bolesnika su bili značajni parametri prognoze kako za postizanje kompletne remisije tako i za PFS i OS. Međutim kako su deo IPI skora nećemo ih posebno razmatrati već će u daljem tekstu biti diskutovano o preživljavanju bolesnika u odnosu na IPI skor. Kao što smo već napomenuli IPI skor je i dalje najvažniji prognostički činioc preživljavanja bolesnika sa DLBCL (127). U našoj seriji bolesnika bio je značajan prediktor dobrog odgovora na inicijalno lečenje, PFS i OS za grupu niskog rizika u odnosu na ostale grupe, kao i kratkog preživljavanja i lošijeg odgovora na lečenje za grupu visokog rizika. Grupe bolesnika sa skorom dva ili tri nisu se međusobno razlikovale. U našoj kohorti grupa bolesnika sa niskim IPI skorom imala je stopu CR: 90%, 3-godišnji PFS: 85.71% 3-god OS: 85.71%; grupa IPI 2 CR: 63.64%, PFS: 42.19% OS: 34.60%; grupa IPI 3 CR: 73.91%, PFS: 34.60%, OS: 51.12%; i grupa visokog rizika: CR: 28.57%, PFS: 14.29%, OS: 17.19%. U odnosu na inicijalni IPI skor (124) koji je prikazao petogodišnje preživljavanje, ali u dobu kada rituksimab nije bio standard terapije naši bolesnici IPI skora 0 i 1 imaju nešto duži PFS i OS (5-god PFS: 85.71% OS: 80.8%). Sa druge strane približni su procenti u grupi IPI 3, ali su niži u grupi IPI dva i daleko niži u grupi visokog rizika gde u našoj kohorti nijedan bolesnik sa visokim IPI skorom nije preživeo 5 godina u odnosu na inicijalni IPI gde je petogodišnji OS bio 26%. Ovo najverovatnije govori u prilog tome da R-CHOP21 nije dovoljna terapija u grupi srednjeg i visokog rizika već je potrebno primeniti

neku od agresivnijih strategija. U prilog tome govore još zapaženiji rezultati studija MINT, RICOVER-60 i MegaCHOEP (176, 333, 336) obrađenih zajedno u metaanalizi (127). Na ukupno 1062 bolesnika u sve tri studije koji su lečeni rituksimabom i različitim, uglavnom agresivnijim pristupima u odnosu na R-CHOP21 trogodišnji PFS po IPI grupama bio je sledeći: IPI 0 i 1: 87%, IPI 2: 74.7%, IPI 3: 58.86%, IPI 4 i 5: 55.8%, dok je trogodišnji OS: IPI 0 i 1: 91.4%, IPI 2: 80.9%, IPI 3: 65.1%, IPI 4 i 5: 59%. Lako je uočiti da bolesnici sa niskim rizikom u našoj kohorti imaju približno jednako preživljavanje u odnosu na grupu bolesnika u ovoj metaanalizi. Međutim bolesnici sa srednjim i visokim skorom ponovo imaju duže preživljavanje u odnosu na našu grupu. Sa jedne strane, radi se o dobro kontrolisanim studijama koje ne uključuju bolesnike u lošem stanju koji će sa velikom verovatnoćom doživeti rani smrtni ishod, što svakako utiče na 5-10% bolje preživljavanje, ali sa druge strane postaje jasno da bolesnici koji imaju IPI 2-5 zaslužuju agresivniju strategiju, dok je kod bolesnika sa IPI 0 i 1, bez bulky bolesti dovoljna terapija R-CHOP21. Koja je strategija za bolesnike sa IPI 2-5 kliničke studije još nisu u potpunosti odgovorile. Kod bolesnika starijih od 60 godina RICOVER-60 (176, 177) govori u prilog da intezivniji protokol R-CHOP14+2R može popraviti rezultate naročito u grupi sa lošom prognozom. Osam ciklusa rituksimaba sa hemioterapijom nije doprinelo boljem rezultatom u odnosu na šest ciklusa. Upotreba G-CSF u primarnoj profilaksi doprinela je komplikaciji od 98% u bolesnika koji su dobili šest ciklusa hemioterapije. Međutim druge studije sa sličnim dizajnom nisu doprinele benefitu intezivnijeg davanja terapije u dvonedeljnom režimu kod starijih bolesnika (178-180). Studija intezivnijeg davanja rituksimaba na nedeljnoj bazi i zatim nastavak na u dvonedeljnom režimu sa CHOP14 (ukupno 12 ciklusa rituksimaba, DENSE-R-CHOP14) u odnosu na R-CHOP dovelo je do većeg procenta kompletnih remisija i dužeg jednogodišnjeg EFS, ali bez uticaja na OS (181). U mlađih bolesnika sa aIPI2-3 praktično ne postoji standardna terapija. Uglavnom se u Svetu koristi R-CHOP na 14 ili 21 dan. Danska limfomska grupa je pokušala da poboljša preživljavanje ovih bolesnika dodavanjem etopozida (R-CHOEP14) u odnosu na R-CHOP14. Rezultati četvorogodišnjeg preživljavanja bili su značajno bolji u grupi sa etopozidom (75% vs 62%, $p=0.04$) (189). Visokodozna hemioterapija sa autolognom transplantacijom matičnih ćelija hematopoeze je dugo smatrana za opciju kod mlađih bolesnika sa lošom prognozom. Petnaest različitih studija, koje su se bavile ovom tematikom analizirane su u metaanalizi (192). Ova metaanaliza nije pokazala jasan benefit HDCT+ASCT. U eri rituksimaba urađeno je još nekoliko studija koje su poredile konvencionalnu terapiju sa

HDCT+ASCT. Studija GOELAMS075 (193) koja je za kontrolu grupu imala bolesnike koji su dobijali R-CHOP14 i studija DSHNHL (194). sa kontrolnom grupom R-MegaCHOEP14 nisu pokazale benefit od HDCT. Sa druge strane Vitolo i sar. (195) su demonstrirali duži PFS, ali ne i OS kada su poredili HDCT sa R-CHOP14 terapijom. Studija SWOG S9704 takođe je pokazala benefit u PFS, ali ne i u OS u odnosu na R-CHOP21 režim (196). Koji od ovih režima koristiti još uvek nije potvrđeno. Drugo je pitanje da li se ovi agresivniji režimi mogu bezbedno primeniti van okruženja kliničkih studija i kod bolesnika sa veoma lošim performans statusom. Takođe, postavlja se pitanje da li u našim uslovima nešto lošije zdravstvene prosvećenosti i loše finansijske situacije ovi režimi mogu doneti benefit ili samo dovesti do veće rane smrtnosti zbog komplikacija.

Poslednjih godina, u eri rituksimaba, pokazano je da je nizak apsolutni broj limfocita (ALC) marker loše prognoze kod bolesnika sa DLBCL (339, 340). Nije potpuno razjašnjen mehanizam nastanka ovog fenomena, ali se smatra da je nizak broj limfocita u periferiji odraz smanjene funkcije odbrambenog sistema domaćina, odnosno smanjene mogućnosti razvoja antigenom uslovljene ćelijske citotoksičnosti (ADCC), jednog od najvažnijih mehanizama dejstva rituksimaba (43). Oki i sar. (339) su na svojoj grupi bolesnika pokazali da je broj limfocita ispod $1.0 \times 10^9/l$ značajan faktor loše prognoze kako za PFS ($p < 0.001$), tako i za OS ($p < 0.001$). U ovoj studiji 119 bolesnika je dobijalo CHOP hemioterapiju dok je 102 bolesnika dobijalo R-CHOP. Zanimljivo je i to da je grupa koja je dobijala rituksimab imala duži PFS i OS, ali ne i kod bolesnika koji su imali nizak broj limfocita. Ovo ukazuje na značaj broja limfocita u lečenju rituksimabom. Studija Cox i sar. (340) je pokazala na 101 bolesniku lečenom terapijom baziranom na rituksimabu da je broj limfocita ispod $0.84 \times 10^9/l$ značajan faktor loše prognoze kako za PFS i EFS tako i za OS. Rezultat je bio značajan i u multivarijantnoj analizi sa IPI skorom. U metatanalizi 6 studija koje su se bavile ovom tematikom Feng i sar. su pokazali da je nizak broj limfocita snažan faktor prognoze kod DLBCL. I naša grupa je pokazala da je broj limfocita manji od $1.3 \times 10^9/l$ značajan faktor prognoze kod bolesnika sa DLBCL (341). U ovom radu analizirali smo takođe uticaj niskog broja limfocita kao jednog od najnovijih faktore prognoze DLBCL i predikcije odgovora na terapiju baziranu rituksimabom. Naša granica za nizak broj limfocita bila je $\leq 1.0 \times 10^9/l$. Procenat bolesnika koji su imali nizak ALC bio je 27.48%. Odgovor na lečenje nije se razlikovao između ove dve grupe bolesnika, međutim bolesnici sa nižim ALC imali su kraći trogodišnji PFS (42.70% vs 62.83%, $p = 0.0336$) i kraći OS

(48.01% vs 69.47%, $p=0.0185$) u odnosu na grupu čiji je ANC bio $>1.0 \times 10^9/l$. Iako je i naša i veliki broj drugih studija pokazao da je nizak ALC dobar prognosni faktor postoji nekoliko limita da bi ovaj parametar bio standardan. Prve svega nijedna prospektivna studija se nije bavila ovim pitanjem, te su svi podaci proistekli iz retrospektivnih analiza. Druga stvar je to što su korišćeni različite „cut-off“ vrednosti za broj limfocita te ne postoji uniformni podatak koja je to vrednost koja zaista uvek određuje prognozu. Treća stvar je pitanje da li je apsolutni broj svih limfocita faktor koji određuje prognozu ili je to određena podgrupa limfocita. Recimo, najznačajnija grupa za ADCC-zavisni odgovor na terapiju rituksimabom je grupa takozvanih ćelija „prirodnih ubica“ (Natural killer ćelije, NK) (43,341). Jedna manja studija je pokazala da je broj NK ćelija niži u obolelih od DLBCL nego kod zdravih u kontrolnoj grupi. Takođe niži broj je zabaležen u višem stadijumu bolesti i kod bolesnika sa B simptomima (342). Osim toga Plonquet i sar. su demonstrirali da je kod bolesnika sa manjim brojem NK ćelija kraći EFS i OS u grupi bolesnika sa DLBCL aaIPI skora 2 i 3 (343). Takođe i broj cirkulišućih regulatornih T limfocita je viši kod zdravih dobrovoljaca nego kod obolelih od DLBCL, te je udružen sa manjom stopom CR i kraćim EFS (344). U poslednje dve godine nekoliko studija (345, 346, 347) je ukazala i na apsolutni broj monocita, odnosno odnos limfocita i monocita kao značajan parametar u prognozi DLBCL. Najveća od tih analiza je multicentrična studija Tadmora i sar. (348) koja je analizirala 1191 bolesnika sa DLBCL pre i posle ere rituksimaba. Bolesnici koji su imali apsolutni broj monocita veći od $630/mm^3$ su imali petogodšnje preživljavanje od 71% u odnosu na one koji su imali manji broj čije je preživljavanje bilo 59% ($p=0.0002$). Takođe, grupa od 621 bolesnika lečenih rituksimabom imali su duže preživljavanje ukoliko su imali broj monocita iznad ovog broja, bez obzira na vrednost IPI skora. Na osnovu ovih rezultata smatramo da apsolutni broj limfocita i monocita treba da uđu u rutinsku kliničku praksu prognoze DLBCL jer su se pokazali kao veoma značajan prognosni faktor, reproducibilni su i određuju se gotovo uvek u rutinskoj praksi.

Anemija kao prognosni faktor nije mnogo ispitivana kod bolesnika sa DLBCL. Uzurov i sar. su pokazali da anemija nije značajan prognosni faktor u svojoj seriji od 50 bolesnika (349). Suzuki i sar. su sa druge strane pokazali da u relapsu DLBCL anemija udružena sa kraćim ukupnim preživljavanjem bolesnika (350). Osim toga i Chihara i sar. (351) su pokazali da je anemija faktor koji utiče na lošu prognozu kod bolesnika sa DLBCL želuca, ali je u tom slučaju mehanizam anemije najčešće krvarenje koje je opet udruženo sa veličinom tumorske mase. U našoj seriji

bolesnika anemija nije bila značajan prognozni faktor. Bolesnici su podeljeni na grupe sa hemoglobinom nižim ili višim od 110g/l. Bilo je 27.34% bolesnika koji su imali anemiju u vreme dijagnoze. Nije bilo razlike u odgovoru na terapiju, niti u dužini PFS i OS kod obe grupe bolesnika.

Već više od 20 godina je poznato da bolesnici sa niskim nivoom albumina imaju lošiju prognozu (352). Nizak nivo albumina može da se dovede u vezu ili sa lošim nutritivnim statusom bolesnika, što je opet vezano i za performans status, lošom funkcijom jetre, gubitkom albumina u limfomom izazvanim efuzijama ili gubitkom proteina bubrežima zbog paraneoplastičkog nefrotskog sindroma, neretko udruženog sa NHL. U našoj seriji bolesnika nizak nivo albumina je izmeren u 21.25% bolesnika. Iako nivo albumina nije uticao na stopu kompletne remisije, značajno je uticao na dužinu trogodišnjeg PFS (Nizak 18.63% vs Normalan: 61.06%; $p=0.0004$) i OS (Nizak: 23.45% vs Normalan: 66.81%, $p=0.0005$).

Već je bilo diskutovano o incidenci B-simptoma u našoj grupi bolesnika. Oni su posledica lučenja citokina od strane tumora. Posledica ovog fenomena su i druge promene u organizmu zbog pojave ekscesa citokina: nefrotski sindrom i česta posledična hipoalbuminemija i anemija (353). U našoj seriji bolesnika pojava B-simptoma je nosila sa sobom prognozni značaj. Bolesnici koji su imali B-simptome imali su kraći PFS (46.9% vs 68.81%, $p=0.0256$) i OS (52.88% vs 75.22%, $p=0.0106$).

Nakon kliničkih i laboratorijskih parametara u drugom delu našeg rada bavili smo se prognoznim značajem dve različite patohistološke podele na centrobilasne, imunoblasne i anaplastične limfome, te podele na GCB i nonGCB podtip limfoma. Takođe hteli smo da uvidimo prognozni značaj ekspresije određenih molekularnih markera na ćelijama DLBCL. Neki od tih markera su već ispitivani i duže vreme poznati kao što su CD10, MUM-1, Bcl-6 (koji zajedno sačinjavaju Hans kriterijume za podelu na GCB i nonGCB podtip DLBCL), zatim Bcl-2, CD30, CD43, CD5, markere koji su odraza inflamacije i neoangiogeneze COX-2 i VEGF-A, jedan od markera pozitivnosti na Epstein-Barr virus EBV-LMP1, te markere koji pripadaju grupi stimulatora B-limfocita (BlyS), a čija je ekspresija vrlo malo ili nije uopšte ispitivana u ovom oboljenju BAFF-R, BCMA i TACI.

Tri su osnovne morfološke varijante DLBCL: centrobilasna (CB), imunoblasna (IB) i anaplastička (29). U našoj grupi bolesnika najveći broj (61.25%) je imao centrobilasnu varijantu DLBCL, 37.5% je imalo imunoblasnu, dok je samo jedan bolesnik (1.25%) od ukupno 80 analiziranih

imao anaplastičnu varijantu DLBCL. Zbog toga smo analizirali odnos centroblasne i imunoblasane varijante u pogledu odgovora na lečenje i preživljavanja bolesnika. Takođe korelirali smo kliničke, laboratorijske parametre i molekulske markere sa pojavom ovih podtipova DLBCL. U našoj seriji veći je procenat IB podtipa u odnosu na najveću seriju koja je analizirala ove parametre u kojoj je bilo 7.4% bolesnika sa IB DLBCL (41). Ostali literaturni navodi govore da IB morfologija čini oko 25% svih DLBCL (354). Kao što je već poznato u literaturi (41) imunoblasni podtip korelira sa ekspresijom MUM-1 receptora i češćom pojavom u nonGCB grupi. Ovo je slučaj i u našoj kohorti bolesnika gde postoji visoka korelacija IB podtipa i MUM-1 ekspresije ($p=0.0003$) i nonGCB fenotipa ($p=0.0052$). Osim toga u našoj studiji bolesnika IB varijanta korelira sa češćom primarnom ekstrapodalnom lokalizacijom ($p=0.0089$), a od molekularskih markera češće je udružen sa visokom ekspresijom CD20 ($p=0.0063$) i ekspresijom VEGF-A ($p=0.0041$). Obzirom da su imunoblasti po definiciji aktivisane B-ćelije određenim antigenom, logična je korelacija sa nonGCB podtipom koji je u suštini imunohistohemijski pandam aktivisanih B-ćelija odnosno njihovih malignih srodnika (49,55). U literaturi nismo pronašli vezu između imunoblasta i ekstrapodalne lokalizacija, kao ni vezu sa visokom CD20 ekspresijom i VEGF-A. Verovatno je sve ovo uloga imunoblasta odnosno njihova aktivacija antigenom, najčešće *Helicobacter pylori* infekcijom u želucu. Verovatna je i korelacija između VEGF-A i IB morfologije potreba aktivisanih ćelija za većom angiogenezom, ali za takve tvrdnje nema dokaza u postojećoj literaturi. Iako postoje i studije u kojima IB morfologija nije značajan faktor prognoze DLBCL (35), većina analiza ipak govori o negativnom efektu IB podtipa na preživljavanje bolesnika sa DLBCL. Engelhard i sar. (39) su demonstrirali duže preživljavanje bolesnika sa CB podtipom pre ere rituksimaba. Isti zaključak su iz svoje studije na 444 bolesnika izveli i Diebold i sar. (355). U eri rituksimaba Ott i sar. su u subanalizi RICOVER-60 studije (41) pokazali negativan prognostički značaj i kod bolesnika lečenih rituksimabom. Zanimljivo je da u ovoj grupi kod bolesnika koji su lečeni bez rituksimaba ne postoji negativan efekat IB podtipa. U našoj studiji morfološki podtip nije uticao na PFS ($p=0.9038$) ni OS ($p=0.7815$) što se ne uklapa u najveću prikazanu studiju i doprinosi daljem odlaganju odgovora o imunoblasnom podtipu kao faktoru negativne prognoze.

Razdvajanje DLBCL na podgrupe GCB i nonGCB poslednjih godina dobija sve više na značaju. Ovakva podela se prvi put spominje u literaturi 2000. godine kada su Alizadeh i sar. (49) tehnologijom mikročipova podelili DLBCL na GC-like i ABC-like grupu. GC-like grupa u toj

studiji imala je duže preživljavanje sa terapijom koja nije uključivala rituksimab. Obzirom na prognosni značaj podele, te zbog toga važnost određivanja podgrupe, a sa druge strane nisku dostupnost i visoku cenu mikročipova nekoliko autora je pokušalo da nađe adekvatan pandam ovoj metodi. Tako je nastalo nekoliko različitih imunohistohemijskih algoritama (55,130,265), od kojih je ipak algoritam Hans i sar. (55) najčešće korišten. Nijedan od ovih metoda nije u potpunosti saglasan sa mikročip analizama. Studije Nymana (267), Ilića (268), Sekija (269) i Benesove (272) su kao rezultat dobile jednako preživljavanje u obe ove grupe koristeći Hans metod razdvajanja. Sa druge strane retrospektivna analiza koja je urađena na našem Institutu, zajedno sa kolegama iz KBC Bežanijska Kosa, na 111 bolesnika pokazala je da grupa sa nonGCB podtipom DLBCL ima kraći trogodišnji EFS 67.6% vs 47.1%, $p=0.05$) i OS (59.6% vs 44.9%, $p=0.016$). U studiji su grupe bile uravnotežene po svim parametrima uključujući i IPI skor (271). Slične rezultate je objavio i Fu i sar. (270) gde je GCB grupa imala duži trogodišnji OS od nonGCB grupe bolesnika (85% vs 69%, $p=0.032$). U ovom radu 69.4% bolesnika pripadalo je nonGCB podtipu. Kao što je već napomenuto nonGCB je korelirao sa imunoblasnim podtipom DLBCL, ali ne korelira ni sa jednim drugim kliničko-laboratorijskim parametrom niti molekularnim markerom, uz napomenu da nismo testirali korelaciju za CD10, MUM-1 i Bcl-6 jer su ovi markeri deo Hans algoritma za razdvajanje ovih grupa. U našoj kohorti nije bilo razlike kako u odgovoru na primenjeno lečenje, tako ni u dužini PFS i OS između ove dve grupe bolesnika. Ovaj rezultat je konkordantan sa većinom objavljenih studija. Međutim, obzirom na postojanje i studija koje tvrde suprotno, konačan odgovor o prognosnom snažaju GCB/nonGCB podtipa verovatno neće nikada definitivno biti dostignut.

CD10 je marker na normalnim i malignim hematopoeznim ćelijama i na nekim ćelijama nehematopoeznog tkiva. Eskprimiran je na pro-B i pre-B ćelijama kao i na zrelih B-limfocitima germinalnog centra. Ovaj molekul reguliše B-ćelijsku proliferaciju i diferencijaciju, redukuje inflamatorni odgovor i enkefalinom izazvanu analgeziju (273). Relativno mali broj studija je ispitivao prognosni značaj CD10 molekula kod obolelih od DLBCL, već je CD10 korišćen kao deo svih imunohistohemijskih algoritama za razdvajanje GCB i nonGCB grupe DLBCL (55, 130, 265). U našoj studiji CD10 nije korelirao ni sa jednim kliničko-laboratorijskim parametrom, niti sa molekularnim markerom. CD10 je bio eksprimiran u 20.45% slučajeva našeg uzorka. Slično studiji Bodoora i sar. , i u našoj grupi bolesnika, CD10 nije značajno uticao na ukupno preživljavanje ($p=0.5736$). Osim toga u našoj studiji CD10 nije uticao ni na procenat postizanja

kompletnih remisija ($p=0.9868$), niti na PFS naših bolesnika ($p=0.8687$). Sa druge strane Sjo i sar. su pokazali da je CD10 marker povoljne prognoze. Međutim u ovoj studiji je samo šest od 108 bolesnika dobilo rituksimab (274). Culpin i sar. (357) demonstrirali da bolesnici koji su CD10- imaju kraće preživljavanje u odnosu na CD10+ bolesnike. Kao i kod većine drugih markera i kod CD10 ostaje nepotpuno jasno da li utiče ili ne na prognozu preživljavanja bolesnika sa DLBCL.

Bcl-6 pripada grupi cink-finger proteina, inhibitora transkripcije. Svoje efekte ostvaruje preko modifikacije ekspresije više od 500 gena i na taj način vrši kontrolu ćelijskog ciklusa. Slično CD10 i on je uvršten u različite algoritme za razlikovanje podgrupa DLBCL (55, 130) i najčešće je ispitivan u okviru navedenih algoritama, a nešto ređe kao izolovan parametar. U našoj grupi bilo je 48.42% Bcl-6+ DLBCL. Već više od 10 godina je poznato da je ekspresija Bcl-6 gena povoljan prognostički parametar u bolesnika sa DLBCL (358,359). Međutim u to vreme u lečenju bolesnika nije korišćen rituksimab i navedene studije su koristile RT-PCR, metodu i u današnje vreme nedostupnu mnogim laboratorijama. U to vreme studije u kojima je upotrebljavana imunohistohemijska analiza su pokazale slične rezultate, odnosno značaj ekspresije Bcl-6 kao povoljnog parametra u prognozi DLBCL. Već pomenuta studija Sjo i sar. (274) je pokazala da je ekspresija Bcl-6 povoljan prognostički parametar, kod bolesnika koji nisu lečeni rituksimabom. U najvećoj studiji koja je ispitivala značaj ekspresije Bcl-6 određen imunohistohemijom Winter i sar. (136) su pokazali da je ekspresija Bcl-6 faktor povoljne prognoze kod bolesnika lečenih CHOP hemioterapijom. Međutim grupa lečena kombinacijom rituksimaba i CHOP-a nema benefit od Bcl-6 ekspresije ni kod nalaiza EFS ($p=0.6$), niti kod analize OS ($p=0.7$). Sličnu rezultati su demonstrirani i u ovom radu. Ekspresija Bcl-6 nije uticala na stopu kompletnih remisija ($p=1$), PFS ($p=0.5451$) i OS ($p=0.2947$). Culpin i sar. (357) su ove godine objavili rad u kojem pokazuju da je ekspresija Bcl-6 niža od 60% korelira sa kraćim PFS. Međutim 60% je visok „cut-off“ koji obično nije upotrebljavan u ostalim studijama te je teško diskutovati rezultate ove studije u odnosu na naše rezultate. Interesanto je na u našoj grupi bolesnika ekspresija Bcl-6 pozitivno korelira sa Ki67 većim od 70% i ekspresijom VEGF-A. Korelacija između Ki67 je već zabeležena u literaturi (360). Ovaj fenomen se verovatno može objasniti uticajem Bcl-6 na ćelijski ciklus te samim tim i na bržu proliferaciju ćelija, izraženu kroz Ki67 „marker i najverovatnije povećanu angiogenezu izraženu kroz ekspresiju VEGF-A.

MUM-1/IRF-4 je treći protein koji je bitan za GCB/nonGCB diferencijaciju prema, najčešće upotrebljavanom Hans algoritmu (55). pripada grupi regulatornih receptora za interferon. Kao što smo već napomenuli korelira sa imunoblasnom histologijom kako u našoj grupi bolesnika, tako i u rezultatima drugih istraživanja (128). U našoj grupi je ekspirmiran u 62.64% slučajeva. Osim što je često udružen sa imunoblasnom histologijom, u našoj grupi bolesnika češće se javlja i kod bolesnica ženskog pola, a udružen je i sa pojavom anemije. Racionalu za korelaciju sa ženskim polom nije moguće odrediti, jer ne postoje nikakvi podaci o ovoj vezi u literaturi. Veoma je slična situacija sa objašnjenjem veze između ekspresije MUM-1/IRF4 i anemije. Jedino racionalno objašnjenje može biti fiziološka uloga IRF4 u regulaciji brojnih citokina (361). Iako nije navedeno moguće je dovesti IRF4 u vezu za IL-6, te posledične regulacije hepcidina i ravoja anemije (353). MUM-1 je važio za negativan prognozni marker pre rituksimaba, na osnovu rezultata studije (362). Međutim Seki i sar. su demonstrirali da je MUM-1 zaista prognozno loš parametar u bolesnika tretiranih CHOP terapijom, ali se taj efekat prognoze gubi kod bolesnika lečenih terapijom baziranom na rituksimabu (269). U našoj grupi bolesnika MUM-1 nije uticao na preživljavanje bolesnika, što se slaže sa rezultatima Sekijeve studije gde rituksimab briše prognozni značaj MUM-1 proteina.

Bcl-2 je verovatno marker koji je najviše ispitivan u prognozi DLBCL (314). Ovaj gen je otkriven pre 30 godina kada je uočena njegova ekspresija kao posledica translokacija (14;18) na ćelijama folikularnog limfoma (313). Bcl-2 je član gena koji kontrolišu unutrašnji put apoptoze. Uz Bcl-X1, BAX i BAK predstavlja gene koji imaju antiapoptotski efekat. Zbog ovog efekta navedenih gena dolazi do poremećaja programirane ćelijske smrti te do „besmrtnosti“ i neograničene proliferacije malignih ćelija (317). Zbog toga se ranijih godina smatralo da je Bcl-2 protein sa ključnom ulogom u rezistenciji na hemioterapiju (314). Krajem 90-tih godina prošlog veka Bcl-2 je smatran faktorom loše prognoze. Prvu studiju su objavili Gascoyne i sar. koji su testirali rearanžmane Bcl-2 gena i imunohistohemijsku ekspresiju Bcl-2 proteina kod bolesnika sa DLBCL (315). Zaključili su da je ekspresija Bcl-2 faktor loše prognoze kod bolesnika sa DLBCL lečenih MACOP-B i VACOP-B režimima. Isti zaključak su u svojoj studiji izveli Wilson i sar. lečivši svoje bolesnike EPOCH (CHOEP) protkolom (316). Pojavom rituksimaba rezultati su ponovo kontradiktorni. Wilson i sar. (134) su, kod boelsnika lečenih R-CHOP terapijom pokazali da nema razlike u pogledu PFS i OS kod bolesnika koji su Bcl-2 pozitivni ili negativni. Sa druge strane Nyman i sar. (132) su zabeležili razliku u preživljavanju bez povratka bolesti

(FFS) gde su bolesnici sa Bcl-2- DLBCL imali FFS 97% u odnosu na 71% kod Bcl-2+ slučajeva ($p=0.001$) i OS (97% vs 82%, $p=0.034$). Ova razlika je uglavnom uočena kod nonGCB slučajeva. Mounier i sar. (135) su, direktno poredivši uticaj Bcl-2 ekspresije kod grupa koje su dobijale CHOP i R-CHOP terapiju. Dodavanje rituksimaba CHOP hemioterapiji u odnosu na sam CHOP značajno je produžilo EFS (58% vs 32%, $p<0.001$) kod Bcl-2+ bolesnika, ali ne i kod Bcl-2- grupe (60% vs 40%, $p=0.13$). Autori su zaključili da se dodavanjem rituksimaba prevazilazi rezistencija na hemioterapiju uslovljena Bcl-2 ekspresijom. U našoj kohorti 41% bolesnika je Bcl-2+. Terapija rituksimabom u našoj grupi je izjednačila prognozu Bcl-2 pozitivnog i negativnog DLBCL. Stopa kompletnih remisija je 73.21% vs 72.09% ($p=0.9175$) trogodišnji PFS 53.97% vs 52.93% ($p=0.9452$) i OS (62.34% vs 59.62%) za Bcl-2- i Bcl-2+ grupu respektivno. Uočili smo pozitivnu korelaciju ekspresije Bcl-2 i molekula CD43 ($p=0.0048$), CD5 ($p=0.0209$), MUM-1 (0.0546) i graničnu pozitivnu korelaciju sa Cox-2 ($p=0.0629$). Jedinu rad u kojima smo pronašli da postoji korelacija između Bcl-2 i COX-2 je rad Koha i sar.(363) gde je ispitivan odnos ovih proteina kod bolesnika sa Hodgkinovim limfomom. U nekoliko studija nađena je korelacija Bcl-2 i CD 5 pozitivnosti (124, 324, 325). Svaki od ovih molekula utiče na nekoliko signalnih puteva koji dovode do ćelijske proliferacije ili bloka apoptoze. Aktivacija CD5 receptora utiče na brojne puteve ćelijskog opstanka uključujući aktivaciju NF- κ B, kao i put ERK kinaze i mTOR signalni put (364). I Bcl-2 utiče na brojne signalne puteve, između ostalog i na NF- κ B, kao i put ERK kinaze (317, 265). CD43 sa druge strane preko MAPK/p38/ERK puta utiče na ćelijsku proliferaciju, a takođe i blokira Fas-posredovanu apoptozu. Od nedavno se zna da se osim na hematopetskim ćelijama CD43 nalazi i na ćelijama brojnih solidnih tumora (366). Naše otkriće korelacije između ovih parametara kod DLBCL u ovom trenutku teško može da se objasni jer ne postoje egzaktni literaturni podaci. Ostaje da se ovaj rezultat potvrdi i u drugim studijama te da se ispita odnos i eventualan uticaj autokrine i parakrine stimulacije na međusobnu ekspresiju ovih molekula.

Ki-67 je nuklearni protein i marker ćelijske proliferacije. Slično Bcl-2 markeru ispitivan je u izuzetno velikom broju studija, ali i pored toga, kontraverzni rezultati studija, različite terapijske opcije i različite „cut-off“ vrednosti za ovaj protein, ne postoji definitivni odgovor o značaju ovog markera u prognozi DLBCL. Jovanovic i sar. (367) su u seriji od 50 bolesnika demonstrirali da je Ki-67, iskrimiran na više od 60% ćelija, marker loše prognoze i da su bolesnici koji su imali visok Ki67 imali petogodišnje preživljavanje od 40%, dok su bolesnici sa vrednošću Ki-67

nižom od 60% imali petogodišnji OS 80% ($p < 0.01$). Multivarijantna analiza potvrdila je ovu konstataciju. Gaudio i sar. su demonstrirali da je Ki-67 $> 80\%$ signifikantan parametar loše prognoze kod bolesnika sa DLBCL bez obzira da li su dobijali terapiju sa ili bez rituksimaba (368). Li i sar. (369) su pokazali da je visok Ki-67 loš prognozni parametar u bolesnika tretiranih rituksimabom. Međutim postoje i serije bolesnika u kojima je niži Ki-67 bio znak dobre prognoze. Hasselblom i sar. (370) su pokazali da bolesnici sa Ki-67 nižim od 49% imaju kraći PFS i OS. U našoj studiji Ki-67 nije bio značajan faktor prognoze. Kada smo podelili bolesnike na grupu sa Ki67 $\leq 70\%$ i $> 70\%$ nije bilo značajne razlike u pogledu postizanja kompletne remisije ($p = 0.8970$), niti u pogledu trogodišnjeg PFS ($\leq 70\%$: 49.79% vs $> 70\%$: 59.21%; $p = 0.3620$) i OS ($\leq 70\%$: 55.23% vs $> 70\%$: 61.72%; $p = 0.4$). U studiji Marković i sar. (371) Ki-67 takođe nije uticao na preživljavanje bolesnika sa DLBCL.

CD20 je B-limfocitni antigen. Njegova pozitivnost na ćelijama DLBCL definiše se kao minimum 30% pozitivnih ćelija u vidnom polju (55). Pozitivan je u blizu 99% DLBCL (12). Od 2003. godine u našoj instituciji lečena su samo dva slučaja CD20 negativnog DLBCL. Obzirom na mehanizam dejstva rituksimaba odlučili smo da ispitamo da li nivo ekspresije CD20, analiziran imunohistohemijskom metodom, korelira sa odgovorom na lečenje rituksimabom i da li ima prognozni značaj u preživljavanju bolesnika. Do sada u literaturi nismo našli studiju koja je analizirala preživljavanje bolesnika u odnosu na imunohistohemijsku ekspresiju CD20. Međutim dve studije su ispitivale ovaj problem, ali je CD20 određivan citološkom metodom protočne citometrije (PCM). Johnson i sar. (372) su analizirali 272 slučaja DLBCL PCM i IHH. i zaključili da na PCM 16% (43 bolesnika) ima negativan ili slab signal CD20. Takođe, ova grupa bolesnika ima i kraću medijanu do progresije bolesti 1.2 godine vs NR ($p < 0.001$) i ukupnog preživljavanja 3 godine vs NR ($p = 0.001$). Kada su ova 43 slučaja analizirali IHH 41 je bio pozitivan na CD20, što je govorilo u prilog daleko većoj senzitivnosti PCM u odnosu na IHH u analizi ovog parametra. Osim toga bolesnici koji su imali nizak nivo ekspresije CD20 bili su značajno češće CD5 pozitivni uz opasku da su autori isključili iz analize bolesnike sa Richterovom transformacijom. U studiji sličnog dizajna Suzuki i sar. (373) su takođe pokazali da bolesnici sa niskom ekspresijom CD20 PCM analizom imaju kraći PFS i OS. I u ovoj seriji bolesnika CD5+ je bila češća kod CD20 slabo pozitivnih bolesnika. Ovaj rezultat smo dobili i mi u našoj studiji gde je ekspresija CD5 korelirala sa ekspresijom CD20 nižom od 60% ($p = 0.0086$). Ovaj fenomen se može objasniti ili poreklom CD5+ ćelija DLBCL iz somatski mutirane CD5+ progenitorske B-

ćelije (373) ili interakcijom i uticajem CD5 molekula na B-ćelijski receptor i premećenim razvojem B-limfocita malignog kлона (364). Već smo opisali da visoka CD20 pozitivnost korelira sa imunoblasnom morfologijom, ali korelira i sa primarno ekstrapodalnom lokalizacijom DLBCL ($p=0.0374$). Ovakav podatak nismo pronašli u literaturi. U ovom radu procenat pozitivnih CD20 ćelija nije uticao statistički značajno na trogodišnji PFS ($p=0.3485$), međutim postojala je jasna tendencija ka kraćem PFS kod bolesnika koji imaju CD20 esprimiran na $\leq 60\%$ ćelija 27.82% u odnosu na grupu sa ekspresijom CD20 višom od 60% gde je PFS bio 55.23%. Obzirom da svo ovaj podatak ispitivali na samo 54 bolesnika, od kojih je 9 bilo sa niskom CD20 ekspresijom, verujemo da studija nije imala statističku snagu da pokaže uticaj ovog parametra te ćemo u daljem radu i praćenju većeg broja bolesnika pokušati da dokažemo prognoznu vrednost CD20 ekspresije. Niska ekspresija CD20 je imala nešto manji uticaj na ukupno preživljavanje bolesnika gde je 64.64% bolesnika sa niskom ekspresijom i 57.53% sa bolesnika višom ekspresijom preživelo tri godine ($p=0.6963$). Uticaj ovog parametra je izgubljen u OS analizi jer su bolesnici u drugoj i narednim linijama terapije dobijali lečenje bez rituksimaba, a poznat je i fenomen gubitka CD20 pozitivnosti nakon terapije bazirane na rituksimabu (374).

CD30 je transmembranski glikoprotein tipa I i član je porodice faktora nekroze tumora alfa ($TNF\alpha$). Ekspimiran je na malom broju aktiviranih T i B limfocita i NK ćelija, ali ne i na zerlim, neaktiviranim B i T ćelijama. Izuzetno retko je ekspimiran na ne-hematopoeznim tkivima. Njegova fiziološka uloga nije u potpunosti definisana. U signanom putu CD30 receptora učestvuje TRAF2 koji se razgrađuje i aktivira NF- κ B. Prekomerna aktivacija ovog signalnog puta dovodi do stalne aktivacije NF- κ B, bloka apoptoze i preživljavanja ćelija (318, 319, 375). CD30 je praktično marker za dijagnozu ALCL, ekspimiran je u NK-limfomu, Hodgkinovom limfomu, kao i u određenom broju slučajeva DLBCL-NOS, zatim primarnom medijastinalnom krupnoćelijskom limfomu, te u DLBCL asociranom sa EBV infekcijom (376). Maes i sar. su prvi demonstrirali povoljnu prognozu CD30+ DLBCL sličnu onoj kod ALK+ ALCL (322), međutim ova grupa bolesnika nije bila tretirana rituksimabom. Hu i sar. (323) su dali definitivnu potvrdu značaja CD30 molekula u prognozi DLBCL u retrospektivnoj studiji na preko 900 bolesnika sa DLBCL. Oni su isključili PMBL i EBV-DLBCL i analizirali samo slučajeve DLBCL-NOS. U njihovoj studiji bilo je 14% CD30+ DLBCL i ova podgrupa je imala duži PFS ($p=0.03$) i značajno duži petogodišnji OS (79% vs 59%, $p=0.001$). U editorijalu časopisa „Blood“, koji je izašao povodom objavljivanja pomenute studije, Chan (376) navodi izuzetan značaj studije, ali

navodi i potrebu za objašnjenjem kako i kojim mehanizmom CD30 dovodi do dužeg preživljavanja bolesnika sa DLBCL. Predloženo je nekoliko signalnih puteva koji se razlikuju kod CD30 pozitivnih ili negativnih DLBCL, ali nije dat definitivan odgovor. Campuzano-Zuluanga i sar. su doprineli analiziranju CD30 kod DLBCL gde su u studiji na 167 analizirali odnos CD30 i drugih bioloških parametara. U njihovoj studiji našli su korelaciju između ekspresije CD30 i Bcl-2, kao i učestalije javljanje CD30 kod nonGCB podtipa i bolesnika mlađih od 47 godina (377). Od 88 bolesnika za koje smo imali ovaj podatak 10 (11.36%) bilo je CD30+. Pronašli smo da je CD30 jedini molekularni parametar koji je korelirao sa IPI skorom i to tako da je više CD30+ bolesnika bilo u grupi sa nižim IPI skorom (0 i 1). Takođe pronašli smo visoku pozitivnu korelaciju sa BCMA receptorom ($p=0.0004$) i graničnu korelaciju sa VEGF-A ($p=0.0604$). Ove veze će biti opisane kada budemo govorili o navedenim markerima. Nismo našli korelaciju sa starošću, nonGCB podtipom, niti Bcl-2 ekspresijom kao u gore navedenoj studiji (377). Odgovor na lečenje se nije razlikovao u CD30+ i CD30-grupi bolesnika ($p=0.9637$). Grupa sa CD30+ DLBCL imala je snažnu tendenciju ka dužem PFS, ali zbog malog broja bolesnika ($n=10$) nije dostigla statističku značajnost (79.92% vs 54.39%, $p=0.1543$). Slična je situacija i kod analize OS (79.92% vs 61.32%, $p=0.2713$). Upoređujući naše rezultate sa rezultatima Hu i sar., postoji razlika u preživljavanju oko 20%, ali i nedovoljan broj bolesnika za statističku značajnost. Međutim, u našoj seriji bolesnika postoji moguća statistička sklonost ka boljem preživljavanju zbog korelacije sa niskim IPI skorem i neisključivanju bolesnika sa PMBL. Dalja istraživanja ovog markera u daće odgovor o značaju CD30 ekspresije u lečenju u naših bolesnika.

Jedan od najslabije istraženih markera u prognozi DLBCL je CD43. CD43 je eksprimiran na površini različitih hematopoeznih ćelija i učestvuje u prenosu signala sa površine u unutrašnjost ćelije. Učestvuje u različitim funkcijama ćelija, adheziji, kretanju, diferencijaciji i proliferaciji, a dokazano je da blokira Fas proteinom pokrenut spoljašnji put apoptoze (366, 378). Prognoznim značajem CD43 markera najviše se bavio Mitrović (378, 379). On je sa svojim saradnicima prvi put 2009. objavio da bolesnici sa DLBCL koji su CD43 pozitivni imaju lošiju prognozu od CD43 negativnih bolesnika (379). Međutim u ovoj seriji od 119 bolesnika samo je 62 primilo rituksimab. Međutim isti autor je u većoj studiji (378) potvrdio validnost ovog parametra i u grupi uniformno tretiranoj rituksimabom i ispitao je određene parametre vezane za ekspresiju CD43. Zaključio je da je CD43 eksprimiran u 18.6% slučajeva DLBCL, da je

učestaliji u nonGCB podgrupi 73% vs 27% ($p=0.002$). Ova imunohistohemijska korelacija potvrđena je i u 43 bolesnika koji su analizirani mikročipovima. CD43 je korelirao i sa lošijim performans statusom i višim IPI skorom. CD43 je u Mitrovićevoj grupi bolesnika korelirao sa lošijom prognozom, ali samo kod nonGCB slučajeva gde je trogodišnji EFS bio 21% za CD43+, a 56% za CD43- slučajeve DLBCL ($p<0.001$). Slični su rezultati vezani za OS (CD43+ 32% vs CD43- 71%; $p<0.001$). Nije bilo razlike u EFS i OS kod GCB podgrupe bolesnika. U našoj grupi bilo je 17.97% bolesnika sa CD43+ DLBCL. Uočena je pozitivna korelacija sa Bcl-2 receptorom koja je diskutovana ranije u tekstu, te pozitivna korelacija sa CD5 molekulom ($p=0.0312$), što može da se objasni zajedničkim učešćem u većem broju signalnih puteva apoptoze (365,366). U našem istraživanju CD43 nije uticao na RR, PFS i OS što nije u saglasnosti sa Mitrovićevom studijom (378). Koji je razlog ovim rezultatima teško je objasniti. Razlog sigurno nije geografski, jer je Mitrović svoj prvi rad u kojem je takođe dokazan negativan uticaj CD43 markera radio u Hrvatskoj (379). Potrebno je još nekoliko studija potvrdi ili odbaci ovaj marker kao validni prognostički činilac.

Sve se više govori o CD5+ DLBCL kao posebnom entitetu sa agresivnim tokom i lošom prognozom. CD5 je marker koji je ekspresiran na T-limfocitima, NK-ćelijama i određenim subpopulacijama B-limfocita. Ispoljen je na ćelijama HLL i mantle-cell limfoma i koristi se kao dijagnostički marker. Osim toga kada je pozitivan kod DLBCL u diferencijalnoj dijagnozi treba uzeti u obzir slučajeve Richerove transformacije, sekundarnog CD5+ DLBCL i intravaskularnog B-ćelijskog limfoma. CD5+ je pozitivan u 5-10% DLBCL (324). U našem ispitivanju 7 (7.14%) od 98 bolesnika je CD5+ i češće se javlja u bolesnika ženskog pola ($p=0.0693$), što je u skladu sa literaturnim podacima (324), osim toga korelira i sa pojavom B simptoma, što je takođe u skladu sa literaturnim podacima (326,327) Niži performans status je takođe povezan sa CD5 pozitivnošću (124,324,325). Već je ranije diskutovana korelacija CD5 pozitivnosti i ekspresije Bcl-2, CD43, kao i korelacije CD5 sa nižom ekspresijom CD20. Gotovo sve studije uniformno govore u prilog većoj agresivnosti i lošijoj prognozi CD5+ DLBCL. Yamaguchi i sar. (380) su pre više od 10 godina demonstrirali da je CD5 negativan prognostički faktor sa smanjenim odgovorom na primenjeno lečenje i češćim relapsima. Nakon toga su Ennishi i sar. analizirali ishod lečenja kod 121 bolesnika lečenog R-CHOP hemioterapijom (142). Poredili su Bcl-2 ekspresiju, GCB fenotip i ekspresiju CD5. Jedino je CD5 značajno uticao na dvogodišnji EFS (CD5+ 18% vs CD5- 73%, $p<0.001$) i dvogodišnji OS (CD5+ 45% vs CD5- 91%, $p=0.001$). Nakon toga su

Niitsu i sar. (325) objavili rad u koje su poredili ishod CD5+ DLBCL bilo da su lečeni CHOP ili R-CHOP hemioterapijom. Iako je rituksimab popravio ishod lečenja u obe grupe bolesnika, ostao je prognostički značaj CD5 kao markera loše prognoze. U našoj grupi bolesnika procenat kompletnih remisija se nije razlikovao u odnosu na CD5 pozitivnost ($p=0.8585$), međutim postojala je snažna, ali ne statistički značajna, tendencija ka daleko kraćem preživljavanju CD5+ bolesnika. Naime u CD5 grupi nijedan bolesnik nije preživeo tri godine bez relapsa bolesti u odnosu na 62.25% koliki je bio trogodišnji PFS za CD5- slučajeve. Međutim zbog malog broja slučajeva log rank test nije pokazao statističku značajnost ($p=0.2959$). Uprkos malom broju CD5+ slučajeva trogodišnji OS je bio značajno kraći kod CD5 bolesnika (0% vs 67.07%, $p=0.046$). Ovi podaci potpuno potvrđuju literaturne podatke o izuzetnom uticaju CD5 markera na loš ishod lečenja DLBCL i velikoj verovatnoći prepoznavanja CD5+ DLBCL kao zasebnog entiteta u sledećoj klasifikaciji limfoma. Obzirom na izuzetno loše rezultate lečenja (manje od 20% dvogodišnjeg EFS), potrebne su nove strategije u lečenju ovih bolesnika. Mantle cell limfom je najverovatnije srodna neoplazna sa CD5+ DLBCL kako zbog CD5 pozitivnosti, tako i zbog aktivacije mTOR signalnog puta od strane CD5 (364,381). Obzirom na mali broj bolesnika sa CD5+ DLBCL veoma je teško očekivati da će ikada biti organizovana faza III studije za ovu podgrupu bolesnika. Verovatnije će se primenjivati strategije slične drugim CD5+ i mTOR+ neoplazmama, pre svih mantle cell limfomu gde su određen uspeh doživeli mTOR inhibitor temsirolimus (381), intezivna hemioterapija sa visokim dozama ara-C i evetulana ASCT (382), te Bruton-kinaza inhibitor ibrutinib (383).

Ciklooksigenaza 2 (COX-2) je enzim koji utiče na metabolizam arahidonske kiseline stvarajući prostaglandine, molekule ključne u procesu inflamacije (275). Dve su osnovne forme ciklooksigenaza: COX-1 i COX-2, i dok je COX-1 stalno eksprimirana i održava bazični nivo prostaglandina, COX-2 je obično eksprimirana u aktiviranim ćelijama i medijator je povećane proizvodnje prostglandida kao odgovor na različite stimulse (276). COX-2 je povećano eksprimirana kod različitih vrsta tumora: karcinomu dojke, pluća, debelog creva i prostate (277), te kod različitih hematoloških maligniteta (278-280). Osim kod solidnih tumora (281), ekspresija COX-2 je značila lošiju prognozu i kod hematoloških maligniteta: hronične limfocitne leukemije, Hodgkinovog limfoma i multiplog mijeloma (278-280). Pozitivnost ekspresije COX-2 kod naše grupe bolesnika je bila 63.63%. U seriji Hazara i sar. 57% (282) je eksprimiralo COX-2 kod svih NHL, dok je u seriji Paydasa i sar. 71.6% DLBCL eksprimiralo ovaj marker. Pronašli smo

pozitivnu korelaciju COX-2 i VEGF-A. Ova korelacija je bila očekivana obzirom na činjenicu da je jedna od najvažnijih funkcija COX-2 stimulacija angiogeneze, procesa bitnog u rastu i širenju tumora. Ciklooksigenaza pojačano stvara PGE2 koji stimuliše stvaranje VEGF, indukuje stvaranje FGF2 i indirektno indukuje sekreciju VEGF preko EGFR signalnog puta. U zatvorenom krugu VEGF i FGF2 dodatno stimulišu stvaranje COX-2 (275). COX-2 korelira sa brojem limfocita nižim od $1 \times 10^9/l$. Ovakav podatak nismo našli u literaturi. Obzirom da se radi o ekspresiji COX-2 na malignim ćelijama teško da možemo dovesti u vezu ova dva parametra. O korelaciji COX-2 i Bcl-2 već je bilo reči. Jedan od najvažnijih signalnih puteva koje stimuliše PGE2, produkt delovanja ciklooksigenaze 2 je stvaranje NF- κ B i Bcl-2 (275), te najverovatnije zbog toga postoji korelacija ova dva proteina. Korelacija između COX-2 i BCMA ($p=0.0045$) se može objasniti jednim istraživanjem na ćelijskim kulturama, gde je u kulturama koje su sadržale BAFF i APRIL bilo veće koncentracije PGE2 i COX-2 i zaključeno je da BAFF i APRIL (BCMA ligandi) promovišu proliferaciju limfoblasta kroz stalnu aktivaciju COX-2 (384). Da li se ovim zaključkom može dovesti korelacija ekspresije ova dva proteina u vezu veliko je pitanje, pogotovo što ne postoji korelacija BAFF-R i TACI, druga dva receptora za ove ligande sa COX-2 u našoj seriji bolesnika. U serijama Hazara i Paydasa većina COX-2 pozitivnih limfoma bili su agresivne histologije (282,385). Hazar je prikazao značajan uticaj COX-2 pozitivnost na nižu stopu postignutih kompletnih remisija, ali bez uticaja na preživljvanje NHL. U jedinjoj seriji gde su ispitivani samo DLBCL ekspresija COX-2 nije uticala na preživljvanje bolesnika (284). Međutim ova grupa bolesnika nije lečena rituksimabom. Do sada nismo našli nijednu publikaciju gde je ispitivan značaj ekspresije COX-2 kod bolesnika lečenjih rituksimabom. Naši rezultati daju odgovor na ovo pitanje. COX-2 nije značajno uticao na prognozu bolesnika. Stopa kompletnih remisija nije se značajno razlikovala u COX-2+ i COX-2- grupi bolesnika ($p=0.5793$). Ekspresija nije uticala ni na PFS (COX-2+ 65.3% vs COX-2- 58.41%, $p=0.4364$) ni na OS (COX-2+ 69.4% vs COX-2- 62.5%, $p=0.4911$). Možemo zaključiti da COX-2 nije značajan parametar prognoze DLBCL u eri rituksimaba.

VEGF-A igra veoma važnu ulogu u neoangiogenezi kod velikog broja malignih bolesti. Neoangiogeneza je ključni faktor u rastu i metastaziranju tumora. U patogenezi limfoma neoangiogeneza takođe ima važnu ulogu. (285-288). Ekspresija VEGF postoji u različitim vrstama limfoma: DLBCL, MCL; PTCL, PEL i HLL (291). Kod DLBCL ekspresija VEGF je detektovana u 42-60% slučajeva. Gratzinger i sar. su zaključili da ekspresija VEGF korelira sa

VEGFR1 i VEGFR2, što potkrepljuje tvrdnju da postoji autokrini stimulacija limfomskih ćelija ka angiogenezi (295). Prognozni značaj VEGF i VEGF receptora je ispitivan u velikom broju studija. Hazar i sar. (386) su još 2003. godine ispitivali ekspresiju VEGF na parafinskim kalupima bolesnika sa DLBCL. Pronašli veću stopu kompletnih i parcijalnih remisija kod VEGF negativnih slučajeva ($p=0.003$). Ganjoo i sar. (298) su ispitivali ekspresiju VEGF-A, VEGF-C i VEGFR1 i zaključili da je VEGF-A eksprimiran u 77% slučajeva DLBCL i pokazala da bolesnici sa VEGF-A negativnim DLBCL imaju duži OS ($p=0.0502$). Takođe bolesnici sa VEGFR1 pozitivnim DLBCL imali su kraći OS od VEGFR1- DLBCL. Paydas i sar. su demonstrirali da je VEGF-A negativan faktor prognoze kod NHL, a zatim demonstrirali još veći značaj VEGF-C u prognozi NHL. Obzirom da je VEGF-C glavni medijator limfangiogeneze ovaj rad govori u prilog još većem značaju ovog procesa za progresiju NHL (297). U analizi objavljenoj 2008. (296), bolesnici lečeni antraciklinskom terapijom bez rituksimaba su imali bolje preživljavanje ukoliko je receptor VEGFR1 bio eksprimiran na ćelijama DLBCL. Takođe kombinacija ekspresije VEGF i VEGFR1 identifikovala je grupu bolesnika sa dužim PFS ($p=0.026$) i OS ($p=0.003$). U narednoj studiji istog autora (144) ispitivali su uticaj ekspresije VEGF, VEGFR1, VEGFR2 i fosforiliranog VEGFR2 kod bolesnika sa DLBCL lečenih rituksimabom. Pokazali su da bolesnici koji imaju ekspresiju VEGFR2 imaju kraće ukupno preživljavanje, kao i bolesnici sa fosforiliranim VEGFR2, dok VEGFR1 nije uticao na OS, osim kada je zajedno eksprimiran sa VEGF kada povoljno utiče na OS. Kim i sar. su pokazali da polimorfizam na VEGFR2 rs 1870377 značajno utiče na PFS i OS. (388). Nekoliko autora je ispitivalo i značaj nivoa solubilnog VEGF (sVEGF) kod bolesnika sa DLBCL. Milanović i sar. (389) su korelirali nivo sVEGF i veličinu tumorske mase u 29 bolesnika sa DLBCL. Odnos sVEGF i veličine tumorske mase bio je statistički graničan ($p=0.077$). Lech-Maranda i sar. (390) su demonstrirali da visok sVEGF pre započinjanja lečenja govori u prilog nižem odgovoru na primenjeno lečenje ($p=0.002$), kraćem trogodišnjem PFS ($p=0.0004$) i kraćem OS ($p=0.02$). Powell i sar. su ispitivali prognozni značaj hipoksijom inducibilnog faktora-1 α (HIF-1 α) u bolesnika sa DLBCL lečenih R-CHOP hemioterapijom, te korelaciju HIF-1 α , sa VEGF, Bcl-6, CD10 i MUM-1. Pronađena je značajna pozitivna korelacija između HIF-1 α i VEGF, ali nije bilo korelacija sa ostlim navedenim markerima. Ekspresija HIF-1 α je bila povoljniji prognozni parametar kod DLBCL (391). U našoj seriji bolesnika bilo je 46% pozitivnih na VEGF-A, što je nešto niži procenat u odnosu na pomenute serije bolesnika. VEGF-A u našoj seriji korelira sa imunoblasnom

histologijom, Bcl-6, CD30 i COX-2. Već je bilo reči o ovim korelacijama, i jedan se zaključak može izvesti: osim što očekivano VEGF-A korelira sa COX-2, korelira i sa Bcl-6 i CD30, oba proteina koji na više nivoa učestvuju u stimulaciji proliferacije ćelija. Verovatno je pokretanjem proliferacije ćelija potrebna veća vaskulatura te već pomenuti mehanizam autokrine stimulacije dovodi do veće ekspresije VEGF. U našoj seriji bolesnika ekspresije VEGF-A nije uticala na PFS, međutim postojala je izražena tendencija ka dužem OS kod bolesnika sa VEGF-A+ DLBCL (78.88% vs 56.03%, $p=0.1525$). Zbog malog uzorka nije dostignuta statistička značajnost. Ovaj rezultat zavređuje dalje ispitivanje. Ova tendencija je u skladu sa rezultatima Gratzinger (144) i Powella (391) gde za razliku sVEGF koji znači loše preživljavanje ekspresija VEGF-A na ćelijama DLBCL verovatno znači dobru prognozu.

Značaj Epstein-Barr virusa (EBV) je u toj meri izražen da je WHO prepoznala EBV+ DLBCL kao zaseban entitet (35). On je definisan pozitivnošću EBER, odnosno EBV enkodirane RNK, koja se određuje ISH metodama, te staroću bolesnika preko 50 godina. Ova starosta granica za definiciju ovog entiteta je arbitrarna jer se ovakva vrsta limfoma se može naći i kod mlađih Medijana starosti pojavljivanja je 71 godina (309). Za EBV+ DLBCL je karakteristična aktivacija NF- κ B kako kod nonGCB, tako i kod GCB DLBCL, podtipa kod kojeg ova aktivacija obično nije izražena. Međutim EBV-posredovana aktivacija NF- κ B, se najverovatnije odvija preko c-rel gena, karakterističnog za GCB podtip DLBCL (311). Obzirom da nismo imali tehničke mogućnosti za određivanje EBER, imunohistohemijski smo određivali EBV-LMP1 protein. Prema literaturnim podacima, iako je EBER osetljiviji za identifikaciju EBV, LMP1 je protein koji je odgovoran za pokretanje signalnih puteva proliferacije i blokiranja apoptoze kod EBV pozitivnih tumora. Konkordantnost EBER i EBV-LMP1 je oko 80% (309). EBV+ DLBCL ima lošiji odgovor na primenjenu terapiju i nezavisan je parametar lošijeg preživljavanja. U najvećem broju slučajeva se nalazi u III ili IV stadijumu bolesti sa češćim zahvatanjem kosne srži. (311). Za razliku od EBER+ DLBCL malo je studija koje su ispitivale uticaj EBV-LMP1 na preživljavanje bolesnika sa DLBCL. U najvećoj takvoj studiji Paydas i sar. na 88 slučajeva DLBCL su pokazali da je EBV-LMP1 pozitivnost jedan od najznačajnijih predikatora lošeg preživljavanja. Medijana preživljavanja EBV- slučajeva bila je 106 meseci, dok je medijana preživljavanja EBV+ bila 21 mesec ($p=0.0001$). Međutim ova grupa bolesnika nije lečena rituksimabom. U ovoj studiji 22% bolesnika su bili EBV+ (284). U našoj studiji je 39% bolesnika bilo EBV-LMP1 pozitivno. U dosadašnjoj literaturi nismo pronašli kao EBV-LMP1 pozitivnost

utiče na rezultate lečenja rituksimabom. Odgovor na to pitanje donosi ovaj rad. Bolesnici sa EBV+ i EBV- se nisu razlikovali po pitanju odgovora na terapiju, PFS, niti OS. EBV-LMP1 je još jedan marker čiju je prognoznostnu vrednost poništio lečenje rituksimabom.

Najvažniji deo ovog istraživanja bio je uticaj ekspresije tri receptora iz TNF familije: BAFF-R, BCMA i TACI. Navedeni receptori su medijatori signala dva liganda BAFF i APRIL koji predstavljaju grupu B-limfocitnih stimulatora (BLyS) (261). Najveći broj ispitivanja ovih receptora dolazi nam iz imunološke literature gde su navedeni receptori ispitivani u kontekstu patofiziologije i tretmana autoimunih oboljenja (248,257,259). Međutim, određen broj ispitivanja usmerio je pitanje i na značaj ove subfamilije receptora i liganada u patofiziologiji i prognozi limfoma i multiplog mijeloma. Nekoliko studija je ispitivalo serumski nivo BLyS kod zdravih dobrovoljaca i obolelih od NHL. Novak i sar. su pokazali da je nivo BLyS veći kod obolelih od NHL nego kod zdrave populacije. Takođe su demonstrirali da nivo BLyS raste kod limfoma koji su u transformaciji u agresivniju formu, a takođe su demonstrirali da viši nivo serumskog BLyS utiče nepovoljno na prognozu lečenja bolesnika sa DLBCL (258). U drugom članku Novak i sar. su pokazali da je nivo BLyS viši u bolesnika sa familijarnom HLL, nego u sporadičnoj varijanti ove bolesti (392). Osim ovoga, na ulogu BLyS u nastanku NHL ukazuje i studija u kojoj kod bolesnika sa Sjogrenovim sindromom porast BLyS korelira sa pojavom limfoproliferativnih oboljenja (393). Navedene činjenice su ukazivale na mogućnost da ekspresija navedena tri receptora mogu da ukažu na nepovoljnu prognozu kod bolesnika sa DLBCL. Istraživanje signalnih puteva je, takođe, ukazivalo na mogućnost nepovoljnog prognostičkog delovanja ekspresije navedenih receptora. Nakon vezivanja APRIL ili BAFF liganda na BCMA i/ili TACI aktiviraju se TRAF molekuli signalnog puta. BCMA receptor aktivira TRAF 2, TRAF 5 i TRAF 6, koji nakon toga aktiviraju kinaze koje aktiviraju NF- κ B, IKK α i IKK β . Tako aktivirani NF- κ B utiče na ekspresiju i aktivaciju više gena koji dovode do proliferacije ćelije i bloka apoptoze (Bcl-2 i Bcl-Xl). Aktivacija BCMA dovodi i do aktivacije JNK/p38/ERK puta, važnog u indukovanju transkripcije, diferencijacije i proliferacije ćelija (394). BAFF-R ima nešto drugačiji signalni put. Naime, aktivacija BAFF-R dovodi do degradacije TRAF3, molekula koji ne aktivira klasični NF- κ B put. TRAF3 najverovatnije nije pozitivan regulator signala za opstanak ćelije, a poznato je da svojom degradacijom može da inhibira signale TRAF2 i TRAF5 (240). Verovatnije je da BAFF-R indukuje aktivaciju alternativnog NF- κ B puta putem aktivacije NIK kinaze (240). Slično BCMA i TACI aktivira klasičan NF- κ B put i indukuje aktivaciju TRAF2, 5 i 6 i snažan je

aktivator NF- κ B. Međutim postoje i radovi u kojima se demonstrira indukcija apoptoze agonističkim TACI antitelima, te je uloga TACI molekula relativno kontraverzna. Osim klasičnog i alternativnog NF- κ B signalnog puta BAFF-R, BCMA i TACI aktivacija stimuliše degradaciju proapoptotskog proteina Bim, putem MEK i ERK aktivacije (240). Znajući ove činjenice krenuli smo u istraživanje ova tri receptora sa idejom da mogu biti vesnici loše prognoze lečenja DLBCL. Međutim Wada i sar.(255), jedina grupa autora koja je ispitivala uticaj ekspresije BAFF-R i TACI kod DLBCL je demonstrirala da bolesnici sa BAFF-R+ DLBCL imaju bolju prognozu ($p=0.0492$), dok TACI nije imao prognostički značaj. U ovoj studiji autori su pokazali da ekspresija BAFF-R korelira sa GCB podtipom, dok ekspresija TACI, korelira sa nonGCB podtipom. Mi ovakav rezultati nismo imali. U našoj grupi bolesnika ova tri parametra su međusobno korelirala. Osim toga BAFF-R i BCMA receptor su pozitivno koreliralo sa ekspresijom EBV-LMP1 receptora, $p=0.0117$ i $p=0.0227$. Ova korelacija je delom očekivana jer je poznato da EBV infekcija B-limfocita dovodi do indukcije ekspresije BAFF i APRIL proteina (395), te moguće i prekomerne ekspresije njihovih receptora. O korelaciji CD30 i BCMA ima malo podataka u literaturi. Ono što je zajedničko za oba molekula je da aktiviraju TRAF2, preko kojeg učestvuju u aktivaciji NF- κ B (240,319). Druge studije nisu ispitivale korelacije koje smo mi dobili u našem istraživanju. Još su samo dve studije ispitivale ekspresiju BAFF-R kod limfoma bez analize odgovora na terapiju (254,256). Studije su demonstrirale da je ekspresija BAFF-R kod DLBCL 78% (254) odnosno 44% (256). U već pomenutoj studiji Wada i sar. (255) 63% DLBCL je BAFF-R+, dok je 58% TACI+. U svim pomenutim studijama (254-256) ekspresija BAFF-R je visoka u low grade limfomima i MCL; dok uopšte ne postoji kod Hodgkinovog limfoma i T-ćelijskih limfoma. Ekspresija BAFF-R u našoj studiji bila je 69%, BCMA 25% i TACI 28%. Posledica ovih razlika u ekspresiji BAFF-R je najverovatnije različita „cut-off“ vrednost uzimana u studijama. U našoj grupi bolesnika ekspresija BAFF-R ($p=0.8610$), BCMA ($p=0.2359$) i TACI ($p=0.9052$) nije statistički značajno uticala na stopu kompletnih remisija, mada je postojala tendencija ka boljem odgovoru bolesnika sa BCMA+ DLBCL (88.24% vs 69.57%). Međutim ekspresija BAFF-R i BCMA značajno utiču na ishod lečenja. BAFF-R+ bolesnici imali su statistički granično duži trogodišnji PFS (70.91% vs 47.41%, $p=0.1138$) i značajno duži OS (77.37% vs 47.41%, $p=0.0364$). BCMA pozitivnost je takđe značajan prediktor dužeg preživljavanja bolesnika sa DLBCL: PFS (BCMA+ 87.50% vs BCMA- 54.53%, $p=0.0236$), OS (BCMA+ 93.75% vs BCMA- 57.54%, $p=0.0234$). Kada smo grupisali bolesnike na one koji su

imali jedan od ova dva receptora pozitivna u odnosu na one koji su imali oba receptora negativna dobili smo takođe granično značajnu razliku u PFS (BAFF-R ili BCMA+: 71.76% vs BAFF-R i BCMA- 44.54%, $p=0.0615$) i značajnu razliku u OS (BAFF-R ili BCMA+: 78.17% vs BAFF-R i BCMA-: 44.54%, $p=0.0193$). TACI receptor analiziran sam nije značajno uticao na PFS ($p=0.8239$) i OS ($p=0.6417$). Međutim, kako pripada zajedničkoj familiji receptora sa BAFF-R i BCMA koji takođe dele iste ligande, pokušali smo da napravimo skor vezan za ova tri receptora, pa smo tako podelili bolesnike na one sa sva tri negativna receptora, sa jedim ili dva pozitivna i sa sva tri pozitivna. Bolesnici koji su imali sva tri negativna receptora imali smo trogodišnje preživljavanje od 44.54% , sa 1-2 pozitivna 64.0%, a sa sva tri pozitivna 92.29%. Ovaj rezultat je zbog malog uzorka imao graničnu statističku značajnost ($p=0.0761$), ali zavređuje dalje istraživanje na ovom polju. Prema našim saznanjima ovo je prva studija koja demonstrira značaj BCMA markera u lečenju DLBCL i takođe prva studija koja demonstrira značaj BAFF-R u eri rituksimaba. Značaj ovih markera za preživljavanje bolesnika trebao bi da bude više korišćen u svakodnevnoj kliničkoj praksi.

Iako se marker BCMA u univarijantnoj analizi pokazao kao značajan prognozni za PFS, a receptori BAFF-R, BCMA i CD5 značajni u prognozi OS, ova značajnost se nije održala u multivarijantnoj analizi, u kojoj su se samo IPI skor za PFS i broj limfocita i IPI skor za OS pokazali kao značajni parametri. Ovim rezultatom možemo zaključiti da je IPI skor i dalje najvalidniji parametar prognoze lečenja DLBCL.

VII ZAKLJUČCI

1. Dve trećine bolesnika sa difuznim B-krupnoćelijskim limfomom žive duže od tri godine.
2. International prognostic index (IPI skor) je najznačajniji faktor prognoze lečenja bolesnika sa difuznim B-krupnoćelijskim limfomom.
3. Bolesnici sa difuznim B-krupnoćelijskim limfomom koji pre započinjanja lečenja imaju broj limfocita $\leq 1 \times 10^9/l$ imaju kraće vreme do progresije bolesti i kraće ukupno preživljavanje.
4. Bolesnici sa difuznim B-krupnoćelijskim limfomom koji pre započinjanja lečenja imaju nizak nivo albumina imaju kraće vreme do progresije bolesti i kraće ukupno preživljavanje.
5. Bolesnici oboleli od difuznog B-krupnoćelijskog limfoma sa prisutnim B-simptomima imaju kraće vreme do progresije bolesti i kraće ukupno preživljavanje.
6. Bolesnici oboleli od difuznog B-krupnoćelijskog limfoma muškog pola imaju kraće vreme do progresije bolesti.
7. Bolesnici oboleli od difuznog B-krupnoćelijskog limfoma koji eksprimira BCMA receptor imaju duže vreme do progresije bolesti i duže ukupno preživljavanje.
8. Bolesnici oboleli od difuznog B-krupnoćelijskog limfoma koji eksprimira BAFF receptor imaju duže ukupno preživljavanje.
9. Bolesnici oboleli od difuznog B-krupnoćelijskog limfoma koji eksprimira CD5 receptor imaju kraće ukupno preživljavanje.
10. Bolesnici koji ekspimiraju sva tri receptora BAFF-R, BCMA i TACI imaju trogodišnje preživljavanje u preko 90% slučajeva.

11. Parametri: primarno ekstrapodalna lokalizacija, nivo hemoglobina, GCB/nonGCB podtip, morfološki podtip, ekspresija CD10, MUM-1, Bcl-6, Bcl-2, procenat ekspresije CD20, ekspresija CD30, CD43, COX-2, VEGF-A, EBV-LMP1i TACI nisu uticali na vreme do progresije bolesti i ukupno preživljavanje.

VIII LITERATURA

1. Shankland K, Armitage J, Hancock Non/Hodgkin Lymphoma Lancet 2012; 380: 848-57
2. Office for National Statistics. Cancer statistics registrations: registrations of cancer diagnosed in 2007, England. Series MB1 no.38. Surrey, UK: Office of Public Sector Information, 2010.
3. Cancer Research UK. Non-Hodgkin lymphoma (NHL) statistics—key facts. <http://info.cancerresearchuk.org/cancerstats/keyfacts/non-hodgkin-lymphoma/>
4. Jemal A, Siegel R, Xu J, Ward E. Cancer statistics, 2010. CA Cancer J Clin 2010; 60: 277–300.
5. Anderson JR, Armitage JO, Weisenburger DD. Epidemiology of the non-Hodgkin's lymphomas: distributions of the major subtypes differ by geographic locations. Non-Hodgkin's Lymphoma Classification Project. Ann Oncol 1998; 9: 717–20.
6. Cancer Research UK. Non-Hodgkin lymphoma—UK incidence statistics. <http://info.cancerresearchuk.org/cancerstats/types/nhl/incidence/>
7. National Cancer Institute. SEER stat fact sheets: non-Hodgkin lymphoma. <http://seer.cancer.gov/statfacts/html/nhl.html>
8. Naresh KN, Srinivas V, Soman CS. Distribution of various subtypes of non-Hodgkin's lymphoma in India: a study of 2773 lymphomas using R.E.A.L. and WHO Classifications. Ann Oncol 2000; 11 (suppl 1): 63–67.
9. Devesa SS, Fears T. Non-Hodgkin's lymphoma time trends: United States and international data. Cancer Res 1992; 52 (suppl): 5432s–40s.
10. Cartwright R, Brincker H, Carli PM, Clayden D, Coebergh JW, Jack A, et al. The rise in incidence of lymphomas in Europe 1985-1992 Eur J Cancer 1999 Apr;35(4):627-33.
11. Cancer Research UK press release. Long term survival from once-deadly cancers doubles. Monday 12 July 2010 <http://info.cancerresearchuk.org/news/archive/pressrelease/2010-07-12-deadlycancer-survival-doubles>
12. Friedberg J, Mauch P, Rimsza L, Fisher R Section 2: Non-Hodgkin Lymphomas from DeVita et al Cancer, principles and practice of Oncology LWW 2008
13. Farinha P, Gascoyne RD Helicobacter pylori and MALT lymphoma. Gastroenterology 2005; 128: 1579-605

14. Gandhi MK, Khanna R, Viruses and lymphoma. *Pathology* 2005; 37: 420-33
15. Mele A, Pulsoni A, Bianco E, et al. Hepatitis C virus and non-Hodgkin lymphomas: an Italian multicenter case-control study. *Blood* 2003; 102: 996-9
16. Le Bien TW, Tedder TF. B-lymphocytes: how they develop and function. *Blood* 2008; 112: 1570-80
17. Kondo E, Yoshino T. Expression of apoptosis regulators in germinal centers and germinal center-derived B-cell lymphomas: Insight into B-cell lymphomagenesis. *Pathology International* 2007; 57: 391-7
18. Ultmann JE The management of lymphoma *Ca J Clin* 1971; 21(6): 342-59
19. Lennert K, Stein H, Kaiserling E. Cytological and functional criteria for the classification of malignant lymphomata *Br J Cancer Suppl.* 1975; 2:29-43.
20. Jaffe ES, Harris NL, Stein H, Vardiman JW World health organisation classification of tumours: pathology and genetics of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues Lyon: IARC Press 2001.
21. Jaffe ES, Harris NL, Stein H, Isaacson PG Classification of lymphoid neoplasms: the microscope as a tool for disease discovery *Blood* 2008; 112(12): 4384-99.
22. Campo E, Swerdlow S, Harris N, Pileri S, Stein H, Jaffe ES The 2008 WHO classification of lymphoid neoplasms and beyond: evolving concepts and practical applications *Blood* 2011; 117 (19): 5019-32
23. Carbone PP, Kaplan HS, Musshoff K, Smithers DW, Tubiana M. Report of the committee on Hodgkin's disease staging classification. *Cancer Res* 1971; 31: 1860–61
24. Narayanan S, Savage KJ. Staging and prognostic factors. In: Armitage JO, Mauch PM, Harris NL, Coiffier B, Dalla-Favera R, eds. *Non-Hodgkin lymphomas*, 2nd edn. Philadelphia, PA: Wolters Kluwer and Lippincott Williams and Wilkins, 2010: 149–71.
25. White LM, Schweitzer ME, Khalili K, Howarth DJ, Wunder JS, Bell RS. MR imaging of primary lymphoma of bone: variability of T2-weighted signal intensity. *AJR Am J Roentgenol* 1998; 170: 1243–47.
26. Elstrom R, Guan L, Baker G, Nakhoda K, Vergilio JA, Zhuang H Utility of FDG-PET scanning in lymphoma by WHO classification. *Blood*. 2003 May 15;101(10):3875-6.
27. Jovanovic D, Lucic S, Petrovic D, Popovic L, Jovanovic D Uloga PET&CT u lecenju bolesnika sa limfomom I kongres hematologa BiH 2010 Abstract book.

28. Colomo L, López-Guillermo A, Perales M, Rives S, Martínez A, Bosch F et al. Clinical impact of the differentiation profile assessed by immunophenotyping in patients with diffuse large B-cell lymphoma *Blood*. 2003 Jan 1;101(1):78-84.
29. Mey U, Hitz F, Lohri A, Pederiva S, Taverna C, Tzankov A Diagnosis and treatment of diffuse large B-cell lymphoma *Swiss Med Wkly*. 2012 Jan 30;142:w13511
30. Sehn L Paramount prognostic factors that guide therapeutic strategies in diffuse large B-cell lymphoma *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2012.2012: 402-9.
31. Anon. A clinical evaluation of the International Lymphoma Study Group classification of non-Hodgkin's lymphoma. The Non-Hodgkin's Lymphoma Classification Project *Blood*. 1997 Jun 1;89(11):3909-18
32. 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 Aug;16(8):2780-95.
33. Hummel M, Anagnostopoulos I, Korbjuhn P, Stein H Epstein-Barr virus in B-cell non-Hodgkin's lymphomas: unexpected infection patterns and different infection incidence in low- and high-grade types *J Pathol*. 1995 Mar;175(3):263-71
34. Park S, Lee J, Ko YH, Han A, Jun HJ, Lee SC et al. The impact of Epstein-Barr virus status on clinical outcome in diffuse large B-cell lymphoma *Blood*. 2007 Aug 1;110(3):972-8.
35. Swerdlow S, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri S, Stein H et al. Who classification of haematopoietic and lymphoid tissues Lyon: IACR 2008
36. Campbell J, Seymour JF, Matthews J, Wolf M, Stone J, Juneja S The prognostic impact of bone marrow involvement in patients with diffuse large cell lymphoma varies according to the degree of infiltration and presence of discordant marrow involvement *Eur J Haematol*. 2006 Jun;76(6):473-80.
37. Chung R, Lai R, Wei P, Lee J, Hanson J, Belch AR Concordant but not discordant bone marrow involvement in diffuse large B-cell lymphoma predicts a poor clinical outcome independent of the International Prognostic Index *Blood*. 2007 Aug 15;110(4):1278-82.
38. Popovic L. , Jovanovic D., Petrovic D., Sundji A., Petrovic N., Roganovic T., Kukic B. Prognostic factors in the treatment of primary extranodal diffuse large B-cell lymphoma with rituximab-based immunochemotherapy *Haematologica* 2011; 96 (Supp 2):560

39. Engelhard M, Brittinger G, Huhn D, Gerhartz HH, Meusers P, Siegert W et al. Subclassification of diffuse large B-cell lymphomas according to the Kiel classification: distinction of centroblastic and immunoblastic lymphomas is a significant prognostic risk factor *Blood*. 1997 Apr 1;89(7):2291-7.
40. Lennert K, Feller AC *Histopathology of non-Hodgkin lymphoma* 1992 Springer Verlag Berlin
41. Ott G, Ziepert M, Klapper W, et al. Immunoblastic morphology but not the immunohistochemical GCB/nonGCB classifier predicts outcome in diffuse large B-cell lymphoma in the RICOVER-60 trial of the DSHNHL. *Blood*. 2010;116:4916–25
42. Haralambieva E, Pulford KA, Lamant L, Pileri S, Roncador G, Gatter KC Anaplastic large-cell lymphomas of B-cell phenotype are anaplastic lymphoma kinase (ALK) negative and belong to the spectrum of diffuse large B-cell lymphomas *Br J Haematol*. 2000 Jun;109(3):584-91.
43. Popovic L, Popovic M, Jelic M Resistance to rituximab treatment: mechanisms and therapeutic interventions. *Med Danas* 2013 (Ahead of print)
44. Loddenkemper C, Anagnostopoulos I, Hummel M, Jöhrens-Leder K, Foss HD, Jundt F, et al. Differential Emu enhancer activity and expression of BOB.1/OBF.1, Oct2, PU.1, and immunoglobulin in reactive B-cell populations, B-cell non-Hodgkin lymphomas, and Hodgkin lymphomas *J Pathol*. 2004 Jan;202(1):60-9.
45. Barrans SL, Fenton JA, Banham A, Owen RG, Jack AS Strong expression of FOXP1 identifies a distinct subset of diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) patients with poor outcome *Blood*. 2004 Nov 1;104(9):2933-5.
46. Miller TP, Grogan TM, Dahlberg S, Spier CM, Braziel RM, Banks PM et al. Prognostic significance of the Ki-67-associated proliferative antigen in aggressive non-Hodgkin's lymphomas: a prospective Southwest Oncology Group trial *Blood*. 1994 Mar 15;83(6):1460-6.
47. B. Mihaljevic, D. Antic, B. Andjelic, D. Lekovic, D. Jovanovic, L. Popovic et al. High Ki-67 protein expression as prognostic factor in diffuse large B-cell lymphoma – experience of Serbian Lymphoma study Group Abstract 416; International Society of Haematology Congress, Jerusalem , Israel 2010.

48. Pasqualucci L, Neumeister P, Goossens T, Nanjangud G, Chaganti RS, Küppers R, Dalla-Favera R Hypermutation of multiple proto-oncogenes in B-cell diffuse large-cell lymphomas *Nature*. 2001 Jul 19;412(6844):341-6.
49. Alizadeh AA, Eisen MB, Davis RE, Ma C, Lossos IS, Rosenwald A et al. Distinct types of diffuse large B-cell lymphoma identified by gene expression profiling *Nature*. 2000 Feb 3;403(6769):503-11.
50. Rosenwald A, Wright G, Chan WC, Connors JM, Campo E, Fisher RI et al. The use of molecular profiling to predict survival after chemotherapy for diffuse large-B-cell lymphoma *N Engl J Med*. 2002 Jun 20;346(25):1937-47.
51. Hummel M, Bentink S, Berger H, Klapper W, Wessendorf S, Barth TF et al. A biologic definition of Burkitt's lymphoma from transcriptional and genomic profiling *N Engl J Med*. 2006 Jun 8;354(23):2419-30.
52. Bea S, Zettl A, Wright G, Salaverria I, Jehn P, Moreno V et al. Diffuse large B-cell lymphoma subgroups have distinct genetic profiles that influence tumor biology and improve gene-expression-based survival prediction *Blood*. 2005 Nov 1;106(9):3183-90.
53. Tagawa H, Suguro M, Tsuzuki S, Matsuo K, Karnan S, Ohshima K et al. Comparison of genome profiles for identification of distinct subgroups of diffuse large B-cell lymphoma *Blood*. 2005 Sep 1;106(5):1770-7.
54. De Paepe P, Achten R, Verhoef G, Wlodarska I, Stul M, Vanhentenrijk V et al. Large cleaved and immunoblastic lymphoma may represent two distinct clinicopathologic entities within the group of diffuse large B-cell lymphomas *J Clin Oncol*. 2005 Oct 1;23(28):7060-8.
55. Hans CP, Weisenburger DD, Greiner TC, Gascoyne RD, Delabie J, Ott G et al. Confirmation of the molecular classification of diffuse large B-cell lymphoma by immunohistochemistry using a tissue microarray *Blood*. 2004 Jan 1;103(1):275-82.
56. Amen F, Horncastle D, Elderfield K, Banham AH, Bower M, Macdonald D et al. Absence of cyclin-D2 and Bcl-2 expression within the germinal centre type of diffuse large B-cell lymphoma identifies a very good prognostic subgroup of patients *Histopathology*. 2007 Jul;51(1):70-9.
57. Dogan A, Burke JS, Goteri G, Stitson RN, Wotherspoon AC, Isaacson PG Micronodular T-cell/histiocyte-rich large B-cell lymphoma of the spleen: histology, immunophenotype, and differential diagnosis *Am J Surg Pathol*. 2003 Jul;27(7):903-11.

58. Achten R, Verhoef G, Vanuytsel L, De Wolf-Peeters C T-cell/histiocyte-rich large B-cell lymphoma: a distinct clinicopathologic entity *J Clin Oncol*. 2002 Mar 1;20(5):1269-77.
59. Abramson JS T-cell/histiocyte-rich B-cell lymphoma: biology, diagnosis, and management *Oncologist*. 2006 Apr;11(4):384-92
60. Achten R, Verhoef G, Vanuytsel L, De Wolf-Peeters C Histiocyte-rich, T-cell-rich B-cell lymphoma: a distinct diffuse large B-cell lymphoma subtype showing characteristic morphologic and immunophenotypic feature *Histopathology*. 2002 Jan;40(1):31-45.
61. Smith JR, Brazier RM, Paoletti S, Lipp M, Ugucioni M, Rosenbaum JT et al. Expression of B-cell-attracting chemokine 1 (CXCL13) by malignant lymphocytes and vascular endothelium in primary central nervous system lymphoma *Blood*. 2003 Feb 1;101(3):815-21.
62. Rubenstein JL, Fridlyand J, Shen A, Aldape K, Ginzinger D, Batchelor T et al. Gene expression and angiotropism in primary CNS lymphoma *Blood*. 2006 May 1;107(9):3716-23.
63. Booman M, Douwes J, Glas AM, Riemersma SA, Jordanova ES, Kok K, et al. Mechanisms and effects of loss of human leukocyte antigen class II expression in immune-privileged site-associated B-cell lymphoma *Clin Cancer Res*. 2006 May 1;12(9):2698-705.
64. Cobbers JM, Wolter M, Reifenberger J, Ring GU, Jessen F, An HX et al. Frequent inactivation of CDKN2A and rare mutation of TP53 in PCNSL *Brain Pathol*. 1998 Apr;8(2):263-76.
65. Montesinos-Rongen M, Van Roost D, Schaller C, Wiestler OD, Deckert M. Primary diffuse large B-cell lymphomas of the central nervous system are targeted by aberrant somatic hypermutation *Blood*. 2004 Mar 1;103(5):1869-75.
66. Weber T, Weber RG, Kaulich K, Actor B, Meyer-Puttlitz B, Lampel S et al. Characteristic chromosomal imbalances in primary central nervous system lymphomas of the diffuse large B-cell type *Brain Pathol*. 2000 Jan;10(1):73-84.
67. Willemze R, Jaffe ES, Burg G, Cerroni L, Berti E, Swerdlow SH WHO-EORTC classification for cutaneous lymphomas *Blood*. 2005 May 15;105(10):3768-85.
68. Kodama K, Massone C, Chott A, Metze D, Kerl H, Cerroni L. Primary cutaneous large B-cell lymphomas: clinicopathologic features, classification, and prognostic factors in a large series of patients *Blood*. 2005 Oct 1;106(7):2491-7.
69. Hoefnagel JJ, Vermeer MH, Jansen PM, Fleuren GJ, Meijer CJ, Willemze R et al. Bcl-2, Bcl-6 and CD10 expression in cutaneous B-cell lymphoma: further support for a follicle

- centre cell origin and differential diagnostic significance *Br J Dermatol.* 2003 Dec;149(6):1183-91.
70. Oyama T, Yamamoto K, Asano N, Oshiro A, Suzuki R, Kagami Y et al. Age-related EBV-associated B-cell lymphoproliferative disorders constitute a distinct clinicopathologic group: a study of 96 patients *Clin Cancer Res.* 2007 Sep 1;13(17):5124-32.
71. Aozasa K, Ohsawa M, Iuchi K, Tajima K, Komatsu H, Shimoyama M Artificial pneumothorax as a risk factor for development of pleural lymphoma *Jpn J Cancer Res.* 1993 Jan;84(1):55-7.
72. Hongyo T, Kurooka M, Taniguchi E, Iuchi K, Nakajima Y, Aozasa K, Nomura T Frequent p53 mutations at dipyrimidine sites in patients with pyothorax-associated lymphoma *Cancer Res.* 1998 Mar 15;58(6):1105-7.
73. Kanno H, Naka N, Yasunaga Y, Iuchi K, Yamauchi S, Hashimoto M, Aozasa K Production of the immunosuppressive cytokine interleukin-10 by Epstein-Barr-virus-expressing pyothorax-associated lymphoma: possible role in the development of overt lymphoma in immunocompetent hosts *Am J Pathol.* 1997 Jan;150(1):349-57.
74. Kanno H, Yasunaga Y, Iuchi K, Yamauchi S, Tatekawa T, Sugiyama H, Aozasa K Interleukin-6-mediated growth enhancement of cell lines derived from pyothorax-associated lymphoma *Lab Invest.* 1996 Aug;75(2):167-73.
75. Cheuk W, Chan AC, Chan JK, Lau GT, Chan VN, Yiu HH Metallic implant-associated lymphoma: a distinct subgroup of large B-cell lymphoma related to pyothorax-associated lymphoma? *Am J Surg Pathol.* 2005 Jun;29(6):832-6.
76. Copie-Bergman C, Niedobitek G, Mangham DC, Selves J, Baloch K, Diss TC et al. Epstein-Barr virus in B-cell lymphomas associated with chronic suppurative inflammation *J Pathol.* 1997 Nov;183(3):287-92.
77. Goodlad JR, Hollowood K, Smith MA, Chan JK, Fletcher CD Primary juxtaarticular soft tissue lymphoma arising in the vicinity of inflamed joints in patients with rheumatoid arthritis *Histopathology.* 1999 Mar;34(3):199-204.
78. Nakatsuka S, Yao M, Hoshida Y, Yamamoto S, Iuchi K, Aozasa K Pyothorax-associated lymphoma: a review of 106 cases *Clin Oncol.* 2002 Oct 15;20(20):4255-60.
79. Petitjean B, Jardin F, Joly B, Martin-Garcia N, Tilly H, Picquenot JM et al. Pyothorax-associated lymphoma: a peculiar clinicopathologic entity derived from B cells at late stage of

- differentiation and with occasional aberrant dual B- and T-cell phenotype *Am J Surg Pathol*. 2002 Jun;26(6):724-32.
80. Nishiu M, Tomita Y, Nakatsuka S, Takakuwa T, Iizuka N, Hoshida Y et al. Distinct pattern of gene expression in pyothorax-associated lymphoma (PAL), a lymphoma developing in long-standing inflammation *Cancer Sci*. 2004 Oct;95(10):828-34.
81. Kanno H, Nakatsuka S, Iuchi K, Aozasa K Sequences of cytotoxic T-lymphocyte epitopes in the Epstein-Barr virus (EBV) nuclear antigen-3B gene in a Japanese population with or without EBV-positive lymphoid malignancies *Int J Cancer*. 2000 Nov 15;88(4):626-32.
82. Kanno H, Ohsawa M, Hashimoto M, Iuchi K, Nakajima Y, Aozasa K HLA-A alleles of patients with pyothorax-associated lymphoma: anti-Epstein-Barr virus (EBV) host immune responses during the development of EBV latent antigen-positive lymphomas *Int J Cancer*. 1999 Aug 27;82(5):630-4.
83. Katzenstein AL, Carrington CB, Liebow AA Lymphomatoid granulomatosis: a clinicopathologic study of 152 cases. *Cancer*. 1979 Jan;43(1):360-73.
84. Haque AK, Myers JL, Hudnall SD, Gelman BB, Lloyd RV, Payne D, Borucki M Pulmonary lymphomatoid granulomatosis in acquired immunodeficiency syndrome: lesions with Epstein-Barr virus infection *Mod Pathol*. 1998 Apr;11(4):347-56.
85. Sordillo PP, Epremian B, Koziner B, Lacher M, Lieberman P Lymphomatoid granulomatosis: an analysis of clinical and immunologic characteristics *Cancer*. 1982 May 15;49(10):2070-6.
86. Wilson WH, Kingma DW, Raffeld M, Wittes RE, Jaffe ES Association of lymphomatoid granulomatosis with Epstein-Barr viral infection of B lymphocytes and response to interferon-alpha 2b. *Blood*. 1996 Jun 1;87(11):4531-7.
87. Jaffe ES, Wilson WH Lymphomatoid granulomatosis: pathogenesis, pathology and clinical implications *Cancer Surv*. 1997;30:233-48.
88. Lipford EH Jr, Margolick JB, Longo DL, Fauci AS, Jaffe ES Angiocentric immunoproliferative lesions: a clinicopathologic spectrum of post-thymic T-cell proliferations *Blood*. 1988 Nov;72(5):1674-81
89. Teruya-Feldstein J, Jaffe ES, Burd PR, Kanegane H, Kingma DW, Wilson WH et al. The role of Mig, the monokine induced by interferon-gamma, and IP-10, the interferon-gamma-

- inducible protein-10, in tissue necrosis and vascular damage associated with Epstein-Barr virus-positive lymphoproliferative disease *Blood*. 1997 Nov 15;90(10):4099-105
90. Cazals-Hatem D, Lepage E, Brice P, Ferrant A, d'Agay MF, Baumelou E et al. Primary mediastinal large B-cell lymphoma. A clinicopathologic study of 141 cases compared with 916 nonmediastinal large B-cell lymphomas, a GELA ("Groupe d'Etude des Lymphomes de l'Adulte") study *Am J Surg Pathol*. 1996 Jul;20(7):877-88
91. Lazzarino M, Orlandi E, Paulli M, Sträter J, Klersy C, Gianelli U et al. Treatment outcome and prognostic factors for primary mediastinal (thymic) B-cell lymphoma: a multicenter study of 106 patients *J Clin Oncol*. 1997 Apr;15(4):1646-53
92. Savage KJ, Al-Rajhi N, Voss N, Paltiel C, Klasa R, Gascoyne RD, Connors JM Favorable outcome of primary mediastinal large B-cell lymphoma in a single institution: the British Columbia experience *Ann Oncol*. 2006 Jan;17(1):123-30.
93. Zinzani PL, Martelli M, Bertini M, Gianni AM, Devizzi L, Federico M et al. Induction chemotherapy strategies for primary mediastinal large B-cell lymphoma with sclerosis: a retrospective multinational study on 426 previously untreated patients *Haematologica*. 2002 Dec;87(12):1258-64
94. Paulli M, Sträter J, Gianelli U, Rousset MT, Gambacorta M, Orlandi E et al. Mediastinal B-cell lymphoma: a study of its histomorphologic spectrum based on 109 cases *Hum Pathol*. 1999 Feb;30(2):178-87.
95. Foppoli M, Citterio G, Donadoni G, Govi S, Ferreri AJ The primary mediastinal lymphoma: state of the art and therapeutical perspectives *Recenti Prog Med*. 2013 May;104(5):203-8.
96. Barth TF, Leithäuser F, Joos S, Bentz M, Möller P Mediastinal (thymic) large B-cell lymphoma: where do we stand? *Lancet Oncol*. 2002 Apr;3(4):229-34.
97. Pileri SA, Gaidano G, Zinzani PL, Falini B, Gaulard P, Zucca E et al. Primary mediastinal B-cell lymphoma: high frequency of BCL-6 mutations and consistent expression of the transcription factors OCT-2, BOB.1, and PU.1 in the absence of immunoglobulins *Am J Pathol*. 2003 Jan;162(1):243-53.
98. Möller P, Moldenhauer G, Momburg F, Lämmle B, Eberlein-Gonska M, Kiesel S, Dörken B 13.

Mediastinal lymphoma of clear cell type is a tumor corresponding to terminal steps of B cell differentiation *Blood*. 1987 Apr;69(4):1087-95.

99. Ferreri AJ, Campo E, Seymour JF, Willemze R, Ilariucci F, Ambrosetti A et al. Intravascular lymphoma: clinical presentation, natural history, management and prognostic factors in a series of 38 cases, with special emphasis on the 'cutaneous variant' *Br J Haematol*. 2004 Oct;127(2):173-83.

100. Ponzoni M, Ferreri AJ, Campo E, Facchetti F, Mazzucchelli L, Yoshino T et al. Definition, diagnosis, and management of intravascular large B-cell lymphoma: proposals and perspectives from an international consensus meeting *J Clin Oncol*. 2007 Jul 20;25(21):3168-73.

101. Ponzoni M, Arrighi G, Gould VE, Del Curto B, Maggioni M, Scapinello A et al. Lack of CD 29 (beta1 integrin) and CD 54 (ICAM-1) adhesion molecules in intravascular lymphomatosis *Hum Pathol*. 2000 Feb;31(2):220-6.

102. Reichard KK, McKenna RW, Kroft SH ALK-positive diffuse large B-cell lymphoma: report of four cases and review of the literature *Mod Pathol*. 2007 Mar;20(3):310-9.

103. Stachurski D, Miron PM, Al-Homsi S, Hutchinson L, Harris NL, Woda B, Wang SA Anaplastic lymphoma kinase-positive diffuse large B-cell lymphoma with a complex karyotype and cryptic 3' ALK gene insertion to chromosome 4 q22-24 *Hum Pathol*. 2007 Jun;38(6):940-5.

104. Colomo L, Loong F, Rives S, Pittaluga S, Martínez A, López-Guillermo A et al. Diffuse large B-cell lymphomas with plasmablastic differentiation represent a heterogeneous group of disease entities *Am J Surg Pathol*. 2004 Jun;28(6):736-47.

105. Delecluse HJ, Anagnostopoulos I, Dallenbach F, Hummel M, Marafioti T, Schneider U et al. Plasmablastic lymphomas of the oral cavity: a new entity associated with the human immunodeficiency virus infection *Blood*. 1997 Feb 15;89(4):1413-20.

106. Dong HY, Scadden DT, de Leval L, Tang Z, Isaacson PG, Harris NL Plasmablastic lymphoma in HIV-positive patients: an aggressive Epstein-Barr virus-associated extramedullary plasmacytic neoplasm *Am J Surg Pathol*. 2005 Dec;29(12):1633-41.

107. Oksenhendler E, Boulanger E, Galicier L, Du MQ, Dupin N, Diss TC et al. High incidence of Kaposi sarcoma-associated herpesvirus-related non-Hodgkin lymphoma in patients with HIV infection and multicentric Castleman disease *Blood*. 2002 Apr 1;99(7):2331-6.

108. Nador RG, Cesarman E, Chadburn A, Dawson DB, Ansari MQ, Sald J, Knowles DM Primary effusion lymphoma: a distinct clinicopathologic entity associated with the Kaposi's sarcoma-associated herpes virus *Blood*. 1996 Jul 15;88(2):645-56.
109. Said JW, Tasaka T, Takeuchi S, Asou H, de Vos S, Cesarman E et al. Primary effusion lymphoma in women: report of two cases of Kaposi's sarcoma herpes virus-associated effusion-based lymphoma in human immunodeficiency virus-negative women *Blood*. 1996 Oct 15;88(8):3124-8.
110. Coupland SE, Charlotte F, Mansour G, Maloum K, Hummel M, Stein H HHV-8-associated T-cell lymphoma in a lymph node with concurrent peritoneal effusion in an HIV-positive man *Am J Surg Pathol*. 2005 May;29(5):647-52.
111. Lechapt-Zalcman E, Challine D, Delfau-Larue MH, Haioun C, Desvaux D, Gaulard P Association of primary pleural effusion lymphoma of T-cell origin and human herpesvirus 8 in a human immunodeficiency virus-seronegative man *Arch Pathol Lab Med*. 2001 Sep;125(9):1246-8.
112. McClure RF, Remstein ED, Macon WR, Dewald GW, Habermann TM, Hoering A, Kurtin PJ Adult B-cell lymphomas with burkitt-like morphology are phenotypically and genotypically heterogeneous with aggressive clinical behavior *Am J Surg Pathol*. 2005 Dec;29(12):1652-60.
113. Le Gouill S, Talmant P, Touzeau C, Moreau A, Garand R, Juge-Morineau N, et al. The clinical presentation and prognosis of diffuse large B-cell lymphoma with t(14;18) and 8q24/c-MYC rearrangement *Haematologica*. 2007 Oct;92(10):1335-42.
114. Zarate-Osorno A, Medeiros LJ, Longo DL, Jaffe ES. Non-Hodgkin's lymphomas arising in patients successfully treated for Hodgkin's disease. A clinical, histologic, and immunophenotypic study of 14 cases *Am J Surg Pathol*. 1992 Sep;16(9):885-95.
115. García JF, Mollejo M, Fraga M, Forteza J, Muniesa JA, Pérez-Guillermo M et al. Large B-cell lymphoma with Hodgkin's features *Histopathology*. 2005 Jul;47(1):101-10.
116. Traverse-Glehen A, Pittaluga S, Gaulard P, Sorbara L, Alonso MA, Raffeld M, Jaffe ES Mediastinal gray zone lymphoma: the missing link between classic Hodgkin's lymphoma and mediastinal large B-cell lymphoma *Am J Surg Pathol*. 2005 Nov;29(11):1411-21.
117. Aukema SM, Siebert R, Schuurin E, van Imhoff GW, Kluin-Nelemans HC, Boerma EJ, Kluin PM Double-hit B-cell lymphomas *Blood*. 2011 Feb 24;117(8):2319-31.

118. Montoto S, Fitzgibbon J. Transformation of indolent B-cell lymphomas J Clin Oncol. 2011 May 10;29(14):1827-34.
119. Lee AI, LaCasce AS. Nodular lymphocyte predominant Hodgkin lymphoma Oncologist. 2009 Jul;14(7):739-51.
120. Wong E, Dickinson M. Transformation in follicular lymphoma: biology, prognosis, and therapeutic options Curr Oncol Rep. 2012 Oct;14(5):424-32.
121. Rossi D, Gaidano G Richter syndrome: molecular insights and clinical perspectives Hematol Oncol. 2009 Mar;27(1):1-10.
122. Garvin AJ, Simon RM, Osborne CK, Merrill J, Young RC, Berard CW An autopsy study of histologic progression in non-Hodgkin's lymphomas. 192 cases from the National Cancer Institute Cancer. 1983 Aug 1;52(3):393-8.
123. Noy A, Schöder H, Gönen M, Weissler M, Ertelt K, Cohler C et al. The majority of transformed lymphomas have high standardized uptake values (SUVs) on positron emission tomography (PET) scanning similar to diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) Ann Oncol. 2009 Mar;20(3):508-12.
124. The International Non-Hodkins lymphoma Prognostic Factors Project. A predictive model for aggressive non-Hodkins lymphoma. N Engl J Med 1993;329:987-94
125. Hamlin PA, Zelenetz AD, Kewalramani T, Qin J, Satagopan JM, Verbel D, et al. Age-adjusted international prognostic index predicts autologous stem cell transplantation outcome for patients with relapsed or primary refractory diffuse large B-cell lymphoma. Blood 2003; 102: 1989-96.
126. Sehn LH, Berry B, Chhanabhai M, Fitzgerald C, Gill K, Hoskins P The revised International Prognostic Index (R-IPI) is a better predictor of outcome than the standard IPI for patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with R-CHOP Blood. 2007 Mar 1;109(5):1857-61.
127. Ziepert M, Hasenclever D, Kuhnt E, Glass B, Schmitz N, Pfreundschuh M, Loeffler M Standard International prognostic index remains a valid predictor of outcome for patients with aggressive CD20+ B-cell lymphoma in the rituximab era J Clin Oncol. 2010 May 10;28(14):2373-80.
128. Ninan MJ, Wadhwa PD, Gupta P Prognostication of diffuse large B-cell lymphoma in the rituximab era Leuk Lymphoma. 2011 Mar;52(3):360-73.

129. Lossos IS, Morgensztern D. Prognostic biomarkers in diffuse large B-cell lymphoma. *J Clin Oncol* 2006;24:995–1007.
130. Choi WW, Weisenburger DD, Greiner TC, Piris MA, Banham AH, Delabie J, et al. A new immunostain algorithm classifies diffuse large B-cell lymphoma into molecular subtypes with high accuracy. *Clin Cancer Res* 2009;15:5494–5502.
131. Copie-Bergman C, Gaulard P, Leroy K, Briere J, Baia M, Jais JP, et al. Immunofluorescence in situ hybridization index predicts survival in patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with RCHOP: a GELA study. *J Clin Oncol* 2009;27:5573–5579.
132. Nyman H, Jerkeman M, Karjalainen-Lindsberg ML, Banham AH, Enblad G, Leppa S. Bcl-2 but not FOXP1, is an adverse risk factor in immunochemotherapy-treated nongerminal center diffuse large B-cell lymphomas. *Eur J Haematol* 2009;82:364–372.
133. Natkunam Y, Farinha P, Hsi ED, Hans CP, Tibshirani R, Sehn LH, et al. LMO2 protein expression predicts survival in patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with anthracycline-based chemotherapy with and without rituximab. *J Clin Oncol* 2008;26:447–454.
134. Wilson KS, Sehn LH, Berry B, Chhanabhai M, Fitzgerald CA, Gill KK, et al. CHOP-R therapy overcomes the adverse prognostic influence of BCL-2 expression in diffuse large B-cell lymphoma. *Leuk Lymphoma* 2007; 48:1102–1109.
135. Mounier N, Briere J, Gisselbrecht C, Emile JF, Lederlin P, Sebban C, et al. Rituximab plus CHOP (R-CHOP) overcomes bcl-2-associated resistance to chemotherapy in elderly patients with diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL). *Blood* 2003;101:4279–4284.
136. Winter JN, Weller EA, Horning SJ, Krajewska M, Variakojis D, Habermann TM, et al. Prognostic significance of Bcl-6 protein expression in DLBCL treated with CHOP or R-CHOP: a prospective correlative study. *Blood* 2006;107:4207–4213.
137. Evens AM, Sehn LH, Farinha P, Nelson BP, Raji A, Lu Y., et al. Hypoxia-inducible factor-1 {alpha} expression predicts superior survival in patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with RCHOP. *J Clin Oncol* 2010;28:1017–1024.
138. Yoshikawa T, Hara T, Tsurumi H, Goto N, Hoshi M, Kitagawa J, et al. Serum concentration of L-kynurenine predicts the clinical outcome of patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with R-CHOP. *Eur J Haematol* 2010;84:304–309.
139. Ninomiya S, Kanemura N, Tsurumi H, et al. The immunohistochemical pattern of indoleamine 2,3-dioxygenase in tumor tissue indicates the prognosis of patients with

- diffuse large B-cell lymphoma. *Blood* 2009;114(Suppl. 1): Abstract 2924.
140. Hara T, Tsurumi H, Goto N, Kanemura N, Yoshikawa T, Kasahara S, et al. Serum soluble Fas level determines clinical outcome of patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with CHOP and R-CHOP. *J Cancer Res Clin Oncol* 2009; 135:1421–1428.
141. Seki R, Ohshima K, Fujisaki T, Uike N, Kawano F, Gondo H, et al. Prognostic significance of S-phase kinase-associated protein 2 and p27kip1 in patients with diffuse large B-cell lymphoma: effects of rituximab. *Ann Oncol* 2010;21:833–841.
142. Ennishi D, Takeuchi K, Yokoyama M, Asai H, Mishima Y, Terui Y, et al. CD5 expression is potentially predictive of poor outcome among biomarkers in patients with diffuse large B-cell lymphoma receiving rituximab plus CHOP therapy. *Ann Oncol* 2008;19:1921–1926.
143. Goto N, Tsurumi H, Kasahara S, et al. Serum interleukin-18 level determines clinical outcome in patients with diffuse large B-cell lymphoma in rituximab era. *Blood* 2009; 114(Suppl. 1): Abstract 1926
144. Gratzinger D, Advani R, Zhao S, Talreja N, Tibshirani RJ, Shyam R, et al. Lymphoma cell VEGFR2 expression detected by immunohistochemistry predicts poor overall survival in diffuse large B cell lymphoma treated with immunochemotherapy (R-CHOP). *Br J Haematol* 2010;148:235–244.
145. Farinha P, Sehn LH, Skinnider B, et al. Strong p53 expression is an independent predictor of outcome in de novo diffuse large B cell lymphoma (DLBCL) treated with either CHOP or CHOP-R. *Blood* 2006;108(Suppl. 1): Abstract 812.
146. Kim SJ, Lee SJ, Choi IY, Park Y, Choi CW, Kim IS, et al. Serum BAFF predicts prognosis better than APRIL in diffuse large B-cell lymphoma patients treated with rituximab plus CHOP chemotherapy. *Eur J Haematol* 2008;81:177–184.
147. Savage KJ, Johnson NA, Ben-Neriah S, Connors JM, Sehn LH, Farinha P, et al. MYC gene rearrangements are associated with a poor prognosis in diffuse large B-cell lymphoma patients treated with R-CHOP chemotherapy. *Blood* 2009;114:3533–3537.
148. Winter JN, Li S, Aurora V, Variakojis D, Nelson B, Krajewska M, Zhang L, et al. Expression of p21 protein predicts clinical outcome in DLBCL patients older than 60 years treated with R-CHOP but not CHOP: a prospective ECOG and Southwest Oncology Group correlative study on E4494. *Clin Cancer Res* 2010;16:2435–2442.

149. Lenz G, Wright G, Dave SS, Xiao W, Powell J, Zhao H et al. Stromal gene signatures in large-B-cell lymphomas *N Engl J Med*. 2008 Nov 27;359(22):2313-23.
150. Jahnke K, Thiel E, Martus P, Herrlinger U, Weller M, Fischer L et al. Relapse of primary central nervous system lymphoma: clinical features, outcome and prognostic factors *J Neurooncol*. 2006 Nov;80(2):159-65.
151. Grange F, Bekkenk MW, Wechsler J, Meijer CJ, Cerroni L, Bernengo M et al. Prognostic factors in primary cutaneous large B-cell lymphomas: a European multicenter study *J Clin Oncol*. 2001 Aug 15;19(16):3602-10.
152. Dijkman R, Tensen CP, Jordanova ES, Knijnenburg J, Hoefnagel JJ, Mulder AA et al. Array-based comparative genomic hybridization analysis reveals recurrent chromosomal alterations and prognostic parameters in primary cutaneous large B-cell lymphoma *J Clin Oncol*. 2006 Jan 10;24(2):296-305.
153. Nakajima Y, Waku M, Kojima A, Sato Y, Miyanaga S et al. Prognosis of the surgical treatment for non-Hodgkin lymphoma originating from chronic tuberculous empyema--analysis of 11 cases with pleuropneumectomy *Nihon Kyobu Geka Gakkai Zasshi*. 1996 Apr;44(4):484-92.
154. Narimatsu H, Ota Y, Kami M, Takeuchi K, Suzuki R, Matsuo K et al. Clinicopathological features of pyothorax-associated lymphoma; a retrospective survey involving 98 patients *Ann Oncol*. 2007 Jan;18(1):122-8.
155. Rosenwald A, Wright G, Leroy K, Yu X, Gaulard P, Gascoyne RD et al. Molecular diagnosis of primary mediastinal B cell lymphoma identifies a clinically favorable subgroup of diffuse large B cell lymphoma related to Hodgkin lymphoma *J Exp Med*. 2003 Sep 15;198(6):851-62.
156. van de Schans SA, Wymenga AN, van Spronsen DJ, Schouten HC, Coebergh JW, Janssen-Heijnen ML Two sides of the medallion: poor treatment tolerance but better survival by standard chemotherapy in elderly patients with advanced-stage diffuse large B-cell lymphoma *Ann Oncol*. 2012 May;23(5):1280-6.
157. Müller C, Murawski N, Wiesen MH, Held G, Poeschel V, Zeynalova S et al. The role of sex and weight on rituximab clearance and serum elimination half-life in elderly patients with DLBCL *Blood*. 2012 Apr 5;119(14):3276-84.

158. Lin TL, Kuo MC, Shih LY, Dunn P, Wang PN, Wu JH et al. The impact of age, Charlson comorbidity index, and performance status on treatment of elderly patients with diffuse large B cell lymphoma *Ann Hematol.* 2012 Sep;91(9):1383-91.
159. B Mihaljevic ,D Antic ,B Andjelic ,L Popovic ,D Agic ,V Nikolic, et al. New prognostic model in follicular non-Hodgkin lymphoma treated with rituximab chop: association of comorbidities with overall survival *Haematologica* 2012 (EHA 2012 abstr 1698)
160. Piccirillo JF, Creech C, Zequeira R Inclusion of comorbidity into oncology data registries *J Reg Mngt* 1999; 26: 6670
161. Salvi F, Miller MD, Grilli A, Giorgi R, Towers AL, Morichi V A manual of guidelines to score the modified cumulative illness rating scale and its validation in acute hospitalized elderly patients *J Am Geriatr Soc.* 2008 Oct;56(10):1926-31.
162. Sorrow ML, Maris MB, Storb R, Baron F, Sandmaier BM, Maloney DG, Storer B Hematopoietic cell transplantation (HCT)-specific comorbidity index: a new tool for risk assessment before allogeneic HCT *Blood.* 2005 Oct 15;106(8):2912-9.
163. Gallamini A, Hutchings M, Rigacci L, Specht L, Merli F, Hansen M et al. Early interim 2-[18F]fluoro-2-deoxy-D-glucose positron emission tomography is prognostically superior to international prognostic score in advanced-stage Hodgkin's lymphoma: a report from a joint Italian-Danish study *J Clin Oncol.* 2007 Aug 20;25(24):3746-52.
164. Moskowitz CH. Interim PET-CT in the management of diffuse large B-cell lymphoma *Hematology Am Soc Hematol Educ Program.* 2012;2012:397-401.
165. Fisher RI, Miller TP, O'Connor OA. Diffuse aggressive lymphoma. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program.* 2004;221–36.
166. Cabanillas F. Front-line management of diffuse large B cell lymphoma. *Curr Opin Oncol.* 2010;22:642–5.
167. Fisher RI, Gaynor ER, Dahlberg S, Oken MM, Grogan TM, Mize EM et al. Comparison of a standard regimen (CHOP) with three intensive chemotherapy regimens for advanced non-Hodgkin's lymphoma. *N Engl J Med.* 1993;328:1002–6.
168. Coiffier B, Haioun C, Ketterer N, Engert A, Tilly H, Ma D, et al. Rituximab (anti-CD20 monoclonal antibody) for the treatment of patients with relapsing or refractory aggressive lymphoma: a multicenter phase II study. *Blood.* 1998;92:1927–32.

169. Maloney DG, Grillo-López AJ, White CA, Bodkin D, Schilder RJ, Neidhart JA., et al. IDEC-C2B8 (Rituximab) anti-CD20 monoclonal antibody therapy in patients with relapsed low-grade non-Hodgkin's lymphoma. *Blood*. 1997;90:2188–95.
170. McLaughlin P, Grillo-López AJ, Link BK, Levy R, Czuczman MS, Williams ME, et al. Rituximab chimeric anti-CD20 monoclonal antibody therapy for relapsed indolent lymphoma: half of patients respond to a four-dose treatment program. *J Clin Oncol*. 1998;16:2825–33.
171. Coiffier B. State-of-the-art therapeutics: diffuse large B-cell lymphoma. *J Clin Oncol*. 2005;23:6387–93.
172. Coiffier B, Lepage E, Briere J, Herbrecht R, Tilly H, Bouabdallah R, et al. CHOP chemotherapy plus rituximab compared with CHOP alone in elderly patients with diffuse large-B-cell lymphoma. *N Engl J Med*. 2002;346:235–42.
173. Feugier P, Van Hoof A, Sebban C, Solal-Celigny P, Bouabdallah R, Fermé C, et al. Long-term results of the R-CHOP study in the treatment of elderly patients with diffuse large B-cell lymphoma: a study by the Groupe d'Etude des Lymphomes de l'Adulte. *J Clin Oncol*. 2005;23:4117–26.
174. Coiffier B, Thieblemont C, Van Den Neste E, Lepeu G, Plantier I, Castaigne S, et al. Long-term outcome of patients in the LNH-98.5 trial, the first randomized study comparing rituximab-CHOP to standard CHOP chemotherapy in DLBCL patients: a study by the Groupe d'Etudes des Lymphomes de l'Adulte. *Blood*. 2010;116:2040–5.
175. Habermann TM, Weller EA, Morrison VA, Gascoyne RD, Cassileth PA, Cohn JB, et al. Rituximab-CHOP versus CHOP alone or with maintenance rituximab in older patients with diffuse large B-cell lymphoma. *J Clin Oncol*. 2006;24:3121–7.
176. Pfreundschuh M, Schubert J, Ziepert M, Schmits R, Mohren M, Lengfelder E., et al. Six versus eight cycles of bi-weekly CHOP-14 with or without rituximab in elderly patients with aggressive CD20+ B-cell lymphomas: a randomised controlled trial (RICOVER-60). *Lancet Oncol*. 2008;9:105–16.
177. Pfreundschuh M, Trümper L, Kloess M, Schmits R, Feller AC, Rudolph C, et al. Two-weekly or 3-weekly CHOP chemotherapy with or without etoposide for the treatment of elderly patients with aggressive lymphomas: results of the NHL-B2 trial of the DSHNHL. *Blood*. 2004;104:634–41.

178. Cunningham D, Smith P, Mouncey W A phase III trial comparing R-CHOP 14 and R-CHOP 21 for the treatment of patients with newly diagnosed diffuse large B-cell non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol. (Meeting Abstracts)*. 2009;27:Abstract 8506.
179. Cunningham D, Smith P, Mouncey P R-CHOP14 versus R-CHOP21: Result of a randomized phase III trial for the treatment of patients with newly diagnosed diffuse large B-cell non-Hodgkin lymphoma. *J Clin Oncol (meeting abstracts)*. 2011;29:abstract 8000.
180. Delarue R, Tilly H, Salles G R-CHOP14 compared to R-CHOP21 in elderly patients with diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL): results of the second interim analysis of the LNH03-6B GELA study. *Ann Oncol*. 2011;22(Suppl. 4):Abstract 106.
181. Pfreundschuh M, Zeynalova S, Poeschel V Dose-dense rituximab improves outcome of elderly patients with poor-prognosis Diffuse Large B-Cell Lymphoma (DLBCL): Results of the DENSE-R-CHOP-14 trial of the German High-Grade Non-Hodgkin Lymphoma Study Group (DSHNHL). *Blood (ASH annual meeting abstracts)*. 2007;110:abstract 789.
182. Ribera JM. Hope for very elderly patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Lancet Oncol*. 2011;12:412–3.
183. Italiano A, Jardin F, Peyrade F, Saudes L, Tilly H, Thyss A Adapted CHOP plus rituximab in non-Hodgkin's lymphoma in patients over 80 years old. *Haematologica*. 2005;90:1281–3.
184. Peyrade F, Jardin F, Thieblemont C, Thyss A, Emile JF, Castaigne S, et al. Attenuated immunochemotherapy regimen (R-miniCHOP) in elderly patients older than 80 years with diffuse large B-cell lymphoma: a multicentre, single-arm, phase 2 trial. *Lancet Oncol*. 2011;12:460–8.
185. Weidmann E, Neumann A, Fauth F, Atmaca A, Al-Batran SE, Pauligk C, Jäger E. Phase II study of bendamustine in combination with rituximab as first-line treatment in patients 80 years or older with aggressive B-cell lymphomas. *Ann Oncol*. 2011;22:1839–44.
186. Pfreundschuh M, Kuhnt E, Trümper L, Osterborg A, Trneny M, Shepherd L, et al. CHOP-like chemotherapy with or without rituximab in young patients with good-prognosis diffuse large-B-cell lymphoma: 6-year results of an open-label randomised study of the MabThera International Trial (MInT) Group. *Lancet Oncol*. 2011;12:1013–21.
187. Récher C, Coiffier B, Haioun C, Molina TJ, Fermé C, Casasnovas O, et al. Intensified chemotherapy with ACVBP plus rituximab versus standard CHOP plus rituximab for the

treatment of diffuse large B-cell lymphoma (LNH03-2B): an open-label randomised phase 3 trial. *Lancet*. 2011;378:1858–67.

188. Wunderlich A, Kloess M, Reiser M, Rudolph C, Truemper L, Bittner S, et al. Practicability and acute haematological toxicity of 2- and 3-weekly CHOP and CHOEP chemotherapy for aggressive non-Hodgkin's lymphoma: results from the NHL-B trial of the German High-Grade Non-Hodgkin's Lymphoma Study Group (DSHNHL). *Ann Oncol*. 2003;14:881–93.

189. Gang AO, Strøm C, Pedersen M, d'Amore F, Pedersen LM, Bukh A et al. R-CHOEP-14 improves overall survival in young high-risk patients with diffuse large B-cell lymphoma compared with R-CHOP-14. A population-based investigation from the Danish Lymphoma Group *Ann Oncol*. 2012 Jan;23(1):147-53.

190. Wilson WH, Dunleavy K, Pittaluga S, Hegde U, Grant N, Steinberg SM, et al. Phase II study of dose-adjusted EPOCH and rituximab in untreated diffuse large B-cell lymphoma with analysis of germinal center and post-germinal center biomarkers. *J Clin Oncol*. 2008;26:2717–24.

191. Dunleavy K, Pittaluga S, Wayne S Myc + aggressive B-cell lymphomas: novel therapy of untreated Burkitt lymphoma (BL) and Myc+ diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) with DA-EPOCH-R. *Ann Oncol*. 2011;22(Suppl 4):071.

192. Greb A, Bohlius J, Schiefer D, Schwarzer G, Schulz H, Engert A High-dose chemotherapy with autologous stem cell transplantation in the first line treatment of aggressive non-Hodgkin lymphoma (NHL) in adults. *Cochrane Database Syst Rev*. 2008;1:CD004024.

193. Le Gouill S, Milpied N, Lamy T First-line rituximab (R) high-dose therapy (R-HDT) versus R-CHOP14 for young adults with diffuse large B-cell lymphoma: Preliminary results of the GOELAMS 075 prospective multicenter randomized trial. *J Clin Oncol (Meeting Abstracts)*. 2011;29:Abstract 8003.

194. Schmitz N, Nickelsen M, Ziepert M Conventional chemoimmunotherapy (R-CHOEP-14) or high-dose therapy (R-Mega-CHOEP) for young, high-risk patients with aggressive B-cell lymphoma: Final results of the randomized Mega-CHOEP trial of the German High-Grade Non-Hodgkin Lymphoma Study Group (DSHNHL). *J Clin Oncol (Meeting Abstracts)*. 2011;29:Abstract 8002.

195. Vitolo U, Chiappella A, Brusamolino E A randomized multicentre phase III study for first line treatment of young patients with high risk (aaIPI 2-3) diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL): Rituximab (R) plus dose-dense chemotherapy CHOP14/MegaCHOP14 with or

without intensified high-dose chemotherapy (HDC) and autologous stem cell transplantation (ASCT). *Ann Oncol*. 2011;22(Supplement 4):Abstract 072.

196. Stiff PJ, Unger JM, Cook J Randomized phase III U.S./Canadian intergroup trial (SWOG S9704) comparing CHOP ± R for eight cycles to CHOP ± R for six cycles followed by autotransplant for patients with high-intermediate (H-Int) or high IPI grade diffuse aggressive non-Hodgkin lymphoma (NHL). *J Clin Oncol* (Meeting Abstracts). 2011;29:Abstract 8001.

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

198. Miller TP, LeBlanc M, Spier CM CHOP alone compared to CHOP plus radiotherapy for early stage aggressive non-Hodgkin's lymphomas: Update of the Southwest Oncology Group (SWOG) randomized trial. *Blood* (ASH Annual Meeting Abstracts). 2001;98:724a.

199. Persky DO, Unger JM, Spier CM, Stea B, LeBlanc M, McCarty MJ, et al. Phase II study of rituximab plus three cycles of CHOP and involved-field radiotherapy for patients with limited-stage aggressive B-cell lymphoma: Southwest Oncology Group study 0014. *J Clin Oncol*. 2008;26:2258–63.

200. Sehn L, Savage KJ, Hoskins P, et al. Treatment of limited-stage DLBCL can be effectively tailored using a PET-based approach. *Ann Oncol*. 2011;22(Suppl. 4):Abstract 028.

201. Pfreundschuh M, Ho AD, Cavallin-Stahl E, Wolf M, Pettengell R, Vasova I, et al. Prognostic significance of maximum tumour (bulk) diameter in young patients with good-prognosis diffuse large-B-cell lymphoma treated with CHOP-like chemotherapy with or without rituximab: an exploratory analysis of the MabThera International Trial Group (MInT) study. *Lancet Oncol*. 2008;9:435–44.

202. Pfreundschuh M, Ziepert M, Reiser M, et al. The role of radiotherapy to bulky disease in the rituximab era: results from two prospective trials of the German High-Grade Non-Hodgkin-Lymphoma Study Group (DSHNHL) for elderly patients with DLBCL. *Blood* (ASH Annual Meeting Abstracts). 2008;112:Abstract 584.

203. Sehn L, Hoskins P, Klasa R FDG-PET scan guided consolidative radiation therapy optimizes outcome in patients with advanced-stage diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) with residual abnormalities on CT Scan Following R-CHOP. *Blood* (ASH Annual Meeting Abstracts). 2010;116:Abstract 854.

204. Gisselbrecht C, Vose J, Nademanee A, Gianni AM, Nagler A Radioimmunotherapy for stem cell transplantation in non-Hodgkin's lymphoma: in pursuit of a complete response. *Oncologist*. 2009;14(Suppl 2):41–51.
205. Mounier N, Gisselbrecht C. Stem cell transplantation for diffuse large B-cell lymphoma patients in the rituximab era. *Curr Opin Oncol*. 2011;23:209–13.
206. Guglielmi C, Gomez F, Philip T, Hagenbeek A, Martelli M, Sebban C, et al. Time to relapse has prognostic value in patients with aggressive lymphoma enrolled onto the Parma trial. *J Clin Oncol*. 1998;16:3264–9.
207. Philip T, Guglielmi C, Hagenbeek A, Somers R, Van der Lelie H, Bron D, et al. Autologous bone marrow transplantation as compared with salvage chemotherapy in relapses of chemotherapy-sensitive non-Hodgkin's lymphoma. *N Engl J Med*. 1995;333:1540–5.
208. Avilés A, Neri N, Huerta-Guzmán J, de Jesús Nambo M ESHAP versus rituximab-ESHAP in frail patients with refractory diffuse large B-cell lymphoma. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk*. 2010;10:125–8.
209. Ueda K, Nannya Y, Asai T, Yamamoto G, Hangaishi A, Takahashi T, et al. Efficacy and safety of modified rituximab-ESHAP therapy for relapsed/refractory B-cell lymphoma. *J Chemother*. 2010;22:54–7.
210. García-Suárez J, Bañas H, Arribas I, De Miguel D, Pascual T, Burgaleta C Dose-adjusted EPOCH plus rituximab is an effective regimen in patients with poor-prognostic untreated diffuse large B-cell lymphoma: results from a prospective observational study. *Br J Haematol*. 2007;136:276–85.
211. Chao NJ, Rosenberg SA, and Horning SJ. CEPP(B): an effective and well-tolerated regimen in poor-risk, aggressive non-Hodgkin's lymphoma. *Blood*. 1990;76:1293–8.
212. Cortelazzo S, Rambaldi A, Rossi A, Oldani E, Ghielmini M, Benedetti F, et al. Intensification of salvage treatment with high-dose sequential chemotherapy improves the outcome of patients with refractory or relapsed aggressive non-Hodgkin's lymphoma. *Br J Haematol*. 2001;114:333–41.
213. Persky DO, Moskowitz CH, Filatov A, Saxena R, Cui H, Teruya-Feldstein J High dose chemoradiotherapy and ASCT may overcome the prognostic importance of biologic markers in relapsed/refractory Hodgkin lymphoma. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2010;18:35–40.

214. Simpson L, Ansell SM, Colgan JP, Habermann TM, Inwards DJ, Ristow KM, et al. Effectiveness of second line salvage chemotherapy with ifosfamide, carboplatin, and etoposide in patients with relapsed diffuse large B-cell lymphoma not responding to cis-platinum, cytosine arabinoside, and dexamethasone. *Leuk Lymphoma*. 2007;48:1332–7.
215. Gisselbrecht C, Glass B, Mounier N, Singh Gill D, Linch DC, Trneny M, et al. Salvage regimens with autologous transplantation for relapsed large B-cell lymphoma in the rituximab era. *J Clin Oncol*. 2010;28:4184–90.
216. Thieblemont C, Briere J, Mounier N, Voelker HU, Cuccuini W, Hirchaud E, et al. The germinal center/activated B-cell subclassification has a prognostic impact for response to salvage therapy in relapsed/refractory diffuse large B-cell lymphoma: a bio-CORAL study. *J Clin Oncol*. 2011;29:4079–87.
217. Khouri IF. Reduced-intensity regimens in allogeneic stem-cell transplantation for non-hodgkin lymphoma and chronic lymphocytic leukemia. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2006;390–7.
218. Peniket AJ, Ruiz de Elvira MC, Taghipour G, Cordonnier C, Gluckman E, de Witte T, et al. An EBMT registry matched study of allogeneic stem cell transplants for lymphoma: allogeneic transplantation is associated with a lower relapse rate but a higher procedure-related mortality rate than autologous transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 2003;31:667–78.
219. Sirvent A, Dhedin N, Michallet M, Mounier N, Faucher C, Yakoub-Agha I, et al. Low nonrelapse mortality and prolonged long-term survival after reduced-intensity allogeneic stem cell transplantation for relapsed or refractory diffuse large B cell lymphoma: report of the Societe Francaise de Greffe de Moelle et de Therapie Cellulaire. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2010;16:78–85.
220. El Gnaoui T, Dupuis J, Belhadj K, Jais JP, Rahmouni A, Copie-Bergman C, et al. Rituximab, gemcitabine and oxaliplatin: an effective salvage regimen for patients with relapsed or refractory B-cell lymphoma not candidates for high-dose therapy. *Ann Oncol*. 2007;18:1363–8.
221. López A, Gutiérrez A, Palacios A, Blancas I, Navarrete M, Morey M, et al. GEMOX-R regimen is a highly effective salvage regimen in patients with refractory/relapsing diffuse large-cell lymphoma: a phase II study. *Eur J Haematol*. 2008;80:127–32.

222. Björkholm M, Hagberg H, Holte H, Kvaloy S, Teerenhovi L, Anderson H, et al. Central nervous system occurrence in elderly patients with aggressive lymphoma and a long-term follow-up. *Ann Oncol.* 2007;18:1085–9.
223. Hollender A, Kvaloy S, Nome O, Skovlund E, Lote K, Holte H Central nervous system involvement following diagnosis of non-Hodgkin's lymphoma: a risk model. *Ann Oncol.* 2002;13:1099–107.
224. van Besien K, Ha CS, Murphy S, McLaughlin P, Rodriguez A, Amin K, et al. Risk factors, treatment, and outcome of central nervous system recurrence in adults with intermediate-grade and immunoblastic lymphoma. *Blood.* 1998;91:1178–84.
225. Hegde U, Filie A, Little RF, Janik JE, Grant N, Steinberg SM, et al. High incidence of occult leptomeningeal disease detected by flow cytometry in newly diagnosed aggressive B-cell lymphomas at risk for central nervous system involvement: the role of flow cytometry versus cytology. *Blood.* 2005;105:496–502.
226. Boehme V, Schmitz N, Zeynalova S, Loeffler M, Pfreundschuh M CNS events in elderly patients with aggressive lymphoma treated with modern chemotherapy (CHOP-14) with or without rituximab: an analysis of patients treated in the RICOVER-60 trial of the German High-Grade Non-Hodgkin Lymphoma Study Group (DSHNHL). *Blood.* 2009;113:3896–902.
227. Pui CH, Thiel E. Central nervous system disease in hematologic malignancies: historical perspective and practical applications. *Semin Oncol.* 2009;36:S2–S16.
228. Korfel A. Prevention of central nervous system relapses in diffuse large B-cell lymphoma: which patients and how? *Curr Opin Oncol.* 2011;23:436–40.
229. Villa D, Connors JM, Shenkier TN, Gascoyne RD, Sehn LH, Savage KJ Incidence and risk factors for central nervous system relapse in patients with diffuse large B-cell lymphoma: the impact of the addition of rituximab to CHOP chemotherapy. *Ann Oncol.* 2010;21:1046–52.
230. Mounier N, Gisselbrecht C. Relapses, treatments and new drugs *Best Pract Res Clin Haematol.* 2012 Mar;25(1):49-60.
231. Matasar MJ, Czuczman MS, Rodriguez MA, Fennessy M, Shea TC, Spitzer G Ofatumumab in combination with ICE or DHAP chemotherapy in relapsed or refractory intermediate grade B-cell lymphoma *Blood.* 2013 Jul 25;122(4):499-506.
232. Morschhauser FA, Cartron G, Thieblemont C, Solal-Céligny P, Haioun C, Bouabdallah R Obinutuzumab (GA101) monotherapy in relapsed/refractory diffuse large b-cell lymphoma or

mantle-cell lymphoma: results from the phase II GAUGUIN study *J Clin Oncol*. 2013 Aug 10;31(23):2912-9.

233. Hainsworth J, Arrowsmith E, McCleod M, et al. Randomized phase II study of R-CHOP plus enzastaurin versus R-CHOP in the first line treatment of patients with intermediate and high-risk diffuse large B-cell lymphoma-preliminary analysis. 11th international conference on malignant lymphoma 15-18 June 2011, Lugano. *Ann Oncol* 2011; 22 (abstr 74).

234. Advani R, Sharman JP, Smith S, et al. The btk inhibitor pci-32765 is highly active and well tolerated in patients with relapsed/refractory B cell malignancies: final results from phase I study. 11th international conference on malignant lymphoma 15-18 June 2011, Lugano. *Ann Oncol* 2011; 22 (abstr 144).

235. Younes A, Flinn I, Berdeja J, Friedberg J, Alberti S, Thieblemont C, et al. Phase Ib combining ibrutinib with rituximab, cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine and prednisone (R-CHOP) in patients with CD20 positive B-cell non-Hodgkin lymphoma (NHL) *J Clin Oncol* 2013; 31 (suppl: abstr 8501).

236. Ruan J, Martin P, Furman RR, Lee SM, Cheung K, Vose JM et al. Bortezomib plus CHOP-rituximab for previously untreated diffuse large B-cell lymphoma and mantle cell lymphoma *J Clin Oncol*. 2011 Feb 20;29(6):690-7.

237. Dunleavy K, Pittaluga S, Czuczman MS, Dave SS, Wright G, Grant N et al. Differential efficacy of bortezomib plus chemotherapy within molecular subtypes of diffuse large B-cell lymphoma *Blood*. 2009 Jun 11;113(24):6069-76.

238. Witzig TE, Vose JM, Zinzani PL, Reeder CB, Buckstein R, Polikoff JA et al. An international phase II trial of single-agent lenalidomide for relapsed or refractory aggressive B-cell non-Hodgkin's lymphoma *Ann Oncol*. 2011 Jul;22(7):1622-7.

239. Hernandez-Ilizaliturri FJ, Deeb G, Zinzani PL, Pileri SA, Malik F, Macon WR et al. Higher response to lenalidomide in relapsed/refractory diffuse large B-cell lymphoma in nongerminal center B-cell-like than in germinal center B-cell-like phenotype *Cancer*. 2011 Nov 15;117(22):5058-66.

240. Bossen C, Schneider P. BAFF, APRIL and their receptors: structure, function and signaling. *Semin Immunol* 2006; 18: 263-275.

241. Sutherland AP, Mackay F, Mackay CR. Targeting BAFF: immunomodulation for autoimmune diseases and lymphomas. *Pharmacol Ther* 2006; 112: 774-786.

242. Crowley JE, Treml LS, Stadanlick JE, Carpenter E, Cancro MP. Homeostatic niche specification among naive and activated B cells: a growing role for the BLyS family of receptors and ligands. *Semin Immunol* 2005; 17: 193-199.
243. Sun J, Lin Z, Li Y, Shen BF B lymphocyte stimulator: a new target for treating B cell malignancies *Chin Med J (Engl)*. 2008 Jul 20;121(14):1319-23.
244. Nardelli B, Belvedere O, Roschke V, Moore PA, Olsen HS, Migone TS, et al. Synthesis and release of B-lymphocyte stimulator from myeloid cell. *Blood* 2001; 97: 198-204.
245. Schiemann B, Gommerman JL, Vora K, Cachero TG, Shulga-Morskaya S, Dobles M, et al. An essential role for BAFF in the normal development of B cells through a BCMA-independent pathway. *Science* 2001; 293: 2111-2114.
246. Gross JA, Johnston J, Mudri S, Enselman R, Dillon SR, Madden K, et al. TACI and BCMA are receptors for a TNF homologue implicated in B-cell autoimmune disease. *Nature* 2000; 404: 995-999.
247. Thompson JS, Bixler SA, Qian F, Vora K, Scott ML, Cachero TG, et al. BAFF-R, a newly identified TNF receptor that specifically interacts with BAFF. *Science* 2001; 293: 2108-2111.
248. Mackay F, Schneider P Cracking the BAFF code *Nat Rev Immunol*. 2009 Jul;9(7):491-502.
249. He B, Chadburn A, Jou E, Schattner EJ, Knowles DM, Cerutti A. Lymphoma B cells evade apoptosis through the TNF family members BAFF/BLyS and APRIL. *J Immunol* 2004; 172: 3268-3279.
250. Novak AJ, Darce JR, Arendt BK, Harder B, Henderson K, Kindsvogel W, et al. Expression of BCMA, TACI, and BAFF-R in multiple myeloma: a mechanism for growth and survival. *Blood* 2004; 103: 689-694.
251. Novak AJ, Bram RJ, Kay NE, Jelinek DF. Aberrant expression of B-lymphocyte stimulator by B chronic lymphocytic leukemia cells: a mechanism for survival. *Blood* 2002; 100: 2973-2979.
252. Haiat S, Billard C, Quiney C, Ajchenbaum-Cymbalista F, Kolb JP. Role of BAFF and APRIL in human B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Immunology* 2006; 118: 281-292.
253. Moreaux J, Legouffe E, Jourdan E, Quittet P, Rème T, Lugagne C, et al. BAFF and APRIL protect myeloma cells from apoptosis induced by interleukin 6 deprivation and dexamethasone. *Blood* 2004; 103: 3148-3157.

254. Rodig SJ, Shahsafaei A, Li B, Mackay CR, Dorfman DM BAFF-R, the major B cell-activating factor receptor, is expressed on most mature B cells and B-cell lymphoproliferative disorders *Hum Pathol*. 2005 Oct;36(10):1113-9.
255. Wada K, Maeda K, Tajima K, Kato T, Kobata T, Yamakawa M Expression of BAFF-R and TACI in reactive lymphoid tissues and B-cell lymphomas *Histopathology*. 2009 Jan;54(2):221-32.
256. Takahata H, Ohara N, Ichimura K, Tanaka T, Sato Y, Morito T et al. BAFF-R is expressed on B-cell lymphomas depending on their origin, and is related to proliferation index of nodal diffuse large B-cell lymphomas *J Clin Exp Hematop*. 2010;50(2):121-7.
257. Tangye SG, Bryant VL, Cuss AK, Good KL BAFF, APRIL and human B cell disorders *Semin Immunol*. 2006 Oct;18(5):305-17.
258. Novak AJ, Grote DM, Stenson M, Ziesmer SC, Witzig TE, Habermann TM et al. Expression of BLyS and its receptors in B-cell non-Hodgkin lymphoma: correlation with disease activity and patient outcome *Blood*. 2004 Oct 15;104(8):2247-53.
259. Hahn BH. Belimumab for systemic lupus erythematosus *N Engl J Med*. 2013 Apr 18;368(16):1528-35.
260. Raje N, Faber EA, Richardson P, Schiller G, Hohl R, Cohen A et al. Phase 1 Study of Tabalumab, a Human Anti-BAFF Antibody and Bortezomib in Patients with Previously-Treated Multiple Myeloma 54th ASH Annual Meeting 2012 (abstr 447)
261. Ansell SM, Witzig TE, Inwards DJ, Porrata LF, Ythier A, Ferrande L et al. Phase I clinical study of atacicept in patients with relapsed and refractory B-cell non-Hodgkin's lymphoma *Clin Cancer Res*. 2008 Feb 15;14(4):1105-10.
262. Guadagnoli M, Kimberley FC, Phan U, Cameron K, Vink PM, Rodermond H et al. Development and characterization of APRIL antagonistic monoclonal antibodies for treatment of B-cell lymphomas *Blood*. 2011 Jun 23;117(25):6856-65.
263. Shipp MA Molecular signatures define new rational treatment targets in large B-cell lymphomas *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2007:265-9.
264. Perry AM, Cardesa-Salzman TM, Meyer PN, Colomo L, Smith LM, Fu K et al. A new biologic prognostic model based on immunohistochemistry predicts survival in patients with diffuse large B-cell lymphoma *Blood* 2012 Sep 13;120(11):2290-6.

265. Meyer PN, Fu K, Greiner TC, Smith LM, Delabie J, Gascoyne RD, Ott G et al. Immunohistochemical methods for predicting cell of origin and survival in patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with rituximab *J Clin Oncol*. 2011 Jan 10;29(2):200-7.
266. Perry AM, Mitrovic Z, Chan WC Biological prognostic markers in diffuse large B-cell lymphoma *Cancer Control*. 2012 Jul;19(3):214-26
267. Nyman H, Adde M, Karjalainen-Lindsberg ML, Taskinen M, Berglund M, Amini RM et al. Prognostic impact of immunohistochemically defined germinal center phenotype in diffuse large B-cell lymphoma patients treated with immunochemotherapy *Blood*. 2007 Jun 1;109(11):4930-5.
268. Ilić I, Mitrović Z, Aurer I, Basić-Kinda S, Radman I, Ajduković R et al. Lack of prognostic significance of the germinal-center phenotype in diffuse large B-cell lymphoma patients treated with CHOP-like chemotherapy with and without rituximab *J Hematol*. 2009 Jul;90(1):74-80.
269. Seki R, Ohshima K, Fujisaki T, Uike N, Kawano F, Gondo H et al. Prognostic impact of immunohistochemical biomarkers in diffuse large B-cell lymphoma in the rituximab era *Cancer Sci*. 2009 Oct;100(10):1842-7.
270. Fu K, Weisenburger DD, Choi WW, Perry KD, Smith LM, Shi X et al. Addition of rituximab to standard chemotherapy improves the survival of both the germinal center B-cell-like and non-germinal center B-cell-like subtypes of diffuse large B-cell lymphoma *J Clin Oncol*. 2008 Oct 1;26(28):4587-94.
271. L. Popovic, O. Markovic, D. Jovanovic, D. Marisavljevic, D. Petrovic, B. Mihaljevic, Z. Nikin, T. Matkovic, G. Matovina-Brko, R. Zivkovic Differences in baseline characteristics and survival rates between GCB and non-GCB diffuse large B-cell lymphoma treated with rituximab based immunochemotherapy *EJC Suppl* 2013; 49 (Suppl. 2) abstract 3629: S845
272. Benesova K, Forsterova K, Votavova H, Campr V, Stritesky J, Velenska Z et al. The Hans algorithm failed to predict outcome in patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with rituximab *Neoplasma*. 2013;60(1):68-73.
273. Dunphy CH. Gene expression profiling data in lymphoma and leukemia. *Arch Pathol Lab Med* 2006; 130:483-520
274. Sjö LD, Poulsen CB, Hansen M, Møller MB, Ralfkiaer E Profiling of diffuse large B-cell lymphoma by immunohistochemistry: identification of prognostic subgroups *Eur J Haematol*. 2007 Dec;79(6):501-7.
275. Wang D, DuBois R Eicosanoids and cancer *Nat Rev Cancer* 2010; 10: 181-93.

276. Bernard MP, Bancos S, Sime PJ, Phipps RP Targeting cyclooxygenase-2 in hematological malignancies: rationale and promise *Curr Pharm Des.* 2008;14(21):2051-60
277. Zha S, Yegnasubramanian V, Nelson WG, Isaacs WB, De Marzo AM Cyclooxygenases in cancer: progress and perspective *Cancer Lett.* 2004 Nov 8;215(1):1-20.
278. Ryan EP, Pollock SJ, Kaur K, Felgar RE, Bernstein SH, Chiorazzi N et al Constitutive and activation-inducible cyclooxygenase-2 expression enhances survival of chronic lymphocytic leukemia B cells *Clin Immunol.* 2006 Jul;120(1):76-90.
279. Ohsawa M, Fukushima H, Ikura Y, Inoue T, Shirai N, Sugama Y et al. Expression of cyclooxygenase-2 in Hodgkin's lymphoma: its role in cell proliferation and angiogenesis *Leuk Lymphoma.* 2006 Sep;47(9):1863-71.
280. Ladetto M, Vallet S, Trojan A, Dell'Aquila M, Monitillo L, Rosato R et al. Cyclooxygenase-2 (COX-2) is frequently expressed in multiple myeloma and is an independent predictor of poor outcome *Blood.* 2005 Jun 15;105(12):4784-91.
281. Subbaramaiah K, Dannenberg AJ Cyclooxygenase 2: a molecular target for cancer prevention and treatment *Trends Pharmacol Sci.* 2003 Feb;24(2):96-102.
282. Hazar B, Ergin M, Seyrek E, Erdoğan S, Tuncer I, Hakverdi S Cyclooxygenase-2 (Cox-2) expression in lymphomas *Leuk Lymphoma.* 2004 Jul;45(7):1395-9.
283. Li HL, Sun BZ, Ma FC Expression of COX-2, iNOS, p53 and Ki-67 in gastric mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma *World J Gastroenterol.* 2004 Jul 1;10(13):1862-6.
284. Paydas S, Ergin M, Seydaoglu G, Erdogan S, Yavuz S. Prognostic [corrected] significance of angiogenic/lymphangiogenic, anti-apoptotic, inflammatory and viral factors in 88 cases with diffuse large B cell lymphoma and review of the literature. *Leuk Res.* 2009 Dec;33(12):1627-35.
285. Folkman J. Angiogenesis in cancer, vascular, rheumatoid and molecular regulation. *Nat Med* 1995;1:27–31.
286. Beck LJ, D'Amore P. Vascular development: cellular and molecular regulation. *FASEB J* 1997;11:365–373.
287. I, Filde I. Angiogenesis and metastasis. *Eur J Cancer* 1996;32A:2451–2460.
288. Ruan J, Hajjar K, Rafii S, Leonard JP. Angiogenesis and antiangiogenic therapy in non-Hodgkin's lymphoma. *Ann oncol* 2009; 20:413-24.

289. Kim KJ, Li B, Winer J, Armanini M, Gillett N, Phillips HS, Ferrara N Inhibition of vascular endothelial growth factor-induced angiogenesis suppresses tumour growth in vivo. *Nature* 1993; 362: 841–844.
290. Fukumura D, Xavier R, Sugiura T, Chen Y, Park EC, Lu N et al. Tumor induction of VEGF promoter activity in stromal cells. *Cell* 1998; 94: 715–725.
291. Ruan J, Leonard JP. Targeting angiogenesis: a novel, rational, therapeutic approach for non-Hodgkin lymphoma. *Leuk Lymphoma* 2009 May; 50(5): 679-81.
292. Koster A, van Krieken JH, Mackenzie MA, Schraders M, Borm GF, van der Laak JA et al. Increased vascularization predicts favorable outcome in follicular lymphoma. *Clin Cancer Res*. 2005; 11: 154–161.
293. Shipp MA, Ross KN, Tamayo P, Weng AP, Kutok JL, Aguiar RC et al. Diffuse large B-cell lymphoma outcome prediction by gene-expression profiling and supervised machine learning *Nat Med*. 2002 Jan;8(1):68-74.
294. Ganjoo KN, An CS, Robertson MJ, Gordon LI, Sen JA, Weisenbach J et al. Rituximab, bevacizumab and CHOP (RA-CHOP) in untreated diffuse large B-cell lymphoma: safety, biomarker and pharmacokinetic analysis *Leuk Lymphoma* 2006; 47: 998–1005.
295. Gratzinger D, Zhao S, Marinelli RJ, Kapp AV, Tibshirani RJ, Hammer AS et al. Microvessel density and expression of vascular endothelial growth factor and its receptors in diffuse large B-cell lymphoma subtypes. *Am J Pathol* 2007; 170: 1362–1369.
296. Gratzinger D, Zhao S, Tibshirani RJ, Hsi ED, Hans CP, Pohlman B et al. Prognostic significance of VEGF, VEGF receptors, and microvessel density in diffuse large B cell lymphoma treated with anthracycline-based chemotherapy *Lab Invest*. 2008 Jan;88(1):38-47.
297. Paydas S, Seydaoglu G, Ergin M, Erdogean S, Yavuz S. The prognostic significance of VEGF-C and VEGF-A in non-Hodgkin lymphomas. *Leuk Lymphoma* 2009 Mar; 50(3): 366-73.
298. Ganjoo KN, Moore AM, Orazi A, Sen JA, Johnson CS, An CS. The importance of angiogenesis markers in the outcome of patients with diffuse large B cell lymphoma: a retrospective study of 97 patients. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2008 Mar; 134(3): 381-7.
299. Stopeck A, Iannone M, Rimsza LM Expression of VEGF, VEGF receptors, and other angiogenic markers in relapsed aggressive non-Hodgkin's lymphoma: correlative studies from the SWOG S0108 trial. *ASH 2004 (Abstr 2288)*.
300. Ruan J, Coleman M, Furman RR Targeting angiogenesis in mantle cell

lymphoma: clinical efficacy and correlative studies of a phase II trial of RT-PEPC (rituximab, thalidomide and metronomic oral chemotherapy with prednisone, etoposide, procarbazine and cyclophosphamide) in relapsed/refractory disease. *Blood* 2006; 108: 2751.

301. Wang ES, Teruya-Feldstein J, Wu Y, Zhu Z, Hicklin DJ, Moore MA Targeting autocrine and paracrine VEGF receptor pathways inhibits human lymphoma xenografts in vivo. *Blood* 2004; 104: 2893–2902.

302. Hurwitz H, Fehrenbacher L, Novotny W, Cartwright T, Hainsworth J, Heim W et al. Bevacizumab plus irinotecan, fluorouracil, and leucovorin for metastatic colorectal cancer *N Engl J Med.* 2004 Jun 3;350(23):2335-42.

303. Sandler A, Gray R, Perry MC, Brahmer J, Schiller JH, Dowlati A et al. Paclitaxel-carboplatin alone or with bevacizumab for non small-cell lung cancer. *N Engl J Med* 2006; 355: 2542–2550.

304. Miller KD. E2100: a phase III trial of paclitaxel versus paclitaxel/bevacizumab for metastatic breast cancer. *Clin Breast Cancer* 2003; 3: 421–422.

305. Seymour J, Pfreundschuh M, Coiffier B, Trneny M, Sehn L, Csinady E The addition of bevacizumab to standard therapy with R-CHOP in patients with previously untreated diffuse large B-cell lymphoma is associated with an increased rate of cardiac events: final analysis of safety and efficacy outcomes from the placebo-controlled phase 3 MAIN study ASH annual meeting *Blood* 2012 (abstr 58).

306. Greenwald DR, Li H, Luger SM, Go RS, King D, Patel T et al. A phase II study of sorafenib (BAY 43-9006) in recurrent diffuse large B cell lymphoma: an eastern cooperative oncology group study (E1404) *J Hematol Oncol.* 2013 Jul 5;6:46.

307. Franceschi C, Capri M, Monti D, Giunta S, Olivieri F, Sevini F, et al. Inflammaging and anti-inflammaging: a systemic perspective on aging and longevity emerged from studies in humans. *Mech Ageing Dev.* 2007; 128(1):92-105.

308. Ouyang Q, Wagner WM, Walter S, Müller CA, Wikby A, Aubert G, et al. An age-related increase in the number of CD81 T cells carrying receptors for an immunodominant Epstein-Barr virus (EBV) epitope is counteracted by a decreased frequency of their antigen-specific responsiveness. *Mech Ageing Dev.* 2003;124(4):477-485.

309. Ok CY, Papathomas TG, Medeiros LJ, Young KH EBV-positive diffuse large B-cell lymphoma of the elderly *Blood*. 2013 Jul 18;122(3):328-40.
310. Liu F, Asano N, Tatematsu A, Oyama T, Kitamura K, Suzuki K et al. Plasmablastic lymphoma of the elderly: a clinicopathological comparison with age-related Epstein-Barr virus-associated B cell lymphoproliferative disorder *Histopathology*. 2012 Dec;61(6):1183-97
311. Montes-Moreno S, Odqvist L, Diaz-Perez JA, Lopez AB, de Villambrosía SG, Mazorra F et al. EBV-positive diffuse large B-cell lymphoma of the elderly is an aggressive post-germinal center B-cell neoplasm characterized by prominent nuclear factor-kB activation *Mod Pathol*. 2012 Jul;25(7):968-82.
312. Shimoyama Y, Yamamoto K, Asano N, Oyama T, Kinoshita T, Nakamura S Age-related Epstein-Barr virus-associated B-cell lymphoproliferative disorders: special references to lymphomas surrounding this newly recognized clinicopathologic disease *Cancer Sci*. 2008 Jun;99(6):1085-91.
313. Tsujimoto Y, Gorham J, Cossman J, Jaffe E, Croce CM The t(14;18) chromosome translocations involved in B-cell neoplasms result from mistakes in VDJ joining *Science*. 1985 Sep 27;229(4720):1390-3.
314. Dunleavy K, Staudt LM, Wilson WH The BCL-2 biomarker in the era of molecular diagnosis of diffuse large B-cell lymphoma *Leuk Lymphoma*. 2007 Jun;48(6):1061-3.
315. Gascoyne RD, Adomat SA, Krajewski S, Krajewska M, Horsman DE, Tolcher AW et al. Prognostic significance of Bcl-2 protein expression and Bcl-2 gene rearrangement in diffuse aggressive non-Hodgkin's lymphoma *Blood*. 1997 Jul 1;90(1):244-51.
316. Wilson WH, Grossbard ML, Pittaluga S, Cole D, Pearson D, Drbohlav N et al. Dose-adjusted EPOCH chemotherapy for untreated large B-cell lymphomas: a pharmacodynamic approach with high efficacy *Blood*. 2002 Apr 15;99(8):2685-93.
317. Karantza-Wadsworth V, White E Programmed cell death in DeVita et al *Cancer, principles and practice of Oncology LWW* 2008
318. Popovic L., Jovanovic D., Popovic Dj. CD30-the head of the TNF family...or the successful story of brentuximab-vedotin *Arch Oncol* 2013; 21(1): 17-9.
319. Diefenbach C, Leonard JP. Targeting CD30 in Hodgkin Lymphoma: Antibody-Drug Conjugates Make a Difference. *ASCO Educational Book*. 2012: 162-6.

320. Younes A, Carbone A. CD30/CD30 ligand and CD40/CD40 ligand in malignant lymphoid disorders. *Int J Biol Markers*. 1999;14:135-43.
321. Nadali G, Vinante F, Ambrosetti A, Todeschini G, Veneri D, Zanotti R, et al. Serum levels of soluble CD30 are elevated in the majority of untreated patients with Hodgkin's disease and correlate with clinical features and prognosis. *J Clin Oncol*. 1994;12(4):793-7.
322. Maes B, Anastasopoulou A, Kluin-Nelemans JC, Teodorovic I, Achten R, Carbone A et al. Among diffuse large B-cell lymphomas, T-cell-rich/histiocyte-rich BCL and CD30+ anaplastic B-cell subtypes exhibit distinct clinical features *Ann Oncol*. 2001 Jun;12(6):853-8.
323. Hu S, Xu-Monette ZY, Balasubramanyam A, Manyam GC, Visco C, Tzankov A et al. CD30 expression defines a novel subgroup of diffuse large B-cell lymphoma with favorable prognosis and distinct gene expression signature: a report from the International DLBCL Rituximab-CHOP Consortium Program Study *Blood*. 2013 Apr 4;121(14):2715-24.
324. Jain P, Fayad LE, Rosenwald A, Young KH, O'Brien S Recent advances in de novo CD5+ diffuse large B cell lymphoma *Am J Hematol*. 2013 Sep;88(9):798-802.
325. Niitsu N, Okamoto M, Tamaru JI, Yoshino T, Nakamura N, Nakamura S et al. Clinicopathologic characteristics and treatment outcome of the addition of rituximab to chemotherapy for CD5-positive in comparison with CD5-negative diffuse large B-cell lymphoma *Ann Oncol*. 2010 Oct;21(10):2069-74.
326. Westin J, McLaughlin P De novo CD5+ diffuse large B-cell lymphoma: a distinct subset with adverse features, poor failure-free survival and outcome with conventional therapy *Leuk Lymphoma*. 2010 Jan;51(1):161-3.
327. Miyazaki K, Yamaguchi M, Suzuki R, Kobayashi Y, Maeshima AM, Niitsu N et al. CD5-positive diffuse large B-cell lymphoma: a retrospective study in 337 patients treated by chemotherapy with or without rituximab *Ann Oncol*. 2011 Jul;22(7):1601-7.
328. Cheson BD, Horning SJ, Coiffier B, Shipp MA, Fisher RI, Connors JM 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 Apr;17(4):1244.
329. B. Mihaljevic, D. Antic, B. Andjelic, T. Vukicevic, V. Nikolic, I. Pejcic, et al. Characteristics of 917 Non-Hodgkin's lymphoma patients in Serbia according to the WHO classification of lymphoid neoplasms-LIRA national register-based study *Ann Oncol* 2011; 22 (Supp 4): iv204

330. Ozbalak M, Ar MC, Tuzuner N, Salihoglu A, Eskazan AE, Ongoren Aydin S et al. Detailed analysis of diffuse large B cell lymphoma patients: a single-center, retrospective study *ISRN Hematol.* 2013 Jul 30;2013:908191.
331. Li YL, Pan YY, Jiao Y, Ning J, Fan YG, Zhai ZM Peripheral blood lymphocyte/monocyte ratio predicts outcome for patients with diffuse large B cell lymphoma after standard first-line regimens *Ann Hematol.* 2013 Oct 19. [Epub ahead of print]
332. Zucca E Extranodal lymphoma: a reappraisal *Ann Oncol.* 2008 Jun;19 Suppl 4:iv77-80.
333. Pfreundschuh M, Trümper L, Osterborg A, Pettengell R, Trneny M, Imrie K et al. CHOP-like chemotherapy plus rituximab versus CHOP like chemotherapy alone in young patients with good-prognosis diffuse large-B-cell lymphoma: a randomised controlled trial by the MabThera International Trial (MInT)Group *Lancet Oncol.* 2006 May;7(5):379-91.
334. Glass B, Kloess M, Bentz M, Schlimok G, Berdel WE, Feller A et al. Dose-escalated CHOP plus etoposide (MegaCHOEP) followed by repeated stem cell transplantation for primary treatment of aggressive high-risk non-Hodgkin lymphoma *Blood.* 2006 Apr 15;107(8):3058-64.
335. Schmitz N, Kloess M, Reiser M, Berdel WE, Metzner B, Dorken B et al. Four versus six courses of a dose-escalated cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone (CHOP) regimen plus etoposide (megaCHOEP) and autologous stem cell transplantation: early dose intensity is crucial in treating younger patients with poor prognosis aggressive lymphoma *Cancer.* 2006 Jan 1;106(1):136-45.
336. Glass B, Kloess M, Reiser M, et al. Dose escalated CHOP plus etoposide followed by repetitive autologous stem cell transplantation (Mega CHOP) with or without rituximab for primary treatment of aggressive NHL *Blood* 2005; 106:430A, abstr 1492
337. Carella AM, de Souza CA, Luminari S, Marcheselli L, Chiappella A, di Rocco A et al. Prognostic role of gender in diffuse large B-cell lymphoma treated with rituximab containing regimens: a Fondazione Italiana Linfomi/Grupo de Estudos em Moléstias Onco-Hematológicas retrospective study *Leuk Lymphoma.* 2013 Jan;54(1):53-7.
338. Riihijärvi S, Taskinen M, Jerkeman M, Leppä S Male gender is an adverse prognostic factor in B-cell lymphoma patients treated with immunochemotherapy *Eur J Haematol.* 2011 Feb;86(2):124-8.

339. Oki Y, Yamamoto K, Kato H, Kuwatsuka Y, Taji H, Kagami Y, Morishima Y Low absolute lymphocyte count is a poor prognostic marker in patients with diffuse large B-cell lymphoma and suggests patients' survival benefit from rituximab *Eur J Haematol.* 2008 Dec;81(6):448-53.
340. Cox MC, Nofroni I, Ruco L, Amodeo R, Ferrari A, La Verde G et al. Low absolute lymphocyte count is a poor prognostic factor in diffuse-large-B-cell-lymphoma *Leuk Lymphoma.* 2008 Sep;49(9): 1745-51.
341. Markovic O, Popovic L, Marisavljevic D, Jovanovic D, Mihaljevic B, Stanisavljevic D, Hajder J, Zivkovic R, Petrovic D, Stanisavljevic N, Matovina-Brko G, Todorovic M, Bila J Prognostic Significance Of Low Lymphocytes Count In The Patients With Diffuse Large B Cell Lymphoma (DLBCL) *Haematologica* 2013 (EHA Abstract)
342. Hus I, Starosławska E, Bojarska-Junak A, Dobrzyńska-Rutkowska A, Surdacka A, Wdowiak P et al. CD3+/CD16+CD56+ cell numbers in peripheral blood are correlated with higher tumor burden in patients with diffuse large B-cell lymphoma *Folia Histochem Cytobiol.* 2011;49(1):183-7.
343. Plonquet A, Haioun C, Jais JP, Debard AL, Salles G, Bene MC et al. Peripheral blood natural killer cell count is associated with clinical outcome in patients with aaIPI 2-3 diffuse large B-cell lymphoma *Ann Oncol.* 2007 Jul;18(7):1209-15.
344. Głowala-Kosińska M, Chwieduk A, Nieckula J, Saduś-Wojciechowska M, Grosicki S, Rusin A et al. Association of circulating regulatory T cell number with the incidence and prognosis of diffuse large B-cell lymphoma *Eur J Haematol.* 2013 Aug;91(2):122-8.
345. Porrata LF, Ristow K, Habermann TM, Ozsan N, Dogan A, Macon W et al. Absolute monocyte/lymphocyte count prognostic score is independent of immunohistochemically determined cell of origin in predicting survival in diffuse large B-cell lymphoma *Leuk Lymphoma.* 2012 Nov;53(11):2159-65.
346. Batty N, Ghonimi E, Feng L, Fayad L, Younes A, Rodriguez MA et al. The absolute monocyte and lymphocyte prognostic index for patients with diffuse large B-cell lymphoma who receive R-CHOP *Clin Lymphoma Myeloma Leuk.* 2013 Feb;13(1):15-8.
347. Aoki K, Tabata S, Yonetani N, Matsushita A, Ishikawa T The Prognostic Impact of Absolute Lymphocyte and Monocyte Counts at Diagnosis of Diffuse Large B-Cell Lymphoma in the Rituximab Era *Acta Haematol.* 2013 Jul 11;130(4):242-246.

348. Tadmor T, Bari A, Sacchi S, Marcheselli L, Liardo EV, Avivi I et al. Monocyte count at diagnosis is a prognostic parameter in diffuse large B-cell lymphoma: a large multicenter study involving 1191 patients, in the pre and post rituximab era *Haematologica*. 2013 Sep 13. [Epub ahead of print]
349. Uzurov-Dinić V, Savić A, Lazarević T, Cemerikić-Martinović V, Agić D, Popović S Prognostic factors in patients with diffuse large B-cell lymphoma *Med Pregl*. 2009 Mar-Apr;62(3-4):171-6.
350. Suzuki K, Terui Y, Nishimura N, Mishima Y, Sakajiri S, Yokoyama M et al. Prognostic value of C-reactive protein, lactate dehydrogenase and anemia in recurrent or refractory aggressive lymphoma *Jpn J Clin Oncol*. 2013 Jan;43(1):37-44.
351. Chihara D, Oki Y, Ine S, Kato H, Onoda H, Taji H et al. Primary gastric diffuse large B-cell Lymphoma (DLBCL): analyses of prognostic factors and value of pretreatment FDG-PET scan *Eur J Haematol*. 2010 Jun;84(6):493-8.
352. Coiffier B, Lepage E Prognostic factors in large-cell lymphomas *Leuk Lymphoma*. 1993;10 Suppl:57-60.
353. Tisi MC, Bozzoli V, Giachelia M, Massini G, Ricerca BM, Maiolo E et al. Anemia in Diffuse Large B cell Non-Hodgkin Lymphoma: The Role of IL-6, Heparin and Erythropoietin *Leuk Lymphoma*. 2013 May 6. [Epub ahead of print]
354. Cuneo A, Rigolin GM, Vavazzini F Immunoblastic lymphoma *Atlas Genet Cytogenet Oncol Haematol* 2011; 15(4): 356-7
355. Diebold J, Anderson JR, Armitage JO, Connors JM, MacLennan KA, Müller-Hermelink HK et al. Diffuse large B-cell lymphoma: a clinicopathologic analysis of 444 cases classified according to the updated Kiel classification *Leuk Lymphoma*. 2002 Jan;43(1):97-104.
356. Bodoor K, Matalka I, Hayajneh R, Haddad Y, Gharaibeh W Evaluation of BCL-6, CD10, CD138 and MUM-1 expression in diffuse large B-cell lymphoma patients: CD138 is a marker of poor prognosis *Asian Pac J Cancer Prev*. 2012;13(7):3037-46.
357. Culpin RE, Sieniawski M, Angus B, Menon GK, Proctor SJ, Milne P et al. Prognostic significance of immunohistochemistry-based markers and algorithms in immunochemotherapy-treated diffuse large B cell lymphoma patients *Histopathology*. 2013 Jul 4.. [Epub ahead of print]

358. Lossos IS, Jones CD, Warnke R, Natkunam Y, Kaizer H, Zehnder JL et al. Expression of a single gene, BCL-6, strongly predicts survival in patients with diffuse large B-cell lymphoma *Blood*. 2001 Aug 15;98(4):945-51.
359. Lossos IS, Czerwinski DK, Alizadeh AA, Wechser MA, Tibshirani R, Botstein D, Levy R Prediction of survival in diffuse large-B-cell lymphoma based on the expression of six genes *N Engl J Med*. 2004 Apr 29;350(18):1828-37.
360. Bai M, Agnantis NJ, Skyrilas A, Tsanou E, Kamina S, Galani V, Kanavaros P Increased expression of the bcl6 and CD10 proteins is associated with increased apoptosis and proliferation in diffuse large B-cell lymphomas *Mod Pathol*. 2003 May;16(5):471-80.
361. Ahyi AN, Chang HC, Dent AL, Nutt SL, Kaplan MH IFN regulatory factor 4 regulates the expression of a subset of Th2 cytokines *J Immunol*. 2009 Aug 1;183(3):1598-606.
362. Muris JJ, Meijer CJ, Vos W, van Krieken JH, Jiwa NM, Ossenkoppele GJ, Oudejans JJ Immunohistochemical profiling based on Bcl-2, CD10 and MUM1 expression improves risk stratification in patients with primary nodal diffuse large B cell lymphoma *J Pathol*. 2006 Apr;208(5):714-23.
363. Koh YW, Park C, Yoon DH, Suh C, Huh J Prognostic significance of COX-2 expression and correlation with Bcl-2 and VEGF expression, microvessel density, and clinical variables in classical Hodgkin lymphoma *Am J Surg Pathol*. 2013 Aug;37(8):1242-51.
364. Mageed RA, Garaud S, Taher TE, Parikh K, Pers JO, Jamin C et al. CD5 expression promotes multiple intracellular signaling pathways in B lymphocyte *Autoimmun Rev*. 2012 Sep;11(11):795-8.
365. Braun F, de Carné Trécesson S, Bertin-Ciftci J, Juin P Protect and serve: Bcl-2 proteins as guardians and rulers of cancer cell survival *Cell Cycle*. 2013 Sep 15;12(18):2937-47.
366. Kadaja-Saarepuu L, Laos S, Jääger K, Viil J, Balikova A, Lõoke M et al. CD43 promotes cell growth and helps to evade FAS-mediated apoptosis in non-hematopoietic cancer cells lacking the tumor suppressors p53 or ARF *Oncogene*. 2008 Mar 13;27(12):1705-15.
367. Jovanović MP, Jaković L, Bogdanović A, Marković O, Martinović VC, Mihaljević B Poor outcome in patients with diffuse large B-cell lymphoma is associated with high percentage of bcl-2 and Ki 67-positive tumor cells *Vojnosanit Pregl*. 2009 Sep;66(9):738-43.

368. Gaudio F, Giordano A, Perrone T, Pastore D, Curci P, Delia M et al. High Ki67 index and bulky disease remain significant adverse prognostic factors in patients with diffuse large B cell lymphoma before and after the introduction of rituximab *Acta Haematol.* 2011;126(1):44-51.
369. Li ZM, Huang JJ, Xia Y, Zhu YJ, Zhao W, Wei WX et al. High Ki-67 expression in diffuse large B-cell lymphoma patients with non-germinal center subtype indicates limited survival benefit from R-CHOP therapy *Eur J Haematol.* 2012 Jun;88(6):510-7.
370. Hasselblom S, Ridell B, Sigurdardottir M, Hansson U, Nilsson-Ehle H, Andersson PO Low rather than high Ki-67 protein expression is an adverse prognostic factor in diffuse large B-cell lymphoma *Leuk Lymphoma.* 2008 Aug;49(8):1501-9.
371. Markovic O, Marisavljevic D, Cemerikic-Martinovic V, Filipovic B, Radovanović S, Zdravković M et al. c-FLIP does not correlate with response to immunochemotherapy treatment and outcome of patients with nodal diffuse large B-cell lymphoma *Biomed Pharmacother.* 2013 Jun;67(5):445-9.
372. Johnson NA, Boyle M, Bashashati A, Leach S, Brooks-Wilson A, Sehn LH et al. Diffuse large B-cell lymphoma: reduced CD20 expression is associated with an inferior survival *Blood.* 2009 Apr 16;113(16):3773-80.
373. Suzuki Y, Yoshida T, Wang G, Togano T, Miyamoto S, Miyazaki K et al. Association of CD20 levels with clinicopathological parameters and its prognostic significance for patients with DLBCL *Ann Hematol.* 2012 Jul;91(7):997-1005.
374. Maeshima AM, Taniguchi H, Fukuhara S, Morikawa N, Munakata W, Maruyama D, et al. Follow-up data of 10 patients with B-cell non-Hodgkin lymphoma with a CD20-negative phenotypic change after rituximab-containing therapy *Am J Surg Pathol.* 2013 Apr;37(4):563-70.
375. Vega F Time to look for CD30 expression in diffuse large B-cell lymphomas, along the way to immunotherapy *Leuk Lymphoma.* 2013 Nov;54(11):2341-2.
376. Chan WC CD30, another useful predictor of survival in DLBCL? *Blood.* 2013 Apr 4;121(14):2582-3.
377. Campuzano-Zuluaga G, Cioffi-Lavina M, Lossos IS, Chapman-Fredricks JR Frequency and extent of CD30 expression in diffuse large B-cell lymphoma and its relation to clinical and biologic factors: a retrospective study of 167 cases *Leuk Lymphoma.* 2013 Nov;54(11):2405-11.

378. Mitrovic Z, Iqbal J, Fu K, Smith LM, Bast M, Greiner TC et al. CD43 expression is associated with inferior survival in the non-germinal centre B-cell subgroup of diffuse large B-cell lymphoma *Br J Haematol*. 2013 Jul;162(1):87-92.
379. Mitrovic Z, Ilic I, Nola M, Aurer I, Sonicki Z, Basic-Kinda S, Radman I et al. CD43 expression is an adverse prognostic factor in diffuse large B-Cell lymphoma *Clin Lymphoma Myeloma*. 2009 Apr;9(2):133-7.
380. Yamaguchi M, Seto M, Okamoto M, Ichinohasama R, Nakamura N, Yoshino T et al. De novo CD5+ diffuse large B-cell lymphoma: a clinicopathologic study of 109 patients *Blood*. 2002 Feb 1;99(3):815-21.
381. Coiffier B Clinical efficacy and management of temsirolimus in patients with relapsed or refractory mantle cell lymphoma *Clin Lymphoma Myeloma Leuk*. 2013 Aug;13(4):351-9.
382. Ahmadi T, McQuade J, Porter D, Frey N, Loren AW, Goldstein SC et al. Potential prolongation of PFS in mantle cell lymphoma after R-HyperCVAD: auto-SCT consolidation or rituximab maintenance *Bone Marrow Transplant*. 2012 Aug;47(8):1082-6.
383. Wang ML, Rule S, Martin P, Goy A, Auer R, Kahl BS et al. Targeting BTK with ibrutinib in relapsed or refractory mantle-cell lymphoma *N Engl J Med*. 2013 Aug 8;369(6):507-16.
384. Mongini PK, Inman JK, Han H, Fattah RJ, Abramson SB, Attur M et al. APRIL and BAFF promote increased viability of replicating human B2 cells via mechanism involving cyclooxygenase 2 *J Immunol*. 2006 Jun 1;176(11):6736-51.
385. Paydas S, Ergin M, Erdogan S, Seydaoglu G Cyclooxygenase-2 expression in non-Hodgkin's lymphomas *Leuk Lymphoma*. 2007 Feb;48(2):389-95.
386. Hazar B, Paydas S, Zorludemir S, Sahin B, Tuncer I Prognostic significance of microvessel density and vascular endothelial growth factor (VEGF) expression in non-Hodgkin's lymphoma *Leuk Lymphoma*. 2003 Dec;44(12):2089-93.
387. Paydas S, Ergin M, Erdogan S, Seydaoglu G Prognostic significance of EBV-LMP1 and VEGF-A expressions in non-Hodgkin's lymphomas *Leuk Res*. 2008 Sep;32(9):1424-30.
388. Kim MK, Suh C, Chi HS, Cho HS, Bae YK, Lee KH et al. VEGFA and VEGFR2 genetic polymorphisms and survival in patients with diffuse large B cell lymphoma *Cancer Sci*. 2012 Mar;103(3):497-503.

389. Milanovic N, Matkovic S, Ristic D, Jelic S, Petrovic M Significance of tumor burden vascular endothelial growth factor, lactate dehydrogenase and beta-2 microglobulin serum levels in advanced diffuse large B cell lymphoma J BUON. 2012 Jul-Sep;17(3):497-501.
390. Lech-Maranda E, Bienvenu J, Broussais-Guillaumot F, Michallet AS, Warzocha K, Biliński P et al. Pretreatment levels of vascular endothelial growth factor in plasma predict a complete remission rate and time to relapse or progression in patients with diffuse large B-cell lymphoma Arch Immunol Ther Exp (Warsz). 2013 Apr;61(2):165-74.
391. Powell JR, Dojcinov S, King L, Wosniak S, Gerry S, Casbard A et al. Prognostic significance of hypoxia inducible factor-1 α and vascular endothelial growth factor expression in patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with rituximab Leuk Lymphoma. 2013 May;54(5):959-66.
392. Novak AJ, Grote DM, Ziesmer SC, Kline MP, Manske MK, Slager S et al. Elevated serum B-lymphocyte stimulator levels in patients with familial lymphoproliferative disorders J Clin Oncol. 2006 Feb 20;24(6):983-7.
393. Quartuccio L, Salvin S, Fabris M, Maset M, Pontarini E, Isola M, De Vita S BLyS upregulation in Sjogren's syndrome associated with lymphoproliferative disorders, higher ESSDAI score and B-cell clonal expansion in the salivary glands Rheumatology (Oxford). 2013 Feb;52(2):276-81.
394. Coquery CM, Erickson LD Regulatory roles of the tumor necrosis factor receptor BCMA Crit Rev Immunol. 2012;32(4):287-305.
395. He B, Raab-Traub N, Casali P, Cerutti A EBV-encoded latent membrane protein 1 cooperates with BAFF/BLyS and APRIL to induce T cell-independent Ig heavy chain class switching J Immunol. 2003 Nov 15;171(10):5215-24.

SPISAK SKRAĆENICA

#

4EBP1 od engl. Eukaryotic translation initiation factor 4E binding protein 1

A

aaIPI od engl. Age-adjusted IPI, starosti prilagođen IPI

ABC od engl. Activated B-cell, Aktivirana B-ćelija

ACE-27 od engl. Adult Comorbidity Evaluation-27

ADCC od engl. Antibody dependent cytotoxicity, Cktotoksičnost zavisna od antitela

ALC od engl. Absolute lymphocyte count, Apsolutni broj limfocita

ALCL od engl. Anaplastic large cell lymphoma, Anaplastični limfom velikih ćelija

ALK od engl. Anaplastic lymphoma kinase

ALK+ LBCL od engl. ALK positive large B-cell lymphoma, ALK-pozitivan B-krupnoćelijski limfom

AlloSCT od engl. Allogeneic stem cell transplantation, Alogena transplantacija matičnih ćelija

Akt od engl. Thymoma viral proto-oncogene

APRIL od engl. A proliferation inducing ligand

ASCT od engl. Autologous stem cell transplantation, Autologna transplantacija matičnih ćelija

B

BAD od engl. BCL2-associated agonist of cell death

BAFF od engl. B-cell activating factor of the tumor necrosis factor family, B-ćelijski aktivator porodice faktora nekroze tumora

BAFF-R BAFF receptor

BAK od engl. BCL2-antagonist/killer

BAX od engl. BCL2-associated X protein

Bcl-11a od engl. B-cell lymphoma-11a

Bcl-2 od engl. B-cell lymphoma-2

Bcl-6 od engl. B-cell lymphoma-6

Bcl-Xl od engl. B-cell lymphoma-Xl

BCMA od engl. B-cell maturation antigen, Antigen sazrevanja B-ćelija

BCR od engl. B-cell receptor, B-ćelijski receptor

BID od engl. BH3 interacting domain death agonist

BIK od engl. BCL2-interacting killer

BIM od engl. BCL2-like 11

BL Burkittov limfom

Blys od engl. B-Lymphocyte stimulator, Stimulator B-limfocita

BMF od engl. Bcl2 modifying factor

BOB.1 protein BOBBER 1

Btk Brutonova kinaza

C

CB	centroblastni
CCND 1	Cyclin D1
CD	od engl. Cluster of differentiation, Klaster diferencijacije
CDKN2A	od engl. cyclin-dependent kinase inhibitor 2A
CEPP	ciklofosfamid, etopozid, prokarbazin, prednizolon
CHOP	ciklofosfamid, doksorubicin, vinkristin, prednizolon
CHOEP	(ili EPOCH) etopozid, ciklofosfamid, doksorubicin, vinkristin, prednizolon
CNS	centralni nervni sistem
COP	(ili CVP) ciklofosfamid, vinkristin, prednizolon
CORAL	od engl. Collaborative Trial in Relapsed Aggressive Lymphoma
COX-1	ciklooksigenaza 1
COX2	ciklooksigenaza 2
CR	od engl. Complete remission, Kompletna remisija
CREB	od engl. DNA-binding response regulator CreB
c-rel	od engl. C- Reticuloendotheliosis oncogene
CS	od engl. Clinical stage, Klinički stadijum
CT	kompjuterizovana tomografija
CXCL-13	hemokin ligand 13

D

DA-R.EPOCH	od engl. Dose adjusted R-EPOCH, Dozno prilagođeni R-EPOCH
DBA44	Detektovani B-ćelijski antigen 44
DENSE-R-CHOP14	dozno učestali R-CHOP14
DHAP	deksametazon, citozin arabinozid, cisplatin
DHL	od engl. Double hit lymphoma
DLBCL	od engl. Diffuse large B-cell Lymphoma, Difuzni B-krupnoćelijski limfom
DLBCL-ACI	od engl. Diffuse large B-cell Lymphoma associated with chronic inflammation, Difuzni B-krupnoćelijski limfom udružen sa hroničnom inflamacijom
DLBCL-NOS	od engl. Diffuse large B-cell Lymphoma Not otherwise specified, Difuzni B-krupnoćelijski limfom, drugačije neoznačen
DSHNHL	od nem. Die Deutsche Studiengruppe Hochmaligne Non-Hodgkin-Lymphome

E

EATL	od engl. Enteropathy associated T-cell lymphoma, T-ćelijski limfom udružen sa enteropatijom
EBER	od engl. Epstein-Barr-encoded RNA-associated protein
EBNA-1	EBNA-protein 1
EBNA-2	EBNA-protein 2
EBV	Epstein-Barr virus
EBV-LMP1	Epstein-Barr virus-latentni membranski protein 1
ECOG	od engl. Eastern Cooperative Oncology Group
EFS	od engl. Event free survival, Vreme do neželjenog događaja
EIF4E	od engl. Eukaryotic translation initiation factor 4E

EMA	Epitelijalni membranski antigen
Erb2	(ili Her2) od engl. Human epidermal growth factor receptor 2
ERK	(ili MAPK1) od engl. Mitogen-activated protein kinase 1
ESHAP	etopozid, metilprednizolon, citozin arabinozid, cisplatin
ESMO	od engl. European Society for Medical Oncology, Evropsko udruženje medikalnih onkologa

F

FADD	od engl. Fas-associated via death domain
FDA	od engl. Food and Drugs Administration
FDG	Fluoro-deoksi glukoza
FGF	od engl. Fibroblast growth factor, Faktor rasta fibroblasta
FISH	Fluorescentna in situ hibridizacija
FL	Folikularni limfom
f-MLP	od engl. Formyl-Methionyl-Leucyl-Phenylalanine
FOXO3A	od engl. Forkhead box O3A
FOXP1	od engl. Forkhead box protein P1

G

GA-101	Obinutuzumab
GC	od engl. Germinal center
GCB	od engl. Germinal center B-cell
GCET1	(ili SERPINA9) od engl. Serpin peptidase inhibitor, clade A (alpha-1 antiproteinase, antitrypsin), member 9
G-CSF	od engl. Granulocyte colony stimulating factor, Faktor stimulacije rasta granulocita
GELA	od fran. Groupe d'Etudes des Lymphomes de l'Adulte
GEP	od engl. Gene expression profile, Profil genske ekspresije
GF	od engl. Growth factor, Faktor rasta
GOELAMS	od fran. Groupe Ouest-Est des Leucémies et Autres Maladies du Sang
GSK	Glaxo Smith Kline
GSK3b	od engl. Glycogen synthase kinase 3 beta

H

HCV	Hepatitis C virus
HCT-CI	od engl. Haematopoietic Stem Cell Transplantation-specific comorbidity index
HDCT	od engl. High dose chemotherapy, Visokodozna hemioterapija
Hgb	Hemoglobin
HE	Hematokislin-eozin
HHV-8	Humani herpes-virus 8
HIF-1 α	od engl. Hypoxia-inducible factor 1 α , Hipoksijom inducibilan faktor 1 α
HIV	od engl. Human immunodeficiency virus, Virus humane imunodeficijencije
HL	Hodgkinov limfom

HLA	Humani leukocitni antigen
HLL	Hronična limfocitna leukemija
HLO	od eng. Helicobacter-like organisms, Organizmi slični Helikobakteru
HPF	od engl. High power field, polje velikog uvećanja
HR	odengl. Hazard ratio
HTLV-1	Humani T-limfotropni virus-1

I

IB	imunoblastni
ICAM-1	od engl. intercellular adhesion molecule 1
ICE	ifosfamid, karboplatin, etopozid
IFI 27	od engl. interferon, alpha-inducible protein 27
IFRT	od engl. Involved field radiotherapy, Radioterapija po zahvaćenom polju
Ig	Imunoglobulin
IgA	Imunoglobulin A
IgG	Imunoglobulin G
IHH	Imunohistohemija
IKK	I κ B kinaza
IL-4	Interleukin-4
IL-6	Interleukin-6
IL-10	Interleukin-10
IL-18	Interleukin-18
IPI	od engl. International prognostic index, Internacionalni prognozni skor
IRF4	Interferon regulatorni faktor-4
ISH	In situ hibridizacija
IVLBCL	od engl. Intravascular large B-cell Lymphoma, Intravaskularni B-krupnoćelijski limfom
IWG	od engl. International working group, Međunarodna radna grupa

J

JAK 2	Janus kinaza 2
JNK	c-Jun-N-terminalna kinaza

K

L

LAMA-1	laminin, alfa 1
LBL HH8-MCD	od engl. Large B-cell lymphoma arising in HH8-associated Castleman disease, B-krupnoćelijski limfom nastao iz HH8-vezane Castlemanove bolesti
LDH	Laktat dehidrogenaza
LMO2	od engl. LIM domain only 2

LNH 98.5 LNH 98.5 studija
LYG Limfomatoidna granulomatoza

M

MAB od engl. Monoclonal antibody, Monoklonsko antitelo
MACOP-B metotreksat, citarabin, ciklofosamid, prednizolon, bleomicin
MAL od engl. Myelin and lymphocyte protein
MALT od engl. Mucosa-associated lymphoid tissue, Limfoidno tkivo sluznica
M-CIRS od engl. Modified Cumulative Illness Rating Scale
MCL1 od engl. Mantle cell lymphoma protein-1
MEK (ili MAP2K1) od engl. Mitogen-activated protein kinase kinase 1
MHC od engl. Major histocompatibility complex, Glavni kompleks tkivne podudarnosti
MINT od engl. Mabthera International Trial Group
mRNA od engl. Messenger Ribonucleic acid
mTOR od engl. Mammalian target of Rapamycine
MUM-1 multipli mijelom-1
MYC od engl. Myelocytomatosis oncogene
MZL od engl. Marginal zone lymphoma, Limfom marginalne zone

N

NCCN od engl. National Comprehensive Cancer Network
NF- κ B Nuklearni faktor- κ B
NHL Non-Hodgkin limfom
NIK (ili MAP4K4) od engl. Mitogen-activated protein kinase kinase kinase 4
NK od engl. Natural killer, Prirodne ubice
NLPHL od engl. Nodular lymphocyte predominant Hodgkin's lymphoma, Hodgkinov limfom sa predominacijom limfocita
NOXA (ili PMAIP1) od engl. Phorbol-12-myristate-13-acetate-induced protein 1
NR od engl. Not reached, Nije postignut(a)

O

Oct-2 Oct-2 protein
ORR od engl. Overall response rate, Ukupan odgovor
OS od engl. Overall survival, Ukupno preživljavanje

P

PAL od engl. Pyothorax associated lymphoma, Limfom udružen sa pitoraksom
PAX5 od engl. Paired box 5
PBL Plazmablasni limfom
PCLBCL Primary cutaneous diffuse large B-cell Lymphoma, leg type; Primarni kožni difuzni B-krupnoćelijski limfom, tip noge

PCM	Protočna citometrija
PD	od engl. Progressive disease, Progresija bolesti
PDL-1	PDL 1-protein
PDL-2	PDL-2 protein
Pdk1	od engl. Phosphoinositide-dependent kinase 1
PEL	od engl. Primary effusion lymphoma , primarni efuzioni limfom
PET	Pozitronska emisiona tomografija
PFS	od engl. Progression-free survival, Vreme do progresije bolestio
PGE2	Prostaglandin E2
PGF2	Prostaglandin F2
PI3K	od engl. Phosphatidylinositol 3-kinase
PIM1	Pim-1-onkogen
PIM2	Pim-2-onkogen
PKC β	Protein kinaza C-beta
PKC δ	Protein kinaza C-delta
PMBL	Primarni medijastinalni B-ćelijski limfom
PPAR δ	od engl. Peroxisome proliferator-activated receptor delta
PR	od engl. Partial remission, Parcijalna remisija
PTCL-NOS	od engl. Peripheral T-cell Lymphoma Not otherwise specified, Periferni T-ćelijski limfom, drugačije neklasifikovan
PTEN	od engl. Phosphatase and tensin homolog
PTLD	od engl. Posttransplant lymphoproliferative disorder, Postratransplantaciona limfoproliferativna bolest
PUMA	(ili Bbc3) od engl. BCL2 binding component 3

R

RA	Reumatoidni artritis
R-ABVCP	rituksimab, doksorubicin, bleomicin, vindesin, ciklofosamid, prednizolon
Raf	od engl. Murine sarcoma viral oncogene
Rb	Retinoblastoma gen
R-CHOEP	(ili R-EPOCH) rituksimab, etopozid, ciklofosamid, doksorubicin, vinkristin, prednizolon
R-CHOP14	rituksimab, ciklofosamid, doksorubicin, vinkristin, prednizolon na 14 dana
R-CHOP21	rituksimab, ciklofosamid, doksorubicin, vinkristin, prednizolon na 21 dan
R-COP	(ili R-CVP) rituksimab, ciklofosamid, vinkristin, prednizolon
R-CVPE	rituksimab, ciklofosamid, vinkristin, prednozolon, etopozid
R-DHAP	rituksimab, deksametazon, citozin arabinozid, cisplatin
REAL	od engl. Revisited European and American Lymphoma, Revidirana evropska i američka limfomska
Rel	od engl. Reticuloendotheliosis oncogene
R-GEMOX	rituksimab, gemcitabin, oksaliplatin
RHOH	od engl. ras homolog family member H
RICAlloSCT	od engl. Reduced intensity ionconditioning allogeneic stemm cell transplantation, Alogena transplantacija matičnih ćelija hematopoeze redukovanog intenziteta kondicioniranja

R-ICE rituksimab, ifosfamid, karboplatin, etopozid
 RICOVER-60 od engl. Rituximab with CHOP over age 60 years
 R-IPI Revidiran IPI
 R/R relaps/refrakterni
 RS Richterov sindrom

S

S6K1 od engl. Ribosomal protein S6 kinase
 sIgM Solubilni imunoglobulin M
 sIgD Solubilni imunoglobulin D
 Skp2 od engl. S-phase kinase-associated protein 2, Protein vezan za kinazu S-faze
 SLG Srpska limfomska grupa
 SLL od engl. Small lymphocyte lymphoma, Limfom malih limfocita
 SMAC (ili DIABLO) od engl. IAP-binding mitochondrial protein
 SMZL Splenični limfom marginalne zone
 SOCS 1 od engl. Suppressor of cytokine signaling
 STAT od engl. Signal transducer and activator of transcription
 STAT3 od engl. Signal transducer and activator of transcription 3
 SUV od engl. Standard uptake value
 SWOG od engl. Southwest Oncology Group
 Syk od engl. Spleen tyrosine kinase, Splenična tirozin kinaza

T

TACI od engl. Transmembrane activator and calcium modulator and cyclophilin ligand interactor, transmembranski aktivator i kalcijumski modulator i interaktor ciklofilinskih liganada
 TCHRLBCL od engl. T-cell/histiocyte rich large B-cell lymphoma, Krupnoćelijski B-limfom bogat T-ćelijama/histiocitima
 TdT Terminalna deoksinukleotidilna transferaza
 TGF α od engl. Transforming growth factor-alpha
 TGF β od engl. Transforming growth factor-beta
 TH1 od engl. T-helper 1
 TH2 od engl. T-helper 2
 TNF- α od engl. Tumor necrosis factor α , Faktor nekroze tumora α
 TRAF od engl. TNF-receptor-associated factor
 TRAIL-R od engl. TNF-related apoptosis-inducing ligand-receptor
 TRAP od engl. trp RNA-binding Attenuation Protein

U

UK od engl. United Kingdom, Velika Britanija
 USA od engl. United States of America, Sjedinjene Američke Države

V

VACOP-B etopozid, doksorubicin, ciklofosamid, vinkristin, prednizolon, bleomicin
VEGF od engl. VEGF vascular endothelial growth factor, Vaskularni endotelialni faktora rasta
VEGFR od engl. Vascular endothelial growth factor receptor, Receptor vaskularnog endotelialnog faktora rasta
VH 4-34 od engl. immunoglobulin heavy variable 4-34
VH (IGHV) od engl. immunoglobulin heavy variable
VHL von Hippel-Lindau
VS 38 VS 38-gen

W

WHO od engl. World health organization, Svetska zdravstvena organizacija

Z