



UNIVERZITET U NOVOM SADU  
MEDICINSKI FAKULTET

Studije kliničke medicine

**MORFOLOŠKE I IMUNOHISTOHEMIJSKE ODLIKE  
DIFUZNIH KRUPNOĆELIJSKIH B LIMFOMA**

DOKTORSKA DISERTACIJA  
radna verzija

Mentor: Prof. dr Dejan Vučković

kandidat: Asist. dr Zoran Nikin

Novi Sad, 2014. godine

**UNIVERZITET U NOVOM SADU**  
**NAZIV FAKULTETA - MEDICINSKI FAKULTET**

**KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA**

|   |  |
|---|--|
| Redni broj:<br>RBR                              |  |
| Identifikacioni broj:<br>IBR                    |  |
| Tip dokumentacije: TD                           | Monografska dokumentacija  |
| Tip zapisa: TZ                                  | Tekstualni štampani materijal  |
| Vrsta rada (dipl., mag., dokt.): VR             | Doktorska disertacija  |
| Ime i prezime autora: AU                        | Zoran Nikin  |
| Mentor (titula, ime, prezime,<br>zvanje):<br>MN | Prof. dr Dejan Vučković  |
| Naslov rada: NR                                 | Morfološke i imunohistohemijske odlike<br>difuznih krupnoćelijskih B limfoma |
| Jezik publikacije: JP                           | Srpski   |
| Jezik izvoda: JI                                | srpski / engleski  |
| Zemlja publikovanja: ZP                         | Srbija   |
| Uže geografsko područje:<br>UGP                 | Vojvodina  |
| Godina:<br>GO                                   | 2014.  |
| Izdavač: IZ                                     | autorski reprint   |
| Mesto i adresa:<br>MA                           | 21000 Novi Sad, Hajduk Veljkova 3  |

|  |   |
|--|---|
| Fizički opis rada:<br>FO                 | (broj poglavlja 7/ stranica 186/ slika 3/<br>mikrofotografija 19/ šema 1/ grafikona 5/ tabela<br>220/ referenci 255/ priloga 0) |
| Naučna oblast:<br>NO                     | Medicina  |
| Naučna disciplina:<br>ND                 | Patologija  |
| Predmetna odrednica, ključne reči:<br>PO | Difuzni, krupnoćelijski, B limfom;<br>imunohistohemija; prognoza  |
| UDK                                      | 616-006.44-079.4-037  |
| Čuva se:<br>ČU                           | U biblioteci Medicinskog fakulteta u Novom Sadu,<br>Hajduk Veljkova 3   |
| Važna napomena:<br>VN                    |   |

Izvod:  
IZ

Difuzni krupnoćelijski B limfom je najčešći limfom na svetu i obuhvata do 30% non Hodgkin limfoma u zapadnim zemljama i veći procenat u zemljama u razvoju i nerazvijenim zemljama. Obično nastaje de novo ali može nastati sekundarno kao rezultat progresije manje agresivnih limfoma. U većini slučajeva počinje u limfnim čvorovima. Histološka slika nije uniformna kod svih podtipova DLBCL, zbog morfološkog diverziteta tumorskih ćelija i zbog pratećih neneoplastičnih procesa. Naše istraživanje obuhvata 92 bolesnika koji su dijagnostikovani i lečeni na Institutu za onkologiju Vojvodine od 2003. do 2011. godine, od kojih je 66 imalo kompletna imunohistohemijska ispitivanja. Svi su lečeni standardnim protokolom koji uključuje rituksimab. Ispitali smo morfološki i imunohistohemijski podtip, ekspresiju imunohistohemijskih markera, pol, starost, stadijum, nodalno/ekstranodalno ishodište i preživljavanje. CD20 je bio pozitivan u svim dostupnim uzorcima. MUM1 u 62,07%, CD10 u 20,23%, BCL6 u 51,72%, CD30 u 10,81%, CD5 u 8,05%, Ki-67 u 30-92%, BCL2 u 39,33%, BAFFR u 46,15%, TACI u 43,94%, BCMA u 10,61%, VEGF u 27,7%, COX2 u 63,64%, CD43 u 18,52%, EBV LMP u 37,88%. Među obolelim ženama je statistički značajno veći procenat MUM1 pozitivnih i BAFFR pozitivnih bolesnika nego među obolelim muškarcima. Kod starijih ispitanika je statistički signifikantno ređa ekspresija CD30, COX2, TACI i BCMA. Kod ekstranodalnih limfoma ekspresija TACI je češća nego kod nodalnih limfoma. Ispitanici sa pozitivnom ekspresijom COX2 i ispitanici sa pozitivnom ekspresijom TACI imaju značajno izraženiju ekspresiju Ki-67. Bolesnici sa negativnom ekspresijom BCL2 imaju statistički značajnu korelaciju sa negativnom ekspresijom CD5 i negativnom ekspresijom CD43. Bolesnici sa pozitivnom ekspresijom CD30 imaju statistički značajnu pozitivnu korelaciju sa ekspresijom BCMA. Ispitanici sa pozitivnom ekspresijom COX2 imaju statistički značajnu pozitivnu korelaciju sa ekspresijom TACI. Markeri aktivacije i diferencijacije limfocita nemaju statistički značajnu pozitivnu korelaciju sa boljom prognozom. Markeri signalnih puteva angiogeneze i inflamacije nemaju statistički značajnu pozitivnu korelaciju sa lošijom prognozom. Izgleda da treba biti racionalan i upotrebiti samo osnovna antitela za određivanje imunohistohemijskog podtipa i antitela potrebna za diferencijalnu dijagnozu. Čini se da je prognostički značaj imunohistohemijskih antitela (osim CD20) danas kada se u terapiji koristi Rituximab minimalan.

|  |  |
|--|--|
| Datum prihvatanja teme od strane NN veća:<br>DP  | 25. mart 2014.   |
| Datum odbrane:<br>DO   |  |
| Članovi komisije:<br>(ime i prezime / titula / zvanje / naziv organizacije / status)<br>KO | <p>predsednik: Prof. dr Nada Vučković, redovni profesor, Medicinski fakultet Novi Sad</p> <p>član: Prof. dr Slavica Knežević Ušaj, vanredni profesor, Medicinski fakultet Novi Sad</p> <p>član: Prof. dr Biljana Mihaljević, redovni profesor, Medicinski fakultet Beograd</p> <p>član: Prof. dr Živka Eri, redovni profesor, Medicinski fakultet Novi Sad</p> <p>član: Doc. Dr Tatjana Ivković Kapicl, docent, Medicinski fakultet Novi Sad</p> |

University of Novi Sad  
ACIMSI  
Key word documentation

|                                |   |
|--------------------------------|---|
| Accession number:<br>ANO       |   |
| Identification number:<br>INO  |   |
| Document type:<br>DT           | Monograph documentation   |
| Type of record:<br>TR          | Textual printed material  |
| Contents code:<br>CC           | PH. D. thesis   |
| Author:<br>AU                  | Zoran Nikin   |
| Mentor:<br>MN                  | Prof. dr Dejan Vuckovic   |
| Title:<br>TI                   | Morphological and Immunohistochemical Features<br>Of Diffuse Large B-Cell Lymphomas |
| Language of text:<br>LT        | Serbian   |
| Language of abstract:<br>LA    | English / Serbian   |
| Country of publication:<br>CP  | Serbia  |
| Locality of publication:<br>LP | Vojvodina   |
| Publication year:<br>PY        | 2014.   |
| Publisher:<br>PU               | Author`s reprint  |
| Publication place:<br>PP       | Serbia, 21000 Novi Sad, Hajduk Veljkova 3   |

|                             |   |
|-----------------------------|---|
| Physical description:<br>PD | Parts 7 / pages 186 / pictures 3/ microphotographs 19/<br>scheme 1 / graphs 5 / tables 220 / references 255 |
| Scientific field<br>SF      | Medicine  |
| Scientific discipline<br>SD | Pathology   |
| Subject, Key words<br>SKW   | Lymphoma, Large B-Cell, Diffuse;<br>Immunohistochemistry; Prognosis   |
| UC                          | 616-006.44-079.4-037  |
| Holding data:<br>HD         | Library of the Faculty of Medicine, 21000 Novi Sad,<br>Hajduk Veljkova 3                                    |
| Note:<br>N                  |   |

Abstract:  
AB

Diffuse large B-cell lymphoma is the most common lymphoma in the world and represents up to 30% of all NHL in western countries and more in developing and undeveloped countries. It is usually a primary disease but also it can develop secondary as a result of progression of low grade lymphomas. In most cases the disease begins in lymph nodes. Histological features are not uniform in all subtypes of DLBCL due to morphological diversity and following non-neoplastic processes. Our research includes 92 patients whom are diagnosed and treated at the Institute for Oncology of Vojvodina since 2003. to 2011. and 66 among them have complete immunohistochemical findings. All of them are treated with standard protocols including Rituximab. We have examined morphological and immunohistochemical subtype, expression of immunohistochemical markers, sex, age, stadium, nodal / extranodal origin and survival. CD20 was positive in all available samples. MUM1 in 62,07%, CD10 in 20,23%, BCL6 in 51,72%, CD30 in 10,81%, CD5 in 8,05%, Ki-67 in 30-92%, BCL2 in 39,33%, BAFFR in 46,15%, TACI in 43,94%, BCMA in 10,61%, VEGF in 27,7%, COX2 in 63,64%, CD43 in 18,52%, EBV LMP in 37,88%. Female patients have significantly more often MUM1 and BAFFR expression compared to male patients. Older patients have significantly less often CD30, COX2, TACI and BCMA expression. Extranodal lymphomas have more frequent TACI expression then nodal ones. Patients with COX2 expression and patients with TACI expression have significantly higher Ki-67 expression. Patients without BCL2 expression have a significant correlation with CD5 negative expression and CD43 negative expression. Patients with CD30 expression have significant correlation with BCMA expression. Patients with COX2 expression have significant correlation with TACI expression. Markers of activation and differentiation of lymphocytes do not have significant correlation with better prognosis. Markers of signaling pathways for angiogenesis and inflammation do not have a significant correlation with worst prognosis. It seems that we should be rational and use only basic antibodies for determination if immunohistochemical subtype and antibodies necessary for differential diagnosis. It seems that prognostic significance of immunohistochemical antibodies (except CD20) is minimal today in Rituximab era.



|  |  |
|--|--|
| Accepted on Scientific Board on:<br>AS | The 25th of March, 2014.   |
| Defended:<br>DE                        |  |
| Thesis Defend Board:<br>DB             | president: Prof. dr Nada Vuckovic, fulltime professor, Faculty of Medicine Novi Sad<br><br>member: Prof. dr Slavica Knezevic Usaj, associate professor, Faculty of Medicine Novi Sad<br><br>member: Prof. dr Biljana Mihaljevic, fulltime professor, Faculty of Medicine Belgrade<br><br>member: Prof. dr Zivka Eri, fulltime professor, Faculty of Medicine Novi Sad<br><br>member: Doc. Dr Tatjana Ivkovic Kapicl, assistant professor, Faculty of Medicine Novi Sad |

# SADRŽAJ

|  |          |
|--|----------|
| <b>1. UVOD</b> .....   | <b>1</b> |
| 1.1 DEFINICIJA DIFUZNOG KRUPNOĆELIJSKOG B LIMFOMA (DLBCL) .....  | 2        |
| 1.2 ĆELIJA POREKLA DIFUZNOG KRUPNOĆELIJSKOG B LIMFOMA (DLBCL) .....                                    | 2        |
| 1.3 EPIDEMIOLOGIJA .....   | 3        |
| 1.4 ETIOLOGIJA .....   | 4        |
| 1.5 KLINIČKE OSOBINE.....  | 6        |
| 1.6 DIJAGNOSTIKA DIFUZNOG KRUPNOĆELIJSKOG B LIMFOMA .....  | 6        |
| 1.6.1 Protočna citometrija.....  | 7        |
| 1.6.2 Genetika.....  | 7        |
| 1.7 TERAPIJA.....  | 8        |
| 1.8 MAKROSKOPSKI IZGLED TUMORSKOG TKIVA DLBCL .....  | 9        |
| 1.9 MIKROSKOPSKI IZGLED TUMORSKOG TKIVA DLBCL.....   | 9        |
| 1.10 ISTORIJAT KLASIFIKACIJA LIMFOMA I NAZIVA DANAŠNJEG DLBCL .....                                    | 10       |
| 1.11 AKTUELNA PODELA SVIH LIMFOMA.....   | 10       |
| 1.12 PODELA PERIFERNIH B ĆELIJSKIH NEOPLAZMI - NEOPLAZMI ZRELIH B ĆELIJA .....                         | 11       |
| 1.13 PODELA DIFUZNOG KRUPNOĆELIJSKOG B LIMFOMA .....   | 12       |
| 1.14 UOBIČAJENE MORFOLOŠKE VARIJANTE DLBCL.....  | 13       |
| 1.14.1 Centroblastni difuzni krupnoćelijski B limfom.....  | 14       |
| 1.14.2 Imunoblastni difuzni krupnoćelijski B limfom.....   | 14       |
| 1.14.3 Anaplastični difuzni krupnoćelijski B limfom .....  | 14       |
| 1.14.4 Retke morfološke varijante difuznog krupnoćelijskog B limfoma .....                             | 15       |
| 1.15 MOLEKULARNE PODGRUPE DLBCL.....   | 16       |
| 1.16 IMUNOHISTOHEMIJSKE PODGRUPE DLBCL .....   | 17       |
| 1.17 DIFUZNI KRUPNOĆELIJSKI B LIMFOM, PODTIPOVI.....   | 19       |
| 1.17.1 DLBCL bogat T limfocitima / histiocitima (TCHRLBCL) .....                                       | 19       |
| 1.17.2 Primarni DLBCL centralnog nervnog sistema .....   | 20       |
| 1.17.3 Primarni kutani DLBCL, nožni tip.....   | 20       |
| 1.17.4 EBV pozitivni DLBCL kod starijih.....   | 20       |
| 1.18 DRUGI LIMFOMI KRUPNIH B ĆELIJA .....  | 21       |
| 1.18.1 Primarni medijastinalni krupnoćelijski B limfom (PMBL) .....                                    | 21       |
| 1.18.2 Intravaskularni DLBCL.....  | 22       |
| 1.18.3 DLBCL povezan sa hroničnom inflamacijom .....   | 22       |
| 1.18.4 Limfomatoidna granulomatoza (LyG) .....   | 23       |
| 1.18.5 ALK pozitivni DLBCL.....  | 23       |
| 1.18.6 Plazmablastni DLBCL.....  | 24       |
| 1.18.7 Krupnoćelijski B limfom nastao u multicentričnoj Castleman-ovoj bolesti povezanoj sa HHV8 ..... | 24       |
| 1.18.8 Primarni efuzioni limfom.....   | 25       |
| 1.19 ISHODIŠTE DLBCL, SUMIRANO .....   | 25       |
| 1.20 GRANIČNI SLUČAJEVI.....   | 25       |
| 1.20.1 B ćelijski limfomi, neklasifikovani, sa osobinama između DLBCL i Burkitt limfoma (BL) .....     | 25       |
| 1.20.2 B ćelijski limfomi, neklasifikovani, sa osobinama između DLBCL i klasičnog Hodgkin limfoma..... | 26       |
| 1.21 DIFERENCIJALNA DIJAGNOZA.....   | 26       |
| 1.22 PROGNOZA I PREDIKTIVNI FAKTORI.....   | 28       |
| 1.22.1 Klinički faktori .....  | 28       |
| 1.22.2 Morfološki faktori .....  | 30       |
| 1.22.3 Imunohistohemijski faktori .....  | 30       |
| 1.22.4 Molekularni faktori.....  | 31       |
| 1.23 NAJČEŠĆE KORIŠĆENI IMUNOHISTOHEMIJSKI MARKERI U DIJAGNOSTICI DLBCL .....                          | 33       |
| 1.23.1 CD20.....   | 33       |
| 1.23.2 CD10.....   | 33       |
| 1.23.3 BCL6.....   | 33       |
| 1.23.4 MUM1 .....  | 34       |
| 1.23.5 CD5.....  | 34       |
| 1.23.6 BCL2.....   | 34       |
| 1.23.7 CD30.....   | 34       |
| 1.23.8 Ki-67.....  | 35       |
| 1.23.9 EBV LMP.....  | 35       |
| 1.23.10 CD43.....  | 35       |
| 1.24 RETKO KORIŠĆENI IMUNOHISTOHEMIJSKI MARKERI U DIJAGNOSTICI DLBCL.....                              | 35       |
| 1.24.1 Ciklooksigenaza 2 (COX2) .....  | 35       |
| 1.24.2 Vaskularni endotelni faktor rasta (VEGF).....   | 36       |

|           |   |           |
|-----------|---|-----------|
| 1.24.3    | "B lymphocyte stimulator" (BLyS).....   | 36        |
| <b>2.</b> | <b>CILJEVI I HIPOTEZE.....</b>  | <b>37</b> |
| 2.1       | CILJEVI ISTRAŽIVANJA.....   | 37        |
| 2.2       | HIPOTEZE .....  | 37        |
| <b>3.</b> | <b>MATERIJAL I METODE.....</b>  | <b>38</b> |
| 3.1       | PACIJENTI.....  | 38        |
| 3.2       | STANDARDNE PATOHISTOLOŠKE METODE .....  | 38        |
| 3.3       | IMUNOHISTOHEMIJSKE METODE (IHH) .....   | 39        |
| 3.3.1     | <i>Korišćena antitela.....</i>  | 39        |
| 3.3.2     | <i>Imunohistohemijski metod za antitela BAFFR, EBV, COX2, Ki-67 i CD43.....</i>   | 39        |
| 3.3.3     | <i>Imunohistohemijski metod za antitela TACI, BCMA, CD20 i BCL2.....</i>  | 40        |
| 3.3.4     | <i>Imunohistohemijski metod za antitela CD30, CD5, MUM1 .....</i>   | 40        |
| 3.3.5     | <i>Imunohistohemijski metod za antitela VEGF, BCL6 i CD10.....</i>  | 40        |
| 3.4       | IMUNOHISTOHEMIJSKA ANALIZA EKSPRESIJE ANTITELA.....   | 40        |
| 3.4.1     | <i>Analiza ekspresije Ki-67.....</i>  | 40        |
| 3.4.2     | <i>Analiza ekspresije CD20.....</i>   | 41        |
| 3.4.3     | <i>Analiza ekspresije MUM1.....</i>   | 41        |
| 3.4.4     | <i>Analiza ekspresije CD10.....</i>   | 42        |
| 3.4.5     | <i>Analiza ekspresije BCL6.....</i>   | 42        |
| 3.4.6     | <i>Analiza ekspresije BCL2.....</i>   | 43        |
| 3.4.7     | <i>Analiza ekspresije CD5.....</i>  | 43        |
| 3.4.8     | <i>Analiza ekspresije CD30.....</i>   | 44        |
| 3.4.9     | <i>Analiza ekspresije CD43.....</i>   | 44        |
| 3.4.10    | <i>Analiza ekspresije EBV LMP.....</i>  | 45        |
| 3.4.11    | <i>Analiza ekspresije VEGF.....</i>   | 45        |
| 3.4.12    | <i>Analiza ekspresije COX2.....</i>   | 46        |
| 3.4.13    | <i>Analiza ekspresije BAFFR.....</i>  | 46        |
| 3.4.14    | <i>Analiza ekspresije TACI.....</i>   | 47        |
| 3.4.15    | <i>Analiza ekspresije BCMA.....</i>   | 48        |
| 3.5       | STATISTIČKA ANALIZA .....   | 48        |
| <b>4.</b> | <b>REZULTATI.....</b>   | <b>50</b> |
| 4.1       | DEMOGRAFSKE KARAKTERISTIKE ISPITIVANE GRUPE BOLESNIKA.....  | 50        |
| 4.2       | KLINIČKO-PATOLOŠKE KARAKTERISTIKE DLBCL U ISPITIVANOJ GRUPI.....  | 54        |
| 4.2.1     | <i>Distribucija morfoloških podtipova DLBCL u odnosu na pol .....</i>   | 54        |
| 4.2.2     | <i>Distribucija imunohistohemijskih podtipova DLBCL u odnosu na pol .....</i>   | 54        |
| 4.2.3     | <i>Distribucija nodalnog/ekstranodalnog ishodišta tumora u odnosu na pol.....</i>   | 55        |
| 4.2.4     | <i>Distribucija kliničkih stadijuma u odnosu na pol.....</i>  | 56        |
| 4.3       | ANALIZA EKSPRESIJE IMUNOHISTOHEMIJSKIH MARKERA U ODNOSU NA POL .....  | 56        |
| 4.3.1     | <i>Analiza ekspresije Ki-67 u odnosu na pol.....</i>  | 56        |
| 4.3.2     | <i>Analiza ekspresije MUM1 u odnosu na pol .....</i>  | 57        |
| 4.3.3     | <i>Analiza ekspresije CD10 u odnosu na pol .....</i>  | 58        |
| 4.3.4     | <i>Analiza ekspresije BCL6 u odnosu na pol .....</i>  | 58        |
| 4.3.5     | <i>Analiza ekspresije BCL2 u odnosu na pol .....</i>  | 59        |
| 4.3.6     | <i>Analiza ekspresije CD30 u odnosu na pol .....</i>  | 59        |
| 4.3.7     | <i>Analiza ekspresije CD5 u odnosu na pol .....</i>   | 60        |
| 4.3.8     | <i>Analiza ekspresije CD43 u odnosu na pol .....</i>  | 60        |
| 4.3.9     | <i>Analiza ekspresije EBV LMP u odnosu na pol.....</i>  | 61        |
| 4.3.10    | <i>Analiza ekspresije VEGF u odnosu na pol.....</i>   | 61        |
| 4.3.11    | <i>Analiza ekspresije COX2 u odnosu na pol.....</i>   | 62        |
| 4.3.12    | <i>Analiza ekspresije BAFFR u odnosu na pol.....</i>  | 62        |
| 4.3.13    | <i>Analiza ekspresije TACI u odnosu na pol .....</i>  | 63        |
| 4.3.14    | <i>Analiza ekspresije BCMA u odnosu na pol.....</i>   | 63        |
| 4.4       | ANALIZA KORELACIJA EKSPRESIJE IMUNOHISTOHEMIJSKIH MARKERA U ODNOSU NA STAROST I KLINIČKI STADIJUM U TRENUTKU POSTAVLJANJA DIJAGNOZE ..... | 64        |
| 4.5       | ANALIZA KORELACIJA EKSPRESIJE IMUNOHISTOHEMIJSKIH MARKERA U ODNOSU NA NODALNO / EKSTRANODALNO ISHODIŠTE LIMFOMA.....                      | 66        |
| 4.5.1     | <i>Analiza korelacije ekspresije CD20 u odnosu na nodalno / ekstranodalno ishodište limfoma....</i>                                       | 66        |
| 4.5.2     | <i>Analiza korelacije ekspresije MUM1 u odnosu na nodalno / ekstranodalno ishodište limfoma..</i>   | 66        |
| 4.5.3     | <i>Analiza korelacije ekspresije CD10 u odnosu na nodalno / ekstranodalno ishodište limfoma....</i>                                       | 67        |
| 4.5.4     | <i>Analiza korelacije ekspresije BCL6 u odnosu na nodalno / ekstranodalno ishodište limfoma....</i>                                       | 68        |
| 4.5.5     | <i>Analiza korelacije ekspresije BCL2 u odnosu na nodalno / ekstranodalno ishodište limfoma....</i>                                       | 69        |
| 4.5.6     | <i>Analiza korelacije ekspresije CD30 u odnosu na nodalno / ekstranodalno ishodište limfoma....</i>                                       | 70        |
| 4.5.7     | <i>Analiza korelacije ekspresije CD5 u odnosu na nodalno / ekstranodalno ishodište limfoma.....</i>                                       | 71        |
| 4.5.8     | <i>Analiza korelacije ekspresije CD43 u odnosu na nodalno / ekstranodalno ishodište limfoma....</i>                                       | 72        |
| 4.5.9     | <i>Analiza korelacije ekspresije EBV LMP u odnosu na nodalno / ekstranodalno ishodište limfoma</i>  |           |

|        |  |     |
|--------|--|-----|
| 4.5.10 | Analiza korelacije ekspresije VEGF u odnosu na nodalno / ektranodalno ishodište limfoma ...    | 74  |
| 4.5.11 | Analiza korelacije ekspresije COX2 u odnosu na nodalno / ektranodalno ishodište limfoma ...    | 75  |
| 4.5.12 | Analiza korelacije ekspresije BAFFR u odnosu na nodalno / ektranodalno ishodište limfoma ...   | 76  |
| 4.5.13 | Analiza korelacije ekspresije TACI u odnosu na nodalno / ektranodalno ishodište limfoma ...    | 77  |
| 4.5.14 | Analiza korelacije ekspresije BCMA u odnosu na nodalno / ektranodalno ishodište limfoma ...    | 78  |
| 4.5.15 | Analiza korelacije ekspresije Ki-67 u odnosu na nodalno / ektranodalno ishodište limfoma ...   | 79  |
| 4.6    | <b>EKSPRESIJA I MEĐUSOBNO POREĐENJE EKSPRESIJE PRIMENJENIH</b>                                 |     |
|        | <b>IMUNOHISTOHEMIJSKIH MARKERA</b> .....   | 80  |
| 4.6.1  | Frekvencija ekspresije CD20 .....  | 80  |
| 4.6.2  | Eksplorativna analiza ekspresije Ki-67 .....   | 80  |
| 4.6.3  | Analiza ekspresije Ki-67 u odnosu na ekspresiju MUM1 .....                                     | 82  |
| 4.6.4  | Analiza ekspresije Ki-67 u odnosu na ekspresiju CD10 .....                                     | 83  |
| 4.6.5  | Analiza ekspresije Ki-67 u odnosu na ekspresiju BCL6 .....                                     | 83  |
| 4.6.6  | Analiza ekspresije Ki-67 u odnosu na ekspresiju BCL2 .....                                     | 84  |
| 4.6.7  | Analiza ekspresije Ki-67 u odnosu na ekspresiju CD30 .....                                     | 85  |
| 4.6.8  | Analiza ekspresije Ki-67 u odnosu na ekspresiju CD5 .....                                      | 85  |
| 4.6.9  | Analiza ekspresije Ki-67 u odnosu na ekspresiju CD43 .....                                     | 86  |
| 4.6.10 | Analiza ekspresije Ki-67 u odnosu na ekspresiju EBV LMP .....                                  | 86  |
| 4.6.11 | Analiza ekspresije Ki-67 u odnosu na ekspresiju VEGF .....                                     | 87  |
| 4.6.12 | Analiza ekspresije Ki-67 u odnosu na ekspresiju COX2 .....                                     | 88  |
| 4.6.13 | Analiza ekspresije Ki-67 u odnosu na ekspresiju BAFFR .....                                    | 88  |
| 4.6.14 | Analiza ekspresije Ki-67 u odnosu na ekspresiju TACI .....                                     | 89  |
| 4.6.15 | Analiza ekspresije Ki-67 u odnosu na ekspresiju BCMA .....                                     | 89  |
| 4.6.16 | Korelacije ekspresije Ki-67 i ekspresije preostalih primenjenih imunohistohemijskih markera .. | 90  |
| 4.6.17 | Analiza ekspresije MUM1 u odnosu na ekspresiju CD10 .....                                      | 91  |
| 4.6.18 | Analiza ekspresije MUM1 u odnosu na ekspresiju BCL6 .....                                      | 92  |
| 4.6.19 | Analiza ekspresije MUM1 u odnosu na ekspresiju BCL2 .....                                      | 92  |
| 4.6.20 | Analiza ekspresije MUM1 u odnosu na ekspresiju CD30 .....                                      | 93  |
| 4.6.21 | Analiza ekspresije MUM1 u odnosu na ekspresiju CD5 .....                                       | 93  |
| 4.6.22 | Analiza ekspresije MUM1 u odnosu na ekspresiju CD43 .....                                      | 94  |
| 4.6.23 | Analiza ekspresije MUM1 u odnosu na ekspresiju EBV LMP .....                                   | 94  |
| 4.6.24 | Analiza ekspresije MUM1 u odnosu na ekspresiju VEGF .....                                      | 95  |
| 4.6.25 | Analiza ekspresije MUM1 u odnosu na ekspresiju COX2 .....                                      | 95  |
| 4.6.26 | Analiza ekspresije MUM1 u odnosu na ekspresiju BAFFR .....                                     | 95  |
| 4.6.27 | Analiza ekspresije MUM1 u odnosu na ekspresiju TACI .....                                      | 96  |
| 4.6.28 | Analiza ekspresije MUM1 u odnosu na ekspresiju BCMA .....                                      | 96  |
| 4.6.29 | Analiza ekspresije CD10 u odnosu na ekspresiju BCL6 .....                                      | 97  |
| 4.6.30 | Analiza ekspresije CD10 u odnosu na ekspresiju BCL2 .....                                      | 97  |
| 4.6.31 | Analiza ekspresije CD10 u odnosu na ekspresiju CD30 .....                                      | 98  |
| 4.6.32 | Analiza ekspresije CD10 u odnosu na ekspresiju CD5 .....                                       | 98  |
| 4.6.33 | Analiza ekspresije CD10 u odnosu na ekspresiju CD43 .....                                      | 99  |
| 4.6.34 | Analiza ekspresije CD10 u odnosu na ekspresiju EBV LMP .....                                   | 99  |
| 4.6.35 | Analiza ekspresije CD10 u odnosu na ekspresiju VEGF .....                                      | 100 |
| 4.6.36 | Analiza ekspresije CD10 u odnosu na ekspresiju COX2 .....                                      | 100 |
| 4.6.37 | Analiza povezanosti ekspresije CD10 u odnosu na ekspresiju BAFFR .....                         | 101 |
| 4.6.38 | Analiza ekspresije CD10 u odnosu na ekspresiju TACI .....                                      | 101 |
| 4.6.39 | Analiza ekspresije CD10 u odnosu na ekspresiju BCMA .....                                      | 102 |
| 4.6.40 | Analiza ekspresije BCL6 u odnosu na ekspresiju BCL2 .....                                      | 102 |
| 4.6.41 | Analiza ekspresije BCL6 u odnosu na ekspresiju CD30 .....                                      | 103 |
| 4.6.42 | Analiza ekspresije BCL6 u odnosu na ekspresiju CD5 .....                                       | 103 |
| 4.6.43 | Analiza ekspresije BCL6 u odnosu na ekspresiju CD43 .....                                      | 104 |
| 4.6.44 | Analiza ekspresije BCL6 u odnosu na ekspresiju EBV LMP .....                                   | 104 |
| 4.6.45 | Analiza ekspresije BCL6 u odnosu na ekspresiju VEGF .....                                      | 105 |
| 4.6.46 | Analiza ekspresije BCL6 u odnosu na ekspresiju COX2 .....                                      | 105 |
| 4.6.47 | Analiza ekspresije BCL6 u odnosu na ekspresiju BAFFR .....                                     | 106 |
| 4.6.48 | Analiza ekspresije BCL6 u odnosu na ekspresiju TACI .....                                      | 106 |
| 4.6.49 | Analiza ekspresije BCL6 u odnosu na ekspresiju BCMA .....                                      | 107 |
| 4.6.50 | Analiza ekspresije BCL2 u odnosu na ekspresiju CD30 .....                                      | 107 |
| 4.6.51 | Analiza ekspresije BCL2 u odnosu na ekspresiju CD5 .....                                       | 108 |
| 4.6.52 | Analiza ekspresije BCL2 u odnosu na ekspresiju CD43 .....                                      | 109 |
| 4.6.53 | Analiza ekspresije BCL2 u odnosu na ekspresiju EBV LMP .....                                   | 110 |
| 4.6.54 | Analiza ekspresije BCL2 u odnosu na ekspresiju VEGF .....                                      | 110 |
| 4.6.55 | Analiza ekspresije BCL2 u odnosu na ekspresiju COX2 .....                                      | 110 |
| 4.6.56 | Analiza ekspresije BCL2 u odnosu na ekspresiju BAFFR .....                                     | 111 |
| 4.6.57 | Analiza ekspresije BCL2 u odnosu na ekspresiju TACI .....                                      | 111 |
| 4.6.58 | Analiza ekspresije BCL2 u odnosu na ekspresiju BCMA .....                                      | 112 |
| 4.6.59 | Analiza ekspresije CD30 u odnosu na ekspresiju CD5 .....                                       | 112 |
| 4.6.60 | Analiza ekspresije CD30 u odnosu na ekspresiju CD43 .....                                      | 113 |
| 4.6.61 | Analiza ekspresije CD30 u odnosu na ekspresiju EBV LMP .....                                   | 113 |

|           |   |            |
|-----------|---|------------|
| 4.6.62    | Analiza ekspresije CD30 u odnosu na ekspresiju VEGF .....   | 114        |
| 4.6.63    | Analiza ekspresije CD30 u odnosu na ekspresiju COX2 .....   | 114        |
| 4.6.64    | Analiza ekspresije CD30 u odnosu na ekspresiju BAFFR .....  | 115        |
| 4.6.65    | Analiza ekspresije CD30 u odnosu na ekspresiju TACI .....   | 115        |
| 4.6.66    | Analiza ekspresije CD30 u odnosu na ekspresiju BCMA .....   | 116        |
| 4.6.67    | Analiza ekspresije CD5 u odnosu na ekspresiju CD43 .....  | 117        |
| 4.6.68    | Analiza ekspresije CD5 u odnosu na ekspresiju EBV LMP .....   | 117        |
| 4.6.69    | Analiza ekspresije CD5 u odnosu na ekspresiju VEGF .....  | 118        |
| 4.6.70    | Analiza ekspresije CD5 u odnosu na ekspresiju COX2 .....  | 118        |
| 4.6.71    | Analiza ekspresije CD5 u odnosu na ekspresiju BAFFR .....   | 119        |
| 4.6.72    | Analiza ekspresije CD5 u odnosu na ekspresiju TACI .....  | 119        |
| 4.6.73    | Analiza ekspresije CD5 u odnosu na ekspresiju BCMA .....  | 120        |
| 4.6.74    | Analiza ekspresije CD43 u odnosu na ekspresiju EBV LMP .....  | 120        |
| 4.6.75    | Analiza ekspresije CD43 u odnosu na ekspresiju VEGF .....   | 121        |
| 4.6.76    | Analiza ekspresije CD43 u odnosu na ekspresiju COX2 .....   | 121        |
| 4.6.77    | Analiza ekspresije CD43 u odnosu na ekspresiju BAFFR .....  | 122        |
| 4.6.78    | Analiza ekspresije CD43 u odnosu na ekspresiju TACI .....   | 122        |
| 4.6.79    | Analiza ekspresije CD43 u odnosu na ekspresiju BCMA .....   | 123        |
| 4.6.80    | Analiza ekspresije EBV LMP u odnosu na ekspresiju VEGF .....  | 123        |
| 4.6.81    | Analiza ekspresije EBV LMP u odnosu na ekspresiju COX2 .....  | 124        |
| 4.6.82    | Analiza ekspresije EBV LMP u odnosu na ekspresiju BAFFR .....   | 124        |
| 4.6.83    | Analiza ekspresije EBV LMP u odnosu na ekspresiju TACI .....  | 125        |
| 4.6.84    | Analiza ekspresije EBV LMP u odnosu na ekspresiju BCMA .....  | 125        |
| 4.6.85    | Analiza ekspresije VEGF u odnosu na ekspresiju COX2 .....   | 126        |
| 4.6.86    | Analiza ekspresije VEGF u odnosu na ekspresiju BAFFR .....  | 126        |
| 4.6.87    | Analiza ekspresije VEGF u odnosu na ekspresiju TACI .....   | 127        |
| 4.6.88    | Analiza ekspresije VEGF u odnosu na ekspresiju BCMA .....   | 127        |
| 4.6.89    | Analiza ekspresije COX2 u odnosu na ekspresiju BAFFR .....  | 128        |
| 4.6.90    | Analiza ekspresije COX2 u odnosu na ekspresiju TACI .....   | 128        |
| 4.6.91    | Analiza ekspresije COX2 u odnosu na ekspresiju BCMA .....   | 129        |
| 4.6.92    | Analiza ekspresije BAFFR u odnosu na ekspresiju TACI .....  | 130        |
| 4.6.93    | Analiza ekspresije BAFFR u odnosu na ekspresiju BCMA .....  | 130        |
| 4.6.94    | Analiza ekspresije TACI u odnosu na ekspresiju BCMA .....   | 131        |
| 4.7       | ANALIZA PREŽIVLJAVANJA U ODNOSU NA POL ISPITANIKA .....   | 131        |
| 4.8       | ANALIZA PREŽIVLJAVANJA U ODNOSU NA MORFOLOŠKI PODTIP,<br>IMUNOHISTOHEMIJSKI PODTIP, MUM1, CD10, BL6, BCL2, VEGF, COX2, BAFFR, TACI I BCMA ..... | 136        |
| 4.8.1     | Analiza preživljavanja u odnosu na morfološki podtip .....  | 136        |
| 4.8.2     | Analiza preživljavanja u odnosu na imunohistohemijski podtip .....  | 138        |
| 4.8.3     | Analiza preživljavanja u odnosu na ekspresiju MUM1 .....  | 139        |
| 4.8.4     | Analiza preživljavanja u odnosu na ekspresiju CD10 .....  | 139        |
| 4.8.5     | Analiza preživljavanja u odnosu na ekspresiju BCL6 .....  | 140        |
| 4.8.6     | Analiza preživljavanja u odnosu na ekspresiju BCL2 .....  | 141        |
| 4.8.7     | Analiza preživljavanja u odnosu na ekspresiju VEGF .....  | 142        |
| 4.8.8     | Analiza preživljavanja u odnosu na ekspresiju COX2 .....  | 143        |
| 4.8.9     | Analiza preživljavanja u odnosu na ekspresiju BAFFR .....   | 144        |
| 4.8.10    | Analiza preživljavanja u odnosu na ekspresiju TACI .....  | 145        |
| 4.8.11    | Analiza preživljavanja u odnosu na ekspresiju BCMA .....  | 146        |
| <b>5.</b> | <b>DISKUSIJA .....</b>  | <b>148</b> |
| <b>6.</b> | <b>ZAKLJUČCI .....</b>  | <b>165</b> |
| <b>7.</b> | <b>LITERATURA .....</b>   | <b>167</b> |
|           | <b>SPISAK SKRAĆENICA .....</b>  | <b>187</b> |

# 1. UVOD

Limfno tkivo i organi predstavljaju osnovno odbrambeno tkivo organizma. Sastoje se od retikularne osnove i slobodnih ćelija. Retikularna osnova je sastavljena od retikularnih ćelija i retikularnih vlakana a slobodne ćelije su limfociti i u manjoj meri plazmaciti. Limfno tkivo može biti difuzno raspoređeno ulazeći u sastav sluznica nekih sistema (digestivnog, respiratornog) ili inkapsulisano u vidu limfnih organa (limfni čvor, slezina, timus, tonzila). Retikularna potka limfnih tkiva u limfnim čvorovima, slezini, tonzilama i sluznicama digestivnog trakta i respiratornog sistema je nastala intrauterino od mezenhima a potka timusa je nastala od epitelnih endodermalnih ćelija. Limfociti koji čine glavnu masu limfnih tkiva i plazmaciti vode poreklo od primarnih krvnih elemenata iz zida žumančane kese (hematopoeznih matičnih ćelija) koje odatle migriraju u limfna tkiva i organe, uključujući i koštanu srž (1).

B-limfociti vode poreklo iz hematopoeznih matičnih ćelija koštane srži. Koštana srž je i primarni limfni organ u kome se odvijaju rane faze razvoja B-limfocita, dok se njihov preobražaj u imunokompetentne ćelije događa posle susreta sa antigenima u sekundarnim limfnim organima. Stadijumi razvoja B-limfocita se razlikuju prema ekspresiji površinskih markera, morfologiji i veličini ćelija i njihovoj proliferativnoj aktivnosti i stanju rearanžmana imunoglobulinskih (Ig) gena. Antigen-nezavisna faza razvoja B-limfocita započinje u limfocitnim prekursorima (matične ćelije i limfoblasti), odvija se u primarnim limfnim organima (koštana srž) i rezultuje stvaranjem zrelih ali imunološki naivnih 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. 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). 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 non-Hodgkin limfoma.

Prvi opis tumora limfnog sistema dao je Thomas Hodgkin 1832. godine. Virchow je 1864. godine ove tumore nazvao limfosarkomima a Bilroth malignim limfomima 1871. godine. Od tog doba je postalo jasno da se limfomi mogu podeliti na Hodgkin limfome i non-Hodgkin limfome.

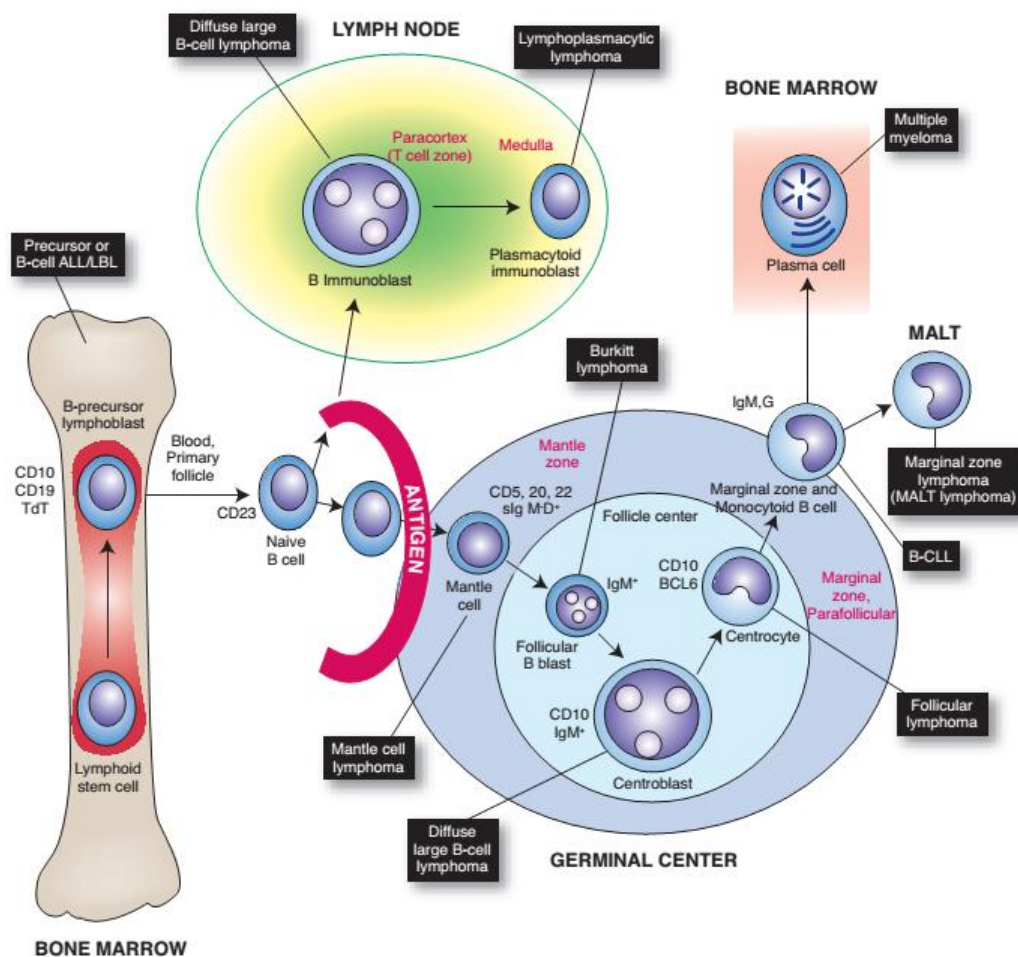
Danas se limfomi definišu kao heterogena grupa neoplastičnih poremećaja porekla B i T/NK limfoidnih ćelija sa varijabilnom biologijom i kliničkim osobinama (2).

## 1.1 DEFINICIJA DIFUZNOG KRUPNOĆELIJSKOG B LIMFOMA (DLBCL)

Svetska zdravstvena organizacija (WHO) definiše difuzni krupnoćelijski B limfom (eng. Diffuse large B-cell lymphoma - DLBCL) kao neoplazmu krupnih B limfoidnih ćelija, difuznog načina rasta, čija je veličina jedara približna ili veća od jedara makrofaga, ili više nego dvostruko veća od veličine limfocita (2).

## 1.2 ĆELIJA POREKLA DIFUZNOG KRUPNOĆELIJSKOG B LIMFOMA (DLBCL)

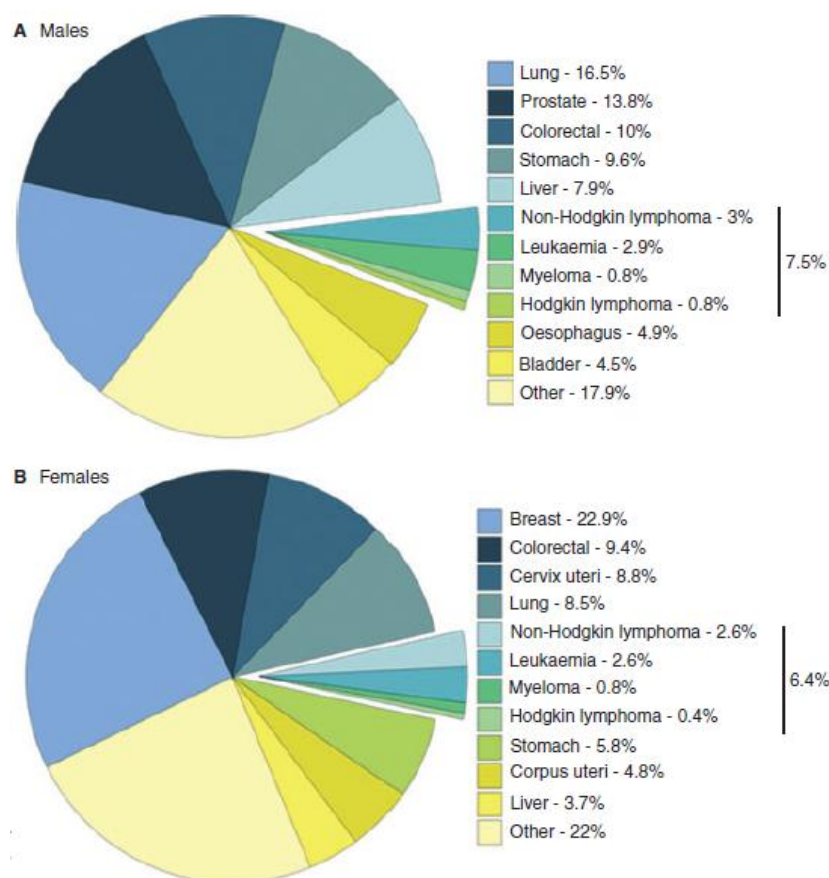
Smatra se da su ćelije porekla difuznog krupnoćelijskog B limfoma centroblasti i imunoblasti (slika 1). Centroblasti se nalaze u folikularnom centru limfnog folikula i nazivaju se još i transformisane (nezarezane) ćelije folikularnog centra. Imunoblasti se nalaze u parakorteksu i zovu se još i aktivisane B ćelije.



Slika 1. Diferencijacija B limfocita i odgovarajući limfomi u zavisnosti od ćelije porekla. Preuzeto iz *Essentials of Rubin's Pathology 6th*.

### 1.3 EPIDEMIOLOGIJA

Limfomi čine oko 3-3,8% svih maligniteta (slika 2).

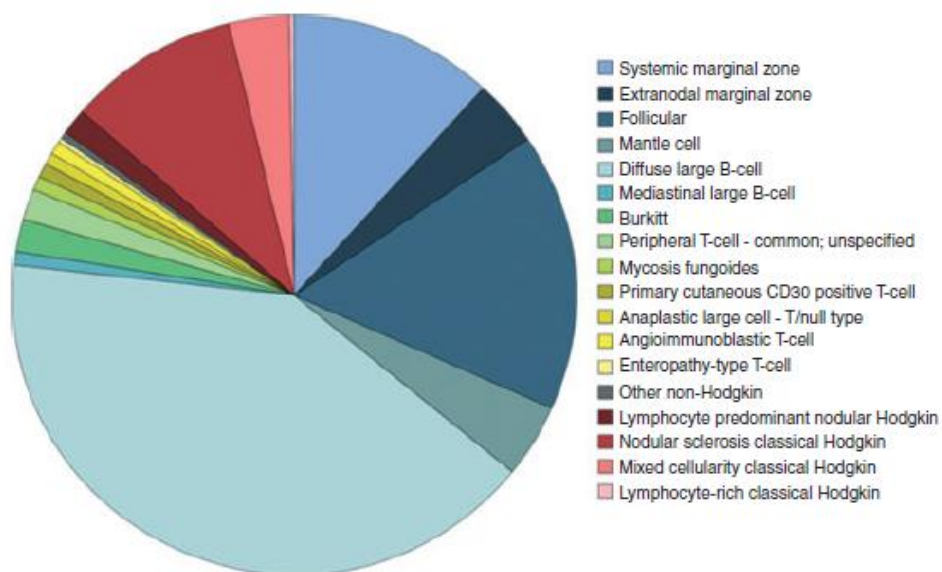


Slika 2. Globalna učestalost maligniteta (3). Preuzeto sa sajta [globocan.iarc.fr](http://globocan.iarc.fr) Svetske zdravstvene organizacije

Difuzni krupnoćelijski B limfom je najčešći limfom na svetu (2) (slika 3). DLBCL je bolest svih uzrasta ali se najčešće javlja u srednjim i starijim godinama. Najveći broj slučajeva se javlja između 65 i 69 godina starosti, a manji broj od 35 do 39 godina (4, 5). Malo je češći kod muškaraca (5-7). DLBCL obuhvata do 30% non Hodgkin limfoma u zapadnim zemljama i veći procenat (do 50%) u zemljama u razvoju i u nerazvijenim zemljama (5). Nema značajnih razlika u incidenciji među različitim etničkim ili rasnim grupama osim nekih posebnih podtipova (8).

DLBCL je najčešći limfom CNS-a, testisa i gastrointestinalnog trakta i generalno uzev najčešći ektranodalni limfom (7). Ekstranodalno se DLBCL javlja čak u do 60% obolelih od AIDS-a (9). Zajedno sa Burkitt-ovim limfomom DLBCL čini većinu limfoma u detinjstvu.





Slika 3. Učestalost različitih vrsta limfoma od 2004 do 2009. Godine. Preuzeto od "Haematological Malignancy Research Network"

#### 1.4 ETIOLOGIJA

Etiologija DLBCL kod većine pacijenata je nepoznata. Obično nastaje de novo kao primarni limfom. Može nastati sekundarno kao rezultat progresije odnosno transformacije manje agresivnih limfoma kao što su folikularni limfom, limfom marginalne zone, hronična limfocitna leukemija, nodularna limfocit predominantirajuća Hodgkin-ova bolest ili klasični Hodgkin limfom. Tako transformisan DLBCL ima mnogo više genetskih osobina prethodnog limfoma nego slučaja de novo DLBCL (10). U nekim slučajevima osnovna low grade limfoproliferativna neoplazma ostaje neprepoznata, ali se može posumnjati.

Za povećan rizik od nastanka DLBCL ključna je abnormalnost imunog sistema, imunodeficijencija ili autoimunitet. Pored toga DLBCL može biti uzrokovan velikim brojem faktora kao što su: infektivni agensi, izlaganje pesticidima, izlaganje organskim rastvaračima, dugotrajna upotreba boje za kosu, ultraljubičasto zračenje, neki lekovi, genetika, način ishrane. Dakle, perzistentna antigena stimulacija igra važnu ulogu u nastanku limfoma a posebno kod ekstranodalnih limfoma.

Imunodeficijencija je značajan faktor rizika, kako primarna tako i sekundarna. Post transplantacioni limfomi su povezani sa imunosupresijom. Ova povezanost je posebna izražena tokom prve godine nakon transplantacije, u slučaju transplantacije kod mlađih pacijenata i među pacijentima kojima nije transplantiran bubreg (11-13). Posttransplantacioni limfomi su često ekstranodalni, a najčešće u centralnom nervnom sistemu (14).

Limfomi u starijoj dobi su verovatno povezani sa slabijim imunitetom (15, 16). DLBCL koji se javlja kod imunodeficientnih bolesnika je najčešće Epstein-Barr virus (EBV) pozitivan. Kod bolesnika bez imunodeficijencije je EBV infekcija prisutna u oko 10% slučajeva (17-19).

Kod autoimunih bolesti povećani rizik je povezan sa poremećajem imunog sistema usled prirode bolesti ili usled imunosupresivne terapije. Difuzni krupnoćelijski B limfom je najčešće povezan sa reumatoidnim artritisom ali može biti udružen i sa sistemskim lupusom eritematodesom, Hashimoto tireoiditisom, Sjogrenovim sindromom, celijakijom.

Infektivni agensi koji povećavaju rizik su virusi. Difuzni krupnoćelijski B limfom povezan sa virusima je najčešći malignitet kod bolesnika sa imunodeficijencijom, bez obzira da li je u pitanju primarna imunodeficijencija, hronična jatrogena imunosupresija, HIV infekcija ili druga hronična infekcija, transplantacija ili opadanje imuniteta uzrokovano godinama. Najvažniji virusni agensi za nastanak limfoma su HIV, gamma herpes virusi, EBV i HHV8 (humani herpes virus 8). EBV je endemski među svim populacijama širom sveta. Oko 90% populacije je seropozitivno u SAD. Geografske razlike u serotipovima virusa, godine primarne infekcije i socioekonomski status pacijenta vode do različitosti u profilu EBV povezanih maligniteta u različitim zemljama. HHV8 seropozitivnost je prisutna kod oko 5% građana SAD, više u Evropi i 40-70% seropozitivnih ljudi u delovima Afrike. HHV8 povezani maligniteti su retki u Zapadnim zemljama osim u slučaju teške imunodeficijencije. Većina ovih limfoma je vrlo agresivna a medijana preživljavanja je svega nekoliko meseci do 2 godine. Pre otkrića visoko aktivne anti-retroviralne terapije, kod bolesnika inficiranih HIV-om je incidenca limfoma bila do 200 puta veća, uglavnom EBV povezanih DLBCL i Burkitt limfoma (BL).

Organski rastvarači kao benzen i trihloretilen (TCE) su poznati karcinogeni (20-24). Izlaganje ovim agensima izaziva limfome i druge hematološke malignitete kod životinja (25, 26). Ultraljubičasto zračenje izaziva imunosupresiju i verovatno na taj način povećava rizik oboljevanja od DLBCL. Boje za kosu mogu predstavljati rizik u slučaju dugogodišnje primene (27).

DLBCL može nastati kao posledica dugotrajne upotrebe methotrexat-a, na primer kod obolelih od reumatoidnog artritisa. Često se DLBCL povlači nakon prestanka terapije metotreksatom. Može se javiti i nakon primene fludarabina kod obolelih od low grade B limfoma (28, 29). Ovi su slučajevi najčešće povezani sa imunodeficijencijom i Epstein-Barr virusom. DLBCL može biti retko uzrokovan terapijom karcinoma dojke ili Hodgkin-ovog limfoma (30).

Genetska sklonost je u najvećoj meri prisutna u smislu urođenih imunodeficientnih sindroma. Nema dokaza za familijarnu agregaciju. Genetski sindromi povezani sa defektnom opravkom DNA su često povezani sa limfomom, kao i sa nasleđenim regulatorima apoptoze. Difuzni krupnoćelijski B limfom je najčešći limfom povezan sa genetskim i stečenim imunodeficijencijama.

## 1.5 KLINIČKE OSOBINE

DLBCL u većini slučajeva počinje u limfnim čvorovima a oko 30 do 40% bolesnika ima na početku ektranodalnu bolest. Oko 71% bolesnika ima ektranodalno zahvatanje tokom primarno nodalne bolesti (6, 31). Najčešće mesto javljanja ektranodalne bolesti su želudac i ileocekalna regija ali svaki deo tela može biti ishodište bolesti, na primer koža, kosti, testis, slezina, Waldeyer-ov prsten, pljuvačne žlezde, štitasta žlezda, jetra, bubreg, nadbubrežna žlezda. Bolest može biti lokalizovana ili diseminovana. Sekundarno zahvatanje koštane srži je registrovano u 11-27% slučajeva ali mnogo češće je povezano sa manje agresivnim sitnoćelijskim B limfomima nego sa DLBCL (32, 33). Periferna krv je zahvaćena tek u terminalnoj fazi.

Kada se jave simptomi, oni zavise od mesta javljanja bolesti (5, 6). Pacijenti obično imaju rapidno uvećavajuću tumorsku masu na jednom ili više nodalnih ili ektranodalnih mesta. Trećina bolesnika ima sistemske simptome, takozvane B simptome: znojenje, povišena temperatura, malaksalost, pospanost, umor, pad apetita, gubitak telesne težine više od 10% tokom 6 meseci. Asimptomatski pacijenti se označavaju sa A. Više od polovine bolesnika ima povišenu serumsku laktat dehidrogenazu. Hipergamaglobulinemija, monoklonalna ili poliklonalna je prisutna u 44% slučajeva. Najčešće se kod starijih bolesnika javljaju limfopenija, anemija, groznica, gubitak težine i kožni osip.

Skoro polovina pacijenata je u prvom ili drugom stadijumu bolesti i većinom su asimptomatski. Približno jedna trećina bolesnika se javlja u četvrtom stadijumu bolesti. Bolesnici koji su prethodno imali alergije, autoimune bolesti ili limfome se u više od 60% slučajeva prezentuju sa uznapređovalom bolešću i sistemskim simptomima, a 70% ih je u 3. ili 4. stadijumu.

Morfološko ispitivanje razmaza periferne krvi je pokazalo da približno jedna trećina pacijenata koji boluju od DLBCL sa zahvatanjem koštane srži su takođe imali maligne ćelije i u krvi (34). Ukoliko se desi diseminacija krvlju tumorske ćelije su vrlo krupne i pleomorfne, obilne citoplazme, iregularnih i često lobuliranih jedara sa prominentnim jedarcima. Kod bolesnika koji su prethodno imali folikularni limfom u koštanoj srži se češće nalaze centrociti (35-38). Ukoliko je nastao transformacijom iz folikularnog limfoma cirkulišuće ćelije su centrociti.

## 1.6 DIJAGNOSTIKA DIFUZNOG KRUPNOĆELIJSKOG B LIMFOMA

Multidisciplinarni pristup je neophodan za bolje razumevanje ove bolesti. Dijagnozu postavlja iskusan patolog na hirurškom uzorku koji može biti ekscidirani limfni čvor, ektranodalno limfno tkivo ili drugo tkivo koje sadrži dovoljnu količinu tumorskog tkiva. "Core" biopsija se koristi jedino u slučaju hitnih stanja. Patolog rutinski dijagnostikuje DLBCL morfološki i imunohistohemijski. Ako je bioptirani materijal svež može se primeniti

i protočna citometrija kao dopunska metoda. Ukoliko i dalje nije moguće precizno postaviti dijagnozu primenjuju se genetske metode u bolje opremljenim bolnicama.

Kao minimum svi bolesnici treba da imaju kompletnu krvnu sliku, biohemijske analize uključujući LDH (laktat dehidrogenaza), mokraćnu kiselinu, skrining za HIV, hepatitis B i hepatitis C. Elektroforeza proteina je preporučena. Potrebne su i radiografija grudnog koša, kompjuterizovano-tomografski (CT) sken grudnog koša, CT sken abdomena i male karlice i biopsija koštane srži ilijačne kosti.

U slučaju infiltracije koštane srži preporučuju se lumbalna punkcija (radi dobijanja citoloških i hemijskih analiza cerebrospinalnog likvora) i NMR sken (nuklearna magnetna rezonancija) centralnog nervnog sistema. Bolesnike sa kostoboljom ili povišenom alkalnom fosfatazom, treba evaluirati radiografijom kostiju. Prisustvo bolesti u Waldeyerovom prstenu indikuje pretrage gastrointestinalnog trakta.

Pozitronska emisiona tomografija (PET) je funkcionalna imidžing tehnika koja koristeći analog glukoze (FDG) označen pozitron emitujućim radiofarmakom evaluira glikolitičku aktivnost, koja je povećana u malignitetima, uključujući limfome (39, 40). Funkcionalni skenovi mogu unaprediti stažiranje, a posebno detekcijom okultne bolesti u abdomenu ili slezini.

### **1.6.1           Protočna citometrija**

Protočna citometrija identifikuje ekspresiju proteina. Za razliku od imunohistohemije protočna citometrija omogućava brzo simultano određivanje više markera. Za pravilnu interpretaciju esencijalna je korelacija nalaza sa morfološkim i imunohistohemijskim nalazom. Ova metoda zahteva sveže vijabilno tkivo i dovoljnu količinu neoplastičnih ćelija. Zbog potrebe da se uzorak pretvori u suspenziju pojedinačnih ćelija glavni nedostatak u odnosu na imunohistohemiju je nemogućnost vizualizacije histološke arhitektonike. Postoji mogućnost da neki krupnoćelijski limfomi ne budu dijagnostikovani protočnom citometrijom usled problema sa uzorkovanjem ili usled oštećenja i gubitka neoplastičnih ćelija tokom procesa obrade zbog njihove fragilnosti.

### **1.6.2           Genetika**

Genetske abnormalnosti u DLBCL su česte. Javljaju se strukturne promene (na primer balansirane i nebalansirane translokacije), numeričke promene (na primer aneuploidija) i tačkaste mutacije. Većina tumora ima rearanžiranje gena za lake i teške lance imunoglobulina, kao i somatske mutacije različitih regija. Zbog somatskih hipermutacija kod DLBCL se ne nalaze dominantne translokacije nego veliki broj različitih podtipova (41, 42). Ni jedna pojedinačna genetska aberacija nije specifična za DLBCL. Većina DLBCL ima postgerminalni genotip sa rearanžiranjem gena za imunoglobulin i mutiranim v-regijama. Do

30% slučajeva pokazuje abnormalnosti 3q27 regije koja uključuje BCL6 gen, što je najčešća translokacija u DLBCL (43-46). Prisustvo BCL6 rearanžiranja korelira snažno sa ekstranodalnim zahvatanjem. Oko 30% DLBCL ima translokaciju t(14;18)(q32;q21) koja dovodi do fuzije IGH/BCL2 (47-49). Rearanžiranje BCL6 i BCL2 su praktično međusobno isključivi kod DLBCL. MYC translokacija koja uključuje imunoglobulinske lokuse može se javiti u 10-15% DLBCL ili agresivnih B ćelijskih limfoma mešovitih karakteristika. MYC rearanžiranje je uglavnom je povezano sa kompleksnim genskim alteracijama (47, 50). Rezultati molekularnih analiza moraju se korelirati sa kliničkim, morfološkim i imunohistohemijskim informacijama.

DNA microarray tehnologija omogućava ispitivanje ekspresije desetina hiljada gena odjednom. Pun potencijal microarray tehnologije se još ne zna. Array genske ekspresije i kvantitativni PCR za analizu ekspresije mnogobrojnih gena se za sada ne koriste rutinski u kliničkoj praksi. Zahtevaju sveže uzorke tumora, puno rada, dobro obučeno osoblje i skupo je (42, 51-54).

## **1.7 TERAPIJA**

Difuzni krupnoćelijski B limfomi su agresivni ali potencijalno izlečivi kombinovanom hemioterapijom. Difuzni krupnoćelijski B limfom je sistemska bolest i stoga je terapija sistemska. Kompletna remisija se danas postiže u 75-80% bolesnika, sa dugim preživljavanjem kod oko 50% bolesnika. Protokol CHOP (ciklofosamid, doksorubicin, vinkristin i prednizon, skraćeno CHOP) je bio okosnica terapije decenijama. Pokušaji intenzivnije hemioterapije nisu dali rezultate. Dodatak anti-CD20 monoklalnog antitela Rituximab-a protokolu CHOP (skraćeno R-CHOP) je doveo do značajnog unapređenja preživljavanja (55, 56). Tretman treba da bude u skladu sa starošću bolesnika, IPI score-om (Internacionalni Prognostički Indeks - objašnjen u poglavlju "Prognoza i prediktivni faktori") i kad god je moguće razmotriti mogućnost kliničkog trajala. U slučaju velike tumorske mase oprezni predtretman administriranjem 100mg prednizona tokom nekoliko dana može biti potreban da bi se izbegao sindrom lize tumora.

Mlađi bolesnici sa malim rizikom i bez velike tumorske mase najčešće dobijaju 6 ciklusa protokola R-CHOP na 21 dan, bez obzira na stadijum (57). Mlađi bolesnici sa umerenim rizikom i mlađi bolesnici sa niskim rizikom ali velikom tumorskom masom najčešće dobijaju 6 ciklusa protokola R-CHOP na 21 dan i radioterapiju tumorske mase (57). Alternativno se može tretman pojačati protokolom R-ACVBP (rituximab, doxorubicin, vindesine, cyclophosphamide, bleomycin i prednisolone) na 2 nedelje (58, 59). Mlađi bolesnici sa visokim rizikom nemaju standardni protokol lečenja. Preporučljivo je da ovi bolesnici budu lečeni u trajalima. Protokol CHOP u 6-8 ciklusa plus 8 ciklusa rituximab-a na 21 dan je najčešća šema. Daje se nekada i visokodozna hemioterapija i transplantacija matičnih ćelija nakon imunohemioterapije (60-62). Bolesnici između 60 i 80 godina standardno dobijaju 8 ciklusa protokola R-CHOP na 21 dan (63). Kod bolesnika starijih od 80 godina je potrebna gerijatrijska procena stanja i mogućnosti. Kod bolesnika u dobrom opštem stanju se najčešće

primenjuje kombinacija rituximab-a i slabije hemioterapije (64). Zahvaćenost CNS-a zahteva visoke doze metotreksata i ili citarabina. Nakon 3-4 ciklusa terapije i nakon cele terapije ponavlja se deo dijagnostike radi evaluacije terapijskog odgovora (65). Nakon terapije se pacijent redovno kontroliše. U slučaju relapsa potrebna je patohistološka verifikacija i kompletna dijagnostika kao prvi put.

Najbolja terapija tek treba da bude pronađena. U toku su brojna klinička ispitivanja dizajnirana da poprave ishod lečenja ovih bolesnika. U principu učešće u kliničkim trajalima je šansa za pristup najboljoj mogućoj terapiji danas jer se tu integrišu biološke prognostičke informacije i krajnji cilj jeste da se prilagodi terapija za svakog pojedinačnog bolesnika (66). Tumor uvek ima više načina preživljavanja i verovatno je kombinovana terapija optimalna. Skoro svi klasični hemioterapijski agensi su mutageni i često rezultuju sekundarnim malignitetima. Toksičnost je prisutna zbog delovanja agenasa protiv brzo umnožavajućih ne-neoplastičnih ćelija (na primer sluznica digestivnog trakta, koža, hematopoetska tkiva) što može dovesti do pada imuniteta i sledstvenih infekcija, supresije hematopoeze i eventualne nepredvidljive letalne multiorganske insuficijencije. Napredak u nezi bolesnika koji uključuje profilaktičke antibiotike, faktore rasta da se prevaziđu citopenije i hemoprotektivni agensi, doprineli su boljoj toleranciji na visoke doze hemioterapije. Bolji monitoring i doziranje lekova su dramatično smanjili smrtnost kod transplantacije matičnih ćelija.

## **1.8 MAKROSKOPSKI IZGLED TUMORSKOG TKIVA DLBCL**

Zahvaćeni limfni čvorovi su uvećani. Površina preseka zahvaćenog limfnog čvora ili ekстранodalnog organa je homogena i bela poput ribljeg mesa ili diskretno žućkasta. Mogu biti prisutna područja krvarenja, koagulacione nekroze ili fibroze. Najčešće nema ostataka normalne građe. Makroskopska diferencijalna dijagnoza uključuje brojna neoplastična i neneoplastična stanja uključujući non-Hodgkin limfome, Hodgkin limfome, reaktivne limfne čvorove uključujući Kikuchi-Fujimoto bolest, metastatske karcinome, amelanotične melanome, tuberkulozu i sarkoidozu.

DLBCL u slezini stvara krupne tumorske mase. Retko se DLBCL javlja u slezini nakon transformacije prethodno postojećeg sitnoćelijskog B limfoma kada pokazuje istovremeno osobine oba limfoma. Tumorske mase DLBCL su obično jasno ograničene i mogu imati nekrotična područja.

## **1.9 MIKROSKOPSKI IZGLED TUMORSKOG TKIVA DLBCL**

U tumorskom tkivu se mikroskopski konstatuje difuzna proliferacija krupnih atipičnih limfoidnih ćelija koje su najčešće u potpunosti zbrisale normalnu građu limfnog čvora ili ekстранodalnog tkiva. Na početku zahvatanja limfnog čvora može se nekada javiti selektivno zahvatanje sinusoida ili interfolikularnog prostora. Obično se u stromi nalazi ređi ili gušći prateći zapaljenski infiltrat. Različit stepen fibroze je prisutan kod sporije napredujućih tumora (pogotovo u medijastinumu i retroperitonealno) a nekrotična područja se javljaju kod

brže napredujućih tumora. Kapsula je često probijena i perinodalno tkivo je često infiltrirano. Limfni čvorovi i slezina mogu imati koegzistirajući sitnoćelijski B limfom. U ekстранodalnim tkivima i organima DLBCL difuzno infiltruje i destruiše normalne strukture. Histološka slika nije uniformna kod svih podtipova DLBCL, delom zbog morfološkog diverziteta tumorskih ćelija a delom zbog prirode i intenziteta pratećih neneoplastičnih procesa (fibroza, zapaljenje, nekroza), detaljnije o tome u poglavlju o podeli DLBCL.

## **1.10 ISTORIJAT KLASIFIKACIJA LIMFOMA I NAZIVA DANAŠNJEG DLBCL**

Bilo je više pokušaja klasifikacije limfoma tokom poslednjih decenija. Klasifikacije su predstavljale osnovu za različite trajale i istraživanja. Reproducibilnost je često bila slaba a rezultati često nekomparabilni. Aktuelne su bile Jackson/Parker klasifikacija (1937), Rappaport-ova klasifikacija (1966), Lukes-Collins klasifikacija (1974), Kiel-ska klasifikacija (1967 i 1978), Radna formulacija (1982), REAL klasifikacija (revidirana Evropsko Američka klasifikacija limfoma, 1994) i najzad WHO klasifikacija (klasifikacija Svetske Zdravstvene Organizacije, 2001 i 2008).

Na klasifikaciju su uvek uticali različiti "centri moći". Aktuelna je Klasifikacija Svetske Zdravstvene organizacije iz 2008. godine, 4. izdanje. Današnja grupa oboljenja pod nazivom Difuzni krupnoćelijski B limfom (DLBCL) se zvala drugačije ranije. Zvali su se po Lukes Collins-u maligni limfom malih transformisanih ćelija, maligni limfom velikih transformisanih ćelija i imunoblastni sarkom B limfocita. Po Radnoj formulaciji su se zvali difuzni limfom mešanih sitnih i krupnih ćelija, difuzni krupnoćelijski limfom i krupnoćelijski imunoblastni limfom. Po REAL klasifikaciji je naziv bio difuzni limfom velikih B ćelija. Po Kiel-skoj klasifikaciji su nazivi bili centroblastni, imunoblastni i anaplastični B limfomi.

Mnoge vrste limfoma su tokom istorije shvatane kao zasebni entiteti. Progres u hematopatologiji je tokom vremena išao uporedo sa naporima za novu i bolju klasifikaciju. Sa pojavom REAL klasifikacije 1994. godine došlo je do stapanja stavova patologa i kliničara.

## **1.11 AKTUELNA PODELA SVIH LIMFOMA**

Osnovna podela limfnih neoplazmi prema aktuelnoj klasifikaciji Svetske zdravstvene organizacije iz 2008. godine (2) je na:

1. Prekursorne B ćelijske neoplazme - neoplazme nezrelih B ćelija
2. Periferne B ćelijske neoplazme - neoplazme zrelih B ćelija
3. Prekursorne T ćelijske neoplazme - neoplazme nezrelih T ćelija
4. Periferne T ćelijske i NK ćelijske neoplazme - neoplazme zrelih T ćelija i NK ćelija
5. Hodgkin limfomi - neoplazma Reed-Sternberg ćelija

## **1.12            PODELA PERIFERNIH B ČELIJSKIH NEOPLAZMI - NEOPLAZMI ZRELIH B ČELIJA**

Difuzni krupnoćelijski B limfom spada u periferne B ćelijske neoplazme - neoplazme zrelih B ćelija, čija je podela (2) :

1. Hronična limfocitna leukemija / limfom malih limfocita
2. B ćelijska prolimfocitna leukemija
3. Limfom marginalne zone slezine
4. Leukemija vlasastih ćelija
5. Limfom / leukemija slezine, nije klasifikovano
6. Mali difuzni B ćelijski limfom crvene pulpe slezine
7. Varijanta leukemije vlasastih ćelija
8. Limfoplazmacitni limfom
9. Waldenstrom makroglobulinemija
10. Bolest teških lanaca
11. Bolest teških  $\alpha$  lanaca
12. Bolest teških  $\gamma$  lanaca
13. Bolest teških  $\mu$  lanaca
14. Plazmacitni mijelom
15. Solitarni koštani plazmacitom
16. Ekstraosealni plazmacitom
17. Ekstranodalni B ćelijski limfom marginalne zone sluznica (MALT limfom)
18. Nodalni B ćelijski limfom marginalne zone (MZL)
19. Pedijatrijski tip nodalnog limfoma marginalne zone
20. Folikularni limfom
21. Pedijatrijski tip folikularnog limfoma
22. Primarni kutani limfom folikularnog centra
23. Mantle ćelijski limfom
24. Difuzni krupnoćelijski B limfom (DLBCL), bez preciznije specifikacije
25. Difuzni krupnoćelijski B limfom bogat T limfocitima / histiocitima
26. Difuzni krupnoćelijski B limfom povezan sa hroničnim zapaljenjem
27. Epstein-Barr virus (EBV) pozitivni DLBCL starijih
28. Limfomatoidna granulomatoza
29. Primarni medijastinalni (timusni) krupnoćelijski B limfom
30. Intravaskularni krupnoćelijski B limfom
31. Primarni kutani DLBCL, nožni tip
32. ALK pozitivni krupnoćelijski B limfom
33. Plazmablastni limfom
34. Primarni efuzioni limfom
35. Krupnoćelijski B limfom povezan sa HHV8 povezanom multicentričnom Castleman bolešću
36. Burkitt-ov limfom



37. B ćelijski limfom, neklasifikovan, sa osobinama između DLBCL i Burkitt-ovog limfoma
38. B ćelijski limfom, neklasifikovan, sa osobinama između DLBCL i klasićnog Hodgkin limfoma

### 1.13 PODELA DIFUZNOG KRUPNOĆELIJSKOG B LIMFOMA

Aktuelna je Klasifikacija Svetske Zdravstvene Organizacije iz 2008. godine, 4. izdanje. Predstavlja nastavak uspešne međunarodne saradnje patologa, hematologa, drugih kliničara zainteresovanih za oblast hematoloških maligniteta i biologa. Pruža najbolji konsenzus o terminologiji i patogenezi. Objedinjuje morfologiju, imunofenotip, molekularne podatke i kliniku. U osnovi šema je histogenetska i mapira limfome prema sekvencijalnoj B ćelijskoj maturaciji. Postoje oblasti koje su i dalje pod intenzivnim istraživanjem i nisu do kraja klasifikovane.

Difuzni krupnoćelijski B limfom je zapravo grupa srodnih neoplazmi. Morfološke, biološke i kliničke studije su podelile difuzne krupnoćelijske B limfome u morfološke varijante, imunofenotipske i molekularne podgrupe i jasne entitete (tabela 1). Prisutan je i veliki broj slučajeva koji mogu biti biološki heterogeni, ali za koje nema jasnih ili prihvaćenih kriterijuma za podelu. Ovi su klasifikovani kao DLBCL, NOS, odnosno difuzni krupnoćelijski B limfom bez preciznije specifikacije. DLBCL, NOS obuhvata sve slućajeve koji ne pripadaju specifićnim podtipovima ili entitetima bolesti spomenutim u tabeli 1.

*Tabela 1. Difuzni krupnoćelijski B limfom: varijante, podgrupe i podtipovi / entiteti, Klasifikacija Svetske Zdravstvene Organizacije (2)*

| <b>Difuzni krupnoćelijski B limfom, bez preciznije specifikacije</b> |
|--|
| Uobićajene morfološke varijante                                      |
| Centroblastni  |
| Imunoblastni   |
| Anaplastićni   |
| Retke morfološke varijante   |
| Molekularne podgrupe   |
| Germinal centre B-cell-like (GCB)                                    |
| Activated B-cell-like (ABC)  |
| Imunohistohemijske podgrupe  |
| CD5 pozitivni DLBCL  |
| Germinal centre B-cell-like (GCB)                                    |
| Non-germinal centre B-cell-like (non-GCB)                            |

### **Difuzni krupnoćelijski B limfom, podtipovi**

Difuzni krupnoćelijski B limfom bogat T ćelijama / histiocitima

Primarni difuzni krupnoćelijski B limfom CNS-a

Primarni kutani difuzni krupnoćelijski B limfom, nožni tip

EBV pozitivni difuzni krupnoćelijski B limfom starijih

### **Drugi limfomi krupnih B ćelija**

Primarni medijastinalni (timusni) krupnoćelijski B limfom

Intravaskularni krupnoćelijski B limfom

Difuzni krupnoćelijski B limfom povezan sa hroničnim zapaljenjem

Limfomatoidna granulomatoza

ALK pozitivni krupnoćelijski B limfom

Plazmablastni limfom

Krupnoćelijski B limfom nastao u multicentričnoj Castleman bolesti povezan sa HHV8

Primarni efuzioni limfom

### **Granični slučajevi**

B ćelijski limfomi, bez mogućnosti klasifikovanja, sa osobinama između difuznog krupnoćelijskog B limfoma i Burkitt limfoma

B ćelijski limfomi, bez mogućnosti klasifikovanja, sa osobinama između difuznog krupnoćelijskog B limfoma i klasičnog Hodgkin limfoma

DLBCL je heterogen morfološki, genetski, imunofenotipski, biološki, uključujući i odgovor na hemioterapiju i ishod (67). Radi adekvatne terapije imperativ je da dijagnozu uvek postavi iskusan patolog. Izrazita različitost podtipova može sugerisati da DLBCL sadrži u sebi još neke neprepoznate entitete.

## **1.14 UOBIČAJENE MORFOLOŠKE VARIJANTE DLBCL**

Na osnovu citoloških osobenosti Svetska Zdravstvena Organizacija je priznala sledeće morfološke podtipove DLBCL (7).

- Centroblastni difuzni krupnoćelijski B limfom
- Imunoblastni difuzni krupnoćelijski B limfom
- Anaplastični difuzni krupnoćelijski B limfom
- Retke morfološke varijante difuznog krupnoćelijskog B limfoma

Dva glavna nedostatka aktuelne morfološke podklasifikacije su nemogućnost predviđanja ishoda i nedostatak reproducibilnosti među doktorima. U evaluacijama baziranim isključivo na morfologiji, neke studije su prijavile lošiju prognozu kod imunoblastne varijante dok su drugi istraživači našli suprotno (68, 69). Varijante DLBCL se mogu javiti kao jasan i čist slučaj ili kao mešavina nekoliko morfoloških podtipova sa predominacijom jednog, što je češće.

### **1.14.1 Centroblastni difuzni krupnoćelijski B limfom**

Centroblastna varijanta je najčešća (slika 4). Tumorske ćelije nalikuju centroblastima folikularnog centra. To su srednje krupne i krupne limfoidne ćelije sa ovalnim ili okruglastim vezikularnim jedrima finog hromatina. Imaju dva - tri jedarca uz jedarnu membranu. Citoplazma je obično oskudna, amfofilna ili bazofilna. U nekim slučajevima je tumor monomorfan odnosno građen skoro u potpunosti od centroblasta. U većini slučajeva je tumor polimorfan, sa mešavinom centroblasta i imunoblasta (68, 70). Tumorske ćelije mogu imati lobulirana jedra, koja u retkim slučajevima mogu i da dominiraju, pogotovo u DLBCL kostiju i drugim ekstranodalnim mestima.

### **1.14.2 Imunoblastni difuzni krupnoćelijski B limfom**

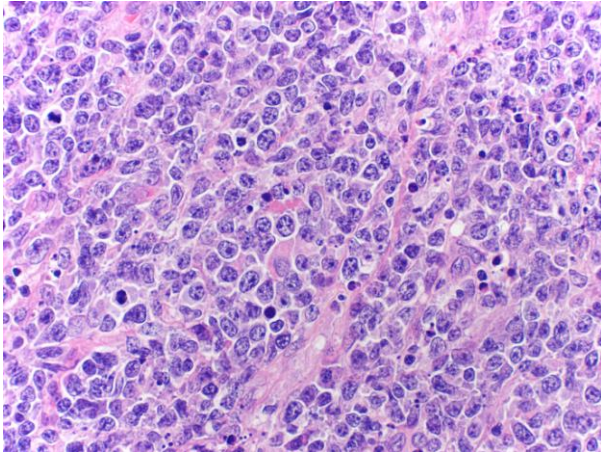
Preko 90% ćelija su atipični imunoblasti mehurastog jedra, finog hromatina, sa jednim centralno postavljenim jedarcem i dosta bazofilne citoplazme (slika 5). Razlikovanje imunoblastne varijante od centroblastne ima malu reproducibilnost među patolozima a i kod istog patologa sa vremenskom distancom je reproducibilnost mala (31).

### **1.14.3 Anaplastični difuzni krupnoćelijski B limfom**

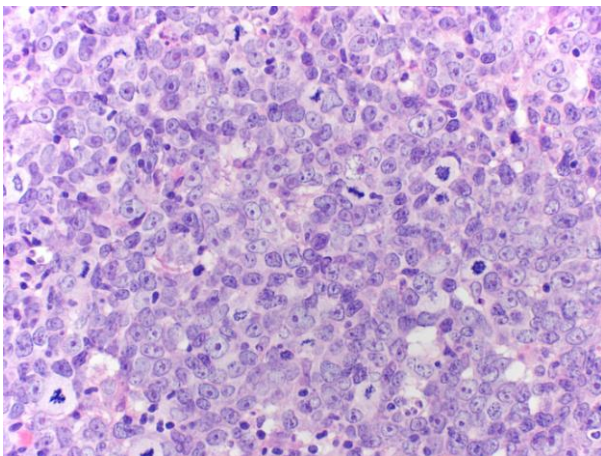
Anaplastična varijanta se karakteriše krupnim do veoma krupnim okruglastim, ovalnim ili poligonalnim ćelijama sa bizarnim pleomorfim jedrima (slika 6). Mogu da liče na Hodgkin i/ili Reed Sternberg ćelije i takođe mogu da liče na tumorske ćelije anaplastičnog krupnoćelijskog limfoma. Ćelije mogu imati sinusoidni ili kohezivni način rasta i mogu da imitiraju nediferentovani karcinom (71). Biološki i klinički nisu povezani sa anaplastičnim krupnoćelijskim limfomom koji je porekla citotoksičnih T ćelija. Izrazita anaplazija se često javlja u slučaju primarnog DLBCL kostiju.

#### 1.14.4 Retke morfološke varijante difuznog krupnoćelijskog B limfoma

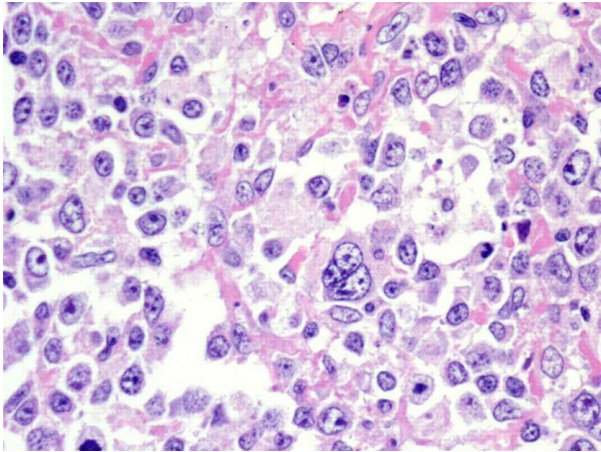
Retki slučajevi DLBCL mogu imati sluzno izmenjenu stromu ili fibrilarni matriks. Moguće je formiranje rozeta, vretenaste neoplastične ćelije ili izgled ćelija tipa prstena pečatnjaka. Mogu se nekada videti citoplazmatske granule, mikrovili ili međucelijski mostići.



*Slika 4. Centroblastni difuzni krupnoćelijski B limfom. HE, 400x*



*Slika 5. Imunoblastni difuzni krupnoćelijski B limfom. HE, 400x*



Slika 6. Anaplastični difuzni krupnoćelijski B limfom. HE, 400x

### 1.15 MOLEKULARNE PODGRUPE DLBCL

Difuzni krupnoćelijski B limfom ima dve molekularne podgrupe (52) :

- Germinal centre B-cell-like (GCB)
- Activated B-cell-like (ABC)

Bazična otkrića koja su suštinski promenila pristup klasifikaciji DLBCL potekla su iz rada Alizadeh-a i kolega (51). Podgrupa nazvana GCB-like ima profil genske ekspresije kao B ćelije germinativnog centra, a podgrupa nazvana ABC-like ima profil genske ekspresije sličan aktivisanim perifernim B ćelijama (52). Podgrupe GCB i ABC reflektuju fundamentalne razlike u ekspresiji stotina gena koji odgovaraju ne-neoplastičnim ćelijama germinalnih centara limfnih folikula (GCB) ili postgerminalnim aktivisanim B limfocitima (ABC). Ove podgrupe koreliraju sa posebnim genomskim promenama koje reflektuju način onkogenske progresije, koreliraju sa različitim hromozomskim aberacijama (72, 73). Uprkos malim razlikama u različitim GEP studijama (studijama genske ekspresije), koncept podtipova GCB i ABC je široko prihvaćen. (tabela 6)

Možda najznačajnije otkriće u ovoj studiji su prognostičke implikacije. Podtipovi GCB i ABC su manifestovali značajne razlike u ukupnom preživljavanju i preživljavanju bez komplikacija u eri pre primene rituximab-a. GCB tip je (nezavisno od IPI) imao značajno bolji ishod, sa 5-ogodišnjim ukupnim preživljavanjem 60% u odnosu na 35% za ABC tip (52). Ove razlike čini se budu minimalizovane primenom imunohemioterapije (74) ali neke skorašnje studije su pokazale da se ovakve razlike u ishodu zadržavaju i kod tretiranih protokolom R-CHOP (75, 76).

GCB-like i ABC-like podgrupe DLBCL ne mogu biti morfološki pouzdano prepoznate. Korelacija između podtipova DLBCL definisanih na osnovu genske ekspresije i onih definisanih imunohistohemijskim analizama je varijabilna (47, 53).

*Tabela 2. Genetske, molekularne i kliničke karakteristike ABC i GCB molekularnih podgrupa difuznog krupnoćelijskog B limfoma, prepoznate profilisanjem genske ekspresije*

| <b>Karakteristike</b>                            | <b>ABC</b>              | <b>GCB</b> |
|--|-------------------------|------------|
| t(14;18)   | 0                       | 35%        |
| 3q amplifikacija                                 | 26%                     | 0          |
| 9p amplifikacija                                 | 6%                      | 0          |
| 12q12  | 5%                      | 20%        |
| napredujuće IG mutacije                          | ne                      | da         |
| BCL2 rearanžiranje                               | 0                       | 20-25%     |
| REL amplifikacija                                | 0                       | 15%        |
| NFkB aktivacija                                  | da                      | ne         |
| 5 godina preživljavanja značajni detalji bolesti | 15-30%<br>kasni relapsi | 50-60%     |
| ABC, nalik aktivisanim B ćelijama                |                         |            |
| GCB, nalik B ćelijama folikularnog centra        |                         |            |

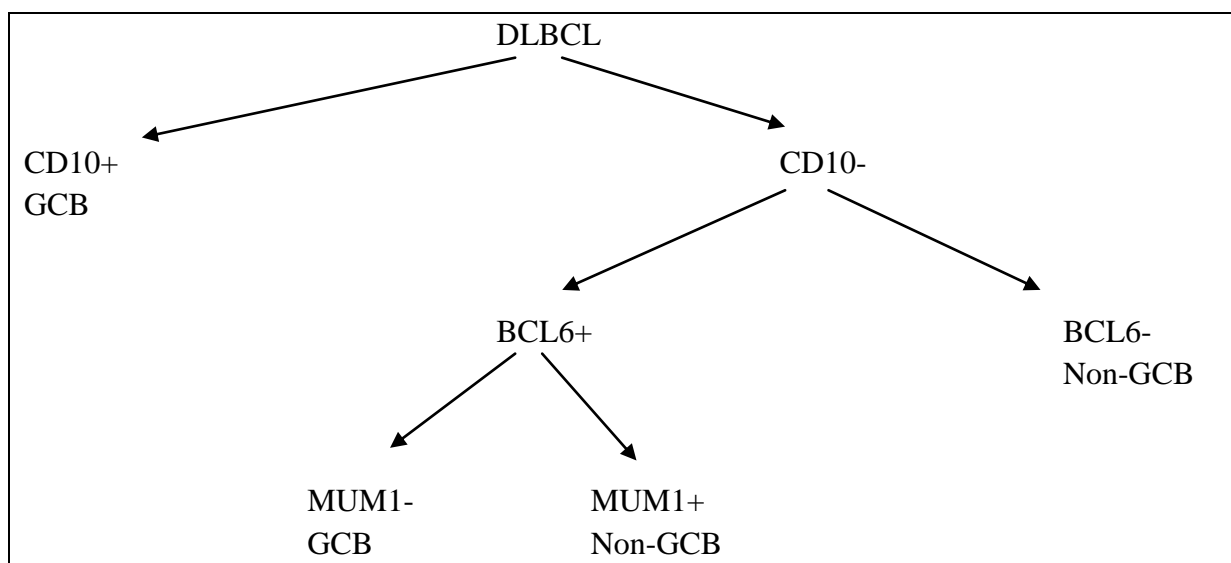
## **1.16 IMUNOHISTOHEMIJSKE PODGRUPE DLBCL**

Na osnovu imunofenotipa se difuzni krupnoćelijski B limfom deli na:

- CD5 pozitivni DLBCL
- Germinal centre B-cell-like (GCB)
- Non-germinal centre B-cell-like (non-GCB)

Genetski pristup podeli DLBCL još nije zaživeo kao rutinska metoda i učinjeni su napori da se nađe dostupna i adekvatna zamena. Aktuelna je Hans-ova podela (šema 1) upotrebom antitela CD10, BCL6 i MUM1 (53, 77, 78). Slučajevi sa ekspresijom CD10 preko 30% ćelija se uzimaju kao GCB tip, kao i slučajevi koji su CD10 -, BCL6 +, IRF4/MUM1 -. Ostale kombinacije se računaju kao non-GCB type (53).

Šema 1. Algoritam upotrebe imunohistohemijskih analiza za određivanje imunohistohemijskog podtipa difuznog krupnoćelijskog limfoma (GC ili non-GC) po Hansu i saradnicima (53)



Većina studija se slaže da je MUM1 (koji se eksprimira u oko 35% DLBCL) međusobno isključiv sa CD10 ekspresijom. BCL6 se može ekspimirati i u slučajevima GCB-like i ABC-like kao rezultat aktivirajuće promotor mutacije ili hromozomske translokacije. U ovim slučajevima neće reflektovati ćelijsko poreklo.

Imunohistohemijski model se podudara 87% sa genskom ekspresijom GCB-like i 73% sa genskom ekspresijom ABC-like DLBCL. Nedostatak podudarnosti od 20-30% sa genskom ekspresijom govori da je potrebno inkorporirati dodatne imunohistohemijske markere radi unapređenja prediktivne vrednosti ovog modela (47, 52).

CD5 pozitivni DLBCL se razlikuje od ostalih po imunohistohemijskoj ekspresiji CD5 bez obzira na ostale markere. Nije jasno da li je u pitanju zaseban entitet ili varijanta DLBCL sa lošom prognozom. Prisutna je malo veća incidenca CD5+ DLBCL kod žena (1,2/1) za razliku od malo veće učestalosti CD5- DLBCL kod muškaraca (1,4/1) (79). Ekspresija CD5 ne implicira vezu sa hroničnom limfocitnom leukemijom ili mantle ćelijskim limfomom.

Nije prisutna korelacija imunohistohemijskih podgrupa sa morfološkim grupama niti utiče na terapijske protokole. Nema još konsenzusa u vezi rutinskih imunohistohemijskih ispitivanja za stratifikaciju predikcionih i terapijskih grupa.

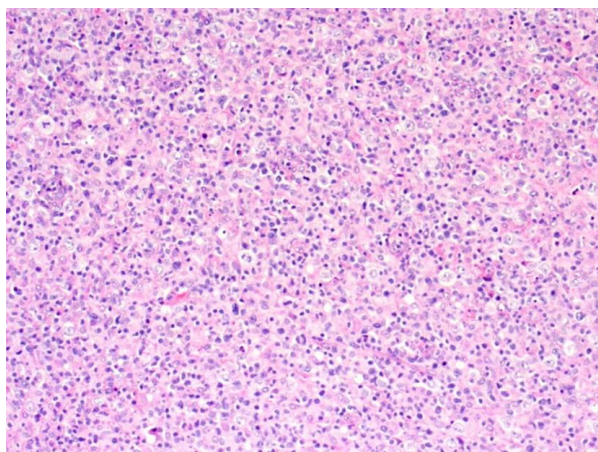
## 1.17 DIFUZNI KRUPNOĆELIJSKI B LIMFOM, PODTIPOVI

### 1.17.1 DLBCL bogat T limfocitima / histiocitima (TCHRLBCL)

TCHRLBCL (T-cell / histiocyte rich large B-cell lymphoma) je varijanta DLBCL koju karakterišu mnogobrojni prisutni ne-neoplastični T limfociti i/ili histiociti. TCHRLBCL obuhvata manje od 10% DLBCL i najčešće se javlja kod sredovečnih i mlađih muškaraca (mediana 49 godina) (80, 81). Često zahvata duboke limfne čvorove retroperitoneuma, jetru, slezinu i koštanu srž. Češće zahvata koštanu srž od drugih podtipova (82). Bolesnici su obično u uznapredovalom stadijumu bolesti prilikom dijagnoze. Često je prisutna rezistencija na R-CHOP protokol.

Histološka arhitektura zahvaćenog limfnog čvora je zbrisana (slika 7). Neoplastične ćelije čine manje od 10% celularnosti i dispergovane su u gustoj populaciji malih T limfocita i/ili područjima epiteloidnih histiocita. Morfologija tumorskih ćelija je varijabilna. Nekada liče na centroblaste ili imunoblaste, nekada na Reed Sternberg ćelije, nekada imaju reznjevita jedra nalik "popcorn" ćelijama NLPHL (nodularni limfocit predominantni Hodgkin limfom) (80). Često se oko limfomskih ćelija nalaze klasteri histiocita i to može pomoći u dijagnozi (83). Usled predominacije T limfocita tumorske ćelije se mogu prevideti na protočnoj citometriji, te je imunohistohemijska analiza preporučena u svim slučajevima. CD20 i BCL6 su uvek pozitivni, MUM1 je varijabilan, a CD5, CD10, CD30 i BCL2 su eksprimirani samo u malom broju slučajeva. Imunofenotip pratećih zapaljenskih T limfocita je varijabilan, uglavnom CD3+, CD5+, CD8+. Folikularna dendritična mreža je odsutna u TCHRLBCL (84, 85). Obično su potpuno odsutni mali B limfociti, eozinofilni granulociti, plazmaciti i neutrofilni granulociti.

TCHRLBCL je verovatno heterogeno oboljenje, ponekad povezano sa NLPHL. Ta dva limfoma nekada koegzistiraju u istom limfnom čvoru. Nekada TCHRLBCL nastaje transformacijom iz preegzistirajućeg NLPHL (84). Veći broj malih T limfocita i histiocita se može naći i u drugim DLBCL, često kod EBV LMP+, ali to ne treba dijagnostikovati kao TCHRLBCL.



Slika 7. Difuzni krupnoćelijski B limfom bogat T limfocitima / histiocitima. HE, 200x



### **1.17.2 Primarni DLBCL centralnog nervnog sistema**

Difuzni krupnoćelijski B limfom se može javiti u CNS-u tokom sistemske diseminacije kod imunosuprimiranih bolesnika (često HIV+) ili kod imunokompetentnih bolesnika, međutim primarni DLBCL CNS-a se dijagnostikuje ako se isključi imunodeficijencija, intravaskularni limfom i cerebralno zahvatanje sistemskim limfomom. Često se prezentuje neurološkim deficitima. Lokalizacija je najčešće supratentorijalna, može biti multifokalan. Najbolje se detektuje snimanjem nuklearnom magnetnom rezonancom (NMR). Vrlo retko se javljaju ekstrakranijalne metastaze i zahvatanje koštane srži. U biopsijama se najčešće viđaju perivaskularna infiltracija parenhima klasterima tumorskih ćelija i diskretno meningealno širenje. Ograničena mala biopsija mozga ponekad pokazuje samo nekrozu, penušave makrofage i retke CD20+ ćelije. Tumorske ćelije su BCL2+, BCL6+ (60-100%), MUM1+ (90%) sa mutiranim IGH, što je u skladu sa post germinalnim poreklom (86).

Osnovni tretman je visoka doza methotrexat-a intratekalno i iradijacija zahvaćenog područja. Prognoza im je značajno popravljena uključivanjem methotrexat-a u terapijski protokol (87).

### **1.17.3 Primarni kutani DLBCL, nožni tip**

Većina DLBCL koji zahvataju kožu su lokalizovani u dermisu, imaju indolentni kurs i mogu lako biti tretirani hirurškom ekscizijom i / ili radioterapijom. Prisutna je i agresivna forma primarnog kožnog DLBCL koji se prezentuje kao plavičasti čvorići na donjim ekstremitetima, te se i zove nožni tip (za razliku od trupa, glave i vrata koji su češće zahvaćeni u indolentnim slučajevima). Često je diseminovan ekstrakutano, uključujući regionalne limfne čvorove. Nožni tip DLBCL čini oko 20% primarnih B-ćelijskih limfoma kože i javlja se uglavnom kod starijih žena. Ima dosta lošiju prognozu od ostalih DLBCL (88). Petogodišnje preživljavanje je samo oko 50%. Prisustvo mnogobrojnih tumorskih čvorića i brzo sistemsko širenje su negativni prognostički faktori.

Prisutna je difuzna infiltracija kože bez zahvatanja epidermisa ili adneksa kože. Morfologija može biti imunoblastna ili centroblastna. Limfom je CD20+, CD79α+, skoro uvek BCL2+, skoro uvek IRF4/MUM1+. BCL6 je uglavnom pozitivan a CD10 negativan (89).

### **1.17.4 EBV pozitivni DLBCL kod starijih**

EBV pozitivni DLBCL kod starijih se definiše kao DLBCL kod bolesnika starijih od 50 godina koji su EBV pozitivni, bez poznate imunodeficijencije ili prethodnog limfoma (18, 90). Zove se još i senilni EBV-povezani limfoproliferativni poremećaj (15). Najverovatnije je povezan sa deterioracijom imuniteta u odsustvu poznate imunodeficijencije ili limfoma. Sa starenjem opada T ćelijski nadzor. Dijagnoza se dobija metodom isključivanja drugih entiteta. Ova bolest je ekstranodalna u 70% slučajeva i često se javlja u koži, plućima, tonzilama i želucu, sa ili bez zahvatanja limfnih čvorova. Treba posumnjati na ovaj limfom

uvek kada su prisutna područja sa Reed Sternberg-like ćelijama, polimorfni infiltrati sa plazmacitoidnim osobinama i zonalne nekroze. Morfologija tumorskih ćelija varira od pleomorfnih krupnih B limfoidnih ćelija do monomorfnih imunoblastnih DLBCL, slično kao u posttransplantacionim tumorima. Obično je prisutna ekspresija CD20, visok proliferativni indeks Ki-67, varijabilna ekspresija CD30, citoplazmatska restrikcija lakih lanaca se često viđa, pogotovo kada su prisutna široka područja imunoblasta i plazmablasta. EBV se obično detektuje EBER in situ hibridizacijom mada se u većini slučajeva može detektovati i imunohistohemijski antitelom EBV LMP LMP-1.

## **1.18 DRUGI LIMFOMI KRUPNIH B ĆELIJA**

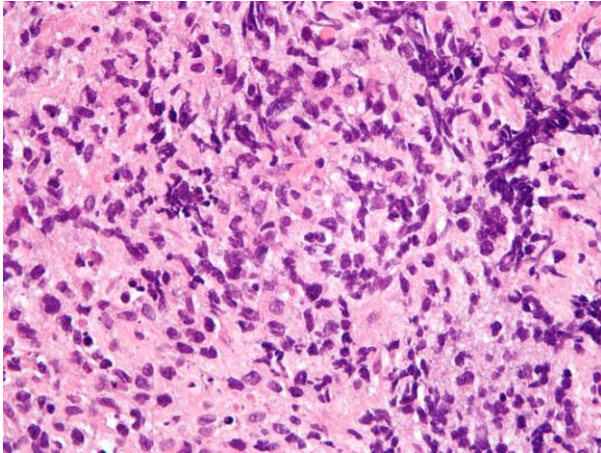
### **1.18.1 Primarni medijastinalni krupnoćelijski B limfom (PMBL)**

Primarni medijastinalni krupnoćelijski B limfom (PMBL) čini 6-10% DLBCL. Javlja se u medijastinumu, pretežno kod mlađih žena i ima najbolju prognozu od svih DLBCL. Opisan je kao entitet još 1980. godine (91, 92). PMBL nastaje od timusnih B ćelija (51, 93, 94). Ima karakteristične kliničke osobine, morfologiju, imunofenotip i genetske osobine. Prisutna je krupna medijastinalna tumorska masa (60-70% bolesnika), često sa infiltracijom (50% bolesnika) pluća, gornje šuplje vene, pleure, perikarda, zida grudnog koša, izazivajući kašalj, bol, dispneu. Skoro nikada ne zahvata limfne čvorove (5, 95-98). U slučaju širenja van medijastinuma i pleuralne duplje, zahvata bubrege, nadbubrežne žlezde, jetru, centralni nervni sistem, jajnike, što nije infiltracija tipična za DLBCL (99-101). Brz rast PMBL može zahtevati urgentnu intervenciju zbog sindroma gornje šuplje vene ili kompresije i ili invazije pluća, perikarda i pleure, osobina koje ga razlikuju od medijastinalne prezentacije Hodgkin limfoma. U slučaju relapsa zahvata i druga mesta, CNS, jetru, nadbubrežne žlezde, bubrege (102). Primarni medijastinalni krupnoćelijski B limfom vrlo retko metastazira u koštanu sržu, do 2% (103). Obično dobro odgovara na tretman i ima relativno dobru prognozu sa oko 50% pacijenata sa relapsom i progresijom. Laktat dehidrogenaza je obično signifikantno povišena. Samo 20% bolesnika su u stadiju III i IV prilikom uspostavljanja dijagnoze.

Prisutna je difuzna proliferacija krupnih ćelija svetle citoplazme, često lobuliranih jedara. Pleomorfija može biti prisutna. Svetla citoplazma je izgleda artefakt formalinske fiksacije jer se ne javlja kod upotrebe drugih fiksativa. Stroma je sklerozirana ali može biti odsutna kod brzo rastućih tumora, ali se tada može javiti zonalna nekroza. Mogu se ponekad naći ostaci timusa (slika 8). PMBL ćelije ekspimiraju CD20, PAX5 i BCL6 sa MUM1 pozitivnošću do 75%. Više od pola slučajeva pokazuje bar fokalnu pozitivnost na CD30. Transkripcioni faktori BOB1 i OCT2 su pozitivni. Česta je ekspresija CD23. CD10 i CD15 su obično negativni a EBER je uvek negativan. Genska ekspresija PMBL ima podudarnosti sa klasičnim Hodgkin limfomom a donekle je različita od ostalih DLBCL (104, 105).

Zbog medijastinalne lokalizacije tumor se najčešće bioptira iglom. Biopsije su često vrlo male i mehanički oštećene (crush artefakt) ili maskirane sklerozom. Crush artefakti i prateći zapaljenski infiltrat otežavaju dijagnozu na malim biopsijama. Protočna citometrija ima

ograničenu dijagnostičku vrednost zbog skleroze i čestog nedostatka površinskih imunoglobulina na tumorskim ćelijama.



Slika 8. Primarni mediastinalni krupnoćelijski B limfom. HE, 400x

### 1.18.2 Intravaskularni DLBCL

Ovo je vrlo retka forma ektranodalnog DLBCL sa karakterističnim intravaskularnim načinom rasta koji može biti dijagnostikovano slučajno tokom biopsije iz drugih razloga. Najčešće se javlja u koži i mozgu mada se može javiti u bilo kojem organu. Često se manifestuje simptomima vaskulitisa i tromboze u različitim organima kao mozak (šlog), pluća (pneumonija i plućna embolija), bubreg (infarkcija ili bubrežna insuficijencija), nadbubrežne žlezde (endokrini poremećaji), ili koža. Mada se bolest češće javlja u nekim organima, bolest je sistemska i koštana srž je zahvaćena u skoro svim slučajevima. Kašnjenje dijagnoze zbog diskretne i žarišne prirode intravaskularnih infiltrata često dovodi do terminalnog stadijuma i smrtnog ishoda pre početka hemioterapije. Većina slučajeva ima imunoblastnu ili anaplastičnu morfologiju i ekspresiju CD20, BCL2 i MUM1, u skladu sa post germinalnim poreklom tj poreklom od aktivisanih B limfocita. Iskustva sa upotrebom rituximab-a deluju obećavajuće a pogotovo u kutanim intravaskularnim limfomima (106, 107). Opisani su i slučajevi sa CD3 pozitivnošću i oni su rezistentni na terapiju (108, 109).

### 1.18.3 DLBCL povezan sa hroničnom inflamacijom

Pojava EBV pozitivnog DLBCL kod bolesnika sa neprekidnom hroničnom gnojnom inflamacijom je prvo prepoznata u Japanu kod pacijenata sa piotoraksom. Ovaj se limfom obično javlja nakon 10-20 godina perzistentne gnojne inflamacije. Danas su registrovani i nakon hroničnog osteomijelitisa, hroničnih kožnih i venskih ulceracija, okolo proteza i metalnih implanta. Tumor infiltruje gustu fibroznu opnu šupljina ili kapsulu zglobova i manifestuje fokalna gnezda EBER+ i EBV LMP+ krupnih B ćelija. Prognoza je loša (110). Hirurška kompletna resekcija tumora unapređuje preživljavanje ali je prognoza loša, moguće

zbog kasne dijagnoze. Često imaju aberantan imunofenotip sa ekspresijom i B i T markera što izaziva konfuziju.

#### **1.18.4 Limfomatoidna granulomatoza (LyG)**

Limfomatoidna granulomatoza je u klasifikaciji SZO opisana kao proliferacija zrelih B limfocita nesigurnog malignog potencijala. To je ekstranodalni EBV pozitivni B ćelijski limfoproliferativni poremećaj koji se prezentuje multifokalnim angiocentričnim i angiodestruktivnim lezijama, uglavnom zahvatajući pluća (obostrani nodusi u srednjem i donjim režnjevima), kožu (više nodusa ili ulceracija), centralni nervni sistem, ređe bubrege ili jetru, retko limfne čvorove. Često dovodi do infarkcija. Javlja se u širokom uzrasnom opsegu ali najčešće kod muškaraca srednjih godina. Povezano je sa imunokompromitacijom kod mnogih bolesnika.

Tumorske ćelije su B limfociti, angiocentrični i angiodestruktivni, EBV+ i praćeni gustim infiltratom ne-neoplastičnih T limfocita i / ili makrofaga. Limfoidne ćelije su krupne i redovno pozitivne na CD20, CD30, EBER i EBV LMP. Prognoza zavisi od histološkog gradusa, sa progresijom bolesti koja se manifestuje umnožavanjem EBV+ tumorskih ćelija i smanjenjem broja reaktivnih CD4+ T limfocita. Prognoza je mnogo bolja od kada je shvaćena prava priroda procesa (111).

Gradus 1: manje od 5 EBV+ krupnih B ćelija po vidnom polju velikog uvećanja, retko nekroze

Gradus 2: 5-20 EBV+ krupnih B ćelija po vidnom polju velikog uvećanja, nekroza se češće viđa

Gradus 3: veliki broj EBV+ krupnih B ćelija koje čine konfluentna područja fokalno, varijabilan broj malih T limfocita, nekroza se uobičajeno javlja.

B ćelije gradusa 2 i 3 su obično klonalne. Bolesnici obično imaju naslednu ili stečenu imunodefijenciju ili oštećen imunitet.

#### **1.18.5 ALK pozitivni DLBCL**

Ovo je veoma redak limfom. Čini manje od 1% difuznih krupnoćelijskih B limfoma. Zovu ga još i ALK pozitivni plazmablastni limfom. Javlja se u svim uzrasnim grupama ali je najčešći kod muškaraca mlađeg i srednjeg doba. Prezentuje se u uznapredovalom stadijumu, najčešće nodalno, nekad sa medijastinalnim zahvatanjem. Ekstranodalno se može javiti u mekim tkivima, nazofarinksu, želucu, jeziku i kostima. Tok je agresivan (112).

ALK pozitivni DLBCL ima sinusoidnu distribuciju u limfnom čvoru ili formira krupne tumorske čvorove tako da imitira karcinom i melanom, makroskopski i mikroskopski. Tumorske ćelije su relativno uniformne i imaju imunoblastnu morfologiju ili mogu izgledati

kao plazmablasti. Citoplazma je obilnija, bazofilnu ili amfofilnu. Mogu imati vile (resice) na membrani.

ALK pozitivni DLBCL je negativan za B-ćelijske i T-ćelijske markere, kao i za CD45 i CD30. Prisutna je snažna citoplazmatska pozitivnost na ALK-1. Prisutna je ekspresija plazmaćelijskih antigena kao što su CD138, CD38, MUM1 i EMA (113). Ćelije mogu fokalno ekspimirati citoplazmatski IgA (retko IgG), CD4, CD43 i CD57. Najčešća genetska abnormalnost je translokacija t(2;17)(p23;q23). Nije osetljiv na rituximab zbog CD20 negativnosti.

### **1.18.6 Plazmablastni DLBCL**

Plazmablastni DLBCL (114) je tipično ekstranodalni i ekstramedularni limfom. Zahvaćenost limfnih čvorova je veoma retka i to uglavnom kod starijih bolesnika koji nemaju identifikovanu imunodeficijenciju. Inicijalno se mislilo da se javlja samo u orofarinksu kod pacijenata sa AIDS-om ili nekom drugom imunodeficijencijom. Plazmablastni DLBCL se međutim javlja i u gastrointestinalnom traktu, kostima, mekim tkivima i kod bolesnika koji nemaju HIV infekciju (115, 116). Imaju agresivan kurs (117).

Morfologija je imunoblastna ili plazmablastna ali je citoplazma eozinofilnija a jedro može biti ekscentrično postavljeno. Ima specifičan imunofenotip koji je negativan za pan B-ćelijske markere i tipično pozitivan na CD138. Ekspresija EBV je prisutna kod 60% bolesnika (EBER i EBV LMP) ali su HHV8-. Neki bolesnici mogu imati nizak nivo serumskih paraproteina, obično IgG ili lambda. Tumorske ćelije samo ponekad manifestuju citoplazmatski imunoglobulin na imunohistohemijskim analizama.

### **1.18.7 Krupnoćelijski B limfom nastao u multicentričnoj Castleman-ovoj bolesti povezanom sa HHV8**

Ovo je primarno nodalni plazmablastni limfom koji nastaje u multicentričnoj Castleman bolesti. Kod manjeg broja bolesnika može se diseminovati u gastrointestinalni trakt, jetru, pluća ili preći u leukemijsku fazu. Predstavlja monoklonalnu proliferaciju HHV8 inficiranih ćelija koje podsećaju na plazmablaste i ekspimiraju IgM. Jedini je poznati limfom izričito povezan sa HHV8 a bez EBV ko-infekcije. Rane lezije se manifestuju kao monotipske IgM+, lambda+ plazmablastne proliferacije lokalizovane u mantle zonama folikula u multicentričnoj Castleman bolesti, koje prelaze u mikroskopske agregate (micro-lymphoma) i eventualno u pravi limfom sa konfluentnim područjima tumorskih ćelija (118). Tumorske ćelije ekspimiraju CD20 (slabo) i MUM1, ali su negativni PAX5 i CD138. Vrlo je sličan plazmablastnom limfomu (119, 120). Krupnoćelijski B limfom u okviru HHV8 pozitivne multicentrične Castleman-ove bolesti je vrlo agresivan i obično je povezan sa HIV infekcijom. Kaposi sarcoma se često javlja kod bolesnika sa ovom formom limfoma i primarnim efuzionim limfomom.

### **1.18.8 Primarni efuzioni limfom**

Primarni efuzioni limfom je takođe poznat kao limfom telesnih šupljina i veoma je agresivan ekstrapnodalni tumor. Primarni efuzioni limfom se prezentuje masivnom seroznom efuzijom u jednoj ili više telesnih šupljina (pleuralni prostor, perikard, peritoneum) bez prisutne tumorske mase, limfadenopatije ili organomegalije (121). Često koegzistira sa Kaposi sarkomom. Ne metastazira u koštanu srž. Postoje i slični tumori ekstrakavitalno u tkivima i opisuju se kao ekstrakavitalni primarni efuzioni limfom (122).

Primarni efuzioni limfom ima imunoblastnu ili anaplastičnu morfologiju a često je veoma pleomorfan. Većina pan B-ćelijskih markera se ne eksprimira, ali se ekspimiraju CD45, MUM1, CD38 i CD138. Varijabilno su ekspimirani CD30, EMA i CD79 $\alpha$ . Povezan je sa HHV8 infekcijom a velika većina slučajeva je takođe pozitivna na EBV LMP i EBER.

### **1.19 ISHODIŠTE DLBCL, SUMIRANO**

Prema klasifikaciji WHO iz 2008 godine, klinički podtipovi DLBCL koji se javljaju ekstrapnodalno su:

- DLBCL, NOS
- primarni DLBCL CNS-a,
- primarni kutani DLBCL, nožni tip,
- primarni medijastinalni (timusni) krupnoćelijski B limfom,
- intravaskularni krupnoćelijski B limfom,
- plazmablastni limfom,
- DLBCL povezan sa hroničnom inflamacijom,
- limfomatoidna granulomatoza i
- primarni efuzioni limfom.

Podtipovi DLBCL koji zahvataju limfni čvor su:

- DLBCL, NOS
- TCHRLBCL,
- EBV pozitivni DLBCL starijih,
- ALK pozitivni DLBCL,
- krupnoćelijski B limfom u HHV8 pozitivnoj multicentričnoj Castleman-ovoj bolesti.

### **1.20 GRANIČNI SLUČAJEVI**

#### **1.20.1 B ćelijski limfomi, neklasifikovani, sa osobinama između DLBCL i Burkitt limfoma (BL)**

To je heterogena kategorija gde se nalaze slučajevi agresivnih B limfoma koji se ne uklapaju u kriterijume za klasični Burkitt limfom niti za DLBCL. B-ćelijski markeri su pozitivni,

CD20+, PAX5+, takođe CD10+, BCL6+, Ki-67 preko 95%, ali je BCL2 negativan. Često je prisutna MYC translokacija. Genetski su prisutne osobine i Burkitt limfoma i DLBCL. Slučajevi sa tipičnom morfologijom i imunofenotipom BL ali bez identifikovane MYC translokacije takođe spadaju u ovu grupu i predstavljaju dijagnostički izazov. Oni bi se mogli klasifikovati kao BL, pogotovo kod mladih pacijenata, gde može biti benefita od agresivne hemioterapije.

2,5% slučajeva DLBCL mogu imati obe translokacije t(8;14) i t(14;18) i takvi "double hit" slučajevi imaju veoma lošu prognozu. „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. Približno 20% slučajeva sa MYC translokacijom imaju konkurentnu IGH-BCL2 translokaciju i/ili BCL6 translokaciju ili obe (47, 123). Ovi slučajevi obično imaju visoku proliferaciju (>90% Ki-67+). U suštini „double hit“ je neprecizan termin jer uz promene u MYC genu često budu udružene još dve ili tri genetske abnormalnosti. Obično DHL nastaju de novo i minimalan broj nastaje transformacijom iz limfoma nižeg stepena malignosti. Najveći broj bolesnika je u uznapredovalom stadijumu bolesti.

### **1.20.2 B ćelijski limfomi, neklasifikovani, sa osobinama između DLBCL i klasičnog Hodgkin limfoma**

Ova kategorija obuhvata dijagnostičko preklapanje između PMBL i klasičnog Hodgkin limfoma kod mladih odraslih ljudi sa medijastinalnom masom. U većini slučajeva će tumorske ćelije biti krupnije i pleomorfnije nego u tipičnom PMBL ali im nedostaje klasični izgled Reed-Sternberg ćelija. Mogu snažno eksprimirati B ćelijske markere kao CD20 i transkripcione faktore PAX5, BOB1 i OCT2 zajedno sa CD30. Teškoće u klasifikaciji se javljaju i kada se javljaju široka područja proliferacije krupnih atipičnih limfoidnih ćelija sa imunofenotipom nalik Hodgkin limfomu (CD20-, CD15+), ili obrnuto sa histološkim izgledom Hodgkin-ovog limfoma nodularne skleroze ali sa imunofenotipom CD20+, CD79a+, CD45+, CD15-. U nekim slučajevima gde postoje zasebna područja koja izgledaju kao klasični Hodgkin limfom i kao DLBCL, tumor je možda bolje klasifikovati kao kompozitni limfom. Ovi granični slučajevi verovatno reflektuju podeljenu biologiju, imajući u vidu da su genetske studije pokazale molekularna preklapanja između klasičnog Hodgkin limfoma i PMBL (124). Genetski PMBL je bliži klasičnom HL nego DLBCL (104).

## **1.21 DIFERENCIJALNA DIJAGNOZA**

Morfološka diferencijalna dijagnoza DLBCL uključuje brojna oboljenja, a najčešće:

- Burkitt-ov limfom,
- plazmablastni mijelom,
- blastoidni mantle ćelijski limfom,
- anaplastični krupnoćelijski limfom,

- folikularni limfom gradus 3b,
- klasični Hodgkin-ovi limfomi,
- histiocitni limfom,
- nediferentovani karcinomi,
- melanom,
- infektivna mononukleoza,
- Kikuchi limfadenitis,
- timomi,
- seminom.

Razlikovanje Burkitt-ovog limfoma i DLBCL visokog gradusa može biti teško, s obzirom da jedan deo DLBCL može imati preklapanje imunofenotipskih i citogenetskih abnormalnosti, uključujući t(8;14)(q24;q32) koja zahvata i MYC gen translokaciju na 8q24, što je prikazano u poglavlju o graničnim slučajevima DLBCL. Prisustvo dodatnih citogenetskih abnormalnosti kao što je rearanžiranje BCL6 gena ili t(14;18)(q32;q24) govori u prilog agresivnog DLBCL. Plazmablastni mijelom ima karakteristični trijas osteolitičkih lezija, plazmacitoze i prominentne monoklonalne gamapatije, kao i ekspresije citoplazmatskih imunoglobulina, a tipično je EBV LMP i EBER negativan. CD5 pozitivni difuzni krupnoćelijski limfomi se razlikuju od blastoidne varijante mantle limfoma odsustvom Cyclin D1 ekspresije (79, 125). Anaplastični krupnoćelijski limfom je CD20 negativan i difuzno snažno CD30 pozitivan. Folikularni limfom gradus 3a se lako razlikuje prisustvom morfološki tipičnih područja sa centrocitima i centroblastima (više od 15 centroblasta po vidnom polju velikog uveličanja). Folikularni limfom gradusa 3b se teško razlikuje od DLBCL jer ima područja građena isključivo od centroblasta, a pogotovo na manjim bioptičkim uzorcima. Klasični Hodgkin limfomi imaju tipičan prateći zapaljenjski infiltrat i posebnu morfologiju neoplastičnih ćelija sa imunofenotipom CD30+, CD15+, MUM1+, CD20 varijabilno. Pored toga Reed-Sternberg ćelije i Hodgkin ćelije praktično nikada nisu prisutne u toliko velikom broju kao tumorske ćelije DLBCL. Histiocitni limfom manifestuje hemofagocitni sindrom i ima tipičan imunofenotip svojstven makrofagima, sa negativnim panB markerima. Karcinomi i melanomi mogu biti lako izdiferencirani upotrebom imunohistohemijskih analiza s obzirom da su karcinomi cytokeratin pozitivni a melanomi S100+, HMB-45+ i Melan A+. Infektivna mononukleoza nije monoklonalna limfoproliferacija, očuvana je osnovna građa limfnog čvora, ima tipičnu kliničku sliku i serološke analize. Kikuchi limfadenitis ima tipičnu kliničku sliku, tipičnu morfologiju, nema monoklonalnosti. Timomi su prožeti mrežom citokeratina i infiltrirani su TdT pozitivnim T limfocitima sa malo B limfocita (126). Seminom ima tipičan imunofenotip. Moguće je da neki limfomi na protočnoj citometriji deluju krupnoćelijski a na mikroskopu ne, kao na primer limfom marginalne zone. Uvek je potrebno detaljno analizirati i korelirati sve dostupne analize i podatke.



## 1.22 PROGNOZA I PREDIKTIVNI FAKTORI

Prognoza je očekivani tok bolesti a predikcija očekivani odgovor na terapiju. Prognoza je vrlo važna za lekare, za bolesnika i za familiju kako bi se najbolje organizovali. Varijabilnost u preživljavanju je izazov za doktore koji traže bolji tretman i imaju potrebu za predviđanjem ishoda. Bolja predikcija je neophodna za dizajn i stratifikaciju kliničkih trajala, uniformno prijavljivanje i evaluaciju rezultata. Razumevanje biomarkera predikcije može biti osnova za bolju terapiju. Da bi neki biomarker bio koristan i upotrebljiv u rutinskoj kliničkoj praksi mora biti jednostavan za kliničku upotrebu i imati visok stepen razdvajanja rizičnih grupa. Prediktivna vrednost mora biti nezavisna od drugih poznatih prognostičkih faktora u multivarijabilnoj analizi i mora biti potvrđena u dobro dizajniranim prospektivnim studijama. Potrebno je razumeti da prognostički faktori mogu da zavise od terapijskog pristupa i stoga mogu pretrpeti značajne promene tokom vremena i reflektuju progres tretmana. Stoga uvođenje novih terapija zahteva ponovnu evaluaciju kliničke primenljivosti prethodno važećih prognostičkih faktora. Uvođenjem rituximab-a neki su prognostički faktori izgubili na značaju a novi se traže. Do danas ni jedan prognostički parametar nije izdržao zub vremena.

### 1.22.1 Klinički faktori

Prognostički faktori oslikavaju biološku heterogenost limfoma. Biološku heterogenost tek počinjemo da razumemo. DLBCL je klinički agresivan i obično dovodi do smrtnog ishoda unutar 1-2 godine ukoliko nije lečen. Potencijalno je izlečiv a pogotovo kod bolesnika u niskom stadijumu i sa niskim IPI score-om (Internacionalni Prognostički Indeks). Kompletna remisija se može postići kod dve trećine bolesnika ali jedna trećina od njih će imati relaps. Pacijenti koji ne postignu kompletnu remisiju umiru od ove bolesti. Međutim svaki DLBCL podtip ima različite načine reagovanja na terapiju, relaps ili napredovanje bolesti.

Za određivanje stadijuma je tradicionalno korišćen Ann Arbor sistem klasifikacije (tabela 3), originalno dizajniran za limfome ali je imao malu efikasnost u predikciji višegodišnje prognoze (127).

*Tabela 3. Ann Arbor klasifikacija stadijuma limfoma*

#### Stadijum I

Zahvatanje jedne regije limfnih čvorova ili jednog ektranodalnog organa

#### Stadijum II

Zahvatanje dve ili više regija limfnih čvorova sa iste strane dijafragme ili lokalizovano zahvatanje ektranodalnog organa i jedna ili više regija limfnih čvorova sa iste strane dijafragme

#### Stadijum III

Zahvatanje limfnih čvorova sa obe strane dijafragme, sa ili bez lokalizovanog zahvatanja ekстранodalnog tkiva ili organa, slezine ili oba

#### Stadijum IV

Difuzno ili diseminovano zahvatanje jednog ili više udaljenih organa, sa ili bez zahvatanja limfnih čvorova

Telesna temperatura preko 38°C, noćno znojanje i / ili gubitak težine preko 10% tokom šest meseci se zovu sistemski simptomi i označavaju se sufiksom B a asimptomatski pacijenti se označavaju sufiksom A.

Mada je u širokoj primeni Ann Arbor sistem ima i mane jer se ne uzima u obzir veličina tumorske mase (eng. bulk) a ona ima prognostički i terapijski značaj. Pacijenti sa manjom tumorskom masom imaju bolju prognozu. Bulk se definiše kao tumorska masa veća od 10cm ili medijastinalna masa veća od trećine dijametra grudnog koša. Pacijenti sa velikom tumorskom masom (bulk) i malom tumorskom masom mogu biti u istom stadijumu ali optimalna terapija se može dosta razlikovati (128).

Organizacija "The International Non-Hodgkin's Lymphoma Prognostic Factors Project" je na uzorku od nekoliko hiljada bolesnika analizirala predterapijske kliničke prognostičke faktore koji bi na predvidljiv način prikazali verovatni ishod bolesti (129-131). Pronađeno je pet nezavisnih predterapijskih kliničkih faktora. Godine starosti ( $\leq 60$  u odnosu na  $>60$ ), tumorski stadijum I i II (lokalizovano) u odnosu na stadijume III i IV (uznapredovala bolest), broj zahvaćenih ekстранodalnih regija (1 u odnosu na  $>1$ ), "performance status" (tabela 4) (0 ili 1 u odnosu na  $\geq 2$ ), i serumski nivo LDH (normalni u odnosu na abnormalni).

*Tabela 4. Performance status, gradacija (ECOG, Eastern Cooperative Oncology Group)*

|   |   |
|---|---|
| 0 | Potpuno aktivan   |
| 1 | Ograničen u fizički težim aktivnostima  |
| 2 | Sposoban za brigu o sebi ali nesposoban za bilo koju radnu aktivnost                        |
| 3 | Ograničeno sposoban za brigu o sebi, vezan za postelju ili stolicu preko 50% budnog vremena |
| 4 | Potpuno nesposoban. Ne može se brinuti o sebi. Vezan za postelju ili stolicu                |

Upotrebom ovih pet faktora bolesnici mogu biti svrstani u jednu od četiri grupe rizika, baziranih na broju riziko faktora. Svaki od ovih faktora nosi jedan bod i sabiranjem se dobija IPI score. (tabela 3) Bolesnici sa IPI score-om 0-1 imaju 5-ogodišnje preživljavanje veće od 70%. Međutim, bolesnici sa score-om 4-5 imaju dramatično niže 5-ogodišnje preživljavanje, svega oko 20% (6). Nizak rizik (0 ili 1), niži srednji rizik (2), viši srednji rizik (3), visok rizik (4 ili 5). Internacionalni prognostički indeks IPI je predložen 1993. godine i od tada je prihvaćen kao jedan od najboljih prediktora ishoda (6).

*Tabela 5. Internacionalni Prognostički Indeks (IPI) za agresivne limfome*

### **Nepovoljni parametri**

Stariji od 60 godina  
Slab performance status (ECOG $\geq$ 2)  
Uznapređovali Ann Arbor stage (III-IV)  
Ekstranodalno zahvatanje  $\geq$ 2 mesta  
Visoki serumski LDH (>normalno)

### **Rizične grupe**

### **Nepovoljni parametri**

|                  | svi pacijenti | mlađi od 60 god.* |
|------------------|---------------|-------------------|
| nisko            | 0 ili 1       | 0                 |
| niski / srednje  | 2             | 1                 |
| visoko / srednje | 3             | 2                 |
| visoko           | 4 ili 5       | 3                 |

\*U pacijenata mlađih od 60 godina, godinama prilagođeni internacionalni prognostički indeks (aaIPI) je računat sa tri nepovoljna parametra koja uključuju slab performance status, uznapređovali Ann Arbor stage i visoki serumski LDH

Loše preživljavanje povezano sa istovremenim zahvatanjem koštane srži (132) je nezavisno od IPI skora (32, 133).

Uvođenjem rituximab-a unapređen je ishod bolesti kod svih IPI kategorija ali benefit nije ravnomerno raspoređen. Potrebna su i dalja istraživanja da bi se odredili faktori koji bi omogućili dalju stratifikaciju bolesnika i modifikaciju terapije (57, 134, 135).

### **1.22.2 Morfološki faktori**

Nema jasne povezanosti morfoloških kategorija DLBCL sa prognozom i predikcijom. Osnovni problem je verovatno u (ne)reproducibilnosti morfološke podele. Neke studije su pronašle bolju prognozu kod centroblastne varijante a neke nisu. Ima mnogo kontroverznih izveštaja o prognostičkom uticaju imunoblastnih osobina (6, 68, 69, 136, 137).

### **1.22.3 Imunohistohemijski faktori**

Imunohistohemija je ponudila kontradiktorne rezultate, sugerišući trenutni nedostatak idealnog seta markera za predikciju i prognozu kod bolesnika sa DLBCL (77, 138). Upotreba imunohistohemijskih panela radi podele u prognostičke grupe se koristi ali jedan od glavnih ograničavajućih faktora je opsežno dokumentovani problem sa reproducibilnošću izvedbe i interpretacije nekih imunohistohemijskih bojenja (139, 140). Većina imunohistohemijskih prognostičkih markera kod DLBCL su proučavani pre uvođenja rituximab-a u terapiju, dok je primenjivan samo protokol CHOP. Imajući to u vidu prognostički značaj ovih otkrića treba ponovo evaluirati.

Visoka ekspresija CD20 omogućava primenu rituximab-a (anti CD20 monoklonalno antitelo) koji dovodi do napretka u preživljavanju bez komplikacija i preživljavanje je produženo do 15% (57, 63, 134, 141).

Visok proliferativni indeks ustanovljen pomoću imunohistohemijske analize Ki-67 je prema nekim istraživanjima povezan sa lošijim preživljavanjem i brzim tokom bolesti (142). Ima i studija koje nisu potvrdile prognostičku vrednost Ki-67 indeksa (77, 143-145). Visok proliferativni indeks čini DLBCL osetljivijim na hemioterapiju.

Kombinacija CD10, BCL6 i IRF4/MUM1 ekspresije, takozvani „Hans classifier“, je (najšire prihvaćeno) ponuđeno rešenje za podelu DLBCL na one sa boljom i lošijom prognozom. Navedeno je da su CD10 i BCL6 u pozitivnoj korelaciji sa boljim ishodom a IRF4/MUM1 sa lošijim, što je potvrđeno nekim studijama ali ne i drugima (53, 74, 77, 146-150). Prognostičke razlike između ova dva glavna podtipa DLBCL, GCB i non GCB treba ponovo evaluirati u svetlu današnjih terapijskih protokola s obzirom da su te razlike ustanovljene u eri pre primene rituximab-a.

Prognoza CD5 pozitivnog DLBCL je lošija od oba prethodna podtipa. Visoka ekspresija CD5 je povezana sa visokom ekspresijom BCL2 gena, čestim CNS relapsom i lošom prognozom (73, 151, 152).

Visok nivo BCL2 proteina se javlja u 25 do 80% slučajeva i čini se da je povezano sa lošijom prognozom (138, 153). Dodavanje anti CD20 antitela Rituximab-a terapijskom protokolu je izuzetno unapredilo preživljavanje pacijenata obolelih od DLBCL i sudeći po izveštajima izgleda eliminisalo negativni uticaj ekspresije BCL2 i pozitivni uticaj ekspresije BCL6 na klinički ishod (55, 144, 154-156).

Pacijenti sa EBV inficiranim DLBCL imaju lošiji klinički ishod od pacijenata sa EBV negativnim DLBCL (18).

#### **1.22.4 Molekularni faktori**

Biološki mehanizmi u osnovi patogeneze DLBCL uključuju odnose mnogobrojnih gena, signalnih puteva i regulatornih procesa (157). Molekularna i ćelijska varijabilnost je u osnovi različitog kliničkog ponašanja DLBCL. Pokušalo se sa identifikacijom pojedinačnih gena u smislu prognostičkih biomarkera ali to ne može reflektovati kompleksne promene multigenijskih procesa kakvi se viđaju u ovim tumorima (147). Neophodni su dijagnostički postupci koji simultano ispituju mnogobrojne komponente bioloških procesa i vode ka najboljoj terapiji za svakog pojedinačnog bolesnika. Standardne patološke tehnike ne otkrivaju pouzdano senzitivnost na hemioterapiju i ishod za pojedinačne pacijente. Profilisanje genske ekspresije je dalo značajan uvid u biologiju DLBCL, dajući bolju biološku klasifikaciju tumora koji su homogeniji po patogenezi i kliničkom ponašanju. Veliki broj markera je ispitivan i mada su pokazali određenu prognostičku i prediktivnu vrednost, još uvek nisu napravljani novi prognostički skorovi koji se baziraju na molekularnoj prognozi (158).

Pacijenti sa molekularnim GCB podtipom DLBCL imaju prema nekim studijama bolji klinički ishod od podtipa ABC (47, 52) dok su druge studije konstatovale da nema razlike u prognozi u zavisnosti od ćelija porekla (GCB ili ABC) (159). Podela DLBCL na genetske podtipove GCB i ABC korelira sa preživljavanjem nezavisno od kliničkih faktora posmatranih u IPI score-u i drugih poznatih faktora rizika (159). U nekim studijama BCL6 translokacija je bila povezana sa boljom prognozom (43, 44, 160-165). Translokacija t(8;14)(q24;q32) koja je obično povezana sa Burkitt-ovim limfomom se takođe može povremeno videti u DLBCL i povezana je sa drugim genetskim abnormalnostima, uključujući t(14;18) i povezana je sa lošim opštim preživljavanjem (166). Visoko rizične genetske promene u DLBCL uključuju i kariotip, MYC translokaciju i TP53 deleciju ili p53 mutaciju.

U eri imuno-hemioterapije (rituximab plus CHOP) prognostičke prednosti ili nedostaci pojedinih molekularnih markera su minimizirani. Negativni uticaj rearanžiranja BCL2 je značajno ublažen, kao i nepovoljan ishod u ABC podtipu DLBCL (154).

*Tabela 6. Odabrani proteinski / molekularni markeri sa kliničkim prognostičkim značajem za difuzni krupnoćelijski B limfom (144, 154, 167)*

| marker       | <b><u>prognostički značaj</u></b> |                                   |
|--------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
|              | <b>terapijski protokol CHOP</b>   | <b>terapijski protokol R-CHOP</b> |
| BCL2         | nepovoljan                        | unapređeno, kao BCL2 negativno    |
| BCL6         | povoljan                          | BCL6 negativni su unapređeni      |
| ABC podtip   | nepovoljan                        | unapređeno, slično GCB podtipu    |
| MUM1         | nepovoljan                        | nepoznato                         |
| p53 mutacija | nepovoljan                        | nepovoljan                        |

## **1.23            NAJČEŠĆE KORIŠĆENI IMUNOHISTOHEMIJSKI MARKERI U DIJAGNOSTICI DLBCL**

Najčešće korišćeni imunohistohemijski markeri u dijagnostici DLBCL su: CD20, CD10, BCL6, MUM1, CD5, BCL2, CD30, Ki-67 i EBV LMP (ako ustanova ne poseduje EBER - Epstein-Barr in situ hibridizaciju). Koristi se ponekada i CD43.

### **1.23.1            CD20**

CD20 je transmembranski neglikozilisani fosfoprotein enkodiran sa MS4A1 na hromozomu 11q12. CD20 ima direktnu ulogu u transmembranskom transportu kalcijumovih jona kod B ćelija, što indikuje moguću funkciju u regulisanju proliferacije i diferencijacije (168). CD20 ima ekspresiju delom na prekursorim B ćelijama i punu ekspresiju na zrelim B ćelijama, ali se gubi tokom diferencijacije ka plazma ćelijama i analogno na limfocitima tog porekla (168, 169). Markira ćelijsku membranu. Pošto je površinski membranski antigen CD20 se češće snažnije boji u biopsijama koje u izvesnoj meri imaju artefakt sakupljanja, a može se slabije obojiti u dobro fiksiranim tkivima. Vrlo je značajan za terapiju jer predstavlja cilj delovanja monoklalnog anti CD20 antitela Rituximab.

### **1.23.2            CD10**

CD10 poznat i kao common acute lymphoblastic leukemia antigen (CALLA) je neutralna endopeptidaza (cink zavisna metaloproteinaza) enkodirana sa MME na hromozomu 3q25. Aktivacija CD10 zavisi od vezivanja cinka i reguliše B ćelijsku proliferaciju i diferencijaciju, redukuje inflamatorni odgovor i enkefalinom izazvanu analgeziju. CD10 je antigen 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. Ekspresija je na ćelijskoj membrani. Ekspresija CD10 ima prognostički značaj u DLBCL i pozitivno korelira sa boljom prognozom (158, 170). CD10 je eksprimiran u 25% do 50% slučajeva DLBCL i može se videti u de novo slučajevima i u slučajevima transformacije iz folikularnog limfoma (10, 46, 138, 171-178).

### **1.23.3            BCL6**

BCL6 gen na hromozomu 3q27 enkodira BCL6 protein koji pripada familiji „cink finger“ proteina, inhibitora transkripcije. Biološke efekte ostvaruje preko modifikacije ekspresije više od 500 gena uključenih u kontrolu ćelijskog ciklusa, diferencijaciju i gensku nestabilnost u DLBCL. Visoko je eksprimiran u jedrima B limfocita germinalnog centra a detektuje se i u folikularnim helper T ćelijama. Ima pozitivnu korelaciju sa dobrom prognozom (158, 170). Prekomerna ekspresija u DLBCL se može javiti zbog translokacije koja uključuje 3q27 ili mutacijom ovog gena. Ekspresija BCL6 proteina je visoko varijabilna jer kriterijumi za pozitivnost variraju od studije do studije (171, 173, 178-182).

#### **1.23.4 MUM1**

MUM1 odnosno IRF4, odnosno interferon regulatorni faktor 4, je transkripcioni regulatorni protein enkodiran sa IRF na hromozomu 6p25. MUM1 je eksprimiran u plazma ćelijama, B imunoblastima, vrlo retkim ćelijama germinativnog centra, ponekim aktiviranim T ćelijama, kao i u limfomima porekla ovih ćelija (183-186). Prisutna je pozitivna korelacija sa lošijom prognozom. Za razliku od normalnih B ćelija folikularnog centra gde je ekspresija IRF4/MUM1 i BCL6 međusobno isključiva, u difuznim krupnoćelijskim B limfomima je koekspresija nađena u oko 50% slučajeva (183).

Prijavljena incidenca ekspresije CD10, BCL6 i IRF4/MUM1 varira. Ekspresija CD10 je nađena u 30-60%, BCL6 u 60-90% i IRF4/MUM1 u 35-65% slučajeva (47, 77, 146, 187-189).

#### **1.23.5 CD5**

CD5 molekul je transmembranski glikoprotein uključen u prenos signala. Enkodiran je na hromozomu 11q13. CD5 antigen je eksprimiran na T limfocitima, NK ćelijama (natural killer cells) i nekim subpopulacijama B limfocita. CD5 može biti eksprimiran u slučajevima DLBCL koji predstavljaju Richter transformaciju iz low grade B ćelijskog limfoma (125), ali oko 10% DLBCL je CD5 pozitivno bez povezanosti sa mantle ćelijskim limfomom ili hroničnom limfocitnom leukemijom. Prisutna je pozitivna korelacija ekspresije CD5 i lošije prognoze.

#### **1.23.6 BCL2**

BCL2 gen se nalazi na hromozomu 18q21. BCL2 geni sadrže regije koje imaju proapoptotsku i regije koje imaju antiapoptotsku aktivnost. Članovi porodice BCL2 gena su bid, bad, bax i BCL2. Prva tri gena su proapoptotički a BCL2 je antiapoptotički gen. BCL2 ekspresija je prisutna u 30-50% slučajeva. Ima pozitivnu korelaciju sa lošijom prognozom (190).

#### **1.23.7 CD30**

CD30 je membranski glikoprotein enkodiran sa TNFRSF8 na hromozomu 1p36. Član je superfamilije receptora faktora tumorske nekroze. Ima ulogu u regulisanju funkcije, diferencijacije i proliferacije normalnih limfoidnih ćelija (191). Snažna pozitivnost CD30 je karakteristika DLBCL sa sinusoidalnom distribucijom, DLBCL asociраних sa EBV i slučajeva sa anaplastičnom morfologijom. Ekspresija CD30 je prisutna na aktivisanim T i B limfocitima i limfomima tog porekla, na ćelijama anaplastičnog krupnoćelijskog limfoma, na Hodgkin i Reed Sternberg ćelijama, ali se može eksprimirati i u nelimfoidnim neoplazmama (191-193). Bojenje je membransko, sa ili bez paranuklearne Golgi zone.

### **1.23.8 Ki-67**

Ki-67 je nuklearni protein enkodiran sa MKI67 na hromozomu 10q25q i blisko je povezan sa ćelijskom proliferacijom. Prisutan je u svim fazama ćelijskog ciklusa osim G0. Procenat neoplastičnih ćelija pozitivnih na Ki-67 (proliferativni indeks) može imati prognostički značaj. Proliferativna frakcija detektovana markerom Ki-67 je visoka (uglavnom dosta više od 40%) i može biti veća od 90% u nekim slučajevima (142). Preovladava mišljenje da ima pozitivnu korelaciju sa lošom prognozom.

### **1.23.9 EBV LMP**

EBV pripada familiji herpes virusa i inficira B limfocite i epitelne ćelije čoveka. Njegovo prisustvo je najčešće kod bolesnika sa limfomom koji su HIV+ i kod starijih bolesnika zbog slabljenja imunološkog sistema. EBV LMP je membranski protein eksprimiran od strane Epstein-Barr virusa (EBV) u latentnoj infekciji. Imunohistohemijska detekcija EBV LMP korelira sa rezultatima EBV enkodirane RNA in situ hibridizacije (EBER). EBV LMP je uglavnom citoplazmatsko bojenje sa paranuklearnim Golgi prisustvom, ali je moguće i prisustvo na membrani.

### **1.23.10 CD43**

CD43 je membranski protein, mucin sialophorin, čija je fiziološka funkcija nedovoljno razjašnjena i izgleda da ima ulogu u anti-adheziji ili adheziji, prenošenju signala i citoskeletalnoj interakciji (194). Prema Mitroviću i saradnicima CD43 je nezavisan loš prognostički faktor kod obolelih od DLBCL lečenih po protokolu CHOP ili R-CHOP (195).

## **1.24 RETKO KORIŠĆENI IMUNOHISTOHEMIJSKI MARKERI U DIJAGNOSTICI DLBCL**

### **1.24.1 Ciklooksigenaza 2 (COX2)**

Ciklooksigenaza (COX) je enzim ključan za konverziju arahidonske kiseline u prostaglandine. Prostaglandini su metabolički aktivni lipidi uključeni u različite patološke procese kao što su inflamacija i karcinogeneza. Osim ovoga prostaglandini su najvažniji imunomodulatori i procesu hronične inflamacije koja je jedan od najznačajnijih faktora nastanka kako hematoloških malignih bolesti, tako i različitih solidnih tumora. Postoje dve forme enzima ciklooksigenaza, ciklooksigenaza 1 i ciklooksigenaza 2 (COX1 i COX2). COX2 obično nije eksprimirana u ćelijama koje nisu aktivirane. Ona je indukovana različitim stimulusima i medijator je povećane produkcije prostaglandina tokom inflamacije. Ciklooksigenaza igra značajnu ulogu u razvoju i progresiji kancera (196, 197). Prekomerna ekspresija COX2 redukuje apoptozu ćelija, pojačava angiogenezu i invazivnost malignih



ćelija. COX2 ima više prekanceroznih efekata uključujući stimulaciju angiogeneze promovisanjem prostaglandina E2 i tromboksana A2 i produkcije prostaglandina I2 povećavanjem ekspresije VEGF (198, 199). COX2 može doprineti stimulaciji metaloproteinaza, inhibiciji sinteze interleukina 12 i povećanju ekspresije BCL2 (200, 201). Ekspresija COX2 na non Hodgkin limfomima je ispitivana u relativno malom broju studija (202-204).

### **1.24.2 Vaskularni endotelni faktor rasta (VEGF)**

Vaskularni endotelni faktor rasta (VEGF) predstavlja grupu faktora rasta koja igra važnu ulogu u stvaranju novih krvnih i limfnih sudova u velikom broju maligniteta. Rast tumorskog tkiva preko 2-3mm zahteva i stvaranje novih krvnih sudova (205). Ovi krvni sudovi snabdevaju tumorsko tkivo hranljivim materijama i kiseonikom i podstiču metastaziranje (206). Neovaskularizacija igra važnu patogenetsku ulogu i kod limfoma. Stvaranje novih krvnih i limfnih sudova, bilo autokrinom stimulacijom bilo stimulacijom od strane ćelija tumorske strome, važan je korak u proliferaciji malignih limfoma (202, 207-209). Limfomske ćelije su često sposobne da proizvode VEGF (210, 211). Pretpostavlja se da ekspresija VEGF ima pozitivnu korelaciju sa negativnom prognozom.

### **1.24.3 "B lymphocyte stimulator" (BLyS)**

"B lymphocyte stimulator" odnosno BLyS je takođe poznat i kao „B-cell activating factor“ (BAFF), molekul od koga zavisi sazrevanje i preživljavanje B limfocita. Mapiran je na hromozomu 13q32-34. On je član "tumor necrosis factor" superfamilije citokina (212-214). Produkuju ga monociti, dendritične ćelije, makrofagi i neutrofilni granulociti (215, 216). BLyS se vezuje za tri receptora (slika 9):

- "B-cell activating factor receptor" (BAFFR), (217)
- „B-cell maturation antigen“ (BCMA) i
- „transmembrane activator and calcium modulator and cyclophilin ligand interactor“ (TACI) (218)

BAFFR i BCMA se nalaze na B limfocitima a TACI može i na aktivisanim T limfocitima. Vezivanje BLyS za ove receptore utiče na preživljavanje, proliferaciju i diferencijaciju limfocita. Može dovesti i do izbegavanja apoptoze (219). U literaturi je pokazano da je ekspresija BAFFR i TACI varijabilna kod DLBCL, dok ispitivanje ekspresije BCMA receptora kod DLBCL nismo pronašli u dosadašnjoj literaturi. Osim BAFF-a za BCMA i TACI se vezuje i ligand koji indukuje proliferaciju APRIL, koji je takođe član. Značaj ekspresije ovih receptora nije dovoljno ispitan (218, 220).

## **2. CILJEVI I HIPOTEZE**

Razlike u toku i ishodu bolesti kod obolelih od difuznog krupnoćelijskog B limfoma u istom stadijumu inicirale su traganje za novim i pouzdanijim prognostičkim parametrima, koji bi pored standardnih prognostičkih parametara bili značajni u identifikaciji bolesnika sa nepovoljnim tokom i ishodom bolesti. Opšte prihvaćen stav je da su razlike u toku i ishodu bolesti kod pacijenata istih histo-morfoloških karakteristika rezultat molekularnih razlika među tumorima. Detaljna molekularna analiza limfoma mogla bi zato dati precizniji uvid u prognozu bolesti.

### **2.1 CILJEVI ISTRAŽIVANJA**

- 1) Odrediti učestalost ekspresije markera aktivacije B limfocita kod difuznog krupnoćelijskog B limfoma.
- 2) Odrediti učestalost ekspresije markera apoptoze i ćelijskog ciklusa.
- 3) Odrediti učestalost ekspresije markera signalnih puteva angiogeneze i inflamacije.
- 4) Odrediti učestalost ekspresije markera diferencijacije limfocita.
- 5) Ispitati povezanost ekspresije navedenih markera međusobno i sa već poznatim markerima bolje i lošije prognoze.
- 6) Ispitati povezanost ekspresije navedenih markera sa nodalnim ili ektranodalnim poreklom limfoma, stadijumom bolesti, polom i životnim dobom.

### **2.2 HIPOTEZE**

- 1) Učestalost ekspresije markera aktivacije B limfocita imaće pozitivnu korelaciju sa boljom prognozom i već poznatim markerima bolje prognoze
- 2) Učestalost ekspresije markera apoptoze i ćelijskog ciklusa imaće pozitivnu korelaciju sa lošijom prognozom i već poznatim markerima lošije prognoze
- 3) Učestalost ekspresije markera signalnih puteva angiogeneze i inflamacije imaće pozitivnu korelaciju sa lošijom prognozom i već poznatim markerima lošije prognoze
- 4) Učestalost ekspresije markera diferencijacije limfocita imaće pozitivnu korelaciju sa boljom prognozom i već poznatim markerima bolje prognoze

### **3. MATERIJAL I METODE**

#### **3.1 PACIJENTI**

Istraživanje obuhvata novodijagnostikovane bolesnike obolele od difuznog krupnoćelijskog B limfoma, koji su dijagnostikovani i lečeni na Institutu za onkologiju Vojvodine u Sremskoj Kamenici od 2003. do 2011. godine. Klinički podaci i generalije su prikupljeni uvidom u medicinsku dokumentaciju Instituta za onkologiju Vojvodine (istorija bolesti, nalazi onkološke komisije, onkološki kartoni i bolnički informacioni sistem Birpis). Istraživanje je bilo retrospektivno i prospektivno. Iz istraživanja su isključeni pacijenti do čijih tumorskih uzoraka ukalupljenih u parafinu se nije moglo doći, osim ukoliko se iz ranije urađenih imunohistohemijskih analiza mogao odrediti imunohistohemijski podtip u skladu sa podelom WHO iz 2008. godine (2). Istraživanje je konačno sprovedeno na 92 bolesnika od kojih je 66 imalo kompletna imunohistohemijska ispitivanja. Slučajevi su međusobno upoređivani u odnosu na imunohistohemijske parametre, životno doba, pol, morfološki i imunohistohemijski podtip, nodalno ili ektranodalno ishodište, stadijum i preživljavanje. Stadijum bolesti je određen prema Ann-Arbor klasifikaciji. Cenzorisani status bolesnika je određen datumom zaključenja studije (januar 2013. godine).

#### **3.2 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 sečeni na rezove debljine 4-5 $\mu$ m. Deparafinisani histološki rezovi su bojeni standardnom metodom hematoksilin eozin (HE).

Bioptati koštane srži su dostavljeni na patologiju u 10% puferisanom formalinu. Fiksirani su 18-24 sata. Zatim su dekalcinisani u mravljoj kiselini 1 dan, a u slučaju većeg uzorka 2 dana. Zatim su uzorci potopljeni u 96% alkoholu tokom 3-4 sata. Nakon toga su uzorci potopljeni u apsolutni alkohol 2x90 minuta. Zatim su potopljeni u ksilol 2x60 minuta. Usledilo je kalupljenje u parafinu, te sečenje na rezove debljine 5 $\mu$ 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 (2).

### **3.3 IMUNOHISTOHEMIJSKE METODE (IHH)**

#### **3.3.1 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

**BAFFR**, 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

#### **3.3.2 Imunohistohemijski metod za antitela BAFFR, EBV, COX2, Ki-67 i CD43**

Nakon sečenja i sušenja raden 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. Endogena peroksidaza je blokirana 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, inkubacija antitelom 30 min, kit za

vizualizaciju: Thermo Scientific, UltraVision LP Detection System (TL-125-HL). Hromogen DAB, kontrastno bojenje hematoksilinom, dehidracija i montiranje kanada balzomom.

### **3.3.3 Imunohistohemijski metod za antitela TACI, BCMA, CD20 i BCL2**

Nakon sečenja i sušenja 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. Endogena peroksidaza je blokirana 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, inkubacija antitelom 30 min, kit za vizualizaciju: Leica Novolink Polymer Detection System (RE7150-K). Hromogen DAB, kontrastno bojenje hematoksilinom, dehidracija i montiranje kanada balzomom.

### **3.3.4 Imunohistohemijski metod za antitela CD30, CD5, MUM1**

Nakon sečenja i sušenja rađen je toplotni pretretman u PT Link-u, pufer EnVision FLEX Target Retrieval Solution, High pH, 50X (DM828); 20 minuta na 98°C. Endogena peroksidaza je blokirana 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, inkubacija antitelom 30 min, kit za vizualizaciju: DAKO EnVision FLEX/HRP (SM802). Hromogen DAB, kontrastno bojenje hematoksilinom, dehidracija i montiranje kanada balzomom.

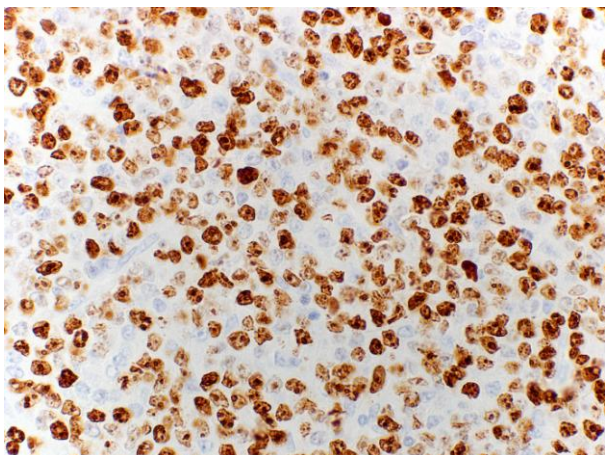
### **3.3.5 Imunohistohemijski metod za antitela VEGF, BCL6 i CD10**

Nakon sečenja i sušenja pločica, rađen je toplotni pretretman u PT Linku, pufer EnVision FLEX Target Retrieval Solution, High pH, 50X (DM828); 20 minuta na 98°C. Endogena peroksidaza je blokirana 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, inkubacija antitelom 30 min, kit za vizualizaciju: Thermo Scientific, UltraVision LP Detection System (TL-125-HL). Hromogen je DAB, kontrastno bojenje hematoksilinom, dehidracija i montiranje kanada balzomom.

## **3.4 IMUNOHISTOHEMIJSKA ANALIZA EKSPRESIJE ANTITELA**

### **3.4.1 Analiza ekspresije Ki-67**

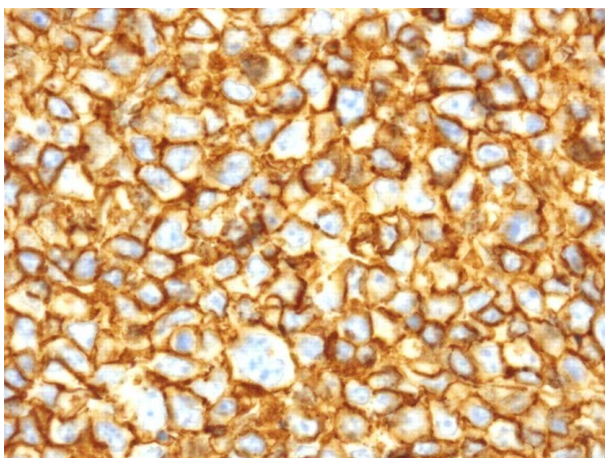
Ekspresija Ki-67 semikvantitativno je procenjena na osnovu udela pozitivnih tumorskih ćelija (obojeno jedro) u odnosu na ukupan broj tumorskih ćelija, nezavisno od intenziteta bojenja (slika 9). Na 10 vidnih polja velikog uveličanja je procenjen prosečan broj pozitivnih tumorskih ćelija i izražen u procentima (221). Pozitivna kontrola su ćelije na dnu kriпти tankog i debelog creva.



*Slika 9. Oko 70% pozitivnih tumorskih ćelija. Ki-67, 400x*

### **3.4.2 Analiza ekspresije CD20**

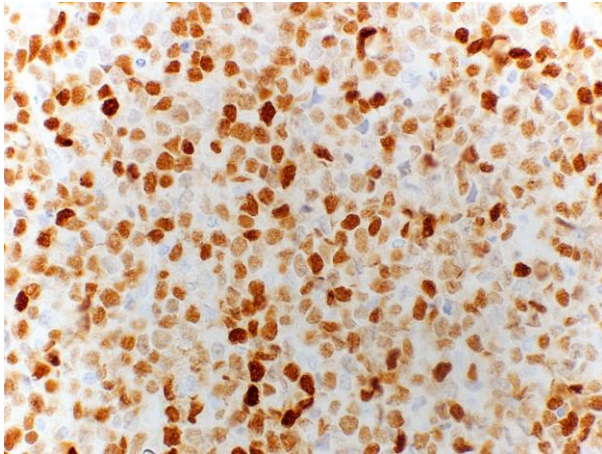
U proceni ekspresije CD20 semikvantitativno je procenjen udeo tumorskih ćelija sa obojenom ćelijskom membranom, nezavisno od intenziteta bojenja. Na 10 vidnih polja je procenjen prosečan broj pozitivnih tumorskih ćelija (slika 10). Nalaz više od 30% pozitivnih tumorskih ćelija je računat kao pozitivan (53). Pozitivna kontrola su B limfociti tonzile.



*Slika 10. Oko 95-100% pozitivnih tumorskih ćelija. CD20, 600x*

### **3.4.3 Analiza ekspresije MUM1**

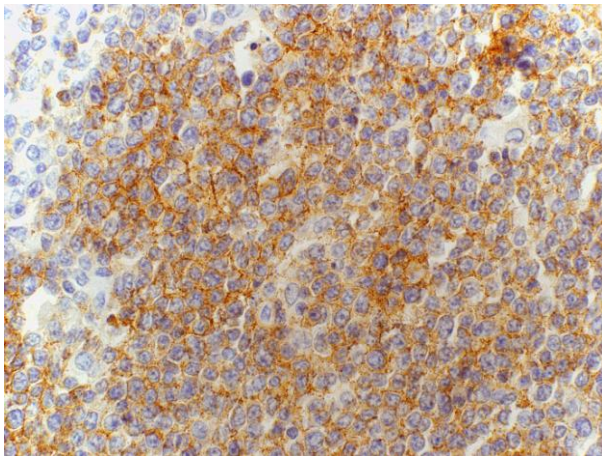
U proceni ekspresije MUM1 semikvantitativno je procenjen udeo tumorskih ćelija sa obojenim jedrima, nezavisno od intenziteta bojenja. Na 10 vidnih polja je procenjen prosečan broj pozitivnih tumorskih ćelija (slika 11). Nalaz više od 30% pozitivnih tumorskih ćelija je računat kao pozitivan (53). Pozitivna kontrola su plazma ćelije u tonzili.



*Slika 11. Oko 80% pozitivnih tumorskih ćelija. MUM1, 400x*

#### **3.4.4 Analiza ekspresije CD10**

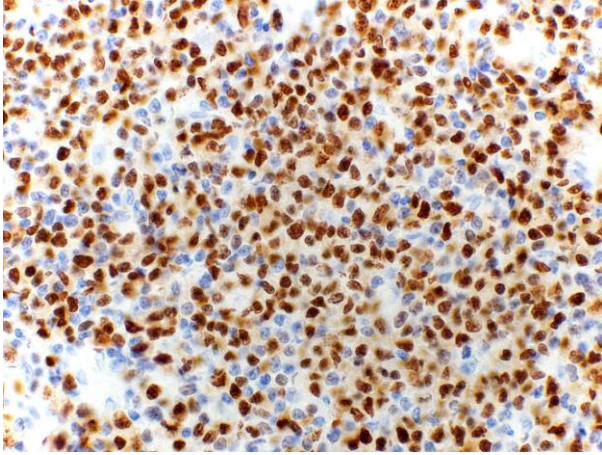
Ekspresija CD10 semikvantitativno je procenjena na osnovu udela pozitivnih tumorskih ćelija u odnosu na ukupan broj tumorskih ćelija, nezavisno od intenziteta bojenja. Bojenje je membransko. Procena je izvršena na 10 vidnih polja velikog uveličanja (slika 12). Nalaz više od 30% tumorskih ćelija sa obojenom membranom je računat kao pozitivan (53). Pozitivna kontrola je tanko crevo.



*Slika 12. Više od 30% pozitivnih tumorskih ćelija. CD10, 400x*

#### **3.4.5 Analiza ekspresije BCL6**

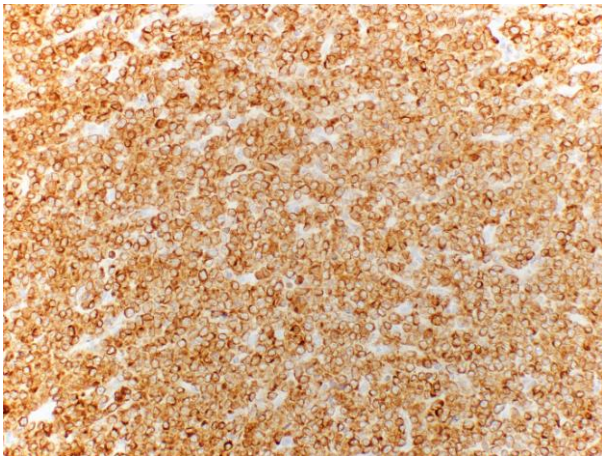
U proceni ekspresije BCL6 semikvantitativno je procenjen udeo tumorskih ćelija sa obojenim jedrima, nezavisno od intenziteta bojenja. Na 10 vidnih polja je procenjen prosečan broj pozitivnih tumorskih ćelija (slika 13). Nalaz više od 30% pozitivnih tumorskih ćelija je računat kao pozitivan (53). Kao pozitivna kontrola poslužili su centroblasti u tonzili.



*Slika 13. Oko 60% pozitivnih tumorskih ćelija. BCL6, 400x*

#### **3.4.6 Analiza ekspresije BCL2**

Ekspresija BCL2 semikvantitativno je procenjena na 10 vidnih polja velikog uveličanja. Procenjen je udeo tumorskih ćelija sa citoplazmatskim perinuklearnim bojenjem, nezavisno od intenziteta bojenja (slika 14). Nalaz više od 30% pozitivnih tumorskih ćelija je računat kao pozitivan (53). Pozitivna kontrola su bili limfociti mantle zone u limfnom čvoru.

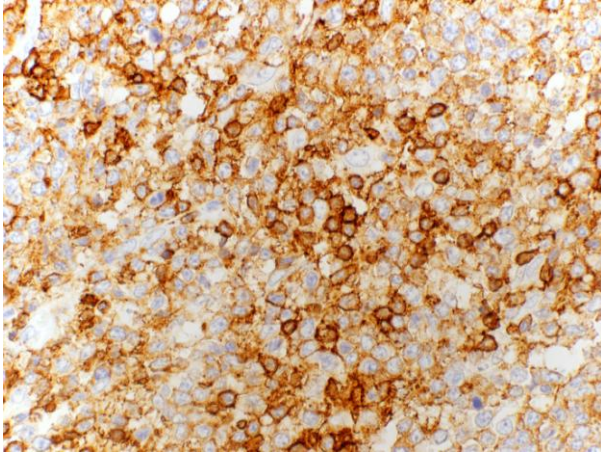


*Slika 14. Više od 95% pozitivnih tumorskih ćelija. BCL2, 200x*

#### **3.4.7 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 prosečan broj pozitivnih tumorskih ćelija (slika 15). Nalaz više od 30% pozitivnih tumorskih ćelija je računat kao pozitivan (53). Pozitivna kontrola su bili T limfociti u tonzili.

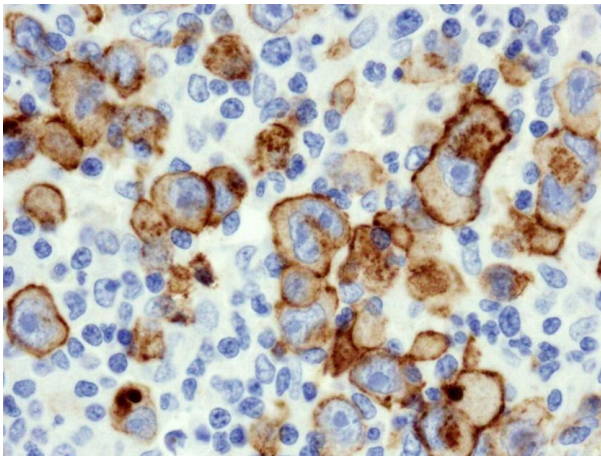




*Slika 15. Više od 30% pozitivnih tumorskih ćelija. CD5, 400x*

### **3.4.8 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 prosečan broj pozitivnih tumorskih ćelija. Nalaz više od 10% pozitivnih tumorskih ćelija je računat kao pozitivan (slika 16). Pozitivna kontrola su Reed Sternberg ćelije i Hodgkin ćelije u Hodgkin limfomu.



*Slika 16. Pozitivan nalaz CD30 u anaplastičnom difuznom krupnoćelijskom B limfomu. Više od 10% pozitivnih tumorskih ćelija. CD30, 600x*

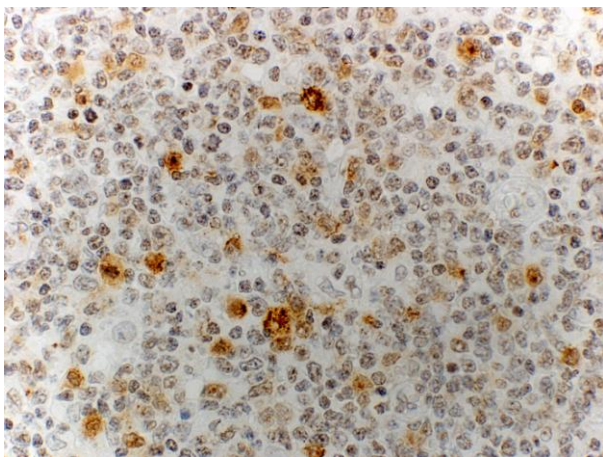
### **3.4.9 Analiza ekspresije CD43**

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 (195). Pozitivna kontrola su bili interfolikularni T limfociti u tonzili.

#### **3.4.10 Analiza ekspresije EBV LMP**

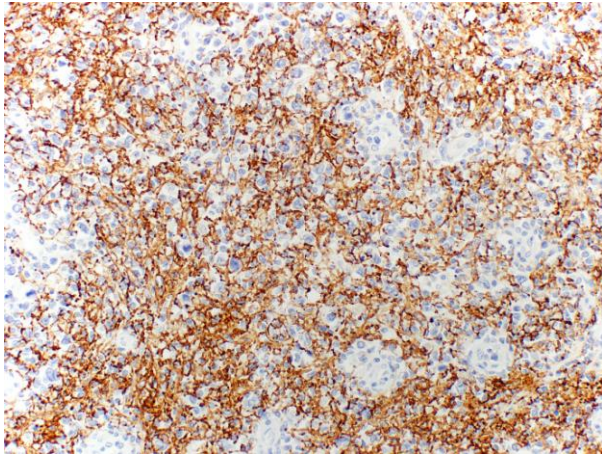
U proceni ekspresije EBV LMP semikvantitativno je procenjen udeo tumorskih ćelija sa obojenom citoplazmom i ili membranom, nezavisno od intenziteta bojenja. Na 10 vidnih polja je procenjen prosečan broj pozitivnih tumorskih ćelija. Nalaz više od 10% pozitivnih tumorskih ćelija je računat kao pozitivan (slika 17). Pozitivna kontrola su Reed Sternberg ćelije i Hodgkin ćelije iz dobro poznatog slučaja Hodgkin limfoma mešovite celularnosti.



*Slika 17. Više od 10% pozitivnih tumorskih ćelija. EBV LMP, 400x*

#### **3.4.11 Analiza ekspresije VEGF**

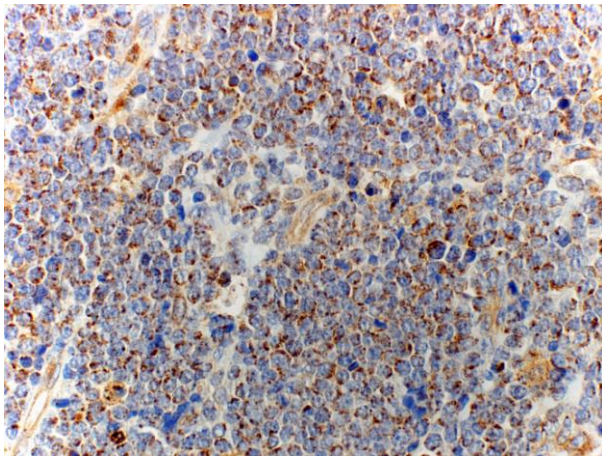
U proceni ekspresije VEGF semikvantitativno je procenjen udeo tumorskih ćelija sa obojenom citoplazmom i ili membranom, nezavisno od intenziteta bojenja. Na 10 vidnih polja je procenjen prosečan broj pozitivnih tumorskih ćelija. Nalaz više od 10% pozitivnih tumorskih ćelija je računat kao pozitivan (slika 18). Endometrijum je poslužio kao pozitivna kontrola.



*Slika 18. Više od 30% pozitivnih tumorskih ćelija. VEGF, 200x*

### **3.4.12 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 prosečan broj pozitivnih tumorskih ćelija (slika 19). Nalaz više od 10% pozitivnih tumorskih ćelija je računat kao pozitivan (222). Pozitivna kontrola je adenokarcinom debelog creva.

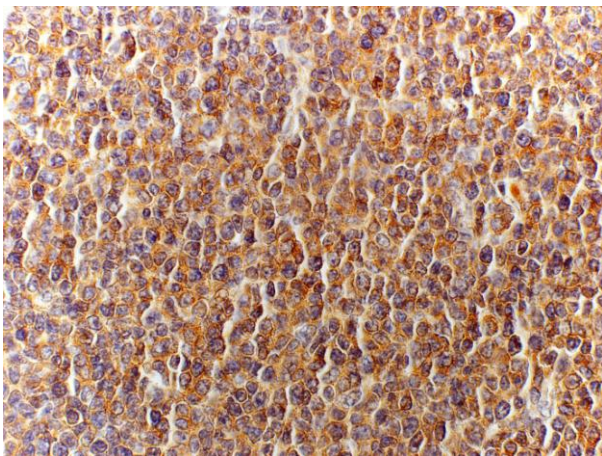


*Slika 19. Više od 30% pozitivnih tumorskih ćelija. COX2, 400x*

### **3.4.13 Analiza ekspresije BAFFR**

U proceni ekspresije BAFFR semikvantitativno je procenjen udeo tumorskih ćelija sa obojenom membranom i ili citoplazmom, nezavisno od intenziteta bojenja. Na 10 vidnih polja je procenjen prosečan broj pozitivnih tumorskih ćelija (slika 20). Nalaz više od 30%

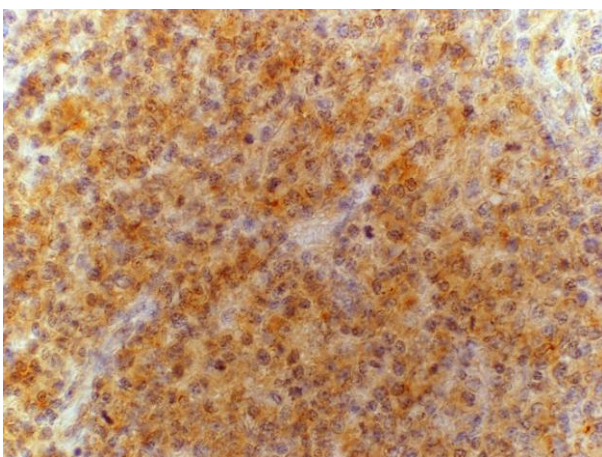
pozitivnih tumorskih ćelija je računat kao pozitivan (218). Pozitivna kontrola su limfociti slezine.



*Slika 20. Oko 80% pozitivnih tumorskih ćelija. BAFFR, 400x*

#### **3.4.14 Analiza ekspresije TACI**

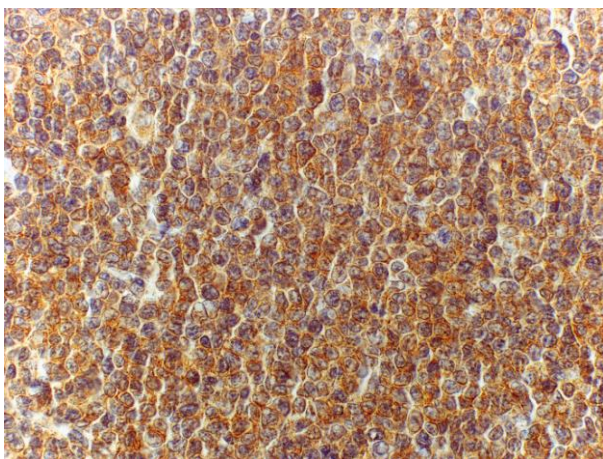
U proceni ekspresije TACI semikvantitativno je procenjen udeo tumorskih ćelija sa obojenom ćelijskom membranom (dozvoljava se i obojenost citoplazme i jedra), nezavisno od intenziteta bojenja. Na 10 vidnih polja je procenjen prosečan broj pozitivnih tumorskih ćelija (slika 21). Nalaz više od 30% pozitivnih tumorskih ćelija je računat kao pozitivan (218). Pozitivna kontrola su B i T limfociti slezine.



*Slika 21. Više od 30% pozitivnih tumorskih ćelija. TACI, 400x*

### 3.4.15 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 prosečan broj pozitivnih tumorskih ćelija (slika 22). Nalaz više od 30% pozitivnih tumorskih ćelija je računat kao pozitivan (218). Pozitivna kontrola je parenhim slezine, B limfociti.



Slika 22. Više od 30% pozitivnih tumorskih ćelija. BCMA, 400x

## 3.5 STATISTIČKA ANALIZA

U statističkoj obradi rezultata su korišćeni kompjuterski programi Microsoft Excel i IBM SPSS Statistics 20 for Windows. Podaci su prikazani tabelarno i grafički. Ispitivana obeležja analizirana su primenom parametrijskih i neparametrijskih postupaka.

Statistička obrada dobijenih rezultata izvršena je osnovnim statističkim metodama: srednja vrednost, standardna devijacija, standardna greška, medijana, minimum, maksimum, varijansa, skjunis i kurtozis.

Normalnost raspodele mernih varijabli ispitivana je Kolmogorov-Smirnov i Shapiro-Wilk testovima.

Ocena postojanja i nivoa statističkog značaja razlike neparametrijskih kategorijalnih podataka testirana je primenom Pearsonovog hi-kvadrat testa za nezavisne uzorke.

Procena međusobne zavisnosti neparametrijskih obeležja je procenjivana primenom tablica kontingencije pri čemu su korišćeni sledeći koeficijenti korelacije:  $F_i$ , Kramerovo  $V$  i koeficijent kontingencije  $C$ .

Ispitivanje postojanja međusobne korelacije parametrijskih podataka izvršeno je primenom Pearson-ovog testa koeficijenta korelacije, a za neparametrijska obeležja je korišćeni su Spearman-ov test korelacije ranga i Kendalov Tau B koeficijent rang korelacije.

Razlike u ispoljavanju kontinuirane varijable (Ki-67) sa raspodelom koja odstupa od normalne, u odnosu na rezultate na neparametrijskim kategorijalnim varijablama (imunohistohemijski markeri, pol) ispitivano je Mann-Whitney testom (neparametrijska zamena za Studentov t test) .

Postupcima koji dokazuju postojanje sličnosti ili razlika između subuzoraka potvrđivana je hipoteza o sličnosti ili je odbacivana (potvrđivana je alternativna hipoteza), odnosno ukazano je na postojanje razlika. Pri testiranju hipoteza korišćena je kritična vrednost p koja predstavlja rizik zaključivanja. U slučaju kada je verovatnoća da je nulta hipoteza tačna bila jednaka ili manja od 5% ( $p \leq 0,05$ ), razlika je prihvaćena kao statistički značajna, a kada je bila jednaka ili manja od 1% ( $p \leq 0,01$ ) smatrana je visoko statistički značajnom.

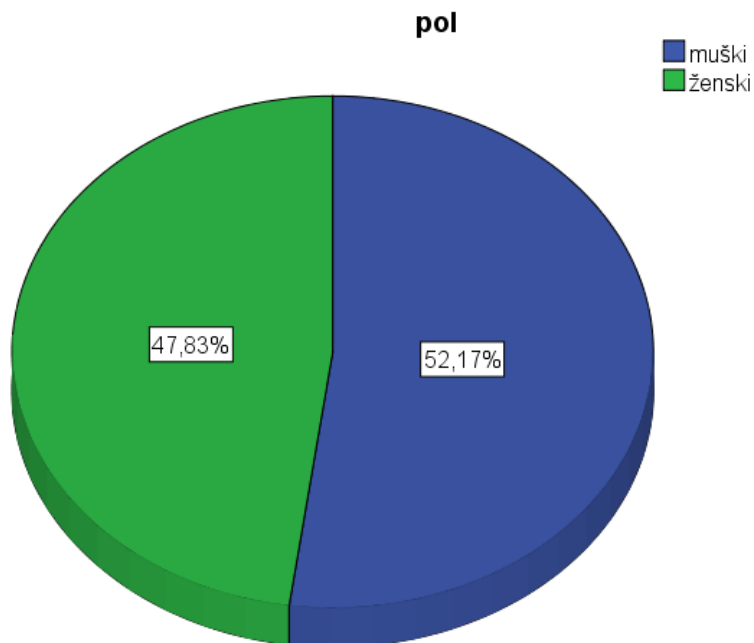
Ispitivanje verovatnoće preživljavanja i uticaja pojedinih varijabli na preživljavanje bolesnika je izračunato prema Kaplan-Meier-ovom algoritmu.

## 4. REZULTATI

### 4.1 DEMOGRAFSKE KARAKTERISTIKE ISPITIVANE GRUPE BOLESNIKA

Ispitivanje je obuhvatilo 92 bolesnika, obolelih muškaraca je bilo 48 a obolelih žena 44.

*Grafikon 1. Polna struktura bolesnika*



Bolesnici su bili starosti od 23 do 84 godine prilikom postavljanja dijagnoze. Prosečna starost je bila 56,68 godina, standardna greška 1,54, medijana 58 godina, standardna devijacija 14,773. Distribucija je u pravcu starijih osoba, na šta ukazuje negativno asimetrična zakrivljenost i spljoštenost krive.

Tabela 7. Deskriptivna statistika starosnih osobina svih bolesnika

|                    |                           |                | statistik | st. greška |
|--------------------|---------------------------|----------------|-----------|------------|
| starost u godinama | AS                        |                | 56,68     | 1,540      |
|                    | 95% interval poverenja AS | donja granica  | 53,63     |            |
|                    |                           | gornja granica | 59,74     |            |
|                    | korigovana AS (5%)        |                | 57,08     |            |
|                    | medijana                  |                | 58,00     |            |
|                    | varijansa                 |                | 218,240   |            |
|                    | SD                        |                | 14,773    |            |
|                    | minimum                   |                | 23        |            |
|                    | maksimum                  |                | 84        |            |
|                    | opseg                     |                | 61        |            |
|                    | interkvartilni opseg      |                | 21        |            |
|                    | zakrivljenost (Skewness)  |                | -,532     | ,251       |
|                    | spljoštenost (Kurtosis)   |                | -,521     | ,498       |

Muški pacijenti su bili starosti od 23 do 84 godine prilikom postavljanja dijagnoze. Prosečna starost obolelih muškaraca je bila 58,46 godina, standardna greška 2,015, medijana 59 godina, standardna devijacija 13,963. Ženski pacijenti su bili starosti od 24 do 79 godina prilikom postavljanja dijagnoze. Prosečna starost obolelih žena bila je 54,75 godina, standardna greška 2,342, medijana 56,5 godina, standardna devijacija 15,537. Prosečna starost obolelih muškaraca je nešto veća nego kod žena. Varijabilitet je nešto veći kod obolelih žena. Distribucija bolesnika prema starosti je u pravcu starijih kod oba pola, na šta ukazuje negativno asimetrična zakrivljenost i spljoštenost krive.



Tabela 8. Deskriptivna statistika starosnih osobina obolelih muškaraca i žena

|                    | pol                      |                           | statistik                                   | st. greška |
|--------------------|--------------------------|---------------------------|---|------------|
| starost u godinama |                          | AS                        | 58,46                                       | 2,015      |
|                    |                          | 95% interval poverenja AS | donja granica 54,40<br>gornja granica 62,51 |            |
|                    |                          | korigovana AS (5%)        | 58,80                                       |            |
|                    |                          | medijana                  | 59,00                                       |            |
|                    |                          | varijansa                 | 194,977                                     |            |
|                    |                          | muški SD                  | 13,963                                      |            |
|                    |                          | minimum                   | 23  |            |
|                    |                          | maksimum                  | 84  |            |
|                    |                          | opseg                     | 61  |            |
|                    |                          | interkvartilni opseg      | 19  |            |
|                    |                          | zakrivljenost (Skewness)  | -,556                                       | ,343       |
|                    |                          | spljoštenost (Kurtosis)   | -,087                                       | ,674       |
|                    |                          | AS                        | 54,75                                       | 2,342      |
|                    |                          | 95% interval poverenja AS | donja granica 50,03<br>gornja granica 59,47 |            |
|                    |                          | korigovana AS (5%)        | 55,21                                       |            |
|                    |                          | medijana                  | 56,50                                       |            |
|                    |                          | varijansa                 | 241,401                                     |            |
|                    |                          | ženski SD                 | 15,537                                      |            |
|                    |                          | minimum                   | 24  |            |
|                    |                          | maksimum                  | 79  |            |
|                    | opseg                    | 55                        |   |            |
|                    | interkvartilni opseg     | 23                        |   |            |
|                    | zakrivljenost (Skewness) | -,474                     | ,357  |            |
|                    | spljoštenost (Kurtosis)  | -,887                     | ,702  |            |

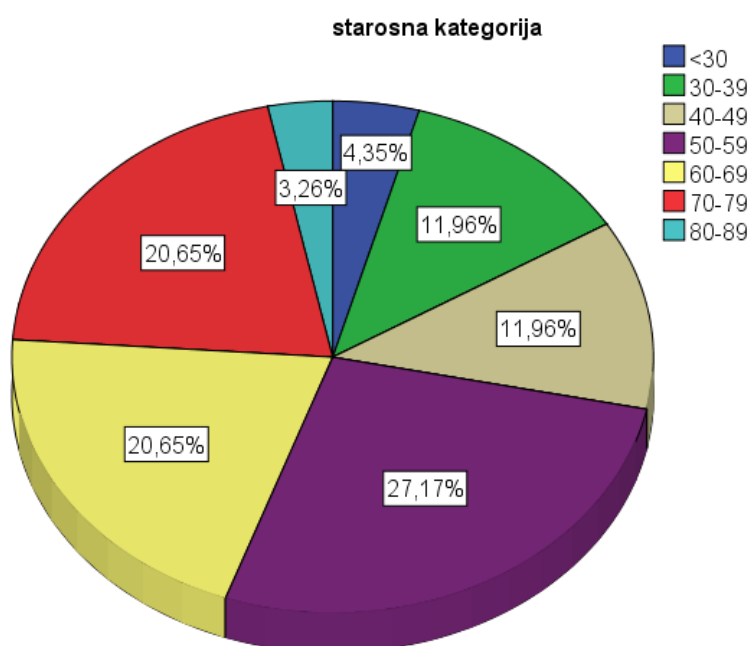
Prilikom postavljanja dijagnoze među obolelim muškarcima najviše je bilo pacijenata starosti 50-59 godina (29,2%) a zatim 60-69 godina (22,9%). Među obolelim ženama je prilikom postavljanja dijagnoze najviše obolelih bilo u starosnom opsegu 50-59 godina (25%), a nešto manje u starosnom opsegu 70-79 godina (22,7%).

Tabela 9. Starosna struktura obolelih muškaraca i žena po dekadama

|        |        | starosna kategorija |       |       |       |       |       |       | ukupno |
|--------|--------|---------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|--------|
|        |        | <30                 | 30-39 | 40-49 | 50-59 | 60-69 | 70-79 | 80-89 |        |
| pol    | muški  | N 1                 | 5     | 5     | 14    | 11    | 9     | 3     | 48     |
|        |        | % 2,1%              | 10,4% | 10,4% | 29,2% | 22,9% | 18,8% | 6,2%  | 100,0% |
|        | ženski | N 3                 | 6     | 6     | 11    | 8     | 10    | 0     | 44     |
|        |        | % 6,8%              | 13,6% | 13,6% | 25,0% | 18,2% | 22,7% | 0,0%  | 100,0% |
| ukupno |        | N 4                 | 11    | 11    | 25    | 19    | 19    | 3     | 92     |
|        |        | % 4,3%              | 12,0% | 12,0% | 27,2% | 20,7% | 20,7% | 3,3%  | 100,0% |

Nije uočena statistička značajnost u starosnoj strukturi obolelih muškaraca i žena te se prihvata nulta hipoteza:  $\chi^2(6, N=92)=4,90, p=0,56$ . S obzirom da nema statističke značajne razlike u starosnoj strukturi obolelih žena i muškaraca prikazan je grafikon starosne strukture svih bolesnika (bez obzira na pol) gde se konstatuje dominacija starijeg uzrasta. Najviše je bolesnika starosti 50 do 59 godina (27,17%), zatim starosti 60 do 69 godina i 70 do 79 godina ( po 20,65%), dakle stariji od 50 godina čine 68,47% bolesnika.

Grafikon 2. Starosna struktura svih bolesnika prema dekadama starosti



## 4.2 KLINIČKO-PATOLOŠKE KARAKTERISTIKE DLBCL U ISPITIVANOJ GRUPI

### 4.2.1 Distribucija morfoloških podtipova DLBCL u odnosu na pol

Distribucije morfološkog podtipa DLBCL u odnosu na pol je analizirana kod svih 92 bolesnika. Centroblastni podtip DLBCL imalo je 34 obolelih muškaraca i 30 obolelih žena. Imunoblastni podtip DLBCL imalo je 13 muškaraca i 14 žena, a anaplastični podtip 1 oboleli muškarac. U ispitivanom uzorku nije bilo slučajeva retkih morfoloških osobina.

*Tabela 10. Distribucija morfoloških podtipova DLBCL u odnosu na pol*

|        |        | morfološki podtip |              |              | ukupno |
|--------|--------|-------------------|--------------|--------------|--------|
|        |        | centroblastni     | imunoblastni | anaplastični |        |
| pol    | muški  | N 34              | 13           | 1            | 48     |
|        |        | % 70,8%           | 27,1%        | 2,1%         | 100,0% |
|        | ženski | N 30              | 14           | 0            | 44     |
|        |        | % 68,2%           | 31,8%        | 0,0%         | 100,0% |
| ukupno |        | N 64              | 27           | 1            | 92     |
|        |        | % 69,6%           | 29,3%        | 1,1%         | 100,0% |

Nema statistički značajne razlike u distribuciji morfološkog podtipa DLBCL između obolelih muškaraca i žena,  $\chi^2(2, N=92)=1,115$ ,  $p=0,573$ .

### 4.2.2 Distribucija imunohistohemijskih podtipova DLBCL u odnosu na pol

Distribucija imunohistohemijskih podtipova DLBCL u odnosu na pol je analizirana kod svih 92 bolesnika. Oboleli muškarci su u 17 slučajeva imali imunohistohemijski podtip GCB, u 30 slučajeva nonGCB i u 1 slučaju CD5+ podtip. Obolele žene su u 9 slučajeva imale imunohistohemijski podtip GCB, u 29 slučajeva nonGCB i u 7 slučajeva CD5+ imunohistohemijski podtip DLBCL.

Tabela 11. Distribucija imunohistohemijskih podtipova DLBCL u odnosu na pol

|        |        | imunohistohemijski podtip |        |       | ukupno |
|--------|--------|---------------------------|--------|-------|--------|
|        |        | GCB                       | nonGCB | CD5+  |        |
| pol    | muški  | N 17                      | 30     | 1     | 48     |
|        |        | % 35,4%                   | 62,5%  | 2,1%  | 100,0% |
|        | ženski | N 9                       | 29     | 6     | 44     |
|        |        | % 20,5%                   | 65,9%  | 13,6% | 100,0% |
| ukupno |        | N 26                      | 59     | 7     | 92     |
|        |        | % 28,3%                   | 64,1%  | 7,6%  | 100,0% |

Nema statistički značajne razlike u distribuciji imunohistohemijskog podtipa DLBCL između obolelih muškaraca i žena,  $\chi^2(2, N=92)=5,887, p=0,053$ .

#### 4.2.3 Distribucija nodalnog/ekstranodalnog ishodišta tumora u odnosu na pol

Distribucija nodalnog/ekstranodalnog ishodišta tumora u odnosu na pol je ispitana kod svih 92 bolesnika. Kod obolelih muškaraca je ishodište tumora bilo nodalno u 23 slučaja a ekstranodalno u 25 slučajeva. Kod obolelih žena je ishodište tumora bilo nodalno u 23 slučaja a ekstranodalno u 21 slučaju.

Tabela 12. Distribucija nodalnog/ekstranodalnog ishodišta tumora u odnosu na pol

|        |        | ishodište tumora |               | ukupno |
|--------|--------|------------------|---------------|--------|
|        |        | nodalno          | ekstranodalno |        |
| pol    | muški  | N 23             | 25            | 48     |
|        |        | % 47,9%          | 52,1%         | 100,0% |
|        | ženski | N 23             | 21            | 44     |
|        |        | % 52,3%          | 47,7%         | 100,0% |
| ukupno |        | N 46             | 46            | 92     |
|        |        | % 50,0%          | 50,0%         | 100,0% |

Nema statistički značajne razlike između distribucije nodalnog i ekstranodalnog ishodišta tumora između obolelih muškaraca i žena,  $\chi^2(1, N=92)=0,044, p=0,835$ .

#### 4.2.4 Distribucija kliničkih stadijuma u odnosu na pol

Distribucija kliničkih stadijuma u odnosu na pol je analizirana kod 89 bolesnika, za 3 ispitanika su nedostajali podaci o stadijumu. U prvom stadijumu je bilo po 8 obolelih muškaraca i žena, u drugom stadijumu je bilo 17 muškaraca i 15 žena, u trećem stadijumu je bilo 14 muškaraca i 12 žena i u četvrtom stadijumu je bilo 6 obolelih muškaraca i 9 obolelih žena.

Tabela 13. Distribucija kliničkih stadijuma u odnosu na pol

|        |        | klinički stadijum |       |       |       |        | ukupno |
|--------|--------|-------------------|-------|-------|-------|--------|--------|
|        |        | 1                 | 2     | 3     | 4     |        |        |
| pol    | muški  | N                 | 8     | 17    | 14    | 6      | 45     |
|        |        | %                 | 17,8% | 37,8% | 31,1% | 13,3%  | 100,0% |
|        | ženski | N                 | 8     | 15    | 12    | 9      | 44     |
|        |        | %                 | 18,2% | 34,1% | 27,3% | 20,5%  | 100,0% |
| ukupno | N      | 16                | 32    | 26    | 15    | 89     |        |
|        | %      | 18,0%             | 36,0% | 29,2% | 16,9% | 100,0% |        |

Oboleli muškarci i žene su bez statistički značajne razlike distribuirani po stadijumima oboljenja u trenutku postavljanja dijagnoze,  $\chi^2(3, N=89)=0,868$ ,  $p=0,833$ .

### 4.3 ANALIZA EKSPRESIJE IMUNOHISTOHEMIJSKIH MARKERA U ODNOSU NA POL

#### 4.3.1 Analiza ekspresije Ki-67 u odnosu na pol

Testiranje razlike u ekspresiji Ki-67 u zavisnosti od pola je rađeno Mann-Whitney testom. Testirano je 45 obolelih muškaraca i 41 obolela žena.

Tabela 14. Analiza ekspresije Ki-67 u odnosu na pol

|       |  | POL    | N  | prosečni rang | suma rangova |
|-------|--|--------|----|---------------|--------------|
| Ki-67 |  | muški  | 45 | 44,58         | 2006,00      |
|       |  | ženski | 41 | 42,32         | 1735,00      |
|       |  | ukupno | 86 |               |              |

Man-Whitney U nije značajan, što znači da se oboleli muškarci i žene ne razlikuju statistički značajno po vrednostima ekspresije Ki-67,  $p=0,673$

Tabela 15. Statistička značajnost razlike u ekspresiji Ki-67 u odnosu na pol

|                | Ki-67          |
|----------------|----------------|
| Mann-Whitney U | <b>874,000</b> |
| Wilcoxon W     | 1735,000       |
| Z              | -,422          |
| p              | <b>,673</b>    |

#### 4.3.2 Analiza ekspresije MUM1 u odnosu na pol

Analiza ekspresije MUM1 u odnosu na pol je urađena kod 87 pacijenata. Među obolelim muškarcima je bilo po 23 MUM1 pozitivnih i negativnih, a među obolelim ženama je bilo 10 MUM1- i 31 MUM1+.

Tabela 16. Analiza ekspresije MUM1 u odnosu na pol

|        |        | MUM1      |           | ukupno |
|--------|--------|-----------|-----------|--------|
|        |        | negativan | pozitivan |        |
| pol    | muški  | N 23      | 23        | 46     |
|        |        | % 50,0%   | 50,0%     | 100,0% |
|        | ženski | N 10      | 31        | 41     |
|        |        | % 24,4%   | 75,6%     | 100,0% |
| ukupno |        | N 33      | 54        | 87     |
|        |        | % 37,9%   | 62,1%     | 100,0% |

Konstatuje se statistički značajna razlika u ekspresiji MUM1 između obolelih muškaraca i žena,  $\chi^2(1, N=87)=5,000$ ,  $p=0,025$ . Među ženama je značajno veći procenat MUM1 pozitivnih bolesnika. Korelacija je statistički značajna i neznatna,  $p=0,014$ .

Tabela 17. Korelacija ekspresije MUM1 u odnosu na pol

|                             | vrednost    | aproks. p   |
|-----------------------------|-------------|-------------|
| Phi                         | ,263        | ,014        |
| Cramerovo V                 | <b>,263</b> | <b>,014</b> |
| koeficijent kontingencije C | ,255        | ,014        |
| N validnih slučajeva        | <b>87</b>   |             |

### 4.3.3 Analiza ekspresije CD10 u odnosu na pol

Analiza ekspresije CD10 u odnosu na pol je ispitana kod 89 ispitanika. Oboleli muškarci su bili CD10- u 40 slučajeva a CD10+ u 7 slučajeva. Obolele žene su bile CD10- u 31 slučaju a CD10+ u 11 slučajeva.

Tabela 18. Analiza ekspresije CD10 u odnosu na pol

|        |        | CD10      |           | ukupno |
|--------|--------|-----------|-----------|--------|
|        |        | negativan | pozitivan |        |
| pol    | muški  | N 40      | 7         | 47     |
|        |        | % 85,1%   | 14,9%     | 100,0% |
|        | ženski | N 31      | 11        | 42     |
|        |        | % 73,8%   | 26,2%     | 100,0% |
| ukupno |        | N 71      | 18        | 89     |
|        |        | % 79,8%   | 20,2%     | 100,0% |

Hi kvadrat test nije statistički značajan. Nema značajnih razlika u ekspresiji CD10 između obolelih muškaraca i žena,  $\chi^2(1, N=89)=1,124, p=0,289$ .

### 4.3.4 Analiza ekspresije BCL6 u odnosu na pol

Analiza ekspresije BCL6 u odnosu na pol je ispitana kod 87 bolesnika. Među obolelim muškarcima 21 je bio BCL6- a 23 BCL6+. Među obolelim ženama je bila 21 BCL6- i 22 BCL6+.

Tabela 19. Analiza ekspresije BCL6 u odnosu na pol

|        |        | BCL6      |           | ukupno |
|--------|--------|-----------|-----------|--------|
|        |        | negativan | pozitivan |        |
| pol    | muški  | N 21      | 23        | 44     |
|        |        | % 47,7%   | 52,3%     | 100,0% |
|        | ženski | N 21      | 22        | 43     |
|        |        | % 48,8%   | 51,2%     | 100,0% |
| ukupno |        | N 42      | 45        | 87     |
|        |        | % 48,3%   | 51,7%     | 100,0% |

Hi kvadrat test nije statistički značajan. Nema značajnih razlika u ekspresiji BCL6 između obolelih muškaraca i žena,  $\chi^2(1, N=87)=0,000, p=1,000$ .

#### 4.3.5 Analiza ekspresije BCL2 u odnosu na pol

Analiza ekspresije BCL2 u odnosu na pol je učinjena kod 89 bolesnika. Među obolelim muškarcima bilo je 29 BCL2- i 17 BCL2+, a među obolelim ženama bilo je 25 BCL2- i 18 BCL2+.

Tabela 20. Analiza ekspresije BCL2 u odnosu na pol

|        |        | BCL2      |           | ukupno |
|--------|--------|-----------|-----------|--------|
|        |        | negativan | pozitivan |        |
| pol    | muški  | N 29      | 17        | 46     |
|        |        | % 63,0%   | 37,0%     | 100,0% |
|        | ženski | N 25      | 18        | 43     |
|        |        | % 58,1%   | 41,9%     | 100,0% |
| ukupno |        | N 54      | 35        | 89     |
|        |        | % 60,7%   | 39,3%     | 100,0% |

Hi kvadrat test nije statistički značajan. Nema značajnih razlika u ekspresiji BCL2 između obolelih muškaraca i žena,  $\chi^2(1, N=89)=0,066, p=0,798$ .

#### 4.3.6 Analiza ekspresije CD30 u odnosu na pol

Analiza ekspresije CD30 u odnosu na pol je urađena kod 74 bolesnika. Među obolelim muškarcima 33 je bilo CD30- i 3 CD30+. Među obolelim ženama 33 je bilo CD30- a 5 CD30+.

Tabela 21. Analiza ekspresije CD30 u odnosu na pol

|        |        | CD30      |           | ukupno |
|--------|--------|-----------|-----------|--------|
|        |        | negativan | pozitivan |        |
| pol    | muški  | N 33      | 3         | 36     |
|        |        | % 91,7%   | 8,3%      | 100,0% |
|        | ženski | N 33      | 5         | 38     |
|        |        | % 86,8%   | 13,2%     | 100,0% |
| ukupno |        | N 66      | 8         | 74     |
|        |        | % 89,2%   | 10,8%     | 100,0% |

Hi kvadrat test nije statistički značajan. Nema značajnih razlika u ekspresiji CD30 između obolelih muškaraca i žena,  $\chi^2(1, N=74)=0,086, p=0,769$ .



#### 4.3.7 Analiza ekspresije CD5 u odnosu na pol

Analiza ekspresije CD5 u odnosu na pol je urađena kod 87 bolesnika. Među obolelim muškarcima je bilo 45 CD5- i 1 CD5+, a među obolelim ženama je bilo 35 CD5- i 6 CD5+.

Tabela 22. Analiza ekspresije CD5 u odnosu na pol

|        |        | CD5       |           | ukupno |
|--------|--------|-----------|-----------|--------|
|        |        | negativan | pozitivan |        |
| pol    | muški  | N 45      | 1         | 46     |
|        |        | % 97,8%   | 2,2%      | 100,0% |
|        | ženski | N 35      | 6         | 41     |
|        |        | % 85,4%   | 14,6%     | 100,0% |
| ukupno |        | N 80      | 7         | 87     |
|        |        | % 92,0%   | 8,0%      | 100,0% |

Hi kvadrat test nije statistički značajan. Nema značajnih razlika u ekspresiji CD5 između muških i ženskih bolesnika,  $\chi^2(1, N=87)=3,021, p=0,082$ .

#### 4.3.8 Analiza ekspresije CD43 u odnosu na pol

Analiza ekspresije CD43 u odnosu na pol je rađena kod 81 bolesnika. Među obolelim muškarcima je bilo 37 CD43- i 8 CD43+, a među obolelim ženama je bilo 29 CD43- i 7 CD43+.

Tabela 23. Analiza ekspresije CD43 u odnosu na pol

|        |        | CD43      |           | ukupno |
|--------|--------|-----------|-----------|--------|
|        |        | negativan | pozitivan |        |
| pol    | muški  | N 37      | 8         | 45     |
|        |        | % 82,2%   | 17,8%     | 100,0% |
|        | ženski | N 29      | 7         | 36     |
|        |        | % 80,6%   | 19,4%     | 100,0% |
| ukupno |        | N 66      | 15        | 81     |
|        |        | % 81,5%   | 18,5%     | 100,0% |

Hi kvadrat test nije statistički značajan. Nema značajnih razlika u ekspresiji CD43 između muških i ženskih pacijenata,  $\chi^2(1, N=81)=0,000, p=1,000$ .

#### 4.3.9 Analiza ekspresije EBV LMP u odnosu na pol

Analiza ekspresije EBV LMP u odnosu na pol je učinjena kod 66 bolesnika. Među obolelim muškarcima je bilo 20 EBV LMP- i 12 EBV LMP+ bolesnika, a među obolelim ženama je bilo 21 EBV LMP- i 13 EBV LMP+.

Tabela 24. Analiza ekspresije EBV LMP u odnosu na pol

|        |        | EBV LMP   |           | ukupno |
|--------|--------|-----------|-----------|--------|
|        |        | negativan | pozitivan |        |
| pol    | muški  | N 20      | 12        | 32     |
|        |        | % 62,5%   | 37,5%     | 100,0% |
|        | ženski | N 21      | 13        | 34     |
|        |        | % 61,8%   | 38,2%     | 100,0% |
| ukupno |        | N 41      | 25        | 66     |
|        |        | % 62,1%   | 37,9%     | 100,0% |

Hi kvadrat test nije statistički značajan. Nema značajnih razlika u ekspresiji EBV LMP između muških i ženskih pacijenata,  $\chi^2(1, N=66)=0,000$ ,  $p=1,000$ .

#### 4.3.10 Analiza ekspresije VEGF u odnosu na pol

Analiza ekspresije VEGF u odnosu na pol je urađena kod 65 bolesnika. Među obolelim muškarcima bilo je 24 VEGF- i 8 VEGF+ bolesnika, a među obolelim ženama bilo je 23 VEGF- pacijentkinje i 10 VEGF+.

Tabela 25. Analiza ekspresije VEGF u odnosu na pol

|        |        | VEGF      |           | ukupno |
|--------|--------|-----------|-----------|--------|
|        |        | negativan | pozitivan |        |
| pol    | muški  | N 24      | 8         | 32     |
|        |        | % 75,0%   | 25,0%     | 100,0% |
|        | ženski | N 23      | 10        | 33     |
|        |        | % 69,7%   | 30,3%     | 100,0% |
| ukupno |        | N 47      | 18        | 65     |
|        |        | % 72,3%   | 27,7%     | 100,0% |

Hi kvadrat test nije statistički značajan. Nema značajnih razlika u ekspresiji VEGF između muških i ženskih pacijenata,  $\chi^2(1, N=65)=0,040$ ,  $p=0,841$ .

#### 4.3.11 Analiza ekspresije COX2 u odnosu na pol

Analiza ekspresije COX2 u odnosu na pol je urađena kod 66 bolesnika. Među obolelim muškarcima bilo je 12 COX2- i 20 COX2+ bolesnika, a među obolelim ženama bilo je 12 COX2- i 22 COX2+ bolesnice.

Tabela 26. Analiza ekspresije COX2 u odnosu na pol

|        |        | COX2      |           | ukupno |
|--------|--------|-----------|-----------|--------|
|        |        | negativan | pozitivan |        |
| pol    | muški  | N 12      | 20        | 32     |
|        |        | % 37,5%   | 62,5%     | 100,0% |
|        | ženski | N 12      | 22        | 34     |
|        |        | % 35,3%   | 64,7%     | 100,0% |
| ukupno |        | N 24      | 42        | 66     |
|        |        | % 36,4%   | 63,6%     | 100,0% |

Hi kvadrat test nije statistički značajan. Nema značajnih razlika u ekspresiji COX2 između muških i ženskih pacijenata,  $\chi^2(1, N=66)=0,000$ ,  $p=1,000$ .

#### 4.3.12 Analiza ekspresije BAFFR u odnosu na pol

Analiza ekspresije BAFFR u odnosu na pol je urađena kod 65 bolesnika. Među obolelim muškarcima je bilo 22 BAFFR- pacijenta i 10 BAFFR+, a među obolelim ženama je bilo 13 BAFFR- i 20 BAFFR+ bolesnica.

Tabela 27. Analiza ekspresije BAFFR u odnosu na pol

|        |        | BAFFR     |           | ukupno |
|--------|--------|-----------|-----------|--------|
|        |        | negativan | pozitivan |        |
| pol    | muški  | N 22      | 10        | 32     |
|        |        | % 68,8%   | 31,2%     | 100,0% |
|        | ženski | N 13      | 20        | 33     |
|        |        | % 39,4%   | 60,6%     | 100,0% |
| ukupno |        | N 35      | 30        | 65     |
|        |        | % 53,8%   | 46,2%     | 100,0% |

Hi kvadrat test je statistički značajan. Postoji statistički značajna razlika između BAFFR pozitivnosti i negativnosti između obolelih muškaraca i žena. Žene su u statistički značajno većoj meri pozitivne na BAFFR,  $\chi^2(1, N=65)=4,514$ ,  $p=0,034$ . Prisutna je statistički značajna

korelacija između BAFFR pozitivnosti i negativnosti u odnosu na pol. Žene su u statistički značajno većoj meri pozitivne na BAFFR  $p=0,018$ .

Tabela 28. Korelacija ekspresije BAFFR u odnosu na pol

|                             | vrednost    | aproks. p   |
|-----------------------------|-------------|-------------|
| Phi                         | ,294        | ,018        |
| Cramerovo V                 | <b>,294</b> | <b>,018</b> |
| koeficijent kontingencije C | ,282        | ,018        |
| N validnih slučajeva        | <b>65</b>   |             |

#### 4.3.13 Analiza ekspresije TACI u odnosu na pol

Analiza ekspresije TACI u odnosu na pol je urađena kod 66 bolesnika. Među obolelim muškarcima je bilo 22 TACI- bolesnika i 10 TACI+, a među ženama je bilo 15 TACI- i 19 TACI+ bolesnica.

Tabela 29. Analiza ekspresije TACI u odnosu na pol

|        |        | TACI      |           | ukupno |
|--------|--------|-----------|-----------|--------|
|        |        | negativan | pozitivan |        |
| pol    | muški  | N 22      | 10        | 32     |
|        |        | % 68,8%   | 31,2%     | 100,0% |
|        | ženski | N 15      | 19        | 34     |
|        |        | % 44,1%   | 55,9%     | 100,0% |
| ukupno |        | N 37      | 29        | 66     |
|        |        | % 56,1%   | 43,9%     | 100,0% |

Hi kvadrat nije statistički značajan. Nema značajnih razlika u ekspresiji TACI između muških i ženskih bolesnika,  $\chi^2(1, N=66)=3,122, p=0,077$ .

#### 4.3.14 Analiza ekspresije BCMA u odnosu na pol

Analiza ekspresije BCMA u odnosu na pol je urađena kod 66 bolesnika. Među obolelim muškarcima je bilo 28 BCMA- i 4 BCMA+ bolesnika a među obolelim ženama je bilo 31 BCMA- bolesnica i 3 BCMA+.

Tabela 30. Analiza ekspresije BCMA u odnosu na pol

|        |        | BCMA      |           | ukupno |
|--------|--------|-----------|-----------|--------|
|        |        | negativan | pozitivan |        |
| pol    | muški  | N 28      | 4         | 32     |
|        |        | % 87,5%   | 12,5%     | 100,0% |
|        | ženski | N 31      | 3         | 34     |
|        |        | % 91,2%   | 8,8%      | 100,0% |
| ukupno |        | N 59      | 7         | 66     |
|        |        | % 89,4%   | 10,6%     | 100,0% |

Hi kvadrat test nije statistički značajan. Nema značajnih razlika u ekspresiji BCMA u odnosu na pol,  $\chi^2(1, N=66)=0,007$ ,  $p=0,932$ .

#### 4.4 ANALIZA KORELACIJA EKSPRESIJE IMUNOHISTOHEMIJSKIH MARKERA U ODNOSU NA STAROST I KLINIČKI STADIJUM U TRENUTKU POSTAVLJANJA DIJAGNOZE

Korelacije između starosti i kliničkog stadijuma sa jedne strane i primenjenih imunohistohemijskih markera sa druge strane računane su kao biserijalni koeficijenti, koji su u suštini isto što i Pearsonov koeficijent korelacije. Ekspresija CD20 je u svim slučajevima pozitivna te nema smisla računati korelacije sa ovim markerom. Statistički značajni su samo koeficijenti korelacije između starosti i ekspresije CD30, COX2, TACI i BCMA. Koeficijenti su im negativni što znači da su kod starijih ispitanika ređe pozitivne ekspresije CD30, COX2, TACI i BCMA. Korelacije su sve u domenu niskih.

Tabela 31. Korelacije ekspresija primenjenih imunohistohemijskih markera u odnosu na starost i klinički stadijum

| Korelacije |          | starost u godinama | klinički stadijum |
|------------|----------|--------------------|-------------------|
| Ki-67      | <i>r</i> | ,071               | -,074             |
|            | <i>p</i> | ,516               | ,503              |
|            | <i>N</i> | 86                 | 83                |
| CD 20      | <i>r</i> | <sup>a</sup> .     | <sup>a</sup> .    |
|            | <i>p</i> | .                  | .                 |
|            | <i>N</i> | 87                 | 84                |
| MUM1       | <i>r</i> | -,140              | ,014              |
|            | <i>p</i> | ,195               | ,900              |
|            | <i>N</i> | 87                 | 85                |
| CD 10      | <i>r</i> | ,028               | -,104             |

|         |   |                |       |
|---------|---|----------------|-------|
|         | p | ,795           | ,340  |
|         | N | 89             | 86    |
| BCL6    | r | ,009           | ,106  |
|         | p | ,934           | ,336  |
|         | N | 87             | 85    |
| BCL2    | r | -,039          | ,007  |
|         | p | ,717           | ,946  |
|         | N | 89             | 87    |
| CD 30   | r | <b>-,357**</b> | ,071  |
|         | p | <b>,002</b>    | ,554  |
|         | N | <b>74</b>      | 72    |
| CD 5    | r | ,084           | ,090  |
|         | p | ,439           | ,414  |
|         | N | 87             | 84    |
| CD 43   | r | -,031          | -,033 |
|         | p | ,786           | ,772  |
|         | N | 81             | 78    |
| EBV LMP | r | -,201          | ,101  |
|         | p | ,106           | ,428  |
|         | N | 66             | 64    |
| VEGF    | r | -,194          | -,101 |
|         | p | ,121           | ,430  |
|         | N | 65             | 63    |
| COX 2   | r | <b>-,357**</b> | -,059 |
|         | p | <b>,003</b>    | ,644  |
|         | N | <b>66</b>      | 64    |
| BAFFR   | r | -,038          | -,097 |
|         | p | ,763           | ,448  |
|         | N | 65             | 63    |
| TACI    | r | <b>-,282*</b>  | ,052  |
|         | p | <b>,022</b>    | ,685  |
|         | N | <b>66</b>      | 64    |
| BCMA    | r | <b>-,277*</b>  | -,131 |
|         | p | <b>,025</b>    | ,300  |
|         | N | <b>66</b>      | 64    |

#### 4.5 ANALIZA KORELACIJA EKSPRESIJE IMUNOHISTOHEMIJSKIH MARKERA U ODNOSU NA NODALNO / EKSTRANODALNO ISHODIŠTE LIMFOMA

##### 4.5.1 Analiza korelacije ekspresije CD20 u odnosu na nodalno / ektranodalno ishodište limfoma

Imajući u vidu da je ekspresija CD20 prisutna u svim dostupnim uzorcima nije moguće računati korelaciju ekspresije CD20 u odnosu na nodalno / ektranodalno ishodište limfoma

##### 4.5.2 Analiza korelacije ekspresije MUM1 u odnosu na nodalno / ektranodalno ishodište limfoma

Analiza korelacije ekspresije MUM1 u odnosu na nodalno / ektranodalno ishodište limfoma je ispitana na 87 bolesnika. Među nodalnim limfomima je bilo 17 MUM1- i 27 MUM1+, a među ektranodalnim limfomima je bilo 16 MUM1- i 27 MUM1+.

Tabela 32. Analiza ekspresije MUM1 u odnosu na nodalno / ektranodalno ishodište limfoma

Tabela kontingencije

|                  |              | MUM1 |           |           |        |
|------------------|--------------|------|-----------|-----------|--------|
|                  |              |      | negativan | pozitivan | ukupno |
| ishodište tumora | nodalno      | N    | 17        | 27        | 44     |
|                  |              | %    | 38,6%     | 61,4%     | 100,0% |
|                  | ektranodalno | N    | 16        | 27        | 43     |
|                  |              | %    | 37,2%     | 62,8%     | 100,0% |
| ukupno           |              | N    | 33        | 54        | 87     |
|                  |              | %    | 37,9%     | 62,1%     | 100,0% |

Tabela 33. Korelacija ekspresije MUM1 u odnosu na nodalno / ektranodalno ishodište limfoma

|                                       | vrednost          | df | asimp. p (2-strana) | Egzaktna p (2-strana) |
|---------------------------------------|-------------------|----|---------------------|-----------------------|
| Pearsonov hi-kvadrat                  | ,019 <sup>a</sup> | 1  | ,891                |                       |
| korekcija za kontinuitet <sup>b</sup> | ,000              | 1  | 1,000               |                       |
| Fisherov egzaktni test                |                   |    |                     | 1,000                 |
| N validnih slučajeva                  | 87                |    |                     |                       |

Nije nađena statistička značajnost, p=0,891. Nema korelacije ekspresije MUM1 u odnosu na nodalno / ektranodalno ishodište limfoma.

Tabela 34. Statistička značajnost korelacije ekspresije MUM1 u odnosu na nodalno / ektranodalno ishodište limfoma

Simetrične mere

|                             | vrednost | p    |
|-----------------------------|----------|------|
| Phi                         | ,015     | ,891 |
| Cramerovo V                 | ,015     | ,891 |
| koeficijent kontingencije C | ,015     | ,891 |
| N validnih slučajeva        | 87       |      |

#### 4.5.3 Analiza korelacije ekspresije CD10 u odnosu na nodalno / ektranodalno ishodište limfoma

Analiza korelacije ekspresije CD10 u odnosu na nodalno / ektranodalno ishodište limfoma je ispitana na 89 bolesnika. Među nodalnim limfomima bilo je 36 CD10- i 7 CD10+, a među ektranodalnim limfomima je bilo 35 CD10- i 11 CD10+.

Tabela 35. Analiza ekspresije CD10 u odnosu na nodalno / ektranodalno ishodište limfoma

Tabela kontingencije

|                  |              |   | CD 10     |           |        |
|------------------|--------------|---|-----------|-----------|--------|
|                  |              |   | negativan | pozitivan | ukupno |
| ishodište tumora | nodalno      | N | 36        | 7         | 43     |
|                  |              | % | 83,7%     | 16,3%     | 100,0% |
|                  | ektranodalno | N | 35        | 11        | 46     |
|                  |              | % | 76,1%     | 23,9%     | 100,0% |
| ukupno           |              | N | 71        | 18        | 89     |
|                  |              | % | 79,8%     | 20,2%     | 100,0% |

Tabela 36. Korelacija ekspresije CD10 u odnosu na nodalno / ektranodalno ishodište limfoma

|                                       | vrednost          | df | asimp. p (2-strana) | Egzaktna p (2-strana) |
|---------------------------------------|-------------------|----|---------------------|-----------------------|
| Pearsonov hi-kvadrat                  | ,803 <sup>a</sup> | 1  | ,370                |                       |
| korekcija za kontinuitet <sup>b</sup> | ,399              | 1  | ,527                |                       |
| Fisherov egzaktni test                |                   |    |                     | ,435                  |
| N validnih slučajeva                  | 89                |    |                     |                       |

Nije nađena statistička značajnost,  $p=0,370$ . Nema korelacije ekspresije CD10 u odnosu na nodalno / ektranodalno ishodište limfoma.



Tabela 37. Statistička značajnost korelacije ekspresije CD10 u odnosu na nodalno / ektranodalno ishodište limfoma

Simetrične mere

|                             | vrednost | p    |
|-----------------------------|----------|------|
| Phi                         | ,095     | ,370 |
| Cramerovo V                 | ,095     | ,370 |
| koeficijent kontingencije C | ,095     | ,370 |
| N validnih slučajeva        | 89       |      |

#### 4.5.4 Analiza korelacije ekspresije BCL6 u odnosu na nodalno / ektranodalno ishodište limfoma

Analiza korelacije ekspresije BCL6 u odnosu na nodalno / ektranodalno ishodište limfoma je ispitana na 87 bolesnika. Među nodalnim limfomima bilo je 20 BCL6- i 23 BCL6+ slučajeva, a među ektranodalnim je bilo 22 BCL6- i 22 BCL6+ slučajeva.

Tabela 38. Analiza ekspresije BCL6 u odnosu na nodalno / ektranodalno ishodište limfoma

Tabela kontingencije

|                  |              |       | BCL6      |           |        |
|------------------|--------------|-------|-----------|-----------|--------|
|                  |              |       | negativan | pozitivan | ukupno |
| ishodište tumora | nodalno      | N     | 20        | 23        | 43     |
|                  |              | %     | 46,5%     | 53,5%     | 100,0% |
|                  | ektranodalno | N     | 22        | 22        | 44     |
|                  |              | %     | 50,0%     | 50,0%     | 100,0% |
| ukupno           | N            | 42    | 45        | 87        |        |
|                  | %            | 48,3% | 51,7%     | 100,0%    |        |

Tabela 39. Korelacija ekspresije BCL6 u odnosu na nodalno / ektranodalno ishodište limfoma

|                                       | vrednost          | df | asimp. p (2-strana) | Egzaktna p (2-strana) |
|---------------------------------------|-------------------|----|---------------------|-----------------------|
| Pearsonov hi-kvadrat                  | ,106 <sup>a</sup> | 1  | ,745                |                       |
| korekcija za kontinuitet <sup>b</sup> | ,012              | 1  | ,912                |                       |
| Fisherov egzaktni test                |                   |    |                     | ,831                  |
| N validnih slučajeva                  | 87                |    |                     |                       |

Nije nađena statistička značajnost,  $p=0,745$ . Nema korelacije između ekspresije BCL6 i nodalnog / ektranodalnog ishodišta limfoma.

Tabela 40. Statistička značajnost korelacije ekspresije BCL6 u odnosu na nodalno / ektranodalno ishodište limfoma

| Simetrične mere             |          |      |
|-----------------------------|----------|------|
|                             | vrednost | p    |
| Phi                         | -,035    | ,745 |
| Cramerovo V                 | ,035     | ,745 |
| koeficijent kontingencije C | ,035     | ,745 |
| N validnih slučajeva        | 87       |      |

#### 4.5.5 Analiza korelacije ekspresije BCL2 u odnosu na nodalno / ektranodalno ishodište limfoma

Analiza korelacije ekspresije BCL2 u odnosu na nodalno / ektranodalno ishodište limfoma je ispitana na 89 bolesnika. Među nodalnim limfomima je bilo 23 BCL2- i 21 BCL2+, a među ektranodalnima je bilo 31 BCL2- i 14 BCL2+ slučajeva.

Tabela 41. Analiza ekspresije BCL2 u odnosu na nodalno / ektranodalno ishodište limfoma

| Tabela kontingencije |              |   | BCL2      |           |        |
|----------------------|--------------|---|-----------|-----------|--------|
|                      |              |   | negativan | pozitivan | ukupno |
| ishodište tumora     | nodalno      | N | 23        | 21        | 44     |
|                      |              | % | 52,3%     | 47,7%     | 100,0% |
|                      | ektranodalno | N | 31        | 14        | 45     |
|                      |              | % | 68,9%     | 31,1%     | 100,0% |
| ukupno               |              | N | 54        | 35        | 89     |
|                      |              | % | 60,7%     | 39,3%     | 100,0% |

Tabela 42. Korelacija ekspresije BCL2 u odnosu na nodalno / ektranodalno ishodište limfoma

|                                       | vrednost           | df | asimp. p (2-strana) | Egzaktna p (2-strana) |
|---------------------------------------|--------------------|----|---------------------|-----------------------|
| Pearsonov hi-kvadrat                  | 2,574 <sup>a</sup> | 1  | ,109                |                       |
| korekcija za kontinuitet <sup>b</sup> | 1,925              | 1  | ,165                |                       |
| Fisherov egzaktni test                |                    |    |                     | ,132                  |
| N validnih slučajeva                  | 89                 |    |                     |                       |

Nije nađena statistička značajnost,  $p=0,109$ . Nema korelacije između ekspresije BCL2 i nodalnog / ektranodalnog ishodišta limfoma.

Tabela 43. Statistička značajnost korelacije ekspresije BCL2 u odnosu na nodalno / ektranodalno ishodište limfoma

Simetrične mere

|                             | vrednost | p    |
|-----------------------------|----------|------|
| Phi                         | -,170    | ,109 |
| Cramerovo V                 | ,170     | ,109 |
| koeficijent kontingencije C | ,168     | ,109 |
| N validnih slučajeva        | 89       |      |

#### 4.5.6 Analiza korelacije ekspresije CD30 u odnosu na nodalno / ektranodalno ishodište limfoma

Analiza korelacije ekspresije CD30 u odnosu na nodalno / ektranodalno ishodište limfoma je ispitana na 74 bolesnika. Među nodalnim limfomima bilo je 33 CD30- i 5 CD30+, a među ektranodalnima bilo je 33 CD30- i 3 CD30+ slučaja.

Tabela 44. Analiza ekspresije CD30 u odnosu na nodalno / ektranodalno ishodište limfoma

Tabela kontingencije

|                  |              |   | CD 30     |           |        |
|------------------|--------------|---|-----------|-----------|--------|
|                  |              |   | negativan | pozitivan | ukupno |
| ishodište tumora | nodalno      | N | 33        | 5         | 38     |
|                  |              | % | 86,8%     | 13,2%     | 100,0% |
|                  | ektranodalno | N | 33        | 3         | 36     |
|                  |              | % | 91,7%     | 8,3%      | 100,0% |
| ukupno           |              | N | 66        | 8         | 74     |
|                  |              | % | 89,2%     | 10,8%     | 100,0% |

Tabela 45. Korelacija ekspresije CD30 u odnosu na nodalno / ektranodalno ishodište limfoma

|                                       | vrednost          | df | asimp. p (2-strana) | Egzaktna p (2-strana) |
|---------------------------------------|-------------------|----|---------------------|-----------------------|
| Pearsonov hi-kvadrat                  | ,446 <sup>a</sup> | 1  | ,504                |                       |
| korekcija za kontinuitet <sup>b</sup> | ,086              | 1  | ,769                |                       |
| Fisherov egzaktni test                |                   |    |                     | ,712                  |
| N validnih slučajeva                  | 74                |    |                     |                       |

Nije nađena statistički značajna korelacija,  $p=0,504$ . Nema korelacije između ekspresije CD30 i nodalnog / ektranodalnog ishodišta limfoma.

Tabela 46. Statistička značajnost korelacije ekspresije CD30 u odnosu na nodalno / ekstranodalno ishodište limfoma

Simetrične mere

|                             | vrednost | p    |
|-----------------------------|----------|------|
| Phi                         | -,078    | ,504 |
| Cramerovo V                 | ,078     | ,504 |
| koeficijent kontingencije C | ,077     | ,504 |
| N validnih slučajeva        | 74       |      |

#### 4.5.7 Analiza korelacije ekspresije CD5 u odnosu na nodalno / ekstranodalno ishodište limfoma

Analiza korelacije ekspresije CD5 u odnosu na nodalno / ekstranodalno ishodište limfoma je ispitana na 87 bolesnika. Među nodalnim limfomima je bilo 39 CD5 negativnih i 4 CD5 pozitivna, a među ekstranodalnim limfomima je bilo 41 CD5- i 3 CD5+ slučajeve.

Tabela 47. Analiza ekspresije CD5 u odnosu na nodalno / ekstranodalno ishodište limfoma

Tabela kontingencije

|                  |               |   | CD 5      |           |        |
|------------------|---------------|---|-----------|-----------|--------|
|                  |               |   | negativan | pozitivan | ukupno |
| ishodište tumora | nodalno       | N | 39        | 4         | 43     |
|                  |               | % | 90,7%     | 9,3%      | 100,0% |
|                  | ekstranodalno | N | 41        | 3         | 44     |
|                  |               | % | 93,2%     | 6,8%      | 100,0% |
| ukupno           |               | N | 80        | 7         | 87     |
|                  |               | % | 92,0%     | 8,0%      | 100,0% |

Tabela 48. Korelacija ekspresije CD5 u odnosu na nodalno / ekstranodalno ishodište limfoma

|                                       | vrednost          | df | asimp. p (2-strana) | Egzaktna p (2-strana) |
|---------------------------------------|-------------------|----|---------------------|-----------------------|
| Pearsonov hi-kvadrat                  | ,181 <sup>a</sup> | 1  | ,670                |                       |
| korekcija za kontinuitet <sup>b</sup> | ,001              | 1  | ,975                |                       |
| Fisherov egzaktni test                |                   |    |                     | ,713                  |
| N validnih slučajeva                  | 87                |    |                     |                       |

Nije nađena statistička značajnost,  $p=0,670$ . Nema korelacije između ekspresije CD5 i nodalnog / ekstranodalnog ishodišta limfoma.

Tabela 49. Statistička značajnost korelacije ekspresije CD5 u odnosu na nodalno / ekstranodalno ishodište limfoma

Simetrične mere

|                             | vrednost | p    |
|-----------------------------|----------|------|
| Phi                         | -,046    | ,670 |
| Cramerovo V                 | ,046     | ,670 |
| koeficijent kontingencije C | ,046     | ,670 |
| N validnih slučajeva        | 87       |      |

#### 4.5.8 Analiza korelacije ekspresije CD43 u odnosu na nodalno / ekstranodalno ishodište limfoma

Analiza korelacije ekspresije CD43 u odnosu na nodalno / ekstranodalno ishodište limfoma ispitana je na 81 bolesnika. Među nodalnim limfomima je bilo 32 CD43- i 7 CD43+, a među ekstranodalnim limfomima bilo je 34 CD43- i 8 CD43+ slučajeva.

Tabela 50. Analiza ekspresije CD43 u odnosu na nodalno / ekstranodalno ishodište limfoma

Tabela kontingencije

|                  |               |   | CD 43     |           |        |
|------------------|---------------|---|-----------|-----------|--------|
|                  |               |   | negativan | pozitivan | ukupno |
| ishodište tumora | nodalno       | N | 32        | 7         | 39     |
|                  |               | % | 82,1%     | 17,9%     | 100,0% |
|                  | ekstranodalno | N | 34        | 8         | 42     |
|                  |               | % | 81,0%     | 19,0%     | 100,0% |
| ukupno           |               | N | 66        | 15        | 81     |
|                  |               | % | 81,5%     | 18,5%     | 100,0% |

Tabela 51. Korelacija ekspresije CD43 u odnosu na nodalno / ekstranodalno ishodište limfoma

|                                       | vrednost          | df | asimp. p (2-strana) | Egzaktna p (2-strana) |
|---------------------------------------|-------------------|----|---------------------|-----------------------|
| Pearsonov hi-kvadrat                  | ,016 <sup>a</sup> | 1  | ,899                |                       |
| korekcija za kontinuitet <sup>b</sup> | ,000              | 1  | 1,000               |                       |
| Fisherov egzaktni test                |                   |    |                     | 1,000                 |
| N validnih slučajeva                  | 81                |    |                     |                       |

Nije nađena statistička značajnost,  $p=0,899$ . Nema korelacije između ekspresije CD43 i nodalnog / ekstranodalnog ishodišta limfoma.

Tabela 52. Statistička značajnost korelacije ekspresije CD43 u odnosu na nodalno / ektranodalno ishodište limfoma

Simetrične mere

|                             | vrednost | p    |
|-----------------------------|----------|------|
| Phi                         | ,014     | ,899 |
| Cramerovo V                 | ,014     | ,899 |
| koeficijent kontingencije C | ,014     | ,899 |
| N validnih slučajeva        | 81       |      |

#### 4.5.9 Analiza korelacije ekspresije EBV LMP u odnosu na nodalno / ektranodalno ishodište limfoma

Analiza korelacije ekspresije EBV LMP u odnosu na nodalno / ektranodalno ishodište limfoma je ispitana na 66 bolesnika. Među nodalnim limfomima je bilo 24 EBV LMP- i 9 EBV LMP+, a među ektranodalnim limfomima je bilo 17 EBV LMP- i 16 EBV LMP+ slučajeva.

Tabela 53. Korelacija ekspresije EBV LMP u odnosu na nodalno / ektranodalno ishodište limfoma

Tabela kontingencije

|                  |              |   | EBV LMP   |           |        |
|------------------|--------------|---|-----------|-----------|--------|
|                  |              |   | negativan | pozitivan | ukupno |
| ishodište tumora | nodalno      | N | 24        | 9         | 33     |
|                  |              | % | 72,7%     | 27,3%     | 100,0% |
|                  | ektranodalno | N | 17        | 16        | 33     |
|                  |              | % | 51,5%     | 48,5%     | 100,0% |
| ukupno           |              | N | 41        | 25        | 66     |
|                  |              | % | 62,1%     | 37,9%     | 100,0% |

Tabela 54. Korelacija ekspresije EBV LMP u odnosu na nodalno / ektranodalno ishodište limfoma

|                                       | vrednost           | df | asimp. p (2-strana) | Egzaktna p (2-strana) |
|---------------------------------------|--------------------|----|---------------------|-----------------------|
| Pearsonov hi-kvadrat                  | 3,155 <sup>a</sup> | 1  | ,076                |                       |
| korekcija za kontinuitet <sup>b</sup> | 2,318              | 1  | ,128                |                       |
| Fisherov egzaktni test                |                    |    |                     | ,127                  |
| N validnih slučajeva                  | 66                 |    |                     |                       |

Nije nađena statistička značajnost,  $p=0,076$ . Nema korelacije između ekspresije EBV LMP i nodalnog / ektranodalnog ishodišta limfoma.

*Tabela 55. Statistička značajnost korelacije ekspresije EBV LMP u odnosu na nodalno / ektranodalno ishodište limfoma*

Simetrične mere

|                             | vrednost | p    |
|-----------------------------|----------|------|
| Phi                         | ,219     | ,076 |
| Cramerovo V                 | ,219     | ,076 |
| koeficijent kontingencije C | ,214     | ,076 |
| N validnih slučajeva        | 66       |      |

#### 4.5.10 Analiza korelacije ekspresije VEGF u odnosu na nodalno / ektranodalno ishodište limfoma

Analiza korelacije ekspresije VEGF u odnosu na nodalno / ektranodalno ishodište limfoma je ispitana na 65 bolesnika. Među nodalnim limfomima je bilo 26 VEGF- i 6 VEGF+ slučajeva, a među ektranodalnim limfomima 21 VEGF- i 12 VEGF+.

*Tabela 56. Analiza ekspresije VEGF u odnosu na nodalno / ektranodalno ishodište limfoma*

Tabela kontingencije

|                  |              |   | VEGF      |           |        |
|------------------|--------------|---|-----------|-----------|--------|
|                  |              |   | negativan | pozitivan | ukupno |
| ishodište tumora | nodalno      | N | 26        | 6         | 32     |
|                  |              | % | 81,3%     | 18,8%     | 100,0% |
|                  | ektranodalno | N | 21        | 12        | 33     |
|                  |              | % | 63,6%     | 36,4%     | 100,0% |
| ukupno           |              | N | 47        | 18        | 65     |
|                  |              | % | 72,3%     | 27,7%     | 100,0% |

*Tabela 57. Korelacija ekspresije VEGF u odnosu na nodalno / ektranodalno ishodište limfoma*

|                                       | vrednost           | df | asimp. p (2-strana) | Egzaktna p (2-strana) |
|---------------------------------------|--------------------|----|---------------------|-----------------------|
| Pearsonov hi-kvadrat                  | 2,517 <sup>a</sup> | 1  | ,113                |                       |
| korekcija za kontinuitet <sup>b</sup> | 1,714              | 1  | ,190                |                       |
| Fisherov egzaktni test                |                    |    |                     | ,166                  |
| N validnih slučajeva                  | 65                 |    |                     |                       |

Nije nađena statistička značajnost,  $p=0,113$ . Nema korelacije između ekspresije VEGF i nodalnog / ektranodalnog ishodišta limfoma.

*Tabela 58. Statistička značajnost korelacije ekspresije VEGF u odnosu na nodalno / ektranodalno ishodište limfoma*

Simetrične mere

|                             | vrednost | p    |
|-----------------------------|----------|------|
| Phi                         | ,197     | ,113 |
| Cramerovo V                 | ,197     | ,113 |
| koeficijent kontingencije C | ,193     | ,113 |
| N validnih slučajeva        | 65       |      |

#### 4.5.11 Analiza korelacije ekspresije COX2 u odnosu na nodalno / ektranodalno ishodište limfoma

Analiza korelacije ekspresije COX2 u odnosu na nodalno / ektranodalno ishodište limfoma ispitana je na 66 bolesnika. Među nodalnim limfomima bilo je 13 COX2- i 20 COX2 + slučajeva, a među ektranodalnim 11 COX2- i 22 COX2+ slučajeva.

*Tabela 59. Analiza ekspresije COX2 u odnosu na nodalno / ektranodalno ishodište limfoma*

Tabela kontingencije

|                  |              |   | COX 2     |           |        |
|------------------|--------------|---|-----------|-----------|--------|
|                  |              |   | negativan | pozitivan | ukupno |
| ishodište tumora | nodalno      | N | 13        | 20        | 33     |
|                  |              | % | 39,4%     | 60,6%     | 100,0% |
|                  | ektranodalno | N | 11        | 22        | 33     |
|                  |              | % | 33,3%     | 66,7%     | 100,0% |
| ukupno           |              | N | 24        | 42        | 66     |
|                  |              | % | 36,4%     | 63,6%     | 100,0% |

*Tabela 60. Korelacija ekspresije COX2 u odnosu na nodalno / ektranodalno ishodište limfoma*

|                                       | vrednost          | df | asimp. p (2-strana) | Egzaktna p (2-strana) |
|---------------------------------------|-------------------|----|---------------------|-----------------------|
| Pearsonov hi-kvadrat                  | ,262 <sup>a</sup> | 1  | ,609                |                       |
| korekcija za kontinuitet <sup>b</sup> | ,065              | 1  | ,798                |                       |
| Fisherov egzaktni test                |                   |    |                     | ,798                  |
| N validnih slučajeva                  | 66                |    |                     |                       |



Nije nađena statistička značajnost,  $p=0,609$ . Nema korelacije između ekspresije COX2 i nodalnog / ektranodalnog ishodišta limfoma.

*Tabela 61. Statistička značajnost korelacije ekspresije COX2 u odnosu na nodalno / ektranodalno ishodište limfoma*

Simetrične mere

|                             | vrednost | p    |
|-----------------------------|----------|------|
| Phi                         | ,063     | ,609 |
| Cramerovo V                 | ,063     | ,609 |
| koeficijent kontingencije C | ,063     | ,609 |
| N validnih slučajeva        | 66       |      |

#### **4.5.12 Analiza korelacije ekspresije BAFFR u odnosu na nodalno / ektranodalno ishodište limfoma**

Analiza korelacije ekspresije BAFFR u odnosu na nodalno / ektranodalno ishodište limfoma je ispitana na 65 bolesnika. Među nodalnim limfomima je bilo 18 BAFFR- i 15 BAFFR+ slučajeva, a među ektranodalnima je bilo 17 BAFFR- i 15 BAFFR+ slučajeva.

*Tabela 62. Analiza ekspresije BAFFR u odnosu na nodalno / ektranodalno ishodište limfoma*

Tabela kontingencije

|                  |              |   | BAFFR     |           |        |
|------------------|--------------|---|-----------|-----------|--------|
|                  |              |   | negativan | pozitivan | ukupno |
| ishodište tumora | nodalno      | N | 18        | 15        | 33     |
|                  |              | % | 54,5%     | 45,5%     | 100,0% |
|                  | ektranodalno | N | 17        | 15        | 32     |
|                  |              | % | 53,1%     | 46,9%     | 100,0% |
| ukupno           |              | N | 35        | 30        | 65     |
|                  |              | % | 53,8%     | 46,2%     | 100,0% |

Tabela 63. Korelacija ekspresije BAFFR u odnosu na nodalno / ektranodalno ishodište limfoma

|                                       | vrednost          | df | asimp. p (2-strana) | Egzaktna p (2-strana) |
|---------------------------------------|-------------------|----|---------------------|-----------------------|
| Pearsonov hi-kvadrat                  | ,013 <sup>a</sup> | 1  | ,909                |                       |
| korekcija za kontinuitet <sup>b</sup> | ,000              | 1  | 1,000               |                       |
| Fisherov egzaktni test                |                   |    |                     | 1,000                 |
| N validnih slučajeva                  | 65                |    |                     |                       |

Nema statističke značajnosti, p=0,909. Nema korelacije između ekspresije BAFFR i nodalnog / ektranodalnog ishodišta limfoma.

Tabela 64. Statistička značajnost korelacije ekspresije BAFFR u odnosu na nodalno / ektranodalno ishodište limfoma

Simetrične mere

|                             | vrednost | p    |
|-----------------------------|----------|------|
| Phi                         | ,014     | ,909 |
| Cramerovo V                 | ,014     | ,909 |
| koeficijent kontingencije C | ,014     | ,909 |
| N validnih slučajeva        | 65       |      |

#### 4.5.13 Analiza korelacije ekspresije TACI u odnosu na nodalno / ektranodalno ishodište limfoma

Analiza korelacije ekspresije TACI u odnosu na nodalno / ektranodalno ishodište limfoma je ispitana na 66 bolesnika. Među nodalnim limfomima bilo je 24 TACI- i 9 TACI+ slučajeva, a među ektranodalnim limfomima bilo je 13 TACI- i 20 TACI+ slučajeva.

Tabela 65. Analiza ekspresije TACI u odnosu na nodalno / ektranodalno ishodište limfoma

Tabela kontingencije

|                  |              |   | TACI      |           |        |
|------------------|--------------|---|-----------|-----------|--------|
|                  |              |   | negativan | pozitivan | ukupno |
| ishodište tumora | nodalno      | N | 24        | 9         | 33     |
|                  |              | % | 72,7%     | 27,3%     | 100,0% |
|                  | ektranodalno | N | 13        | 20        | 33     |
|                  |              | % | 39,4%     | 60,6%     | 100,0% |
| ukupno           |              | N | 37        | 29        | 66     |
|                  |              | % | 56,1%     | 43,9%     | 100,0% |

Hi-kvadrat test je statistički značajan pa je značajna i korelacija,  $p=0,013$ .

Tabela 66. Korelacija ekspresije TACI u odnosu na nodalno / ektranodalno ishodište limfoma

|                                       | vrednost           | df       | asimp. p (2-strana) | Egzaktna p (2-strana) |
|---------------------------------------|--------------------|----------|---------------------|-----------------------|
| Pearsonov hi-kvadrat                  | 7,443 <sup>a</sup> | 1        | ,006                |                       |
| korekcija za kontinuitet <sup>b</sup> | <b>6,151</b>       | <b>1</b> | <b>,013</b>         |                       |
| Fisherov egzaktni test                |                    |          |                     | <b>,013</b>           |
| N validnih slučajeva                  | 66                 |          |                     |                       |

Prisutna je statistička značajnost,  $p=0,006$ . Kod ektranodalnih limfoma je TACI češće pozitivan nego kod nodalnih limfoma.

Tabela 67. Statistička značajnost korelacije ekspresije TACI u odnosu na nodalno / ektranodalno ishodište limfoma

Simetrične mere

|                             | vrednost    | p           |
|-----------------------------|-------------|-------------|
| Phi                         | ,336        | ,006        |
| <b>Cramerovo V</b>          | <b>,336</b> | <b>,006</b> |
| koeficijent kontingencije C | ,318        | ,006        |
| N validnih slučajeva        | 66          |             |

#### 4.5.14 Analiza korelacije ekspresije BCMA u odnosu na nodalno / ektranodalno ishodište limfoma

Analiza korelacije ekspresije BCMA u odnosu na nodalno / ektranodalno ishodište limfoma je ispitana na 66 bolesnika. Među nodalnim limfomima je bilo 30 BCMA- i 3 BCMA+ slučajeva, a među ektranodalnim je bilo 29 BCMA- i 4 BCMA+ slučajeva.

Tabela 68. Analiza ekspresije BCMA u odnosu na nodalno / ektranodalno ishodište limfoma

Tabela kontingencije

|                  |              |   | BCMA      |           |        |
|------------------|--------------|---|-----------|-----------|--------|
|                  |              |   | negativan | pozitivan | ukupno |
| ishodište tumora | nodalno      | N | 30        | 3         | 33     |
|                  |              | % | 90,9%     | 9,1%      | 100,0% |
|                  | ektranodalno | N | 29        | 4         | 33     |
|                  |              | % | 87,9%     | 12,1%     | 100,0% |
| ukupno           |              | N | 59        | 7         | 66     |
|                  |              | % | 89,4%     | 10,6%     | 100,0% |

Tabela 69. Korelacija ekspresije BCMA u odnosu na nodalno / ektranodalno ishodište limfoma

|                                       | vrednost          | df | asimp. p (2-strana) | Egzaktna p (2-strana) |
|---------------------------------------|-------------------|----|---------------------|-----------------------|
| Pearsonov hi-kvadrat                  | ,160 <sup>a</sup> | 1  | ,689                |                       |
| korekcija za kontinuitet <sup>b</sup> | ,000              | 1  | 1,000               |                       |
| Fisherov egzaktni test                |                   |    |                     | 1,000                 |
| N validnih slučajeva                  | 66                |    |                     |                       |

Nema statističke značajnosti,  $p=0,689$ . Nema korelacije između ekspresije BCMA i nodalnog / ektranodalnog ishodišta limfoma.

Tabela 70. Statistička značajnost korelacije ekspresije BCMA u odnosu na nodalno / ektranodalno ishodište limfoma

Simetrične mere

|                             | vrednost | p    |
|-----------------------------|----------|------|
| Phi                         | ,049     | ,689 |
| Cramerovo V                 | ,049     | ,689 |
| koeficijent kontingencije C | ,049     | ,689 |
| N validnih slučajeva        | 66       |      |

#### 4.5.15 Analiza korelacije ekspresije Ki-67 u odnosu na nodalno / ektranodalno ishodište limfoma

Za analizu korelacije ekspresije Ki-67 u odnosu na nodalno / ektranodalno ishodište limfoma računata je biserijalna korelacija. Nije dobijena statistička značajnost,  $p=0,061$ , dakle nema korelacije ekspresije Ki-67 u odnosu na nodalno / ektranodalno ishodište limfoma.

*Tabela 71. Biserijalna korelacija ekspresije Ki-67 u odnosu na nodalno / ektranodalno ishodište limfoma*

| Korelacije |          | ishodište tumora |
|------------|----------|------------------|
| Ki-67      | <i>r</i> | ,203             |
|            | <i>p</i> | ,061             |
|            | <i>N</i> | 86               |

#### **4.6 EKSPRESIJA I MEĐUSOBNO POREĐENJE EKSPRESIJE PRIMENJENIH IMUNOHISTOHEMIJSKIH MARKERA**

##### **4.6.1 Frekvencija ekspresije CD20**

CD20 nije uvršten u uporedne analize jer je bio pozitivan u svim dostupnim uzorcima. Bio je pozitivan kod 87 pacijenata, dok u preostalih 5 analiza nije urađena zbog nedostupnosti parafinskih kalupa.

##### **4.6.2 Eksplorativna analiza ekspresije Ki-67**

Analiza ekspresije Ki-67 učinjena je kod 86 bolesnika. Prosečna vrednost proliferativnog indeksa Ki-67 bila je 62,79%, standardna greška 1,982, medijana 65%, standardna devijacija 18,380. Minimalna vrednost bila je 30% a maksimalna vrednosti 92%.

Tabela 72. Deskriptivna statistika eksplorativne analize distribucije ekspresije Ki-67

|       |                           | statistik                       | st. greška     |
|-------|---------------------------|---------------------------------|----------------|
|       | AS                        | 62,79                           | 1,982          |
|       | 95% interval poverenja AS | donja granica<br>gornja granica | 58,85<br>66,73 |
|       | korigovana AS (5%)        | 63,07                           |                |
|       | medijana                  | 65,00                           |                |
|       | varijansa                 | 337,838                         |                |
| Ki-67 | SD                        | 18,380                          |                |
|       | minimum                   | 30                              |                |
|       | maksimum                  | 92                              |                |
|       | opseg                     | 62                              |                |
|       | interkvartilni opseg      | 35                              |                |
|       | zakrivljenost (Skewness)  | -,290                           | ,260           |
|       | spljoštenost (Kurtosis)   | -1,018                          | ,514           |

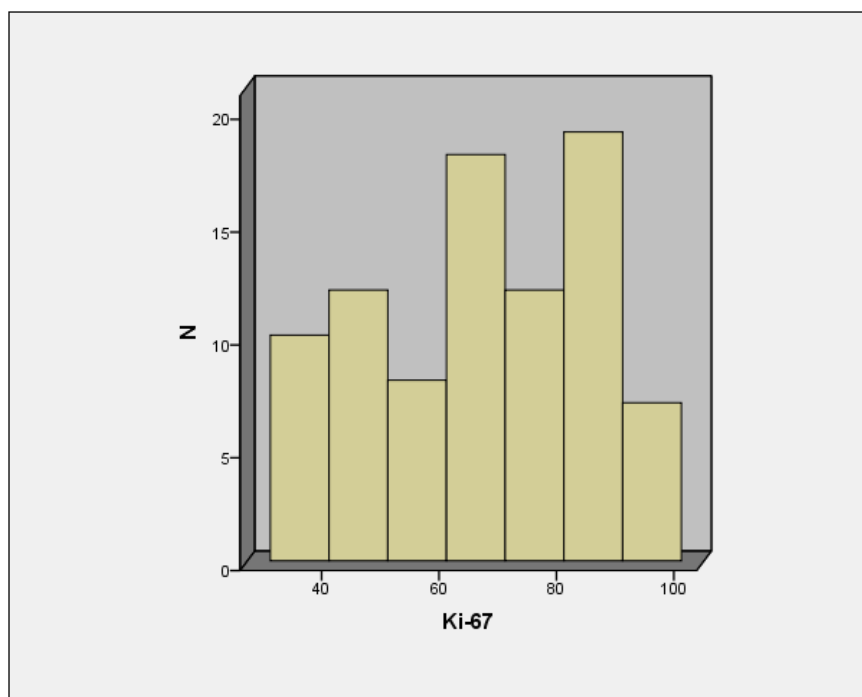
Normalnost distribucije Ki-67 proverena je pomoću dva testa: Kolmogorov-Smirnov i Shapiro-Wilk. Na osnovu oba je utvrđeno da distribucija statistički značajno odstupa od normalne,  $p=0,001$ .

Tabela 73. Testovi normalnosti distribucije ekspresije Ki-67

|       | Kolmogorov-Smirnov |           |             | Shapiro-Wilk |           |             |
|-------|--------------------|-----------|-------------|--------------|-----------|-------------|
|       | statistik          | df        | p           | statistik    | df        | p           |
| Ki-67 | <b>,128</b>        | <b>86</b> | <b>,001</b> | <b>,939</b>  | <b>86</b> | <b>,001</b> |

Na osnovu histograma i podataka o zakrivljenosti i spljoštenosti konstatuje se da je odstupanje od distribucije veće u smeru spljoštenosti distribucije nego u odstupanju od simetrije (zakrivljenosti). S obzirom da distribucija ove varijable odstupa od normalne, za analizu razlika u ekspresiji Ki-67 u zavisnosti od rezultata na drugim markerima ne može se koristiti t-test već njegovu neparametrijsku zamenu Mann-Whitney test. Za razliku od t-testa koji se koristi sa mernim varijablama, MW test se koristi na rangovima.

Grafikon 3. Histogram distribucije ekspresije Ki-7



Testiranje razlike u ekspresiji Ki-67 u zavisnosti od ekspresije drugih imunohistohemijskih markera testirano je neparametrijskom zamenom za t-test za nezavisne uzorke. Testirana varijabla je vrednost Ki-67 a grupišuće varijable su rezultati na ostalim markerima (grupe: pozitivan-negativan). U ovakvim tabelama dati su rangovi. Naime, originalni rezultati na Ki-67 se poređaju po veličini i rangiraju. Grupa koja ima viši prosečan rang ima i više vrednosti ekspresije Ki-67.

#### 4.6.3 Analiza ekspresije Ki-67 u odnosu na ekspresiju MUM1

Analiza ekspresije Ki-67 u odnosu na ekspresiju MUM1 učinjena je kod 82 bolesnika.

Tabela 74. Analiza ekspresije Ki-67 u odnosu na ekspresiju MUM1

| MUM1            | N  | prosečni rang | suma rangova |
|-----------------|----|---------------|--------------|
| negativan       | 30 | 38,53         | 1156,00      |
| Ki-67 pozitivan | 52 | 43,21         | 2247,00      |
| ukupno          | 82 |               |              |

S obzirom da je  $p > 0,05$  ni Man-Whitney U nije značajan. To znači da se pacijenti sa pozitivnom i negativnom ekspresijom MUM1 ne razlikuju statistički značajno po vrednostima Ki-67,  $p=0,389$ .

Tabela 75. Statistička značajnost razlike ekspresije Ki-67 u odnosu na ekspresiju MUM1

|                | Ki-67          |
|----------------|----------------|
| Mann-Whitney U | <b>691,000</b> |
| Wilcoxon W     | 1156,000       |
| Z              | -,862          |
| p              | <b>,389</b>    |

#### 4.6.4 Analiza ekspresije Ki-67 u odnosu na ekspresiju CD10

Analiza ekspresije Ki-67 u odnosu na CD10 je ispitana na 85 bolesnika od koji je 67 bilo CD10- a 18 CD10+.

Tabela 76. Analiza ekspresije Ki-67 u odnosu na ekspresiju CD10

|       | CD10      | N  | prosečni rang | suma rangova |
|-------|-----------|----|---------------|--------------|
|       | negativan | 67 | 43,31         | 2901,50      |
| Ki-67 | pozitivan | 18 | 41,86         | 753,50       |
|       | ukupno    | 85 |               |              |

Nema statistički značajne razlike u ekspresiji Ki-67 između CD10+ i CD10- slučajeva,  $p=0,825$ .

Tabela 77. Statistička značajnost razlike ekspresije Ki-67 u odnosu na ekspresiju CD10

|                | Ki-67          |
|----------------|----------------|
| Mann-Whitney U | <b>582,500</b> |
| Wilcoxon W     | 753,500        |
| Z              | -,222          |
| p              | <b>,825</b>    |

#### 4.6.5 Analiza ekspresije Ki-67 u odnosu na ekspresiju BCL6

Analiza ekspresije Ki-67 u odnosu na ekspresiju BCL6 je ispitana kod 83 bolesnika, od čega je bilo 40 BCL6- i 43 BCL6+.



Tabela 78. Analiza ekspresije Ki-67 u odnosu na ekspresiju BCL6

|       | BCL6      | N  | prosečni rang | suma rangova |
|-------|-----------|----|---------------|--------------|
| Ki-67 | negativan | 40 | 37,35         | 1494,00      |
|       | pozitivan | 43 | 46,33         | 1992,00      |
|       | ukupno    | 83 |               |              |

Nema statistički značajne razlike u ekspresiji Ki-67 između BCL6 negativnih i pozitivnih slučajeva,  $p=0,088$ .

Tabela 79. Statistička značajnost razlike ekspresije Ki-67 u odnosu na ekspresiju BCL6

|                | Ki-67          |
|----------------|----------------|
| Mann-Whitney U | <b>674,000</b> |
| Wilcoxon W     | 1494,000       |
| Z              | -1,705         |
| p              | <b>,088</b>    |

#### 4.6.6 Analiza ekspresije Ki-67 u odnosu na ekspresiju BCL2

Analiza ekspresije Ki-67 u odnosu na ekspresiju BCL2 je ispitana na 83 bolesnika, od čega je bilo 50 BCL2- i 33 BCL2+.

Tabela 80. Analiza ekspresije Ki-67 u odnosu na ekspresiju BCL2

|       | BCL2      | N  | prosečni rang | suma rangova |
|-------|-----------|----|---------------|--------------|
| Ki-67 | negativan | 50 | 42,48         | 2124,00      |
|       | pozitivan | 33 | 41,27         | 1362,00      |
|       | ukupno    | 83 |               |              |

Nema statistički značajne razlike u ekspresiji Ki-67 između BCL2- i BCL2+ slučajeva,  $p=0,822$ .

Tabela 81. Statistička značajnost razlike ekspresije Ki-67 u odnosu na ekspresiju BCL2

|                | Ki-67          |
|----------------|----------------|
| Mann-Whitney U | <b>801,000</b> |
| Wilcoxon W     | 1362,000       |
| Z              | -,225          |
| p              | <b>,822</b>    |

#### 4.6.7 Analiza ekspresije Ki-67 u odnosu na ekspresiju CD30

Analiza ekspresije Ki-67 u odnosu na ekspresiju CD30 je ispitana na 71 bolesniku, od čega je bilo 63 CD30- i 8 CD30+.

Tabela 82. Analiza ekspresije Ki-67 u odnosu na ekspresiju CD30

|       | CD30      | N  | prosečni rang | suma rangova |
|-------|-----------|----|---------------|--------------|
|       | negativan | 63 | 36,98         | 2330,00      |
| Ki-67 | pozitivan | 8  | 28,25         | 226,00       |
|       | ukupno    | 71 |               |              |

Nema statistički značajne razlike u ekspresiji Ki-67 između CD30 negativnih i pozitivnih slučajeva,  $p=0,257$ .

Tabela 83. Statistička značajnost razlike ekspresije Ki-67 u odnosu na ekspresiju CD30

|                | Ki-67          |
|----------------|----------------|
| Mann-Whitney U | <b>190,000</b> |
| Wilcoxon W     | 226,000        |
| Z              | -1,134         |
| p              | <b>,257</b>    |

#### 4.6.8 Analiza ekspresije Ki-67u odnosu na ekspresiju CD5

Analiza ekspresije Ki-67 u odnosu na ekspresiju CD5 je ispitana na 82 pacijenta, od čega je bilo 77 CD5- i 5 CD5+.

Tabela 84. Analiza ekspresije Ki-67u odnosu na ekspresiju CD5

|       | CD5       | N  | prosečni rang | suma rangova |
|-------|-----------|----|---------------|--------------|
|       | negativan | 77 | 40,99         | 3156,50      |
| Ki-67 | pozitivan | 5  | 49,30         | 246,50       |
|       | ukupno    | 82 |               |              |

Nema statistički značajne razlike u ekspresiji Ki-67 između CD5- i CD5+ slučajeva,  $p=0,461$ .

Tabela 85. Statistička značajnost razlike ekspresije Ki-67 u odnosu na ekspresiju CD5

|                | Ki-67          |
|----------------|----------------|
| Mann-Whitney U | <b>153,500</b> |
| Wilcoxon W     | 3156,500       |
| Z              | -,760          |
| p              | <b>,461</b>    |

#### 4.6.9 Analiza ekspresije Ki-67 u odnosu na ekspresiju CD43

Analiza ekspresije Ki-67 u odnosu na ekspresiju CD43 je ispitana kod 78 pacijenata, od čega je bilo 64 CD43- i 14 CD43+.

Tabela 86. Analiza ekspresije Ki-67 u odnosu na ekspresiju CD43

|       | CD43      | N  | prosečni rang | suma rangova |
|-------|-----------|----|---------------|--------------|
|       | negativan | 64 | 38,83         | 2485,00      |
| Ki-67 | pozitivan | 14 | 42,57         | 596,00       |
|       | ukupno    | 78 |               |              |

Nema statistički značajne razlike u ekspresiji Ki-67 između CD43- i CD43+ slučajeva,  $p=0,573$ .

Tabela 87. Statistička značajnost razlike ekspresije Ki-67 u odnosu na ekspresiju CD43

|                | Ki-67          |
|----------------|----------------|
| Mann-Whitney U | <b>405,000</b> |
| Wilcoxon W     | 2485,000       |
| Z              | -,563          |
| p              | <b>,573</b>    |

#### 4.6.10 Analiza ekspresije Ki-67 u odnosu na ekspresiju EBV LMP

Analiza ekspresije Ki-67 u odnosu na ekspresiju EBV LMP je ispitana na 66 bolesnika, od čega je bilo 41 EBV LMP negativnih i 25 EBV LMP pozitivnih.

Tabela 88. Analiza ekspresije Ki-67 u odnosu na ekspresiju EBV LMP

|       | EBV LMP   | N  | prosečni rang | suma rangova |
|-------|-----------|----|---------------|--------------|
|       | negativan | 41 | 32,90         | 1349,00      |
| Ki-67 | pozitivan | 25 | 34,48         | 862,00       |
|       | ukupno    | 66 |               |              |

Nema statistički značajne razlike u ekspresiji Ki-67 između EBV LMP- i EBV LMP+ slučajeva,  $p=0,745$ .

Tabela 89. Statistička značajnost razlike ekspresije Ki-67 u odnosu na ekspresiju EBV LMP

|                | Ki-67          |
|----------------|----------------|
| Mann-Whitney U | <b>488,000</b> |
| Wilcoxon W     | 1349,000       |
| Z              | -,326          |
| p              | <b>,745</b>    |

#### 4.6.11 Analiza ekspresije Ki-67 u odnosu na ekspresiju VEGF

Analiza ekspresije Ki-67 u odnosu na ekspresiju VEGF je ispitana na 65 bolesnika, od čega je bilo 47 VEGF- i 18 VEGF+ slučajeva.

Tabela 90. Analiza ekspresije Ki-67 u odnosu na ekspresiju VEGF

|       | VEGF      | N  | prosečni rang | suma rangova |
|-------|-----------|----|---------------|--------------|
|       | negativan | 47 | 31,50         | 1480,50      |
| Ki-67 | pozitivan | 18 | 36,92         | 664,50       |
|       | ukupno    | 65 |               |              |

Nema statistički značajne razlike u ekspresiji Ki-67 između VEGF- i VEGF+ slučajeva,  $p=0,298$ .

Tabela 91. Statistička značajnost razlike ekspresije Ki-67 u odnosu na ekspresiju VEGF

|                | Ki-67          |
|----------------|----------------|
| Mann-Whitney U | <b>352,500</b> |
| Wilcoxon W     | 1480,500       |
| Z              | -1,040         |
| p              | <b>,298</b>    |

#### 4.6.12 Analiza ekspresije Ki-67 u odnosu na ekspresiju COX2

Analiza ekspresije Ki-67 u odnosu na ekspresiju COX2 je ispitana na 66 bolesnika, od čega je bilo 24 COX2 negativnih slučajeva i 42 COX2 pozitivnih.

Tabela 92. Analiza ekspresije Ki-67 u odnosu na ekspresiju COX2

|       | COX2      | N  | prosečni rang | suma rangova |
|-------|-----------|----|---------------|--------------|
|       | negativan | 24 | 25,21         | 605,00       |
| Ki-67 | pozitivan | 42 | 38,24         | 1606,00      |
|       | ukupno    | 66 |               |              |

Postoji statistički značajna razlika između ekspresije Ki-67 kod COX2 negativnih i pozitivnih slučajeva,  $p=0,008$ . Ispitanici sa pozitivnom ekspresijom COX2 imaju značajno izraženiju ekspresiju Ki-67.

Tabela 93. Statistička značajnost razlike ekspresije Ki-67 u odnosu na ekspresiju COX2

|                | Ki-67          |
|----------------|----------------|
| Mann-Whitney U | <b>305,000</b> |
| Wilcoxon W     | 605,000        |
| Z              | -2,668         |
| p              | <b>,008</b>    |

#### 4.6.13 Analiza ekspresije Ki-67 u odnosu na ekspresiju BAFFR

Analiza ekspresije Ki-67 u odnosu na ekspresiju BAFFR je ispitana na 65 bolesnika, od čega je bilo 35 BAFFR negativnih slučajeva i 30 BAFFR pozitivnih.

Tabela 94. Analiza ekspresije Ki-67 u odnosu na ekspresiju BAFFR

|       | BAFFR     | N  | prosečni rang | suma rangova |
|-------|-----------|----|---------------|--------------|
|       | negativan | 35 | 32,69         | 1144,00      |
| Ki-67 | pozitivan | 30 | 33,37         | 1001,00      |
|       | ukupno    | 65 |               |              |

Nema statistički značajne razlike u ekspresiji Ki-67 između BAFFR- i BAFFR+ slučajeva,  $p=0,884$ ,

Tabela 95. Statistička značajnost razlike ekspresije Ki-67 u odnosu na ekspresiju BAFFR

|                | Ki-67          |
|----------------|----------------|
| Mann-Whitney U | <b>514,000</b> |
| Wilcoxon W     | 1144,000       |
| Z              | -,146          |
| p              | <b>,884</b>    |

#### 4.6.14 Analiza ekspresije Ki-67 u odnosu na ekspresiju TACI

Analiza ekspresije Ki-67 u odnosu na ekspresiju TACI je ispitana na 66 bolesnika, od čega je bilo 37 TACI- i 29 TACI+.

Tabela 96. Analiza ekspresije Ki-67 u odnosu na ekspresiju TACI

|       | TACI      | N  | prosečni rang | suma rangova |
|-------|-----------|----|---------------|--------------|
| Ki-67 | negativan | 37 | 29,11         | 1077,00      |
|       | pozitivan | 29 | 39,10         | 1134,00      |
|       | ukupno    | 66 |               |              |

Postoji statistički značajna razlika u ekspresiji Ki-67 između bolesnika sa pozitivnom i negativnom ekspresijom TACI. Ispitanici sa pozitivnom ekspresijom TACI imaju statistički značajno veću ekspresiju Ki-67,  $p=0,035$ .

Tabela 97. Statistička značajnost razlike ekspresije Ki-67 u odnosu na ekspresiju TACI

|                | Ki-67          |
|----------------|----------------|
| Mann-Whitney U | <b>374,000</b> |
| Wilcoxon W     | 1077,000       |
| Z              | -2,112         |
| p              | <b>,035</b>    |

#### 4.6.15 Analiza ekspresije Ki-67 u odnosu na ekspresiju BCMA

Analiza ekspresije Ki-67 u odnosu na ekspresiju BCMA je ispitana kod 66 bolesnika, od čega je bilo 59 BCMA- slučajeva i 7 BCMA+ slučajeva.



S obzirom da raspodela Ki-67 nije normalna, kao što je već rečeno, izračunate su i neparametrijske korelacije i to koeficijent ranga korelacije Spearmanov  $\rho$  i koeficijent ranga korelacije Kendallov Tau-b. Za razliku od Spearmanovog koeficijenta, Kendallov vodi više računa o vezanim rangovima i zato je ovde nešto niži. I Pearsonov i dva neparametrijska koeficijenta pokazuju isto. Postoji samo pozitivna veza između ekspresije Ki-67 sa jedne strane i ekspresije COX2 i TACI sa druge. Jedina razlika je u visini koeficijenata. Npr. Pearsonov i Spearmanov koeficijent korelacije ekspresije Ki-67 i COX2 spadaju u niske, dok Kendallov spada u neznatne. Svi koeficijenti korelacije između Ki-67 i TACI su neznatni.

Tabela 101. Neparametrijski koeficijenti korelacije ekspresije Ki-67 i preostalih primenjenih imunohistohemijskih markera (Kendall-ov Tau-b ( $T_b$ ) i Spearman-ov  $\rho$ ).

|       |        | MUM1CD10BCL6BCL2CD30CD5CD43EBV<br>LMP |       |      |       |       |      |      |      | VEGF | COX2        | BAFF | RTACI       | BCMA  |
|-------|--------|---------------------------------------|-------|------|-------|-------|------|------|------|------|-------------|------|-------------|-------|
| Ki-67 | $T_b$  | ,082                                  | -,021 | ,161 | -,021 | -,116 | ,072 | ,055 | ,035 | ,111 | <b>,283</b> | ,016 | <b>,224</b> | -,040 |
|       | $\rho$ | ,389                                  | ,825  | ,088 | ,822  | ,257  | ,447 | ,573 | ,745 | ,298 | <b>,008</b> | ,884 | <b>,035</b> | ,706  |
|       | N      | 82                                    | 85    | 83   | 83    | 71    | 82   | 78   | 66   | 65   | <b>66</b>   | 65   | <b>66</b>   | 66    |
| Ki-67 | $\rho$ | ,096                                  | -,024 | ,188 | -,025 | -,136 | ,084 | ,064 | ,040 | ,130 | <b>,331</b> | ,018 | <b>,262</b> | -,047 |
|       | $\rho$ | ,392                                  | ,826  | ,088 | ,824  | ,260  | ,451 | ,577 | ,747 | ,302 | <b>,007</b> | ,886 | <b>,034</b> | ,709  |
|       | N      | 82                                    | 85    | 83   | 83    | 71    | 82   | 78   | 66   | 65   | <b>66</b>   | 65   | <b>66</b>   | 66    |

U tabelama kontingencije povezanost i razlike između ekspresija imunohistohemijskih markera čije su vrednosti izražene kategorijama pozitivan/negativan ispitivana je Pearsonovim hi-kvadrat testom (za nezavisne uzorke).

#### 4.6.17 Analiza ekspresije MUM1 u odnosu na ekspresiju CD10

Analiza ekspresije MUM1 u odnosu na ekspresiju CD10 je ispitana kod 85 pacijenata.

Tabela 102. Analiza ekspresije MUM1 u odnosu na ekspresiju CD10

|        |           | CD10      |           | ukupno |        |
|--------|-----------|-----------|-----------|--------|--------|
|        |           | negativan | pozitivan |        |        |
| MUM1   | negativan | N         | 24        | 8      | 32     |
|        |           | %         | 75,0%     | 25,0%  | 100,0% |
|        | pozitivan | N         | 45        | 8      | 53     |
|        |           | %         | 84,9%     | 15,1%  | 100,0% |
| ukupno | N         | 69        | 16        | 85     |        |
|        | %         | 81,2%     | 18,8%     | 100,0% |        |



Hi-kvadrat test nije statistički značajan. Nema statistički značajne razlike u ekspresiji MUM1 u odnosu na ekspresiju CD10,  $\chi^2(1, N=85)=0,715$ ,  $p=0,398$ .

#### 4.6.18 Analiza ekspresije MUM1 u odnosu na ekspresiju BCL6

Analiza ekspresije MUM1 u odnosu na ekspresiju BCL6 je ispitana kod 84 bolesnika.

Tabela 103. Analiza ekspresije MUM1 u odnosu na ekspresiju BCL6

|        |           | BCL6      |           | ukupno |        |
|--------|-----------|-----------|-----------|--------|--------|
|        |           | negativan | pozitivan |        |        |
| MUM1   | negativan | N         | 17        | 15     | 32     |
|        |           | %         | 53,1%     | 46,9%  | 100,0% |
|        | pozitivan | N         | 23        | 29     | 52     |
|        |           | %         | 44,2%     | 55,8%  | 100,0% |
| ukupno | N         | 40        | 44        | 84     |        |
|        |           | %         | 47,6%     | 52,4%  | 100,0% |

Hi-kvadrat nije statistički značajan. Nema statistički značajne razlike u ekspresiji MUM1 u odnosu na ekspresiju BCL6,  $\chi^2(1, N=84)=0,322$ ,  $p=0,570$ .

#### 4.6.19 Analiza ekspresije MUM1 u odnosu na ekspresiju BCL2

Analiza ekspresije MUM1 u odnosu na ekspresiju BCL2 je ispitana na 85 bolesnika.

Tabela 104. Analiza ekspresije MUM1 u odnosu na ekspresiju BCL2

|        |           | BCL2      |           | ukupno |        |
|--------|-----------|-----------|-----------|--------|--------|
|        |           | negativan | pozitivan |        |        |
| MUM1   | negativan | N         | 23        | 10     | 33     |
|        |           | %         | 69,7%     | 30,3%  | 100,0% |
|        | pozitivan | N         | 27        | 25     | 52     |
|        |           | %         | 51,9%     | 48,1%  | 100,0% |
| ukupno | N         | 50        | 35        | 85     |        |
|        |           | %         | 58,8%     | 41,2%  | 100,0% |

Hi-kvadrat nije statistički značajan. Pacijenti sa pozitivnom i negativnom ekspresijom MUM1 se statistički ne razlikuju značajno u odnosu na ekspresiju BCL2,  $\chi^2(1, N=85)=1,950$ ,  $p=0,163$ .

#### 4.6.20 Analiza ekspresije MUM1 u odnosu na ekspresiju CD30

Analiza ekspresije MUM1 u odnosu na ekspresiju CD30 je ispitana na 71 bolesniku.

Tabela 105. Analiza ekspresije MUM1 u odnosu na ekspresiju CD30

|        |           | CD30      |           | ukupno |        |
|--------|-----------|-----------|-----------|--------|--------|
|        |           | negativan | pozitivan |        |        |
| MUM1   | negativan | N         | 25        | 1      | 26     |
|        |           | %         | 96,2%     | 3,8%   | 100,0% |
|        | pozitivan | N         | 39        | 6      | 45     |
|        |           | %         | 86,7%     | 13,3%  | 100,0% |
| ukupno | N         | 64        | 7         | 71     |        |
|        | %         | 90,1%     | 9,9%      | 100,0% |        |

Hi-kvadrat test nije statistički značajan. Slučajevi sa pozitivnom i negativnom ekspresijom MUM1 se ne razlikuju statistički značajno u odnosu na ekspresiju CD30,  $\chi^2(1, N=71)=0,772$ ,  $p=0,380$ .

#### 4.6.21 Analiza ekspresije MUM1 u odnosu na ekspresiju CD5

Analiza ekspresije MUM1 u odnosu na ekspresiju CD5 je ispitana kod 83 bolesnika.

Tabela 106. Analiza ekspresije MUM1 u odnosu na ekspresiju CD5

|        |           | CD5       |           | ukupno |        |
|--------|-----------|-----------|-----------|--------|--------|
|        |           | negativan | pozitivan |        |        |
| MUM1   | negativan | N         | 29        | 1      | 30     |
|        |           | %         | 96,7%     | 3,3%   | 100,0% |
|        | pozitivan | N         | 48        | 5      | 53     |
|        |           | %         | 90,6%     | 9,4%   | 100,0% |
| ukupno | N         | 77        | 6         | 83     |        |
|        | %         | 92,8%     | 7,2%      | 100,0% |        |

Hi-kvadrat nije statistički značajan. Slučajevi sa pozitivnom i negativnom ekspresijom MUM1 se ne razlikuju statistički značajno u odnosu na ekspresiju CD5,  $\chi^2(1, N=83)=0,348$ ,  $p=0,555$ .

#### 4.6.22 Analiza ekspresije MUM1 u odnosu na ekspresiju CD43

Analiza ekspresije MUM1 u odnosu na ekspresiju CD43 je ispitana kod 78 pacijenata.

Tabela 107. Analiza ekspresije MUM1 u odnosu na ekspresiju CD43

|        |           | CD43      |           | ukupno |        |
|--------|-----------|-----------|-----------|--------|--------|
|        |           | negativan | pozitivan |        |        |
| MUM1   | negativan | N         | 25        | 4      | 29     |
|        |           | %         | 86,2%     | 13,8%  | 100,0% |
|        | pozitivan | N         | 39        | 10     | 49     |
|        |           | %         | 79,6%     | 20,4%  | 100,0% |
| ukupno | N         | 64        | 14        | 78     |        |
|        | %         | 82,1%     | 17,9%     | 100,0% |        |

Hi-kvadrat nije statistički značajan. Nema statistički značajne razlike između pozitivne i negativne ekspresije MUM 1 u odnosu na ekspresiju CD43,  $\chi^2(1, N=78)=0,185$ ,  $p=0,667$ .

#### 4.6.23 Analiza ekspresije MUM1 u odnosu na ekspresiju EBV LMP

Analiza ekspresije MUM1 u odnosu na ekspresiju EBV LMP je ispitana na 66 pacijenata.

Tabela 108. Analiza ekspresije MUM1 u odnosu na ekspresiju EBV LMP

|        |           | EBV LMP   |           | ukupno |        |
|--------|-----------|-----------|-----------|--------|--------|
|        |           | negativan | pozitivan |        |        |
| MUM1   | negativan | N         | 16        | 7      | 23     |
|        |           | %         | 69,6%     | 30,4%  | 100,0% |
|        | pozitivan | N         | 25        | 18     | 43     |
|        |           | %         | 58,1%     | 41,9%  | 100,0% |
| ukupno | N         | 41        | 25        | 66     |        |
|        | %         | 62,1%     | 37,9%     | 100,0% |        |

Hi-kvadrat nije statistički značajan. Nema statistički značajne razlike između pozitivne i negativne ekspresije MUM1 u odnosu na ekspresiju EBV LMP,  $\chi^2(1, N=66)=0,417$ ,  $p=0,519$ .

#### 4.6.24 Analiza ekspresije MUM1 u odnosu na ekspresiju VEGF

Analiza ekspresije MUM1 u odnosu na ekspresiju VEGF je ispitana na 65 bolesnika.

Tabela 109. Analiza ekspresije MUM1 u odnosu na ekspresiju VEGF

|        |           | VEGF      |           | ukupno |        |
|--------|-----------|-----------|-----------|--------|--------|
|        |           | negativan | pozitivan |        |        |
| MUM1   | negativan | N         | 17        | 6      | 23     |
|        |           | %         | 73,9%     | 26,1%  | 100,0% |
|        | pozitivan | N         | 30        | 12     | 42     |
|        |           | %         | 71,4%     | 28,6%  | 100,0% |
| ukupno | N         | 47        | 18        | 65     |        |
|        | %         | 72,3%     | 27,7%     | 100,0% |        |

Hi-kvadrat nije statistički značajan. Nema statistički značajne razlike između pozitivne i negativne ekspresije MUM1 i ekspresije VEGF,  $\chi^2(1, N=65)=0,000$ ,  $p=1,000$ .

#### 4.6.25 Analiza ekspresije MUM1 u odnosu na ekspresiju COX2

Analiza ekspresije MUM1 u odnosu na ekspresiju COX2 je ispitana na 66 bolesnika.

Tabela 110. Analiza ekspresije MUM1 u odnosu na ekspresiju COX2

|        |           | COX2      |           | ukupno |        |
|--------|-----------|-----------|-----------|--------|--------|
|        |           | negativan | pozitivan |        |        |
| MUM1   | negativan | N         | 9         | 14     | 23     |
|        |           | %         | 39,1%     | 60,9%  | 100,0% |
|        | pozitivan | N         | 15        | 28     | 43     |
|        |           | %         | 34,9%     | 65,1%  | 100,0% |
| ukupno | N         | 24        | 42        | 66     |        |
|        | %         | 36,4%     | 63,6%     | 100,0% |        |

Hi-kvadrat nije statistički značajan. Nema značajne razlike između pozitivne i negativne ekspresije MUM u odnosu na ekspresiju COX2,  $\chi^2(1, N=66)=0,005$ ,  $p=0,942$ .

#### 4.6.26 Analiza ekspresije MUM1 u odnosu na ekspresiju BAFFR

Analiza ekspresije MUM1 u odnosu na ekspresiju BAFFR je ispitana na 65 bolesnika.

Tabela 111. Analiza ekspresije MUM1 u odnosu na ekspresiju BAFFR

|        |           | BAFFR     |           | ukupno |        |
|--------|-----------|-----------|-----------|--------|--------|
|        |           | negativan | pozitivan |        |        |
| MUM1   | negativan | N         | 12        | 11     | 23     |
|        |           | %         | 52,2%     | 47,8%  | 100,0% |
|        | pozitivan | N         | 23        | 19     | 42     |
|        |           | %         | 54,8%     | 45,2%  | 100,0% |
| ukupno |           | N         | 35        | 30     | 65     |
|        |           | %         | 53,8%     | 46,2%  | 100,0% |

Hi-kvadrat nije statistički značajan. Nema značajne razlike između pozitivne i negativne ekspresije MUM1 u odnosu na ekspresiju BAFFR,  $\chi^2(1, N=65)=0,000$ ,  $p=1,000$ .

#### 4.6.27 Analiza ekspresije MUM1 u odnosu na ekspresiju TACI

Analiza ekspresije MUM1 u odnosu na ekspresiju TACI je ispitana na 66 bolesnika.

Tabela 112. Analiza ekspresije MUM1 u odnosu na ekspresiju TACI

|        |           | TACI      |           | ukupno |        |
|--------|-----------|-----------|-----------|--------|--------|
|        |           | negativan | pozitivan |        |        |
| MUM1   | negativan | N         | 15        | 8      | 23     |
|        |           | %         | 65,2%     | 34,8%  | 100,0% |
|        | pozitivan | N         | 22        | 21     | 43     |
|        |           | %         | 51,2%     | 48,8%  | 100,0% |
| ukupno |           | N         | 37        | 29     | 66     |
|        |           | %         | 56,1%     | 43,9%  | 100,0% |

Hi-kvadrat nije statistički značajan. Nema značajne razlike između pozitivne i negativne ekspresije MUM1 u odnosu na ekspresiju TACI,  $\chi^2(1, N=66)=0,699$ ,  $p=0,403$ .

#### 4.6.28 Analiza ekspresije MUM1 u odnosu na ekspresiju BCMA

Analiza ekspresije MUM1 u odnosu na ekspresiju BCMA je ispitana na 66 bolesnika.

Tabela 113. Analiza ekspresije MUM1 u odnosu na ekspresiju BCMA

|        |           | BCMA      |           | ukupno |        |
|--------|-----------|-----------|-----------|--------|--------|
|        |           | negativan | pozitivan |        |        |
| MUM1   | negativan | N         | 22        | 1      | 23     |
|        |           | %         | 95,7%     | 4,3%   | 100,0% |
|        | pozitivan | N         | 37        | 6      | 43     |
|        |           | %         | 86,0%     | 14,0%  | 100,0% |
| ukupno | N         | 59        | 7         | 66     |        |
|        | %         | 89,4%     | 10,6%     | 100,0% |        |

Hi-kvadrat nije statistički značajan. Nema značajne razlike između pozitivne i negativne ekspresije MUM1 u odnosu na ekspresiju BCMA,  $\chi^2(1, N=66)=0,621$ ,  $p=0,431$ .

#### 4.6.29 Analiza ekspresije CD10 u odnosu na ekspresiju BCL6

Analiza ekspresije CD10 u odnosu na ekspresiju BCL6 je ispitana na 86 bolesnika.

Tabela 114. Analiza ekspresije CD10 u odnosu na ekspresiju BCL6

|        |           | BCL6      |           | ukupno |        |
|--------|-----------|-----------|-----------|--------|--------|
|        |           | negativan | pozitivan |        |        |
| CD10   | negativan | N         | 36        | 32     | 68     |
|        |           | %         | 52,9%     | 47,1%  | 100,0% |
|        | pozitivan | N         | 6         | 12     | 18     |
|        |           | %         | 33,3%     | 66,7%  | 100,0% |
| ukupno | N         | 42        | 44        | 86     |        |
|        | %         | 48,8%     | 51,2%     | 100,0% |        |

Hi-kvadrat nije statistički značajan. Nema značajne razlike između pozitivne i negativne ekspresije CD10 u odnosu na ekspresiju BCL6,  $\chi^2(1, N=86)=1,476$ ,  $p=0,224$ .

#### 4.6.30 Analiza ekspresije CD10 u odnosu na ekspresiju BCL2

Analiza ekspresije CD10 u odnosu na ekspresiju BCL2 je ispitana kod 87 bolesnika.

Tabela 115. Analiza ekspresije CD10 u odnosu na ekspresiju BCL2

|        |           | BCL2      |           | ukupno |        |
|--------|-----------|-----------|-----------|--------|--------|
|        |           | negativan | pozitivan |        |        |
| CD10   | negativan | N         | 43        | 26     | 69     |
|        |           | %         | 62,3%     | 37,7%  | 100,0% |
|        | pozitivan | N         | 10        | 8      | 18     |
|        |           | %         | 55,6%     | 44,4%  | 100,0% |
| ukupno |           | N         | 53        | 34     | 87     |
|        |           | %         | 60,9%     | 39,1%  | 100,0% |

Hi-kvadrat nije statistički značajan. Nema značajne razlike između pozitivne i negativne ekspresije CD10 u odnosu na ekspresiju BCL2,  $\chi^2(1, N=87)=0,064$ ,  $p=0,801$ .

#### 4.6.31 Analiza ekspresije CD10 u odnosu na ekspresiju CD30

Analiza ekspresije CD10 u odnosu na ekspresiju CD30 je ispitana na 74 bolesnika.

Tabela 116. Analiza ekspresije CD10 u odnosu na ekspresiju CD30

|        |           | CD30      |           | ukupno |        |
|--------|-----------|-----------|-----------|--------|--------|
|        |           | negativan | pozitivan |        |        |
| CD10   | negativan | N         | 52        | 7      | 59     |
|        |           | %         | 88,1%     | 11,9%  | 100,0% |
|        | pozitivan | N         | 14        | 1      | 15     |
|        |           | %         | 93,3%     | 6,7%   | 100,0% |
| ukupno |           | N         | 66        | 8      | 74     |
|        |           | %         | 89,2%     | 10,8%  | 100,0% |

Hi-kvadrat nije statistički značajan. Nema značajne razlike između pozitivne i negativne ekspresije CD10 u odnosu na ekspresiju CD30,  $\chi^2(1, N=74)=0,013$ ,  $p=0,910$ .

#### 4.6.32 Analiza ekspresije CD10 u odnosu na ekspresiju CD5

Analiza ekspresije CD10 u odnosu na ekspresiju CD5 je ispitana na 85 bolesnika.

Tabela 117. Analiza ekspresije CD10 u odnosu na ekspresiju CD5

|        |           | CD5       |           | ukupno |        |
|--------|-----------|-----------|-----------|--------|--------|
|        |           | negativan | pozitivan |        |        |
| CD10   | negativan | N         | 65        | 3      | 68     |
|        |           | %         | 95,6%     | 4,4%   | 100,0% |
|        | pozitivan | N         | 15        | 2      | 17     |
|        |           | %         | 88,2%     | 11,8%  | 100,0% |
| ukupno | N         | 80        | 5         | 85     |        |
|        | %         | 94,1%     | 5,9%      | 100,0% |        |

Hi-kvadrat nije statistički značajan. Nema značajne razlike između pozitivne i negativne ekspresije CD10 u odnosu na ekspresiju CD5,  $\chi^2(1, N=85)=0,332$ ,  $p=0,564$ .

#### 4.6.33 Analiza ekspresije CD10 u odnosu na ekspresiju CD43

Analiza ekspresije CD10 u odnosu na ekspresiju CD43 je ispitana kod 81 bolesnika.

Tabela 118. Analiza ekspresije CD10 u odnosu na ekspresiju CD43

|        |           | CD43      |           | ukupno |        |
|--------|-----------|-----------|-----------|--------|--------|
|        |           | negativan | pozitivan |        |        |
| CD10   | negativan | N         | 52        | 12     | 64     |
|        |           | %         | 81,2%     | 18,8%  | 100,0% |
|        | pozitivan | N         | 14        | 2      | 16     |
|        |           | %         | 87,5%     | 12,5%  | 100,0% |
| ukupno | N         | 66        | 14        | 80     |        |
|        | %         | 82,5%     | 17,5%     | 100,0% |        |

Hi-kvadrat nije statistički značajan. Nema značajne razlike između negativne i pozitivne ekspresije CD10 u odnosu na ekspresiju CD43,  $\chi^2(1, N=80)=0,049$ ,  $p=0,825$ .

#### 4.6.34 Analiza ekspresije CD10 u odnosu na ekspresiju EBV LMP

Analiza ekspresije CD10 u odnosu na ekspresiju EBV LMP je ispitana na 66 bolesnika.



Tabela 119. Analiza ekspresije CD10 u odnosu na ekspresiju EBV LMP

|        |           | EBV LMP   |           | ukupno |        |
|--------|-----------|-----------|-----------|--------|--------|
|        |           | negativan | pozitivan |        |        |
| CD10   | negativan | N         | 32        | 21     | 53     |
|        |           | %         | 60,4%     | 39,6%  | 100,0% |
|        | pozitivan | N         | 9         | 4      | 13     |
|        |           | %         | 69,2%     | 30,8%  | 100,0% |
| ukupno |           | N         | 41        | 25     | 66     |
|        |           | %         | 62,1%     | 37,9%  | 100,0% |

Hi-kvadrat nije statistički značajan. Nema značajne razlike između negativne i pozitivne ekspresije CD10 u odnosu na ekspresiju EBV LMP,  $\chi^2(1, N=66)=0,073$ ,  $p=0,787$ .

#### 4.6.35 Analiza ekspresije CD10 u odnosu na ekspresiju VEGF

Analiza ekspresije CD10 u odnosu na ekspresiju VEGF je ispitana na 65 bolesnika.

Tabela 120. Analiza ekspresije CD10 u odnosu na ekspresiju VEGF

|        |           | VEGF      |           | ukupno |        |
|--------|-----------|-----------|-----------|--------|--------|
|        |           | negativan | pozitivan |        |        |
| CD10   | negativan | N         | 39        | 13     | 52     |
|        |           | %         | 75,0%     | 25,0%  | 100,0% |
|        | pozitivan | N         | 8         | 5      | 13     |
|        |           | %         | 61,5%     | 38,5%  | 100,0% |
| ukupno |           | N         | 47        | 18     | 65     |
|        |           | %         | 72,3%     | 27,7%  | 100,0% |

Hi-kvadrat nije statistički značajan. Nema značajne razlike između pozitivne i negativne ekspresije CD10 u odnosu na ekspresiju VEGF,  $\chi^2(1, N=65)=0,389$ ,  $p=0,533$ .

#### 4.6.36 Analiza ekspresije CD10 u odnosu na ekspresiju COX2

Analiza ekspresije CD10 u odnosu na ekspresiju COX2 je ispitana na 66 bolesnika.

Tabela 121. Analiza ekspresije CD10 u odnosu na ekspresiju COX2

|        |           | COX2      |           | ukupno |        |
|--------|-----------|-----------|-----------|--------|--------|
|        |           | negativan | pozitivan |        |        |
| CD10   | negativan | N         | 20        | 33     | 53     |
|        |           | %         | 37,7%     | 62,3%  | 100,0% |
|        | pozitivan | N         | 4         | 9      | 13     |
|        |           | %         | 30,8%     | 69,2%  | 100,0% |
| ukupno |           | N         | 24        | 42     | 66     |
|        |           | %         | 36,4%     | 63,6%  | 100,0% |

Hi-kvadrat nije statistički značajan. Nema značajne razlike između pozitivne i negativne ekspresije CD10 u odnosu na ekspresiju COX2,  $\chi^2(1, N=66)=0,021$ ,  $p=0,884$ .

#### 4.6.37 Analiza povezanosti ekspresije CD10 u odnosu na ekspresiju BAFFR

Analiza povezanosti ekspresije CD10 i BAFFR je ispitana na 65 bolesnika.

Tabela 122. Analiza povezanosti ekspresije CD10 u odnosu na ekspresiju BAFFR

|        |           | BAFFR     |           | ukupno |        |
|--------|-----------|-----------|-----------|--------|--------|
|        |           | negativan | pozitivan |        |        |
| CD10   | negativan | N         | 31        | 21     | 52     |
|        |           | %         | 59,6%     | 40,4%  | 100,0% |
|        | pozitivan | N         | 4         | 9      | 13     |
|        |           | %         | 30,8%     | 69,2%  | 100,0% |
| ukupno |           | N         | 35        | 30     | 65     |
|        |           | %         | 53,8%     | 46,2%  | 100,0% |

Hi-kvadrat nije statistički značajan. Nema značajne razlike između pozitivne i negativne ekspresije CD10 u odnosu na ekspresiju BAFFR,  $\chi^2(1, N=65)=2,418$ ,  $p=0,120$ .

#### 4.6.38 Analiza ekspresije CD10 u odnosu na ekspresiju TACI

Analiza ekspresije CD10 u odnosu na ekspresiju TACI je ispitana na 66 bolesnika.

Tabela 123. Analiza ekspresije CD10 u odnosu na ekspresiju TACI

|        |           | TACI      |           | ukupno |        |
|--------|-----------|-----------|-----------|--------|--------|
|        |           | negativan | pozitivan |        |        |
| CD10   | negativan | N         | 32        | 21     | 53     |
|        |           | %         | 60,4%     | 39,6%  | 100,0% |
|        | pozitivan | N         | 5         | 8      | 13     |
|        |           | %         | 38,5%     | 61,5%  | 100,0% |
| ukupno |           | N         | 37        | 29     | 66     |
|        |           | %         | 56,1%     | 43,9%  | 100,0% |

Hi-kvadrat nije statistički značajan. Slučajevi sa pozitivnom i negativnom ekspresijom CD10 se ne razlikuju značajno u odnosu na ekspresiju TACI,  $\chi^2(1, N=66)=1,243$ ,  $p=0,265$ .

#### 4.6.39 Analiza ekspresije CD10 u odnosu na ekspresiju BCMA

Analiza ekspresije CD10 u odnosu na ekspresiju BCMA je ispitana na 66 bolesnika.

Tabela 124. Analiza ekspresije CD10 u odnosu na ekspresiju BCMA

|        |           | BCMA      |           | ukupno |        |
|--------|-----------|-----------|-----------|--------|--------|
|        |           | negativan | pozitivan |        |        |
| CD10   | negativan | N         | 46        | 7      | 53     |
|        |           | %         | 86,8%     | 13,2%  | 100,0% |
|        | pozitivan | N         | 13        | 0      | 13     |
|        |           | %         | 100,0%    | 0,0%   | 100,0% |
| ukupno |           | N         | 59        | 7      | 66     |
|        |           | %         | 89,4%     | 10,6%  | 100,0% |

Hi-kvadrat nije statistički značajan. Nema značajne razlike između pozitivne i negativne ekspresije CD10 i ekspresije BCMA,  $\chi^2(1, N=66)=0,780$ ,  $p=0,377$ .

#### 4.6.40 Analiza ekspresije BCL6 u odnosu na ekspresiju BCL2

Analiza ekspresije BCL6 u odnosu na ekspresiju BCL2 je ispitana na 86 bolesnika.

Tabela 125. Analiza ekspresije BCL6 u odnosu na ekspresiju BCL2

|        |           | BCL2      |           | ukupno |        |
|--------|-----------|-----------|-----------|--------|--------|
|        |           | negativan | pozitivan |        |        |
| BCL6   | negativan | N         | 28        | 14     | 42     |
|        |           | %         | 66,7%     | 33,3%  | 100,0% |
|        | pozitivan | N         | 24        | 20     | 44     |
|        |           | %         | 54,5%     | 45,5%  | 100,0% |
| ukupno | N         | 52        | 34        | 86     |        |
|        |           | %         | 60,5%     | 39,5%  | 100,0% |

Hi-kvadrat nije statistički značajan. Nema statistički značajne razlike između negativne i pozitivne ekspresije BCL6 u odnosu na ekspresiju BCL2,  $\chi^2(1, N=86)=0,862, p=0,353$ .

#### 4.6.41 Analiza ekspresije BCL6 u odnosu na ekspresiju CD30

Analiza ekspresije BCL6 u odnosu na ekspresiju CD30 je ispitana na 73 pacijenta.

Tabela 126. Analiza ekspresije BCL6 u odnosu na ekspresiju CD30

|        |           | CD30      |           | ukupno |        |
|--------|-----------|-----------|-----------|--------|--------|
|        |           | negativan | pozitivan |        |        |
| BCL6   | negativan | N         | 32        | 2      | 34     |
|        |           | %         | 94,1%     | 5,9%   | 100,0% |
|        | pozitivan | N         | 34        | 5      | 39     |
|        |           | %         | 87,2%     | 12,8%  | 100,0% |
| ukupno | N         | 66        | 7         | 73     |        |
|        |           | %         | 90,4%     | 9,6%   | 100,0% |

Hi-kvadrat nije statistički značajan. Nema značajne razlike između pozitivne i negativne ekspresije BCL6 u odnosu na ekspresiju CD30,  $\chi^2(1, N=73)=0,367, p=0,545$ .

#### 4.6.42 Analiza ekspresije BCL6 u odnosu na ekspresiju CD5

Analiza ekspresije BCL6 u odnosu na ekspresiju CD5 je ispitana na 82 pacijenta.

Tabela 127. Analiza ekspresije BCL6 u odnosu na ekspresiju CD5

|        |           | CD5       |           | ukupno |        |
|--------|-----------|-----------|-----------|--------|--------|
|        |           | negativan | pozitivan |        |        |
| BCL6   | negativan | N         | 37        | 3      | 40     |
|        |           | %         | 92,5%     | 7,5%   | 100,0% |
|        | pozitivan | N         | 40        | 2      | 42     |
|        |           | %         | 95,2%     | 4,8%   | 100,0% |
| ukupno |           | N         | 77        | 5      | 82     |
|        |           | %         | 93,9%     | 6,1%   | 100,0% |

Hi-kvadrat nije statistički značajan. Nema značajne razlike između pozitivne i negativne ekspresije BCL6 u odnosu na ekspresiju CD5,  $\chi^2(1, N=82)=0,003$ ,  $p=0,955$ .

#### 4.6.43 Analiza ekspresije BCL6 u odnosu na ekspresiju CD43

Analiza ekspresije BCL6 u odnosu na ekspresiju CD43 je ispitana na 78 pacijenata.

Tabela 128. Analiza ekspresije BCL6 u odnosu na ekspresiju CD43

|        |           | CD43      |           | ukupno |        |
|--------|-----------|-----------|-----------|--------|--------|
|        |           | negativan | pozitivan |        |        |
| BCL6   | negativan | N         | 33        | 7      | 40     |
|        |           | %         | 82,5%     | 17,5%  | 100,0% |
|        | pozitivan | N         | 32        | 6      | 38     |
|        |           | %         | 84,2%     | 15,8%  | 100,0% |
| ukupno |           | N         | 65        | 13     | 78     |
|        |           | %         | 83,3%     | 16,7%  | 100,0% |

Hi-kvadrat nije statistički značajan. Nema značajne razlike između pozitivne i negativne ekspresije BCL6 i CD43,  $\chi^2(1, N=78)=0,000$ ,  $p=1,000$ .

#### 4.6.44 Analiza ekspresije BCL6 u odnosu na ekspresiju EBV LMP

Analiza ekspresije BCL6 u odnosu na ekspresiju EBV LMP je ispitana na 66 bolesnika.

Tabela 129. Analiza ekspresije BCL6 u odnosu na ekspresiju EBV LMP

|        |           | EBV LMP   |           | ukupno |        |
|--------|-----------|-----------|-----------|--------|--------|
|        |           | negativan | pozitivan |        |        |
| BCL6   | negativan | N         | 18        | 12     | 30     |
|        |           | %         | 60,0%     | 40,0%  | 100,0% |
|        | pozitivan | N         | 23        | 13     | 36     |
|        |           | %         | 63,9%     | 36,1%  | 100,0% |
| ukupno | N         | 41        | 25        | 66     |        |
|        | %         | 62,1%     | 37,9%     | 100,0% |        |

Hi-kvadrat nije statistički značajan. Nema značajne razlike između pozitivne i negativne ekspresije BCL6 u odnosu na ekspresiju EBV LMP,  $\chi^2(1, N=66)=0,005$ ,  $p=0,945$ .

#### 4.6.45 Analiza ekspresije BCL6 u odnosu na ekspresiju VEGF

Analiza ekspresije BCL6 u odnosu na ekspresiju VEGF je ispitana na 65 bolesnika.

Tabela 130. Analiza ekspresije BCL6 u odnosu na ekspresiju VEGF

|        |           | VEGF      |           | ukupno |        |
|--------|-----------|-----------|-----------|--------|--------|
|        |           | negativan | pozitivan |        |        |
| BCL6   | negativan | N         | 25        | 5      | 30     |
|        |           | %         | 83,3%     | 16,7%  | 100,0% |
|        | pozitivan | N         | 22        | 13     | 35     |
|        |           | %         | 62,9%     | 37,1%  | 100,0% |
| ukupno | N         | 47        | 18        | 65     |        |
|        | %         | 72,3%     | 27,7%     | 100,0% |        |

Hi-kvadrat nije statistički značajan. Nema značajne razlike između pozitivne i negativne ekspresije BCL6 u odnosu na ekspresiju VEGF,  $\chi^2(1, N=65)=2,437$ ,  $p=0,118$ .

#### 4.6.46 Analiza ekspresije BCL6 u odnosu na ekspresiju COX2

Analiza ekspresije BCL6 u odnosu na ekspresiju COX2 je ispitana na 66 bolesnika.

Tabela 131. Analiza ekspresije BCL6 u odnosu na ekspresiju COX2

|        |           | COX2      |           | ukupno |        |
|--------|-----------|-----------|-----------|--------|--------|
|        |           | negativan | pozitivan |        |        |
| BCL6   | negativan | N         | 13        | 17     | 30     |
|        |           | %         | 43,3%     | 56,7%  | 100,0% |
|        | pozitivan | N         | 11        | 25     | 36     |
|        |           | %         | 30,6%     | 69,4%  | 100,0% |
| ukupno | N         | 24        | 42        | 66     |        |
|        | %         | 36,4%     | 63,6%     | 100,0% |        |

Hi-kvadrat nije statistički značajan. Nema značajne razlike između pozitivne i negativne ekspresije BCL6 u odnosu na ekspresiju COX2,  $\chi^2(1, N=66)=0,668$ ,  $p=0,414$ .

#### 4.6.47 Analiza ekspresije BCL6 u odnosu na ekspresiju BAFFR

Analiza ekspresije BCL6 u odnosu na ekspresiju BAFFR je ispitana na 65 bolesnika.

Tabela 132. Analiza ekspresije BCL6 u odnosu na ekspresiju BAFFR

|        |           | BAFFR     |           | ukupno |        |
|--------|-----------|-----------|-----------|--------|--------|
|        |           | negativan | pozitivan |        |        |
| BCL6   | negativan | N         | 19        | 10     | 29     |
|        |           | %         | 65,5%     | 34,5%  | 100,0% |
|        | pozitivan | N         | 16        | 20     | 36     |
|        |           | %         | 44,4%     | 55,6%  | 100,0% |
| ukupno | N         | 35        | 30        | 65     |        |
|        | %         | 53,8%     | 46,2%     | 100,0% |        |

Hi-kvadrat nije statistički značajan. Nema značajne razlike između pozitivne i negativne ekspresije BCL6 u odnosu na ekspresiju BAFFR,  $\chi^2(1, N=65)=2,085$ ,  $p=0,149$ .

#### 4.6.48 Analiza ekspresije BCL6 u odnosu na ekspresiju TACI

Analiza ekspresije BCL6 u odnosu na ekspresiju TACI je ispitana na 66 bolesnika.

Tabela 133. Analiza ekspresije BCL6 u odnosu na ekspresiju TACI

|        |           | TACI      |           | ukupno |        |
|--------|-----------|-----------|-----------|--------|--------|
|        |           | negativan | pozitivan |        |        |
| BCL6   | negativan | N         | 17        | 13     | 30     |
|        |           | %         | 56,7%     | 43,3%  | 100,0% |
|        | pozitivan | N         | 20        | 16     | 36     |
|        |           | %         | 55,6%     | 44,4%  | 100,0% |
| ukupno | N         | 37        | 29        | 66     |        |
|        | %         | 56,1%     | 43,9%     | 100,0% |        |

Hi-kvadrat nije statistički značajan. Nema značajne razlike između pozitivne i negativne ekspresije BCL6 u odnosu na ekspresiju TACI,  $\chi^2(1, N=66)=0,000$ ,  $p=1,000$ .

#### 4.6.49 Analiza ekspresije BCL6 u odnosu na ekspresiju BCMA

Analiza ekspresije BCL6 u odnosu na ekspresiju BCMA je ispitana na 66 bolesnika.

Tabela 134. Analiza ekspresije BCL6 u odnosu na ekspresiju BCMA

|        |           | BCMA      |           | ukupno |        |
|--------|-----------|-----------|-----------|--------|--------|
|        |           | negativan | pozitivan |        |        |
| BCL6   | negativan | N         | 29        | 1      | 30     |
|        |           | %         | 96,7%     | 3,3%   | 100,0% |
|        | pozitivan | N         | 30        | 6      | 36     |
|        |           | %         | 83,3%     | 16,7%  | 100,0% |
| ukupno | N         | 59        | 7         | 66     |        |
|        | %         | 89,4%     | 10,6%     | 100,0% |        |

Hi-kvadrat nije statistički značajan. Nema značajne razlike između negativne i pozitivne ekspresije BCL6 u odnosu na ekspresiju BCMA,  $\chi^2(1, N=66)=1,823$ ,  $p=0,177$ .

#### 4.6.50 Analiza ekspresije BCL2 u odnosu na ekspresiju CD30

Analiza ekspresije BCL2 u odnosu na ekspresiju CD30 je ispitana kod 73 bolesnika.



Tabela 135. Analiza ekspresije BCL2 u odnosu na ekspresiju CD30

|        |           | CD30      |           | ukupno |        |
|--------|-----------|-----------|-----------|--------|--------|
|        |           | negativan | pozitivan |        |        |
| BCL2   | negativan | N         | 41        | 4      | 45     |
|        |           | %         | 91,1%     | 8,9%   | 100,0% |
|        | pozitivan | N         | 25        | 3      | 28     |
|        |           | %         | 89,3%     | 10,7%  | 100,0% |
| ukupno |           | N         | 66        | 7      | 73     |
|        |           | %         | 90,4%     | 9,6%   | 100,0% |

Hi-kvadrat nije statistički značajan. Nema značajne razlike između pozitivne i negativne ekspresije BCL2 u odnosu na ekspresiju CD30,  $\chi^2(1, N=73)=0,000$ ,  $p=1,000$ .

#### 4.6.51 Analiza ekspresije BCL2 u odnosu na ekspresiju CD5

Analiza ekspresije BCL2 u odnosu na ekspresiju CD5 je ispitana na 85 bolesnika.

Tabela 136. Analiza ekspresije BCL2 u odnosu na ekspresiju CD5

|        |           | CD5       |           | ukupno |        |
|--------|-----------|-----------|-----------|--------|--------|
|        |           | negativan | pozitivan |        |        |
| BCL2   | negativan | N         | 50        | 1      | 51     |
|        |           | %         | 98,0%     | 2,0%   | 100,0% |
|        | pozitivan | N         | 28        | 6      | 34     |
|        |           | %         | 82,4%     | 17,6%  | 100,0% |
| ukupno |           | N         | 78        | 7      | 85     |
|        |           | %         | 91,8%     | 8,2%   | 100,0% |

Hi-kvadrat je statistički značajan. Prisutna je statistički značajna razlika pozitivne i negativne ekspresije BCL2 u odnosu na ekspresiju CD5,  $\chi^2(1, N=85)=4,729$ ,  $p=0,030$ . Razlika se najbolje vidi iz tabele kontingencije i stubičastog dijagrama. BCL2 negativni slučajevi su u 98% slučajeva CD5 negativni, dok je kod BCL2 pozitivnih taj procenat znatno niži (82,4%). Korelacija između negativne i pozitivne ekspresije BCL2 i ekspresije CD5 je statistički značajna i neznatna,  $p=0,010$ .

Tabela 137. Korelacija ekspresije BCL2 u odnosu na ekspresiju CD5

|                             | vrednost    | aproks. p   |
|-----------------------------|-------------|-------------|
| Phi                         | ,280        | ,010        |
| Cramerovo V                 | <b>,280</b> | <b>,010</b> |
| koeficijent kontingencije C | ,269        | ,010        |
| N validnih slučajeva        | <b>85</b>   |             |

#### 4.6.52 Analiza ekspresije BCL2 u odnosu na ekspresiju CD43

Analiza ekspresije BCL2 u odnosu na ekspresiju CD43 je ispitana na 79 bolesnika.

Tabela 138. Analiza ekspresije BCL2 u odnosu na ekspresiju CD43

|        |           | CD43      |           | ukupno |        |
|--------|-----------|-----------|-----------|--------|--------|
|        |           | negativan | pozitivan |        |        |
| BCL2   | negativan | N         | 44        | 3      | 47     |
|        |           | %         | 93,6%     | 6,4%   | 100,0% |
|        | pozitivan | N         | 21        | 11     | 32     |
|        |           | %         | 65,6%     | 34,4%  | 100,0% |
| ukupno |           | N         | 65        | 14     | 79     |
|        |           | %         | 82,3%     | 17,7%  | 100,0% |

Hi-kvadrat je statistički značajan. Prisutna je statistički značajna razlika BCL2 pozitivnih i negativnih slučajeva u odnosu na ekspresiju CD43,  $\chi^2(1, N=79)=8,401, p=0,004$ . BCL2 negativni slučajevi su u značajno većem procentu (93,6%) CD43 negativni, u odnosu na BCL2 pozitivne (65,6%). Korelacija pozitivne i negativne ekspresije BCL2 i CD43 je statistički značajna i niska,  $p=0,001$ .

Tabela 139. Korelacija ekspresije BCL2 u odnosu na ekspresiju CD43

|                             | vrednost    | aproks. p   |
|-----------------------------|-------------|-------------|
| Phi                         | ,360        | ,001        |
| Cramerovo V                 | <b>,360</b> | <b>,001</b> |
| koeficijent kontingencije C | ,339        | ,001        |
| N validnih slučajeva        | <b>79</b>   |             |

#### 4.6.53 Analiza ekspresije BCL2 u odnosu na ekspresiju EBV LMP

Analiza ekspresije BCL2 u odnosu na ekspresiju EBV LMP je ispitana na 66 bolesnika.

Tabela 140. Analiza ekspresije BCL2 u odnosu na ekspresiju EBV LMP

|        |           | EBV LMP   |           | ukupno |        |
|--------|-----------|-----------|-----------|--------|--------|
|        |           | negativan | pozitivan |        |        |
| BCL2   | negativan | N         | 24        | 15     | 39     |
|        |           | %         | 61,5%     | 38,5%  | 100,0% |
|        | pozitivan | N         | 17        | 10     | 27     |
|        |           | %         | 63,0%     | 37,0%  | 100,0% |
| ukupno |           | N         | 41        | 25     | 66     |
|        |           | %         | 62,1%     | 37,9%  | 100,0% |

Hi-kvadrat nije statistički značajan. Nema statistički značajne razlike između BCL2 negativnih i pozitivnih slučajeva i ekspresije EBV LMP,  $\chi^2(1, N=66)=0,000$ ,  $p=1,000$ .

#### 4.6.54 Analiza ekspresije BCL2 u odnosu na ekspresiju VEGF

Analiza ekspresije BCL2 u odnosu na ekspresiju VEGF je ispitana na 65 bolesnika.

Tabela 141. Analiza ekspresije BCL2 u odnosu na ekspresiju VEGF

|        |           | VEGF      |           | ukupno |        |
|--------|-----------|-----------|-----------|--------|--------|
|        |           | negativan | pozitivan |        |        |
| BCL2   | negativan | N         | 29        | 10     | 39     |
|        |           | %         | 74,4%     | 25,6%  | 100,0% |
|        | pozitivan | N         | 18        | 8      | 26     |
|        |           | %         | 69,2%     | 30,8%  | 100,0% |
| ukupno |           | N         | 47        | 18     | 65     |
|        |           | %         | 72,3%     | 27,7%  | 100,0% |

Hi-kvadrat nije statistički značajan. Nema značajne razlike između pozitivne i negativne ekspresije BCL2 u odnosu na ekspresiju VEGF,  $\chi^2(1, N=65)=0,029$ ,  $p=0,865$ .

#### 4.6.55 Analiza ekspresije BCL2 u odnosu na ekspresiju COX2

Analiza ekspresije BCL2 u odnosu na ekspresiju COX2 je ispitana kod 66 bolesnika.

Tabela 142. Analiza ekspresije BCL2 u odnosu na ekspresiju COX2

|        |           | COX2      |           | ukupno |        |
|--------|-----------|-----------|-----------|--------|--------|
|        |           | negativan | pozitivan |        |        |
| BCL2   | negativan | N         | 18        | 21     | 39     |
|        |           | %         | 46,2%     | 53,8%  | 100,0% |
|        | pozitivan | N         | 6         | 21     | 27     |
|        |           | %         | 22,2%     | 77,8%  | 100,0% |
| ukupno | N         | 24        | 42        | 66     |        |
|        | %         | 36,4%     | 63,6%     | 100,0% |        |

Hi-kvadrat nije statistički značajan. Nema statistički značajne razlike između pozitivne i negativne ekspresije BCL2 u odnosu na ekspresiju COX2,  $\chi^2(1, N=66)=2,982$ ,  $p=0,084$ .

#### 4.6.56 Analiza ekspresije BCL2 u odnosu na ekspresiju BAFFR

Analiza ekspresije BCL2 u odnosu na ekspresiju BAFFR je ispitana na 65 bolesnika.

Tabela 143. Analiza ekspresije BCL2 u odnosu na ekspresiju BAFFR

|        |           | BAFFR     |           | ukupno |        |
|--------|-----------|-----------|-----------|--------|--------|
|        |           | negativan | pozitivan |        |        |
| BCL2   | negativan | N         | 21        | 17     | 38     |
|        |           | %         | 55,3%     | 44,7%  | 100,0% |
|        | pozitivan | N         | 14        | 13     | 27     |
|        |           | %         | 51,9%     | 48,1%  | 100,0% |
| ukupno | N         | 35        | 30        | 65     |        |
|        | %         | 53,8%     | 46,2%     | 100,0% |        |

Hi-kvadrat nije statistički značajan. Nema značajne razlike između negativne i pozitivne ekspresije BCL2 u odnosu na ekspresiju BAFFR,  $\chi^2(1, N=65)=0,000$ ,  $p=0,985$ .

#### 4.6.57 Analiza ekspresije BCL2 u odnosu na ekspresiju TACI

Analiza ekspresije BCL2 u odnosu na ekspresiju TACI je ispitana na 66 bolesnika.

Tabela 144. Analiza ekspresije BCL2 u odnosu na ekspresiju TACI

|        |           | TACI      |           | ukupno |        |
|--------|-----------|-----------|-----------|--------|--------|
|        |           | negativan | pozitivan |        |        |
| BCL2   | negativan | N         | 22        | 17     | 39     |
|        |           | %         | 56,4%     | 43,6%  | 100,0% |
|        | pozitivan | N         | 15        | 12     | 27     |
|        |           | %         | 55,6%     | 44,4%  | 100,0% |
| ukupno | N         | 37        | 29        | 66     |        |
|        | %         | 56,1%     | 43,9%     | 100,0% |        |

Hi-kvadrat nije statistički značajan. Nema značajne razlike između negativne i pozitivne ekspresije BCL2 u odnosu na ekspresiju TACI,  $\chi^2(1, N=66)=0,000$ ,  $p=1,000$ .

#### 4.6.58 Analiza ekspresije BCL2 u odnosu na ekspresiju BCMA

Analiza ekspresije BCL2 u odnosu na ekspresiju BCMA je ispitana kod 66 pacijenata.

Tabela 145. Analiza ekspresije BCL2 u odnosu na ekspresiju BCMA

|        |           | BCMA      |           | ukupno |        |
|--------|-----------|-----------|-----------|--------|--------|
|        |           | negativan | pozitivan |        |        |
| BCL2   | negativan | N         | 35        | 4      | 39     |
|        |           | %         | 89,7%     | 10,3%  | 100,0% |
|        | pozitivan | N         | 24        | 3      | 27     |
|        |           | %         | 88,9%     | 11,1%  | 100,0% |
| ukupno | N         | 59        | 7         | 66     |        |
|        | %         | 89,4%     | 10,6%     | 100,0% |        |

Hi-kvadrat nije statistički značajan. Nema značajne razlike između negativne i pozitivne ekspresije BCL2 u odnosu na ekspresiju BCMA,  $\chi^2(1, N=66)=0,000$ ,  $p=1,000$ .

#### 4.6.59 Analiza ekspresije CD30 u odnosu na ekspresiju CD5

Analiza ekspresije CD30 u odnosu na ekspresiju CD5 je ispitana na 73 bolesnika.

Tabela 146. Analiza ekspresije CD30 u odnosu na ekspresiju CD5

|        |           | CD5       |           | ukupno |        |
|--------|-----------|-----------|-----------|--------|--------|
|        |           | negativan | pozitivan |        |        |
| CD30   | negativan | N         | 61        | 5      | 66     |
|        |           | %         | 92,4%     | 7,6%   | 100,0% |
|        | pozitivan | N         | 7         | 0      | 7      |
|        |           | %         | 100,0%    | 0,0%   | 100,0% |
| ukupno |           | N         | 68        | 5      | 73     |
|        |           | %         | 93,2%     | 6,8%   | 100,0% |

Hi-kvadrat nije statistički značajan. Nema značajne razlike između pozitivne i negativne ekspresije CD30 u odnosu na ekspresiju CD5,  $\chi^2(1, N=73)=0,000$ ,  $p=1,000$ .

#### 4.6.60 Analiza ekspresije CD30 u odnosu na ekspresiju CD43

Analiza ekspresije CD30 u odnosu na ekspresiju CD43 je ispitana na 70 bolesnika.

Tabela 147. Analiza ekspresije CD30 u odnosu na ekspresiju CD43

|        |           | CD43      |           | ukupno |        |
|--------|-----------|-----------|-----------|--------|--------|
|        |           | negativan | pozitivan |        |        |
| CD30   | negativan | N         | 53        | 10     | 63     |
|        |           | %         | 84,1%     | 15,9%  | 100,0% |
|        | pozitivan | N         | 5         | 2      | 7      |
|        |           | %         | 71,4%     | 28,6%  | 100,0% |
| ukupno |           | N         | 58        | 12     | 70     |
|        |           | %         | 82,9%     | 17,1%  | 100,0% |

Hi-kvadrat nije statistički značajan. Nema značajne razlike između pozitivne i negativne ekspresije CD30 u odnosu na ekspresije CD43,  $\chi^2(1, N=70)=0,101$ ,  $p=0,751$ .

#### 4.6.61 Analiza ekspresije CD30 u odnosu na ekspresiju EBV LMP

Analiza ekspresije CD30 u odnosu na ekspresiju EBV LMP je ispitana kod 64 bolesnika.

Tabela 148. Analiza ekspresije CD30 u odnosu na ekspresiju EBV LMP

|        |           | EBV LMP   |           | ukupno |        |
|--------|-----------|-----------|-----------|--------|--------|
|        |           | negativan | pozitivan |        |        |
| CD30   | negativan | N         | 37        | 21     | 58     |
|        |           | %         | 63,8%     | 36,2%  | 100,0% |
|        | pozitivan | N         | 4         | 2      | 6      |
|        |           | %         | 66,7%     | 33,3%  | 100,0% |
| ukupno |           | N         | 41        | 23     | 64     |
|        |           | %         | 64,1%     | 35,9%  | 100,0% |

Hi-kvadrat nije statistički značajan. Nema značajne razlike između pozitivne i negativne ekspresije CD30 u odnosu na ekspresiju EBV LMP,  $\chi^2(1, N=64)=0,000$ ,  $p=1,000$ .

#### 4.6.62 Analiza ekspresije CD30 u odnosu na ekspresiju VEGF

Analiza ekspresije CD30 u odnosu na ekspresiju VEGF je ispitana na 63 bolesnika.

Tabela 149. Analiza ekspresije CD30 u odnosu na ekspresiju VEGF

|        |           | VEGF      |           | ukupno |        |
|--------|-----------|-----------|-----------|--------|--------|
|        |           | negativan | pozitivan |        |        |
| CD30   | negativan | N         | 41        | 16     | 57     |
|        |           | %         | 71,9%     | 28,1%  | 100,0% |
|        | pozitivan | N         | 4         | 2      | 6      |
|        |           | %         | 66,7%     | 33,3%  | 100,0% |
| ukupno |           | N         | 45        | 18     | 63     |
|        |           | %         | 71,4%     | 28,6%  | 100,0% |

Hi-kvadrat nije statistički značajan. Nema značajne razlike između negativne i pozitivne ekspresije CD30 u odnosu na ekspresiju VEGF,  $\chi^2(1, N=63)=0,000$ ,  $p=1,000$ .

#### 4.6.63 Analiza ekspresije CD30 u odnosu na ekspresiju COX2

Analiza ekspresije CD30 u odnosu na ekspresiju COX2 je ispitana na 64 bolesnika.

Tabela 150. Analiza ekspresije CD30 u odnosu na ekspresiju COX2

|        |           | COX2      |           | ukupno |        |
|--------|-----------|-----------|-----------|--------|--------|
|        |           | negativan | pozitivan |        |        |
| CD30   | negativan | N         | 22        | 36     | 58     |
|        |           | %         | 37,9%     | 62,1%  | 100,0% |
|        | pozitivan | N         | 0         | 6      | 6      |
|        |           | %         | 0,0%      | 100,0% | 100,0% |
| ukupno | N         | 22        | 42        | 64     |        |
|        | %         | 34,4%     | 65,6%     | 100,0% |        |

Hi-kvadrat nije statistički značajan. Nema značajne razlike između pozitivne i negativne ekspresije CD30 u odnosu na ekspresiju COX2,  $\chi^2(1, N=64)=1,990$ ,  $p=0,158$ .

#### 4.6.64 Analiza ekspresije CD30 u odnosu na ekspresiju BAFFR

Analiza ekspresije CD30 u odnosu na ekspresiju BAFFR je ispitana na 64 bolesnika.

Tabela 151. Analiza ekspresije CD30 u odnosu na ekspresiju BAFFR

|        |           | BAFFR     |           | ukupno |        |
|--------|-----------|-----------|-----------|--------|--------|
|        |           | negativan | pozitivan |        |        |
| CD30   | negativan | N         | 33        | 25     | 58     |
|        |           | %         | 56,9%     | 43,1%  | 100,0% |
|        | pozitivan | N         | 2         | 4      | 6      |
|        |           | %         | 33,3%     | 66,7%  | 100,0% |
| ukupno | N         | 35        | 29        | 64     |        |
|        | %         | 54,7%     | 45,3%     | 100,0% |        |

Hi-kvadrat nije statistički značajan. Nema značajne razlike između negativne i pozitivne ekspresije CD30 u odnosu na ekspresiju BAFFR,  $\chi^2(1, N=64)=0,453$ ,  $p=0,501$ .

#### 4.6.65 Analiza ekspresije CD30 u odnosu na ekspresiju TACI

Analiza ekspresije CD30 u odnosu na ekspresiju TACI je ispitana kod 64 bolesnika.



Tabela 152. Analiza ekspresije CD30 u odnosu na ekspresiju TACI

|        |           | TACI      |           | ukupno |        |
|--------|-----------|-----------|-----------|--------|--------|
|        |           | negativan | pozitivan |        |        |
| CD30   | negativan | N         | 33        | 25     | 58     |
|        |           | %         | 56,9%     | 43,1%  | 100,0% |
|        | pozitivan | N         | 3         | 3      | 6      |
|        |           | %         | 50,0%     | 50,0%  | 100,0% |
| ukupno | N         | 36        | 28        | 64     |        |
|        | %         | 56,2%     | 43,8%     | 100,0% |        |

Hi-kvadrat nije statistički značajan. Nema značajne razlike između negativne i pozitivne ekspresije CD30 u odnosu na ekspresiju TACI,  $\chi^2(1, N=64)=0,000$ ,  $p=1,000$ .

#### 4.6.66 Analiza ekspresije CD30 u odnosu na ekspresiju BCMA

Analiza ekspresije CD30 u odnosu na ekspresiju BCMA je ispitana na 64 bolesnika.

Tabela 153. Analiza ekspresije CD30 u odnosu na ekspresiju BCMA

|        |           | BCMA      |           | ukupno |        |
|--------|-----------|-----------|-----------|--------|--------|
|        |           | negativan | pozitivan |        |        |
| CD30   | negativan | N         | 55        | 3      | 58     |
|        |           | %         | 94,8%     | 5,2%   | 100,0% |
|        | pozitivan | N         | 2         | 4      | 6      |
|        |           | %         | 33,3%     | 66,7%  | 100,0% |
| ukupno | N         | 57        | 7         | 64     |        |
|        | %         | 89,1%     | 10,9%     | 100,0% |        |

Hi-kvadrat je statistički značajan. Prisutna je statistički značajna razlika između negativne i pozitivne ekspresije CD30 u odnosu na ekspresiju BCMA,  $\chi^2(1, N=64)=15,628$ ,  $p=0,000$ . Slučajevi sa pozitivnom ekspresijom CD30 su u značajno većem procentu BCMA pozitivni (66,7%) u odnosu na CD30 negativne (5,2%). Korelacija ekspresije CD30 i ekspresije BCMA je prisutna, statistički značajna i visoka,  $p=0,000$ .

Tabela 154. Korelacija ekspresije CD30 u odnosu na ekspresiju BCMA

|                             | vrednost    | aproks. p   |
|-----------------------------|-------------|-------------|
| Phi                         | ,574        | ,000        |
| Cramerovo V                 | <b>,574</b> | <b>,000</b> |
| koeficijent kontingencije C | ,498        | ,000        |
| N validnih slučajeva        | <b>64</b>   |             |

#### 4.6.67 Analiza ekspresije CD5 u odnosu na ekspresiju CD43

Analiza ekspresije CD5 u odnosu na ekspresiju CD43 je ispitana na 80 bolesnika.

Tabela 155. Analiza ekspresije CD5 u odnosu na ekspresiju CD43

|        |           | CD43      |           | ukupno |        |
|--------|-----------|-----------|-----------|--------|--------|
|        |           | negativan | pozitivan |        |        |
| CD5    | negativan | N         | 62        | 12     | 74     |
|        |           | %         | 83,8%     | 16,2%  | 100,0% |
|        | pozitivan | N         | 3         | 3      | 6      |
|        |           | %         | 50,0%     | 50,0%  | 100,0% |
| ukupno |           | N         | 65        | 15     | 80     |
|        |           | %         | 81,2%     | 18,8%  | 100,0% |

Hi-kvadrat nije statistički značajan. Nema statistički značajne razlike između negativne i pozitivne ekspresije CD5 u odnosu na CD43 pozitivne i negativne slučajeve,  $\chi^2(1, N=80)=2,236, p=0,135$ .

#### 4.6.68 Analiza ekspresije CD5 u odnosu na ekspresiju EBV LMP

Analiza ekspresije CD5 u odnosu na ekspresiju EBV LMP je ispitana na 66 bolesnika.

Tabela 156. Analiza ekspresije CD5 u odnosu na ekspresiju EBV LMP

|        |           | EBV LMP   |           | ukupno |        |
|--------|-----------|-----------|-----------|--------|--------|
|        |           | negativan | pozitivan |        |        |
| CD5    | negativan | N         | 39        | 22     | 61     |
|        |           | %         | 63,9%     | 36,1%  | 100,0% |
|        | pozitivan | N         | 2         | 3      | 5      |
|        |           | %         | 40,0%     | 60,0%  | 100,0% |
| ukupno | N         | 41        | 25        | 66     |        |
|        | %         | 62,1%     | 37,9%     | 100,0% |        |

Hi-kvadrat nije statistički značajan. Nema značajne razlike između negativne i pozitivne ekspresije CD5 u odnosu na ekspresiju EBV LMP,  $\chi^2(1, N=66)=0,338$ ,  $p=0,561$ .

#### 4.6.69 Analiza ekspresije CD5 u odnosu na ekspresiju VEGF

Analiza ekspresije CD5 u odnosu na ekspresiju VEGF je ispitana na 65 bolesnika.

Tabela 157. Analiza ekspresije CD5 u odnosu na ekspresiju VEGF

|        |           | VEGF      |           | ukupno |        |
|--------|-----------|-----------|-----------|--------|--------|
|        |           | negativan | pozitivan |        |        |
| CD5    | negativan | N         | 42        | 18     | 60     |
|        |           | %         | 70,0%     | 30,0%  | 100,0% |
|        | pozitivan | N         | 5         | 0      | 5      |
|        |           | %         | 100,0%    | 0,0%   | 100,0% |
| ukupno | N         | 47        | 18        | 65     |        |
|        | %         | 72,3%     | 27,7%     | 100,0% |        |

Hi-kvadrat nije statistički značajan. Nema statistički značajne razlike između slučajeva sa pozitivnom i negativnom ekspresijom CD5 u odnosu na ekspresiju VEGF,  $\chi^2(1, N=65)=0,847$ ,  $p=0,357$ .

#### 4.6.70 Analiza ekspresije CD5 u odnosu na ekspresiju COX2

Analiza ekspresije CD5 u odnosu na ekspresiju COX2 je ispitana na 66 bolesnika.

Tabela 158. Analiza ekspresije CD5 u odnosu na ekspresiju COX2

|        |           | COX2      |           | ukupno |        |
|--------|-----------|-----------|-----------|--------|--------|
|        |           | negativan | pozitivan |        |        |
| CD5    | negativan | N         | 23        | 38     | 61     |
|        |           | %         | 37,7%     | 62,3%  | 100,0% |
|        | pozitivan | N         | 1         | 4      | 5      |
|        |           | %         | 20,0%     | 80,0%  | 100,0% |
| ukupno | N         | 24        | 42        | 66     |        |
|        | %         | 36,4%     | 63,6%     | 100,0% |        |

Hi-kvadrat nije statistički značajan. Nema statistički značajne razlike između slučajeva sa negativnom i pozitivnom ekspresijom CD5 u odnosu na ekspresiju COX2,  $\chi^2(1, N=66)=0,095$ ,  $p=0,758$ .

#### 4.6.71 Analiza ekspresije CD5 u odnosu na ekspresiju BAFFR

Analiza ekspresije CD5 u odnosu na ekspresiju BAFFR je ispitana na 65 bolesnika.

Tabela 159. Analiza ekspresije CD5 u odnosu na ekspresiju BAFFR

|        |           | BAFFR     |           | ukupno |        |
|--------|-----------|-----------|-----------|--------|--------|
|        |           | negativan | pozitivan |        |        |
| CD5    | negativan | N         | 34        | 26     | 60     |
|        |           | %         | 56,7%     | 43,3%  | 100,0% |
|        | pozitivan | N         | 1         | 4      | 5      |
|        |           | %         | 20,0%     | 80,0%  | 100,0% |
| ukupno | N         | 35        | 30        | 65     |        |
|        | %         | 53,8%     | 46,2%     | 100,0% |        |

Hi-kvadrat nije statistički značajan. Nema značajne razlike između negativne i pozitivne ekspresije CD5 u odnosu na ekspresiju BAFFR,  $\chi^2(1, N=65)=1,239$ ,  $p=0,266$ .

#### 4.6.72 Analiza ekspresije CD5 u odnosu na ekspresiju TACI

Analiza ekspresije CD5 u odnosu na ekspresiju TACI je ispitana na 66 bolesnika.

Tabela 160. Analiza ekspresije CD5 u odnosu na ekspresiju TACI

|        |           | TACI      |           | ukupno |        |
|--------|-----------|-----------|-----------|--------|--------|
|        |           | negativan | pozitivan |        |        |
| CD5    | negativan | N         | 35        | 26     | 61     |
|        |           | %         | 57,4%     | 42,6%  | 100,0% |
|        | pozitivan | N         | 2         | 3      | 5      |
|        |           | %         | 40,0%     | 60,0%  | 100,0% |
| ukupno | N         | 37        | 29        | 66     |        |
|        | %         | 56,1%     | 43,9%     | 100,0% |        |

Hi-kvadrat nije statistički značajan. Nema statistički značajne razlike između negativne i pozitivne ekspresije CD5 u odnosu na ekspresiju TACI,  $\chi^2(1, N=66)=0,081$ ,  $p=0,776$ .

#### 4.6.73 Analiza ekspresije CD5 u odnosu na ekspresiju BCMA

Analiza ekspresije CD5 u odnosu na ekspresiju BCMA je ispitana na 66 bolesnika.

Tabela 161. Analiza ekspresije CD5 u odnosu na ekspresiju BCMA

|        |           | BCMA      |           | ukupno |        |
|--------|-----------|-----------|-----------|--------|--------|
|        |           | negativan | pozitivan |        |        |
| CD5    | negativan | N         | 54        | 7      | 61     |
|        |           | %         | 88,5%     | 11,5%  | 100,0% |
|        | pozitivan | N         | 5         | 0      | 5      |
|        |           | %         | 100,0%    | 0,0%   | 100,0% |
| ukupno | N         | 59        | 7         | 66     |        |
|        | %         | 89,4%     | 10,6%     | 100,0% |        |

Hi-kvadrat nije statistički značajan. Nema značajne razlike između negativne i pozitivne ekspresije CD5 u odnosu na ekspresiju BCMA,  $\chi^2(1, N=66)=0,002$ ,  $p=0,963$ .

#### 4.6.74 Analiza ekspresije CD43 u odnosu na ekspresiju EBV LMP

Analiza ekspresije CD43 u odnosu na ekspresiju EBV LMP je ispitana na 66 bolesnika.

Tabela 162. Analiza ekspresije CD43 u odnosu na ekspresiju EBV LMP

|        |           | EBV LMP   |           | ukupno |        |
|--------|-----------|-----------|-----------|--------|--------|
|        |           | negativan | pozitivan |        |        |
| CD43   | negativan | N         | 36        | 19     | 55     |
|        |           | %         | 65,5%     | 34,5%  | 100,0% |
|        | pozitivan | N         | 5         | 6      | 11     |
|        |           | %         | 45,5%     | 54,5%  | 100,0% |
| ukupno |           | N         | 41        | 25     | 66     |
|        |           | %         | 62,1%     | 37,9%  | 100,0% |

Hi-kvadrat nije statistički značajan. Nema značajne razlike između negativne i pozitivne ekspresije CD43 u odnosu na ekspresiju EBV LMP,  $\chi^2(1, N=66)=0,824$ ,  $p=0,364$ .

#### 4.6.75 Analiza ekspresije CD43 u odnosu na ekspresiju VEGF

Analiza ekspresije CD43 u odnosu na ekspresiju VEGF je ispitana na 65 bolesnika.

Tabela 163. Analiza ekspresije CD43 u odnosu na ekspresiju VEGF

|        |           | VEGF      |           | ukupno |        |
|--------|-----------|-----------|-----------|--------|--------|
|        |           | negativan | pozitivan |        |        |
| CD43   | negativan | N         | 40        | 14     | 54     |
|        |           | %         | 74,1%     | 25,9%  | 100,0% |
|        | pozitivan | N         | 7         | 4      | 11     |
|        |           | %         | 63,6%     | 36,4%  | 100,0% |
| ukupno |           | N         | 47        | 18     | 65     |
|        |           | %         | 72,3%     | 27,7%  | 100,0% |

Hi-kvadrat nije statistički značajan. Nema značajne razlike između negativne i pozitivne ekspresije CD43 u odnosu na ekspresiju VEGF,  $\chi^2(1, N=65)=0,113$ ,  $p=0,737$ .

#### 4.6.76 Analiza ekspresije CD43 u odnosu na ekspresiju COX2

Analiza ekspresije CD43 u odnosu na ekspresiju COX2 je ispitana na 66 bolesnika.

Tabela 164. Analiza ekspresije CD43 u odnosu na ekspresiju COX2

|        |           | COX2      |           | ukupno |        |
|--------|-----------|-----------|-----------|--------|--------|
|        |           | negativan | pozitivan |        |        |
| CD43   | negativan | N         | 20        | 35     | 55     |
|        |           | %         | 36,4%     | 63,6%  | 100,0% |
|        | pozitivan | N         | 4         | 7      | 11     |
|        |           | %         | 36,4%     | 63,6%  | 100,0% |
| ukupno | N         | 24        | 42        | 66     |        |
|        | %         | 36,4%     | 63,6%     | 100,0% |        |

Hi-kvadrat nije statistički značajan. Nema značajne razlike između negativne i pozitivne ekspresije CD43 u odnosu na ekspresiju COX2,  $\chi^2(1, N=66)=0,000$ ,  $p=1,000$ .

#### 4.6.77 Analiza ekspresije CD43 u odnosu na ekspresiju BAFFR

Analiza ekspresije CD43 u odnosu na ekspresiju BAFFR je ispitana na 65 bolesnika.

Tabela 165. Analiza ekspresije CD43 u odnosu na ekspresiju BAFFR

|        |           | BAFFR     |           | ukupno |        |
|--------|-----------|-----------|-----------|--------|--------|
|        |           | negativan | pozitivan |        |        |
| CD43   | negativan | N         | 30        | 24     | 54     |
|        |           | %         | 55,6%     | 44,4%  | 100,0% |
|        | pozitivan | N         | 5         | 6      | 11     |
|        |           | %         | 45,5%     | 54,5%  | 100,0% |
| ukupno | N         | 35        | 30        | 65     |        |
|        | %         | 53,8%     | 46,2%     | 100,0% |        |

Hi-kvadrat nije statistički značajan. Nema značajne razlike između negativne i pozitivne ekspresije CD43 u odnosu na ekspresiju BAFFR,  $\chi^2(1, N=65)=0,079$ ,  $p=0,779$ .

#### 4.6.78 Analiza ekspresije CD43 u odnosu na ekspresiju TACI

Analiza ekspresije CD43 u odnosu na ekspresiju TACI je ispitana na 66 bolesnika.

Tabela 166. Analiza ekspresije CD43 u odnosu na ekspresiju TACI

|        |           | TACI      |           | ukupno |        |
|--------|-----------|-----------|-----------|--------|--------|
|        |           | negativan | pozitivan |        |        |
| CD43   | negativan | N         | 32        | 23     | 55     |
|        |           | %         | 58,2%     | 41,8%  | 100,0% |
|        | pozitivan | N         | 5         | 6      | 11     |
|        |           | %         | 45,5%     | 54,5%  | 100,0% |
| ukupno |           | N         | 37        | 29     | 66     |
|        |           | %         | 56,1%     | 43,9%  | 100,0% |

Hi-kvadrat nije statistički značajan. Nema značajne razlike između negativne i pozitivne ekspresije CD43 u odnosu na ekspresiju TACI,  $\chi^2(1, N=66)=0,197, p=0,657$ .

#### 4.6.79 Analiza ekspresije CD43 u odnosu na ekspresiju BCMA

Analiza ekspresije CD43 u odnosu na ekspresiju BCMA je ispitana na 66 bolesnika.

Tabela 167. Analiza ekspresije CD43 u odnosu na ekspresiju BCMA

|        |           | BCMA      |           | ukupno |        |
|--------|-----------|-----------|-----------|--------|--------|
|        |           | negativan | pozitivan |        |        |
| CD43   | negativan | N         | 48        | 7      | 55     |
|        |           | %         | 87,3%     | 12,7%  | 100,0% |
|        | pozitivan | N         | 11        | 0      | 11     |
|        |           | %         | 100,0%    | 0,0%   | 100,0% |
| ukupno |           | N         | 59        | 7      | 66     |
|        |           | %         | 89,4%     | 10,6%  | 100,0% |

Hi-kvadrat nije statistički značajan. Nema značajne razlike između negativne i pozitivne ekspresije CD43 u odnosu na ekspresiju BCMA,  $\chi^2(1, N=66)=0,511, p=0,475$ .

#### 4.6.80 Analiza ekspresije EBV LMP u odnosu na ekspresiju VEGF

Analiza ekspresije EBV LMP u odnosu na ekspresiju VEGF je ispitana na 65 bolesnika.



Tabela 168. Analiza ekspresije EBV LMP u odnosu na ekspresiju VEGF

|         |           | VEGF      |           | ukupno |        |
|---------|-----------|-----------|-----------|--------|--------|
|         |           | negativan | pozitivan |        |        |
| EBV LMP | negativan | N         | 27        | 13     | 40     |
|         |           | %         | 67,5%     | 32,5%  | 100,0% |
|         | pozitivan | N         | 20        | 5      | 25     |
|         |           | %         | 80,0%     | 20,0%  | 100,0% |
| ukupno  | N         | 47        | 18        | 65     |        |
|         | %         | 72,3%     | 27,7%     | 100,0% |        |

Hi-kvadrat nije statistički značajan. Nema značajne razlike između negativne i pozitivne ekspresije EBV LMP u odnosu na ekspresiju VEGF,  $\chi^2(1, N=65)=0,657$ ,  $p=0,417$ .

#### 4.6.81 Analiza ekspresije EBV LMP u odnosu na ekspresiju COX2

Analiza ekspresije EBV LMP u odnosu na ekspresiju COX2 je ispitana na 66 bolesnika.

Tabela 169. Analiza ekspresije EBV LMP u odnosu na ekspresiju COX2

|         |           | COX2      |           | ukupno |        |
|---------|-----------|-----------|-----------|--------|--------|
|         |           | negativan | pozitivan |        |        |
| EBV LMP | negativan | N         | 15        | 26     | 41     |
|         |           | %         | 36,6%     | 63,4%  | 100,0% |
|         | pozitivan | N         | 9         | 16     | 25     |
|         |           | %         | 36,0%     | 64,0%  | 100,0% |
| ukupno  | N         | 24        | 42        | 66     |        |
|         | %         | 36,4%     | 63,6%     | 100,0% |        |

Hi-kvadrat nije statistički značajan. Nema značajne razlike između negativne i pozitivne ekspresije EBV LMP u odnosu na ekspresiju COX2,  $\chi^2(1, N=66)=0,000$ ,  $p=1,000$ .

#### 4.6.82 Analiza ekspresije EBV LMP u odnosu na ekspresiju BAFFR

Analiza ekspresije EBV LMP u odnosu na ekspresiju BAFFR je ispitana na 65 bolesnika.

Tabela 170. Analiza ekspresije EBV LMP u odnosu na ekspresiju BAFFR

|         |           | BAFFR     |           | ukupno |        |
|---------|-----------|-----------|-----------|--------|--------|
|         |           | negativan | pozitivan |        |        |
| EBV LMP | negativan | N         | 25        | 16     | 41     |
|         |           | %         | 61,0%     | 39,0%  | 100,0% |
|         | pozitivan | N         | 10        | 14     | 24     |
|         |           | %         | 41,7%     | 58,3%  | 100,0% |
| ukupno  | N         | 35        | 30        | 65     |        |
|         |           | %         | 53,8%     | 46,2%  | 100,0% |

Hi-kvadrat nije statistički značajan. Nema značajne razlike između negativne i pozitivne ekspresije EBV LMP u odnosu na ekspresiju BAFFR,  $\chi^2(1, N=65)=1,561$ ,  $p=0,212$ .

#### 4.6.83 Analiza ekspresije EBV LMP u odnosu na ekspresiju TACI

Analiza ekspresije EBV LMP u odnosu na ekspresiju TACI je ispitana na 66 bolesnika.

Tabela 171. Analiza ekspresije EBV LMP u odnosu na ekspresiju TACI

|         |           | TACI      |           | ukupno |        |
|---------|-----------|-----------|-----------|--------|--------|
|         |           | negativan | pozitivan |        |        |
| EBV LMP | negativan | N         | 26        | 15     | 41     |
|         |           | %         | 63,4%     | 36,6%  | 100,0% |
|         | pozitivan | N         | 11        | 14     | 25     |
|         |           | %         | 44,0%     | 56,0%  | 100,0% |
| ukupno  | N         | 37        | 29        | 66     |        |
|         |           | %         | 56,1%     | 43,9%  | 100,0% |

Hi-kvadrat nije statistički značajan. Nema statistički značajne razlike između negativne i pozitivne ekspresije EBV LMP u odnosu na ekspresiju TACI,  $\chi^2(1, N=66)=1,654$ ,  $p=0,198$ .

#### 4.6.84 Analiza ekspresije EBV LMP u odnosu na ekspresiju BCMA

Analiza ekspresije EBV LMP u odnosu na ekspresiju BCMA je ispitana na 66 bolesnika.

Tabela 172. Analiza ekspresije EBV LMP u odnosu na ekspresiju BCMA

|         |           | BCMA      |           | ukupno |        |
|---------|-----------|-----------|-----------|--------|--------|
|         |           | negativan | pozitivan |        |        |
| EBV LMP | negativan | N         | 37        | 4      | 41     |
|         |           | %         | 90,2%     | 9,8%   | 100,0% |
|         | pozitivan | N         | 22        | 3      | 25     |
|         |           | %         | 88,0%     | 12,0%  | 100,0% |
| ukupno  | N         | 59        | 7         | 66     |        |
|         | %         | 89,4%     | 10,6%     | 100,0% |        |

Hi-kvadrat nije statistički značajan. Nema statistički značajne razlike između negativne i pozitivne ekspresije EBV LMP u odnosu na ekspresiju BCMA,  $\chi^2(1, N=66)=0,000$ ,  $p=1,000$ .

#### 4.6.85 Analiza ekspresije VEGF u odnosu na ekspresiju COX2

Analiza ekspresije VEGF u odnosu na ekspresiju COX2 je ispitana na 65 bolesnika.

Tabela 173. Analiza ekspresije VEGF u odnosu na ekspresiju COX2

|        |           | COX2      |           | ukupno |        |
|--------|-----------|-----------|-----------|--------|--------|
|        |           | negativan | pozitivan |        |        |
| VEGF   | negativan | N         | 20        | 27     | 47     |
|        |           | %         | 42,6%     | 57,4%  | 100,0% |
|        | pozitivan | N         | 4         | 14     | 18     |
|        |           | %         | 22,2%     | 77,8%  | 100,0% |
| ukupno | N         | 24        | 41        | 65     |        |
|        | %         | 36,9%     | 63,1%     | 100,0% |        |

Hi-kvadrat nije statistički značajan. Nema značajne razlike između negativne i pozitivne ekspresije VEGF u odnosu na ekspresiju COX2,  $\chi^2(1, N=65)=1,519$ ,  $p=0,218$ .

#### 4.6.86 Analiza ekspresije VEGF u odnosu na ekspresiju BAFFR

Analiza ekspresije VEGF u odnosu na ekspresiju BAFFR je ispitana na 64 bolesnika.

Tabela 174. Analiza ekspresije VEGF u odnosu na ekspresiju BAFFR

|        |           | BAFFR     |           | ukupno |        |
|--------|-----------|-----------|-----------|--------|--------|
|        |           | negativan | pozitivan |        |        |
| VEGF   | negativan | N         | 26        | 20     | 46     |
|        |           | %         | 56,5%     | 43,5%  | 100,0% |
|        | pozitivan | N         | 8         | 10     | 18     |
|        |           | %         | 44,4%     | 55,6%  | 100,0% |
| ukupno | N         | 34        | 30        | 64     |        |
|        | %         | 53,1%     | 46,9%     | 100,0% |        |

Hi-kvadrat nije statistički značajan. Nema značajne razlike između negativne i pozitivne ekspresije VEGF u odnosu na ekspresiju BAFFR,  $\chi^2(1, N=64)=0,350$ ,  $p=0,554$ .

#### 4.6.87 Analiza ekspresije VEGF u odnosu na ekspresiju TACI

Analiza ekspresije VEGF u odnosu na ekspresiju TACI je ispitana na 65 bolesnika.

Tabela 175. Analiza ekspresije VEGF u odnosu na ekspresiju TACI

|        |           | TACI      |           | ukupno |        |
|--------|-----------|-----------|-----------|--------|--------|
|        |           | negativan | pozitivan |        |        |
| VEGF   | negativan | N         | 30        | 17     | 47     |
|        |           | %         | 63,8%     | 36,2%  | 100,0% |
|        | pozitivan | N         | 7         | 11     | 18     |
|        |           | %         | 38,9%     | 61,1%  | 100,0% |
| ukupno | N         | 37        | 28        | 65     |        |
|        | %         | 56,9%     | 43,1%     | 100,0% |        |

Hi-kvadrat nije statistički značajan. Nema značajne razlike između negativne i pozitivne ekspresije VEGF u odnosu na ekspresiju TACI,  $\chi^2(1, N=65)=2,363$ ,  $p=0,124$ .

#### 4.6.88 Analiza ekspresije VEGF u odnosu na ekspresiju BCMA

Analiza ekspresije VEGF u odnosu na ekspresiju BCMA je ispitana na 65 bolesnika.

Tabela 176. Analiza ekspresije VEGF u odnosu na ekspresiju BCMA

|        |           | BCMA      |           | ukupno |        |
|--------|-----------|-----------|-----------|--------|--------|
|        |           | negativan | pozitivan |        |        |
| VEGF   | negativan | N         | 43        | 4      | 47     |
|        |           | %         | 91,5%     | 8,5%   | 100,0% |
|        | pozitivan | N         | 15        | 3      | 18     |
|        |           | %         | 83,3%     | 16,7%  | 100,0% |
| ukupno | N         | 58        | 7         | 65     |        |
|        | %         | 89,2%     | 10,8%     | 100,0% |        |

Hi-kvadrat nije statistički značajan. Nema značajne razlike između negativne i pozitivne ekspresije VEGF u odnosu na ekspresiju BCMA,  $\chi^2(1, N=65)=0,252$ ,  $p=0,616$ .

#### 4.6.89 Analiza ekspresije COX2 u odnosu na ekspresiju BAFFR

Analiza ekspresije COX2 u odnosu na ekspresiju BAFFR je ispitana na 65 bolesnika.

Tabela 177. Analiza ekspresije COX2 u odnosu na ekspresiju BAFFR

|        |           | BAFFR     |           | ukupno |        |
|--------|-----------|-----------|-----------|--------|--------|
|        |           | negativan | pozitivan |        |        |
| COX2   | negativan | N         | 12        | 11     | 23     |
|        |           | %         | 52,2%     | 47,8%  | 100,0% |
|        | pozitivan | N         | 23        | 19     | 42     |
|        |           | %         | 54,8%     | 45,2%  | 100,0% |
| ukupno | N         | 35        | 30        | 65     |        |
|        | %         | 53,8%     | 46,2%     | 100,0% |        |

Hi-kvadrat nije statistički značajan. Nema značajne razlike između negativne i pozitivne ekspresije COX2 u odnosu na ekspresiju BAFFR,  $\chi^2(1, N=65)=0,000$ ,  $p=1,000$ .

#### 4.6.90 Analiza ekspresije COX2 u odnosu na ekspresiju TACI

Analiza ekspresije COX2 u odnosu na ekspresiju TACI je ispitana na 66 bolesnika.

Tabela 178. Analiza ekspresije COX2 u odnosu na ekspresiju TACI

|        |           | TACI      |           | ukupno |        |
|--------|-----------|-----------|-----------|--------|--------|
|        |           | negativan | pozitivan |        |        |
| COX2   | negativan | N         | 18        | 6      | 24     |
|        |           | %         | 75,0%     | 25,0%  | 100,0% |
|        | pozitivan | N         | 19        | 23     | 42     |
|        |           | %         | 45,2%     | 54,8%  | 100,0% |
| ukupno |           | N         | 37        | 29     | 66     |
|        |           | %         | 56,1%     | 43,9%  | 100,0% |

Hi-kvadrat je statistički značajan. Prisutna je značajna razlika između negativne i pozitivne ekspresije COX2 i ekspresije TACI. Značajno veći procenat COX2 pozitivnih slučajeva je TACI pozitivan (54,8%), nego u grupi koja je COX2 negativna (25%),  $\chi^2(1, N=66)=4,350$ ,  $p=0,037$ . Korelacija između ekspresije COX2 i ekspresije TACI je statistički značajna ali neznatna,  $p=0,019$ .

Tabela 179. Korelacija ekspresije COX2 u odnosu na ekspresiju TACI

|                             | vrednost    | aproks. p   |
|-----------------------------|-------------|-------------|
| Phi                         | ,288        | ,019        |
| Cramerovo V                 | <b>,288</b> | <b>,019</b> |
| koeficijent kontingencije C | ,277        | ,019        |
| N validnih slučajeva        | <b>66</b>   |             |

#### 4.6.91 Analiza ekspresije COX2 u odnosu na ekspresiju BCMA

Analiza ekspresije COX2 u odnosu na ekspresiju BCMA je ispitana na 66 bolesnika.

Tabela 180. Analiza ekspresije COX2 u odnosu na ekspresiju BCMA

|        |           | BCMA      |           | ukupno |        |
|--------|-----------|-----------|-----------|--------|--------|
|        |           | negativan | pozitivan |        |        |
| COX2   | negativan | N         | 24        | 0      | 24     |
|        |           | %         | 100,0%    | 0,0%   | 100,0% |
|        | pozitivan | N         | 35        | 7      | 42     |
|        |           | %         | 83,3%     | 16,7%  | 100,0% |
| ukupno |           | N         | 59        | 7      | 66     |
|        |           | %         | 89,4%     | 10,6%  | 100,0% |

Hi-kvadrat nije statistički značajan. Nema značajne razlike između negativne i pozitivne ekspresije COX2 u odnosu na ekspresiju BCMA,  $\chi^2(1, N=66)=2,889$ ,  $p=0,089$ .

#### 4.6.92 Analiza ekspresije BAFFR u odnosu na ekspresiju TACI

Analiza ekspresije BAFFR u odnosu na ekspresiju TACI je ispitana na 65 bolesnika.

Tabela 181. Analiza ekspresije BAFFR u odnosu na ekspresiju TACI

|        |           | TACI      |           | ukupno |        |
|--------|-----------|-----------|-----------|--------|--------|
|        |           | negativan | pozitivan |        |        |
| BAFFR  | negativan | N         | 20        | 15     | 35     |
|        |           | %         | 57,1%     | 42,9%  | 100,0% |
|        | pozitivan | N         | 16        | 14     | 30     |
|        |           | %         | 53,3%     | 46,7%  | 100,0% |
| ukupno | N         | 36        | 29        | 65     |        |
|        | %         | 55,4%     | 44,6%     | 100,0% |        |

Hi-kvadrat nije statistički značajan. Nema značajne razlike između negativne i pozitivne ekspresije BAFFR u odnosu na ekspresiju TACI,  $\chi^2(1, N=65)=0,003$ ,  $p=0,954$ .

#### 4.6.93 Analiza ekspresije BAFFR u odnosu na ekspresiju BCMA

Analiza ekspresije BAFFR u odnosu na ekspresiju BCMA je ispitana na 65 bolesnika.

Tabela 182. Analiza ekspresije BAFFR u odnosu na ekspresiju BCMA

|        |           | BCMA      |           | ukupno |        |
|--------|-----------|-----------|-----------|--------|--------|
|        |           | negativan | pozitivan |        |        |
| BAFFR  | negativan | N         | 34        | 1      | 35     |
|        |           | %         | 97,1%     | 2,9%   | 100,0% |
|        | pozitivan | N         | 24        | 6      | 30     |
|        |           | %         | 80,0%     | 20,0%  | 100,0% |
| ukupno | N         | 58        | 7         | 65     |        |
|        | %         | 89,2%     | 10,8%     | 100,0% |        |

Hi-kvadrat nije statistički značajan. Nema značajne razlike između negativne i pozitivne ekspresije BAFFR u odnosu na ekspresiju BCMA,  $\chi^2(1, N=65)=3,317$ ,  $p=0,069$ .

#### 4.6.94 Analiza ekspresije TACI u odnosu na ekspresiju BCMA

Analiza ekspresije TACI u odnosu na ekspresiju BCMA je ispitana na 66 bolesnika.

Tabela 183. Analiza ekspresije TACI u odnosu na ekspresiju BCMA

|        |           | BCMA      |           | ukupno |        |
|--------|-----------|-----------|-----------|--------|--------|
|        |           | negativan | pozitivan |        |        |
| TACI   | negativan | N         | 34        | 3      | 37     |
|        |           | %         | 91,9%     | 8,1%   | 100,0% |
|        | pozitivan | N         | 25        | 4      | 29     |
|        |           | %         | 86,2%     | 13,8%  | 100,0% |
| ukupno |           | N         | 59        | 7      | 66     |
|        |           | %         | 89,4%     | 10,6%  | 100,0% |

Hi-kvadrat nije statistički značajan. Nema značajne razlike između negativne i pozitivne ekspresije TACI u odnosu na ekspresiju BCMA,  $\chi^2(1, N=66)=0,117, p=0,733$ .

#### 4.7 ANALIZA PREŽIVLJAVANJA U ODNOSU NA POL ISPITANIKA

U koloni "N događaja" prikazani su smrtni slučajevi ispitanika. U koloni "cenzurirano" su prikazani bolesnici koji su bili živi na kraju ispitivanja.

Tabela 184. Rezime analize preživljavanja

| pol    | ukupno N | N događaja | cenzurirano |       |
|--------|----------|------------|-------------|-------|
|        |          |            | N           | %     |
| muški  | 44       | 18         | 26          | 59,1% |
| ženski | 44       | 12         | 32          | 72,7% |
| ukupno | 88       | 30         | 58          | 65,9% |

U narednoj tabeli u koloni "vreme" je broj meseci koliko je neki ispitanik posmatran tokom studije. U koloni "status" je podatak da li je na kraju tog posmatranja bolesnik bio/bila živ ili ne. U koloni „kumulativna proporcija preživelih u vremenskoj tački“ za svaki mesec je data proporcija preživelih do tada. Kako se povećava broj „događaja“ tj smrtnih ishoda tako ova proporcija opada. Ako je praćenje nekog ispitanika prekinuto zbog završetka studije ili nekog drugog razloga osim „događaja“, takav podatak se tretira kao „cenzurisan“.



Tabela 185. Tabela preživljavanja

Tabela preživljavanja

| pol   | vreme | status | kumulativna proporcija        |            | kumulativni N<br>dogadaja | N preostalih<br>slučajeva |    |
|-------|-------|--------|-------------------------------|------------|---------------------------|---------------------------|----|
|       |       |        | preživelih u vremenskoj tački |            |                           |                           |    |
|       |       |        | proporcija                    | st. greška |                           |                           |    |
|       | 1     | 4,0    | mrtav                         | .          | .                         | 1                         | 43 |
|       | 2     | 4,0    | mrtav                         | ,955       | ,031                      | 2                         | 42 |
|       | 3     | 7,0    | mrtav                         | ,932       | ,038                      | 3                         | 41 |
|       | 4     | 8,0    | mrtav                         | ,909       | ,043                      | 4                         | 40 |
|       | 5     | 9,0    | mrtav                         | ,886       | ,048                      | 5                         | 39 |
|       | 6     | 12,0   | mrtav                         | ,864       | ,052                      | 6                         | 38 |
|       | 7     | 13,0   | mrtav                         | ,841       | ,055                      | 7                         | 37 |
|       | 8     | 15,0   | mrtav                         | ,818       | ,058                      | 8                         | 36 |
|       | 9     | 15,0   | živ                           | .          | .                         | 8                         | 35 |
|       | 10    | 15,0   | živ                           | .          | .                         | 8                         | 34 |
|       | 11    | 17,0   | mrtav                         | ,794       | ,061                      | 9                         | 33 |
|       | 12    | 19,0   | živ                           | .          | .                         | 9                         | 32 |
|       | 13    | 21,0   | mrtav                         | ,769       | ,064                      | 10                        | 31 |
|       | 14    | 22,0   | mrtav                         | ,744       | ,067                      | 11                        | 30 |
|       | 15    | 22,0   | živ                           | .          | .                         | 11                        | 29 |
|       | 16    | 23,0   | živ                           | .          | .                         | 11                        | 28 |
| muški | 17    | 23,0   | živ                           | .          | .                         | 11                        | 27 |
|       | 18    | 25,0   | mrtav                         | .          | .                         | 12                        | 26 |
|       | 19    | 25,0   | mrtav                         | ,689       | ,072                      | 13                        | 25 |
|       | 20    | 25,0   | živ                           | .          | .                         | 13                        | 24 |
|       | 21    | 25,0   | živ                           | .          | .                         | 13                        | 23 |
|       | 22    | 27,0   | mrtav                         | ,659       | ,075                      | 14                        | 22 |
|       | 23    | 27,0   | živ                           | .          | .                         | 14                        | 21 |
|       | 24    | 29,0   | mrtav                         | .          | .                         | 15                        | 20 |
|       | 25    | 29,0   | mrtav                         | ,597       | ,080                      | 16                        | 19 |
|       | 26    | 30,0   | mrtav                         | ,565       | ,082                      | 17                        | 18 |
|       | 27    | 33,0   | živ                           | .          | .                         | 17                        | 17 |
|       | 28    | 34,0   | živ                           | .          | .                         | 17                        | 16 |
|       | 29    | 40,0   | živ                           | .          | .                         | 17                        | 15 |
|       | 30    | 41,0   | živ                           | .          | .                         | 17                        | 14 |
|       | 31    | 41,0   | živ                           | .          | .                         | 17                        | 13 |
|       | 32    | 42,0   | živ                           | .          | .                         | 17                        | 12 |
|       | 33    | 43,0   | mrtav                         | ,518       | ,087                      | 18                        | 11 |

Tabela preživljavanja

| pol    | vreme | status | kumulativna proporcija                      |            | kumulativni N<br>događaja | N preostalih<br>slučajeva |    |
|--------|-------|--------|---|------------|---------------------------|---------------------------|----|
|        |       |        | preživelih u vremenskoj tački<br>proporcija | st. greška |                           |                           |    |
|        | 34    | 45,0   | živ   | .          | .                         | 18                        | 10 |
|        | 35    | 46,0   | živ   | .          | .                         | 18                        | 9  |
|        | 36    | 46,0   | živ   | .          | .                         | 18                        | 8  |
|        | 37    | 50,0   | živ   | .          | .                         | 18                        | 7  |
|        | 38    | 58,0   | živ   | .          | .                         | 18                        | 6  |
|        | 39    | 62,0   | živ   | .          | .                         | 18                        | 5  |
|        | 40    | 63,0   | živ   | .          | .                         | 18                        | 4  |
|        | 41    | 66,0   | živ   | .          | .                         | 18                        | 3  |
|        | 42    | 80,0   | živ   | .          | .                         | 18                        | 2  |
|        | 43    | 82,0   | živ   | .          | .                         | 18                        | 1  |
|        | 44    | 82,0   | živ   | .          | .                         | 18                        | 0  |
|        | 1     | 2,0    | mrtav                                       | ,977       | ,022                      | 1                         | 43 |
|        | 2     | 3,0    | mrtav                                       | ,955       | ,031                      | 2                         | 42 |
|        | 3     | 4,0    | mrtav                                       | .          | .                         | 3                         | 41 |
|        | 4     | 4,0    | mrtav                                       | ,909       | ,043                      | 4                         | 40 |
|        | 5     | 6,0    | mrtav                                       | ,886       | ,048                      | 5                         | 39 |
|        | 6     | 10,0   | živ   | .          | .                         | 5                         | 38 |
|        | 7     | 11,0   | mrtav                                       | .          | .                         | 6                         | 37 |
|        | 8     | 11,0   | mrtav                                       | ,840       | ,056                      | 7                         | 36 |
|        | 9     | 12,0   | živ   | .          | .                         | 7                         | 35 |
|        | 10    | 13,0   | mrtav                                       | .          | .                         | 8                         | 34 |
| ženski | 11    | 13,0   | mrtav                                       | ,792       | ,062                      | 9                         | 33 |
|        | 12    | 15,0   | živ   | .          | .                         | 9                         | 32 |
|        | 13    | 16,0   | živ   | .          | .                         | 9                         | 31 |
|        | 14    | 16,0   | živ   | .          | .                         | 9                         | 30 |
|        | 15    | 17,0   | mrtav                                       | ,765       | ,065                      | 10                        | 29 |
|        | 16    | 17,0   | živ   | .          | .                         | 10                        | 28 |
|        | 17    | 19,0   | živ   | .          | .                         | 10                        | 27 |
|        | 18    | 21,0   | mrtav                                       | ,737       | ,069                      | 11                        | 26 |
|        | 19    | 22,0   | živ   | .          | .                         | 11                        | 25 |
|        | 20    | 25,0   | živ   | .          | .                         | 11                        | 24 |
|        | 21    | 28,0   | živ   | .          | .                         | 11                        | 23 |
|        | 22    | 30,0   | živ   | .          | .                         | 11                        | 22 |

Tabela preživljavanja

| pol | vreme | status | kumulativna proporcija                      |            | kumulativni N događaja | N preostalih slučajeva |
|-----|-------|--------|---|------------|------------------------|------------------------|
|     |       |        | preživelih u vremenskoj tački<br>proporcija | st. greška |                        |                        |
| 23  | 32,0  | živ    | .   | .          | 11                     | 21                     |
| 24  | 34,0  | živ    | .   | .          | 11                     | 20                     |
| 25  | 35,0  | mrtav  | ,700  | ,074       | 12                     | 19                     |
| 26  | 35,0  | živ    | .   | .          | 12                     | 18                     |
| 27  | 35,0  | živ    | .   | .          | 12                     | 17                     |
| 28  | 39,0  | živ    | .   | .          | 12                     | 16                     |
| 29  | 39,0  | živ    | .   | .          | 12                     | 15                     |
| 30  | 39,0  | živ    | .   | .          | 12                     | 14                     |
| 31  | 41,0  | živ    | .   | .          | 12                     | 13                     |
| 32  | 43,0  | živ    | .   | .          | 12                     | 12                     |
| 33  | 44,0  | živ    | .   | .          | 12                     | 11                     |
| 34  | 46,0  | živ    | .   | .          | 12                     | 10                     |
| 35  | 47,0  | živ    | .   | .          | 12                     | 9                      |
| 36  | 47,0  | živ    | .   | .          | 12                     | 8                      |
| 37  | 50,0  | živ    | .   | .          | 12                     | 7                      |
| 38  | 50,0  | živ    | .   | .          | 12                     | 6                      |
| 39  | 54,0  | živ    | .   | .          | 12                     | 5                      |
| 40  | 60,0  | živ    | .   | .          | 12                     | 4                      |
| 41  | 64,0  | živ    | .   | .          | 12                     | 3                      |
| 42  | 64,0  | živ    | .   | .          | 12                     | 2                      |
| 43  | 74,0  | živ    | .   | .          | 12                     | 1                      |
| 44  | 75,0  | živ    | .   | .          | 12                     | 0                      |

U tabeli 186 prikazane su procene aritmetičkih sredina preživljavanja dobijenih ako se u obzir uzme cenzurisanje događaja. Intervali poverenja su intervali u kojem se sa 95% sigurnosti nalazi pravo vreme preživljavanja u populaciji.

Tabela 186. Aritmetičke sredine i standardne greške vremena preživljavanja

| pol    | AS      |            |                        |                |
|--------|---------|------------|------------------------|----------------|
|        | procena | st. greška | 95% interval poverenja |                |
|        |         |            | donja granica          | gornja granica |
| muški  | 52,571  | 5,198      | 42,382                 | 62,759         |
| ženski | 56,413  | 4,556      | 47,483                 | 65,343         |
| ukupno | 56,792  | 3,687      | 49,566                 | 64,018         |

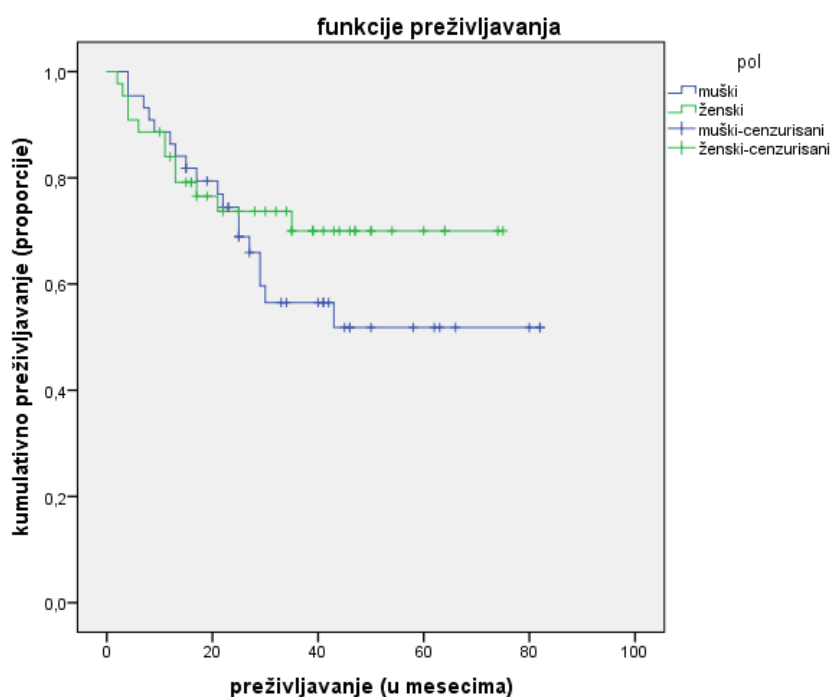
Log Rank (Mantel-Cox) test se koristi za analizu razlika između grupa po vremenu preživljavanja. Nema statistički značajne razlike u vremenu preživljavanja između muškaraca i žena,  $p=0,316$ .

Tabela 187. Statistička značajnost razlike dužine preživljavanja između obolelih muškaraca i žena

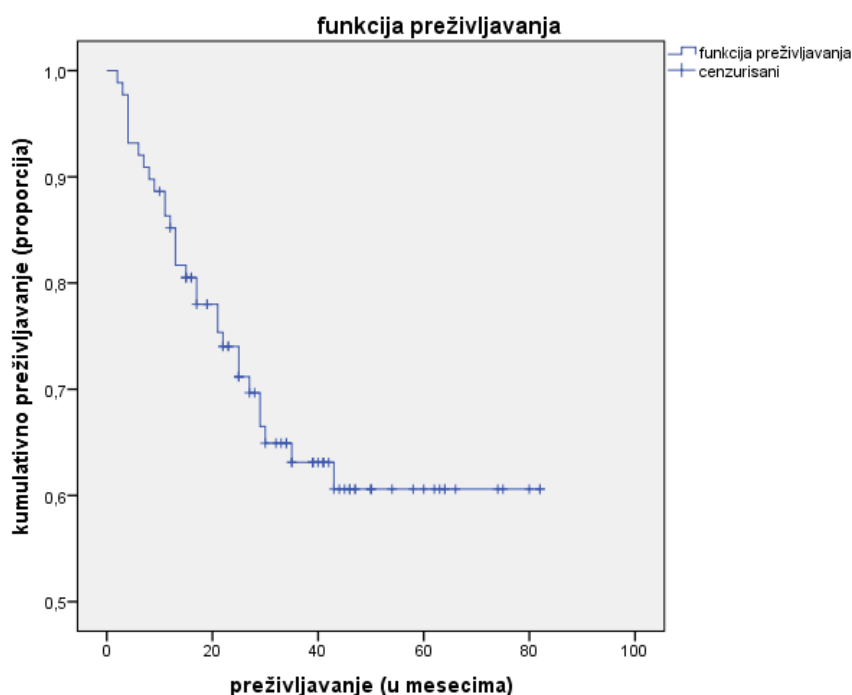
|                       | hi-kvadrat   | df       | p           |
|-----------------------|--------------|----------|-------------|
| Log Rank (Mantel-Cox) | <b>1,006</b> | <b>1</b> | <b>,316</b> |

Mada se na osnovu grafikona 14 stiče utisak da je preživljavanje muškaraca bolje u prvih dvadesetak meseci od postavljanja dijagnoze a nakon toga da je bolje preživljavanje žena, to nije slučaj jer nema statističke značajnosti razlike (grafikon 15).

Grafikon 4. Kaplan-Meier kriva - razlika dužine preživljavanja između obolelih muškaraca i žena



Grafikon 5. Kaplan-Meier kriva - preživljavanje bolesnika bez obzira na pol s obzirom da nema značane razlike



Medijana preživljavanja obolelih muškaraca je 82 meseca a obolelih žena 75 meseci.

Tabela 188. Medijana vremena preživljavanja u odnosu na pol

| kontrolisana varijabla |        | medijana vremena |
|------------------------|--------|------------------|
| pol                    | muški  | 82,00            |
|                        | ženski | 75,00            |

#### 4.8 ANALIZA PREŽIVLJAVANJA U ODNOSU NA MORFOLOŠKI PODTIP, IMUNOHISTOHEMIJSKI PODTIP, MUM1, CD10, BL6, BCL2, VEGF, COX2, BAFFR, TACI I BCMA

##### 4.8.1 Analiza preživljavanja u odnosu na morfološki podtip

Kod ukupno 88 pacijenata je analizirano preživljavanje u odnosu na morfološki podtip. Bilo je 60 slučajeva sa centroblastnim podtipom, od čega je umrlo 23. Bilo je 27 slučajeva sa imunoblastnim podtipom od čega je umrlo 7. Bio je jedan slučaj anaplastičnog DLBCL i živ je.

*Tabela 189. Rezime analize preživljavanja u odnosu na morfološki podtip*

| morfološki podtip | ukupno N | N događaja | cenzurisano |        |
|-------------------|----------|------------|-------------|--------|
|                   |          |            | N           | %      |
| centroblastni     | 60       | 23         | 37          | 61,7%  |
| imunoblastni      | 27       | 7          | 20          | 74,1%  |
| anaplastični      | 1        | 0          | 1           | 100,0% |
| ukupno            | 88       | 30         | 58          | 65,9%  |

S obzirom da jedini slučaj anaplastičnog DLBCL nije umro nije moguće računati statističku značajnost razlike dužine preživljavanja. Kada se selektuju samo slučajevi sa centroblastnim i imunoblastnim podtipom situacija je sledeća:

*Tabela 190. Analiza preživljavanja u odnosu na morfološki podtip*

| morfološki podtip | ukupno N | N događaja | cenzurisano |       |
|-------------------|----------|------------|-------------|-------|
|                   |          |            | N           | %     |
| centroblastni     | 60       | 23         | 37          | 61,7% |
| imunoblastni      | 27       | 7          | 20          | 74,1% |
| ukupno            | 87       | 30         | 57          | 65,5% |

Pacijenti sa centroblastnim podtipom DLBCL su u proseku živeli 54,473 meseci a pacijenti sa imunoblastnim podtipom 45,988 meseci.

*Tabela 191. Aritmetičke sredine vremena preživljavanja u odnosu na morfološki podtip*

| morfološki podtip | AS      |            |                        |                |
|-------------------|---------|------------|------------------------|----------------|
|                   | procena | st. greška | 95% interval poverenja |                |
|                   |         |            | donja granica          | gornja granica |
| centroblastni     | 54,473  | 4,420      | 45,810                 | 63,137         |
| imunoblastni      | 45,988  | 4,538      | 37,092                 | 54,883         |
| ukupno            | 56,437  | 3,726      | 49,135                 | 63,739         |

Pacijenti sa centroblastnim podtipom su u proseku duže živeli od pacijenata sa imunoblastnim podtipom DLBCL ali nema statističke značajnosti,  $p=0,461$ .

*Tabela 192. Statistička značajnost razlike vremena preživljavanja u odnosu na morfološki podtip*

|                       | hi-kvadrat  | df       | p           |
|-----------------------|-------------|----------|-------------|
| Log Rank (Mantel-Cox) | <b>,544</b> | <b>1</b> | <b>,461</b> |

#### 4.8.2 Analiza preživljavanja u odnosu na imunohistohemijski podtip

Analiza preživljavanja u odnosu na imunohistohemijski podtip je učinjena kod 88 bolesnika. Bilo je 25 slučajeva podtipa GCB od kojih je umrlo 9. Bilo je 56 slučajeva podtipa nonGCB od kojih je umrlo 17. Bilo je 7 slučajeva CD5+ od kojih je umrlo 4.

Tabela 193. Rezime analize preživljavanja u odnosu na imunohistohemijski podtip

| imunohistohemijski podtip | ukupno N | N događaja | cenzurisano |       |
|---------------------------|----------|------------|-------------|-------|
|                           |          |            | N           | %     |
| GCB                       | 25       | 9          | 16          | 64,0% |
| nonGCB                    | 56       | 17         | 39          | 69,6% |
| CD5+                      | 7        | 4          | 3           | 42,9% |
| ukupno                    | 88       | 30         | 58          | 65,9% |

Pacijenti sa podtipom GCB su prosečno živeli 53,726 meseci, pacijenti sa podtipom nonGCB su prosečno živeli 59,774 meseci, a pacijenti sa podtipom CD5+ su prosečno živeli 25,143 meseci.

Tabela 194. Aritmetičke sredine vremena preživljavanja u odnosu na imunohistohemijski podtip

| imunohistohemijski podtip | AS      |            |                        |                |
|---------------------------|---------|------------|------------------------|----------------|
|                           | procena | st. greška | 95% interval poverenja |                |
|                           |         |            | donja granica          | gornja granica |
| GCB                       | 53,726  | 6,844      | 40,311                 | 67,142         |
| nonGCB                    | 59,774  | 4,474      | 51,004                 | 68,544         |
| CD5+                      | 25,143  | 5,363      | 14,632                 | 35,654         |
| ukupno                    | 56,792  | 3,687      | 49,566                 | 64,018         |

Mada su CD5+ pacijenti u proseku živeli kraće razlika nije statistički značajna,  $p=0,238$ .

Tabela 195. Statistička značajnost razlike vremena preživljavanja u odnosu na imunohistohemijski podtip

|                       | hi-kvadrat   | df       | p           |
|-----------------------|--------------|----------|-------------|
| Log Rank (Mantel-Cox) | <b>2,868</b> | <b>2</b> | <b>,238</b> |

### 4.8.3 Analiza preživljavanja u odnosu na ekspresiju MUM1

Analiza preživljavanja u odnosu na ekspresiju MUM1 je sprovedena kod 84 pacijenta. Bilo je 31 bolesnika bez ekspresije MUM1, od kojih je 12 umrlo i bilo je 53 bolesnika sa ekspresijom MUM1, od kojih je umrlo 14.

Tabela 196. Rezime analize preživljavanja u odnosu na ekspresiju MUM1

| MUM1      | ukupno N | N događaja | cenzurisano |       |
|-----------|----------|------------|-------------|-------|
|           |          |            | N           | %     |
| negativan | 31       | 12         | 19          | 61,3% |
| pozitivan | 53       | 14         | 39          | 73,6% |
| ukupno    | 84       | 26         | 58          | 69,0% |

Bolesnici bez ekspresije MUM1 su u proseku živeli 54,406 meseci, bolesnici sa ekspresijom MUM1 su u proseku živeli 62,024 meseca.

Tabela 197. Aritmetičke sredine vremena preživljavanja u odnosu na ekspresiju MUM1

| MUM1      | AS      |            |                        |                |
|-----------|---------|------------|------------------------|----------------|
|           | procena | st. greška | 95% interval poverenja |                |
|           |         |            | donja granica          | gornja granica |
| negativan | 54,406  | 6,058      | 42,532                 | 66,279         |
| pozitivan | 62,024  | 4,553      | 53,100                 | 70,948         |
| ukupno    | 59,004  | 3,697      | 51,758                 | 66,251         |

Razlika u dužini preživljavanja MUM1 pozitivnih i negativnih slučajeva nije statistički značajna,  $p=0,378$ .

Tabela 198. Statistička značajnost razlike vremena preživljavanja u odnosu na ekspresiju MUM1

|                       | hi-kvadrat  | df       | p           |
|-----------------------|-------------|----------|-------------|
| Log Rank (Mantel-Cox) | <b>,778</b> | <b>1</b> | <b>,378</b> |

### 4.8.4 Analiza preživljavanja u odnosu na ekspresiju CD10

Analiza preživljavanja u odnosu na ekspresiju CD10 je urađena kod 85 pacijenata. Bilo je 67 CD10- pacijenata, od kojih je umrlo 22 i bilo je 18 CD10+ pacijenata od kojih je umrlo 6.



*Tabela 199. Rezime analize preživljavanja u odnosu na ekspresiju CD10*

| CD10      | ukupno N | N događaja | cenzurisano |       |
|-----------|----------|------------|-------------|-------|
|           |          |            | N           | %     |
| negativan | 67       | 22         | 45          | 67,2% |
| pozitivan | 18       | 6          | 12          | 66,7% |
| ukupno    | 85       | 28         | 57          | 67,1% |

Pacijenti sa ekspresijom CD10 su u proseku živeli 54,781 meseci a pacijenti bez ekspresije CD10 su u proseku živeli 58,096 meseci.

*Tabela 200. Aritmetičke sredine vremena preživljavanja u odnosu na ekspresiju CD10*

| CD10      | AS      |            |                        |                |
|-----------|---------|------------|------------------------|----------------|
|           | procena | st. greška | 95% interval poverenja |                |
|           |         |            | donja granica          | gornja granica |
| negativan | 58,096  | 4,134      | 49,993                 | 66,198         |
| pozitivan | 54,781  | 8,342      | 38,431                 | 71,132         |
| ukupno    | 57,540  | 3,736      | 50,217                 | 64,862         |

Razlika u dužini preživljavanja CD10 pozitivnih i negativnih bolesnika nije statistički značajna,  $p=0,660$ .

*Tabela 201. Statistička značajnost razlike vremena preživljavanja u odnosu na ekspresiju CD10*

|                       | hi-kvadrat  | df       | p           |
|-----------------------|-------------|----------|-------------|
| Log Rank (Mantel-Cox) | <b>,193</b> | <b>1</b> | <b>,660</b> |

#### **4.8.5 Analiza preživljavanja u odnosu na ekspresiju BCL6**

Analiza preživljavanja u odnosu na ekspresiju BCL6 je učinjena kod 84 bolesnika. Bilo je 41 BCL6+ bolesnika, od kojih je umrlo 15 i bilo je 43 BCL6- bolesnika, od kojih je umrlo 13.

Tabela 202. Rezime analize preživljavanja u odnosu na ekspresiju BCL6

| BCL6      | ukupno N | N događaja | cenzurisano |       |
|-----------|----------|------------|-------------|-------|
|           |          |            | N           | %     |
| negativan | 41       | 15         | 26          | 63,4% |
| pozitivan | 43       | 13         | 30          | 69,8% |
| ukupno    | 84       | 28         | 56          | 66,7% |

Pacijenti sa ekspresijom BCL6 su u proseku živeli 59,519 meseci a pacijenti bez ekspresije BCL6 su u proseku živeli 55,080 meseci.

Tabela 203. Aritmetičke sredine vremena preživljavanja u odnosu na ekspresiju BCL6

| BCL6      | AS      |            |                        |                |
|-----------|---------|------------|------------------------|----------------|
|           | procena | st. greška | 95% interval poverenja |                |
|           |         |            | donja granica          | gornja granica |
| negativan | 55,080  | 5,455      | 44,388                 | 65,772         |
| pozitivan | 59,519  | 5,149      | 49,426                 | 69,611         |
| ukupno    | 57,376  | 3,752      | 50,022                 | 64,730         |

Razlika u dužini preživljavanja BCL6 pozitivnih i negativnih slučajeva nije statistički značajna,  $p=0,637$ .

Tabela 204. Statistička značajnost razlike vremena preživljavanja u odnosu na ekspresiju BCL6

|                       | hi-kvadrat  | df       | p           |
|-----------------------|-------------|----------|-------------|
| Log Rank (Mantel-Cox) | <b>,223</b> | <b>1</b> | <b>,637</b> |

#### 4.8.6 Analiza preživljavanja u odnosu na ekspresiju BCL2

Analiza preživljavanja u odnosu na ekspresiju BCL2 je ispitana kod 86 bolesnika. Pozitivan nalaz je bio u 34 slučaja a negativan u 52 slučaja. Umrlo je 18 BCL2- i 12 BCL2+ pacijenata.

Tabela 205. Rezime analize preživljavanja u odnosu na ekspresiju BCL2

| BCL2      | ukupno N | N događaja | cenzurisano |       |
|-----------|----------|------------|-------------|-------|
|           |          |            | N           | %     |
| negativan | 52       | 18         | 34          | 65,4% |
| pozitivan | 34       | 12         | 22          | 64,7% |
| ukupno    | 86       | 30         | 56          | 65,1% |

Prosečno preživljavanje BCL2- bolesnika je bilo 56,944 meseci, a BCL2+ bolesnika 53,209 meseci.

Tabela 206. Aritmetičke sredine vremena preživljavanja u odnosu na ekspresiju BCL2

| BCL2      | AS      |            |                        |                |
|-----------|---------|------------|------------------------|----------------|
|           | procena | st. greška | 95% interval poverenja |                |
|           |         |            | donja granica          | gornja granica |
| negativan | 56,944  | 4,757      | 47,620                 | 66,268         |
| pozitivan | 53,209  | 5,945      | 41,557                 | 64,861         |
| ukupno    | 56,281  | 3,737      | 48,956                 | 63,606         |

Nije prisutna statistički značajna razlika u preživljavanju BCL2 pozitivnih i negativnih bolesnika,  $p=0,884$ .

Tabela 207. Statistička značajnost razlike vremena preživljavanja u odnosu na ekspresiju BCL2

|                       | hi-kvadrat  | df       | p           |
|-----------------------|-------------|----------|-------------|
| Log Rank (Mantel-Cox) | <b>,021</b> | <b>1</b> | <b>,884</b> |

#### 4.8.7 Analiza preživljavanja u odnosu na ekspresiju VEGF

Analiza preživljavanja u odnosu na ekspresiju VEGF je učinjena kod 63 bolesnika. Bilo je 46 negativnih i 17 pozitivnih nalaza. Od VEGF- je umrlo 14 bolesnika a od VEGF+ 5.

Tabela 208. Rezime analize preživljavanja u odnosu na ekspresiju VEGF

| VEGF      | ukupno N | N događaja | cenzurisano |       |
|-----------|----------|------------|-------------|-------|
|           |          |            | N           | %     |
| negativan | 46       | 14         | 32          | 69,6% |
| pozitivan | 17       | 5          | 12          | 70,6% |
| ukupno    | 63       | 19         | 44          | 69,8% |

VEGF- slučajevi su prosečno živeli 55,589 meseci a VEGF+ slučajevi 60,947 meseci.

Tabela 209. Aritmetičke sredine vremena preživljavanja u odnosu na ekspresiju VEGF

| VEGF      | AS      |            |                        |                |
|-----------|---------|------------|------------------------|----------------|
|           | procena | st. greška | 95% interval poverenja |                |
|           |         |            | donja granica          | gornja granica |
| negativan | 55,589  | 4,291      | 47,178                 | 64,000         |
| pozitivan | 60,947  | 7,900      | 45,462                 | 76,432         |
| ukupno    | 60,406  | 4,111      | 52,349                 | 68,464         |

Nije prisutna statistički značajna razlika u preživljavanju između VEGF+ i VEGF- bolesnika,  $p=0,952$ .

Tabela 210. Statistička značajnost razlike vremena preživljavanja u odnosu na ekspresiju VEGF

|                       | hi-kvadrat  | df       | p           |
|-----------------------|-------------|----------|-------------|
| Log Rank (Mantel-Cox) | <b>,004</b> | <b>1</b> | <b>,952</b> |

#### 4.8.8 Analiza preživljavanja u odnosu na ekspresiju COX2

Analiza preživljavanja u odnosu na ekspresiju COX2 je sprovedena kod 64 bolesnika. Bilo je 23 negativna rezultata i 41 pozitivan rezultat. Od COX2 negativnih slučajeva umrlo je 8 bolesnika a od COX2+ 11.

Tabela 211. Rezime analize preživljavanja u odnosu na ekspresiju COX2

| COX2      | ukupno N | N događaja | cenzurisano |       |
|-----------|----------|------------|-------------|-------|
|           |          |            | N           | %     |
| negativan | 23       | 8          | 15          | 65,2% |
| pozitivan | 41       | 11         | 30          | 73,2% |
| ukupno    | 64       | 19         | 45          | 70,3% |

Srednje preživljavanje COX2- slučajeva je bilo 58,177 meseci a COX2+ slučajeva 56,431 meseci.

Tabela 212. Aritmetičke sredine vremena preživljavanja u odnosu na ekspresiju COX2

| COX2      | AS      |            |                        |                |
|-----------|---------|------------|------------------------|----------------|
|           | procena | st. greška | 95% interval poverenja |                |
|           |         |            | donja granica          | gornja granica |
| negativan | 58,177  | 6,840      | 44,771                 | 71,583         |
| pozitivan | 56,431  | 4,464      | 47,682                 | 65,180         |
| ukupno    | 60,529  | 4,093      | 52,507                 | 68,551         |

Nije prisutna statistički značajna razlika u dužini preživljavanja između COX2 negativni i COX2 pozitivnih slučajeva,  $p=0,626$ .

Tabela 213. Statistička značajnost razlike vremena preživljavanja u odnosu na ekspresiju COX2

|                       | hi-kvadrat  | df       | p           |
|-----------------------|-------------|----------|-------------|
| Log Rank (Mantel-Cox) | <b>,237</b> | <b>1</b> | <b>,626</b> |

#### 4.8.9 Analiza preživljavanja u odnosu na ekspresiju BAFFR

Analiza preživljavanja u odnosu na ekspresiju BAFFR je sprovedena kod 63 bolesnika. Bilo je 33 negativna nalaza i 30 pozitivnih. Od BAFFR negativnih slučajeva umrlo je 14 bolesnika a od BAFFR + 5.

Tabela 214. Rezime analize preživljavanja u odnosu na ekspresiju BAFFR

| BAFFR     | ukupno N | N događaja | cenzurisano |       |
|-----------|----------|------------|-------------|-------|
|           |          |            | N           | %     |
| negativan | 33       | 14         | 19          | 57,6% |
| pozitivan | 30       | 5          | 25          | 83,3% |
| ukupno    | 63       | 19         | 44          | 69,8% |

Prosečno preživljavanje BAFFR negativnih bolesnika bilo je 53,183 meseci a BAFFR pozitivnih 63,785 meseci.

Tabela 215. Aritmetičke sredine vremena preživljavanja u odnosu na ekspresiju BAFFR

| BAFFR     | AS      |            |                        |                |
|-----------|---------|------------|------------------------|----------------|
|           | procena | st. greška | 95% interval poverenja |                |
|           |         |            | donja granica          | gornja granica |
| negativan | 53,183  | 5,818      | 41,780                 | 64,586         |
| pozitivan | 63,785  | 4,580      | 54,809                 | 72,761         |
| ukupno    | 60,356  | 4,118      | 52,285                 | 68,426         |

Bolesnici sa BAFFR pozitivnim statusom imaju duže preživljavanje ali bez statističke značajnosti, mada je blizu granice,  $p=0,054$ .

Tabela 216. Statistička značajnost razlike vremena preživljavanja u odnosu na ekspresiju BAFFR

|                       | hi-kvadrat   | df       | p           |
|-----------------------|--------------|----------|-------------|
| Log Rank (Mantel-Cox) | <b>3,705</b> | <b>1</b> | <b>,054</b> |

#### 4.8.10 Analiza preživljavanja u odnosu na ekspresiju TACI

Analiza preživljavanja u odnosu na ekspresiju TACI je ispitana kod 64 bolesnika. Bilo je 35 negativnih nalaza i 29 pozitivnih nalaza. Od TACI- slučajeva umrlo je 12 a od TACI+ slučajeva je umrlo 7.

Tabela 217. Rezime analize preživljavanja u odnosu na ekspresiju TACI

| TACI      | ukupno N | N događaja | cenzurisano |       |
|-----------|----------|------------|-------------|-------|
|           |          |            | N           | %     |
| negativan | 35       | 12         | 23          | 65,7% |
| pozitivan | 29       | 7          | 22          | 75,9% |
| ukupno    | 64       | 19         | 45          | 70,3% |

Prosečno preživljavanje TACI+ bolesnika je bilo 63,453 meseci a TACI- bolesnika 53,845 meseci.

Tabela 218. Aritmetičke sredine vremena preživljavanja u odnosu na ekspresiju TACI

| TACI      | AS      |            |                        |                |
|-----------|---------|------------|------------------------|----------------|
|           | procena | st. greška | 95% interval poverenja |                |
|           |         |            | donja granica          | gornja granica |
| negativan | 53,845  | 4,961      | 44,121                 | 63,569         |
| pozitivan | 63,453  | 6,014      | 51,666                 | 75,241         |
| ukupno    | 60,529  | 4,093      | 52,507                 | 68,551         |

TACI+ bolesnici duže žive od TACI negativnih ali nema statističke značajnosti između dužine preživljavanja,  $p=0,503$ .

Tabela 219. Statistička značajnost razlike dužine preživljavanja u odnosu na ekspresiju TACI.

|                       | hi-kvadrat  | df       | p           |
|-----------------------|-------------|----------|-------------|
| Log Rank (Mantel-Cox) | <b>,449</b> | <b>1</b> | <b>,503</b> |

#### 4.8.11 Analiza preživljavanja u odnosu na ekspresiju BCMA

Analiza preživljavanja u odnosu na ekspresiju BCMA je ispitana kode 64. Bilo je 57 negativnih i 7 pozitivnih nalaza. Od BCMA+ slučajeva ni jedan bolesnik još nije umro, a od negativnih 19.

*Tabela 220. Rezime analize preživljavanja u odnosu na ekspresiju BCMA*

| BCMA      | ukupno N | N događaja | cenzurisano |        |
|-----------|----------|------------|-------------|--------|
|           |          |            | N           | %      |
| negativan | 57       | 19         | 38          | 66,7%  |
| pozitivan | 7        | 0          | 7           | 100,0% |
| ukupno    | 64       | 19         | 45          | 70,3%  |

Imajući u vidu da ni jedan BCMA+ bolesnik nije umro nije moguće izračunati statističku značajnost razlike u preživljavanju BCMA pozitivnih i negativnih bolesnika.



## 5. DISKUSIJA

Difuzni krupnoćelijski B limfom je najčešći limfom na svetu (2). Obuhvata do 30% non Hodgkin limfoma u razvijenim zemljama zapada i veći procenat (do 50%) u zemljama u razvoju i u nerazvijenim zemljama (5). DLBCL je bolest svih uzrasta ali se najčešće javlja između 65 i 69 godina starosti (4, 5). Naše istraživanje obuhvata 92 pacijenta koja su dijagnostikovana na Institutu za onkologiju Vojvodine od 2003. do 2011. godine. Prosečno vreme praćenja je bilo 31,9 meseci, mediana 28,5 meseci. U ovom istraživanju je prilikom postavljanja dijagnoze među obolelim muškarcima najviše bilo pacijenata starosti 50-59 godina (29,2%) a zatim 60-69 godina (22,9%). Među obolelim ženama je prilikom postavljanja dijagnoze najviše obolelih bilo u starosnom opsegu 50-59 godina (25%), a nešto manje u starosnom opsegu 70-79 godina (22,7%). Nije bilo statistički značajne razlike u starosnoj strukturi između obolelih muškaraca i žena. Takav podatak nije nađen ni u inostranim istraživanjima. Podaci iz našeg ispitivanog uzorka su saglasni sa međunarodnim podacima po pitanju prevage starijeg uzrasta obolelih od difuznog krupnoćelijskog B limfoma. Mogli smo očekivati i mlađi uzrast obolelih zbog lošijih uslova života (povezano sa zapaljenjima i hroničnim bolestima), kao i zbog činjenice da u Vojvodini živi veliki broj poljoprivrednika koji su izloženi pesticidima, koji su poznat karcinogeni agensi. Kod starijih ispitanika je u našem istraživanju ređe registrovana ekspresija CD30, COX2, TACI i BCMA. S obzirom da COX2, TACI i BCMA spadaju u markere signalnih puteva angiogeneze i inflamacije, kao i u markere ćelijskog ciklusa i apoptoze, moguće je da njihova ekspresija opada sa starenjem u sklopu opšteg snižavanja imuniteta sa starenjem. Nismo našli objašnjenje u literaturi. Ekspresija preostalih primenjenih imunohistohemijskih markera ne korelira sa starošću pacijenata u statistički značajnoj meri.

U našem ispitivanom uzorku muškarci su oboljevali malo češće od žena, 48 bolesnika u odnosu na 44 bolesnice. Nije bilo statistički značajne razlike te se oboleli muškarci i žene mogu posmatrati kao jedna grupa. Podaci su slični podacima WHO i podacima različitih istraživačkih grupa (2, 5-7). 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 saradnici su pokazali da obolele žene imaju bolje preživljavanje od muškarca kod aplikovanja rituksimaba (223). Pokazano da muškarci brže metabolišu rituksimab i da ga imaju u manjoj koncentraciji u serumu. Ovo je naročito izraženo kod muškaraca sa većim indeksom telesne mase. U našem ispitivanom uzorku nema statistički značajne razlike u dužini preživljavanja između obolelih muškaraca i žena.

Difuzni krupnoćelijski B limfom se može javiti nodalno ili ekstrapodalno. Nodalno se javlja u oko 60% slučajeva. Bilo koji limfni čvor može postati ishodište DLBCL. Ekstrapodalno se javlja u oko 40% slučajeva. Bilo koji ekstrapodalni deo tela može postati ishodište difuznog krupnoćelijskog B limfoma. Od svih limfoma koji se mogu javiti ekstrapodalno DLBCL je najčešći. Ekstrapodalno se najčešće javlja u želucu. DLBCL predstavlja najčešći limfom centralnog nervnog sistema, testisa i gastrointestinalnog trakta. U našem ispitivanom uzorku nije bilo statistički značajne razlike u distribuciji nodalnog i ekstrapodalnog ishodišta tumora

između obolelih muškaraca i žena. Takva razlika se i ne spominje u literaturi. Mi smo imali podjednak broj primarno nodalnih i primarno ekstrapodalnih slučajeva DLBCL. To u našem slučaju zavisi i od nemedicinskih faktora kao što je činjenica da li je bolesnik dobio uput za našu ustanovu, Klinički centar Vojvodine ili za neku od Beogradskih bolnica. Prema nekim istraživanjima ekstrapodalno poreklo DLBCL u slučajevima koji zahvataju Waldeyer-ov prsten ima bolju prognozu a u slučaju zahvatanja većine drugih ekstrapodalnih mesta ima lošiju prognozu (224). Ispitivanje korelacije sa preživljavanjem nije učinjeno zbog nedovoljne homogenosti ekstrapodalnih uzoraka među našim pacijentima. Naime, bilo je slučajeva sa više anatomskih lokalizacija, uglavnom iz želuca. Korelacija sa ekspresijom imunohistohemijskih markera je ipak ispitana. Kod ekstrapodalnih limfoma ekspresija TACI je češća nego kod nodalnih limfoma. U literaturi nismo našli objašnjenje. Imajući u vidu da se TACI ne koristi rutinski u dijagnostici DLBCL, kao i činjenicu da naš uzorak ekstrapodalnih DLBCL nije homogen jer potiču sa raznih anatomskih regija, svakako su potrebna dalja istraživanja na većem broju pacijenata, po mogućstvu na homogenim uzorcima ekstrapodalnih limfoma. Preostali primenjeni imunohistohemijski markeri nemaju statistički značajnu korelaciju sa nodalnim / ekstrapodalnim ishodištem limfoma.

Prema literaturnim podacima prilikom postavljanja dijagnoze se skoro polovina pacijenata nalazi u prvom ili drugom stadijumu, a približno jedna trećina bolesnika se javlja u četvrtom stadijumu. U našem ispitivanom uzorku oko polovine bolesnika je dijagnostikovano u prva dva stadijuma, što je u potpunoj saglasnosti sa inostranim podacima. 29,2% bolesnika se javilo specijalisti u trećem stadijumu i 16,9% u četvrtom stadijumu. Očekivalo bi se da se naši pacijenti kasnije jave lekaru imajući u vidu liste čekanja u zdravstvenim ustanovama i teško dobijanje uputa za lekara specijalistu. U ispitivanom uzorku između obolelih muškaraca i žena nema statistički značajne razlike u distribuciji po stadijumima oboljenja u trenutku postavljanja dijagnoze. U literaturi se i ne spominje takva mogućnost. Neophodno je uraditi pored morfološke analize patohistološkog preparata i dodatne analize kako bi se pouzdano utvrdila zahvaćenost koštane srži jer prisustvo bolesti u koštanoj srži je povezano sa lošom prognozom. Talaulikar i saradnici su ispitivali upotrebu dodatne protočne citometrije, imunohistohemijskih analiza i PCR analize i upotrebom dodatnih metoda su povećali preciznost detekcije minimalnog zahvatanja koštane srži i imali su višestruko više pozitivnih nalaza nego samo patohistološkom analizom (225). Nije nađena statistički značajna korelacija ekspresije primenjenih imunohistohemijskih markera i stadijuma bolesti u trenutku postavljanja dijagnoze. O tome ni u literaturi nismo našli podatke.

Počev od klasifikacije Lukes-a i Collins-a, Kiel-ske klasifikacije i sa kulminacijom REAL i WHO klasifikacije, dijagnoza limfoidnih tumora počiva na određivanju ćelije porekla, faze sazrevanja, funkcije i bazirano na ekspresiji antigena kao dopuna morfologiji i kliničkim osobinama. Tehnološki napredak u imunologiji, produkcija antitela, genetske analize, kloniranje i identifikaciji novih gena i proteina omogućili su patolozima upotrebu mnogobrojnih antitela u rutinskoj praksi. U ovom radu prikazali smo morfološku i imunohistohemijsku podelu DLBCL. Za molekularnu podelu nismo imali tehničkih uslova.

Morfološka podela DLBCL ima četiri podtipa: centroblastni, imunoblastni, anaplastični i retke forme. Teoretski gledano vrlo je lako razlučiti koji je podtip u pitanju na osnovu citoloških karakteristika limfomskih ćelija. Kod centroblastnog podtipa maligne ćelije su atipični centroblasti i imaju mehurasto jedro sa 2-3 jedarca uz jedarnu membranu. Kod imunoblastnog podtipa maligne ćelije imaju mehurasto jedro i 1 centralno postavljeno jedarce. Kod anaplastičnog podtipa maligne ćelije su izrazito pleomorfne, često nalik Reed-Sternberg ćelijama ali se i dalje prepoznaje da su u pitanju limfomske ćelije. U podtipu retkih morfoloških formi maligne ćelije čak i ne liče na limfomske ćelije. Da bi neki slučaj bio proglašen za imunoblastni limfom po morfološkoj podeli DLBCL, potrebno je da ima preko 90% ćelija citoloških karakteristika imunoblasta. Veliki broj slučajeva DLBCL ima kombinaciju nekog procenta centroblasta i imunoblasta. Na taj način centroblastni morfološki podtip je neka vrsta zajedničke grupe ("not otherwise specified") gde se nalaze svi oni slučajevi gde tumorske ćelije deluju poput centroblasta, zatim svi oni slučajevi koji nisu zadovoljili kriterijume za imunoblastni limfom, svi oni slučajevi koji nemaju upadljivu pleomorfiju kako bi bili svrstani u anaplastični podtip i svi oni slučajevi koji nisu retke forme koje morfološki mogu čak i da ne liče na limfom. Nema adekvatne reproducibilnosti morfološke podele ni među različitim patolozima, ni kod istog patologa sa vremenskom distancom, mada teoretski zvuči jednostavno razlikovanje podtipova.

U odnosu na morfološku podelu DLBCL u našem radu je konstatovano oko 70% centroblastnih limfoma, oko 29% imunoblastnih i oko 1% anaplastičnih. Retkih morfoloških podtipova nije bilo u ispitivanom uzorku. Podaci su kompatibilni sa podacima drugih istraživača. Na primer Salar i saradnici su u svom istraživanju imali oko 74% centroblastnih i 24% imunoblastnih slučajeva DLBCL (69). Pre ere primene Rituximab-a u terapiji većina istraživača je očekivala da imunoblastni podtip DLBCL ima lošiju prognozu od centroblastnog podtipa. Tako na primer Brittinger i saradnici su obavili istraživanje na 341 obolelom kao i Engelhard sa saradnicima na 219 obolelih i pronašli su lošiju prognozu imunoblastnog podtipa u odnosu na centroblastni podtip (68, 136). Suprotno, Salar i saradnici su na 132 obolela dokazali da morfološka podela ne korelira sa kliničkim parametrima niti sa preživljavanjem, takođe pre ere Rituximab-a (69). U našem istraživanju pacijenti sa centroblastnim podtipom su u proseku živeli 54,473 meseci a pacijenti sa imunoblastnim podtipom 45,988 meseci. Dakle pacijenti sa centroblastnim podtipom su živeli u proseku duže od pacijenata sa imunoblastnim podtipom ali bez statistički značajne razlike. S obzirom da smo imali samo jedan slučaj anaplastičnog morfološkog podtipa nije moguće računati statističku značajnost preživljavanja. Danas je prihvaćeno da nema jasne povezanosti histomorfologije sa prognozom i predikcijom. Osnovni problem je u nereproducibilnosti morfološke podele, kako među različitim patolozima tako i kod istog patologa sa vremenskom distancom. U ispitivanom uzorku našeg istraživanja nije bilo statistički značajne korelacije između distribucije morfoloških podtipova i pola obolelih. Ni u literaturi se takav podatak ne navodi. Imunohistohemijski pandan morfološkom centroblastnom podtipu je GCB podtip, a pandan imunoblastnom podtipu je nonGCB podtip. Korelacije nisu računane zbog poznate nereproducibilnosti određivanja morfološkog podtipa. Iz istog razloga nisu računane ni korelacije morfoloških podtipova u odnosu na primenjene imunohistohemijske markere.

Određivanje imunofenotipa je neophodno u dijagnostici limfoidnih maligniteta. Pristupačna su mnogobrojna antitela ali većinom nisu specifična. Da bi se izbegle greške interpretacija markera mora biti zasnovana na znanju o ekspresiji svakog antigena u normalnim, reaktivnim i neoplastičnim stanjima. Imunohistohemija se bazira na klasičnom principu humoralnog imuniteta - na prepoznavanju i vezivanju antitela i antigena. Cilj imunohistohemije je da pouzdano detektuje antigen u uzorku. Poliklonalna antitela imaju veću senzitivnost ali manju specifičnost od monoklonalnih. Neophodno je imati pozitivnu kontrolu za svaku analizu, na svakoj ispitivanoj pločici. Potrebno je imati i negativnu kontrolu da bi se eliminisali lažno pozitivni nalazi. Detekcija kao finalni deo imunohistohemije se postiže obeležavanjem primarnog ili sekundarnog antitela. Indirektna metoda detekcije gde se obeleženo sekundarno antitelo veže za neobeleženo primarno antitelo, koje je vezano za ciljni antigen je u prednosti nad direktnom metodom u kojoj se koristi jedno obeleženo antitelo. Ova metoda je efikasnija jer se isto konjugovano sekundarno antitelo može koristiti za veliki broj primarnih antitela. Takođe mogu se koristiti jača razblaženja primarnog antitela bez bojazni od nespecifičnog pozadinskog bojenja. Na tržištu su prisutni visoko efikasni metodi detekcije bazirani na sintetskim polimerima kao što su EnVision ili Dako, koji su povećali ne samo senzitivnost i specifičnost nego i brzinu i pouzdanost metode.

Na žalost pouzdanost markera je često slaba. Tehnički problemi kao što su različite koncentracije antitela, neadekvatan dizajn studije (mali uzorak, predrasude u izboru uzoraka), nedostatak prospektivnih trajala, nedostatatak standardizacije evaluacionih procedura, a pogotovo praga pozitivnosti, su najznačajniji faktori koji sprečavaju uspešnu kliničku primenu. S obzirom da mnoge studije ne izveštavaju o vrednostima biomarkera koje su se ispoljile, primena različitih pragova pozitivnosti čini veoma teškim ili čak nemogućim poređenje rezultata i reproducibilnost istraživanja (226). Modifikacija krajnjih rezultata uvođenjem skala i kategorija je potencijalni problem ukoliko postoji neusklađenost pragova pozitivnosti jer će neki slučajevi biti drugačije klasifikovani. Inkorporacija intenziteta imunohistohemijskog bojenja je pod znakom pitanja. Intenzitet bojenja je podložan varijaciji između slučajeva, različitoj fiksaciji, različitoj očuvanosti tkiva, različitoj primeni sistema za amplifikaciju i detekciju, različitoj dužini inkubacije hromogena. S obzirom da je ustanovljavanje intenziteta bojenja dosta subjektivno i da zavisi od percepcije istraživača, ovaj način dijagnostike bi doveo do niskog stepena slaganja među patolozima. Zbog navedenih razloga skorovanje bazirano na intenzitetu ili broju pozitivnih ćelija iako široko prihvaćeno (npr za estrogenske receptore u dojci) možda nije optimalno. Centralna stvar je da marker bude reproducibilan da bi bio upotrebljiv. Reproducibilnost implicira validaciju pragova pozitivnosti kod imunohistohemijskih bojenja, između različitih laboratorija i institucija. Čak i kod odavno ustanovljenih markera i u laboratorijama sa iskustvom bojenja mogu varirati. Preporučljivo je da nekoliko patologa pogleda slučaj ukoliko je to moguće. Što je veći broj uzoraka preciznije će se ustanoviti adekvatne vrednosti praga pozitivnosti (226).

Sukjoong Oh i saradnici predlažu da se cut off vrednosti primene posebno za svaki marker, posebno za svaku laboratoriju jer očigledno je da univerzalne vrednosti daju nereproducibilne rezultate u različitim centrima (227). De Jong i saradnici su ispitivali pouzdanost imunohistohemijske metode i konstatovali značajne probleme. Pored bioloških varijacija tu

su i razlike u laboratorijskoj tehnici, različitom skorovanju odnosno vrednovanju rezultata, kao i inter- i intra- obzerverske varijacije (139). Oni su testirali pouzdanost primene antitela CD20, CD5, BCL2, BCL6, CD10, HLA-DR, MUM1 i Ki-67. Različite laboratorijske tehnike su rezultovale iznenađujuće velikim varijacijama i slabom reproducibilnošću. Najveći problem je bio sa antitelima BCL6 i Ki-67. Ovo istraživanje je pokazalo da primena imunohistohemije i semikvantitativno tumačenje rezultata može biti primenljivo u dijagnostici DLBCL ali sa različitom pouzdanošću imunohistohemijskih markera (139). Na taj način se mogu objasniti i velike razlike u literaturnim podacima, ali i u našim rezultatima. Zu i saradnici su došli do sličnih zaključaka ali su oni pronašli najveću varijabilnost kod antitela MUM1 i p53 (140).

Prema imunofenotipu odnosno prema imunohistohemijskoj podeli DLBCL postoje podtipovi: GCB, nonGCB i CD5+. Kombinacija CD10, BCL6 i MUM1 odnosno "Hans classifier" je već godinama najšire prihvaćeno rešenje za podelu DLBCL baziranu na imunohistohemiji. Potrebna je međutim reevaluacija prognostičkog značaja ove podele s obzirom da su razlike ustanovljene pre ere Rituximab-a. Podela na GCB i nonGCB podtip se jednostavno vrši prema ranije objašnjenim Hans-ovim pravilima, a svi CD5 pozitivni slučajevi spadaju u CD5+ podgrupu. U našem ispitivanom uzorku bilo je oko 28% GCB slučajeva, oko 64% nonGCB slučajeva i oko 8% CD5 pozitivnih slučajeva DLBCL. U istraživanju van Imhoff-a i saradnika GCB podtip je bio zastupljen u 58% a non-GCB podtip u 42%. Klinički se nisu razlikovali (149). Razlika u zastupljenosti imunohistohemijskih podtipova u našem i istraživanju van Imhoff-a potiče od prethodno objašnjenih problema u reproducibilnosti imunohistohemijskih analiza, prvenstveno vezano za prihvaćene pragove pozitivnosti ali i probleme sa uspevanjem pojedinih markera (BCL6 i CD10 ponajviše). U našem istraživanju nije bilo statistički značajne razlike u distribuciji imunohistohemijskog podtipa između obolelih muškaraca i žena. O tome i nema navoda u literaturi. Stariji bolesnici koji obole od DLBCL češće imaju nonGCB podtip a mlađi češće imaju GCB podtip, prema istraživanju Thunberg-a i saradnika (228). Do sličnih rezultata došao je i Mareschal (229). Mi nismo testirali korelaciju imunohistohemijske podele DLBCL sa starošću obolelih, ali smo testirali korelaciju starosti i ekspresije imunohistohemijskih markera. Pri tom nismo našli povezanost ekspresije markera koji čine suštinu imunohistohemijske podele (MUM1, CD10, BCL6 i CD5) sa starošću.

Zhang i saradnici su daleke 1999. godine na 158 obolelih zaključili da klinički parametri bolje koreliraju sa prognozom nego imunohistohemijski (145). Colomo i saradnici su ispitivali 128 obolelih od difuznog krupnoćelijskog B limfoma. Primenili su antitela: CD20, CD79 $\alpha$ , CD5, CD10, BCL6, MUM1, CD138, BCL2, p53, p27, i Ki-67. Utvrdili su da imunohistohemijski parametri koreliraju sa pojedinim kliničko-patološkim osobinama ali da nisu bitni za predikciju ishoda i da nema idealnog panela imunohistohemijskih markera za tačno određivanje prognoze (77). Barrans i saradnici su 2002. godine ispitujući 177 obolelih od DLBCL zaključili da je GCB podtip povezan sa boljom prognozom (138). Van Imhoff i kolege su 4 godine kasnije došli do sličnog zaključka, da imunohistohemijski podtip GCB ima statistički značajan pozitivan uticaj na prognozu čak i kod bolesnika sa visoko rizičnim DLBCL (149). Prema Nyman-u i saradnicima nakon uvođenja Rituximab-a u terapiju više

nema prognostičke razlike između imunohistohemijskih podtipova DLBCL (74). Enishi i saradnici su sprovedli retrospektivno istraživanje u kome su ispitali uticaj GCB podtipa na prognozu kod obolelih od DLBCL lečenog po protokolu R-CHOP. Poput Nyman-a zaključili su da GCB podtip ne utiče na prognozu (152). Međutim, multicentrična metaanaliza na 712 bolesnika je utvrdila da je non-GCB podtip prognostički faktor za lošiji ishod i nakon uvođenja Rituximab-a u terapiju (230). Dakle nema konačnog konsenzusa oko razlike u prognozi između GCB i nonGCB slučajeva u današnjoj eri kada se u terapiji primenjuje i monoklonalno anti-CD20 antitelo pored standardne CHOP terapije. Veruje se da je CD5 pozitivnost povezana sa lošijom prognozom (73, 151, 152). U našem istraživanju pacijenti sa GCB imunohistohemijskim podtipom su prosečno živeli 53,726 meseci, pacijenti sa nonGCB podtipom su prosečno živeli 59,774 meseci a pacijenti sa CD5+ podtipom svega 25,143 meseca. Mada se CD5 pozitivni pacijenti u proseku živeli znatno kraće od svih ostalih, nije prisutna statistički značajna razlika u uzorku. Razlog nepronalaženja statistički značajne razlike je u vrlo malom broju CD5+ pacijenata u našem uzorku, nedovoljnom za statističku značajnost.

Naša hipoteza je da markeri aktivacije i diferencijacije limfocita pozitivno koreliraju sa boljom prognozom i samim tim i sa poznatim markerima bolje prognoze. Od imunohistohemijskih markera primenjenih u našem istraživanju MUM1 i CD30 spadaju u markere aktivacije limfocita, a CD20, BCL6, CD10, CD5 i opet CD30 spadaju u markere diferencijacije limfocita.

MUM1 je transkripcioni regulatorni protein. Učestvuje u aktivaciji i diferencijaciji B limfocita. Ekspresija MUM1 je u različitim istraživanjima prisutna u 35-65% slučajeva (47, 77, 153, 231). U našem ispitivanom uzorku prisutna je ekspresija 62,07%. Nema konsenzusa o uticaju ekspresije MUM1 na preživljavanje. Muris i kolege su tokom istraživanja na 71 bolesniku došli do zaključka da je ekspresija MUM1 povezana sa lošijom prognozom (189). Colomo i saradnici tokom ispitivanja 128 bolesnika nisu pronašli povezanost ekspresije MUM1 sa prognozom (77). Ekspresija MUM1 ne korelira sa prognozom prema istraživanju koje su Berglund i saradnici sprovedli na 161 bolesniku (187). U našem istraživanju nema korelacije ekspresije MUM1 i preživljavanja, te nije potvrđena hipoteza da će MUM1 kao marker aktivacije limfocita korelirati sa boljom prognozom. Isto se odnosi i na korelaciju sa drugim markerima koji su povezivani sa boljom prognozom. Konstatovali smo statistički značajnu razliku u ekspresiji MUM1 između obolelih muškaraca i žena. Među ženama je značajno veći procenat MUM1 pozitivnih slučajeva. Korelacija između ekspresije MUM1 i ženskog pola je značajna ali neznatna. U dostupnoj literaturi ne postoji objašnjenje. Nismo pronašli korelaciju ekspresije MUM1 u odnosu na preostale ispitivane parametre.

CD30 je membranski glikoprotein, član je superfamilije receptora faktora tumorske nekroze, učestvuje u regulisanju funkcije, diferencijacije i proliferacije limfoidnih ćelija (191). CD30 je prema istraživanju Vega i saradnika pozitivan u oko 20% slučajeva a prema istraživanjima Hu-a i saradnika u oko 14% (232, 233). U našem ispitivanom uzorku ekspresija CD30 je bila 10,81%. Prema nekim istraživanjima dobijanje autonomije neograničenog tumorskog rasta kod DLBCL je putem CD30/CD40/TNFR i njihovih liganada (234, 235). To je u suprotnosti

sa našom hipotezom da su markeri aktivacije i diferencijacije limfocita povezani sa boljom prognozom. Još pre 12 godina Maes i saradnici su analizirali ekspresiju i diferencijalnu dijagnozu kod različitih podtipova CD30 pozitivnih non-Hodgkin limfoma. U toj studiji je prvi put pokazano da bolesnici sa CD30+ DLBCL imaju povoljniju prognozu od CD30 negativnih. Definitivnu potvrdu ove tvrdnje i u eri rituksimaba dali su Hu i saradnici (233). Oni su analizirali preko 900 novotkrivenih slučajeva DLBCL. Bolesnici sa CD30+ DLBCL su imali značajno veće petogodišnje ukupno preživljavanje, kao i značajno duže preživljavanje bez pojave simptoma. Ovaj povoljan prognozni efekat markera CD30 je bio prisutan kako u GCB, tako i u nonGCB podgrupi DLBCL. U našem uzorku nismo pronašli korelaciju ekspresije CD30 i preživljavanja. Moguće objašnjenje je u malom broju CD30+ slučajeva u našem uzorku te nije postignuta statistička značajnost. Time nije potvrđena naša hipoteza da će CD 30 kao marker aktivacije i diferencijacije limfocita korelirati sa boljom prognozom. Nije potvrđena ni naša hipoteza o korelaciji sa drugim markerima koji se dovode u vezu sa markerima bolje prognoze. Naprotiv, naši slučajevi sa pozitivnom ekspresijom CD30 su u značajno većem procentu bili BCMA pozitivni (66,7%) u odnosu na CD30 negativne (5,2%). Korelacija ekspresije CD30 i ekspresije BCMA je prisutna, statistički značajna i visoka. Ova korelacija je iznenađujuća jer logično bi bilo da BCMA kao marker apoptoze i ćelijskog ciklusa i takođe kao marker signalnih puteva angiogeneze i inflamacije bude u korelaciji sa lošijom prognozom a ne sa markerom aktivacije limfocita. Nismo pronašli korelaciju ekspresije CD30 u odnosu na pol, što se i ne spominje u literaturi. Našli smo statistički značajnu korelaciju starosti sa smanjenjem ekspresije CD30. U dostupnoj literaturi nismo našli objašnjenje. Nije nađena korelacije u odnosu na preostale primenjene markere.

CD20 ima direktnu ulogu u transmembranskom transportu kalcijumovih jona kod B limfocita i verovatno reguliše proliferaciju i diferencijaciju (168). U našem ispitivanom uzorku svi pacijenti čiji su kalupi bili dostupni su imali pozitivnu ekspresiju CD20. To je robustno i otporno imunohistohemijsko bojenje čak i na nekrozu. U uzorcima sa opsežnom nekrozom CD20 imunohistohemijska analiza je obično očuvana. Postoje retki slučajevi DLBCL sa aberantnim CD20 negativnim imunofenotipom ali mi nismo imali takve slučajeve u ispitivanom uzorku. CD20 ima veliki značaj jer predstavlja metu ključnog elementa današnje terapije - monoklalnog antitela protiv CD20 receptora (Rituximab). Kod CD20 negativnih bolesnika se ovaj terapijski agens ne može primeniti i prognoza im je oko 15-20% lošija. Prema istraživanju Kennedy-ja i saradnika ekspresija CD20 je izgubljena kod 60% rekurentnih tumora prethodno lečenih Rituximab-om i stoga je prilikom relapsa potrebno rebioptirati pacijenta i ponovo proveriti status receptora CD20 (236). Pfreundschuh i saradnici su tokom praćenja 824 bolesnika (medijana 34 meseca) upoređivali efekte primene klasičnog CHOP protokola u odnosu na R-CHOP kod bolesnika sa niskim rizikom i niskom IPI statusom. Zaključili su da dodatak Rituximab-a unapređuje prognozu do 15% (57). Do sličnog zaključka došli su 4 godine ranije i Coiffier i saradnici ispitujući 399 obolelih od DLBCL starosti 60 do 80 godina (63). Feugier i saradnici su takođe na pacijentima starosti 60 do 80 godina došli do istog zaključka godinu dana ranije (134). Mnoge studije su dokazale vrednosti primene Rituximab-a i sledstveno vrednost detekcije statusa CD20 (141). Neoplastične ćelije DLBCL imaju ekspresiju i ostalih pan B ćelijskih markera kao što su

CD19, CD22, CD79 $\alpha$ , PAX5, ali ne moraju svi biti pozitivni. U retkim slučajevima kada je CD20 negativan preostali markeri B loze limfocita mogu pomoći u postavljanju dijagnoze. Ni jedan od široko korišćenih pan B markera nije specifičan samo za B limfocite. S obzirom da je u našem ispitivanom uzorku ekspresija CD20 bila prisutna u 100% slučajeva nije moguće računati korelaciju sa preživljavanjem, niti sa bilo kojim drugim ispitivanim parametrom. Našu hipotezu da će CD20 kao marker diferencijacije limfocita korelirati sa boljom prognozom ili sa bilo kojim drugim parametrom nije moguće proveriti jer je bio eksprimiran u svim dostupnim uzorcima.

CD10 je neutralna endopeptidaza čija aktivacija zavisi od vezivanja cinka. Reguliše proliferaciju i diferencijaciju B limfocita, redukuje zapaljenski odgovor. Učestvuje u inhibiciji transkripcije i kontroli ćelijskog ciklusa. Ekspresija CD10 je u različitim istraživanjima nađena u 21-60% slučajeva (47, 77, 153, 231). U našem ispitivanom uzorku ekspresija CD10 je 20,23%. Mnogobrojni istraživači su pronašli korelaciju ekspresije CD10 i bolje prognoze, kao na primer: Ohshima i autori (174), Muris i kolege tokom istraživanja na 71 bolesniku (189), Berglund i saradnici na 161 bolesniku (187). Sa druge strane Colomo i saradnici tokom ispitivanja 128 bolesnika nisu pronašli povezanost ekspresije CD10 sa prognozom (77). Većina istraživača vidi CD10 kao pozitivan prognostički nalaz ili u najmanju ruku neutralan i to kako se čini bez obzira na veoma različite procenete ekspresije u različitim istraživanjima. Mi nismo našli korelaciju ekspresije CD10 sa boljim preživljavanjem. Time nije potvrđena naša hipoteza da je CD10 kao marker diferencijacije limfocita u korelaciji sa boljim preživljavanjem. Sjo i saradnici su na 108 pacijenata obavili ispitivanje i dokazali da ekspresije CD10 i BCL6 koreliraju sa boljom prognozom a ekspresija BCL2 sa lošijom i zaključeno je da se jednostavnom upotrebom nekoliko markera mogu razlučiti različite prognostičke grupe (170). Xu i saradnici ispitujući 53 bolesnika su došli do zaključka da ekspresija CD10 sama po sebi ne korelira sa prognozom, ali da pozitivna ekspresija CD10 uz istovremenu pozitivnu ekspresiju BCL2 korelira sa lošijom prognozom (176). U imunohistohemijskoj dijagnostici je uobičajeno da se ispituje i tumači panel antitela jer je informativnije od pojedinačnih antitela. Mi nismo našli korelacije ekspresije CD10 sa preostalim ispitivanim parametrima.

BCL6 gen je inhibitor transkripcije. Utiče na ćelijski ciklus modifikacijom velikog broja drugih gena. On je ključni faktor za formiranje folikularnog centra. Ekspresija BCL6 varira u različitim navodima od 47-84% (47, 77, 153, 231). U našem ispitivanom uzorku ekspresija je 51,72%. U uzorcima sa opsežnom nekrozom nuklearna bojenja kao na primer BCL6, MUM1 i Ki-67 opšte uzev ne uspevaju. U tom smislu u našim uzorcima generalno postoji problem sa uspevanjem BCL6 bojenja, koje se kod nas pokazalo kao najvulnerabilnije. Colomo i saradnici tokom ispitivanja 128 bolesnika nisu pronašli povezanost ekspresije BCL6 sa prognozom (77). Pozitivna ekspresija BCL6 je povezana sa boljom prognozom prema istraživanju koje su Berglund i saradnici sprovedi na 161 bolesniku (187). Primena Rituximab-a je izbrisala pozitivni uticaj BCL6 na prognozu, prema nalazu Winter-a i saradnika koji su obavili istraživanje na 199 bolesnika (144). Oni su tom prilikom utvrdili da dodatak Rituximab-a terapiji unapređuje preživljavanje BCL6 negativnih bolesnika ali da nema uticaja na BCL6 pozitivne. Sjo i saradnici su na 108 pacijenata obavili ispitivanje i



dokazali da BCL6 korelira sa boljom prognozom (170). Dakle istraživanja sprovedena nakon uvođenja Rituximab-a u terapiju su bez konsenzusa o prognostičkom uticaju BCL6. Mi nismo pronašli korelaciju sa preživljavanjem i time nismo potvrdili hipotezu da je BCL6 kao marker diferencijacije limfocita u korelaciji sa boljim preživljavanjem. Nismo imali ni korelaciju ekspresije BCL6 u odnosu na pol, starost, stadijum, nodalno/ekstranodalno ishodište, niti u odnosu na preostale primenjene imunohistohemijske markere. Moguće je da je razlog u usvojenim pragovima pozitivnosti za BCL6 i druge markere, kao i zbog međulaboratorijskih razlika, o čemu sam već govorio ranije.

Za razliku od normalnih B ćelija folikularnog centra gde su ekspresije MUM1 i BCL6 međusobno isključive, u difuznim krupnoćelijskim B limfomima je koekspresija prisutna u oko 50% slučajeva (183). U normalnoj limfnoj ćeliji MUM1 suprimira ekspresiju BCL6. U atipičnoj limfnoj ćeliji difuznog krupnoćelijskog B limfoma nakon translokacije ili mutacije BCL6 gena nema više ove supresije. Na taj način MUM1 možda vrši ključnu ulogu regulacije germinativnog centra i kao prepreka limfomageneze (235). Chang i autori su izveli zanimljivo istraživanje na 42 novodijagnostikovana pacijenta. Analizirali su ekspresiju CD10 i BCL6 kao markera GCB podtipa DLBCL i ekspresiju MUM1 i CD138 kao markere nonGCB podtipa DLBCL. Statistički značajno najbolju prognozu su imali bolesnici sa eksprimiranim CD10 i ili BCL6 a bez ekspresije MUM1 i CD138 (78).

CD5 je transmembranski glikoprotein uključen u prenos signala. CD5 pozitivni DLBCL je zaseban entitet u odnosu na CD5 negativni DLBCL i u odnosu na mantle ćelijski limfom i predstavlja jedan od 3 entiteta u okviru imunohistohemijske podele DLBCL. Colomo i saradnici su na uzorku od 128 obolelih od DLBCL imali CD5 pozitivnost u 2% slučajeva (77). Wada i saradnici su imali ekspresiju CD5 u 3% (218). U našim rezultatima ekspresiju CD5 imalo je 8,05% slučajeva. Ekspresija CD5 kod obolelih od DLBCL se uglavnom dovodi u vezu sa lošijom prognozom. Enishi i saradnici su sproveli retrospektivno istraživanje u kome su ispitali uticaj ekspresije CD5 na prognozu kod obolelih od DLBCL lečenog po protokolu R-CHOP. Zaključili su da ekspresija CD5 korelira sa negativnom prognozom (152). Do sličnog zaključka su došli Niitsu i saradnici bez obzira da li je Rituximab bio uključen u terapiju (237). U našem ispitivanom uzorku CD5+ pacijenti jesu dosta kraće živeli ali bez statističke značajnosti. Reč je malom broju prisutnih CD5+ slučajeva u našem uzorku i otuda je statistička obrada bila neadekvatna odnosno nije bilo moguće postići statističku značajnost. Time nije potvrđena naša hipoteza da će CD5 kao marker diferencijacije biti u korelaciji sa boljom prognozom, naprotiv. Visoka ekspresije CD5 je često povezana sa visokom ekspresijom BCL2 gena, zaključak je Yamaguchi-ja i saradnika nakon ispitivanja 120 obolelih (151). U našem uzorku našli smo statistički značajnu razliku između pozitivne i negativne ekspresije BCL2 u odnosu na ekspresiju CD5. BCL2 negativni slučajevi su u 98% slučajeva CD5 negativni, dok je kod BCL2+ slučajeva taj procenat značajno manji. Korelacija između negativne i pozitivne ekspresije BCL2 i ekspresije CD5 je statistički značajna i neznatna. Ova korelacija se spominje u literaturi jer dele neke signalne puteve vezane za apoptozu (237, 238). Time nije potvrđena ni korelacija sa drugim markerima bolje prognoze, naprotiv prisutna je korelacija sa ekspresijom BCL2 koji se povezuje sa lošijom prognozom, a za koga mi takođe nismo našli korelaciju sa lošijom prognozom. Nije bilo

korelacije ekspresije CD5 u odnosu na pol, niti bilo koji od primenjenih imunohistohemijskih markera.

Naša hipoteza je da markeri apoptoze i ćelijskog ciklusa, kao i markeri signalnih puteva angiogeneze i inflamacije imaju pozitivnu korelaciju sa lošijom prognozom i već poznatim markerima lošije prognoze. Od primenjenih imunohistohemijskih markera u markere apoptoze i ćelijskog ciklusa spadaju: Ki-67, BCL2, BAFFR, TACI, BCMA i COX2, a u markere signalnih puteva angiogeneze i inflamacije spadaju: VEGF, COX2, BAFFR, BCMA i TACI. Očigledno neki markeri imaju više različitih uloga u regulaciji aktivnosti limfocita.

Ki-67 je nuklearni protein blisko povezan sa proliferacijom. Proliferativna frakcija detektovana imunohistohemijskim markerom Ki-67 se kreće od 40% do preko 90% kod obolelih od DLBCL. U našem uzorku ekspresija Ki-67 je bila od 30 do 92%, prosečno 62,79%, mediana 65%. Visok proliferativni indeks ustanovljen imunohistohemijskom analizom Ki-67 je uglavnom povezan sa lošijom prognozom bolesti. Sa druge strane visok proliferativni indeks čini limfom osetljivijim na terapiju. Miller i saradnici su na 60 obolelih ispitivali povezanost nivoa ekspresije Ki-67 i prognoze. Zaključili su da je ekspresija Ki-67 preko 80% povezana sa lošijom prognozom (142). U novijem istraživanju grupa autora je zaključila da indeks proliferacije određen imunohistohemijskim bojenjem Ki-67 na nivou od 70% razgraničava slučajeve sa lošijom (>70%) i boljom (<70%) prognozom ako se kombinuje sa IPI score-om i bulky ili not-bulky bolešću (239). U našem ispitivanom uzorku ekspresija Ki-67 nije korelirala sa preživljavanjem i time nije potvrđena naša hipoteza da će Ki-67 kao marker ćelijskog ciklusa imati korelaciju sa lošijom prognozom. To je u saglasnosti sa istraživanjem Markovića i saradnika (240). Colomo i saradnici tokom ispitivanja 128 bolesnika takođe nisu pronašli korelaciju ekspresije Ki-67 i prognoze (77). U našem ispitivanom uzorku postoji statistički značajna razlika ekspresije Ki-67 između COX2 pozitivnih i negativnih slučajeva. Ispitanici sa pozitivnom ekspresijom COX2 imaju značajno izraženiju ekspresiju Ki-67 u odnosu na COX2 negativne. Takođe, prisutna je statistički značajna razlika ekspresije Ki-67 između bolesnika sa pozitivnom i negativnom ekspresijom TACI. Ispitanici sa pozitivnom ekspresijom TACI imaju značajno veću ekspresiju Ki-67 od TACI negativnih bolesnika. Dakle ovi markeri apoptoze i ćelijskog ciklusa, kao i signalnih puteva angiogeneze i inflamacije imaju pozitivnu međusobnu korelaciju što je i logično i potvrđuje našu hipotezu, mada ni COX2 ni TACI nemaju potvrđenu korelaciju sa lošijom prognozom u našem radu. U našem ispitivanom uzorku nema značajne razlike u ekspresiji Ki-67 u odnosu na pozitivnu i negativnu ekspresiju preostalih primenjenih imunohistohemijskih markera.

Programiranu ćelijsku smrt ili apoptozu kontroliše skup gena i njihovih signalnih puteva kojima se efikasno 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. BCL2 protein ima antiapoptotičko dejstvo i reguliše sve glavne tipove ćelijske smrti, apoptozu, nekrozu i

autofagiju. BCL2 je prvi gen "protiv smrti" koji je otkriven, kamen temeljac za novu eru istraživanja ćelijske smrti (241). Manipulacija unutrašnjih i spoljašnjih apoptotskih puteva je jedan od mogućih adjuvantnih terapijskih modaliteta. Ekspresija je prisutna u 30-50% slučajeva DLBCL. U našem uzorku ekspresija BCL2 je prisutna u 39,33% slučajeva. Većina istraživača je konstatovala povezanost ekspresije BCL2 i lošije prognoze (153), kao na primer Van Imhoff i kolege (149). Barrans i saradnici su ispitujući 177 obolelih od difuznog krupnoćelijskog limfoma ustanovili da ekspresija BCL2 predstavlja nezavisan negativan prognostički marker (138). Muris i kolege tokom istraživanja na 71 bolesniku (189) povezali ekspresiju BCL2 sa lošijom prognozom, Sjo i saradnici na 108 pacijenata (170), Berglund i saradnici na 161 bolesniku (187), kao i grupa autora na čelu sa Nyman (242). Dakle mnoga istraživanja su pokazala loš prognostički efekat ekspresije BCL2 i pre i nakon ere Rituximab-a u terapiji. Druga istraživanja su pokazala da nakon uvođenja Rituximab-a više nema razlike između BCL2 negativnih i BCL2 pozitivnih bolesnika. Mounier i saradnici su došli do zaključka da upotreba Rituximab-a omogućuje uspešnost terapije i kod bolesnika sa BCL2 ekspresijom (154, 155). Enishi i saradnici su sprovedli retrospektivno istraživanje u kome su ispitali uticaj ekspresije BCL2 na prognozu kod obolelih od DLBCL lečenog po protokolu R-CHOP. Zaključili su da ekspresija BCL2 ne utiče na prognozu ukoliko je Rituximab bio primenjen (152). Dodatak rituximab-a protokolu CHOP poništava negativni prognostički uticaj BCL2 pozitivnosti (Wilson i saradnici na 140 bolesnika) (190). U našem ispitivanom uzorku nije nađena korelacija sa preživljavanjem, što je u skladu sa rezultatima da se u eri primene Rituximab-a gubi negativni prognostički uticaj ekspresije BCL2. Time nije potvrđena hipoteza da će BCL2 kao marker apoptoze imati korelaciju sa lošijim preživljavanjem. Našli smo statistički značajnu razliku između pozitivne i negativne ekspresije BCL2 u odnosu na ekspresiju CD5, što smo ranije prodiskutovali. Hipoteza o korelaciji BCL2 sa drugim markerima lošije prognoze je diskutabilna. CD5 kao marker diferencijacije limfocita logično bi trebao biti povezan sa boljom prognozom ali je on povezan sa lošijom prognozom, ali u našem radu nismo imali statističku značajnost za tu korelaciju. Prisutna je takođe statistički značajna razlika ekspresije BCL2 u odnosu na ekspresiju CD43. BCL2 negativni slučajevi su u značajno većem procentu (93,6%) CD43 negativni. Korelacija pozitivne i negativne ekspresije BCL2 i CD43 je statistički značajna i niska. Ova korelacija biće razmotrena kasnije. U našem uzorku nije bilo korelacije ekspresije BCL2 u odnosu na pol, niti u odnosu na preostale primenjene imunohistohemijske markere.

Poznato je da članovi familije receptora faktora tumorske nekroze (TNF) regulišu plejadu ćelijskih funkcija uključujući ćelijski rast, diferencijaciju i smrt (213). Vezivanje liganda BlyS (odnosno BAFF) i ili liganda APRIL za receptore BAFFR, TACI i BCMA može uticati na proliferaciju i diferencijaciju limfocita a može dovesti i do izbegavanja apoptoze. B limfociti zahtevaju mnogobrojne signale za svoj razvoj i diferencijaciju. BlyS je jedan od ključnih regulatora razvoja i diferencijacije B ćelija. Defekti u produkciji BlyS ili ekspresiji njegovih receptora (BAFFR, TACI, BCMA) su povezani sa različitim oboljenjima uključujući autoimunitet, malignitet i imunodeficijenciju (243). Zavisnost limfoidnih ćelija od dejstva BlyS na njegova tri receptora bi mogla biti slaba tačka limfomskih ćelija i mesto koje može predstavljati cilj dejstva terapije (244). Receptor BAFFR je visoko selektivan za ligand BlyS, receptor BCMA ima veći afinitet za ligand APRIL nego za BlyS, receptor

TACI se podjednako vezuje sa oba liganda (245). Kod obolelih od DLBCL neutrofilni granulociti iz pratećeg zapaljenskog infiltrata proizvode ligand APRIL i utiču na hiperplaziju limfocita, uključujući i tumorske ćelije. Ređe makrofagi ili mezenhimne ćelije proizvode APRIL. Dakle APRIL proizveden od strane zapaljenskih ćelija u stromi može uticati na pogoršanje prognoze limfoma (246).

Prema istraživanju Proust-a i saradnika, bez obzira na imunohistohemijski podtip DLBCL BAFFR je bio eksprimiran u 37% imunokompetentnih bolesnika obolelih od DLBCL ali samo kod 4,8% imunokompromitovanih (247). U istraživanju Wada-e i saradnika učestalost ekspresije BAFFR je bila 63% (218). U istraživanjima Takahate i saradnika, kod nodalnih DLBCL je BAFFR bio prisutan u 47%, a kod ektranodalnih DLBCL je BAFFR bio registrovan u 41% (248). U našem uzorku ekspresija BAFFR je bila 46,15%. Istraživanje koje su sproveli Wada i saradnici na 73 bolesnika je pokazalo da je preživljavanje BAFFR pozitivnih pacijenata statistički značajno bolje u odnosu na preživljavanje BAFFR negativnih pacijenata (218). Ovaj rad je jedini koji smo pronašli da ispituje uticaj ekspresije receptora BAFFR na preživljavanje obolelih od DLBCL. U našem istraživanju je nađeno da BAFFR+ bolesnici žive duže ali nema statističke značajnosti mada je blizu granice. Potrebno je nastaviti istraživanje na većem uzorku kako bi ustanovili hoće li biti statističke značajnosti prilikom ispitivanja većeg broja bolesnika. Naša hipoteza da će BAFFR kao marker apoptoze i ćelijskog ciklusa i marker signalnih puteva inflamacije i angiogeneze imati korelaciju sa lošijom prognozom nije potvrđena našim istraživanjem. U gore navedenom istraživanju Wada i saradnici su utvrdili pozitivnu korelaciju između ekspresije BAFFR i CD10, kao i negativnu korelaciju između ekspresije BAFFR i MUM1. U našem uzorku nije nađena korelacija niti sa ekspresijom CD10 niti MUM1. Kod nas nije bilo značajne razlike u ekspresiji BAFFR u odnosu na preostale primenjene imunohistohemijske markere. Nema potvrde hipoteze ni u odnosu na druge markere koji su povezivani sa lošijom prognozom. U našem ispitivanom uzorku postoji značajna razlika ekspresije BAFFR između obolelih muškaraca i žena. Žene su značajno češće BAFFR pozitivne u odnosu na muškarce. Nemamo obrazloženje za ovaj neobični rezultat. Ne postoji objašnjenje ni u dostupnoj literaturi. U istraživanjima Takahate i saradnika BAFFR je imao veću ekspresiju kod GCB podtipa u odnosu na nonGCB podtip, kako kod nodalnih tako i kod ektranodalnih DLBCL (248). Među nodalnim DLBCL koji su BAFFR pozitivni prosečna ekspresija Ki-67 bila je manja nego među BAFFR negativnima. GCB podtip je u proseku imao manju ekspresiju Ki-67 od nonGCB podtipa. Među ektranodalnim uzorcima DLBCL ekspresija BAFFR nije korelirala sa niskom Ki-67 (248). Mi nismo imali korelaciju ekspresije BAFFR i Ki-67. Nismo našli korelaciju ekspresije BAFFR u odnosu na nodalno/ektranodalno ishodište limfoma. Nismo proveravali korelaciju ekspresije BAFFR u odnosu na imunohistohemijski podtip DLBCL ali smo proveravali korelaciju sa markerima koji čine suštinu imunohistohemijske podele (CD10, BCL6, MUM1, CD5) i nismo našli statistički značajne korelacije. S obzirom da je ovo praktično jedini rad sa ovom temom potrebna su dalja istraživanja na većem broju bolesnika da bi se doneli validni zaključci.

U istraživanju koje su sproveli Wada i saradnici učestalost ekspresije TACI je bila 58% (218). Ovo je jedino istraživanje koje ispituje ekspresiju TACI kod obolelih od DLBCL. U

našem ispitanom uzorku prosečna ekspresija TACI je bila 43,94%. U njihovom istraživanju ekspresija TACI nije korelirala sa preživljavanjem. Ni mi mismo imali korelaciju sa preživljavanjem. TACI pozitivni bolesnici su prosečno živeli 63,453 meseci a TACI negativni 53,845 meseci. Razlika jeste primetna ali nema statističku značajnost. Potrebna su istraživanja na većem broju bolesnika da bi se doneli zaključci. Naša hipoteza da će TACI kao marker apoptoze i ćelijskog ciklusa i kao marker signalnih puteva inflamacije i angiogeneze biti u korelaciji sa lošijim preživljavanjem nije potvrđena našim istraživanjem. Wada i saradnici su imali negativnu korelaciju ekspresije TACI i CD10. Mi nismo imali značajne razlike u ekspresiji TACI u odnosu na ekspresiju CD10. Imajući u vidu da je ovo jedini rad koji ispituje ekspresiju TACI kod obolelih od DLBCL teško je izvoditi zaključke vezane za ovu korelaciju bez širih istraživanja. U našem radu prisutna je značajna statistička razlika između negativne i pozitivne ekspresije COX2 u odnosu na ekspresiju TACI. Značajno veći procenat COX2 pozitivnih slučajeva je TACI pozitivan (54,8%) u odnosu na COX2 negativne. (25%) Korelacija između ekspresije COX2 i ekspresije TACI je statistički značajna ali neznatna. U našem istraživanju nađena je statistički značajna razlika ekspresije Ki-67 između bolesnika sa pozitivnom i negativnom ekspresijom TACI. Ispitanici sa pozitivnom ekspresijom TACI imaju značajno veću ekspresiju Ki-67 od TACI negativnih bolesnika. Očekivane su ove dve korelacije jer su TACI, COX2 i Ki-67 markeri signalnih puteva angiogeneze i inflamacije i markeri ćelijskog ciklusa i apoptoze. Time je potvrđena hipoteza o međusobnoj korelaciji ovih markera, mada nismo dokazali da su u korelaciji sa lošijim preživljavanjem. Nismo imali korelacije u odnosu na preostale primenjene imunohistohemijske markere, kao ni u odnosu na pol. Ranije sam opisao pozitivnu korelaciju ekspresije TACI i nodalnog ishodišta limfoma, kao i negativnu korelaciju ekspresije TACI i starosti.

U našem ispitanom uzorku prisutna je ekspresija BCMA u 10,61% slučajeva obolelih od DLBCL. Nismo našli podatke za učestalost ekspresije BCMA u drugim istraživanjima. Imajući u vidu da ni jedan BCMA pozitivni bolesnik iz našeg uzorka nije umro nije moguće izračunati statističku značajnost razlike preživljavanja. Na taj način ne možemo potvrditi ni hipotezu o korelaciji lošije prognoze i ekspresije BCMA kao markera apoptoze i ćelijskog ciklusa i kao markera signalnih puteva angiogeneze i inflamacije. Naši slučajevi sa pozitivnom ekspresijom CD30 su u značajno većem procentu bili BCMA pozitivni (66,7%) u odnosu na CD30 negativne (5,2%). Korelacija ekspresije CD30 i ekspresije BCMA je prisutna, statistički značajna i visoka. O tome je već ranije diskutovano. Dakle nema dokazane korelacije ni sa preostalim markerima koji se povezuju sa lošijom prognozom, naprotiv, prisutna je korelacija sa CD30 koji je marker aktivacije limfocita. Nismo našli značajnu razliku u odnosu na ekspresiju preostalih primenjenih imunohistohemijskih markera niti u odnosu na pol. Ranije smo opisali negativnu korelaciju ekspresije BCMA i starosti.

Pod angiogenezom se podrazumeva formiranje novih funkcionalnih krvnih sudova iz preegzistirajuće vaskularne mreže. Ovi krvni sudovi vaskularizuju tumor, snabdevaju ga hranljivim materijama i kiseonikom i podstiču metastaziranje. Vaskularni endotelni faktor rasta (VEGF) igra važnu ulogu u stvaranju novih krvnih sudova u velikom broju maligniteta. Rast i progresija limfoma su potencirani sa najmanje dva različita angiogena mehanizma,

autokrinom stimulacijom tumorskih ćelija putem ekspresije VEGF i ekspresije receptora za vaskularni endotelni faktor rasta (VEGFR) na limfomskim ćelijama, kao i parakrinim uticajem proangiogene tumorske mikrookoline na lokalnu neovaskularnu transformaciju i regrutovanje cirkulišućih progenitora iz koštane srži (208). Prateći zapaljenski infiltrat u limfomu koji uključuje monocite, T limfocite i mezenhimalne pericite se sve više dovode u vezu sa patogeneozom i prognozom limfoma, pružajući podršku neoangiogenezi (208). Izazov za naredni period je da se razjasne kompleksne interakcije i regulatorni mehanizmi koji modulišu angiogenezu kod limfoma. Identifikacija ključnih signalnih puteva za limfomske ćelije može pružiti uvid u mehanizme limfomageneze i detektovati potencijalne "mete" za gensku terapiju. Detektovane su 3 izoforme vaskularnog endotelnog faktora rasta: VEGFA, VEGFB i VEGFC. Razlikuju se po tome da li stimulišu izgradnju krvnih ili limfnih sudova. Mi smo u istraživanju imali antitelo koje sadrži kotel sve 3 izoforme. U našem ispitivanom uzorku pozitivna ekspresija VEGF je bila 27,7%, što je niža ekspresija nego u nekim drugim istraživanjima. Paydas je imao ekspresiju VEGF 64,8% ustanovljenu na 88 obolelih (202). Verovatni razlog je različitost prihvaćenog praga pozitivnosti i primena donekle različitih laboratorijskih metoda. Paydas je konstatovao kraće preživljavanje kod VEGF pozitivnih (202). Mi nismo pronašli korelaciju ekspresije VEGF sa preživljavanjem. Naša hipoteza da će VEGF kao marker signalnih puteva angiogeneze biti u korelaciji sa lošijom prognozom na taj način nije potvrđena ovim istraživanjem. Gratzinger i saradnici su došli do rezultata da nonGCB podtip DLBCL ima veću ekspresiju VEGF (249). Ovo bi moglo imati uticaja na eventualnu primenu anti-angiogenetskih lekova. Mi nismo ispitali korelaciju imunohistohemijskog podtipa DLBCL sa ekspresijom imunohistohemijskih markera (pa ni VEGF). Prema Tzank-u i saradnicima ekspresija VEGF je bila u pozitivnoj korelaciji sa Ki-67 i COX2, a VEGF i COX2 nisu korelirali sa kliničkim parametrima niti sa preživljavanjem (250). Mi nismo imali statistički značajne korelacije ekspresije VEGF sa ekspresijom preostalih primenjenih imunohistohemijskih markera. Nismo potvrdili hipotezu i povezanosti ekspresije drugih markera loše prognoze sa ekspresijom VEGF kao markerom signalnih puteva angiogeneze.

Ciklooksigenaza je ključni enzim za konverziju arahidonske kiseline u prostaglandine čime značajno utiče na proces inflamacije. Prekomerna ekspresija ciklooksigenaze redukuje apoptozu i pojačava angiogenezu čime sledstveno pospešuje invazivnost malignih ćelija. Postoje dve izoforme ciklooksigenaze, COX1 i COX2. Prva se konstantno stvara a druga nakon stimulacije (251). U našem ispitivanom uzorku ekspresija COX2 je izražena kod 63,64% obolelih. Paydas je imao 71,6% pozitivnih slučajeva, što je sličnog reda veličine (202). On nije našao korelaciju sa preživljavanjem ali pacijenti iz te studije nisu tretirani Rituximab-om. U literaturi nismo pronašli povezanost ekspresije COX2 i preživljavanja u eri primene Rituximab-a. U našem uzorku takođe nije pronađena korelacija sa preživljavanjem. Na taj način naša hipoteza da će COX2 kao marker signalnih puteva inflamacije i apoptoze imati korelaciju sa lošijom prognozom nije potvrđena ovim ispitivanjem. Nema značajne razlike u ekspresiji COX2 između muških i ženskih pacijenata. Prisutna je značajna statistička razlika između negativne i pozitivne ekspresije COX2 u odnosu na ekspresiju TACI. Značajno veći procenat COX2 pozitivnih slučajeva je TACI pozitivan (54,8%) u odnosu na COX2 negativne. (25%) O tome je već ranije diskutovano. U našem ispitivanom

uzorku postoji statistički značajna razlika ekspresije Ki-67 između COX2 pozitivnih i negativnih slučajeva. Ispitanici sa pozitivnom ekspresijom COX2 imaju značajno izraženiju ekspresiju Ki-67 u odnosu na COX2 negativne. Ova korelacija je prodiskutovana ranije. Ove dve korelacije potvrđuju hipotezu o korelaciji ekspresije COX2 sa drugim markerima koji su povezivani sa lošijom prognozom (TACI i Ki-67) mada u našem istraživanju ni oni nisu povezani sa lošijim preživljavanjem. Ranije smo spomenuli negativnu korelaciju ekspresije COX2 i starosti.

U ovom istraživanju su ispitani i markeri CD43 i EBV LMP. Oni ne spadaju ni u markere aktivacije limfocita, niti diferencijacije, niti u markere apoptoze i ćelijskog ciklusa, niti u markere signalnih puteva angiogeneze i inflamacije.

CD43 je membranski protein, mucin sialophorin, čija je fiziološka funkcija nedovoljno razjašnjena i izgleda da ima ulogu u anti-adheziji ili adheziji, prenošenju signala i citoskeletalnoj interakciji (194). Ekspresija CD43 u našem radu je 18,52%. Prema Mitroviću i saradnicima CD43 je eksprimiran u 26% slučajeva i predstavlja nezavisan loš prognostički faktor kod obolelih od DLBCL lečenih po protokolu CHOP ili R-CHOP (195). U našem ispitivanom uzorku nije pronađena značajna razlika u ekspresiji CD43 u odnosu na preživljavanje. Našli smo statistički značajnu razliku ekspresije BCL2 u odnosu na ekspresiju CD43. BCL2 negativni slučajevi su u značajno većem procentu (93,6%) CD43 negativni. Korelacija pozitivne i negativne ekspresije BCL2 i CD43 je statistički značajna i niska. Priroda ove korelacije je teško objašnjiva. U pregledanoj literaturi nema objašnjenja. Možda su u pitanju zajednički signalni putevi. Potrebno je još istraživanja da bi se CD43 prihvatio ili odbacio kao relevantan marker. Nismo našli ni korelacije ekspresije CD43 u odnosu na pol, niti u odnosu na preostale primenjene imunohistohemijske markere.

Epstein-Bar virus (EBV) pripada familiji herpes virusa. Inficira epitelne ćelije i B limfocite. Preko 90% populacije je latentno zaraženo ovim virusom. EBV LMP je membranski protein eksprimiran u latentnoj infekciji Epstein-Barr virusom. Detekcija EBV LMP imunohistohemijskom analizom je tipično povezana sa reaktivacijom replikacije Epstein Barr virusa. Imunohistohemijska detekcija EBV LMP korelira sa preciznijom metodom RNA in situ hibridizacije (EBER) oko 80% (252). Nismo imali uslova za primenu te metode te smo koristili imunohistohemijsku metodu. Do pre desetak godina limfoproliferativne bolesti udružene sa EBV bile su vezivane isključivo za imuno-kompromitovane bolesnike, pre svih HIV pozitivne i bolesnike nakon transplantacije (253). Poslednjih godina primećeno je da i kod imunokompetentnih bolesnika sa DLBCL postoji pozitivnost na gene EBV u 3-22% slučajeva, pa čak i do 64%, u zavisnosti od serije bolesnika i korišćene metode detekcije (202, 254). U našem ispitivanom uzorku čak 37,88% obolelih ima pozitivan EBV LMP nalaz, saglasno sa drugim istraživanjima. Ekspresija EBV LMP se javlja nezavisno od podtipa DLBCL (253). Park i saradnici su ispitujući 380 bolesnika primenili metodu EBER i zaključili da je ekspresija EBV bila u pozitivnoj korelaciji sa starošću, lošijom prognozom i uznapredovalom kliničkom slikom (18). Paydas i saradnici su obavili istraživanje na 88 obolelih od DLBCL. Preživljavanje je bilo značajno kraće kod EBV pozitivnih bolesnika (202). Svetska zdravstvena organizacija (WHO) u klasifikaciji iz 2008. godine uvodi novi

podtip DLBCL: "EBV pozitivni DLBCL kod starijih". U našem istraživanju nije nađena korelacija sa preživljavanjem. Nismo pronašli značajnu razliku u ekspresiji EBV LMP u odnosu na pol, niti u odnosu na starost, niti u odnosu na ekspresiju preostalih primenjenih imunohistohemijskih markera.

Izgleda da treba biti racionalan sa upotrebom imunohistohemijskih markera. Izgleda da treba upotrebiti samo osnovna antitela za određivanje imunohistohemijskog podtipa, kao i antitela potrebna za diferencijalnu dijagnozu u odnosu na druge limfome. Čini se da je prognostički značaj imunohistohemijskih antitela danas kada se u terapiji koristi Rituxomab minimalan. Zbog često suprotnih rezultata različitih istraživača ipak je potreban veći broj pacijenata uključiti u studiju za donošenje konačnih zaključaka.

Profilisanje genske ekspresije bacilo je svetlo na molekulska heterogenost unutar DLBCL naglašavajući sličnosti podtipova sa normalnim B limfocitima, identifikujući osobine povezane sa lošim odgovorom na terapiju i definišući robustne podtipove sa sveobuhvatnim transkripcionim signaturama. Takva strategija je sugerisala jasne puteve limfomogeneze i identifikovala obećavajuće terapeutske ciljeve. Rastuće znanje i razumevanje heterogenosti DLBCL će pomoći da se identifikuju specifični terapeutske ciljevi za različite podtipove DLBCL (67). Bea i saradnici su na 224 bolesnika metodom genske ekspresije utvrdili pozitivan prognostički uticaj GCB podtipa u odnosu na ABC podtip (72). Wright i saradnici su utvrdili da je petogodišnje preživljavanje kod genetskog podtipa GCB 62% a kod podtipa ABC 26% (94).

Najbitniji zahtev za biomarkere je reproducibilnost, tj mogućnost njihove pouzdane primene kod različitih pacijenata, u različitim laboratorijama i njihova tačnost u prognozi odnosno predikciji. Promene u dijagnostici i terapiji su dovele do situacije da ni jedan prognostički parametar za DLBCL nije izdržao zub vremena. Klinički upotrebljivi prognostički testovi moraju biti bazirani na široko dostupnim, relativno jednostavnim, reproducibilnim i pouzdanim metodologijama. Imunohistohemija se rutinski koristi u patologiji i smatra se naprednom metodom na kojoj biomarkeri mogu biti bazirani. Postoje međutim i limiti - mogu se javiti ne-reproducibilni konfliktni rezultati. Različita antitela protiv istog antigena mogu biti usmerena na različite epitope. Prisutne su značajne varijacije među laboratorijama u fiksaciji, "antigen retrieval" protokolima, metodama bojenja, primeni različitih predefinisanih pragova pozitivnosti za specifična antitela. Neophodna je standardizacija. Često je bitan i intenzitet bojenja ili se skoruje površina i intenzitet. Imunohistohemija je semikvantitativna metoda za razliku od RNA baziranih metoda. Ovo može ograničiti primenu imunohistohemije za prognostičke parametre čiji nivo ekspresije korelira sa kliničkim ishodom. Nisu dostupna antitela za mnoge potencijalno prognostički značajne gene. Metodologija bazirana na array tehnologiji može evaluirati ekspresiju bilo kojeg gena i može se kvantifikovati bolje. Međutim microarray tehnologija je skupa, zahteva dosta radnog angažmana i kvalifikovanu radnu snagu i zahteva dobar kvalitet RNA dobijen iz svežih ili smrznutih uzoraka, što može ograničiti primenu. Današnje metodologije obično analiziraju više uzoraka. Primenljivost array tehnologije na individualne uzorke može zahtevati ranije podatke o slučajevima analiziranim istom tehnologijom. Real-time-PCR metode su danas



široko dostupne i mogu predstavljati optimalni kvantitativni metod. Danas je to pouzdana, senzitivna, reproducibilna i ekonomična metoda. Razvijene su pouzdane metode za ekstrakciju RNA iz uzoraka fiksiranih u formalinu i ukalupljenih u standardne parafinske kalupe, što omogućuje primenu PCR tehnologije na ove široko primenjivane uzorke. Proces je jednostavan i zgodan za brzu analizu velikog broja uzoraka. Na osnovu ovih karakteristika ovaj metod je odličan za dizajn modela prognostičkih biomarkera. Potreban je dodatni rad da bi se standardizovali pojedini prognostički modeli među laboratorijama, njihova vrednost u prospektivnim studijama je takođe potrebna.

Rasvetljavanje patogeneze DLBCL može biti način za stvaranje novih molekularnih terapijskih agenasa, za prepoznavanje podgrupa DLBCL sa različitim kliničkim ishodom i identifikaciju prognostičkih biomarkera koji mogu tačnije predvideti preživljavanje bolesnika. U svetu se ispituje veliki broj različitih prognostičkih modela ali za sada nema optimalnog sveobuhvatnog i uvek tačnog prognostičkog modela. Modeli su bazirani na genetici (model 27 gena, model 14 gena, model 6 gena, model 2 gena), ili su zasnovani na ekspresiji microRNA signatura, ili su bazirani na različitim kombinacijama imunohistohemijskih antitela (Hans, Muris, Nyman, Choi, Natkunam, Lossos, Tally, Copie-Bargman). Postoje i kombinovani modeli. Između više modela ima indicija da su prediktivna moć GCB-like u odnosu na ABC-like DLBCL, kao i model 6 gena potvrđeni da imaju prediktivnu vrednost kod bolesnika tretiranih R-CHOP terapijom (75, 255). Međutim nijedan od ovih modela nije potvrđen u prospektivnim kliničkim studijama, koje su još u toku. Rutinska primena ovih prediktivnih modela čeka zaključke ovih studija.

## 6. ZAKLJUČCI

- 1) Prosečna starost obolelih muškaraca je nešto veća nego kod žena. Varijabilitet je nešto veći kod obolelih žena. Distribucija bolesnika prema starosti je u pravcu starijih kod oba pola. Stariji od 50 godina čine 68,47% bolesnika. Nije uočena statistička značajnost u starosnoj strukturi niti u polnoj strukturi obolelih.
- 2) Oboleli muškarci i žene su bez statistički značajne razlike distribuirani u odnosu na morfološki podtip, u odnosu na imunohistohemijski podtip, u odnosu na nodalno i ekstrapodalno ishodište tumora i po stadijumima oboljenja u trenutku postavljanja dijagnoze.
- 3) Nije nađena statistički značajna korelacija ekspresije primenjenih imunohistohemijskih markera i stadijuma bolesti u trenutku postavljanja dijagnoze.
- 4) CD20 je bio pozitivan u svim dostupnim uzorcima. MUM1 u 62,07%, CD10 u 20,23% uzoraka, BCL6 u 51,72%, CD30 u 10,81%, CD5 u 8,05%, Ki-67 u 30-92%, BCL2 u 39,33%, BAFFR u 46,15%, TACI u 43,94%, BCMA u 10,61%, VEGF u 27,7%, COX2 u 63,64%, CD43 u 18,52%, EBV LMP u 37,88%.
- 5) Među obolelim ženama je statistički značajno veći procenat MUM1 pozitivnih i BAFFR pozitivnih bolesnika nego među obolelim muškarcima. Nema značajnih razlika u ekspresiji preostalih primenjenih imunohistohemijskih markera između obolelih muškaraca i žena.
- 6) Kod starijih ispitanika je statistički signifikantno ređa ekspresija CD30, COX2, TACI i BCMA. Ekspresija preostalih primenjenih imunohistohemijskih markera ne korelira sa starošću pacijenata u statistički značajnoj meri.
- 7) Kod ekstrapodalnih limfoma ekspresija TACI je češća nego kod nodalnih limfoma. Preostali primenjeni imunohistohemijski markeri nemaju statistički značajnu korelaciju sa nodalnim / ekstrapodalnim ishodištem limfoma.
- 8) Ispitanici sa pozitivnom ekspresijom COX2 i ispitanici sa pozitivnom ekspresijom TACI imaju značajno izraženiju ekspresiju Ki-67. Ekspresija preostalih primenjenih imunohistohemijskih markera ne korelira statistički značajno sa ekspresijom Ki-67.
- 9) Bolesnici sa negativnom ekspresijom BCL2 imaju statistički značajnu korelaciju sa negativnom ekspresijom CD5 i negativnom ekspresijom CD43.
- 10) Bolesnici sa pozitivnom ekspresijom CD30 imaju statistički značajnu pozitivnu korelaciju sa ekspresijom BCMA.

- 11) Ispitanici sa pozitivnom ekspresijom COX2 imaju statistički značajnu pozitivnu korelaciju sa ekspresijom TACI.
- 12) Nema statistički značajne razlike u vremenu preživljavanja između muškaraca i žena.
- 13) Pacijenti sa centroblastnim podtipom su u proseku duže živeli od pacijenata sa imunoblastnim podtipom DLBCL ali bez statističke značajnosti.
- 14) CD5 pozitivni pacijenti u proseku su živeli dosta kraće od CD5 negativnih pacijenata ali razlika nije statistički značajna.
- 15) Bolesnici sa BAFFR pozitivnim DLBCL, kao i pacijenti sa TACI pozitivnim DLBCL imaju duže preživljavanje u odnosu na BAFFR negativne pacijente i TACI negativne pacijente respektivno, ali bez statističke značajnosti.
- 16) Ni jedan BCMA pozitivni bolesnik nije umro u ovoj studiji te nije moguće izračunati statističku značajnost razlike u preživljavanju BCMA pozitivnih i negativnih bolesnika.
- 17) Razlika u dužini preživljavanja MUM1, CD10, BCL6, BCL2, VEGF i COX2 pozitivnih i negativnih slučajeva nije statistički značajna.
- 18) Marker aktivacije i diferencijacije limfocita nemaju statistički značajnu pozitivnu korelaciju sa boljom prognozom.
- 19) Marker signalnih puteva angiogeneze i inflamacije nemaju statistički značajnu pozitivnu korelaciju sa lošijom prognozom.
- 20) Izgleda da treba biti racionalan sa upotrebom imunohistohemijskih markera. Izgleda da treba upotrebiti samo osnovna antitela za određivanje imunohistohemijskog podtipa, kao i antitela potrebna za diferencijalnu dijagnozu u odnosu na druge limfome. Čini se da je prognostički značaj imunohistohemijskih antitela danas kada se u terapiji koristi Rituxomab minimalan.

## 7. LITERATURA

1. Popović S. Embriologija čoveka. 5. ed. Gornji Milanovac: Dečije novine; 1990.
2. Swerdlow SH CE, Harris NL et al ed. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. Lyon: IARC; 2008.
3. Roman E, Smith AG. Epidemiology of lymphomas. *Histopathology*. [Review]. 2011 Jan;58(1):4-14.
4. Greenlee RT, Hill-Harmon MB, Murray T, Thun M. Cancer statistics, 2001. *CA Cancer J Clin*. 2001 Jan-Feb;51(1):15-36.
5. A clinical evaluation of the International Lymphoma Study Group classification of non-Hodgkin's lymphoma. The Non-Hodgkin's Lymphoma Classification Project. *Blood*. [Research Support, Non-U.S. Gov't Research Support, U.S. Gov't, P.H.S.]. 1997 Jun 1;89(11):3909-18.
6. 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.
7. Gatter KC WR. Diffuse large B-cell lymphoma. In: Jaffe ES HN, Stein H, Vardiman JW, eds., editor. *Pathology and Genetics of Haematopoietic and Lymphoid Tissues*. Lyon, France: IARC Press; 2001. p. 171-5.
8. 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*. [Research Support, Non-U.S. Gov't Research Support, U.S. Gov't, P.H.S.]. 1998 Jul;9(7):717-20.
9. Ioachim HL, Dorsett B, Cronin W, Maya M, Wahl S. Acquired immunodeficiency syndrome-associated lymphomas: clinical, pathologic, immunologic, and viral characteristics of 111 cases. *Hum Pathol*. 1991 Jul;22(7):659-73.
10. Lossos IS, Alizadeh AA, Diehn M, Warnke R, Thorstenson Y, Oefner PJ, et al. Transformation of follicular lymphoma to diffuse large-cell lymphoma: alternative patterns with increased or decreased expression of c-myc and its regulated genes. *Proc Natl Acad Sci U S A*. [Research Support, Non-U.S. Gov't Research Support, U.S. Gov't, P.H.S.]. 2002 Jun 25;99(13):8886-91.
11. Adami J, Gabel H, Lindelof B, Ekstrom K, Rydh B, Glimelius B, et al. Cancer risk following organ transplantation: a nationwide cohort study in Sweden. *Br J Cancer*. [Comparative Study Research Support, Non-U.S. Gov't]. 2003 Oct 6;89(7):1221-7.
12. Opelz G, Henderson R. Incidence of non-Hodgkin lymphoma in kidney and heart transplant recipients. *Lancet*. [Multicenter Study Research Support, Non-U.S. Gov't]. 1993 Dec 18-25;342(8886-8887):1514-6.
13. Curtis RE, Travis LB, Rowlings PA, Socie G, Kingma DW, Banks PM, et al. Risk of lymphoproliferative disorders after bone marrow transplantation: a multi-institutional study. *Blood*. [Multicenter Study Research Support, Non-U.S. Gov't Research Support, U.S. Gov't, P.H.S.]. 1999 Oct 1;94(7):2208-16.
14. Hoover R, Fraumeni JF, Jr. Risk of cancer in renal-transplant recipients. *Lancet*. 1973 Jul 14;2(7820):55-7.
15. Oyama T, Ichimura K, Suzuki R, Suzumiya J, Ohshima K, Yatabe Y, et al. Senile EBV+ B-cell lymphoproliferative disorders: a clinicopathologic study of 22 patients. *Am J Surg Pathol*. 2003 Jan;27(1):16-26.

16. Nakamura S JE, Swerdlow SH. EBV positive diffuse large B-cell lymphoma of the elderly. In: Swerdlow SH CE, Harris NL et al ed., editor. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. 4th ed. Lyon, France: IARC; 2008. p. 243-4.
17. 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.* [Research Support, Non-U.S. Gov't]. 1995 Mar;175(3):263-71.
18. 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.* [Clinical Trial Comparative Study]. 2007 Aug 1;110(3):972-8.
19. Hoover RN. Lymphoma risks in populations with altered immunity--a search for mechanism. *Cancer Res.* [Review]. 1992 Oct 1;52(19 Suppl):5477s-8s.
20. Dryver E, Brandt L, Kauppinen T, Olsson H. Occupational exposures and non-Hodgkin's lymphoma in Southern Sweden. *Int J Occup Environ Health.* [Research Support, Non-U.S. Gov't]. 2004 Jan-Mar;10(1):13-21.
21. Hardell L, Eriksson M, Degerman A. Exposure to phenoxyacetic acids, chlorophenols, or organic solvents in relation to histopathology, stage, and anatomical localization of non-Hodgkin's lymphoma. *Cancer Res.* 1994 May 1;54(9):2386-9.
22. Blair A, Linos A, Stewart PA, Burmeister LF, Gibson R, Everett G, et al. Evaluation of risks for non-Hodgkin's lymphoma by occupation and industry exposures from a case-control study. *Am J Ind Med.* 1993 Feb;23(2):301-12.
23. Hayes RB, Yin SN, Dosemeci M, Li GL, Wacholder S, Travis LB, et al. Benzene and the dose-related incidence of hematologic neoplasms in China. Chinese Academy of Preventive Medicine--National Cancer Institute Benzene Study Group. *J Natl Cancer Inst.* [Multicenter Study]. 1997 Jul 16;89(14):1065-71.
24. Rego MA, Sousa CS, Kato M, de Carvalho AB, Loomis D, Carvalho FM. Non-Hodgkin's lymphomas and organic solvents. *J Occup Environ Med.* 2002 Sep;44(9):874-81.
25. Overall evaluations of carcinogenicity: an updating of IARC Monographs volumes 1 to 42. *IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum Suppl.* 1987;7:1-440.
26. Huff JE, Haseman JK, DeMarini DM, Eustis S, Maronpot RR, Peters AC, et al. Multiple-site carcinogenicity of benzene in Fischer 344 rats and B6C3F1 mice. *Environ Health Perspect.* [Review]. 1989 Jul;82:125-63.
27. Zhang Y, Holford TR, Leaderer B, Boyle P, Zahm SH, Flynn S, et al. Hair-coloring product use and risk of non-Hodgkin's lymphoma: a population-based case-control study in Connecticut. *Am J Epidemiol.* [Research Support, U.S. Gov't, P.H.S.]. 2004 Jan 15;159(2):148-54.
28. Kamel OW. Iatrogenic lymphoproliferative disorders in nontransplantation settings. *Semin Diagn Pathol.* [Research Support, Non-U.S. Gov't Review]. 1997 Feb;14(1):27-34.
29. Abruzzo LV, Rosales CM, Medeiros LJ, Vega F, Luthra R, Manning JT, et al. Epstein-Barr virus-positive B-cell lymphoproliferative disorders arising in immunodeficient patients previously treated with fludarabine for low-grade B-cell neoplasms. *Am J Surg Pathol.* 2002 May;26(5):630-6.
30. Rueffer U, Josting A, Franklin J, May M, Sieber M, Breuer K, et al. Non-Hodgkin's lymphoma after primary Hodgkin's disease in the German Hodgkin's Lymphoma Study Group: incidence, treatment, and prognosis. *J Clin Oncol.* 2001 Apr 1;19(7):2026-32.
31. Harris NL, Jaffe ES, Stein H, Banks PM, Chan JK, Cleary ML, et al. A revised European-American classification of lymphoid neoplasms: a proposal from the International Lymphoma Study Group. *Blood.* [Research Support, Non-U.S. Gov't Review]. 1994 Sep 1;84(5):1361-92.

32. 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*. [Comparative Study Multicenter Study]. 2006 Jun;76(6):473-80.
33. Chung R, Lai R, Wei P, Lee J, Hanson J, Belch AR, et al. 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*. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. 2007 Aug 15;110(4):1278-82.
34. Arber DA, George TI. Bone marrow biopsy involvement by non-Hodgkin's lymphoma: frequency of lymphoma types, patterns, blood involvement, and discordance with other sites in 450 specimens. *Am J Surg Pathol*. [Comparative Study]. 2005 Dec;29(12):1549-57.
35. Conlan MG, Bast M, Armitage JO, Weisenburger DD. Bone marrow involvement by non-Hodgkin's lymphoma: the clinical significance of morphologic discordance between the lymph node and bone marrow. Nebraska Lymphoma Study Group. *J Clin Oncol*. [Comparative Study]. 1990 Jul;8(7):1163-72.
36. Thaler J, Dietze O, Denz H, Demuth R, Nachbaur D, Stauder R, et al. Bone marrow diagnosis in lymphoproliferative disorders: comparison of results obtained from conventional histomorphology and immunohistology. *Histopathology*. [Comparative Study Research Support, Non-U.S. Gov't]. 1991 Jun;18(6):495-504.
37. Foucar K, McKenna RW, Frizzera G, Brunning RD. Bone marrow and blood involvement by lymphoma in relationship to the Lukes--Collins classification. *Cancer*. [Comparative Study]. 1982 Mar 1;49(5):888-97.
38. Kluin PM, van Krieken JH, Kleiverda K, Kluin-Nelemans HC. Discordant morphologic characteristics of B-cell lymphomas in bone marrow and lymph node biopsies. *Am J Clin Pathol*. [Comparative Study]. 1990 Jul;94(1):59-66.
39. Friedberg JW, Chengazi V. PET scans in the staging of lymphoma: current status. *Oncologist*. [Research Support, Non-U.S. Gov't Review]. 2003;8(5):438-47.
40. Kostakoglu L, Leonard JP, Kuji I, Coleman M, Vallabhajosula S, Goldsmith SJ. Comparison of fluorine-18 fluorodeoxyglucose positron emission tomography and Ga-67 scintigraphy in evaluation of lymphoma. *Cancer*. [Clinical Trial Comparative Study]. 2002 Feb 15;94(4):879-88.
41. Pasqualucci L, Neumeister P, Goossens T, Nanjangud G, Chaganti RS, Kuppers R, et al. Hypermutation of multiple proto-oncogenes in B-cell diffuse large-cell lymphomas. *Nature*. [Research Support, Non-U.S. Gov't Research Support, U.S. Gov't, P.H.S.]. 2001 Jul 19;412(6844):341-6.
42. Leoncini L, Delsol G, Gascoyne RD, Harris NL, Pileri SA, Piris MA, et al. Aggressive B-cell lymphomas: a review based on the workshop of the XI Meeting of the European Association for Haematopathology. *Histopathology*. [Review]. 2005 Mar;46(3):241-55.
43. Bastard C, Deweindt C, Kerckaert JP, Lenormand B, Rossi A, Pezzella F, et al. LAZ3 rearrangements in non-Hodgkin's lymphoma: correlation with histology, immunophenotype, karyotype, and clinical outcome in 217 patients. *Blood*. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. 1994 May 1;83(9):2423-7.
44. Offit K, Lo Coco F, Louie DC, Parsa NZ, Leung D, Portlock C, et al. Rearrangement of the bcl-6 gene as a prognostic marker in diffuse large-cell lymphoma. *N Engl J Med*. [Research Support, Non-U.S. Gov't Research Support, U.S. Gov't, P.H.S.]. 1994 Jul 14;331(2):74-80.

45. Ohno H, Fukuhara S. Significance of rearrangement of the BCL6 gene in B-cell lymphoid neoplasms. *Leuk Lymphoma*. [Research Support, Non-U.S. Gov't Review]. 1997 Sep;27(1-2):53-63.
46. Barrans SL, O'Connor SJ, Evans PA, Davies FE, Owen RG, Haynes AP, et al. Rearrangement of the BCL6 locus at 3q27 is an independent poor prognostic factor in nodal diffuse large B-cell lymphoma. *Br J Haematol*. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. 2002 May;117(2):322-32.
47. 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*. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. 2006 Jun 8;354(23):2419-30.
48. Lipford E, Wright JJ, Urba W, Whang-Peng J, Kirsch IR, Raffeld M, et al. Refinement of lymphoma cytogenetics by the chromosome 18q21 major breakpoint region. *Blood*. 1987 Dec;70(6):1816-23.
49. Weiss LM, Warnke RA, Sklar J, Cleary ML. Molecular analysis of the t(14;18) chromosomal translocation in malignant lymphomas. *N Engl J Med*. [Research Support, Non-U.S. Gov't Research Support, U.S. Gov't, P.H.S.]. 1987 Nov 5;317(19):1185-9.
50. Yunis JJ, Mayer MG, Arnesen MA, Aeppli DP, Oken MM, Frizzera G. bcl-2 and other genomic alterations in the prognosis of large-cell lymphoma. *N Engl J Med*. [Research Support, Non-U.S. Gov't Research Support, U.S. Gov't, P.H.S.]. 1989 Apr 20;320(16):1047-54.
51. 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*. [Research Support, Non-U.S. Gov't Research Support, U.S. Gov't, P.H.S.]. 2000 Feb 3;403(6769):503-11.
52. 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*. [Research Support, Non-U.S. Gov't Research Support, U.S. Gov't, P.H.S.]. 2002 Jun 20;346(25):1937-47.
53. 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*. [Comparative Study Research Support, Non-U.S. Gov't Research Support, U.S. Gov't, Non-P.H.S. Research Support, U.S. Gov't, P.H.S.]. 2004 Jan 1;103(1):275-82.
54. Stein H, Hummel M. Histopathology in the light of molecular profiling. *Ann Oncol*. [Research Support, Non-U.S. Gov't Review]. 2006 May;17 Suppl 4:iv5-7.
55. Coiffier B. Rituximab therapy in malignant lymphoma. *Oncogene*. [Review]. 2007 May 28;26(25):3603-13.
56. Fanale MA, Younes A. Monoclonal antibodies in the treatment of non-Hodgkin's lymphoma. *Drugs*. [Review]. 2007;67(3):333-50.
57. Pfreundschuh M, Trumper L, Osterborg A, Pettengell R, Trneny M, Imrie K, et al. CHOP-like chemotherapy plus rituximab versus CHOP-like chemotherapy alone in young patients with good-prognosis diffuse large-B-cell lymphoma: a randomised controlled trial by the MabThera International Trial (MInT) Group. *Lancet Oncol*. [Comparative Study Randomized Controlled Trial Research Support, Non-U.S. Gov't]. 2006 May;7(5):379-91.
58. Recher C, Coiffier B, Haioun C, Molina TJ, Ferme 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*. [Clinical Trial, Phase III  
Comparative Study  
Multicenter Study  
Randomized Controlled Trial  
Research Support, Non-U.S. Gov't]. 2011 Nov 26;378(9806):1858-67.

59. 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*. [Clinical Trial  
Multicenter Study  
Randomized Controlled Trial  
Research Support, Non-U.S. Gov't]. 2008 May;9(5):435-44.

60. Tarella C, Zanni M, Di Nicola M, Patti C, Calvi R, Pescarollo A, et al. Prolonged survival in poor-risk diffuse large B-cell lymphoma following front-line treatment with rituximab-supplemented, early-intensified chemotherapy with multiple autologous hematopoietic stem cell support: a multicenter study by GITIL (Gruppo Italiano Terapie Innovative nei Linfomi). *Leukemia*. [Multicenter Study]. 2007 Aug;21(8):1802-11.

61. Vitolo U, Chiappella A, Angelucci E, Rossi G, Liberati AM, Cabras MG, et al. Dose-dense and high-dose chemotherapy plus rituximab with autologous stem cell transplantation for primary treatment of diffuse large B-cell lymphoma with a poor prognosis: a phase II multicenter study. *Haematologica*. [Clinical Trial, Phase II  
Comparative Study  
Multicenter Study  
Research Support, Non-U.S. Gov't]. 2009 Sep;94(9):1250-8.

62. Fitoussi O, Belhadj K, Mounier N, Parrens M, Tilly H, Salles G, et al. Survival impact of rituximab combined with ACVBP and upfront consolidation autotransplantation in high-risk diffuse large B-cell lymphoma for GELA. *Haematologica*. [Clinical Trial, Phase II  
Multicenter Study  
Research Support, Non-U.S. Gov't]. 2011 Aug;96(8):1136-43.

63. 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*. [Clinical Trial  
Comparative Study  
Multicenter Study  
Randomized Controlled Trial  
Research Support, Non-U.S. Gov't]. 2002 Jan 24;346(4):235-42.

64. 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*. [Clinical Trial, Phase II  
Multicenter Study  
Research Support, Non-U.S. Gov't]. 2011 May;12(5):460-8.

65. Cheson BD, Pfistner B, Juweid ME, Gascoyne RD, Specht L, Horning SJ, et al. Revised response criteria for malignant lymphoma. *J Clin Oncol*. [Practice Guideline]. 2007 Feb 10;25(5):579-86.

66. Staudt LM. Molecular diagnosis of the hematologic cancers. *N Engl J Med*. [Research Support, U.S. Gov't, P.H.S.  
Review]. 2003 May 1;348(18):1777-85.



67. Abramson JS, Shipp MA. Advances in the biology and therapy of diffuse large B-cell lymphoma: moving toward a molecularly targeted approach. *Blood*. [Review]. 2005 Aug 15;106(4):1164-74.
68. 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*. [Clinical Trial Comparative Study Randomized Controlled Trial Research Support, Non-U.S. Gov't]. 1997 Apr 1;89(7):2291-7.
69. Salar A, Fernandez de Sevilla A, Romagosa V, Domingo-Claros A, Gonzalez-Barca E, Pera J, et al. Diffuse large B-cell lymphoma: is morphologic subdivision useful in clinical management? *Eur J Haematol*. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. 1998 Mar;60(3):202-8.
70. Hui PK, Feller AC, Lennert K. High-grade non-Hodgkin's lymphoma of B-cell type. I. Histopathology. *Histopathology*. 1988;12(2):127-43.
71. Haralambieva E, Pulford KA, Lamant L, Pileri S, Roncador G, Gatter KC, et al. 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*. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. 2000 Jun;109(3):584-91.
72. 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*. [Research Support, N.I.H., Extramural Research Support, Non-U.S. Gov't Research Support, U.S. Gov't, P.H.S.]. 2005 Nov 1;106(9):3183-90.
73. 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*. [Comparative Study Research Support, Non-U.S. Gov't]. 2005 Sep 1;106(5):1770-7.
74. 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*. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. 2007 Jun 1;109(11):4930-5.
75. 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*. [Research Support, N.I.H., Extramural Research Support, N.I.H., Intramural Research Support, Non-U.S. Gov't]. 2008 Nov 27;359(22):2313-23.
76. 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*. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. 2008 Oct 1;26(28):4587-94.
77. Colomo L, Lopez-Guillermo A, Perales M, Rives S, Martinez A, Bosch F, et al. Clinical impact of the differentiation profile assessed by immunophenotyping in patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Blood*. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. 2003 Jan 1;101(1):78-84.
78. Chang CC, McClintock S, Cleveland RP, Trzpuć T, Vesole DH, Logan B, et al. Immunohistochemical expression patterns of germinal center and activation B-cell markers correlate with prognosis in diffuse large B-cell lymphoma. *Am J Surg Pathol*. 2004 Apr;28(4):464-70.

79. 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*. [Multicenter Study Research Support, Non-U.S. Gov't]. 2002 Feb 1;99(3):815-21.
80. Lim MS, Beaty M, Sorbara L, Cheng RZ, Pittaluga S, Raffeld M, et al. T-cell/histiocyte-rich large B-cell lymphoma: a heterogeneous entity with derivation from germinal center B cells. *Am J Surg Pathol*. 2002 Nov;26(11):1458-66.
81. Abramson JS. T-cell/histiocyte-rich B-cell lymphoma: biology, diagnosis, and management. *Oncologist*. [Review]. 2006 Apr;11(4):384-92.
82. Skinnider BF, Connors JM, Gascoyne RD. Bone marrow involvement in T-cell-rich B-cell lymphoma. *Am J Clin Pathol*. 1997 Nov;108(5):570-8.
83. 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 features. *Histopathology*. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. 2002 Jan;40(1):31-45.
84. Boudova L, Torlakovic E, Delabie J, Reimer P, Pfistner B, Wiedenmann S, et al. Nodular lymphocyte-predominant Hodgkin lymphoma with nodules resembling T-cell/histiocyte-rich B-cell lymphoma: differential diagnosis between nodular lymphocyte-predominant Hodgkin lymphoma and T-cell/histiocyte-rich B-cell lymphoma. *Blood*. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. 2003 Nov 15;102(10):3753-8.
85. Franke S, Wlodarska I, Maes B, Vandenberghe P, Achten R, Hagemeyer A, et al. Comparative genomic hybridization pattern distinguishes T-cell/histiocyte-rich B-cell lymphoma from nodular lymphocyte predominance Hodgkin's lymphoma. *Am J Pathol*. [Case Reports Comparative Study Research Support, Non-U.S. Gov't]. 2002 Nov;161(5):1861-7.
86. Montesinos-Rongen M, Siebert R, Deckert M. Primary lymphoma of the central nervous system: just DLBCL or not? *Blood*. [Review]. 2009 Jan 1;113(1):7-10.
87. Batchelor T, Loeffler JS. Primary CNS lymphoma. *J Clin Oncol*. [Review]. 2006 Mar 10;24(8):1281-8.
88. Willemze R, Jaffe ES, Burg G, Cerroni L, Berti E, Swerdlow SH, et al. WHO-EORTC classification for cutaneous lymphomas. *Blood*. [Review]. 2005 May 15;105(10):3768-85.
89. Hoefnagel JJ, Dijkman R, Basso K, Jansen PM, Hallermann C, Willemze R, et al. Distinct types of primary cutaneous large B-cell lymphoma identified by gene expression profiling. *Blood*. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. 2005 May 1;105(9):3671-8.
90. 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*. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. 2007 Sep 1;13(17):5124-32.
91. Lichtenstein AK, Levine A, Taylor CR, Boswell W, Rossman S, Feinstein DI, et al. Primary mediastinal lymphoma in adults. *Am J Med*. [Research Support, U.S. Gov't, P.H.S.]. 1980 Apr;68(4):509-14.
92. Levitt LJ, Aisenberg AC, Harris NL, Linggood RM, Poppema S. Primary non-Hodgkin's lymphoma of the mediastinum. *Cancer*. [Research Support, U.S. Gov't, P.H.S.]. 1982 Dec 1;50(11):2486-92.
93. Rosenwald A, Staudt LM. Gene expression profiling of diffuse large B-cell lymphoma. *Leuk Lymphoma*. [Review]. 2003;44 Suppl 3:S41-7.

94. Wright G, Tan B, Rosenwald A, Hurt EH, Wiestner A, Staudt LM. A gene expression-based method to diagnose clinically distinct subgroups of diffuse large B cell lymphoma. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003 Aug 19;100(17):9991-6.
95. Lamarre L, Jacobson JO, Aisenberg AC, Harris NL. Primary large cell lymphoma of the mediastinum. A histologic and immunophenotypic study of 29 cases. *Am J Surg Pathol*. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. 1989 Sep;13(9):730-9.
96. Jacobson JO, Aisenberg AC, Lamarre L, Willett CG, Linggood RM, Miketic LM, et al. Mediastinal large cell lymphoma. An uncommon subset of adult lymphoma curable with combined modality therapy. *Cancer*. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. 1988 Nov 1;62(9):1893-8.
97. Lazzarino M, Orlandi E, Paulli M, Strater 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*. [Multicenter Study]. 1997 Apr;15(4):1646-53.
98. Zinzani PL, Bendandi M, Frezza G, Gherlinzoni F, Merla E, Salvucci M, et al. Primary Mediastinal B-cell lymphoma with sclerosis: clinical and therapeutic evaluation of 22 patients. *Leuk Lymphoma*. [Clinical Trial Research Support, Non-U.S. Gov't]. 1996 Apr;21(3-4):311-6.
99. Haioun C, Gaulard P, Roudot-Thoraval F, Divine M, Jouault H, Lebourgeois JP, et al. Mediastinal diffuse large-cell lymphoma with sclerosis: a condition with a poor prognosis. *Am J Clin Oncol*. 1989 Oct;12(5):425-9.
100. Lazzarino M, Orlandi E, Paulli M, Boveri E, Morra E, Brusamolino E, et al. Primary mediastinal B-cell lymphoma with sclerosis: an aggressive tumor with distinctive clinical and pathologic features. *J Clin Oncol*. 1993 Dec;11(12):2306-13.
101. Bishop PC, Wilson WH, Pearson D, Janik J, Jaffe ES, Elwood PC. CNS involvement in primary mediastinal large B-cell lymphoma. *J Clin Oncol*. [Review]. 1999 Aug;17(8):2479-85.
102. Shipp MA, Aquino SL, Harris NL. Case records of the Massachusetts General Hospital. Case 12-2005. A 30-year-old woman with a mediastinal mass. *N Engl J Med*. [Case Reports Clinical Conference]. 2005 Apr 21;352(16):1697-704.
103. 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*. [Clinical Trial Comparative Study Multicenter Study]. 1996 Jul;20(7):877-88.
104. Savage KJ, Monti S, Kutok JL, Cattoretto G, Neuberg D, De Leval L, et al. The molecular signature of mediastinal large B-cell lymphoma differs from that of other diffuse large B-cell lymphomas and shares features with classical Hodgkin lymphoma. *Blood*. [Comparative Study]. 2003 Dec 1;102(12):3871-9.
105. 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*. [Research Support, U.S. Gov't, P.H.S.]. 2003 Sep 15;198(6):851-62.
106. Ferreri AJ, Dognini GP, Govi S, Crocchiolo R, Bouzani M, Bollinger CR, et al. Can rituximab change the usually dismal prognosis of patients with intravascular large B-cell lymphoma? *J Clin Oncol*. [Comment Letter]. 2008 Nov 1;26(31):5134-6; author reply 6-7.

107. Shimada K, Matsue K, Yamamoto K, Murase T, Ichikawa N, Okamoto M, et al. Retrospective analysis of intravascular large B-cell lymphoma treated with rituximab-containing chemotherapy as reported by the IVL study group in Japan. *J Clin Oncol*. [Multicenter Study Research Support, Non-U.S. Gov't]. 2008 Jul 1;26(19):3189-95.
108. Ferreri AJ, Campo E, Ambrosetti A, Ilariucci F, Seymour JF, Willemze R, et al. Anthracycline-based chemotherapy as primary treatment for intravascular lymphoma. *Ann Oncol*. 2004 Aug;15(8):1215-21.
109. 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*. [Review]. 2004 Oct;127(2):173-83.
110. Mori N, Yatabe Y, Narita M, Kobayashi T, Asai J. Pyothorax-associated lymphoma. An unusual case with biphenotypic character of T and B cells. *Am J Surg Pathol*. [Case Reports]. 1996 Jun;20(6):760-6.
111. Gitelson E, Al-Saleem T, Smith MR. Review: lymphomatoid granulomatosis: challenges in diagnosis and treatment. *Clin Adv Hematol Oncol*. [Review]. 2009 Jan;7(1):68-70.
112. Reichard KK, McKenna RW, Kroft SH. ALK-positive diffuse large B-cell lymphoma: report of four cases and review of the literature. *Mod Pathol*. [Case Reports]. 2007 Mar;20(3):310-9.
113. Delsol G, Lamant L, Mariame B, Pulford K, Dastugue N, Brousset P, et al. A new subtype of large B-cell lymphoma expressing the ALK kinase and lacking the 2; 5 translocation. *Blood*. [Research Support, Non-U.S. Gov't Research Support, U.S. Gov't, P.H.S.]. 1997 Mar 1;89(5):1483-90.
114. Colomo L, Loong F, Rives S, Pittaluga S, Martinez A, Lopez-Guillermo A, et al. Diffuse large B-cell lymphomas with plasmablastic differentiation represent a heterogeneous group of disease entities. *Am J Surg Pathol*. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. 2004 Jun;28(6):736-47.
115. 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*. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. 1997 Feb 15;89(4):1413-20.
116. 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*. [Case Reports Comparative Study Research Support, N.I.H., Extramural]. 2005 Dec;29(12):1633-41.
117. Teruya-Feldstein J, Chiao E, Filippa DA, Lin O, Comenzo R, Coleman M, et al. CD20-negative large-cell lymphoma with plasmablastic features: a clinically heterogeneous spectrum in both HIV-positive and -negative patients. *Ann Oncol*. 2004 Nov;15(11):1673-9.
118. Du MQ, Liu H, Diss TC, Ye H, Hamoudi RA, Dupin N, et al. Kaposi sarcoma-associated herpesvirus infects monotypic (IgM lambda) but polyclonal naive B cells in Castleman disease and associated lymphoproliferative disorders. *Blood*. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. 2001 Apr 1;97(7):2130-6.
119. 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*. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. 2002 Apr 1;99(7):2331-6.

120. Seliem RM, Griffith RC, Harris NL, Beheshti J, Schiffman FJ, Longtine J, et al. HHV-8+, EBV+ multicentric plasmablastic microlymphoma in an HIV+ Man: the spectrum of HHV-8+ lymphoproliferative disorders expands. *Am J Surg Pathol*. [Case Reports]. 2007 Sep;31(9):1439-45.
121. Nador RG, Cesarman E, Chadburn A, Dawson DB, Ansari MQ, Sald J, et al. Primary effusion lymphoma: a distinct clinicopathologic entity associated with the Kaposi's sarcoma-associated herpes virus. *Blood*. [Comparative Study]. 1996 Jul 15;88(2):645-56.
122. Chadburn A, Hyjek E, Mathew S, Cesarman E, Said J, Knowles DM. KSHV-positive solid lymphomas represent an extra-cavitary variant of primary effusion lymphoma. *Am J Surg Pathol*. [Research Support, U.S. Gov't, P.H.S.]. 2004 Nov;28(11):1401-16.
123. Ueda C, Nishikori M, Kitawaki T, Uchiyama T, Ohno H. Coexistent rearrangements of c-MYC, BCL2, and BCL6 genes in a diffuse large B-cell lymphoma. *Int J Hematol*. [Case Reports Research Support, Non-U.S. Gov't]. 2004 Jan;79(1):52-4.
124. Traverse-Glehen A, Pittaluga S, Gaulard P, Sorbara L, Alonso MA, Raffeld M, et al. Mediastinal gray zone lymphoma: the missing link between classic Hodgkin's lymphoma and mediastinal large B-cell lymphoma. *Am J Surg Pathol*. [Research Support, N.I.H., Intramural]. 2005 Nov;29(11):1411-21.
125. Matolcsy A, Chadburn A, Knowles DM. De novo CD5-positive and Richter's syndrome-associated diffuse large B cell lymphomas are genotypically distinct. *Am J Pathol*. [Research Support, U.S. Gov't, P.H.S.]. 1995 Jul;147(1):207-16.
126. Rodig SJ, Savage KJ, LaCasce AS, Weng AP, Harris NL, Shipp MA, et al. Expression of TRAF1 and nuclear c-Rel distinguishes primary mediastinal large cell lymphoma from other types of diffuse large B-cell lymphoma. *Am J Surg Pathol*. 2007 Jan;31(1):106-12.
127. Carbone PP, Kaplan HS, Musshoff K, Smithers DW, Tubiana M. Report of the Committee on Hodgkin's Disease Staging Classification. *Cancer Res*. 1971 Nov;31(11):1860-1.
128. Armitage JO. Staging non-Hodgkin lymphoma. *CA Cancer J Clin*. [Review]. 2005 Nov-Dec;55(6):368-76.
129. Fisher RI, Hubbard SM, DeVita VT, Berard CW, Wesley R, Cossman J, et al. Factors predicting long-term survival in diffuse mixed, histiocytic, or undifferentiated lymphoma. *Blood*. 1981 Jul;58(1):45-51.
130. Fisher RI, DeVita VT, Jr., Johnson BL, Simon R, Young RC. Prognostic factors for advanced diffuse histiocytic lymphoma following treatment with combination chemotherapy. *Am J Med*. 1977 Aug;63(2):177-82.
131. A predictive model for aggressive non-Hodgkin's lymphoma. The International Non-Hodgkin's Lymphoma Prognostic Factors Project. *N Engl J Med*. [Clinical Trial Clinical Trial, Phase II Clinical Trial, Phase III Multicenter Study Research Support, Non-U.S. Gov't]. 1993 Sep 30;329(14):987-94.
132. Yan Y, Chan WC, Weisenburger DD, Anderson JR, Bast MA, Vose JM, et al. Clinical and prognostic significance of bone marrow involvement in patients with diffuse aggressive B-cell lymphoma. *J Clin Oncol*. [Research Support, Non-U.S. Gov't Research Support, U.S. Gov't, P.H.S.]. 1995 Jun;13(6):1336-42.
133. Robertson LE, Redman JR, Butler JJ, Osborne BM, Velasquez WS, McLaughlin P, et al. Discordant bone marrow involvement in diffuse large-cell lymphoma: a distinct clinical-pathologic entity associated with a continuous risk of relapse. *J Clin Oncol*. [Comparative Study]. 1991 Feb;9(2):236-42.

134. Feugier P, Van Hoof A, Sebban C, Solal-Celigny P, Bouabdallah R, Ferme 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*. [Clinical Trial Multicenter Study Randomized Controlled Trial]. 2005 Jun 20;23(18):4117-26.
135. Sehn LH, Donaldson J, Chhanabhai M, Fitzgerald C, Gill K, Klasa R, et al. Introduction of combined CHOP plus rituximab therapy dramatically improved outcome of diffuse large B-cell lymphoma in British Columbia. *J Clin Oncol*. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. 2005 Aug 1;23(22):5027-33.
136. Brittinger G, Bartels H, Common H, Duhmke E, Fulle HH, Gunzer U, et al. Clinical and prognostic relevance of the Kiel classification of non-Hodgkin lymphomas results of a prospective multicenter study by the Kiel Lymphoma Study Group. *Hematol Oncol*. [Research Support, Non-U.S. Gov't Review]. 1984 Jul-Sep;2(3):269-306.
137. Melnyk A, Rodriguez A, Pugh WC, Cabannillas F. Evaluation of the Revised European-American Lymphoma classification confirms the clinical relevance of immunophenotype in 560 cases of aggressive non-Hodgkin's lymphoma. *Blood*. 1997 Jun 15;89(12):4514-20.
138. Barrans SL, Carter I, Owen RG, Davies FE, Patmore RD, Haynes AP, et al. Germinal center phenotype and bcl-2 expression combined with the International Prognostic Index improves patient risk stratification in diffuse large B-cell lymphoma. *Blood*. [Research Support, Non-U.S. Gov't Validation Studies]. 2002 Feb 15;99(4):1136-43.
139. de Jong D, Rosenwald A, Chhanabhai M, Gaulard P, Klapper W, Lee A, et al. Immunohistochemical prognostic markers in diffuse large B-cell lymphoma: validation of tissue microarray as a prerequisite for broad clinical applications--a study from the Lunenburg Lymphoma Biomarker Consortium. *J Clin Oncol*. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. 2007 Mar 1;25(7):805-12.
140. Zu Y, Steinberg SM, Campo E, Hans CP, Weisenburger DD, Braziel RM, et al. Validation of tissue microarray immunohistochemistry staining and interpretation in diffuse large B-cell lymphoma. *Leuk Lymphoma*. [Multicenter Study Validation Studies]. 2005 May;46(5):693-701.
141. 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*. [Clinical Trial, Phase III Randomized Controlled Trial Research Support, N.I.H., Extramural]. 2006 Jul 1;24(19):3121-7.
142. 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*. [Clinical Trial Multicenter Study Randomized Controlled Trial Research Support, U.S. Gov't, P.H.S.]. 1994 Mar 15;83(6):1460-6.
143. Saez AI, Saez AJ, Artiga MJ, Perez-Rosado A, Camacho FI, Diez A, et al. Building an outcome predictor model for diffuse large B-cell lymphoma. *Am J Pathol*. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. 2004 Feb;164(2):613-22.
144. 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*. [Clinical Trial

Clinical Trial, Phase III

Comparative Study

Randomized Controlled Trial

Research Support, N.I.H., Extramural

Research Support, Non-U.S. Gov't]. 2006 Jun 1;107(11):4207-13.

145. Zhang A, Ohshima K, Sato K, Kanda M, Suzumiya J, Shimazaki K, et al. Prognostic clinicopathologic factors, including immunologic expression in diffuse large B-cell lymphomas. *Pathol Int*. 1999 Dec;49(12):1043-52.

146. 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.

147. Lossos IS, Morgensztern D. Prognostic biomarkers in diffuse large B-cell lymphoma. *J Clin Oncol*. [Research Support, N.I.H., Extramural Review]. 2006 Feb 20;24(6):995-1007.

148. Moskowitz CH, Zelenetz AD, Kewalramani T, Hamlin P, Lessac-Chenen S, Houldsworth J, et al. Cell of origin, germinal center versus nongerminal center, determined by immunohistochemistry on tissue microarray, does not correlate with outcome in patients with relapsed and refractory DLBCL. *Blood*. [Clinical Trial Multicenter Study]. 2005 Nov 15;106(10):3383-5.

149. van Imhoff GW, Boerma EJ, van der Holt B, Schuurin E, Verdonck LF, Kluin-Nelemans HC, et al. Prognostic impact of germinal center-associated proteins and chromosomal breakpoints in poor-risk diffuse large B-cell lymphoma. *J Clin Oncol*. 2006 Sep 1;24(25):4135-42.

150. Castillo JJ, Beltran BE, Song M-K, Ilic I, Leppa S, Nurmi H, et al. The Hans algorithm is not prognostic in patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with R-CHOP. *Leuk Res*. 2012;36(4):413-7.

151. Yamaguchi M, Nakamura N, Suzuki R, Kagami Y, Okamoto M, Ichinohasama R, et al. De novo CD5+ diffuse large B-cell lymphoma: results of a detailed clinicopathological review in 120 patients. *Haematologica*. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. 2008 Aug;93(8):1195-202.

152. 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 Nov;19(11):1921-6.

153. 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*. [Research Support, Non-U.S. Gov't Research Support, U.S. Gov't, P.H.S.]. 1997 Jul 1;90(1):244-51.

154. 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*. [Clinical Trial Multicenter Study

Randomized Controlled Trial

Research Support, Non-U.S. Gov't]. 2003 Jun 1;101(11):4279-84.

155. Mounier N, Briere J, Gisselbrecht C, Reyes F, Gaulard P, Coiffier B. Estimating the impact of rituximab on bcl-2-associated resistance to CHOP in elderly patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Haematologica*. [Letter Research Support, Non-U.S. Gov't]. 2006 May;91(5):715-6.

156. Dunleavy K, Staudt LM, Wilson WH. The BCL-2 biomarker in the era of molecular diagnosis of diffuse large B-cell lymphoma. *Leuk Lymphoma*. [Comment]. 2007 Jun;48(6):1061-3.
157. Lossos IS. Molecular pathogenesis of diffuse large B-cell lymphoma. *J Clin Oncol*. [Comparative Study Research Support, N.I.H., Extramural Research Support, U.S. Gov't, P.H.S. Review]. 2005 Sep 10;23(26):6351-7.
158. Dunphy CH. Gene expression profiling data in lymphoma and leukemia: review of the literature and extrapolation of pertinent clinical applications. *Arch Pathol Lab Med*. [Review]. 2006 Apr;130(4):483-520.
159. 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*. [Clinical Trial Research Support, Non-U.S. Gov't]. 2002 Jan;8(1):68-74.
160. Jerkeman M, Aman P, Cavallin-Stahl E, Torlakovic E, Akerman M, Mitelman F, et al. Prognostic implications of BCL6 rearrangement in uniformly treated patients with diffuse large B-cell lymphoma--a Nordic Lymphoma Group study. *Int J Oncol*. [Clinical Trial Randomized Controlled Trial Research Support, Non-U.S. Gov't]. 2002 Jan;20(1):161-5.
161. Kramer MH, Hermans J, Wijburg E, Philippo K, Geelen E, van Krieken JH, et al. Clinical relevance of BCL2, BCL6, and MYC rearrangements in diffuse large B-cell lymphoma. *Blood*. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. 1998 Nov 1;92(9):3152-62.
162. Niitsu N, Okamoto M, Nakamura N, Nakamine H, Aoki S, Hirano M, et al. Prognostic impact of chromosomal alteration of 3q27 on nodal B-cell lymphoma: correlation with histology, immunophenotype, karyotype, and clinical outcome in 329 consecutive patients. *Leuk Res*. 2007 Sep;31(9):1191-7.
163. Pescarmona E, De Sanctis V, Pistilli A, Pacchiarotti A, Martelli M, Guglielmi C, et al. Pathogenetic and clinical implications of Bcl-6 and Bcl-2 gene configuration in nodal diffuse large B-cell lymphomas. *J Pathol*. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. 1997 Nov;183(3):281-6.
164. Vitolo U, Gaidano G, Botto B, Volpe G, Audisio E, Bertini M, et al. Rearrangements of bcl-6, bcl-2, c-myc and 6q deletion in B-diffuse large-cell lymphoma: clinical relevance in 71 patients. *Ann Oncol*. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. 1998 Jan;9(1):55-61.
165. Muramatsu M, Akasaka T, Kadowaki N, Ohno H, Fukuhara S, Okuma M. Rearrangement of the BCL6 gene in B-cell lymphoid neoplasms. *Leukemia*. [Comparative Study]. 1997 Apr;11 Suppl 3:318-20.
166. Au WY, Horsman DE, Gascoyne RD, Viswanatha DS, Klasa RJ, Connors JM. The spectrum of lymphoma with 8q24 aberrations: a clinical, pathological and cytogenetic study of 87 consecutive cases. *Leuk Lymphoma*. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. 2004 Mar;45(3):519-28.
167. Liu YY, Leboeuf C, Shi JY, Li JM, Wang L, Shen Y, et al. Rituximab plus CHOP (R-CHOP) overcomes PRDM1-associated resistance to chemotherapy in patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Blood*. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. 2007 Jul 1;110(1):339-44.
168. Tedder TF, Engel P. CD20: a regulator of cell-cycle progression of B lymphocytes. *Immunol Today*. [Research Support, Non-U.S. Gov't Research Support, U.S. Gov't, P.H.S. Review]. 1994 Sep;15(9):450-4.



169. Cartun RW, Coles FB, Pastuszak WT. Utilization of monoclonal antibody L26 in the identification and confirmation of B-cell lymphomas. A sensitive and specific marker applicable to formalin-and B5-fixed, paraffin-embedded tissues. *Am J Pathol.* 1987 Dec;129(3):415-21.
170. 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;79(6):501-7.
171. Harada S, Suzuki R, Uehira K, Yatabe Y, Kagami Y, Ogura M, et al. Molecular and immunological dissection of diffuse large B cell lymphoma: CD5+, and CD5- with CD10+ groups may constitute clinically relevant subtypes. *Leukemia.* [Clinical Trial Controlled Clinical Trial Research Support, Non-U.S. Gov't]. 1999 Sep;13(9):1441-7.
172. Almasri NM, Iturraspe JA, Braylan RC. CD10 expression in follicular lymphoma and large cell lymphoma is different from that of reactive lymph node follicles. *Arch Pathol Lab Med.* 1998 Jun;122(6):539-44.
173. Dogan A, Bagdi E, Munson P, Isaacson PG. CD10 and BCL-6 expression in paraffin sections of normal lymphoid tissue and B-cell lymphomas. *Am J Surg Pathol.* [Comparative Study Research Support, Non-U.S. Gov't]. 2000 Jun;24(6):846-52.
174. Ohshima K, Kawasaki C, Muta H, Muta K, Deyev V, Haraoka S, et al. CD10 and Bcl10 expression in diffuse large B-cell lymphoma: CD10 is a marker of improved prognosis. *Histopathology.* [Research Support, Non-U.S. Gov't]. 2001 Aug;39(2):156-62.
175. Fang JM, Finn WG, Hussong JW, Goolsby CL, Cubbon AR, Variakojis D. CD10 antigen expression correlates with the t(14;18)(q32;q21) major breakpoint region in diffuse large B-cell lymphoma. *Mod Pathol.* [Research Support, Non-U.S. Gov't]. 1999 Mar;12(3):295-300.
176. Xu Y, McKenna RW, Molberg KH, Kroft SH. Clinicopathologic analysis of CD10+ and CD10- diffuse large B-cell lymphoma. Identification of a high-risk subset with coexpression of CD10 and bcl-2. *Am J Clin Pathol.* 2001 Aug;116(2):183-90.
177. Uherova P, Ross CW, Schnitzer B, Singleton TP, Finn WG. The clinical significance of CD10 antigen expression in diffuse large B-cell lymphoma. *Am J Clin Pathol.* 2001 Apr;115(4):582-8.
178. King BE, Chen C, Locker J, Kant J, Okuyama K, Falini B, et al. Immunophenotypic and genotypic markers of follicular center cell neoplasia in diffuse large B-cell lymphomas. *Mod Pathol.* [Comparative Study]. 2000 Nov;13(11):1219-31.
179. Onizuka T, Moriyama M, Yamochi T, Kuroda T, Kazama A, Kanazawa N, et al. BCL-6 gene product, a 92- to 98-kD nuclear phosphoprotein, is highly expressed in germinal center B cells and their neoplastic counterparts. *Blood.* [Research Support, Non-U.S. Gov't]. 1995 Jul 1;86(1):28-37.
180. Pittaluga S, Ayoubi TA, Wlodarska I, Stul M, Cassiman JJ, Mecucci C, et al. BCL-6 expression in reactive lymphoid tissue and in B-cell non-Hodgkin's lymphomas. *J Pathol.* [Research Support, Non-U.S. Gov't]. 1996 Jun;179(2):145-50.
181. Skinnider BF, Horsman DE, Dupuis B, Gascoyne RD. Bcl-6 and Bcl-2 protein expression in diffuse large B-cell lymphoma and follicular lymphoma: correlation with 3q27 and 18q21 chromosomal abnormalities. *Hum Pathol.* 1999 Jul;30(7):803-8.
182. Ree HJ, Yang WI, Kim CW, Huh J, Lee SS, Cho EY, et al. Coexpression of Bcl-6 and CD10 in diffuse large B-cell lymphomas: significance of Bcl-6 expression patterns in identifying germinal center B-cell lymphoma. *Hum Pathol.* [Research Support, Non-U.S. Gov't]. 2001 Sep;32(9):954-62.

183. Falini B, Fizzotti M, Pucciarini A, Bigerna B, Marafioti T, Gambacorta M, et al. A monoclonal antibody (MUM1p) detects expression of the MUM1/IRF4 protein in a subset of germinal center B cells, plasma cells, and activated T cells. *Blood*. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. 2000 Mar 15;95(6):2084-92.
184. Natkunam Y, Warnke RA, Montgomery K, Falini B, van De Rijn M. Analysis of MUM1/IRF4 protein expression using tissue microarrays and immunohistochemistry. *Mod Pathol*. [Research Support, U.S. Gov't, P.H.S.]. 2001 Jul;14(7):686-94.
185. Gaidano G, Carbone A. MUM1: a step ahead toward the understanding of lymphoma histogenesis. *Leukemia*. [Editorial Research Support, Non-U.S. Gov't]. 2000 Apr;14(4):563-6.
186. Tsuboi K, Iida S, Inagaki H, Kato M, Hayami Y, Hanamura I, et al. MUM1/IRF4 expression as a frequent event in mature lymphoid malignancies. *Leukemia*. [Comparative Study Research Support, Non-U.S. Gov't]. 2000 Mar;14(3):449-56.
187. Berglund M, Thunberg U, Amini RM, Book M, Roos G, Erlanson M, et al. Evaluation of immunophenotype in diffuse large B-cell lymphoma and its impact on prognosis. *Mod Pathol*. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. 2005 Aug;18(8):1113-20.
188. de Leval L, Harris NL. Variability in immunophenotype in diffuse large B-cell lymphoma and its clinical relevance. *Histopathology*. [Review]. 2003 Dec;43(6):509-28.
189. Muris JJ, Meijer CJ, Vos W, van Krieken JH, Jiwa NM, Ossenkoppele GJ, et al. Immunohistochemical profiling based on Bcl-2, CD10 and MUM1 expression improves risk stratification in patients with primary nodal diffuse large B cell lymphoma. *J Pathol*. [Multicenter Study]. 2006 Apr;208(5):714-23.
190. 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*. [Evaluation Studies Research Support, Non-U.S. Gov't]. 2007 Jun;48(6):1102-9.
191. de Bruin PC, Gruss HJ, van der Valk P, Willemze R, Meijer CJ. CD30 expression in normal and neoplastic lymphoid tissue: biological aspects and clinical implications. *Leukemia*. [Review]. 1995 Oct;9(10):1620-7.
192. Durkop H, Foss HD, Eitelbach F, Anagnostopoulos I, Latza U, Pileri S, et al. Expression of the CD30 antigen in non-lymphoid tissues and cells. *J Pathol*. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. 2000 Apr;190(5):613-8.
193. Piris M, Brown DC, Gatter KC, Mason DY. CD30 expression in non-Hodgkin's lymphoma. *Histopathology*. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. 1990 Sep;17(3):211-8.
194. Ostberg JR, Barth RK, Frelinger JG. The Roman god Janus: a paradigm for the function of CD43. *Immunol Today*. [Review]. 1998 Dec;19(12):546-50.
195. Mitrovic Z, Ilic I, Nola M, Aurer I, Sonicki Z, Basic-Kinda S, et al. CD43 expression is an adverse prognostic factor in diffuse large B-Cell lymphoma. *Clin Lymphoma Myeloma*. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. 2009 Apr;9(2):133-7.
196. Singh B, Berry JA, Shoher A, Ramakrishnan V, Lucci A. COX-2 overexpression increases motility and invasion of breast cancer cells. *Int J Oncol*. [Research Support, N.I.H., Extramural Research Support, Non-U.S. Gov't]. 2005 May;26(5):1393-9.
197. Chen Q, Shinohara N, Abe T, Watanabe T, Nonomura K, Koyanagi T. Significance of COX-2 expression in human renal cell carcinoma cell lines. *Int J Cancer*. 2004 Mar 1;108(6):825-32.

198. Nakao S, Kuwano T, Tsutsumi-Miyahara C, Ueda S, Kimura YN, Hamano S, et al. Infiltration of COX-2-expressing macrophages is a prerequisite for IL-1 beta-induced neovascularization and tumor growth. *J Clin Invest*. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. 2005 Nov;115(11):2979-91.
199. Zhi YH, Liu RS, Song MM, Tian Y, Long J, Tu W, et al. Cyclooxygenase-2 promotes angiogenesis by increasing vascular endothelial growth factor and predicts prognosis in gallbladder carcinoma. *World J Gastroenterol*. 2005 Jun 28;11(24):3724-8.
200. Ito H, Duxbury M, Benoit E, Clancy TE, Zinner MJ, Ashley SW, et al. Prostaglandin E2 enhances pancreatic cancer invasiveness through an Ets-1-dependent induction of matrix metalloproteinase-2. *Cancer Res*. 2004 Oct 15;64(20):7439-46.
201. Park JH, Kang KH, Kim SH, Lee JH, Cho CM, Kweon YO, et al. Expression of Cyclooxygenase-2 and Bcl-2 in human gastric adenomas. *Korean J Intern Med*. 2005 Sep;20(3):198-204.
202. 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*. [Research Support, Non-U.S. Gov't Review]. 2009 Dec;33(12):1627-35.
203. Paydas S, Ergin M, Erdogan S, Seydaoglu G. Cyclooxygenase-2 expression in non-Hodgkin's lymphomas. *Leuk Lymphoma*. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. 2007 Feb;48(2):389-95.
204. Wun T, McKnight H, Tuscano JM. Increased cyclooxygenase-2 (COX-2): a potential role in the pathogenesis of lymphoma. *Leuk Res*. 2004 Feb;28(2):179-90.
205. Kerbel RS. Tumor angiogenesis: past, present and the near future. *Carcinogenesis*. [Research Support, Non-U.S. Gov't Research Support, U.S. Gov't, P.H.S. Review]. 2000 Mar;21(3):505-15.
206. Folkman J. Seminars in Medicine of the Beth Israel Hospital, Boston. Clinical applications of research on angiogenesis. *N Engl J Med*. [Review]. 1995 Dec 28;333(26):1757-63.
207. Ellis LM, Fidler IJ. Angiogenesis and metastasis. *Eur J Cancer*. [Research Support, Non-U.S. Gov't Research Support, U.S. Gov't, P.H.S. Review]. 1996 Dec;32A(14):2451-60.
208. Ruan J, Hajjar K, Rafii S, Leonard JP. Angiogenesis and antiangiogenic therapy in non-Hodgkin's lymphoma. *Ann Oncol*. [Research Support, N.I.H., Extramural Research Support, Non-U.S. Gov't Review]. 2009 Mar;20(3):413-24.
209. Paydas S, Seydaoglu G, Ergin M, Erdogan S, Yavuz S. The prognostic significance of VEGF-C and VEGF-A in non-Hodgkin lymphomas. *Leuk Lymphoma*. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. 2009 Mar;50(3):366-73.
210. Bellamy WT, Richter L, Frutiger Y, Grogan TM. Expression of vascular endothelial growth factor and its receptors in hematopoietic malignancies. *Cancer Res*. [Research Support, U.S. Gov't, P.H.S.]. 1999 Feb 1;59(3):728-33.
211. Bellamy WT. Expression of vascular endothelial growth factor and its receptors in multiple myeloma and other hematopoietic malignancies. *Semin Oncol*. [Research Support, Non-U.S. Gov't Review]. 2001 Dec;28(6):551-9.

212. Moore PA, Belvedere O, Orr A, Pieri K, LaFleur DW, Feng P, et al. BLYS: member of the tumor necrosis factor family and B lymphocyte stimulator. *Science*. 1999 Jul 9;285(5425):260-3.
213. Schneider P, MacKay F, Steiner V, Hofmann K, Bodmer JL, Holler N, et al. BAFF, a novel ligand of the tumor necrosis factor family, stimulates B cell growth. *J Exp Med*. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. 1999 Jun 7;189(11):1747-56.
214. Mackay F, Ambrose C. The TNF family members BAFF and APRIL: the growing complexity. *Cytokine Growth Factor Rev*. [Review]. 2003 Jun-Aug;14(3-4):311-24.
215. Nardelli B, Belvedere O, Roschke V, Moore PA, Olsen HS, Migone TS, et al. Synthesis and release of B-lymphocyte stimulator from myeloid cells. *Blood*. 2001 Jan 1;97(1):198-204.
216. Scapini P, Nardelli B, Nadali G, Calzetti F, Pizzolo G, Montecucco C, et al. G-CSF-stimulated neutrophils are a prominent source of functional BLYS. *J Exp Med*. [In Vitro Research Support, Non-U.S. Gov't]. 2003 Feb 3;197(3):297-302.
217. 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 Sep 14;293(5537):2108-11.
218. 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.
219. Kern C, Cornuel JF, Billard C, Tang R, Rouillard D, Stenou V, et al. Involvement of BAFF and APRIL in the resistance to apoptosis of B-CLL through an autocrine pathway. *Blood*. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. 2004 Jan 15;103(2):679-88.
220. 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 2005;36(10):1113-9.
221. DM K. Immunophenotypic markers useful in the diagnosis and clasification of hematopoietic neoplasms. In: *Neoplastic Hematology*. 2nd ed. DM K, editor. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2001.
222. Mestre F, Gutierrez A, Ramos R, Martinez-Serra J, Sanchez L, Matheu G, et al. Expression of COX-2 on Reed-Sternberg cells is an independent unfavorable prognostic factor in Hodgkin lymphoma treated with ABVD. *Blood*. [Evaluation Studies Research Support, Non-U.S. Gov't]. 2012 Jun 21;119(25):6072-9.
223. Muller 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*. [Clinical Trial Research Support, Non-U.S. Gov't]. 2012 Apr 5;119(14):3276-84.
224. Takahashi H, Tomita N, Yokoyama M, Tsunoda S, Yano T, Murayama K, et al. Prognostic impact of extranodal involvement in diffuse large B-cell lymphoma in the rituximab era. *Cancer*. 2012 2012;118(17):4166-72.
225. Talaulikar D, Dahlstrom JE, Shadbolt B, McNiven M, Broomfield A, Pidcock M. Occult bone marrow involvement in patients with diffuse large B-cell lymphoma: results of a pilot study. *Pathology*. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. 2007 Dec;39(6):580-5.
226. Tzankov A, Zlobec I, Went P, Robl H, Hoeller S, Dirnhofer S. Prognostic immunophenotypic biomarker studies in diffuse large B cell lymphoma with special emphasis on rational determination of cut-off scores. *Leuk Lymphoma*. [Review]. 2010 Feb;51(2):199-212.
227. Oh S, Koo DH, Suh C, Kim S, Park BH, Kang J, et al. Prognostic value of immunohistochemical biomarkers at different cut-off values in patients with diffuse large B-

- cell lymphoma treated with CHOP chemotherapy. *J Korean Med Sci.* 2011 Dec;26(12):1556-62.
228. Thunberg U, Enblad G, Berglund M. Classification of diffuse large B-cell lymphoma by immunohistochemistry demonstrates that elderly patients are more common in the non-GC subgroup and younger patients in the GC subgroup. *Haematologica.* [Comment Letter]. 2012 Feb;97(2):e3; author reply e4.
229. Mareschal S, Lanic H, Ruminy P, Bastard C, Tilly H, Jardin F. The proportion of activated B-cell like subtype among de novo diffuse large B-cell lymphoma increases with age. *Haematologica.* [Letter]. 2011 Dec;96(12):1888-90.
230. Castillo JJ, Beltran BE, Song MK, Ilic I, Leppa S, Nurmi H, et al. The Hans algorithm is not prognostic in patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with R-CHOP. *Leuk Res.* [Meta-Analysis]. 2012 Apr;36(4):413-7.
231. Hermine O, Haioun C, Lepage E, d'Agay MF, Briere J, Lavignac C, et al. Prognostic significance of bcl-2 protein expression in aggressive non-Hodgkin's lymphoma. *Groupe d'Etude des Lymphomes de l'Adulte (GELA). Blood.* [Clinical Trial Comparative Study Randomized Controlled Trial Research Support, Non-U.S. Gov't]. 1996 Jan 1;87(1):265-72.
232. Vega F. Time to look for CD30 expression in diffuse large B-cell lymphomas, along the way to immunotherapy. *Leuk Lymphoma.* [Comment]. 2013 Nov;54(11):2341-2.
233. 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.* [Research Support, N.I.H., Extramural Research Support, Non-U.S. Gov't]. 2013 Apr 4;121(14):2715-24.
234. Zhou HJ, Pham LV, Tamayo AT, Lin-Lee YC, Fu L, Yoshimura LC, et al. Nuclear CD40 interacts with c-Rel and enhances proliferation in aggressive B-cell lymphoma. *Blood.* [Research Support, N.I.H., Extramural Research Support, Non-U.S. Gov't]. 2007 Sep 15;110(6):2121-7.
235. Lossos IS. The Endless Complexity of Lymphocyte Differentiation and Lymphomagenesis: IRF-4 Downregulates BCL6 Expression. *Cancer Cell.* 2007 2007;12(3):189-91.
236. Kennedy GA, Tey SK, Cobcroft R, Marlton P, Cull G, Grimmett K, et al. Incidence and nature of CD20-negative relapses following rituximab therapy in aggressive B-cell non-Hodgkin's lymphoma: a retrospective review. *Br J Haematol.* 2002 Nov;119(2):412-6.
237. 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.* [Comparative Study]. 2010 Oct;21(10):2069-74.
238. 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.* [Review]. 2013 Sep;88(9):798-802.
239. Broyde A, Boycov O, Strenov Y, Okon E, Shpilberg O, Bairey O. Role and prognostic significance of the Ki-67 index in non-Hodgkin's lymphoma. *Am J Hematol.* 2009 Jun;84(6):338-43.
240. Markovic O, Marisavljevic D, Cemerikic-Martinovic V, Filipovic B, Radovanovic S, Zdravkovic 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.

241. Reed JC. Bcl-2-family proteins and hematologic malignancies: history and future prospects. *Blood*. [Historical Article Research Support, N.I.H., Extramural Review]. 2008 Apr 1;111(7):3322-30.
242. 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 non-germinal center diffuse large B-cell lymphomas. *Eur J Haematol*. [Research Support, Non-U.S. Gov't]. 2009 May;82(5):364-72.
243. Tangye SG, Bryant VL, Cuss AK, Good KL. BAFF, APRIL and human B cell disorders. *Semin Immunol*. [Research Support, Non-U.S. Gov't Review]. 2006 Oct;18(5):305-17.
244. Mackay F, Tangye SG. The role of the BAFF/APRIL system in B cell homeostasis and lymphoid cancers. *Curr Opin Pharmacol*. [Research Support, Non-U.S. Gov't Review]. 2004 Aug;4(4):347-54.
245. Bossen C, Schneider P. BAFF, APRIL and their receptors: structure, function and signaling. *Semin Immunol*. [Research Support, Non-U.S. Gov't Review]. 2006 Oct;18(5):263-75.
246. Schwaller J, Schneider P, Mhawech-Fauceglia P, McKee T, Myit S, Matthes T, et al. Neutrophil-derived APRIL concentrated in tumor lesions by proteoglycans correlates with human B-cell lymphoma aggressiveness. *Blood*. 2007 2007;109(1):331-8.
247. Proust A, Rincé P, Creidy R, Lazure T, Joab I, Garon L, et al. P52 activation in monomorphic B-cell posttransplant lymphoproliferative disorder/diffuse large B-cell lymphoma without BAFF-R expression. *American Journal of Pathology*. 2011 2011;179(4):1630-7.
248. 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 2010;50(2):121-7.
249. 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*. [Research Support, N.I.H., Extramural]. 2007 Apr;170(4):1362-9.
250. Tzankov A, Heiss S, Ebner S, Sterlacci W, Schaefer G, Augustin F, et al. Angiogenesis in nodal B cell lymphomas: a high throughput study. *J Clin Pathol*. 2007 May;60(5):476-82.
251. Bernard MP, Bancos S, Sime PJ, Phipps RP. Targeting cyclooxygenase-2 in hematological malignancies: rationale and promise. *Curr Pharm Des*. [Research Support, N.I.H., Extramural Review]. 2008;14(21):2051-60.
252. Ok CY, Papatomas TG, Medeiros LJ, Young KH. EBV-positive diffuse large B-cell lymphoma of the elderly. *Blood*. [Research Support, N.I.H., Extramural Research Support, Non-U.S. Gov't Review]. 2013 Jul 18;122(3):328-40.
253. Kuze T, Nakamura N, Hashimoto Y, Sasaki Y, Abe M. The characteristics of Epstein-Barr virus (EBV)-positive diffuse large B-cell lymphoma: comparison between EBV(+) and EBV(-) cases in Japanese population. *Jpn J Cancer Res*. [Comparative Study]. 2000 Dec;91(12):1233-40.
254. Jaffe ES. The 2008 WHO classification of lymphomas: implications for clinical practice and translational research. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. [Review]. 2009:523-31.

255. Malumbres R, Chen J, Tibshirani R, Johnson NA, Sehn LH, Natkunam Y, et al. Paraffin-based 6-gene model predicts outcome in diffuse large B-cell lymphoma patients treated with R-CHOP. *Blood*. [Research Support, N.I.H., Extramural Research Support, Non-U.S. Gov't]. 2008 Jun 15;111(12):5509-14.

## SPISAK SKRAĆENICA

|           |   |
|-----------|---|
| ABC       | od engl. Activated B-cell like  |
| ALK       | od engl. Anaplastic lymphoma kinase   |
| APRIL     | od engl. A proliferation inducing ligand  |
| BAFF      | od engl. B-cell activating factor of the tumor necrosis factor family, B-ćelijski aktivator porodice faktora nekroze tumora |
| BAFF-R    | BAFF receptor   |
| BALT      | od engl. Bronchus associated lymphoid tissue  |
| BCL2      | od engl. B-cell lymphoma-2  |
| BCL6      | od engl. B-cell lymphoma-6  |
| BCMA      | od engl. B-cell maturation antigen, Antigen sazrevanja B-ćelija   |
| BL        | od engl. Burkitt lymphoma   |
| Blys      | od engl. B-Lymphocyte stimulator, Stimulator B-limfocita  |
| BOB.1     | protein BOBBER 1  |
| CALLA     | od engl. Common acute lymphoblastic leukemia antigen  |
| CCND1     | Cyclin D1   |
| CHOP      | ciklofosamid, doksorubicin, vinkristin, prednizolon   |
| CNS       | centralni nervni sistem   |
| COX1      | ciklooksigenaza 1   |
| COX2      | ciklooksigenaza 2   |
| CT        | od engl. Computed tomography, kompjuterizovana tomografija  |
| DHL       | od engl. Double hit lymphomas   |
| DLBCL     | od engl. Diffuse large B-cell Lymphoma, Difuzni B-krupnoćelijski limfom   |
| DLBCL-NOS | od engl. Diffuse large B-cell Lymphoma Not otherwise specified, Difuzni B-krupnoćelijski limfom, drugačije neoznačen        |
| DNA       | od engl. Deoxyribonucleic acid  |



|         |   |
|---------|---|
| EBER    | od engl. Epstein-Barr-encoded RNA-associated protein                    |
| EBV     | Epstein-Barr virus  |
| EBV-LMP | Epstein-Barr virus-latentni membranski protein                          |
| ECOG    | od engl. Eastern Cooperative Oncology Group                             |
| EMA     | Epitelijalni membranski antigen   |
| FDG     | pozitron emitujući analog glukoze                                       |
| GCB     | od engl. Germinal centre B-cell like                                    |
| FISH    | Fluorescentna in situ hibridizacija                                     |
| FOXP1   | od engl. Forkhead box protein P1  |
| GCB     | od engl. Germinal center B-cell   |
| GEP     | od engl. Gene expression profile, Profil genske ekspresije              |
| HE      | Hematokislin-eozin  |
| HHV8    | Humani herpes-virus 8   |
| HIV     | od engl. Human immunodeficiency virus, Virus humane imunodeficijencije  |
| HL      | Hodgkinov limfom  |
| HMB45   | antitelo protiv premelanozomskih glikoproteina                          |
| Ig      | Imunoglobulin   |
| IGH     | od engl. Immunoglobulin heavy chain                                     |
| IHH     | Imunohistohemija  |
| IPI     | od engl. International prognostic index, Internacionalni prognozni skor |
| IRF4    | Interferon regulatorni faktor-4   |
| LDH     | Laktat dehidrogenaza  |
| LYG     | Limfomatoidna granulomatoza   |
| MALT    | od engl. Mucosa-associated lymphoid tissue, Limfoidno tkivo sluznica    |
| Melan A | od engl. melanoma antigen recognized by T-cells 1                       |

|           |  |
|-----------|--|
| MUM-1     | multipli mijelom-1   |
| MYC       | od engl. Myelocytomatosis oncogene   |
| MZL       | od engl. Marginal zone lymphoma, Limfom marginalne zone  |
| NHL       | Non-Hodgkin limfom   |
| NK ćelije | od engl. Natural killer cell   |
| NLPHL     | nodularni limfocit predominantni Hodgkin limfom  |
| NMR       | nuklearna magnetna rezonanca   |
| nonGCB    | od engl. Non-germinal centre B-cell-like   |
| Oct-2     | Oct-2 protein  |
| PAX5      | od engl. Paired box 5  |
| PCR       | od engl. polymerase chain reaction   |
| PET       | Pozitronska emisiona tomografija   |
| PMBL      | Primarni medijastinalni B-ćelijski limfom  |
| R-ACVBP   | rituximab, doxorubicin, vindesine, cyclophosphamide, bleomycin i prednisolone  |
| R-CHOP    | ritiximab i ciklofosfamid, doksorubicin, vinkristin, prednizolon   |
| REAL      | od engl. Revisited European and American Lymphoma, Revidirana evropska i američka limfomska  |
| R-IPI     | Revidiran IPI  |
| RNA       | Ribonucleic acid   |
| TACI      | od engl. Transmembrane activator and calcium modulator and cyclophilin ligand interactor, transmembranski aktivator i kalcijumski modulator i interaktor ciklofilinskih liganada |
| TCE       | trihloretilen  |
| TCHRLBCL  | od engl. T-cell/histicocyte rich large B-cell lymphoma, Krupnoćelijski B-limfom bogat T-ćelijama/histiocitima  |
| TdT       | Terminalna deoksinukleotidilna transferaza   |

|               |   |
|---------------|---|
| TNF- $\alpha$ | od engl. Tumor necrosis factor $\alpha$ , Faktor nekroze tumora $\alpha$                                |
| TNFR          | tumor necrosis factor receptor  |
| TNFRSF8       | tumor necrosis factor receptor superfamily, member 8  |
| VEGF          | od engl. VEGF vascular endothelial growth factor, Vaskularni endotelialni faktora rasta                 |
| VEGFR         | od engl. Vascular endothelial growth factor receptor, Receptor vaskularnog endotelijalnog faktora rasta |
| WHO           | od engl. World health organization, Svetska zdravstvena organizacija                                    |