



TÜRKİYE CUMHURİYETİ

KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

DİFFÜZ BÜYÜK B HÜCRELİ LENFOMA VAKALARINDA

TROMBOSPONDİN-1, VEGF, PDGFR- β 'NİN

PROGNOSTİK ÖNEMİ

Dr. Adnan BATMAN

İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

UZMANLIK TEZİ

2015

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

DİFFÜZ BÜYÜK B HÜCRELİ LENFOMA VAKALARINDA
TROMBOSPONDİN-1, VEGF, PDGFR- β 'NİN
PROGNOSTİK ÖNEMİ

Dr. Adnan BATMAN
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN ÖĞRETİM ÜYESİ
Yard. Doç. Dr. Elif Birtaş ATEŞOĞLU

KOÜ KAEK 2015/23

2015

TEŞEKKÜR

Eğitim hayatımın en başından beri beni destekleyen ve bana güç veren canımdan çok sevdiğim annem, babama;

Daha sonraki eğitim hayatımda desteklerini sürekli arkamda hissettiğim ilkokul, ortaokul, lise ve üniversite hocalarıma,

Tez çalışmamın her aşamasında beni destekleyen ve her konuda bilgi ve manevi desteklerini gördüğüm başta değerli hocam Yard.Doç.Dr. Elif Birtaş Ateşoğlu ve Prof.Dr.Abdullah Hacıhanefioğlu olmak üzere asistanlık sürecimi en önemli deneyimlerimden biri haline getiren ve bilgi birikimlerinden sınırsız bir şekilde faydalanmamı sağlayan Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakóltesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı öğretim üyelerine;

Kardeşçe iyi ve kötü günleri, uykusuz ve yorgun geceleri birlikte aştığımız ve pek çok şeyi paylaştığımız asistan arkadaşlarıma,

Hayatımda bana yaşattığı ilgi, güven ve sevilme duygusu yanında, benim bugünlere gelmemdeki desteği için eşime ve canımdan çok sevdiğim oğluma;

tesekkür ederim...

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	ii
KISALTMALAR DİZİNİ	iv
ÇİZİMLER DİZELGESİ.....	vii
ÇİZELGELER DİZELGESİ.....	viii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. Non Hodgkin Lenfoma	2
2.2. Diffüz Büyükk B Hücreli Lenfoma	6
2.2.1. Diffüz Büyük B Hücreli Lenfoma: Patogenez ve Sınıflama.....	8
2.2.2. Diffüz Büyük B Hücreli Lenfoma: Tanı ve Evreleme	11
2.2.4. Diffüz Büyük B Hücreli Lenfomada Tedavi.....	17
2.3. Anjiyogenezis	23
2.3.1. Thrombospondin-1	27
2.3.2. Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü (VEGF).....	28
2.3.3. PDGFR- β (Trombosit kaynaklı büyüme faktörü reseptörü- β).....	31
2.3.4. DBBHL ve Anjiyogenez	34
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	36
3.1. Boyama Yöntemi	37
3.2. İstatistiksel Yöntemler	38
4. BULGULAR	39
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	63
6. SONUÇLAR.....	72
7. ÖZET	74
8. ABSTRACT	76
9. KAYNAKLAR.....	78

KISALTMALAR DİZİNİ

aaIPI: Yaşa göre IPI

ABC: Active B hücre variant

AIDS : Edinsel immün yetmezlik sendromu (Acquired Immune Deficiency Syndrome)

AlloKHN: Allojenik kemik iliği transplantasyonu

BCL-2: B-cell CLL/lymphoma 2

BCL-6: B-cell CLL/lymphoma 6

BEAM : Karmustin, etoposid ,Ara-C ve melfalan

bFGF : Basic Fibroblast Growth Factor

BLIMP1: B-lymphocyte-induced maturation protein 1

CD: Cluster of differentiation

CEOP: Siklofosfamid, etoposid, vinkristin, prednizolon

CEPP: Siklofosfamid, etoposid, prokarbazin, prednizolon

CHOP: Siklofosfamid, adriamisin, oncovin, prednison

CNOP: Siklofosfamid, mitoksantron, vinkristin, prednizolon

CRP : C reaktif protein

DBBHL : Diffüz büyük B hücreli lenfoma

DHAP: Sisplatin, Sitozin, Deksametazon

EBV: Epstein Barr virüs

ECOG: The Eastern Cooperative Oncology Group

ELISA: Enzim ilintili immün test (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay)

EPOCH: Rituksimab, Etoposid, Doksorobusin, Vinkristin, Siklofosfamid, Prednizolon

ESH: Sedimentasyon

ESHAP: Etoposid, Metilprednizolon, Sitarabin, Sisplatin

HR: Hazard ratio

HIF-1 : Hypoxia-induced factor)

HIV : Human immundeficiency virüs

GCB : Germinal merkez B hücre

GELA: Groupe d'Etudes des Lymphomes de l'Adulte

ICE:Etopozid,Karboplatin

IgG1:İmmunglobulin G 1

IGF-1:(Insulin like growth faktör-1

IL:Interlökin

IPI: Uluslararası prognostik indeks (Internationale prognostic index)

KLL/SLL: Kronik lenfositik lösemi/Küçük lenfositik lösemi

LDH : Laktat dehidrogenaz

MALT: Mucosa associated lenfoid tissue

MINE:Mesna,İfosfamid,Mitoksantron,Etopozid

MInT : Uluslararası Mabthera Çalışması

mTOR: Mammalian target of rapamycin

MUM1/IRF : Multiple Myeloma 1/Interferon Regulatory Factor 4

NF-κB : Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated

NHL: Non hodgkin lenfoma

NK : Naturel Killer

NOS: başka şekilde sınıflandırılmamış

OKHN: Otolog Kök Hücre Nakli

OS : Genel sağkalım

PDGF : Platelet-derived growth factor

PET : Positron emisyon tomografisi

PET/BT : Positron emisyon tomografisi/Bilgisayarlı Tomografi kombinasyonu

PFS:Progresyonsuz sağkalım

R-CEOP : Rituksimab, siklofosfamid, epirubisin, vinkristin, prednison

R-CHOP : Rituksimab- Siklofosfamid, Adriamisin, Vincristin, Prednisolon

R-CVP : Rituksimab- Siklofosfamid, Vincristin, Prednisolon

R.E.A.L:Revised European Lymphoma Study Group

R-IPi : Rituksimab sonrası revize edilmiş uluslararası prognostik indeks

SSS :Santral snir sistemi

SWOG : Southwest Oncology Group

TART:Tutulu alan radyoterapisi

TGF- α :Transformin growth faktör $-\alpha$

TGF- β : Transforming growth factor β

TNF- α : Tümör nekroz faktör $-\alpha$

VEGF :Vasküler endotelyal büyüme faktörü

VHL: Von hippel-lindau

WHO: Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organisation)

ÇİZİMLER DİZELGESİ

Şekil 1. Nüks ve refrakter DBBHL hastalarında tedavi yaklaşımı.....	21
Şekil 2. Dirençli / Nüks DBBHL hastalarında tedavi algoritması.....	22
Şekil 3. Anjiyogenik ve antianjiyogenik faktörlerin anjiogeneze fonksiyonları.....	24
Şekil 4. Antianjiyogenik tedaviye tümör hücrelerinin cevabı.....	26
Şekil 5. Trombospondinin etki mekanizması.....	28
Şekil 6. Lenfomanın vasküler mikroçevresinde anjiogeneze bir bakış.....	30
Şekil 7. PDGF Sinyal iletim yolu.....	32
Şekil 9. Trombospondin-1 ile PDGFR- β arasındaki korelasyonunun grafiği.....	45
Şekil 10. Hastaların genel ve progresyonsuz sağkalım eğrisi.....	56
Şekil 11. Splenomegali durumuna göre hastaların genel ve progresyonsuz sağkalım eğrileri.....	56
Şekil 12. IPI skor durumuna göre hastaların genel sağkalım eğrisi.....	57
Şekil 13. Lenfosit sayılarına göre hastaların genel ve progresyonsuz sağkalım eğrileri....	58
Şekil 14. Hastaların birinci basamak tedaviye yanıt durumuna göre genel ve progresyonsuz sağkalım eğrileri.....	59

ÇİZELGELER DİZELGESİ

Tablo 1. WHO 2008 sınıflamasına göre lenfomalar.....	4
Tablo 2. Türkiyede Lenfoma verileri	5
Tablo 3. Diffüz Büyük B Hücreli Lenfoma (DBBHL) alt tipleri.....	7
Tablo 5. Evreleme sırasında yapılması ve sorgulanması gereken noktalar.....	12
Tablo 6. NHL için Ann Arbor evrelemesi.....	13
Tablo 7. Uluslararası Prognostik İndex(IPI) Risk Faktörleri	14
Tablo 8. IPI Skorları ve Yanıt Oranları	15
Tablo 9. Yüksek riskli DBBHL.....	16
Tablo 10. Anjiyogenezi Uyaran ve Engelleyen Bazı Etmenler.....	25
Tablo 11. VEGF ve PDGF hedeflenen bazı ilaç örnekleri	33
Tablo 12. Kullanılan primer antikorlar.....	37
Tablo 13. Hastaların ve kontrolün demografik verileri	40
Tablo 14. Hasta ve kontrolün labratuvar değerlerinin karşılaştırılması	42
Tablo 15. Hasta ve kontrol grubunun Trombospondin-1, VEGF, PDGFR- β boyanma oranlarına göre karşılaştırılması	44
Tablo 16. Hastaların demografik ölçütlerinin VEGF boyanma oranları ile karşılaştırılması	46
Tablo 17. Hastaların demografik ölçütlerinin PDGFR- β boyanma oranları ile karşılaştırılması.....	48
Tablo 18. Hastaların demografik ölçütlerinin Trombospondin-1 boyanma oranları ile karşılaştırılması.....	50
Tablo 19. VEGF ile laboratuvar değerlerinin karşılaştırılması	52
Tablo 20. PDGFR- β ile laboratuvar değerlerinin karşılaştırılması	53
Tablo 21. Trombospondin-1 ile laboratuvar değerlerinin karşılaştırılması.....	54
Tablo 22. Hastaların demografik verileri ,laboratuvar verileri, VEGF, PDGFR- β , Trombospondin-1 boyanma oranları ile genel ve progresyonsuz sağkalım değerlerinin karşılaştırılması.....	60

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Diffüz büyük B hücreli Lenfoma (DBBHL)'lar Non Hodgkin Lenfoma (NHL)'ların en sık görülen alt tipini oluşturmaktadır. DBBHL'lar hodgkin dışı lenfomaların %30–40'ını, agresif lenfomaların ise %80'inden fazlasını teşkil eder ¹. DBBHL agresif lenfoma olmasına rağmen antrasiklin bazlı tedavilere yüksek oranda cevap verebilmektedir. İlk tedaviye tam yanıt vermeyen hastalarda ise prognoz daha kötü olduğu ve uzun süreli sağkalımın daha az olduğu gözlenmiştir. Bu nedenle bu spesifik ve geniş hasta grubu için daha etkin ve daha az toksik kemoterapi ilaçları ve biyolojik ajan araştırılmasına yönelik çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalarda tedavi hedefleri arasında günümüzde önemi giderek artan ve birçok kanser tedavi araştırmalarının da başlıca konusu olan anjiyogenez bulunmaktadır ².

Anjiyogenez anjiyogenik ve anti anjiyogenik faktörler arasındaki denge ile düzenlenir. Anjiyogenik faktörlerin başında VEGF (Vasküler endotelial growth faktör), PDGF (Platelet derived growth factor); anti anjiyogenik faktörlerin başında ise trombospondin-1 gelir. DBBHL tanılı hastaların serum VEGF seviyeleri ile yapılan çalışmalarda serum VEGF seviyeleri yüksek olanlarda kötü prognozla ilişkili bulunmuştur ³. DBBHL'lı fare modellerinde PDGFR- β 'yi hedef alan imatinib tedavisiyle anjiyogenezin önemli elemanlarından perisitlerde apoptoz ve tümör volümünde azalma olduğu gözlenmiştir ⁴. Birçok tümör hücre serilerinde trombospondinin yüksek düzeyde ekspresyonunun tümör hücre anjiyogenezini ve progresyonunu inhibe ettiği gözlenmiştir ^{5,6}. Bu üç anjiyogenez ile ilgili faktörün DBBHL hasta doku preparatlarında ekspresyon düzeyinin prognostik önemini araştıran bildiğimiz kadarıyla çalışma yok. Bizim bu çalışmadaki amacımız da lenfadenopati biyopsisi sonucu DBBHL tanısı alan hastalarda doku preparatlarında immunhistokimyasal olarak anti anjiyogenik faktör trombospondin-1 başta olmak üzere anjiyogenik faktör VEGF ve PDGFR- β 'nin boyanma oranları ile laboratuvar bulguları, tedaviye yanıt ve prognoz arasındaki ilişkiyi araştırmaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Non Hodgkin Lenfoma

Tüm lenfoid hücreler hematopoetik progenitör hücrelerden köken alırlar. Hemotopoetik progenitör hücreler lenfoid ve myeloid öncü hücreleri olmak üzere iki grup öncü hücre oluştururlar. Lenfoid kök hücre en son olarak B ve T lenfositleri oluşturmak üzere farklılaşırlar. Klonal artmış neoplastik lenfoid hücreler öncelikle kemik iliği ve periferik kanı tutmuş ise lösemi, immün sistemin solid tümörleri olarak karşımıza çıkmış ise lenfoma olarak adlandırılır. Lenfoid lösemilerin %75'i ve tüm lenfomaların %90'ı B hücre kökenlidir.

Tüm kanserlerin yaklaşık %3'ünü oluşturan lenfomalar hematolojik kanserler arasında en sık rastlanılan gruptur. Dünyada önemli bir morbidite ve mortalite sorunu olan lenfomalar kansere bağlı ölüm nedenleri arasında erkeklerde 9., kadınlarda 6. sırada yer almaktadır⁷. Ülkemiz ile ilgili yeterli veri olmamakla birlikte Hodgkin dışı lenfoma tüm kanserlerin yaklaşık olarak %4'ü ve yine kansere bağlı ölümlerin %4'ünü oluşturmaktadır. Türkiye Sağlık Bakanlığı 2008 verilerine göre Hodgkin dışı lenfoma erkeklerde 7., kadınlarda ise 8. en sık görülen kanserdir⁸.

Lenfomalar köken aldığı immün sistemi oluşturan hücrelerin diferansiyasyon aşamasına göre farklı morfolojik, immünolojik ve klinik tablo oluşturabilen malignitelerdir^{9,10}. Son yıllarda özellikle sitogenetik ve immünofenotipik incelemelerin gelişimi ile birlikte morfolojik, sitogenetik, immünofenotipik ve klinik özelliklerine göre birbirlerinden ayırdedilebilen pek çok lenfoma alt grubu tanımlanmıştır. Lenfoma bugüne kadar sınıflaması en sık değişen neoplazm grubudur. 1966 yılında Rapaport, 1974 Lukes/Collins, 1982 Working Formulation, 1994 R.E.A.L (Revised European Lymphoma Study Group) ve 2008 WHO (World Health Organisation) sınıflaması şeklinde birçok sınıflama kullanılmıştır. WHO 2008 sınıflaması ise dünyada hematopatoloji ve klinik onkoloji konusunda deneyimli uzmanların morfolojik, klinik, immünolojik ve genetik verileri dikkate alarak oluşturdukları rapor sonucu ortaya konmuş ve geçerliliğini sürdüren son sınıflamadır (Tablo-1)¹¹. Lenfomalar genel olarak klinik ve morfolojik özellikleri ve tedavi şekilleriyle Hodgkin ve Hodgkin dışı lenfomalar (NHL) olarak iki büyük gruba ayrılarak incelenir. En sık görülen tipi Non-Hodgkin lenfoma'lardır. Lenfoma alt grupları arasında patofizyolojik, klinik ve tedavi seçenekleri açısından belirgin farklılık vardır. Bu farklılığın

oluşmasında hastalığın patofizyolojisindeki farklı moleküler mekanizmalar, hücrelerin kaynaklandığı kök hücrenin tipi ve sonrasında diferansiyasyon aşamalarında farklılıklar, hastalığın yerleşiminin lokal ya da yaygın olup olmaması, tutulum şekli nodal ya da ektranodal olması ve klinik seyrinin agresif veya yavaş seyirli olup olmasının etkisi vardır.

NHL'lar, heterojen bir gruptur. Prekürsör T hücre, prekürsör B hücre, olgun T hücre ve olgun B hücre gibi hemopoetik hücrelerin çeşitli gelişim basamaklarından birinde kalarak malign hücreye dönüşüm gözlenir. Köken aldıkları diferansiyasyon basamaklarına göre farklı morfolojik, immünolojik ve klinik görünümlere sahiptir

NHL'ların büyük çoğunluğu B hücre kökenlidir. Tüm olguların %80-85 ini oluşturmaktadır. T ve natural killer (NK) hücreli lenfomalar ise %15-20 oranındadır. B hücreli lenfomalar içinde yaklaşık %30-35 görülme sıklığı ile en çok DBBHL görülmektedir. Gelişmiş ülkelerde Folliküler lenfoma ikinci en sık görülen alttıptir ve yaklaşık olarak %25 oranındadır¹². Ruacan ve arkadaşları tarafından Türkiye'deki 5 büyük merkezden 3704 lenfoma hastasının dahil edildiği bir çalışmada batı ülkeleri ile karşılaştırıldığında Türkiye'de Hodgkin dışı lenfoma ile daha genç yaşta karşılaşılmaktadır. Erkeklerde daha sıktır. Ektranodal lenfoma sıklığı %40'ın üzerindedir. Tüm dünyada olduğu gibi %30,1 oranında DBBHL görülürken, ardından %10,1 ile KLL/SLL (Kronik lenfositik lösemi/Küçük lenfositik lösemi) ve %5,1 ile Foliküler lenfoma gelir. Diğer alt tiplerin dağılımı Tablo 2'de özetlenmiştir^{13,14}.

Tablo 1. WHO 2008 sınıflamasına göre lenfomalar ¹¹

B hücre neoplazileri

Prekürsör B hücre neoplazileri

Prekürsör B hücreli lenfoblastik Lösemi/ Lenfoma

Olgun B hücre neoplazileri

Predominant Dissemine/Lösemik Neoplaziler

Kronik Lenfositik Lösemi/ Küçük Lenfositik Lenfoma

B-hücreli Prolenfositik Lenfoma

Lenfoplazmositik Lenfoma/ Waldenström
Makroglobulinemisi

Splenik Marjinal Zon B-hücreli Lenfoma

Hairy-cell (tüylü hücreli) Lösemi

Plazma Hücre Neoplazileri

Plazma Hücreli Myelom

Plazmositom

Monoklonal İmmunoglobulin Depo Hastalığı

Ağır Zincir Hastalığı

Primer Ekstranodal Neoplaziler

Ekstranodal Marjinal Zon B-hücreli Lenfoma (MALT
lenfoma)

Mediastinal (Timik) Büyük B-hücreli Lenfoma

İntravasküler Büyük B-hücreli Lenfoma

Primer Efüzyon Lenfoması

Lenfomatoid Granüloatozis

Predominant Nodal Neoplaziler

Nodal Marjinal Zon B-hücreli Lenfoma

Foliküler Lenfoma

Mantle cell Lenfoma

Büyük B-hücreli Lenfoma

Burkitt Lösemi/Lenfoma

T ve NK hücre neoplazileri

Prekürsör T hücre neoplazileri

Prekürsör T hücreli lenfoblastik Lösemi/ Lenfoma

Olgun T hücre neoplazileri

Predominant Dissemine/Lösemik Neoplaziler

T-hücreli Prolenfositik Lenfoma

T-hücreli Large Granüler Lenfoma

Agresif NK hücreli Lösemi

Erişkin T hücreli Lösemi/Lenfoma

Primer Ekstranodal Neoplaziler

Ekstranodal NK/T hücreli Lenfoma, Nazal Tip

Enteropati-tip T hücreli Lenfoma

Hepatosplenik T hücreli Lenfoma

Subkutan Pannikülit-benzeri T hücreli Lenfoma

Blastik NK hücreli Lenfoma

Mycosis Fungoides/Sezary Sendromu

Primer Kutanöz CD-30 pozitif T hücreli

Lenfoproliferatif hastalık

Predominant Nodal Neoplaziler

Anji-immunoblastik T hücreli Lenfoma

Periferik T hücreli Lenfoma, belirtilmemiş

Anaplastik Büyük Hücreli

Hodgkin Lenfoma

Nodüler Lenfositten Baskın Hodgkin Lenfoma

Klasik Hodgkin Lenfoma

Nodüler Skleroz Hodgkin Lenfoma

Miks Sellüler Hodgkin Lenfoma

Lenfositten Zengin Hodgkin Lenfoma

Lenfositten Fakir Hodgkin Lenfoma

Tablo 2. Türkiyede Lenfoma verileri^{13,14}

Lenfoma alt tipi	
DBBHL	30,1
KLL/SLL	10,4
Foliküler	5,1
Mantle hücreli	3,2
Burkitt	3,1
Plazma hücreli neoplaziler	3,0
MALT lenfoma	2,9
Anaplastik büyük hücreli	2,9
T lenfoblastik lenfoma	2,3
Mikozis Fungoides	1,2
Hodgkin lenfoma	20,9

Kısaltmalar: **KLL**, kronik lenfositik lösemi, **MALT**: mukoza ile ilişkili lenfoid doku (mucosa associated lymphoid tissue); **SLL**: küçük lenfositik lenfoma

2.2. Diffüz Büyükk B Hücreli Lenfoma

DBBHL'lar NHL'ların en sık görülen alt tipini oluşturmaktadır. DBBHL'lar hodgkin dışı lenfomaların %30–40'ını, agresif lenfomaların ise %80'inden fazlasını teşkil eder¹. Buna karşılık mediastinal büyük B hücreli lenfomalar tüm lenfomaların %2 kadarını oluşturur. Avrupada görülme sıklığı yılda yaklaşık 3-4/100000 civarındadır. Yaşla birlikte görülme sıklığı artar. 35-39 yaş aralığında 0,3/100000 iken 80-84 yaş aralığında 26,4/100000 şeklindedir¹⁵. Erkeklerde biraz daha sık rastlanır ve vakaların yaklaşık %55'i erkektir¹⁶.

Hastalar genellikle vücudunun herhangi bir yerinde özellikle boyun ve abdomende hızla büyüyen şişlikle başvururlar¹⁷. Hastaların yaklaşık % 30' unda tanı sırasında B semptomları olarak da tanımlanan ateş, kilo kaybı ve terleme gibi sistemik belirti ve bulgular olabilir¹. DBBHL hastalarında ilk tanı anında %40'a varan ektranodal tutulum oranları tespit edilmiştir¹⁸. En sık ektranodal tutulum gastrointestinal bölge olmakla birlikte testis, kemik, troid, tükrük bezleri, tonsil, deri, karaciğer, akciğer, sürrenal bez, böbrekler, nazal kavite, paranasal sinüsler, uterin serviks, vajina ve santral sinir sisteminde (SSS) de gözlenebilir^{19,20}. Gastrointestinal sistem en sık tutulan ektranodal odaktır. Mide ve ince bağırsak tutulumu sık iken, kolon ve rektum tutulumu nadirdir. Nodal hastalığı olan vakaların %10-15 'inde SSS tutulumu gözlenebilir. HIV (Human immunodeficiency virüs) pozitifliği gözlenebilen, agresif seyreden DBBHL primer beyin lenfoması şeklinde de karşımıza çıkabilir. Akciğer tutulumu nadirdir. Paranasal tutulumlarda SSS yayılımı riski nedeniyle kemoterapiyi takiben radyoterapi ve SSS profilaksisi önerilmektedir²¹.

Morfolojik, biyolojik ve klinik çalışmalar DBBHL'nin morfolojik varyantlarına, moleküler ve immunfenotipleme ile alt gruplarına ve değişik hastalık antitelerine ayrışmasına yol açmıştır. Dünya sağlık örgütü 2008 de yapılan sınıflamada DBBHL alttiplerini tanımlamıştır (Tablo-3)¹¹. Bu alttiplerden T-hücre/histiyosit zengin alttipi, lenfosit predominant hodgkin lenfoma ile karışabilmektedir. Primer santral sinir sistemi DBBHL'sı intraoküler ve intraserebral olguları içine alır, EBV ile ilişkisi yoktur. İmmün sistemde supresyon ile ilişkilidir. Bacak tipi primer kutanöz DBBHL genellikle yaşlı kadınlarda görülür. Diğer alttiplere göre daha agresiftir ve deri dışında bölgeler de tutulur. Bacaklar çoğunlukla bilateral tutulur. 2008 de Dünya sağlık örgütü tarafından yeni

tanımlanan bir diğer alttip ise yaşlılarda görülür ve EBV pozitifdir. Zonal nekroz içeren Reed-stenberg hücreleri bulundurmaktadır²². Ancak halen çok sayıda vaka biyolojik ve klinik olarak net sınırlar ile ayıramamakta, heterojenitesini korumaktadır. Bu vakaları alt gruplara ayırmak için açık ve kabul edilmiş kriterler mevcut değildir ve bütünüyle DBBHL- başka şekilde sınıflandırılmamış (NOS) grup olarak tanımlanırlar. DBBHL- NOS erişkin hastalarda median 70'li yaşlarda görülmektedir, ancak yaş aralığı geniştir ve çocuklarda da görülebilmektedir²³.

Tablo 3. Diffüz Büyük B Hücreli Lenfoma (DBBHL) alt tipleri¹¹

DBBHL, başka türlü sınıflandırılmamış
Primer mediastinal DBBHL
Yaşla ilişkili Epstein-Barr virüs pozitif DBBHL
T-hücreli/histositten zengin büyük B hücreli lenfoma
Primer merkezi sinir sistemi DBBHL
Deri kütanöz DBBHL, bacak tipi
İntravasküler büyük B hücreli lenfoma
Kronik inflamasyonla ilişkisi DBBHL
Lenfomatoid granülomatosis
Plazmablastik lenfoma
ALK-pozitif büyük B hücreli lenfoma
Human Herpes Virüs 8 le ilişkili multisantrik Castleman hastalığından kaynaklanan büyük B hücreli lenfoma
Primer efüzyon lenfoması
CD5 pozitif DBBHL

ALK: Anaplastik lenfoma kinaz, **HHV-8:** İnsan Herpes Virus-8

DBBHL genelde de novo gelişir,ama bazen düşük dereceli B hücreli lenfomaların agresif özellik kazanması sonucu gelişebilir. Transformasyonun en sık olduğu hastalık foliküler lenfoma olmakla birlikte, B hücreli kronik lenfosittik lösemi/küçük lenfosittik lenfoma (Richter transformasyonu), lenfoplazmositik lenfoma, marjinal zon (MALTOMA)

lenfoma ve splenik marjinal zon lenfoma,nodüler lenfositten zengin Hodgkin lenfomadan da DBBHL'ya dönüşüm olabilir.

DBBHL AIDS (Edinsel immün yetmezlik sendromu) de gözlenebilen maligniteler arasındadır.HIV enfeksiyonu sonucu oluşan NHL patolojisi tam olarak aydınlatılamamakla beraber, kronik B hücre uyarılması ve virüslerin transformasyonunda kontrol kaybına neden olan T hücre yetmezliği (özellikle EBV enfeksiyonlarında) önemli rol oynadığı düşünülmektedir ²⁵.

2.2.1. Diffüz Büyük B Hücreli Lenfoma: Patogenez ve Sınıflama

Moleküler patogenezini oldukça karışıktır. Genetik mutasyonlar(Bcl-6 (B-cell CLL/lymphoma -6), Bcl-2 (B-cell CLL/lymphoma 2), MYC gen mutasyonu), tümör hücresinin orijini (germinal merkez veya post germinal merkez), somatik mutasyonlar gibi birçok faktör patogenezinde rol oynar. Aktive B hücrelerin iki farklı tipi olan immünoblast ve sentroblastta benzeyen, normal lenfositlerin 2-3 katı büyüklükte hücreler ile karakterizedir. İmmünoblastik variant, bunlar içinde en olumsuz prognoza sahip olanıdır ²⁶.

DBBHL gibi malign lenfomatöz hastalıkların etyolojisinde kalıtsal immün yetmezlikler, edinilmiş immünyetmezlikler, otoimmün hastalıklar, kimyasal veya ilaç maruziyeti ve radyasyon bulunabilir (Tablo-4) ²³.

Tablo 4. Malign Lenfoma gelişim riskini arttıran hastalıklar ve maruziyetler ²³

Kalıtısal İmmün yetmezlik hastalıkları Klinefelter Sendromu Chediak-higashi Sendromu Ataksi-telenjektazi Sendromu Common Variable İmmün yetmezlik Sendromu
Edinilmiş İmmün yetmezlik Hastalıkları İatrojenik İmmüsupresyon HIV-1 enfeksiyonu Edinilmiş hipogammaglobulinemi
Otoimmün Hastalıklar Sjögren Sendromu Celiac Hastalığı Romatoit artrit Sistemik Lupus Eritematozus
Kimyasal ve İlaç maruziyeti Fenitoin Digoksin,Fenoksiherbisidler Radyasyon Önceden kemoterapi veya radyoterapi almış olmak

DBBHL'lar immunfenotipik olarak CD45 ile beraber CD19, CD20, CD22 ve CD79a hücre yüzey antijenlerini bulundurur. CD 20 B hücre dizisi için oldukça spesifik bir markerdir. İmmüblastik tip genelde CD79a pozitifdir. CD5, KLL/SLL ve mantle hücreli

lenfoma için spesifik bir antijen olmasına rağmen DBBHL olgularında %5-10 oranında eksprese edilir^{27,28}.

Membran metalloproteinazı olan CD10 normalde lenfoid dokularda germinal merkez B hücrelerinde bulunur, CD10 DBBHL olgularının yaklaşık % 10 – 30' unda eksprese edilir²⁹. Sıklıkla CD5 (+) olan DBBHL olgularında CD10 (-) olup Bcl-6 ekspresyonu pozitifdir²⁸. DBBHL hücrelerinde normalde B hücre farklılaşmasının terminal aşamasında eksprese olan MUM/IRF-4 (Multiple Myeloma 1/Interferon Regulatory Factor 4) ekspresyonu sıklıkla (% 51 – 75)³⁰.

BCL6 normalde germinal merkez B hücreleri tarafından eksprese edilir. DBBHL hastalarında %30-40 oranında Bcl-6 aşırı ekspresyonu gözlenir.. DBBHL 'de disregüle, devamlı aşırı ekspresyonuna bağlı matürasyon duraklaması olur ve proliferasyona yol açar. BCL6' nın prognoz üzerine de olumsuz etkisi olduğu belirtilmektedir. Bcl-2 aşırı ekspresyonu B hücrelerinin apoptozuna engel olan bir protoonkogendir, DBBHL hastaların yaklaşık %15 'inde t(14;18) ile birlikte, yaklaşık %50 inde t(14;18)'den bağımsız olarak saptanmaktadır. DBBHL 'de BCL2 ekspresyonunda artış olması olumsuz prognozu gösterir³¹.

DBBHL tanılı hastalar genomik ve moleküler düzeyde yapılan çalışmalar sonucu kemoterapi yanıtları ve total yaşam süreleri farklı iki grubun varlığını göstermiştir. Bunlar aktive b hücre (ABC), germinal merkez B hücre (GCB) lenfomadır. GCB grubu yaygın olarak Bcl-6 ve CD-10 eksprese ettiği, daha az oranda da tümör supresör gen olan PTEN de delesyon olduğu izlenmiştir. ABC grubunda ise CD-10 ve Bcl-6 negatifliği gözlenmekle beraber tümör supresör gen olan BLIMP 1 (B-lymphocyte-induced maturation protein 1) olguların yarısından fazlasında inaktiftir. CARD11, MYD 88, BCR ve İTAM mutasyonları da görülebilmektedir. Bcl-2 ve cyclin D1 ekspresyonu ABC grubunda olumsuz prognozla ilişkili olduğu gösterilmiştir. GCB grubunun ABC grubuna göre daha iyi yaşam süresi ve prognoza sahip olduğu gösterilmiştir³².

p53 mutasyonu öncelikli olarak hematolojik kanserler ve DBBHL olmak üzere pek çok kanser türünün oluşumundan sorumludur. p53 mutasyonu DBBHL 'de refrakter olguların yaklaşık %20'sinden sorumlu tutulmaktadır. Bu nedenle p53 proteinini hedefleyen küçük molekül varlığı ile ilişkili çalışmalar devam etmektedir³³.

Hu ve ark yaptığı bir çalışma DLBCL'de CD30 antijen pozitifliği olan olguların

farklı gen ekspresyonuna sahip olduğu ve daha iyi prognoza işaret ettiği gösterilmiştir ³⁴.

2.2.2. Diffüz Büyük B Hücreli Lenfoma: Tanı ve Evreleme

Küratif bir hastalık olması nedeniyle doğru teşhis ve evreleme büyük önem arz etmektedir. İlk değerlendirme detaylı bir anamnez ve fizik muayene ile başlar. Son 6 ayda vücut ağırlığının %10'dan daha fazla kilo kaybı, ateş (takip eden 3 günde 38°C'i geçen), gece terlemesi olarak tarif edilen B semptomları mutlaka sorgulanmalıdır. Lenfadenomegali ve extranodal hastalık varlığı veya bir organın fonksiyon bozukluğu araştırılmalıdır. Tüm lenf nodu bölgeleri muayene edilmeli, hepatomegali ve splenomegali açısından karın muayenesi dikkatli yapılmalıdır. Cilt muayenesi unutulmamalı ve nörolojik muayene mutlaka değerlendirilmelidir.

Tanı sonrası tedavinin tipini ve dozunu düzenlemede etkili olan hastalığın yaygınlığını öğrenmek amacıyla laboratuvar testleri ve görüntülemeler yapılır. Rutin hemogram ve biyokimya tetkiklerinin yanında serum CRP (C reaktif protein), sedimentasyon, LDH (Laktat dehidrogenaz) düzeyi, viral seroloji paneli mutlaka bakılmalıdır. Evreleme amaçlı posteroanterior ve lateral akciğer grafisi, toraks ve abdominopelvik bilgisayarlı tomografi çekilmelidir. PET mevcutsa PET/BT (Positron emisyon tomografisi/Bilgisayarlı Tomografi kombinasyonu) kombinasyonu daha kullanışlıdır ³⁵. Doz bağımlı kardiyak toksisitesi olan antrasiklin bazlı tedavi alacağı için ekokardiyografi ile kalbin değerlendirilmesi gerekir. Yine tedavi öncesi doğurganlık çağındaki kadınlarda gebelik testi yapılmalıdır.

Tanı için nodal yapının ve morfolojisinin iyi değerlendirilmesi gerekir. Ayrıca sınıflandırma yapmak için morfolojinin yanısıra moleküler sitogenetik, immunofenotip ve klinik özellikler gereklidir. Bu yüzden hastalardan doku düzeyinde örnek alınması amacıyla lenf nodu ya da dokudan eksizyonel biopsi alınması gerekmektedir ³⁶.

Tablo 5. Evreleme sırasında yapılması ve sorgulanması gereken noktalar²³

- **B semptomu varlığı:**Ardışık 3 gün >38 °C ateş,gece terlemesi,son 6 ayda >10 kilo kaybı
- **Fizik muayene:**Palpe edilebilen tüm lenf düğümü bölgelerinin muayenesi,Waldeyer halkası inspeksiyonu,hepatosplenomegali muayenesi,palpabl kitle açısından cilt muayenesi
- ECOG performans değerlendirilmesi
- **Laboratuvar tetkikleri:** Tam kan sayımı,periferik kan yayması,karaciğer ve renal fonksiyon testleri,LDH,ürik asit,β2 mikroglobulin,HIV-HBV-HCV seroloji tetkikleri
- **Doku örnekleme:**BCL2/MYC koekspresyonunun ve TP53 mutasyonunun değerlendirilmesi ile birlikte
- **Kemik iliği biopsisi:**Bilateral yapılması sensitiviteyi arttırmaktadır,tek taraflı yapılması halinde örneğin >2 cm olması önerilmektedir.PET CT 'nin kemik iliği biopsisine tercih edilme eğilimi vardır.
- Meninks tutulumu şüphesi varsa lomber ponksiyon
- Merkezi sinir sistemi tutulumu riski var ise Kranial MR
- PET/BT ile değerlendirme

Diğer lenfomalarda olduğu gibi DBBHL'da da Ann-Arbor evreleme sistemi kullanılmaktadır . Bu sistem ilk kez 1971 yılında Hodgkin lenfoma için geliştirilmiş olup daha sonra non-Hodgkin lenfomalar için de kullanılmaya başlanmıştır. Bu evreleme sistemi tutulu alan sayısı, ektranodal tutulum ve konstitusyonel semptomları (B semptomları) içerir .Bu evreleme sistemi 1989 yılında modifiye edilmiştir . Lokalize ektranodal tutulumlar E ile gösterilmekte, B semptomlarının varlığı B ile yokluğu ise A ile gösterilmektedir ³⁷.

Tablo 6. NHL için Ann Arbor evrelemesi ³⁸

Evre	Tutulu alan
I	Tek bir lenf nodu bölgesi tutulumu
IE	Tek bir ekstralenfatik organ tutulumu
II	Diaframın aynı tarafında iki veya daha fazla lenf nodu tutulumu
IIIE	Evre II'e ilave bir ekstralenfatik organda lokal tutulum
III	Diyafragmanın her iki yanında lenf nodubölgelerinde tutulum
IIIE	Evre III'e ilave bir ekstralenfatik organda lokal tutulum
IIIS	Evre III'e ilave dalak tutulumu
IIISE	Evre III + Dalak + Ekstralenfatik tutulum
IV	Bir veya daha fazla ekstralenfatik organda lenf nodu tutulumu ile birlikte olan veya olmayan diffüz tutulum
A	Sistemik semptom yok
B	Ateş (38°C'nin üstünde), gece terlemesi, kilo kaybı (son 6 ayda vücut ağırlığının %10 dan fazlası) mevcut

Patolojik incelemede hücrelerin ortak özelliği büyük hücre boyutu ve diffüz büyüme paternine sahip olmasıdır. Sitoplazmaları soluk bazofilik boyanmakta, nükleolusları belirgin hatta 2-3 tane olabilmektedir. Morfolojik olarak tanımlanan başlıca morfolojik varyantlar sentroblastik, immünoblastik, T hücre histiyositten zengin, anaplastik şeklindedir ¹¹. En sık görülen tip germinal merkez sentroblastlara benzeyen hücreler ile karakterize sentroblastik tiptir. Bu morfolojik gruplar arasında klinik ve yaşam süresi olarak bir fark bulunmamıştır. Bununla beraber immunoblastik tip dışındaki diğer grupların prognozunun daha iyi olduğuna dair yayınlar vardır ³⁹. Bu ana 3 tip dışında daha nadir görülmekle birlikte, psödo rozet görünümlü, miksoid, fibriller matriks, iğsi hücreli ve taşlı yüzük hücreli varyantları da mevcuttur.

Histolojik incelemenin yanında diğer NHL'lardan ayırt etmek için immünohistokimyasal inceleme mutlaka yapılmalıdır. DBBHL hastalarında B hücre yüzey antijenleri CD19, CD20, CD22, CD79a, CD45 ve hücre yüzey immünglobulini sıklıkla eksprese eder ^{27,28}. Anaplastik varyant dışında CD5 ve CD23 ekspresyonu yoktur. CD10 germinal merkez hücreli varyantında %10-30 sıklıkla görülmektedir ²⁹. CD5 ekspresyonu düşüktür, genelde KLL/SLL ve mantle hücre lenfomadan transforme DBBHL

olgularında pozitif saptanır (%3). DBBHL' de prognoz üzerine etkileri bulunan çeşitli genetik anormallikler ve kromozomal translokasyon, delesyon, duplikasyon ve diğer tanımlanmamış karyotip anormallikleri ile karşılaşılmaktadır⁴⁰. En sık karşılaşılan mutasyonlar BCL6, BCL2, cMYC mutasyonlarıdır. BCL6 ve BCL2 gen ekspresyonu artışı kötü prognozla ilişkili bulunmasına karşın; cMYC gen ekspresyonunun sağkalım üzerine etkisi yoktur³⁰.

DBBHL' de prognozu etkileyebilen çok sayıda kromozom dengesizliği tanımlanmıştır; 1q, 5, 7q, 12, 14. kromozom dengesizlikleri kötü prognozla ilişkili iken, +3 p iyi prognoz ile ilişkilidir, Xq, 7q, 12 p, 6, 9 ise prognoz üzerine anlamlı etkiye sahip değildir⁴⁰.

2.2.3. Diffüz Büyük B Hücreli Lenfomada Prognostik İndeksler

DBBHL küratif hastalık olması nedeni ile prognozu kötü olabilecek hastaların önceden tespit edilip daha agresif tedaviler başlanması ile sağkalım oranları artırılabilir. Bu amaçla 1993 yılında IPI (International prognostic index) oluşturuldu. Bu klinik değerlendirmede yaş > 60, ECOG (Eastern Cooperative Oncology Group) performans durumu ≥ 2 , LDH yüksekliği ve birin üzerinde ektranodal bölge tutulumu değerlendirilir. Her bir faktöre 1 puan verilerek hasta 0-5 arasında bir skor ile değerlendirilir. (Tablo-7) Yaşı 60'ın altında olanlar için yaş dışlanarak 4 parametreye dayalı aaIPI (yaşa göre düzeltilmiş IPI) prognostik parametreler ortaya konmuştur.

Tablo 7. Uluslararası Prognostik İndex(IPI) Risk Faktörleri	
Özellikler	Prognostik faktör(Her biri için 1 puan)
Yaş	> 60 y =1 puan
Serum LDH	normalin 2 katından fazla =1 puan
Performans durumu	ECOG > 2 =1 puan
Evre	Evre III veya IV =1 puan
Ekstra nodal tutulum bölgesi	Tutulan bölge > 1 =1 puan

Düşük risk grubundaki hasta popülasyonunda 5 yıllık sağkalım oranları %73’lerde iken,IPI skoru 2-4 arasında olan düşük orta,orta ve yüksek riskli hasta grubunda %53 ile %26 arasında değişmektedir. Rituksimab tedavisi kullanılmadan önce IPI skoru geliştirildiği için, rituksimab tedavisi sonrası yeniden skorlama sistemi revize edildi. Shen ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 4 yıllık hastalısız sağkalım oranları, risk faktörü olmayan hastalar için >%90 bulunurken, bu oran ≥ 3 risk faktörü olanda %50 bulunmuştur (Tablo-8)^{41,42}.

Tablo 8. IPI Skorları ve Yanıt Oranları⁴²

Risk Grubu	Risk Sayısı(IPI)	Tam Yanıt Oranı(%)	5 Yıllık Toplam Sağkalım oranı(%)
Tüm yaşlarda IPI skoru			
Düşük	0-1	87	73
Düşük Orta	2	67	51
Yüksek Orta	3	55	43
Yüksek	4-5	44	26
Yaş ile uyumlu IPI skoru ≤ 60 yıl(aaIPI)			
Düşük	0	92	83
Düşük Orta	1	78	69
Yüksek Orta	2	57	46
Yüksek	3	46	32
Yeniden Düzenlenmiş IPI			
Risk grubu	Risk Sayısı	4 yıllık Hastalısız Sağkalım Oranı(%)	5 yıllık Toplam Sağkalım Oranı(%)
Çok iyi	0	94	94
İyi	1,2	80	79
Kötü	3-5	53	55

Tablo 9. Yüksek riskli DBBHL ²³

Klinik Risk;

IPI 3,4,5

Histolojik yip;T hücreli zengin,immunoblastik tip vs..

Hasta faktörleri;komorbiditeler,güçsüzlük,kardiyak problem,fakirlik,sosyal destek eksikliği

Biyolojik risk;

Hücre orjini/Gen ekspresyonu:Aktive B hücre,stromal 2

Double-hit özelliği (immünohistokimya ve genetik):MYC/BCL2,TP53

Mutasyon analizi

IPI skoru dışında morfolojik, moleküler ve immunohistokimyasal parametreler de prognozda etkisi vardır. Morfolojik alt tipler arasında yaşam süresi açısından fark saptanmamış olup immünoblast içermeyen alt grupların daha iyi prognoza sahip olduğu gösterilmiştir ⁴³. Bcl-2 protein ifadesi IPI den bağımsız olarak kötü prognozla ilişkilidir. İmmünohistokimyasal olarak CD 5 pozitifliğinin CD 5 negatif DBBHL hastalarına göre daha kötü prognozla ilişkili olduğu gösterilmiştir ⁴⁴.

DBBHL'nın gerek morfolojik, gerekse klinik davranış biçimi açısından heterojen bir hastalık olduğu dikkati çekince, yapılan ilk gen ifade profili çalışmaları ile kemoterapi yanıtları ve total yaşam süreleri farklı iki alt grubun varlığı gösterilmiştir. Bunlardan birincisi;normal GCB gen karakteristiği taşıyan grup, diğeri ise ABC gen profili taşıyan gruptur . Daha sonra cDNA mikro dizi analizi kullanılarak GCB benzeri, ABC benzeri ve 3. tip gen ifade profili olan DBBHL varlığı ortaya konmuştur ⁴⁵. GCB grubunun daha iyi yaşam süresi ve daha iyi prognoza sahip olduğu gösterilmiştir ³².

Hu ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada 893 R-CHOP(Rituksimab,siklofosfamid, adriamisin, vincristin, prednisolon) kemoterapisi almış DBBHL hastasının analizinde MYC/BCL2 koekspresyonunun,ABC alt tipinde daha fazla olduğu;MYC/BCL2 koekspresyonunun olmadığı olgularda GCB ve ABC alt tipine sahip hastaların prognozunun benzer olduğu gözlenmiştir. MYC/BCL 2 koekspresyonunun olmadığı hastalar

dışlandıktan sonra gen ekspresyon profili farklılığının da ortadan kalktığını gösterdiler³⁴. MYC/BCL-2 koekspresyonunun DBBHL'de agresif klinik seyre neden olduğu, ABC alt tipinde daha yaygın olduğu, ABC alt tipin kötü prognozuna etkide bulunduğu söylenebilir²³.

2.2.4. Diffüz Büyük B Hücreli Lenfomada Tedavi

DBBHL çok agresif bir hastalık olması nedeniyle tedavisiz takip edildiği zaman yaşam süresi bir yıldan az olsa da antrasiklin temelli tedavi ile oldukça uzun yaşam süresi elde edilmiştir⁴⁶. Özellikle hedefe yönelik CD 20 ye karşı geliştirilen monoklonal antikorların tedaviye girmesiyle birlikte DBBHL tedavisinde de daha iyi sonuçlar alınmaya başlanmıştır. CD20, olgun B hücreleri üzerinde bulunan hücre siklusunun başlamasında ve hücrenin diferansiyasyonunda rol alan bir hücre yüzey proteindir. Rituksimab, bu hücre yüzey antijenini spesifik olarak bağlayan İmmunglobulin G1(IgG1) yapısında kimerik bir antikordur. Kemoterapi ile sinerjistik etki yaparak, kompleman aracılı hücre ölümü, antikor bağımlı hücre ölümü, apoptozun indüklenmesi gibi mekanizmalarla lenfoma hücrelerinin ölümünü sağlamaktadır⁴⁷. CHOP (Siklofosfamid, adriamisin, vincristin, metilprednisolon) kombinasyon tedavisine rituksimab eklenmesi toksisiteyi artırmadan progresyonsuz ve toplam sağkalımda iyileşme sağladığı görülmüştür⁴⁸.

Hastaların %70 'inden fazlası antrasiklin bazlı tedavi ve CD20 monoklonal antikorları ile kür olabilmektedir⁴⁹. Düşük gradeli ve nüks agresif lenfomalarda rituksimab kullanılmasının etkin olduğu görülmüştür⁵⁰. Uluslararası MInT(Uluslararası Mabthera Çalışması) çalışmasında erken evre DBBHL'da 6 kür CHOP tedavisine karşı 6 kür R-CHOP tedavisi karşılaştırıldığında R-CHOP tedavisi toplam sağkalım açısından daha üstün bulunmuştur. (3 yıllık sağkalım %84'e karşı %93)⁵¹. Günümüzde DBBHL'nın standart tedavisi R-CHOP kombinasyon tedavisidir⁵².

DBBHL hastalarında ilk seri tedavi, kişisel IPI skoru ve yaşa göre temellendirilirken üç majör alt grup belirlenmektedir: yaşlı hastalar (>60 yaş, yaşa göre IPI(aaIPI)=0-3); genç düşük riskli hastalar (<60 yaş, aaIPI=0-1); genç yüksek riskli hastalar (<60 yaş, aaIPI=2-3). Anti-CD20 antikorlu rituksimab ile CHOP tedavisinin kombine edilerek her 21 günde bir uygulanması standart tedaviyi oluşturmaktadır. Konsolidasyon amaçlı radyoterapi, immünokemoterapi sonrası CR elde edilemeyen, bulky hastalığı olanlara saklanmalıdır. Yüksek IPI skoru olan, yani serum LDH seviyesi yüksek olan, birden fazla ektranodal

alan tutulumu olan, ve bazı ektranodal alanlarda tutulumu olan (testis ve orbita ve böbrek gibi) hastalar, ilk seri tedavinin bir parçası olarak SSS profilaksisi almalıdır²³.

Erken evre hasta tedavisi;

DBBHL tanılı hastaların yaklaşık %25'i lokalize hastalık tablosu ile başvurur. IPI skoru <1 olanlar düşük riskli; IPI>1, bulky hastalığı bulunan (çapı >10 cm lenfadenomegalinin varlığı veya mediastinal kitle çapı göğüs transvers çapının >1/3 olduğu durumlar), ektranodal tutulumla gelen hastalar yüksek riskli hastalardır. Miller ve ark. tarafından yapılan randomize kontrollü bir çalışmada erken evre düşük riskli hastalarda 3-4 kür CHOP kemoterapisi ve hemen ardından yapılan tutulu alan radyoterapinin (TART), kemoterapiye göre yaşam süresi ve progresyonsuz yaşam süresini uzattığı gösterilmiştir⁵³.

Uluslararası klavuzlar eşliğinde ülkemizde yaklaşım olarak kitlesel hastalık yoksa 21 günde bir 6-8 kür R-CHOP verilir veya 3-4 kür R-CHOP sonrasında TART tedavisi verilebilir. Kitlesel hastalık varlığında 6-8 kür R-CHOP verilir, ayrıca TART da verilebilir. Sadece kemoterapi alan grupta 3 ya da 4. kür sonrası yapılan değerlendirmede tam yanıt varsa izleme alınır, kısmi yanıt, dirençli ya da ilerleyici hastalığı olanlar için ikinci seri ilaçlara geçilir. Kemoterapi+TART grubunda ise yapılan değerlendirmede kısmi yanıtta RT dozu artırılabilir. Tam yanıtli hastalar izleme alınırken, kısmi yanıt, dirençli ya da ilerleyici hastalığı olanlar için ikinci seri ilaçlara geçilir⁵⁴.

Sol ventrikül işlevi bozuk olan hastalarda rituksimaba ek olarak CEPP (Siklofosfamid, etopozid, prokarbazin, prednizolon), CNOP (Siklofosfamid, mitoksantron, vinkristin, prednizolon), EPOCH (Rituksimab, etoposid, doksorobusin, vinkristin, siklofosfamid, prednizolon) veya CEOP (Siklofosfamid, etopozid, vinkristin, prednizolon) kullanılabilir⁵⁴.

İleri Evre Hasta Tedavisi

İleri evre DBBHL tek bir radyoterapi alanına sığmayan tutulumu sahip evre III ve IV hastalardır. DBBHL hastaların 2/3'ü bu gruptadır. Uzun yıllar CHOP kemoterapisi agresif lenfomaların standart tedavisi olarak kabul edilmiş. GELA'nın (Groupe d'Etudes des Lymphomes de l'Adulte) yürüttüğü faz III çalışmada, 60 yaş üstü hastalarda 21 günlük periodlarla 8 kurs R-CHOP ile yalnızca CHOP tedavisi karşılaştırılmıştır. R-CHOP-21 belirgin olarak daha iyi CR oranları ile sonuçlanmıştır (%76 vs %63). 10 yıllık takiplerde PFS (progresyonsuz sağkalım), OS (genel sağkalım), R-CHOP lehine istatistiki olarak

anlamli belirgin fayda gözlenmiştir. US intergroup çalışması ve RICOVER-60 çalışması dayalı hastalarda R-CHOP-14'ün yararını göstermiştir⁵⁵. Yapılan RICOVER çalışması, MinT çalışmasında da farklı hasta gruplarında benzer bulgular saptanmış^{49,51}. Cunningham ve ark. yaptığı bir başka çalışmada 14 günde bir verilen yoğun kemoterapi ile 21 günde verilen kemoterapi karşılaştırıldığında etkinlik farkı tartışılmakla beraber toksik etkisinin daha fazla olduğu gözlenmiş⁵⁶. Sınırlı evre olmasına rağmen B semptomları bulunan veya bulky hastalığı olan hastalar da bu gruba dahil edilmektedir. Bulky hastalık varlığında 6 kür R-CHOP uygulamasına radyoterapi eklenmesinin faydalı olduğuna dair çalışmalar mevcuttur.

Hastalara 21 günde bir 6-8 kür R-CHOP uygulanır. Üç-4 kür KT sonrası yapılan değerlendirmede tam ya da kısmi yanıtli hastalarda planlanan tedavi tamamlanırken, tedavi tamamlandığında kısmi yanıtta kalan ya da dirençli veya ilerleyici hastalığı olan hastalara ikinci sıra tedavi uygulanır. Üç-dört kür sonrası yapılan değerlendirmede direnç ya da ilerleyici hastalık saptanması durumunda ikinci sıra tedavi planlanır. 60yaş üstü sol ventrikül işlevi bozuk olan hastalarda rituksimaba ek olarak CEPP, CNOP, EPOCH veya CEOP kullanılabilir⁵⁴.

Dirençli-İlerleyici hastalık

İzlemler sırasında olguların %30'undan fazlasında nüks gözlenmektedir ve Avrupa Birliği'deki insidansı 1/100.000/yıl'dır. Nüks olgularda histolojik doğrulamanın önemi büyüktür. Özellikle rituksimab uygulanan hastalarda ilk tanıdan 12 ay sonraki nükslerde CD20 pozitifliğinin gösterilmesi gerekir.

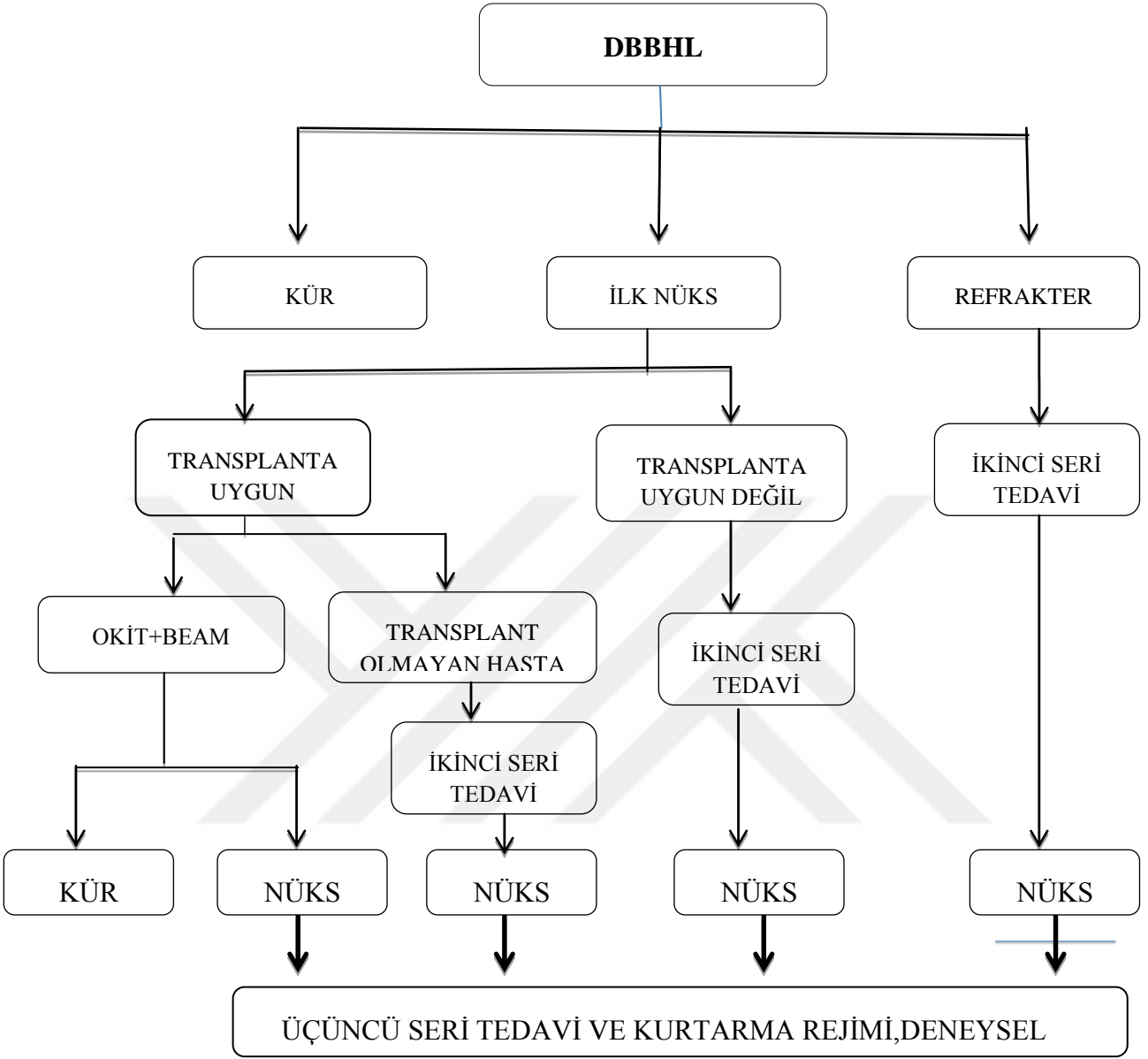
İlk sırada yeterli Rituksimab + antrasiklin bazlı kemoterapi almış olgularda aşağıdaki uygulamalar yapılır.

1) Yüksek doz kemoterapiye uygun hastalara 2 ya da 4 kür platin tabanlı (DHAP (Sisplatin, sitozin, deksametazon)/ESHAP (Etopozid, metilprednizolon, sitarabin, sisplatin) /ICE (Etopozid, Karboplatin) /MINE(Mesna, İfosfamid, Mitoksantron, Etopozid)) veya gemitabin tabanlı rejimler uygulanır. Rituksimab protokollere dahil edilebilir. Tam ya da kısmi yanıt elde edilen olgularda OKHN (Otolog kök hücre nakli) uygulanır. Yüksek doz tedavi seçimi merkezin deneyimine göreler. En sık kullanılan rejim BEAM (Karmustin, etoposid (VP-16), Ara-C ve melfalan)'dir. İkinci sıra tedavi sonrası en az kısmi yanıt elde edilemeyen ya da dirençli olgularda palyatif RT ve destek tedavileri uygulanabilir. Bu

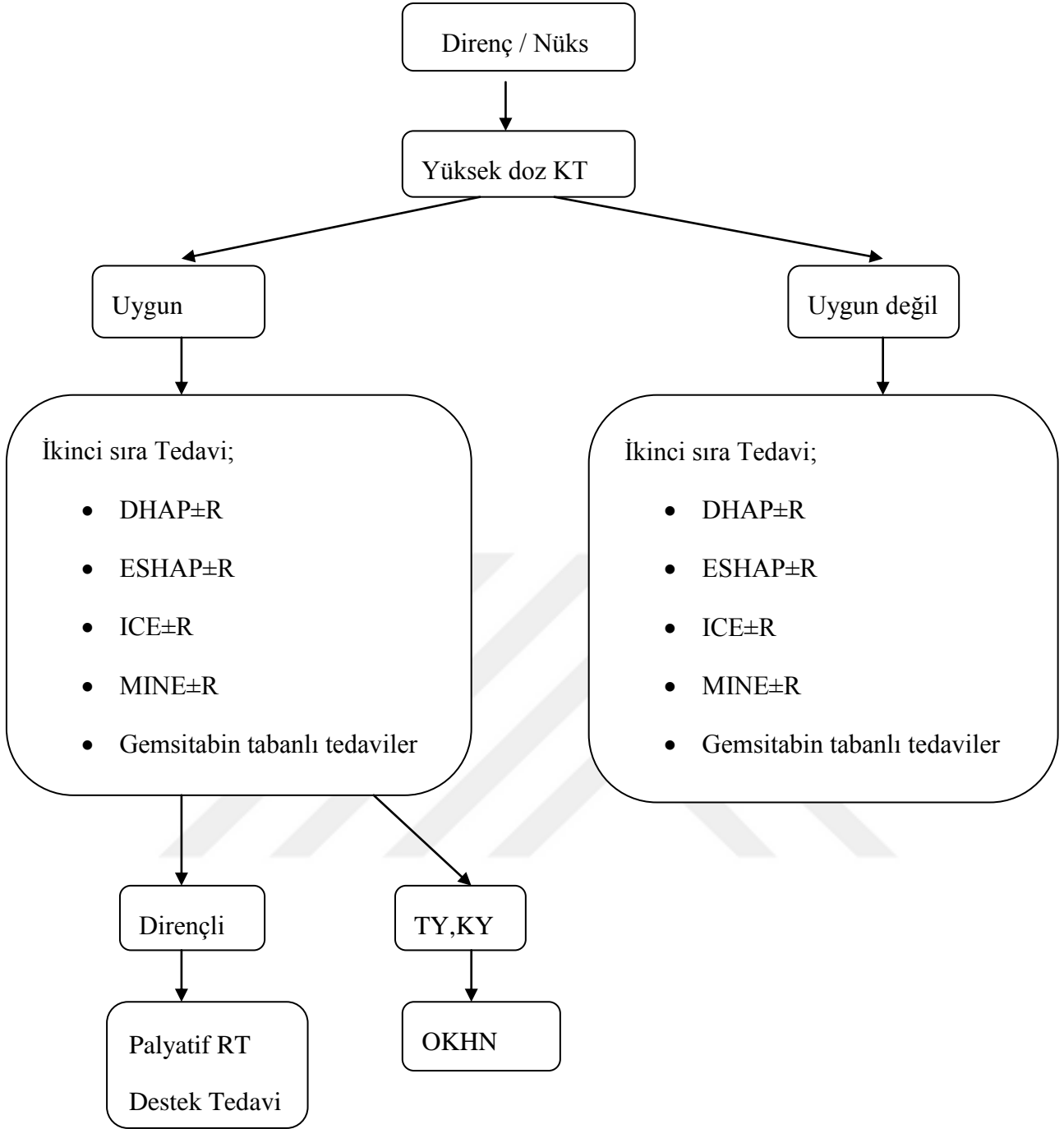
hastalar deneysel çalıřmalara da yönlendirilebilir. Seçilmiř olgularda allojenik hematopoitik kök hücre nakli (ALLOKHN) uygulanabilir.

2) Yüksek doz tedaviye uygun olmayan hastalara 6 kre dek benzer ikinci sıra tedavi yaklaşımları uygulanabilir. Bu hastalar deneysel çalışmalara da yönlendirilebilir ⁵⁴.





Şekil 1. Nüks ve refrakter DBBHL hastalarında tedavi yaklaşımı

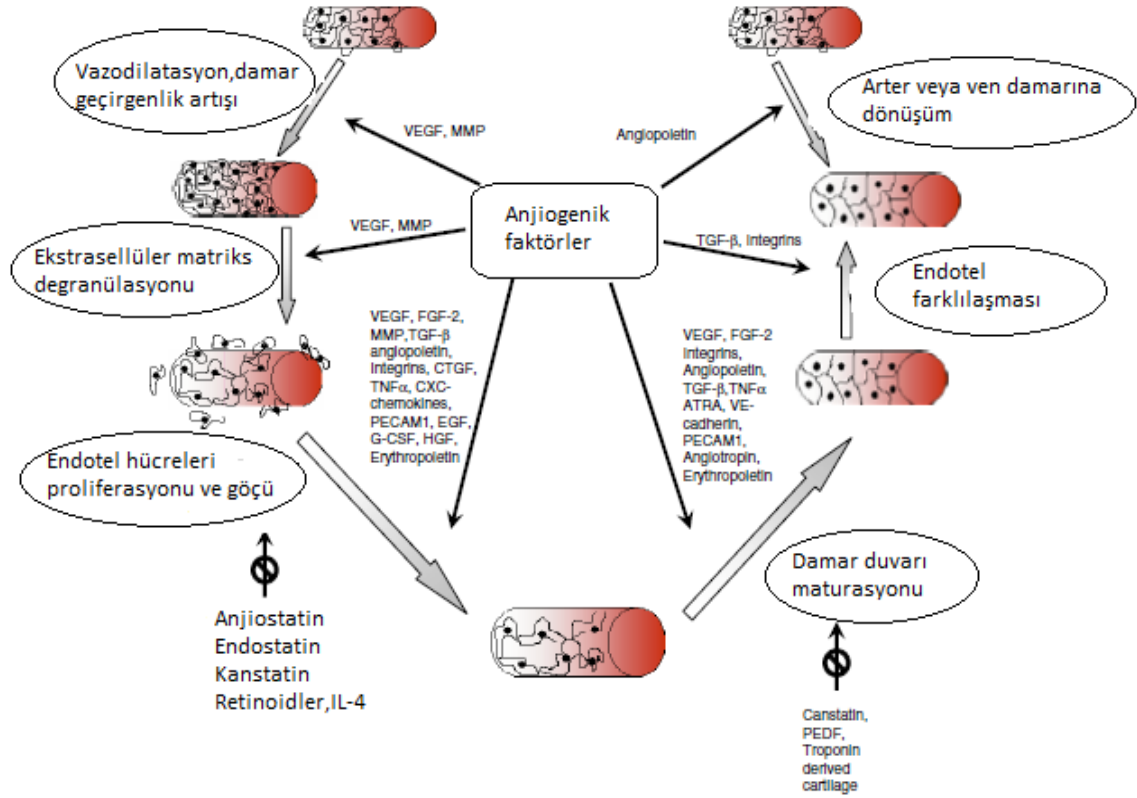


Sekil 2. Dirençli / Nüks DBBHL hastalarında tedavi algoritması

(TY:Tam yanıt,KY:Kısmi yanıt)

2.3. Anjiyogenezis

Anjiyogenezis kan damarlarından yeni kan damarlarının oluşmasıdır. Fizyolojik ya da patolojik durumlarda olabilir. Fizyolojik anjiyogenezisde proanjiyogenik ve antianjiyogenik etmenler arasındaki denge korunmuştur, belirli işlev ve amaca uygun olarak endotel hücreleri çoğalması ve kan damar oluşumu düzenlidir, kendi kendini sınırlar. Patolojik anjiyogenezisde ise anjiyogenik faktörler arasındaki denge bozulmuştur, yeni oluşan kan damarları düzensiz dallanır ve belli bir düzene uymazlar. Kadın üreme sisteminde oluşan ovulasyon, korpus luteum oluşumu, embriyogenezis, laktasyonda, yara yeri onarımında, inflamasyonda ve immün yanıt gibi fizyolojik olaylarda fizyolojik anjiyogenezis varken; diyabetik retinopati, hemanjiom, psöriazis, romatoid artrit, inflamatuvar bağırsak hastalıkları gibi inflamatuvar hastalıklar, maküler dejenerasyon gibi değişik göz hastalıkları, kanserler gibi durumlarda patolojik olarak anjiyogenezis meydana gelmektedir⁵⁷. Periferik arter hastalıkları, kalp yetmezliği, infertilite ve gecikmiş yara iyileşmesi gibi durumlarda ise anjiyogenezisde yetersizlikler saptanmıştır⁵⁸. Patolojik anjiyogenezisin tümör büyümesinde de rolü vardır. Primer ve metastatik tümörlerin büyümesi ve metabolik gereksinimlerini giderebilmesi için vasküler damar ağına ihtiyacı vardır. Tümör, anjiyogenezis olmaksızın en fazla 3 mm çapa kadar büyüyebilmektedir. Tümörlerin büyümesinde ve metastazında önemli role sahip olan tümör anjiyogenezi, pro ve antianjiyogenik etmenler tarafından kontrol edilmektedir⁵⁹. Anjiyogenik faktörler ile antianjiyogenik faktörler arasındaki denge, tümör dokusu gibi hızla çoğalan hücrelerin bulunduğu ortamda anjiyogenezis lehine bozulmaktadır. Anjiyogenik düzenleyicilerin dengesizliği nedeniyle tümör damarları düzensiz genişlikte, aşırı dallanmalı ve şantlarla kıvrımlı ve geniştir. Normal kan damarlarından farklı olarak endotel hücreleri homojen dağılmaz, perisit ve düz kas hücreleri gibi perivasküler hücrelerden yoksundur.



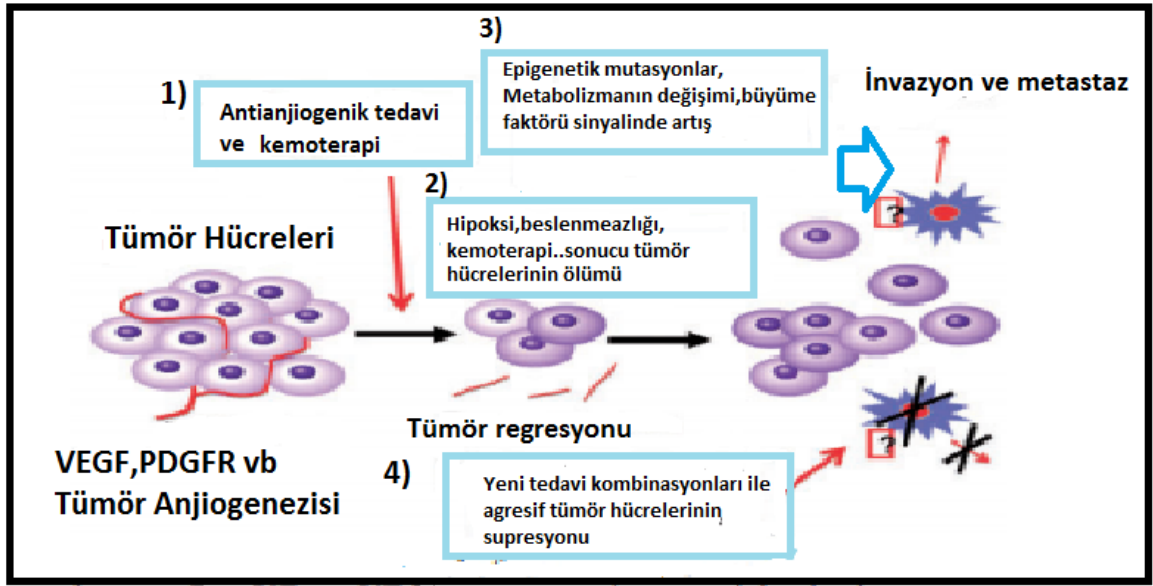
Şekil 3. Anjiyogenik ve antianjiyogenik faktörlerin anjiyenezdeki fonksiyonları ⁶⁰

Tümör hücreleri ortaya çıktığında veya avasküler alana metastaz yaptıklarında hipoksi ve besin yetersizliği nedeniyle kısıtlı bir boyutta büyüebilir. Tümör anjiyogenezinin kilit düzenleyicisi olan hipoksi, anjiyogenik faktörlerin sentez basamaklarını düzenleyen genlerin transkripsiyonel olarak indüksiyonuna neden olur. Bu da başta VEGF, PDGFR olmak üzere birçok anjiyogenik faktörün sentezini tetikler ⁶¹.

Tümörün proliferasyonu iç damar ağının gelişimi ile yakından ilişkilidir. Tümörün proliferasyonu sırasında ortamda oluşan hipoksi sonucunda ortamda oluşan bazı uyarılar ve sitokinler sonucu anjiyogenez uyarılır. Anjiyogenez uyarılmak için yalnızca anjiyogenik etmenlerin artması yeterli olmayıp, tümörün anjiyogenik özellik kazanması için anjiyogenez engelleyicilerinin de azalması gerekmektedir ^{63,64}.

Tablo 10. Anjiyogenezi Uyarıcı ve Engelleyen Bazı Etmenler ⁶²

Anjiyogenezi Uyarıcı Etmenler	Anjiyogenezi Engelleyen Etmenler
VEGF(Vasküler endotelyal büyüme faktörü)	Thrombospondin-1
PGF(Plasental büyüme faktörü)	Vazostatin
EGF(Epidermal büyüme faktörü)	Endostatin
TGF- α (Transforme edici büyüme faktörü- α)	Anjiostatin
TGF- β (Transforme edici büyüme faktörü- β)	Vasküler Endotelyal Büyüme faktörü İnhibitörü
FGF(Fibroblast büyüme faktörü)	Trombosit faktör 4 parçacığı
FGF-3(Fibroblast büyüme faktörü-3)	İnterferon ile indüklenebilen protein-10
FGF-4(Fibroblast büyüme faktörü-4)	Antitrombin 3 fragmanı
IL-8(İnterlökin-8)	Anjiopoetin 2
Anjiogenin	İnterferon – α - β
TNF- α (Tümör nekrozis faktör- α)	Proliferinle ilgili protein
GCSF(Granulosit koloni uyarıcı faktör)	Restin
PDGF(Trombosit kaynaklı büyüme faktörü)	Prolaktin derivesi
Proliferin	
HGF(Hepatosit büyüme faktörü)	



Şekil 4. Antianjiyogenik tedaviye tümör hücrelerinin cevabı⁶⁵

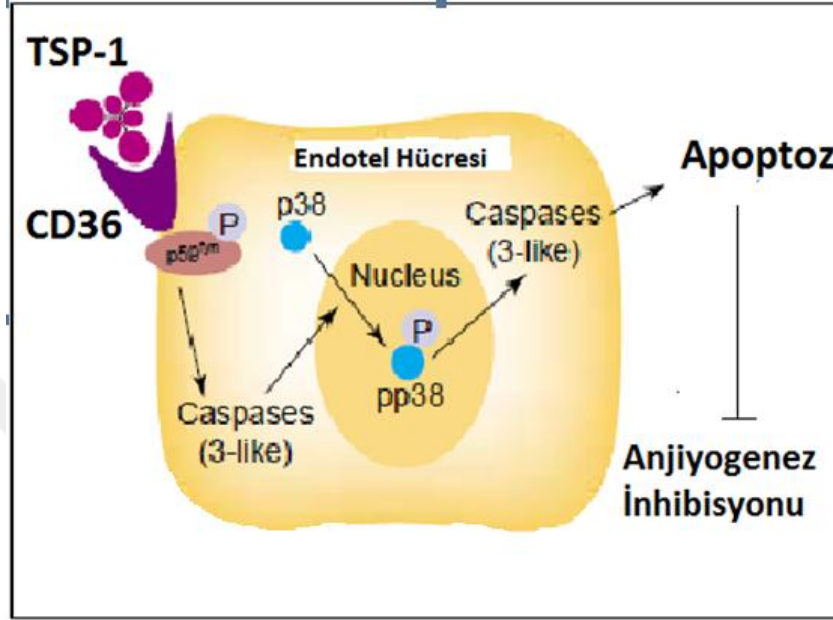
Tümör anjiyogenezini düzenleyen moleküler mekanizmaların anlaşılmasının ardından antianjiyogenik ajanlar geliştirilmiştir. Anjiyogenez engelleyicileri, farklı mekanizmalar ile etki göstermektedir. Endojen anjiyogenik faktörlerin inhibisyonu, endojen antianjiyogenik faktörlerin uygulanması, endotel için önemli moleküler yolların (Endotel hücre çoğalması, göçü veya apoptozu) inhibisyonu, hücre dışı matrix yapımını engellenmesi gibi çeşitli yollardan etki göstermektedir. Tümörün farklı tipleri, anjiyogenik uyarıyı etkinleştirmede farklı moleküler mekanizmalar kullanır. Bu nedenle tek bir anjiyogenez baskılayıcısı ile yapılan tedavilerin tümör hücreleri tarafından oluşturulan çok sayıda anjiyogenik etmen ile mücadelede yetersiz kalabilir. Anjiyogenez engelleyicilerinin, kemoterapi ile kombinasyonu daha etkili sonuçlar vermiştir. Kemoterapi ile tümör kitlesi küçültülüp antianjiyogenik ajanlarla tümörün stabil kalması sağlanabilir. Anjiyogenez inhibitörleri; metastatik kolorektal kanser, akciğer kanseri, hepatosellüler karsinom, high grade glioma, pankre-atik nöroendokrin tümörler, over kanseri, medüller tiroid kanser, multipl myeloma, Waldenstrom makroglobulinemisi, myeloid metaplazi, myelodisplastik sendrom, maküler dejenerasyon, diyabetik retinopati, primer myelofibrozis, myelodisplastik sendrom gibi birçok kanser ve kanser dışı hastalıkta klinik çalışma onayı almıştır⁶⁶. Bu nedenle anjiyogenezin patofizyolojisinin moleküler temellerinin daha iyi belirlenmesi yeni tedavi modellerinin geliştirilmesi açısından önemli olabilecektir⁶⁷.

2.3.1. Thrombospondin-1

Thrombospondin 1(TSP-1), 450 kDa ağırlığında kalsiyum bağımlı bir glikoprotein olup yapısal özellikleri aynı olan, çok işlevli, TSP-1/5'e kadar olan beş üyeden oluşan bir ailenin üyesidir. Thrombospondin (TSP) ailesi iki alt gruba ayrılır; A (TSP-1, TSP-2), B (TSP-3, TSP-4, TSP-5). TSP-1 hem tümör, hem de normal hücrelerden salgılanabilen extracellüler matrix proteinidir ⁶⁸.

Thrombospondin trombosit kaynaklı buyume faktörü (PDGF)'e cevap olarak trombin uyarıcı trombositlerden salgılanır. Ayrıca damar duvarındaki endotel ve düz kas hücreleri ve fibroblastlardan da salgılanmaktadır ^{69,70}. TSP fonksiyonları hücre zarında bağlandığı $\beta 1$ and $\beta 3$ ailesi, CD47/IAP(CD47/integrin associated protein), CD36 ve proteoglikanlar gibi reseptörlere göre değişir ⁷¹. Antianjiyogenik fonksiyonunu endotel hücrelerinde apoptoz sinyal yolağını indükleyen CD36 üzerinden yapar ⁷². TSP-1 mikrovasküler endotel hücrelerinin yüzeylerinde bulunan CD 36 reseptörüne bağlanır ve sitoplazmik tirozin kinaz p59'u aktive eder. Bu da sırasıyla kaspaz 3 benzeri proteaz ve p38 mitojen aktif protein kinazı aktive eder. Çekirdekçikte fosforile p38 mitojen aktif protein kinaz'ın translokasyonu sonucu endotel hücre apoptozuna neden olan kaspaz 3 ekspresyonu indüklenir. Bu da anjiyogenezn inhibisyonu ile sonuçlanır ⁷³. TSP-1 anjiyogenik uyarıların değişik türlerine cevap olarak endotel hücre göçünü ve progresyonunu durdurma, apoptozunu uyararak yeni damar oluşumunu bozan fizyolojik anjiyogenezn inhibitörüdür, bu nedenle TSP-1 down regülasyonu tümör progresyonu için çok önemli bir uyarıcıdır ^{74,75}. Birçok tümörde, TSP 'in down regülasyonu, onkogen aktivasyonuna veya tümör süpresör gen inaktivasyonuna eşlik eder ⁷⁶. TSP-1'in bir çok çalışmada tümör baskılayıcı özelliklere sahip olduğu gözlenmiştir. Artan TSP-1 gen ifadesi damarlanmanın da azalmasına neden olur. Farklılaşmamış ileri evre tümörlerde TSP-1 sessiz iken, lokalize tümörlerde bu genin ifade edildiği görülmüştür ⁷⁷. TSP-1'in aşırı ekspresyonunun laboratuvar ortamında deri, meme ve kolorektal kanserler, glioblastome multiforme, hemanjioblastome hücre bloklarında tümör anjiogenezn ve progresyonu inhibe ettiği gösterilmiştir ^{78,79}. Öte yandan TSP -1 adeziv bir glikoproteindir ve bazı çalışmalarda çeşitli epitelyal malign tümörlerin ekstracellüler matriksinde saptanmış, tümör progresyonunda önemli rol oynadığı düşünülmüştür. Bunun yanında plazmin / plazminojen sistenini düzenler ve çeşitli adeno kanser modellerinde tümör invazyon ve progresyonunu stimüle ettiği de gözlenmiştir ⁸⁰. p53, anjiyogeneznin temel engelleyicisi

olan ve hücre dışı matrisin normal bileşiminde yer alan TSP-1'i uyarır. Buna karşılık mutant p53 bunu yapamaz⁸¹.



Şekil 5. Trombospondinin etki mekanizması⁷

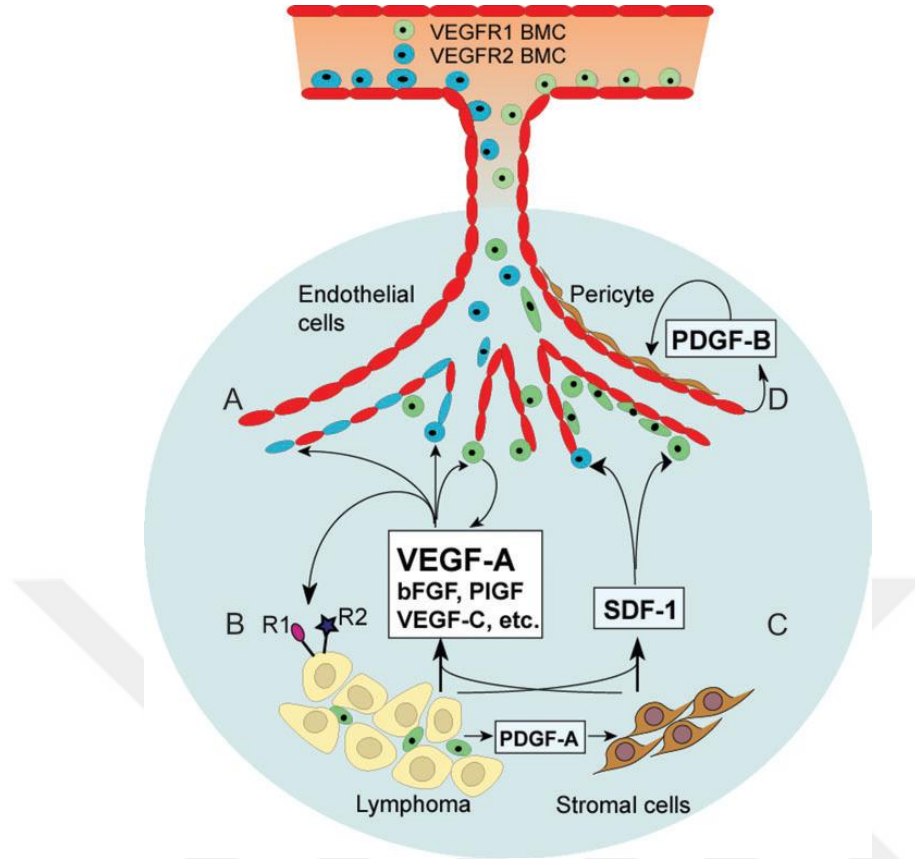
2.3.2. Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü (VEGF)

Yeni kan damarlarının oluşumu olan anjiyogenez tümör hücrelerinin proliferasyonu için çok önemli bir faktördür. Bu negatif ve pozitif birçok faktör arasındaki denge ile düzenlenir. En spesifik ve önemli anjiyogenik düzenleyici VEGF'dir. VEGF etkileri arasında en başta damar geçirgenliğini artırma, vasküler permeabilite faktörü olmakla beraber endotel hücreleri biyolojik işlevlerini, sitokin salınımı ve göçünü, düz kas hiperplazisini, trombolitik ve pıhtılaşma yollarındaki diğer moleküllerin işlevlerini düzenler. VEGF postnatal damarlanma, yara iyileşmesi, kanser, romatoid artrit, retina yeni damarlanma ve kalp-damar hastalıkları dahil olmak üzere çok sayıda patofizyolojik durumda önemlidir⁸².

1970 lerde Folkman ve ark. tümör tedavisinde anjiyogenezi kanser tedavisinde çok önemli hedef noktalardan biri olduğunu öne sürdüler⁸³. 1980'lerden günümüze kadar tümör anjiyogenezinin en önemli düzenleyicisi VEGF-VEGFR sistemi olduğu

gösterilmiştir. Özellikle solid tümörler hızlı tümör büyümesine bağlı olarak hipoksik ortam oluşur. Hipoksi HIF -1 gen aktivasyonu yoluyla VEGF gen ekspresyonunu en çok arttıran etmendir. 1993'te Kim ve ark. İmmün yetmezlikli farelere nakledilen insan tümör ksenograflarında anti-VEGF antikorunun tümör büyümesini stopladığını göstermiştir⁸⁴. VEGF, başta meme, kolon, renal kanserler olmak üzere birçok kanserde prognostik anlamı olduğu gösterilmiştir⁸⁵. VEGF A, B, C, D, E, plasental büyüme faktörü (PlGF) ve VEGF-F adı verilen yedi alt grubu ve amino asit sayılarına göre VEGF121, VEGF145, VEGF165, VEGF183, VEGF189 ve VEGF206 olarak adlandırılan izoformları bulunmaktadır⁸⁶. Bu isoformların etki yerleri birbirinden farklıdır, endotel proliferasyonu, göçü ve damar geçirgenliği açısından benzer fonksiyonlar gösterir⁸⁷.

Tümör yanıtı olarak ortaya çıkan monosit, mast hücreleri ve lenfositler dokuya ulaştıklarında başta VEGF olmak üzere birçok büyüme faktörleri salgımlaktadırlar. VEGF biyolojik aktivitesini temel olarak VEGF-R1 (flt-1), VEGF-R2 (flk-1/KDR) ve VEGF-R3 (flt-4) olarak tirozin kinaz yapısındaki üç reseptör ile gerçekleştirir. Bunlardan VEGF-R1 ve R2 endotel hücrelerinin üzerindeyken VEGF-R3 lenf damarları üzerinde bulunmaktadır. Anjiyogenezde özellikle VEGF-A ve VEGF-B'nin, VEGF-R1 ve VEGF-R2 üzerinden etkili rol oynadıkları bilinmektedir⁸⁸. VEGF, diğer birçok büyüme faktörü ve sitokinlerin üretimini ve aktivitesini arttırır. VEGF ile aktive olan plazma proteinleri, vasküler geçirgenlik artışının da etkisi ile damar dışına sızarlar, bu basamak anjiyogenez başlaması için gereklidir⁹⁰. Ortama sızan plazma proteinlerinin çoğu pıhtılaşma faktörleridir ve doku faktörünün etkisi ile aktive olup tümör stromasını oluşturan fibrin haline gelirler. Aynı zamanda ekstraselüler alanda bulunan bu fibrin migrasyon yapan endotel hücreleri için bir iskelet görevi görür. Ayrıca endotel hücre göçünü de indükleyen VEGF, salgılanan diğer sitokinlerinde etkinleşmesiyle yeni damar oluşumunu başlatır ve düzenler. Hücre dışı matriks yıkımından sorumlu olan matriks metalloproteazlar, ürokinaz ve doku tipi plazminojen aktivatorlarının salınımını da uyarır. Böylelikle invazyon ve metastazı da kolaylaştırır⁹¹.



Şekil 6. Lenfomanın vasküler mikroçevresinde anjiogeneze bir bakış⁸⁹

VEGF gen ekspresyonu doku hipoksisine cevap olan Von hippel-lindau (VHL) ve HIF-1(hypoxia-induced factor) transkripsiyon faktörü tarafından düzenlenir⁹². Doku hipoksisinin olmadığı normoksik koşullarda VHL inaktivasyonu HIF-1 birikimine ve VEGF upregülasyonuna yol açar. HIF-1 /VEGF yolunun pozitif düzenleyicileri fibroblast büyüme faktörü, TGF- α (transformin growth faktör - α), TGF- β , IGF-1(Insulin like growth faktör-1), hepatosit büyüme fatörü gibi büyüme fatörleri; TNF- α (tumor nekrozis factor- α), Interlökin -8, Interlökin 1- α , I Interlökin 6 gibi proinflumatuvar sitokinler; VHL, PTEN ve p53 gibi tümör supresör genlerin inativasyonu; Ras, c-myc, erbB-2/Her-2 ve bcr/abl gibi protoonkogenlerin aktivasyonudur^{93,94,95,96,97}.

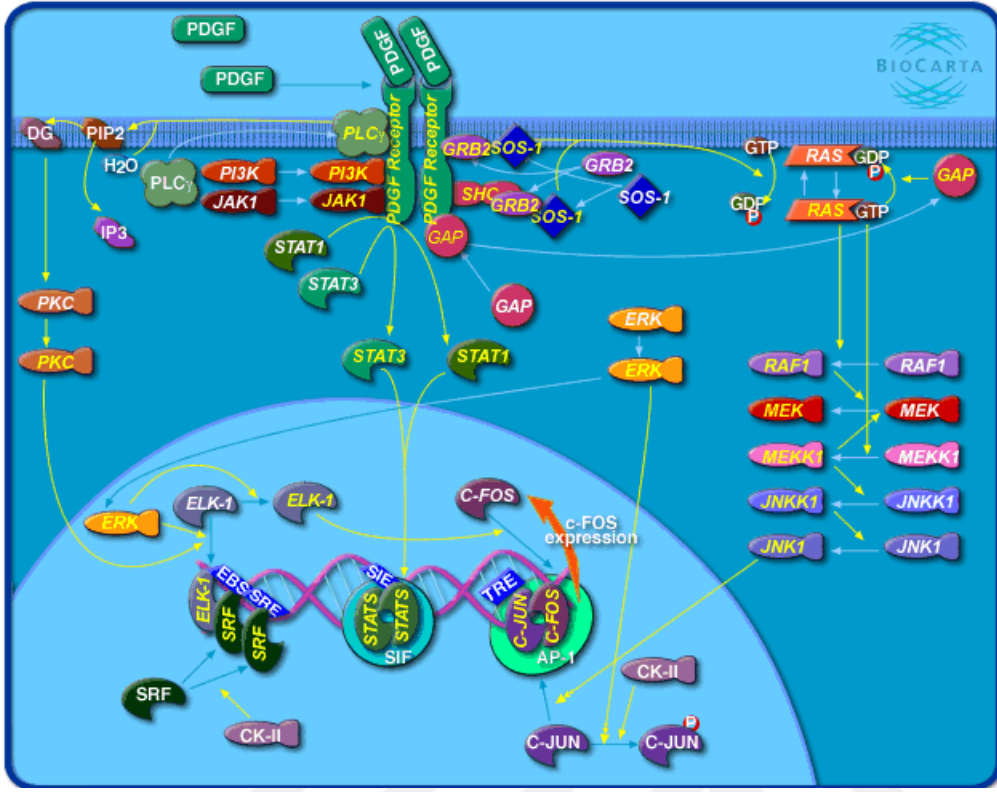
VEGF yolunu tamamlayıcı olarak birçok proanjijogenik yol aktive olur. Bunlardan bir tanesi de vasküler damar ağının yeniden oluşumu ve maturasyonunda kritik görev alan trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF)'dir. Endotel hücreleri tarafından üretilen PDGFR-BB (PDGFR- β 'nin ligandı) yeni oluşan damar ağının etrafında perisitlerin yerleşiminde ve oluşan damarın stabilizasyonu ve maturasyonunda rol oynar⁹⁸.

PDGFR- β sinyal yolağının inhibisyonu VEGF'ün ortamda azalmasına duyarlı tümör vaskülezasyonunu engeller⁹⁹. Anjiyogenez sırasında inflamatuvar hücreler, immün hücreler ve özellikle fibroblastlardan oluşan malign stroma çeşitli anjiyogenik faktörlerin salgılanmasına neden olur. Tümör ilişkili fibroblastlardan salgılanan kemokinler özellikle SDF 1 α kemik iliğindeki aniogenik hücre öncüllerinin üretimini stimüle eder¹⁰⁰. VEGF ve özellikle PDGF olmak üzere ilişkili anjiyogenik yolların hedef alınmasının sinerjistik anti tümör ve anti vasküler etkilerinin olabileceğini düşündürür.

VHL geninin etkisizleştirilmesi, p53 ve Ras protoonkogenlerde mutasyon veya amplifikasyonu gibi olaylar da VEGF'nin salınımını uyarabilmektedir¹⁰¹.

2.3.3. PDGFR- β (Trombosit kaynaklı büyüme faktörü reseptörü- β)

PDGF; büyümeyi artırıcı, kemotaksis, dokuların şekillenmesi, yara iyileşmesi, anjiyogenez ve iskelet kas rejenerasyonları gibi birçok önemli fonksiyonlara sahiptir. PDGF fibroblastlar, endotel hücreleri, glial hücreler ve düz kas hücreleri gibi mezankimal hücreler için mitojen ve kemoatraktandır¹⁰². PDGF'in 5 farklı izoformu bulunmaktadır. PDGF-alfa ve beta reseptörleri, en iyi bilinen büyüme faktörü reseptörleridir. PDGF izoformlarının alfa ve beta reseptörlerine bağlanması ve reseptörlerini aktive etme özelliği birbirinden farklıdır. PDGF'in dört dimerik izoformu olan PDGF-AA, PDGF-AB, PDGF-BB ve PDGF-CC; PDGF-alfa reseptörüne bağlanarak reseptör aktiflesirken, PDGF-BB ve PDGF-DD ise PDGF-beta reseptörüne bağlanarak reseptörü aktifleştirmektedir¹⁰³. PDGF-A ve PDGF-B hücrede endoplazmik retikulumda disülfid bağlı dimerlerde toplanır ve haberci moleküller gibi sentezlenir fakat aktifleşmezler¹⁰⁴. PDGF-B de PDGF-A gibi damar düz kas hücreleri, makrofajlar ve fibroblastlar gibi birçok hücre tarafından sentezlenir¹⁰⁵. Platelet-derived growth factor-type BB (PDGF-BB) veya PDGFR β genetik çıkartılmış fare embriyolarında mikrovasküler sızıntı ve kanama izlenmiştir¹⁰⁶.



Sekil 7. PDGF Sinyal iletim yolu ¹⁰⁷

PDGF'nin ko-reseptörüne bağlanması ,ras/MAPK and PI3K üzerinden çekirdeğe doğru ilerleyen sinyal ileti yolağını aktifleştiren tirozin kinaz kalıntıların fosforilasyonu ile sonuçlanır.Yüksek gradeli tümörlerde düşük gradeli tümörlere göre PDGF 'nin yüksek seviyede olduğu gözlenmiştir.Reseptör ve ligandın ikisinin de tümör hücrelerinde var olması,kontROLSÜZ tümör proliferasyonunda PDGF nin fonksiyonunu açıklar¹⁰⁸.

Lenfomalara ve solid tümörler üzerindeki antianjiyotik tedavinin etkileri ile alakalı geniş kapsamlı çalışmaları endotel ve tümör hücrelerinin proliferasyonunu düzenleyen VEGF üzerinde yoğunlaşmıştır. Agresif lenfomalar anti-VEGF olan bevasizumab'ın agresif lenfomalar üzerindeki etkisi faz 2 çalışmalarda belirsiz olarak saptandı,bu da anti VEGF dışında antianjiyotik tedavi araştırmalarına yönlendirdi ¹⁰⁹. İmatinib, sunitinib gibi PDGFR B inhibitörleri anjiyogenezi ve perisit yoğunluğunu azaltarak solid tümör proliferasyonunda azalma sağladığı gözlenmiştir ¹¹⁰. Günümüzde VEGF ve PDGF hedeflenerek üretilen ilaçlar birçok hematolojik malignite ve solid tümörlerde kullanılmakta,bazılarının çalışmaları ise hala devam etmektedir.(Tablo-11)

Tablo 11. VEGF ve PDGF hedeflenen bazı ilaç örnekleri¹¹¹

İlaç	Hedef	Tedavi Alanları
Bevasizumab	VEGF-A	Meme,kolorektal kanser,Akciğer kanseri
Sorafenib	VEGFR-1,-2,-3 PDGFR,ckit,Raf	Metastatik renal hücreli kanser,Hepatocellüler karsinom
Sunitinib İmatinib	VEGFR-1,-2,-3 PDGFR,ckit,Flt-3	Gastrointestinal tümör,Renal hücreli kanser Kronik myeloid lösemi,Nöroendokrin tümörler
Vatalanib	VEGFR-1,- 2,PDGFR,c-kit,c- Fms	Faz 3 (kolorektal) Faz 2 (beyin,meme,jinekolojik,melanom, Myelodisplazi,Mezotelyoma,nöroendokrin,prostat ,pankreas,lenfoma)
AMG-706	VEGFR-1,-2,-3 PDGFR,ckit,Ret	Faz 2 (meme,gastrointestinal stromal tümör,jinekolojik,nöroendokrin,KHDAC CA,Tiroid kanserleri)
Pazopanib	VEGFR-1,-2,-3 PDGFR,ckit	Faz2(renal,beyin,meme,jinekolojik,karaciğer,mye lom,mezotelyoma,nazofarinks,nöroendokrin,over, prostat,böbrek,troid,KHDAC CA)
ABT- 869	VEGFR-1,-2,-3 PDGFR,ckit,Flt-3	Faz 2 (meme,karaciğer,kolorektal,KHDAC CA,böbrek)

2.3.4. DBBHL ve Anjiyogenez

Anjiyogenez, büyüme ve gelişme ile yara iyileşmesi gibi süreçlerde olması beklenen bir olaydır. Bununla beraber anjiyogenez tetikleyen ve önleyen faktörler arasındaki denge bozulduğu takdirde birçok hastalığın oluşumuna zemin hazırlayan patolojik anjiyogenez olur⁵⁸. Tümör dokusunun büyümesi, invazyonu ve metastazı için gerekli olan oksijen, besin maddeleri ve büyüme faktörlerinin sağlanması için yeni damar oluşumuna ihtiyaç vardır. Hızla büyüyen tümörler, tümör kitlesi 1-2 mm³'lük hacime ulaştıklarında besin ve oksijen desteği için anjiyogenezi uyarırlar. Daha fazla büyüebilmeleri için anjiyogenez gereklidir¹¹². Antrasiklin bazlı kemoterapi alan DBBHL hastalarında mikrodamar yoğunluğu ve tümör anjiyogenezinin kötü prognostik faktör olduğu saptanmış¹¹³. Başta VEGF olmak üzere birçok anjiyogenik faktörler ile solid tümörler ile hematolojik malignitelerin tümör proliferasyonu arasında ilişki saptanmıştır⁵⁸. VEGF ve PDGF DBBHL hastaları için çeşitli yollarla önemli bir patofizyolojik öneme sahiptir. Serum VEGF seviyelerinin DBBHL hastalarında yüksek IPI, düşük performans durumu, düşük sağkalım oranı ile ilişkili olduğu saptanmıştır¹¹⁴. VEGF ekspresyonu DBBHL, periferik T hücreli lenfoma, mantle hücreli lenfoma, primer efüzyon lenfoması gibi agresif lenfoma alttiplerinde yüksek oranda^{115,116} ve yavaş seyirli kronik lenfositik lösemi/küçük lenfositik lösemi(KLL/SLL) de hafif artışı ortaya konmuştur¹¹⁷.DBBHL hastalarında doku düzeyinde VEGF ekspresyon düzeyiyle ilgili yeterli çalışma yapılmamıştır, ama serum VEGF düzeyleri ile yapılan çalışmalarda kötü prognozla ilişkili olduğu gözlenmiştir³.Sari ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada DBBHL hastalarının yüksek serum VEGF düzeyleri düşük performans durumu ve yüksek ipı skoru ile ilişkili bulunmuştur¹¹⁸.

VEGF'e bağlanan ve engelleyen humanize monoklonal antikor olarak geliştirilen bevasizumab ile yapılan faz III çalışmalarda ; kemoterapiye eklenmesiyle, sadece kemoterapiyle karşılaştırıldığında yanıt oranları,progresyonsuz sağkalım ve genel yaşam oranlarının anlamlı düzeyde arttığı gösterilmiştir¹¹⁹. Bevasizumabın DBBHL hastalarının R-CHOP kemoterapisine eklenmesi ile yapılan çalışmalarda sağkalıma katkısı net olarak gösterilememiştir¹²⁰.Yine Trombospondin-1 gibi antianjiyogenik faktörlerin aşırı ekspresyonunun deri, meme, akciğer , kolorektal kanser, glioblastoma multiforme ve hemanjioblastomada tümörün progresyonunu ve anjiyogenez engellediği gözlenmiş^{121,122}. PDGFR – β yı hedef alan imatinib tedavisinin ile DBBHL fare modellerinde perisitlerin apoptozuna ve tümör volümünün anlamlı bir şekilde azalmasına yol açtığı gözlenmiştir⁴.

Paydaş s. ve ark. 177 NHL hastasının doku preparatları üzerinde yaptığı çalışmada TSP-1 ekspresyonu agresif morfoloji ve kısa sağkalım süresi arasında ilişki saptanmıştır¹²³. Bütün bu çalışmalar gösteriyor ki anjiyogenez DBBHL lenfomannın patolojisinde çok önemli bir faktördür.



3. GEREÇ VE YÖNTEM

Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi, Hematoloji Bilim Dalı'nda, Haziran 2007 ile Eylül 2014 tarihleri arasında lenf bezi biopsisi sonucu tanı konulan 45 DBBHL olgusu çalışmaya alındı. Olguların çalışmaya kabul ve dışlanma ölçütleri şu şekilde belirlenmiştir: Kabul edilme ölçütleri:

- a. 18 yaşından büyük olan,
- b. Lenf bezi biopsisi sonucu Diffüz büyük B hücreli lenfoma tanısı alan,
- c. Tedavi ve poliklinik takiplerinin bölümümüzde yapılması kabul edilen

hastalar çalışmaya alınmıştır.

Dışlanma ölçütleri:

- a. 18 yaşından küçük olan,
- b. Lenf bezi dışında başka bir ektranodal odaktan biopsi sonucu DBBHL tanısı alan,
- c. Başka bir malignite, AIDS veya organ nakli sonrası immün süpresyon sonucu ortaya çıkarak DBBHL tanısı almış olan hastalar çalışma dışı bırakılmıştır.

Kontrol grubu olarak lenf bezi biopsisi sonucu reaktif hiperplazi olan, başka bir malignitesi olmayan 13 olgunun patoloji preparatı alındı.

Bu çalışma Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurul Başkanlığı'ndan onay alınarak yapıldı. Çalışmada kullanılan laboratuvar parametrelerinin cut-off değerleri normal değerlerinin üst sınırı olarak seçildi. Tam remisyon terimi ;tedavi sonrası labratuvar değerleri ve görüntülemelerinde hastalığa bağlı bulgu saptanmayan tam şifa almış olanlar için, parsiyel remisyon ise ölçülebilir lezyonların birbirine dik boyutlarının çarpımının toplamda %50 den fazla azalması olarak tanımlandı¹²⁴.

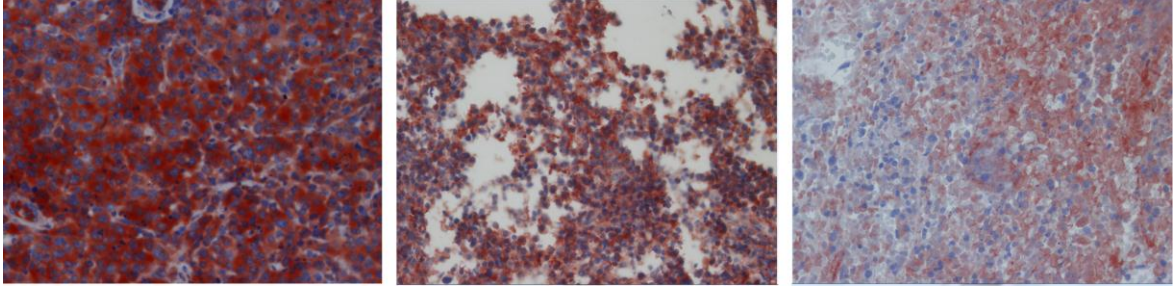
Lenf bezi eksizyonel biyopsi dokularının tümü formalinde fikse edildi. Doku takibinden sonra hazırlanan parafin bloklar ve Hematoksilen&Eosin (H&E) preparatlar arşivden bulundu. Olgulara ait H&E boyalı kesitler tekrar gözden geçirilerek immünohistokimyasal çalışma için uygun parafin bloklar seçildi. İmmünohistokimyasal çalışma ve değerlendirmeye elverişli olmayanlardan yeniden H&E için 3-4 mikron kalınlığında kesitler alındı.

3.1. Boyama Yöntemi

İmmünohistokimyasal çalışma streptavidin-avidin-biotin yöntemiyle yapıldı. İmmünohistokimyasal boyama için parafin bloklardan lamlara 3-4 mikronluk kesitler alındı. Kesitler 56°C etüvde bir gece bekletilerek deparafinize edildi. Etüvden çıkarıldıktan sonra ksilen içerisinde alınan kesitler 15+15 (30) dakika bekletilerek deparafinizasyon tamamlandı. Daha sonra absölu alkol ilk önce döküldü, ikincisinde 15 dakika bekletildi ve ardından aynı işlem %96'lık etil alkol ile yapılarak hidrate edildi. Distile suda 5 dakika yıkandı. Lamlar mikrodalga fırına dayanıklı plastik şale içerisinde yerleştirildi. %10 luk Citrat buffer solüsyonu hazırlanıp üzerlerine konuldu (10 cc citrat buffer, 90 cc distile su ile hazırlanır). Mikrodalga fırın maksimum güçte (%100) 10 dakika çalıştırıldı. Süre bitiminde fırın gücü %50 azaltılarak 5+5 dakika çalıştırıldı. Preparatlar mikrodalga fırından çıkarıldıktan sonra 20 dakika oda ısısına gelinceye kadar bekletildi. Distile su ile yıkandı. Kesitler %3 'lük HO(Hidrojen peroksit) karışımı içinde peroksidaz blokajı yapması için 20 dakika bekletildi. Ardından kesitler distile su ile yıkanır. Kesitler Fosfat buffer salin (PBS) içerisinde 15 dakika bekletildikten sonra immün boyama kabına alınarak 15 dakika protein blokajı yapıldı. Yıkamadan sonra VEGF, PDGFR, Trombospondin boyaları damlatılarak 2 saat inkübasyona bırakıldı.

Tablo 12. Kullanılan primer antikorlar

ANTİKOR	FİRMA
VEGF (SPM225) : sc-65617	Santa Cruz Biotechnology, Inc.
THROMBOSPONDİN 1 (3F357):sc-73158	Santa Cruz Biotechnology, Inc.
PDGFR, beta Ab-1	Thermo Scientific



Trombospondin-1

PDGFR-β

VEGF

Şekil-8. Işık mikroskopunda 40'lık büyütmede Trombospondin-1, PDGFR- β, VEGF 'ün +3 boyanma görüntüleri

Preparatlar PBS içerisine alınıp çalkalandıktan sonra ikincisinde PBS içerisinde 15 dakika bekletildi. Boyama kabına alınan kesitler üzerine Goat –Anti-Polyvalent damlatılarak 20 dakika bekletildi. Ardından tekrar preparatlar PBS içerisine alınıp çalkalandıktan sonra ikincisinde PBS içerisinde 15 dakika bekletildi. Boyama kabına alınan kesitler üzerine streptovidin peroksidaz damlatılarak 20 dakika bekletildi. Tekrar PBS'ten geçirilen dokular AEC kromojen ile 20 dakika inkübe edildi. Renk alan preparatlar distile suda yıkandıktan sonra Mayer hematoksilende iki dakika bekletildi. Distile su ile yıkandıktan sonra amonyaklı sudan geçirildi. Tekrar distile su ile yıkanan kesitler kuruduktan sonra uygun kapama vasatı ile kapatıldı. Bir hematoloji ve bir patoloji uzmanı ile ışık mikroskopisinde 40 'lık büyütmede değerlendirilen preparatlar hücrelerin boyanma oranlarına göre 0, 1, 2, 3 şeklinde puanlama yapıldı.

3.2. İstatistiksel Yöntemler

Sonuçların değerlendirilmesi SPSS Version.22.0 programı kullanılarak yapıldı. Çalışmadaki değişkenler One-Sample Kolmogorov-Smirnow testi ile normal dağılım açısından değerlendirildi. Normal dağılıma uygun olan veriler aritmetik ortalama ve standart sapmalarıyla, normal dağılıma uygun olmayan veriler ortanca (%25-%75 percentil) değerleriyle verilmiştir. Kategorik verilerin kıyasında kıkare ve fisher testleri kullanıldı. Ordinal başlıkların değerlendirilmesinde nonparametrik mann whitney testi kullanıldı. Progresyonsuz sağkalım ve genel sağkalım süreleri hesaplanmasında Kaplan-Meier metodu ve Log-rank testi kullanıldı. Progresyonsuz sağkalım süresi tanı tarihinden progresyona kadar geçen süre, toplam sağkalım süresi tanı tarihinden hastanın kaybedilmesi veya takip süresinin sonlandırıldığı tarihe kadar geçen süre olarak kabul edildi . P<0.05 değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi, Hematoloji Bilim Dalı'nda, Haziran 2007 ile Eylül 2014 tarihleri arasında lenf bezi biopsisi sonucu tanı konulan 24' ü erkek, 20'i bayan toplam 44 DBBHL tanılı olgu, 6' sı erkek 7' si bayan toplam 13 reaktif hiperplazi ile uyumlu lenfadenopati patoloji preparatı kontrol grubu olarak alındı.

Yaş ortalaması hasta grubunda $60,55 \pm 11,23$ yaş(ortanca 60 yaş),kontrol grubunda $42,53 \pm 14,52$ yaş (ortanca 44 yaş) olarak saptandı. Hastaların 19'unda (% 43,2) B semptomu varken, 25'inde (% 56,8) B semptomu saptanmamıştır. Hastaların büyük çoğunluğunda (%79,5) LDH yüksekliği saptanmıştır. Tanı sırasında hastaların sekizi evre I (% 18,2), on üçü evre II (% 29,5), on dördü evre III (% 31,8) ve dokuzu evre IV (% 20,5) olarak tespit edildi . Hastalar performans skoruna göre değerlendirildiğinde 38 hasta (%86,4) ECOG 1,6 hastada (% 13,6) ECOG 2 olarak saptandı.Standart İPİ'ye göre hastaların büyük çoğunluğu düşük risk grubundaydı. Hastalar IPI skoruna göre değerlendirildiğinde %31,8'i düşük riskli,%27,3 'ü düşük orta riskli,%27,3 yüksek orta riskli,%13,6'sı yüksek riskli olduğu gözlenmiştir. Dört hastada (%9,1) kemik iliği tutulumu saptanırken,40 hastada (%90,1) kemik iliği tutulumu saptanmamıştır. Hastaların 6'sında (%13,6) hepatomegali varken,38'inde (%86,4) saptanmamıştır. Splenomegali açısından değerlendirildiğinde 11 hastada (%25) splenomegali varken, 33'ünde (%75) saptanmamıştır. Hastaların 8'inde (%18,2) ektranodal tutulum saptanırken,36'sında (%81,8) saptanmamıştır. Bulky hastalık açısından değerlendirildiğinde 5 (%11,4) hastada bulky hastalık saptanırken,39'unda (%88,6) saptanmamıştır.

Hastalara birinci basamakta verilen tedavi protokollerine baktığımızda, 35 hasta (% 79,5) RCHOP , 2 hasta (%4,5) RCVP(Rituksimab, siklofosfamid, vincristin, metil prednisolon), 2 hasta (%4,5) CHOP, 1 hasta (%2,3) CVP (siklofosfamid, vinkristin, metilprednizolon), 1 hasta (%2,3) siklofosfamid+metilprednizolon tedavisi almış.Hastaların 30'unda (% 68,7) tam remisyon, 4'ü (%9,4) parsiyel remisyon saptandı. Evrelerine göre 8 hasta (%18,8)'i tedavi sırasında yanıt alınamadan ölmüş, 2'si (%4,7) yanıt alınamadan dış merkezde takiplerine devam etmiş. Hastaların %9,1'i birinci basamak tedaviye refrakter olduğu gözlemlendi.Takiplerinde %11,4 hastada relaps saptanmış olup, bir hastaya OKHN, bir hastaya AIIOKHN yapılmıştır. Hastaların %86,4'ü sadece birinci basamak tedavi almış olup,%9,1'i ikinci basamak,%4,5 hasta üçüncü basamak tedavi almıştır. Hastaların son

durumuna bakıldığında 11 hasta (%25)'ünün öldüğü,33 hastanın (%75) hastanın yaşadığı gözlenmiştir. .(Tablo-13) Ölümlerin genelde ileri evreli hastalarda olduğu gözlendi. Ölenlerin 2'si (%18,2) evre I, 2'si (%18,2) evre II, 3'ü(%27,3) evre III,4'ü (36,4) evre IV idi.

Tablo 13. Hastaların ve kontrolün demografik verileri

	Hasta		Kontrol		
	n=44	%	n=13	%	
Yaş					
Ortalama±SS	60,55 ± 11,23		42,53 ± 14,52		p<0,001
Ortanca (aralık)	60,54 (35-88)		42,53 (16-67)		
Cinsiyet n(%)					
Erkek	24	54,5	6	46,2	p=0,594
Kadın	20	45,5	7	53,8	
LDH yüksekliği (LDH>220 U/L)	35	79,5	2	15,4	
B semptom	19	43,2			
ECOG					
1	38	86,4			
2	6	13,6			
Evre n(%)					
I	8	13,8			
II	13	29,5			
III	14	31,8			
IV	9	20,5			

IPI		
0	4	9,1
1	10	22,7
2	12	27,3
3	12	27,3
4	6	13,6
Hepatomegali	6	13,6
Splenomegali	11	25
Kemik iliği tutulumu	4	9,1
Ekstranodal tutulum	8	18,2
Bulky hastalık	5	11,4
Birinci basamak tedavi yanıt		
PR	4	9,1
CR	30	68,2
Birinci basamak tedaviye refrakter	4	9,1
Relaps	5	11,4
OKHN	1	2,3
AIIOKHN	1	2,3
Toplam tedavi basamağı		
I	38	86,4
II	4	9,1
III	2	4,5
Son durum		
Yaşıyor	33	75
Ölü	11	25

Hasta ve kontrolün laboratuvar değerlerinin karşılaştırması sonucunda Hemoglobin, nötrofil, lenfosit, monosit, trombosit , ürik asit, üre, kreatinin, AST, ALT değerleri arasında anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0.05$). LDH, beta 2 mikroglobulin, albümin, sedimentasyon, CRP değerleri arasında anlamlı farklılık saptandı.($p=0.016, p=0.019, p= 0.008, p= 0.024, p <0.001$) (Tablo-14)

Tablo 14. Hasta ve kontrolün labratuvar değerlerinin karşılaştırılması

	Hasta (n=44)	Kontrol (n=13)	P
HGB (g/dL)	12.75 (10,65-14)	12.8 (12,35-15,9)	0.277
WBC (uL)	6750 (5055-85947,5)	6490 (5740-8550)	0.894
NEU (uL)	3820 (2820-6232,5)	4030 (2735-5030)	0.971
LYM (uL)	1550 (873-2095)	2090 (1390-2490)	0.119
MONO (uL)	549 (420.5-684)	468 (329-538)	0.101
PLT(x1000 uL)	271,5 (272,25-338)	304 (222.5-352.5)	0.458
LDH (U/L)	266 (240,5-531,5)	215 (172.5-276)	0.016
β 2 (mg/L)	2.97 (2.05-2.94)	1,54(1.54-1.54)	0.019
ALBUMİN (g/dL)	4.03 (3.5-4.3)	4.48 (4.25-4.7)	0.008
ÜRİK ASİT(mg/dL)	5.1 (3.55-5.95)	4,4 (2.6-5.4)	0.419
SEDİM (mm/h)	30 (20.5-48.5)	8 (2-36)	0.024
ÜRE (mg/dL)	34 (29.5-43)	26 (15.35-32.5)	0,115

Cr (mg/dL)	0.78 (0.65-1.01)	0.7 (0,58-0.92)	0.311
AST (U/L)	21.5 (17-32.5)	21 (16-27.5)	0,725
ALT (U/L)	17.5 (13.75-26.5)	25 (10-29.5)	0.894
CRP (mg/L)	4.86 (1.1-10.65)	0.17 (0.1-0.39)	<0.001

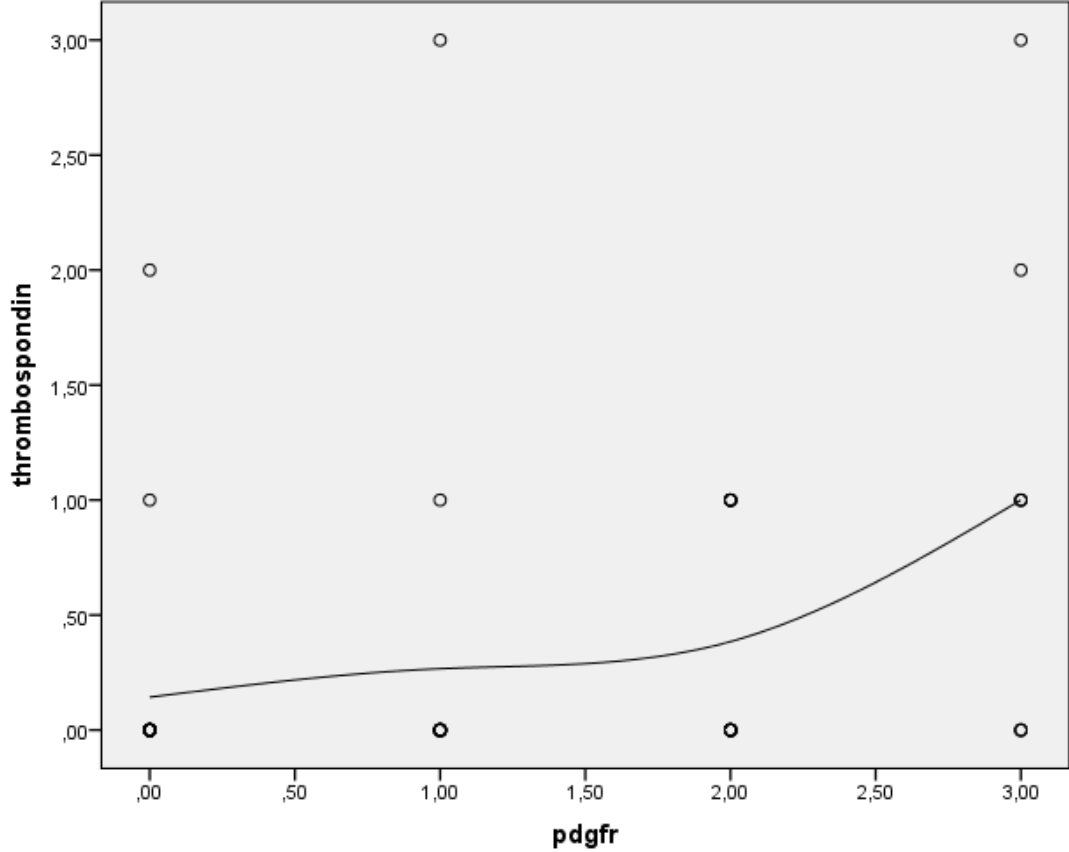
Kısaltmalar: **HGB:**Hemoglobin,**WBC:**White Blood Cell,**NEU:**Nötrofil,**LYM:**Lenfosit,**MONO:**Monosit,**PLT:**Trombosit,**LDH:**Laktat dehidrogenaz, **β 2:**Beta 2 mikroglobulin,**Sedim:**Sedimentasyon,**Cr:**Kreatin,**AST:**Aspartat aminotransferaz, **ALT:**Alanin Aminotransferaz

Hastalara ait patolojik preparatlar VEGF ile boyandığında 30 hasta (%68,2) düşük oranda (<2), 14 hasta(% 31,8) yüksek oranda(\geq 2) boyandığı gözlemlendi. VEGF immunhistokimyasal boyanma hastaların büyük çoğunluğunda boyanmış olup, sadece 5 hastada (%11,3) hiç boyanma olmamış . Kontrol grubunda ise 8 hastada(%61,5) düşük oranda , 5 hastada (%38,5) yüksek oranda boyanma izlendi. VEGF boyanma açısından iki grup arasında istatistiksel fark saptanmadı(p=0,742). PDGFR- β ile boyanma açısından bakıldığında hastaların 32'si (%72,7) 'si düşük oranda,12 hastada (%27,3) yüksek oranda boyanma saptandı. Kontrol grubunda ise 4 hastada (%30,8) düşük oranda, 9 hastada(%69,2) ise yüksek oranda boyanma saptandı. Hasta grubunda kontrol grubuna göre PDGFR- β ile boyanmanın daha düşük olduğu gözlemlendi.(p=0,009). Trombospondin-1 ile boyanma açısından bakıldığında hastaların 41'i (%93,2) düşük oranda, 3 hastada (%6,8) yüksek oranda boyanma saptandı.Kontrol grubunda ise 12 hastada (%92,3) düşük, 1 hastada (%7,7) yüksek oranda boyanma saptandı.İki grup arasında trombospondin-1 boyanma oranları açısından istatistiksel fark saptanmadı.(p=1,000)(Tablo-15).

Tablo 15. Hasta ve kontrol grubunun Trombospondin-1, VEGF, PDGFR- β boyanma oranlarına göre karşılaştırılması

	Toplam	Kontrol	Hasta	P
	n(%)	n(%)	n(%)	
VEGF				
0-1	38 (66.7)	8 (61.5)	30 (68.2)	0.742
2-3	19 (33.3)	5 (38.5)	14 (31.8)	
PDGFR-β				
0-1	36 (63.2)	4 (30.8)	32 (72.7)	0.009
2-3	21 (36.8)	9 (69.2)	12 (27.3)	
TROMBOSPONDİN-1				
0-1	53 (93)	12 (92.3)	41 (93.2)	1.000
2-3	4 (7)	1 (7.7)	3 (6.8)	

VEGF,PDGFR,Trombospondin kendi aralarındaki istatistiksel ilişki araştırıldığında PDGFR- β ile Trombospondin arasında anlamlı ilişki saptanmıştır ($p = 0.003, r = -0.440$) . PDGFR- β boyanma oranı arttıkça Trombospondin-1 boyanma oranı azaldığı gözlemlendi.(Şekil-9)



Şekil 9. Trombospondin-1 ile PDGFR- β arasındaki korelasyonunun grafiği

Hastaların VEGF boyanma oranları ile demografik verileri IPI skoru, B semptom, evre, kemik iliği tutulumu, hepatomegali, splenomegali, bulky hastalık, ektranodal tutulum, radyoterapi tedavisi, birinci basamak tedaviye refrakter olma ve relaps açısından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. VEGF erkeklerde daha yüksek oranda boyandığı saptandı ($p=0,029$) . Refrakter ve relaps olan hastalarda VEGF'ün daha düşük olarak boyandığı gözlemlenmiş ama istatistiksel fark saptanmamıştır. IPI skoru düşük olanlarda VEGF düşük oranda saptanmış.VEGF düşük oranda boyanan hastalarda ektranodal tutulum, hepatomegali, bulky hastalık, splenomali, kemik iliği tutulumu, refrakter ve relaps oranı yüksek saptandı.(Tablo-16)

Tablo 16. Hastaların demografik ölçütlerinin VEGF boyanma oranları ile karşılaştırılması

	n (%)	VEGF (0-1) n (%)	VEGF (2-3) n (%)	p
Cinsiyet				
Kadın	20 (45.5)	17 (56.7)	3 (21.4)	0.029
Erkek	24 (54.5)	13 (43.3)	11 (78.6)	
IPI				
<3	26 (59.1)	16 (53.3)	10 (71.4)	0.419
≥3	18 (10.9)	14 (46.7)	4 (28.6)	
B semptom				
Var	25 (56.8)	17 (56.7)	8 (57.1)	1.000
Yok	19 (43.2)	13 (43.3)	6 (42.9)	
Evre				
≤2	21(47.7)	13(43,3)	8(57.1)	0.596
>2	23(52.3)	17(56,7)	6(42.9)	
Kemik iliği tutulumu				
Var	4 (9.1)	3 (10)	1 (7.1)	1.000
Yok	40 (90.9)	27 (90)	13 (92.9)	
Hepatomegali				
Var	6 (13.6)	6 (20)	0 (0)	0,155
Yok	38 (86.4)	24 (80)	14 (100)	
Splenomegali				
Var	11 (25)	8 (26.7)	3 (21.4)	1.000
Yok	33 (75)	22 (73.3)	11 (78.6)	

Bulky hastalık				
Var	5 (11.4)	2 (6.7)	3 (21.4)	0,307
Yok	39 (88.6)	28 (93.3)	11 (78.6)	
Ekstranodal tutulum				
Var	8 (18.2)	7 (23.3)	1 (7.1)	0.402
Yok	36 (81.8)	23 (76.7)	13 (92.9)	
RT				
Var	8 (18.2)	5 (16.7)	3 (21.4)	0,695
Yok	36 (81.8)	25 (83.3)	11 (78.6)	
Refrakter				
Var	4 (9.7)	3 (10)	1 (8.3)	1.000
Yok	39 (90.3)	27 (90)	11 (91.7)	
Relaps				
Var	5 (11.6)	3 (10)	2 (15.4)	0,630
Yok	38 (88.4)	27 (90)	11 (84.6)	

Hastaların PDGFR- β boyanma oranları ile demografik verileri cinsiyet, IPI skoru, B semptom, evre, kemik iliği tutulumu, hepatomegali, splenomegali, bulky hastalık, ekstranodal tutulum, radyoterapi tedavisi, birinci basamak tedaviye refrakter olma ve relaps açısından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. IPI skoru ve evresi yüksek olan hastalarda PDGFR- β daha az boyandığı izlendi. PDGFR- β boyanma oranı yüksek olanlarda hiç refrakter olan hasta gözlenmedi. PDGFR- β boyanma oranı yüksek olanlar çoğunlukla bayan olmakla beraber , düşük oranda boyanmada erkek oranı fazla saptandı. PDGFR- β yüksek oranda boyanan hastalarda daha düşük oranda kemik iliği tutulumu, hepatomegali, splenomegali, bulky hastalık , ekstranodal tutulum ve relaps saptandı. İstatistiksel anlamlı bir ilişki saptanmadı.(Tablo-17)

Tablo 17. Hastaların demografik ölçütlerinin PDGFR- β boyanma oranları ile karşılaştırılması

	n(%)	PDGFR (0-1) n (%)	PDGFR (2-3) n (%)	p
Cinsiyet				
Kadın	20 (45.5)	13 (40.6)	7 (58.3)	0.477
Erkek	24 (54.5)	19 (59.4)	5 (41.7)	
IPI				
<3	26(59.1)	17 (53.1)	9 (75)	0.332
≥ 3	18(10.9)	15 (46.9)	3 (25)	
B semptom				
Var	25 (56.8)	19 (59.4)	6 (50)	0.828
Yok	19 (43.2)	13 (40.6)	6 (50)	
Evre				
≤ 2	21(47.7)	14(43.7)	7(58.3)	0,601
>2	23(52.3)	18(56.3)	5(41.7)	
Kemik iliği tutulumu				
Var	4 (9.1)	3 (9.4)	1 (8.3)	1.000
Yok	40 (90.9)	29 (90.6)	11 (91.7)	
Hepatomegali				
Var	6 (13.6)	5 (15.6)	1 (8.3)	1.000
Yok	38 (86.4)	27 (84.4)	11 91.7)	
Splenomegali				
Var	11 (25)	7 (21.9)	4 (33.3)	0.457
Yok	33 (75)	25 (78.1)	8 (66.7)	

Bulky hastalık	5 (11.4)	4 (12.5)	1 (8.3)	1.000
Var	39 (88.6)	28 (87.5)	11 (91.7)	
Yok				
Ekstranodal tutulum				
Var	8 (18.2)	7(21.9)	1 (8.3)	0.403
Yok	36 (81.8)	25 (78.1)	11 (91.7)	
RT				
Var	8 (18.2)	7 (21.9)	1 (8.3)	0.413
Yok	36 (81.8)	25 (78.1)	11 (91.7)	
Refrakter				
Var	4 (9.7)	4 (12.9)	0 (0)	0.563
Yok	39 (90.3)	27 (87.1)	12 (100)	
Relaps				
Var	5 (11.6)	3 (9.7)	2 (16.7)	0.608
Yok	38 (88.4)	28 (90.3)	10 (83.3)	

Hastaların Trombospondin-1 boyanma oranları ile demografik verileri cinsiyet, IPI skoru, B semptom, evre, kemik iliği tutulumu, hepatomegali, splenomegali, bulky hastalık, ekstranodal tutulum, radyoterapi tedavisi, birinci basamak tedaviye refrakter olma ve relaps açısından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. Trombospondin-1 boyananların çoğunluğu erkek olmakla beraber yüksek oranda boyananların hepsi erkek olduğu gözlemlendi. Trombospondin-1 yüksek oranda boyama saptanan hastaların hepsinde B semptomu vardı ve hiçbirinde kemik iliği tutulumu, hepatomegali, bulky hastalık, ekstranodal tutulum, tedaviye refrakterlik ve relaps saptanmadı. Trombospondin-1 yüksek miktarda boyanan hastaların %66,7 si IPI skoru yüksek risk grubuna (2,3) ait , %33,3 ü IPI skoru düşük risk grubuna ait olduğu gözlemlendi.(Tablo-18)

Tablo 18. Hastaların demografik ölçütlerinin Trombospondin-1 boyanma oranları ile karşılaştırılması

	n(%)	Trombospondin (0-1) n (%)	Trombosbondin (2-3) n (%)	p
Cinsiyet				
Kadın	20 (45.5)	20 (48.8)	0 (0)	0.377
Erkek	24 (54.5)	21 (51.2)	3 (100)	
IPI				
<3	26(59,1)	25 (61)	1(33,3)	0,558
≥3	18(10,9)	16 (39)	2(66,7)	
B semptom				
Var	25(56,8)	22 (53,7)	3 (100)	0,247
Yok	19(43,2)	19 (46,3)	0 (0)	
Evre				
≤2	21(47.7)	19(46.3)	2(66.7)	0.599
>2	23(52.3)	22(53.7)	1(33.3)	
Kemik iliği tutulumu				
Var	4 (9.1)	4 (9.8)	0 (0)	1.000
Yok	40 (90.9)	37 (90.2)	3 (100)	
Hepatomegali				
Var	6 (13.6)	6 (14.6)	0 (0)	1.000
Yok	38 (86.4)	35 (85.4)	3 (100)	
Splenomegali				
Var	11 (25)	10 (24.4)	1 (33.3)	1.000

Yok	33 (75)	31 (75.6)	2 (66.7)	
Bulky hastalık				
Var	5 (11.4)	5 (12.2)	0 (0)	1.000
Yok	39 (88.6)	36 (87.8)	3 (100)	
Ekstranodal tutulum				
Var	8 (18.2)	8 (19.5)	0 (0)	1.000
Yok	36 (81.8)	33 (80.5)	3 (100)	
RT				
Var	8 (18.2)	8 (19.5)	0 (0)	1.000
Yok	36 (81.8)	33 (80.5)	3 (100)	
Refrakter				
Var	4 (9.7)	4 (10)	0 (0)	1.000
Yok	39 (90.3)	36 (90)	3 (100)	
Relaps				
Var	5 (11.6)	5 (12,5)	0 (0)	1.000
Yok	38 (88.4)	35 (87.5)	3 (100)	

VEGF boyanma oranları ile laboratuvar verileri karşılaştırıldığında VEGF boyanma oranı arttıkça ortalama hemoglobin, nötrofil, lenfosit, monosit , trombosit değerlerinde ve yaş ortalamasında düşme olduğu dikkati çekti. İstatiksel olarak anlamlı saptanmadı. VEGF +3 boyanan hastaların ortalama LDH değerinin çok yüksek olduğu izlendi.(Tablo-19)

Tablo 19. VEGF ile laboratuvar değerlerinin karşılaştırılması

N=44	VEGF				p
	0 n(%25-75)	1 n=25(%56,8)	2 n=10 (%22,7)	3 n=4 (9,2)	
YAŞ	67 (56-76,5)	60 (50,5-67)	60(51-71,25)	59,5(50-66,75)	0,633
HGB (g/dL)	13,25 (12,8-14,3)	12,65 (11,62-13,82)	12,35(8,72-15,17)	11,1(7,02-13,52)	0,478
WBC (uL)	8865 (7345-10962)	7096,25 (5285-8647)	6395(4210-8265)	4890(1992,5-8500)	0,227
NEU (uL)	6630 (4155-8460)	3820 (3100-5855)	3195(2372,5-6327,5)	3505(1265-5497,5)	0,263
LYM (uL)	1550 (1220-1660)	1835 (1012,5-2097,7)	1360(678,75-2482,50)	1006(475,75-2072,50)	0,766
MONO (uL)	808 (280-1090)	553(486-690,25)	522(393-650)	314(154,5-765,5)	0,389
PLT(x1000 uL)	300,5 (231,25-543)	270,5 (214,5-340,25)	263(186,75-333,5)	231(80,5-341,75)	0,680
LDH (U/L)	310, 5 (247,5-437)	287(250-546)	248(183,5-532)	560(378,25-879,75)	0,195
β 2 (mg/L)	2,08 (2,08-2,08)	2,91(2,26-4,69)	2,01(1,6-2,3)	2,47(2,12-2,81)	0,223
ALBUMİN (g/dL)	3,6 (3-4,3)	4,1(1,7-4,8)	4,03(2,95-4,22)	3,95(2,96-4,3)	0,832
ÜRİK ASİT(mg/dL)	2,9 (2,9-2,9)	5,3(3,9-6,9)	4,50(3,45-5,63)	4,86(2,92-6,8)	0,466
SEDİM (mm/h)	61 (29-70)	32(21,5-48,5)	23(19,5-73,5)	13(3,25-37,75)	0,206
ÜRE (mg/dL)	39,5 (29,25-40,75)	33(28,5-43)	33(29-50,25)	39(21-48)	0,984
Cr (mg/dL)	0,7 (0,48-0,76)	0,78(0,6-1,04)	0,82(0,7-1,02)	0,68(0,54-1,13)	0,378
AST (U/L)	23 (13,5-29,5)	20(17-33,5)	19(16,75-25,25)	39(26-61)	0,204
ALT (U/L)	24,5 (20,25-33,25)	17(13,25-42,5)	18(12-24,25)	17,5(26-61)	0,444
CRP (mg/L)	4,44 (2,4-4,97)	4,93(1,26-10,51)	1,65(0,53-12,15)	8,61(5,73-11,49)	0,666

Kısaltmalar: **HGB:**Hemoglobin,**WBC:**White Blood Cell,**NEU:**Nötrofil,**LYM:**Lenfosit,**MONO:**Monosit,**PLT:**Trombosit,**LDH:**Laktat dehidrogenaz,**β 2:**Beta 2 mikroglobulin,**Sedim:**Sedimentasyon,**Cr:**Kreatin,**AST:**Aspartat aminotransferaz, **ALT:**Alanin Aminotransferaz

PDGFR-β boyanma oranı ile labratuvar bulguları arasında istatistiksel anlamlı bir ilişki saptanmadı.(Tablo-20)

Tablo 20. PDGFR-β ile laboratuvar değerlerinin karşılaştırılması

N=44	PDGFR				p
	0 n=19 (%43,2)	1 n=13 (%29,5)	2 n=8 (%18,2)	3 n=4 (9,1)	
YAŞ	61 (52-72)	59 (50-70)	58 (51.75-66.5)	58.8 (48.5-76.75)	0,848
HGB (g/dL)	12.85 (10.32-14.4)	12.3 (9.6-13.45)	13 (12.6-14.2)	12.9 (10.8-13.5)	0.457
WBC (uL)	6510 (5027.5-9352.5)	6700 (3860-9725)	6980 (5430-8380)	6900(3627.5-7442.5)	0.985
NEU (uL)	3820 (2820-6515)	3900 (2095-6635)	4470 (3250-6700)	3450 (2282.5-4010)	0.762
LYM (uL)	1585 (793.5-2092.5)	1550 (873-2110)	1420 (1020-1880)	2690 (437-2850)	0.819
MONO (uL)	562 (495.8-668.5)	552 (362.5-843)	506 (419-549)	360 (201-576)	0.258
PLT(x1000 uL)	287 (225.75-391)	281 (199.5-332)	267 (209-362)	236.5 (88.3-285)	0.577
LDH (U/L)	322.5 (223-573.2)	303 (273.5-705.5)	312.5 (236.75-459.25)	263.5 (219-320.75)	0.557
β 2 (mg/L)	1.93 (1.66-5.28)	2.81 (2.39-2.93)	2.26 (2.12-4.69)	2.3 (2.3-2.3)	0.558
ALBUMİN (g/dL)	4.1 (3.88-4.36)	3.55 (2.77-4.23)	4.15 (3.9-4.43)	3.64 (2.73-4.37)	0.304
ÜRİK ASİT(mg/dL)	5.2 (4.2-6.4)	5.25 (3.88-7.2)	4 (2.83-5.7)	3.06 (2.92-3.2)	0.256
SEDİM (mm/h)	23 (20.25-49.25)	37 (21-73)	37 (19-52.5)	28 (7-41)	0.740
ÜRE (mg/dL)	33 (29.5-41.25)	36 (25-52.5)	39 (32-47)	34.5(24.75-40.5)	0.808

Cr (mg/dL)	0.82 (0.7-1)	0.73 (0.6-1.17)	0.8 (0.5-1.15)	0.7 (0.66-0.7)	0.773
AST (U/L)	19.5 (16.75-27.25)	23 (19-38.5)	22 (17-26)	17.5 (12.25-55.75)	0.465
ALT (U/L)	18 (11.75-27.25)	17 (14.5-30)	21 (13-24)	18 (13.5-34.5)	0.984
CRP (mg/L)	4.51 (0.89-12.13)	5.08 (2.34-12.85)	0.38 (0.19-5.37)	2.4 (2.31-5.73)	0.292

Kısaltmalar: **HGB:**Hemoglobin,**WBC:**White Blood Cell,**NEU:**Nötrofil,**LYM:**Lenfosit,**MONO:**Monosit,**PLT:**Trombosit,**LDH:**Laktat dehidrogenaz,**β 2:**Beta 2 mikroglobulin,**Sedim:**Sedimentasyon,**Cr:**Kreatin,**AST:**Aspartat aminotransferaz, **ALT:**Alanin Aminotransferaz

Trombospondin-1 ile boyanma oranı arttıkça ortalama albümin miktarının azalma eğilimi olduğu izlendi.(p=0.075)Diğer labratuvar bulgularında anlamlı bir ilişki saptanmadı.(Tablo-21)

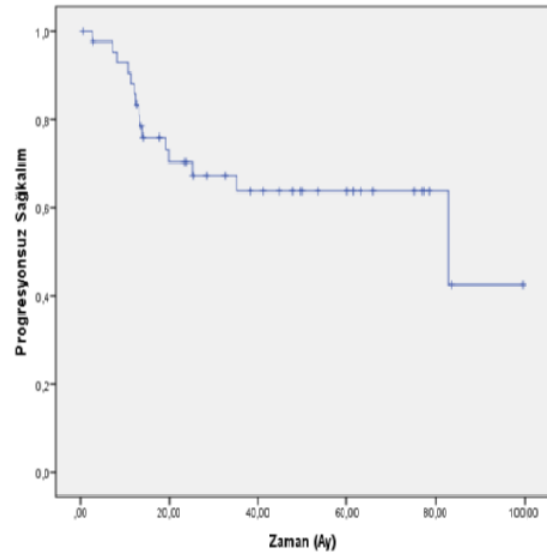
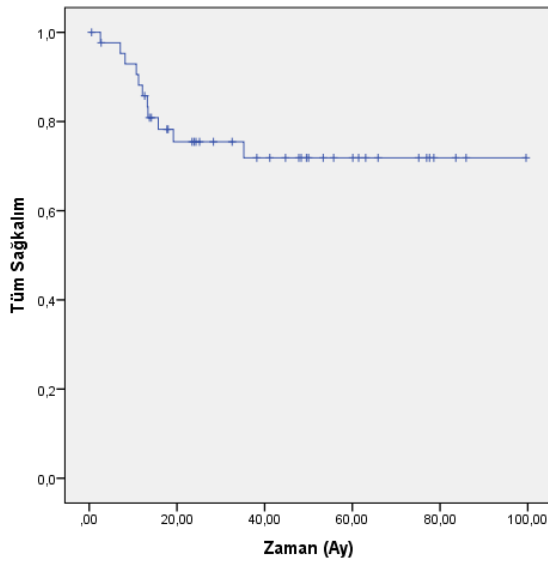
Tablo 21. Trombospondin-1 ile laboratuvar değerlerinin karşılaştırılması

N=44	Trombospondin				p
	0	1	2	3	
Lab.değer n(%25-75p)	n=36 (%81,8)	n=5 (11,3)	n=1 (2,3)	n=2 (%4,5) median(min-max)	
YAŞ	60 (52.25-70.75)	50 (48.5-66)	61	68.5 (67-70)	0.490
HGB (g/dL)	12.75 (10.45-14.05)	13 (12.35-14.1)	14	11.2 (10.1-12.3)	0.439
WBC (uL)	6510 (4892.5-9035)	7210 (6140-8295)	7010	5960 (10.1-12.3)	0.900
NEU (uL)	3800 (2820-6515)	4180 (2960-5900)	3830	3915 (10.1-12.3)	0.982
LYM (uL)	1400 (854-2025)	2290 (1515-2770)	2100	1183 (437-1930)	0.147
MONO (uL)	552 (420.5-684)	506 (394-562)	724	695.5 (201-1190)	0.636
PLT(x1000 uL)	271.5 (200.75-334.25)	261 (220-327.5)	475	192.5 (47-338)	0.542
LDH (U/L)	299.5 (237.5-618.25)	268.5 (221.5-459.5)	349	309 (286-332)	0.922
β 2 (mg/L)	2.49 (1.97-3.36)	2.21 (2.12-2.30)		2.96	0.545

ALBUMİN (g/dL)	4 (3.25-4.25)	4.4 (4.31-4.49)	4.2	3.08 (2.65-3.5)	0.075
ÜRİK ASİT(mg/dL)	5.1 (3.7-6.6)	4.55 (3.2-5.9)	5.58	3.46 (2.92-4)	0.570
SEDİM (mm/h)	30 (20-61)	34.5 (23.5-43.25)		23 (7-39)	0.740
ÜRE (mg/dL)	35 (29.5-43)	30 (19-51.5)	34	35 (31-39)	0.942
Cr (mg/dL)	0.8 (0.64-1.01)	0.7 (0.6-1.2)	1.0	0.71 (0.65-0.76)	0.773
AST (U/L)	22.5 (17-32.5)	19 (17-34.5)	16	43 (18-68)	0.623
ALT (U/L)	17.5 (13.75-28.75)	15 (13-22.5)	26	26.5 (14-39)	0.748
CRP (mg/L)	4.86 (1.1-11.37)	1.35 (0.38-2.31)		5.54 (5.35-5.73)	0.367

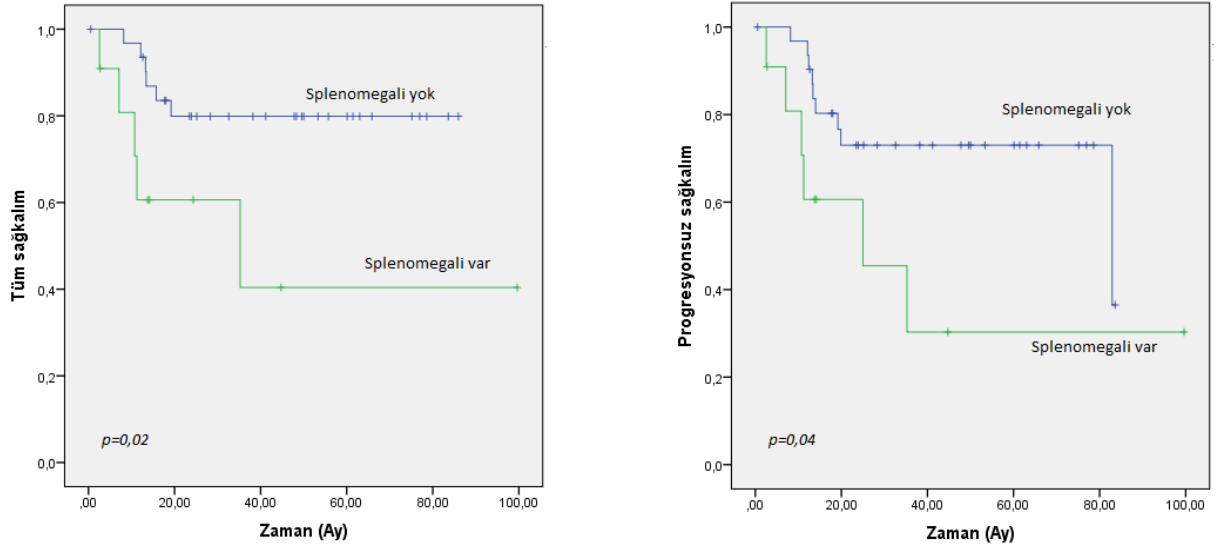
Kısaltmalar: **HGB:**Hemoglobin,**WBC:**White Blood Cell,**NEU:**Nötrofil,**LYM:**Lenfosit,**MONO:**Monosit,**PLT:**Trombosit,**LDH:**Laktat dehidrogenaz,**β 2:**Beta 2 mikroglobulin,**Sedim:**Sedimentasyon,**Cr:**Kreatin,**AST:**Aspartat aminotransferaz, **ALT:**Alanin Aminotransferaz

Ortalama 30 aylık takip süresinde genel sağkalımı (OS) %71, progresyonsuz sağkalımı (PFS)%63 olarak saptandı (Şekil-10) .Median değere ulaşamadığında ortalama OS analizi yapılamadı,ortalama tahmini PFS 82,9 ay (3-162 ay aralığında) olarak saptandı. Cinsiyet açısından bakıldığında kadınlarda 5 yıllık tahmini OS ve PFS değerlerinin daha yüksek olduğu gözlemlendi. Ama istatistiksel olarak anlamlı saptanmadı.



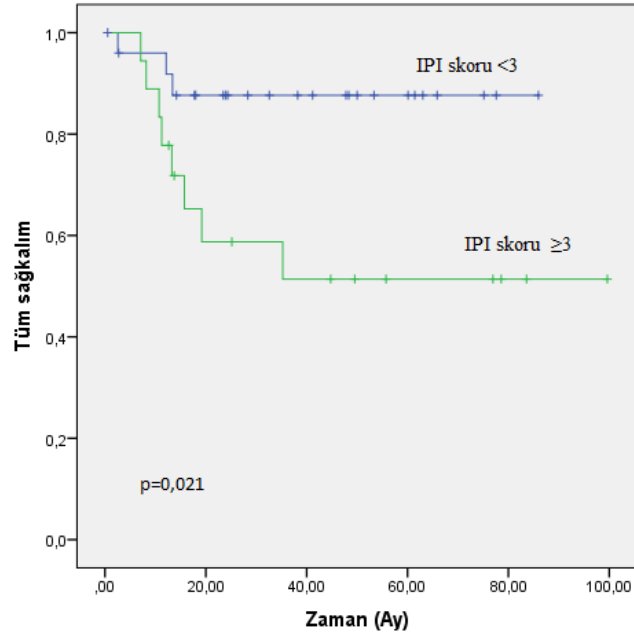
Şekil 10. Hastaların genel ve progresyonsuz sağkalım eğrisi

Bulky hastalığı olanlarda 5 yıllık tahmini OS ve PFS değerleri daha yüksek saptandı. Bunun nedeninin bu hastalara RCHOP'a ek olarak radyoterapi tedavisinin verilmesi olarak düşündük. Splenomegalisi olan hastalarda 5 yıllık OS değeri %40 iken olmayanlarda %79 olarak saptandı ($p=0,02$). Yine yıllık PFS değerleri splenomegalisi olanlarda %30 iken olmayanlarda %73 olarak saptandı ($p=0,047$). (Şekil-11)



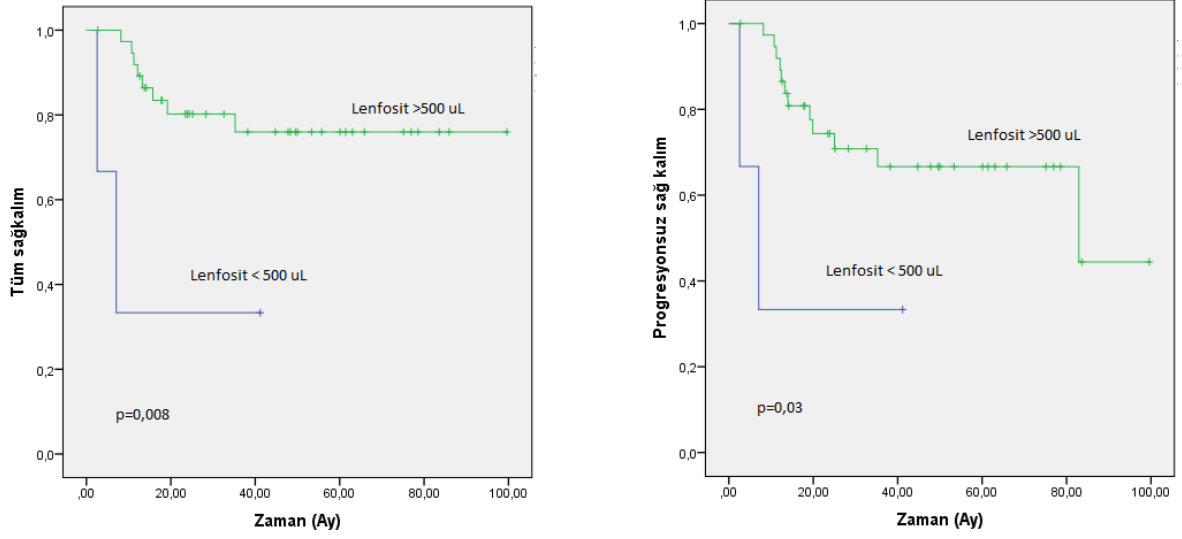
Şekil 11. Splenomegali durumuna göre hastaların genel ve progresyonsuz sağkalım eğrileri

Ekstranodal tutulum olanlarda hem tüm sağkalımlar hem de progresyonsuz sağkalımları daha düşük saptanmıştır. Ama istatistiksel ilişki saptanmamıştır. IPI skoru düşük olan hastalarda istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde 5 yıllık OS değeri %87 iken, yüksek olanlarda %51 olarak saptanmıştır ($p=0,021$). Yine aynı şekilde 5 yıllık PFS IPI skoru düşük olanlarda %87 iken, yüksek olanlarda %45 olarak saptanmıştır. (Şekil-12)



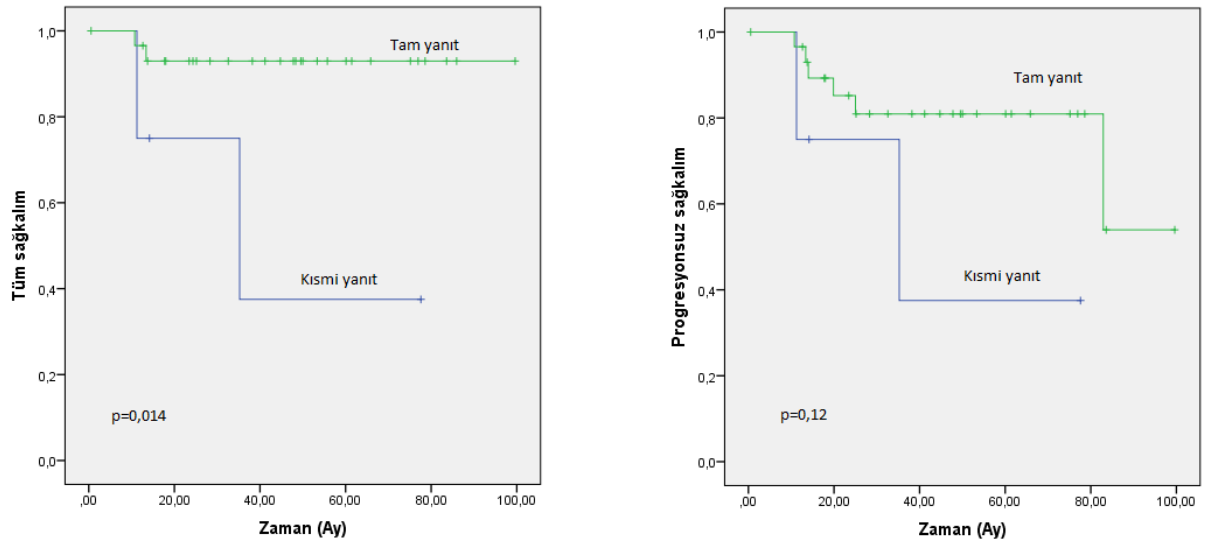
Şekil 12. IPI skor durumuna göre hastaların genel sağkalım eğrisi

Evre açısından bakıldığında erken evre hastaların tahmini 5 yıllık hem OS hem PFS değerleri yüksek saptanmıştır. Ama istatistiksel olarak anlamlı saptanmamıştır. Anemisi olan hastalarda tahmini 5 yıllık hem OS hem PFS değerleri olmayanlara göre düşük saptanmıştır. Lenfosit sayısı açısından lenfosit sayısı <500 uL olan hastalarda tahmini 5 yıllık OS %33 iken, lenfosit sayısı >500 uL olanlarda %7 olarak saptandı ($p=0,008$). Yine tahmini 5 yıllık PFS lenfosit sayısı <500 uL olan hastalarda %33 iken lenfosit sayısı >500 uL olanlarda %66 olarak saptandı ($p=0,032$). (Şekil-13)



Şekil 13. Lenfosit sayılarına göre hastaların genel ve progresyonsuz sağ kalım eğrileri

İstatiksel olarak anlamlı olmamakla beraber LDH değeri normal olan hastalarda yıllık OS ve PFS değeri %100 olarak saptanmıştır. β 2 mikroglobulin değeri düşük olanlarda 5 yıllık OS %100 iken yüksek olanlarda %66 saptanmıştır. PFS değerleri açısından bakıldığında tahmini 5 yıllık PFS β 2 mikroglobulin değeri düşük olanlarda %80 iken yüksek olanlarda %44 olarak saptandı. İstatiksel olarak anlamlı saptanmadı. Albumin değerleri düşük olan hastalarda tahmini 5 yıllık OS hem PFS değerleri düşük saptandı. Birinci basamak tedaviye yanıt oranlarına baktığımızda tam yanıt alınan hastalarda 5 yıllık OS değeri %93 iken kısmi yanıt alınan hastalarda %37 saptanmıştır ($p=0,014$). Yine tam yanıt alınan hastalarda 5 yıllık PFS değeri %80 iken kısmi yanıt alınan hastalarda %37 saptanmıştır.(Şekil-14)



Şekil 14. Hastaların birinci basamak tedaviye yanıt durumuna göre genel ve progresyonsuz sağkalım eğrileri

VEGF boyanma oranları açısından bakıldığında düşük boyanan ve yüksek boyanan hastalarda tahmini 5 yıllık OS %71 olarak saptandı. Düşük boyananlarda tahmini 5 yıllık PFS değeri %63 iken yüksek boyanan hastalarda %73 olarak saptandı. PDGFR- β ile yüksek düzeyde boyananlarda istatistiksel olarak anlamlı olmasa da 5 yıllık tahmini hem OS hem PFS değerlerinde düşme yönünde bir eğilim gözlemlendi. PDGFR- β düşük boyanan grupta tahmini 5 yıllık OS %72 PFS %69 iken, yüksek boyanan grupta OS %70 PFS % 45 saptandı. Trombospondin-1 yüksek düzeyde boyanan grupta 5 yıllık OS % 66 iken, düşük düzeyde boyanan hastalarda %72 saptandı.(Tablo-22)

Tablo 22. Hastaların demografik verileri ,laboratuvar verileri,VEGF,PDGFR- β ,Trombospondin-1 boyanma oranları ile genel ve progresyonsuz sağkalm değerlerinin karşılaştırılması

	5 yıllık OS (%)	<i>p</i>	5 yıluk PFS (%)	<i>p</i>
Cinsiyet				
Kadın	73	0,785	67	0,441
Erkek	69		58	
B Semptom				
Var	71	0,988	61	0,795
Yok	72		65	
Bulky				
Var	80	0,702	80	0,679
Yok	70		60	
Splenomegali				
Var	40	0,02	30	0,047
Yok	79		73	
Ekstranodal tutulum				
Var	58	0,553	58	0,724
Yok	76		65	
Kemik iliği tutulumu				
Var	75	0,810	75	0,595
Yok	71		62	
IPI				
Düşük-orta (IPI<3)	87	0,021	87	0,095
Yüksek (IPI\geq3)	51		45	

Evre	80	0,351	74	0,482
Erken evre (evre ≤2)	64		54	
İleri evre (evre>2)				
Hemoglobin				
<12 g/dL	58	0,140	59	0,359
>12 g/dL	77		63	
WBC				
<10.000 uL	61	0,277	71	0,593
>10.000 uL	75		75	
Lenfosit				
<1000 uL	72	0,705	63	0,859
>1000 uL	72		64	
Lenfosit				
<500 uL	33	0,008	33	0,032
>500 uL	76		66	
LDH				
Yüksek (>220 U/L)	65	0,131	55	0,081
Normal (<220 U/L)	100		100	
β 2 mikroglobulin				
<2,5	100	0,138	80	0,209
>2,5	66		44	
Albumin				
<3,5 g/dL	55	0,096	55	0,416
>3,5 g/dL	74		62	
Kreatin				
Normal (<1.2 mg/dL)	72	0,496	63	0,385
Yüksek (>1.2 mg/dL)	66		66	

Birinci basamak tedaviye yanıt				
Kısmi yanıt	37	0,014	37	0,12
Tam yanıt	93		80	
VEGF				
Düşük (<2)	71	0,689	63	0,473
Yüksek (≥2)	71		71	
PDGFR				
Düşük (<2)	72	0,773	69	0,276
Yüksek (≥2)	70		45	
Trombospondin				
Düşük (<2)	72	0,500	64	0,679
Yüksek (≥2)	66		66	

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

DBBHL,yetişkinlerdeki NHL'lar içerisinde en sık görülen alt tipidir ve vakaların yaklaşık olarak %40'ını oluşturur. Antrasiklin bazlı tedaviler ile ilk basamak tedavide yüksek oranda kür saptanır. İlk tedaviye tam yanıt veremeyen hastalarda ise prognoz daha kötü olduğu ve uzun süreli sağkalımın daha az olduğu gözlenmiştir. Bu nedenle bu spesifik ve geniş hasta grubu için daha etkin ve daha az toksik kemoterapi ilaçları ve biyolojik ajan araştırılmasına yönelik çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalardaki tedavi hedefleri arasında günümüzde önemi giderek artan ve birçok kanser tedavi araştırmalarının da başlıca konusu olan anjiogenez bulunmaktadır².Bizim bu çalışmadaki amacımız da LAP biopsisi sonucu DBBHL tanısı alan hastalarda doku preparatlarında immunhistokimyasal olarak antianjiyogenik faktör trombospondin-1 başta olmak üzere anjiyogenik VEGF ve PDGFR-β'nin boyanma oranları ile laboratuvar bulguları,tedaviye yanıt ve prognoz arasındaki ilişkiyi araştırmaktır. Hastaların sağkalım analizlerini etkileyen birçok prognostik faktör vardır.Bu yüzden biz de çalışmamızda hastaların prognozunu etkileyebilecek birçok faktörü içine alan multivaryant bir retrospektif bir çalışma yaptık.

İnsan lenfomalarındaki tümör anjiyogenezinin potansiyel önemi tümör progresyonu ile anjiyogenik aktivite artışı arasındaki ilişkidir.Yapılan çalışmalarda tümör vasküler çevresi yanısıra tümör hücrelerinin anjiyogenik özelliklerinde önemli olduğunu , bu da bize lenfoma alt tiplerinin anjiyogenik aktivitede önemli olduğu göstermiştir. VEGF hem fizyolojik hem de patolojik anjiyogenezde en önemli anjiyogenik mediatördür. Trombospondin hücre dışı reseptörler, solubl sitokinler, büyüme faktörleri, ekstrasellüler matriks komponentleri, proteozomlar ile etkileşime geçerek direk ya da indirek yolla anjiyogenez inhibe eden bir extracellüler proteindir^{74,75}. Trombospondin kanser patogenezinde önemli olan anjiyogenez ve metastazı inhibe eder¹²⁵. PDGF, VEGF ve diğer stromal anjiyogenik faktörler ile sinerjistik etkileşim halinde proliferasyon, kemotaksis, dokuların şekillenmesi, anjiyogenezis ve iskelet kas rejenerasyonu gibi birçok fonksiyona sahip önemli anjiyogenik faktördür¹²⁶.

Hastaların VEGF,PDGFR-β,trombospondin-1 boyanma oranları açısından kontrol grubu ile karşılaştırıldığında PDGFR-β ile boyanmanın hastalarda daha düşük oranda olduğunu gördük. (p=0,009).Hastaların büyük bir kısmının (%88,6) 'sının VEGF ile boyandığı , ama

trombospondin-1 ile boyanma oranının düşük (%11,4) olduğu gözlemlendi. Trombospondin-1 ve PDGFR- β boyanması arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde negatif korelasyon yani pdgfr 'nin boyanma oranı artarken trombospondin boyanma oranının azaldığını tespit ettik ($p=0.003,r=-0.440$). VEGF 'ün fazla boyanıp,trombospondin-1'in az boyanması bize lenfomada dengenin anjiyogenetik faktörlerden yana olduğunu gösteriyor.Ayrıca trombospondin-1 boyanma oranı az iken anlamlı bir şekilde PDGFR β boyanma oranının fazla olması bunu destekler. Yine Semra Paydaş ve arkadaşlarının yaptığı başka bir çalışmada 88 DBBHL hastasının patoloji preparatlarının TSP-1 ekspresyonu oranı %14,8 olarak saptanmış olup,prognostik faktörler ve sağkalım ile ilişkisi gösterilememiştir ¹²⁷.

Hastaların VEGF ve TSP-1 boyanma oranı erkeklerde , PDGFR- β boyanma oranının ise bayanlarda daha yüksek olduğu gözlemlendi. Semra Paydaş ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada NHL tanılı hastaların doku preparatlarında yapılan çalışmada TSP-1 ekspresyonunun erkeklerde daha fazla olduğu gözlenmiştir ¹²³.

Hastaların VEGF boyanma oranları ile demografik verileri IPI skoru, B semptom, evre, kemik iliği tutulumu, hepatomegali, splenomegali, bulky hastalık, ektranodal tutulum, radyoterapi tedavisi, birinci basamak tedaviye refrakter olma ve relaps açısından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. Refrakter ve relaps olan hastalarda VEGF' ün daha düşük oranda boyandığı gözlenmiş ama istatistiksel fark saptanmamıştır.IPI skoru düşük olanlarda VEGF düşük oranda saptanmış.VEGF düşük oranda boyanan hastalarda ektranodal tutulum, hepatomegali, bulky hastalık, splenomali, kemik iliği tutulumu, refrakter ve relaps oranı yüksek saptandı. Literatürlere bakıldığında genelde serum VEGF düzeyi ile kanserlerin progresyonu ve prognozu arasındaki ilişkiyi gösteren çalışmalar vardır. VEGF ekspresyonu DBBHL, periferel T hücreli lenfoma, mantle hücreli lenfoma, primer efüzyon lenfoması gibi agresif lenfoma alttiplerinde yüksek oranda ^{115,116} ve yavaş seyirli kronik lenfosittik lösemi/küçük lenfosittik lösemi(KLL/SLL) de hafif artışı ortaya konmuştur¹¹⁷. Özellikle akut lenfositik lösemi ve lenfomalarda VEGFR-1 ve VEGFR-2 eksprese ettiği gözlenen bazı tümör hücrelerinde ,tümör hücrelerinin otokrin mekanizmalar ile sağkalımını, metastazını ve proliferasyonunda rol aldığı saptanmıştır ^{128,129}.

Sari Riijarvi ve arkadaşlarının 102 yüksek riskli 65 yaş altı hastalarda yaptığı çalışmada IPI skoru ve performans skoru yüksek olan hastalarda serum VEGF

seviyelerinin istatistiksel olarak yüksek olduğu saptanmış olup, serum VEGF seviyesi ile cinsiyet, B semptom, bulky hastalığı arasında bir ilişki saptanmamıştır¹¹⁸. Yine Petri Salven ve arkadaşlarının 200 NHL hastası üzerinde yaptığı çalışmada serum VEGF seviyeleri ile evre, bulky hastalığı, B semptomu olması, ektranodal tutulum ve histolojik grade arasında anlamlı ilişki olmamasına rağmen, performans skoru (ECOG) ve IPI arasında anlamlı ilişki saptanmıştır¹³⁰.

Bir başka çalışmada Hazar ve ark. VEGF negatif NHL hastalarda VEGF pozitif NHL hastalara göre tedavi cevabın daha iyi olduğunu ortaya koydular¹³¹. Niitsu ve ark. da tedaviye dirençli NHL hastalarında VEGF düzeyinin daha yüksek olduğu saptadılar¹³². Salven ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada serum VEGF seviyesinin NHL hastaları için kötü prognozun bağımsız göstergesi olduğu gösterilmiştir. 200 NHL hastası üzerinde yaptığı çalışmada tedavi öncesi yüksek serum VEGF seviyeleri (462 pg ml^{-1}) yüksek LDH seviyeleri, düşük performans durumu ve düşük sağkalım ile ilişkili saptanmıştır. 5 yıllık sağkalım oranı serum VEGF seviyesi yüksek olanlarda %31 iken, düşük olanlarda %61 saptanmış ($p < 0.001$). DBBHL hastalarında ($n=78$) ise 5 yıllık sağkalım VEGF serum seviyesi yüksek olanlarda %30, düşük olanlarda %53 saptanmış ($p < 0.001$)¹³⁰. Bizim çalışmamızda doku düzeyinde VEGF ekspresyonu ile tüm sağkalım ve progresyonsuz sağkalım arasında anlamlı bir ilişki saptanmadı. Bizim çalışmamızda hasta ve kontrol sayısının az olması nedeni ile istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptayamamış olabiliriz.

DBBHL hastalarında doku düzeyinde VEGF ekspresyonunun prognostik değeri belirsiz olmakla beraber¹³³, serum VEGF seviyeleri ile yapılan çalışmalarda kötü prognozla ilişkili bulunmuştur³. Doku düzeyindeki ekspresyonunun belirsiz olmasının sebepleri arasında VEGF'nin birçok inflamatuvar süreç ile etkileşim halinde olması nedeni ile doku düzeyinde ekspresyonunu etkileyen birçok faktör olmasına bağlı olabileceğini düşündük.

Antianjiyogenik tedavinin prototipi olan Bevasizumab VEGF-A insan monoklonal antikordur. İleri kolorektal kanserde, KHDAK'de, meme kanserinde, renal hücreli karsinomada ve glioblastomada kullanılmaktadır. Diğer solid organ kanserlerinde araştırmalar devam etmektedir^{134,135}. Ganjoo ve ark. daha önce tedavi almamış düşük riskli 13 DBBHL hastası üzerinde yaptığı faz 1 çalışmada standart R-CHOP kemoterapisine Bevasizumab eklenmiş. Bu çalışmada Bevasizumab ile rituksimab arasındaki farmakokinetik etkileşim, bevasizumab güvenilirliği ve zamanlaması

araştırılmıştır. 17 aylık ortalama takip sonrası 13 hastanın dokuzunda 1 yıllık progresyonsuz sağkalım %77 olarak saptanmıştır. Bu sonuç R-CHOP kemoterapisinde beklenenden fazla değil, yüksek risk grubu olması ve hasta sayısının azlığı da düşünülürse daha çok çalışma yapılması gerekmektedir¹²⁰.

PDGFR- β boyanma oranları ile demografik veriler karşılaştırıldığında IPI skoru ve evresi yüksek olan hastalarda daha az boyanma olduğu izlendi. PDGFR- β yüksek oranda boyanan hastalarda daha düşük oranda kemik iliği tutulumu, hepatomegali, splenomegali, bulky hastalık, ektranodal tutulum ve relaps saptandı. İstatistiksel anlamlı bir ilişki saptanmadı. PDGFR- β yüksek oranda boyanan hastalarda hiç refrakter olan hasta çıkmadı. Hasta ve kontrol sayımızın az olması nedeni ile demografik veriler ile istatistiksel bir ilişki saptanamadı. Sağkalım analizlerine baktığımızda PDGFR- β boyanma oranı yüksek olan grupta hem OS hem PFS değerleri daha düşük olma eğilimi olduğu dikkatimizi çekti. PDGFR- β düşük boyanan grupta tahmini 5 yıllık OS %72 PFS %69 iken, yüksek boyanan grupta OS %70 PFS %45 saptandı. DBBHL hastaları üzerinde doku preparatlarında PDGFR- β ekspresyonu ile prognoz arasındaki ilişkiyi belirten çok fazla çalışma yoktur. PDGF reseptörü olan PDGFR- β 'ya ligandının bağlanması sonucunda hücre proliferasyonu, diferansiyasyonu ve göçünü indükleyen tirozin kinaz yolu aktive olur. İmatinib ve sunitinib gibi PDGFR - β 'yı hedefleyen tirozin kinaz inhibitörlerinin damar etrafındaki perisit yoğunluğunu azaltarak ve anjiyogenezi zayıflatarak bazı solid tümörlerde etkili olduğu gösterilmiştir^{136,137}. PDGFR- β 'nın fonksiyonel blokaj yapıldığı yenidoğan fare modellerinde damar düz kas hücrelerin birikiminin inhibe olduğu, vasküler endotelial hücrelerin apoptozunun indüklendiği ve glomerüler damar ağı oluşumunun olumsuz etkilendiği gözlenmiştir¹³⁸. Jia Ruan ve ark. PDGFR - β 'yı hedef alan imatinib ile fare lenfomalarında yaptıkları çalışmada perisitlerde antianjiyogenik etkileri göstermişlerdir. 3 çeşit DBBHL modelinin olduğu farelerde 2-3 haftalık imatinib tedavisiyle PDGFR - β + perisitlerin apoptozuna ve tümör volümünün anlamlı bir şekilde azalmasına yol açtığı gözlenmiştir. PDGFR- β eksprese eden perisitlerin azalması, CD 31 + vasküler endotel hücrelerinin apoptozunun artması ve tümör vaskülaritesinin azalmasına bağlı olduğu düşünülmüştür⁴.

Trombospondin-1 boyanma oranları ile demografik verileri karşılaştırıldığında yüksek oranda boyama saptanan hastaların hepsinde B semptomu vardı ve hiçbirinde kemik iliği tutulumu, hepatomegali, bulky hastalık, ektranodal tutulum, tedaviye refrakterlik ve relaps

saptanmadı. Trombospondin-1 boyanma oranının çok düşük olması, hasta ve kontrol sayısının az olması nedeni ile istatistiksel anlamlı bir ilişki saptanmadı. Sağkalım analizlerine baktığımızda trombospondin-1 yüksek düzeyde boyanan grupta 5 yıllık OS değerinin istatistiksel olarak anlamlı olmasa da düşük düzeyde boyanan hastalara oranla daha düşük düzeyde olduğu gözlemlendi. Trombospondin ile ilgili yapılan çalışmalar sonucunda bazı birbiri ile çelişebilen sonuçlar bulunmuştur. Bazı çalışmalarda trombospondinin tümör progresyonunu ve anjiyogenezinin negatif düzenleyicisi olduğu gösterilmiştir. Meme, deri, kolorektal, glioblastome, hemanjioblastom gibi tümör hücre serilerinde trombospondinin yüksek düzeyde ekspresyonunun tümör hücre anjiyogenezi ve progresyonunu inhibe ettiği gözlenmiştir^{5,6}. Öte yandan trombospondin birçok epiteliyal kanserde ekstrasellüler matrikste adeziv protein olarak bulunup kanser progresyonunda etkili olduğu gösterilmiştir. Çünkü trombospondin -1 birçok adenokanser modelinde plazminojen/plazmin sistemini aktive ettiği; tümör progresyonu ve metastazını arttırdığı gösterilmiştir⁸⁰. Semra paydaş ve arkadaşlarının 177 NHL hastasının doku preparatları üzerinde yaptığı çalışmada trombospondin ekspresyonunun agresif morfoloji ile ilişkili olduğu saptandı. Bunun yanında hem trombospondin hem de survivin eksprese eden hastaların hem agresif morfoloji hem de daha kısa OS 'ye sahip olduğu gösterildi. Bunun dışında günlük pratikte kullanılan B semptom, ektranodal tutulum, hepatomegali, splenomegali, performans skoru arasında ilişki saptanmamıştır¹²³.

Yine çalışmamızda immunhistokimyasal boyanma oranı ile laboratuvar verilerini karşılaştırdığımızda VEGF boyanma oranı arttıkça ortalama hemoglobin, nötrofil, lenfosit, monosit, trombosit değerlerinde ve yaş ortalamasında düşme olduğu dikkati çekti. PDGFR- β ve TSP-1'in laboratuvar değerleri ile anlamlı bir ilişki saptanmadı. Yine buna paralel olarak hemoglobin, WBC, nötrofil, lenfosit değerleri düşük olan hastalarda hem genel sağkalımın hem progresyonsuz sağkalımın düşük olduğu gözlemlendi. Hong J. ve arkadaşlarının 87 DBBHL tanı R-CHOP tedavisi alan hastalarda tedavi öncesi ve tedavi sonrası hemoglobin değerlerinin 6 aylık bir periyotta izlenmiş, aneminin çok güçlü bir prognostik faktör olduğu gösterilmiştir¹³⁹. Bu çalışmayla uyumlu olarak anemisi olan hastalarda tahmini 5 yıllık OS %58 PFS %59 iken, olmayanlarda 5 yıllık OS %77, PFS %63 olarak saptanmıştır. Lenfopeni birçok malignitede kötü prognostik faktör olmakla beraber yapılan çalışmalarda Hodgkin lenfoma, T ve B hücreli NHL hastalarının sağkalımı olumsuz yönde etkilediği gösterilmiştir^{140,141}. Bizim çalışmamızda da özellikle lenfosit

sayısı <500 uL olan hastalarda istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde 5 yıllık hem OS hem PFS değerleri düşük saptandı.(OS için $p=0,008$,PFS için $p=0,032$).

Hastalarımızın büyük bir çoğunluğunda (%79,5) LDH yüksekliği saptandı.Özellikle . VEGF +3 boyanan hastaların ortalama LDH değerinin çok yüksek olduğu izlendi .Hasta ve kontrol grubunun laboratuvar değerleri karşılaştırıldığında LDH, beta 2 mikroglobulin, sedimentasyon, CRP değerlerinin istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek olduğu, albümin değerlerinin düşük olduğu saptandı.($p=0.016$, $p= 0.019$, $p= 0.024$, $p <0.001$, $p=0.008$)

Jung SH ve arkadaşlarınca yapılan çalışmada 213 R-CHOP kemoterapisi almış DBBHL olgusunun inflamasyon skoru ve LDH seviyesi ile sağkalım arasındaki ilişki araştırılmıştır. Hastalar LDH'a dayalı Glaskow prognostik skora (L-GPS) göre 3 gruba ayrılmıştır: LDH yüksekliği, hipoalbuminemi, CRP yüksekliğinin üçünün de olduğu grup (L-GPS2),hehangi bir veya ikisinin olduğu grup (L-GPS1),hiçbirinin olmadığı grup (L-GPS0).Multivaryant analizlerine göre genel sağkalımın bağımsız kötü prognostik faktörleri L-GPS2 (Hazard ratio (HR)=5.898, $p = 0.001$) ve ECOG>2 (HR 3.525, $p = 0.001$) saptanmıştır. Progresyonsuz sağkalımın bağımsız kötü prognostik faktörleri L-GPS 2 (HR= 5.415, $p = 0.001$), ECOG ≥ 2 (HR 3.504, $p = 0.001$) and bulky lezyonu (HR 2.030, $p = 0.039$) olduğu gösterilmiştir. R-CHOP 'a tam yanıt oranları da gruplara göre değişmektedir. 96.7% L-GPS 0 olan grupta %96,7, L-GPS 1 olan grupta %87 and L-GPS 2 olan grupta 75% ($p = 0.009$) olarak saptanmıştır¹⁴². Bizim çalışmamızda da LDH yüksekliği olan hastaların 5 yıllık genel sağkalımı % 65, normal olanlarda ise %100 olarak saptanmıştır. Yine 5 yıllık progresyonsuz sağkalımı LDH yüksekliği olan hastalarda % 55,normal olanlarda ise %100 olarak saptanmıştır.

Trebouet A ve arkadaşlarının %88'inin DBBHL tanısı olan 234 lenfoma tanılı 90 yaş üstü olgularda yaptığı çalışmada agresif NHL tanılı hastalarda hipoalbumineminin güçlü ve bağımsız negatif prognostik değişken olduğu saptanmıştır¹⁴³. Yine Gandarillas MA ve ark. yaptığı başka bir çalışmada genel sağkalımının bağımsız kötü prognostik faktörleri arasında hipoalbuminemi ($p = 0.01$; $RR = 2.28$), $ECOG > 2$ ($p < 0.00001$; $RR = 6.07$) gösterilmiştir¹⁴⁴. Bizim çalışmamızda da hipoalbuminemi olan hastaların 5 yıllık genel sağkalımı %55, olmayanlarda %74 olarak saptandı. Hipoalbuminemi olan hastalarda 5 yıllık progresyonsuz sağkalım %55, olmayanlarda ise %62 olarak saptanmıştır.

Melchardt T ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 2004-2013 yılları arasında tedavi almış 499 DBBHL tanılı hastalarda yapılan retrospektif çalışmada beta 2 mikroglobulin ve albüminin sağkalım analizlerine göre bağımsız kötü prognostik faktör olduğu gösterilmiştir¹⁴⁵. Bizim çalışmamızda ise beta 2 mikroglobulin ile genel ve progresyonsuz sağkalım arasında istatistiksel ilişki bulunamamıştır.

Hastaların prognozunu etkileyen diğer prognostik faktörler incelendiğinde %43,2'sinde B semptomu, %13,6'sında hepatomegali, %25'inde splenomegali, %9,1'inde kemik iliği tutulumu, %11,4'ünde bulky hastalık saptandı. Literatürlere bakıldığında DBBHL lenfoma olgularının %30 'unda B semptomu saptanır¹. Literatürlerde ektranodal tutulum oranı %30-40 civarında olup¹⁸ bizim çalışmamızda lenfadenopati biopsisi sonrası tanı alan hastalar olduğu için ektranodal tutulum oranı düşük saptanmıştır. Ayrıca çalışmamıza alınan hastalarda B semptom varlığı, hepatomegali, kemik iliği tutulumunun hem OS hem PFS üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir etkisinin olmadığını gördük. Literatürlere göre genel prognostik faktör olan bu bulguların istatistiksel olarak sağkalım ile ilişkisini saptayamamızda hasta sayımızın az olması etkili olmuştur. Prognostik önemi bilinen ektranodal tutulum olanlarda hem tüm sağkalımlar hem de progresyonsuz sağkalımları daha düşük saptanmıştır. Ama istatistiksel ilişki saptanmamıştır. Bulky hastalığı olanlarda 5 yıllık tahmini OS ve PFS değerleri daha yüksek saptandı. Bunun nedeninin bu hastalara RCHOP'a ek olarak radyoterapi tedavisinin verilmesi olarak düşündük. Splenomegali hem evrelemede hem de prognozda önemli bir etmendir. Çalışmamızda splenomegalisi olan hastaların 5 yıllık hem OS hem PFS değerlerinin istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde düşük olduğunu saptadık.

IPI skoru yüksek olan hastalarda B semptomu, hepatomegali, splenomegali, kemik iliği tutulumu, ektranodal tutulumun daha yüksek olduğu gözlemlendi. Ayrıca sağkalım

analizlerinde IPI<3 olan hastalarda istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde 5 yıllık OS yüksek saptanmıştır.(p=0,021) IPI<3 olan hastalarda 5 yıllık OS ve PFS %87 iken, IPI skoru \geq 3 olan hastalarda 5 yıllık OS %51, PFS %45 olarak saptandı.

Evre açısından bakıldığında erken evre hastaların tahmini 5 yıllık hem OS hem PFS değerleri yüksek saptanmıştır.Ama istatistiksel olarak anlamlı saptanmamıştır. Ölümün genelde ileri evreli hastalarda olduğu gözlemlendi. Ölenlerin 2'si (%18,2) evre I, 2'si (%18,2) evre II, 3'ü(%27,3) evre III,4'ü (36,4) evre IV idi. İzlemede ölen hastaların büyük çoğunluğunun (%63,7) ileri evrede (\geq 3) olduğu gözlemlendi.

DBBHL agresif lenfomalar olmalarına rağmen bugüne kadar geliştirilen antrasiklin bazlı kemoterapiler ile Rituksimab kombinasyonu tedaviler hastaların %70'inde kür sağlamıştır ¹⁴⁶. Bizim çalışmamızda da ilk basamak tedaviyle tam kür oranı %68,2 saptanmış olup literatürler ile uyumlu saptanmıştır. Burada dikkatimizi çeken nokta R-CHOP alan hastalarımızdaki tam yanıt oranı %90,6 olarak saptanmıştır. Bu da literatürlere göre daha yüksek bir yanıt oranının olduğunu gösterir.Bunda hastaların çoğunluğunun performans ve IPI skorunun düşük olması ,erken evrede tanı alan hasta popülasyonunun fazla olmasının etkisi olduğunu düşündük. İlk basamak tedaviye tam yanıt verenlerde 5 yıllık OS %93,PFS %80 iken kısmi yanıt veren hastaların 5 yıllık hem PFS hem OS %37 olarak saptanmıştır. İlk tedaviye tam yanıt veremeyen hastalarda prognoz daha kötü olduğu ve uzun süreli sağkalımın daha az olduğu gözlemlenmiştir. Tanıdaki evreye göre tedavi yanıtları değerlendirildiğinde evre ilerledikçe tam yanıt oranının belirgin gerilediği gözlemlendi. Evre I olgularda tam yanıt oranı %100, evre II olgularda %90,9, evre III olgularda %90,9, evre IV olgularda ise %66,7 olarak bulundu.

Sonuçta; VEGF ile demografik veriler ve sağkalım arasında ilişki saptanmasa da prognostik önemi olan anemi,lökopeni,lenfopenisi olan hastalarda VEGF boyanma oranının fazla olduğu gözlemlendi. PDGFR- β 'nın istatistiksel olarak anlamlı olmasa da yüksek düzeyde eksprese eden hastalarda 5 yıllık hem OS, hem PFS değerlerinin düşük olduğunu ,tam tersine trombospondin boyanma oranı yüksek olanlarda 5 yıllık OS'nin düşük olduğu izlendi.Trombospondin-1 ile PDGFR- β arasında negatif bir korelasyon olduğu görüldü. (p=0.003,r=-0.440) Bunun yanında çalışmamızda kontrol grubu olarak kullanılan hastalar lenfoma şüphesiyle lenf nodu eksizyonel biyopsisi yapılmış ve patolojik incelemede reaktif lenf nodu olarak değerlendirilmiş vakalardı. Reaktif lenf nodu oluşturacak viral enfeksiyon gibi etkenlerin anjiogenetik ekspresyon profilini bozabileceği dikkate alınmalıdır. Bu

sebepten iki grubumuz arasında anlamlı bir fark tespit edememiş olabiliriz. Ancak, çalışmamızdan çıkarılacak diğer bir sonuçta, reaktif/tümoral lenf nodu büyümesi ayrımında anjiogenetik faktör ekspresyonunun kullanılmaması olmalıdır. Çalışmamızda anemi, lökopeni, lenfopeni, LDH yüksekliği, hipoalbuminemi, splenomegali, ektranodal tutulum, IPI skoru, evrenin sağkalımda önemli prognostik faktörler olduğunu gördük. DBBHL hastalarında tedaviye yönelik daha geniş hasta ve kontrol grubunun bulunduğu , genetik çalışmalar ve multiple immunohistokimyasal belirteçlerin bakılmasıyla VEGF, PDGFR- β , trombospondin-1 hedef alınarak yapılan çalışmalarla gelecekte kişiye ve DBBHL tipine özel ajanlar geliştirilebilir.



6. SONUÇLAR

1. Çalışmamızdaki 24'ü erkek,20'si bayan toplam 45 DBBHL tanılı hasta grubunun yaş ortalaması $60,55 \pm 11,23$ yaş(ortanca 60 yaş) olup literatürler ile uyumludur.
2. Tanı sırasında hastaların sekizi evre I (% 18,2), on üçü evre II (% 29,5), on dördü evre III (% 31,8) ve dokuzu evre IV (% 20,5) olarak tespit edildi
3. Olgularımızın 19'unda (% 43,2) B semptomu tanı anında mevcut olduğu, dört hastada (%9,1) kemik iliği tutulumunu,6'sında (%13,6) hepatomegali olduğunu, 11 hastada (%25) splenomegali olduğunu , 8'inde (%18,2) ektranodal tutulum olduğunu,5 (%11,4) hastada bulky hastalık olduğu gözlemlendi.
4. Hastaların ilk basamak tedavi yanıt oranları 30'unda (% 68,7) tam remisyon,4'ü (%9,4) parsiyel remisyon şeklinde saptandı Hastaların %9,1 'i birinci basamak tedaviye refrakter olduğu gözlemlendi.Takiplerinde %11,4 hastada relaps saptanmış olup,bir hastaya OKHN(Otolog kök hücre destekli düşük doz tedavi), bir hastaya alloKHN (allojenik kök hücre transplantasyonu) yapılmıştır.
5. Hastaların son durumuna bakıldığında 11 hasta (%25)'ünün öldüğü,33 hastanın (%75) hastanın yaşadığı gözlenmiştir. .(Tablo-13) Ölümlerin genelde ileri evreli hastalarda olduğu gözlemlendi. Ölenlerin 2'si (%18,2) evre I, 2'si (%18,2) evre II, 3'ü(%27,3) evre III,4'ü (36,4) evre IV idi.
6. Hasta ve kontrolün laboratuvar değerlerinin karşılaştırması sonucunda).LDH,beta 2 mikroglobulin,albümin,sedimentasyon,CRP değerleri arasında anlamlı farklılık saptandı.($p=0.016,p=0.019, p= 0.008, p= 0.024, p <0.001$)
7. VEGF,PDGFR,Trombospondin kendi aralarındaki istatistiksel ilişki araştırıldığında PDGFR- β ile Trombospondin arasında anlamlı negatif korelasyon saptanmıştır ($p=0.003,r=-0.440$) .
8. VEGF boyanma oranları ile laboratuvar verileri karşılaştırıldığında VEGF boyanma oranı arttıkça ortalama hemoglobin,nötrofil,lenfosit, monosit ,trombosit değerlerinde ve yaş ortalamasında düşme olduğu dikkati çekti.İstatistiksel olarak anlamlı saptanmadı.

9. Hastaların ortalama 30 aylık takip süresinde genel sağkalımı (OS) %71, progresyonsuz sağkalımı %63 olarak saptandı.
10. Splenomegalisi olan hastalarda 5 yıllık OS değeri %40 iken olmayanlarda %79 olarak saptandı ($p=0,02$).Yine yıllık PFS değerleri splenomegalisi olanlarda %30 iken olmayanlarda %73 olarak saptandı ($p=0,047$).
11. IPI skoru düşük olan hastalarda istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde 5 yıllık OS değeri %87 iken,yüksek olanlarda %51 olarak saptanmıştır ($p=0,021$).Yine aynı şekilde 5 yıllık PFS IPI skoru düşük olanlarda %87 iken ,yüksek olanlarda %45 olarak saptanmıştır.
12. Lenfosit sayısı açısından lenfosit sayısı <500 uL olan hastalarda tahmini 5 yıllık OS %33 iken, lenfosit sayısı >500 uL olanlarda %7 olarak saptandı ($p=0,008$).Yine tahmini 5 yıllık PFS lenfosit sayısı <500 uL olan hastalarda %33 iken lenfosit sayısı >500 uL olanlarda %66 olarak saptandı ($p=0,032$).
13. LDH değeri normal olan hastalarda yıllık OS ve PFS değeri %100 olarak saptanmıştır.β 2 mikroglobulin değeri düşük olanlarda 5 yıllık OS %100 iken yüksek olanlarda %66 saptanmıştır.PFS değerleri açısından bakıldığında tahmini 5 yıllık PFS β 2 mikroglobulin değeri düşük olanlarda %80 iken yüksek olanlarda %44 olarak saptandı.İstatistiksel olarak anlamlı saptanmadı.Albumin değerleri düşük olan hastalarda tahini 5 yıllık he OS hem PFS değerleri düşük saptandı.
14. Birinci basamak tedaviye yanıt oranlarına baktığımızda tam yanıt alınan hastalarda 5 yıllık OS değeri %93 iken kısmi tanıt alınan hastalarda %37 saptanmıştır ($p=0,014$). Yine tam yanıt alınan hastalarda 5 yıllık PFS değeri %80 iken kısmi tanıt alınan hastalarda % 37 saptanmıştır.
15. VEGF,PDGFR-β,trombospondin-1 boyanma oranları ile sağkalım analizlerinde anlamlı ilişki saptanmamakla beraber PDGFR-β düşük boyanan grupta tahmini 5 yıllık tahmini hem OS hem PFS değerlerinde düşme yönünde bir eğilim gözlemlendi. Trombospondin-1 yüksek düzeyde boyanan grupta 5 yıllık OS % 66 iken,düşük düzeyde boyanan hastalarda %72 saptandı.

7. ÖZET

Giriş : Diffüz büyük B hücreli Lenfoma(DBBHL)'lar Non Hodgkin Lenfoma (NHL)'ların en sık görülen alt tipini oluşturmaktadır. DBBHL'lar hodgkin dışı lenfomaların %30–40'ını, agresif lenfomaların ise %80'inden fazlasını teşkil eder. Agresif lenfoma olmalarına rağmen antrasiklin bazlı tedavilere yüksek oranda cevap vermektedir. İlk tedaviye tam yanıt veremeyen hastalarda ise prognozun daha kötü olduğu ve uzun süreli sağkalımın daha az olduğu gözlenmiştir.Son yıllarda birçok kanser tedavisine yönelik yapılan çalışmalarda anjiyogenezin çok önemli bir tedavi hedefi olduğu gözlenmiştir.Anjiyogenetik faktörlerin başında VEGF ve PDGF,antianjiyogenik faktörlerin başında trombospondin-1 gelir.serum VEGF seviyeleri yüksek seyreden DBBHL hastalarının prognozunun daha kötü olduğu ile ilgili çalışmalar mevcuttur.Yine DBBHL'lı fare modellerinde PDGFR- β hedef alan imatinib ile tedavilerde anjiyogenezin inhibe olduğu ve tümör volümünün azaldığı gözlenmiştir. Birçok tümör hücre serilerinde trombospondinin yüksek düzeyde ekspresyonunun tümör hücre anjiyogenezsi ve progresyonunu inhibe ettiği gözlenmiştir.Bildiğimiz kadarıyla bu üç faktörün DBBHL hastalarında doku düzeyinde ekspresyonu ile prognoz arasında ilişkiyi gözteren çalışma yok. Bizim bu çalışmadaki amacımız da lenfadenopati biopsisi sonucu DBBHL tanısı alan hastalarda doku preparatlarında trombospondin-1 ,VEGF ve PDGFR- β 'nin boyanma oranları ile laboratuvar bulguları,tedaviye yanıt ve prognoz arasındaki ilişkiyi araştırmaktır.

Gereç ve yöntem:Bu amaçla 24'ü erkek,20'si bayan toplam 44 DBBHL tanılı hasta ve 6'sı erkek 7'si bayan toplam 13 kontrol reaktif lenfadenopati tanılı hasta toplandı. Hasta ve kontrol grubunun patoloji preparatları immunhistokimyasal olarak VEGF,PDGFR- β ,trombospondin-1 boyaları ile boyandıktan sonra laboratuvar verileri ve sağkalım analizleri ile boyanma oranları arasındaki ilişki istatistiksel olarak analiz edildi.

Sonuç:Hastaların VEGF,PDGFR- β ,trombospondin-1 boyanma oranları açısından kontrol grubu ile karşılaştırıldığında PDGFR- β ile boyanmanın hastalarda daha düşük oranda olduğunu gördük. (p=0,009). VEGF ile demografik veriler ve sağkalım arasında ilişki saptanmasa da prognostik önemi olan anemi,lökopeni,lenfopenisi olan hastalarda VEGF boyanma oranının fazla olduğu gözlendi.PDGFR- β 'nin istatistiksel olarak anlamlı olmasa da yüksek düzeyde eksprese eden hastalarda 5 yıllık hem OS,hem PFS

değerlerinin düşük olduğunu , tam tersine trombospondin boyanma oranı yüksek olanlarda 5 yıllık OS'nin düşük olduğu izlendi.Trombospondin-1 ile PDGFR-β arasında negatif bir korelasyon olduğu görüldü. (p=0.003,r=-0.440) Hasta ve kontrol grubunun laboratuvar değerleri karşılaştırıldığında LDH,beta 2 mikroglobulin, sedimentasyon,CRP değerlerinin istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde yüksek olduğu,albümin değerlerinin düşük olduğu saptandı.(p=0.016, p= 0.019, p= 0.024, p <0.001, p=0.008) Anemi, lökopeni, lenfopeni, LDH yüksekliği, hipoalbuminemi, splenomegali, ektranodal tutulum, IPI skoru yüksekliği, ileri evre olan hastalarda hem OS hem PFS değerlerinin daha düşük olduğu izlendi.

Tartışma:Çalışmamızda VEGF ile sağkalım arasında ilişki saptanmasa da PDGFR-β ve trombospondin-1'in prognozda etkili olduğu gözlemlendi. Trombospondin-1 ile PDGFR- β arasında negatif bir korelasyon olduğu görüldü. (p=0.003, r=0.440). Anemi, lökopeni, lenfopeni, LDH yüksekliği, hipoalbuminemi, splenomegali, ektranodal tutulum, IPI skoru, evrenin sağkalımında önemli prognostik faktörler olduğunu gördük .Çalışmadan çıkarılacak bir başka sonuç ise doku düzeyinde anjiyogenetik faktör ekspresyonunu etkileyecek birçok faktör bulunması nedeniyle reaktif/tümoral lenf nodu büyümesi ayırımında anjiogenetik faktör ekspresyonunun kullanılmaması olmalıdır.

Anahtar kelimeler:Diffüz büyük B hücreli lenfoma,trombospondin-1,VEGF,PDGFR-β,prognoz

8. ABSTRACT

Introduction: Diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) is the most common subtype of non-hodgkin's lymphoma (NHL). DLBCL constitute 30-40 % of NHL and more than 80 % of aggressive lymphomas. Despite of aggressive lymphoma is given high rate of response to anthracycline-based therapy. In patients not response to first line treatment was observed having worse prognosis and less long-term survival. In recent years, researches was observed that angiogenesis is an important therapeutic target on many cancer therapies. The best known angiogenic factors are VEGF, PDGF and the best known antiangiogenic factor is thrombospondin-1. Some studies are showed DLBCL patients who have high serum VEGF levels, have worse prognosis. Again in DLBCL mouse models was observed inhibition of angiogenesis and reducing the tumor volume with imatinip treatment targeted PDGFR- β . It was observed that high level expression of thrombospondin inhibits the tumor cell angiogenesis and progression in many of the tumor cell lines. View our knowledge, there is no studies about the relationship between that three angiogenic factors expression levels on tissue and prognosis on DLBCL patients. Our aim of this study is to investigate the relationship between expression levels of VEGF, PDGFR- β , thrombospondin-1 on tissue of DLBCL patients who diagnosed with lymphadenopathy biopsy and laboratory findings, treatment response and prognosis.

Material and methods: For this purpose 44 patients including 24 male and 20 female diagnosed with DLBCL and 13 control patients including 6 male and 7 female diagnosed with reactive lymph nodes were collected. Pathology slides of patients and controls are stained with VEGF, PDGFR- β , thrombospondin-1 as immunohistochemically, then the relationship with staining rates, laboratory data and survival analysis were analyzed as statistical.

Results; When we compared the patients and controls staining rates of VEGF, PDGFR- β , thrombospondin -1, staining with PDGFR- β have seen that at the lower rate in patients. ($p = 0.009$). Although there wasn't a relationship between demographic data and survival with VEGF; patients who have anemia, leukopenia, lymphopenia that known prognostic importance was observed more VEGF staining rate. The patients expressing high levels of PDGFR- β have lower both 5 year OS and 5 year PFS as statistically insignificant, on the contrary the patients who expressing high levels of thrombospondin-1 was observed lower

5 –year OS.It was observed negative correlation between PDGFR- β and thrombospondin-1.($p=0.003$, $r=-0.440$) When we compared to laboratory values of patients and controls LDH, beta-2 microglobulin, sedimentation and CRP values was found statistically higher, albumin levels are found lower in patients. In patients with anemia, leukopenia, lymphopenia, LDH levels, hypoalbuminemia, splenomegaly, extranodal involvement, high IPI score, advanced stages was found both OS and PFS lower.

Discussion : In our study, although there wasn't a relationship between survival and VEGF; it was observed that PDGFR- β and thrombospondin-1 was effective on prognosis. A negative correlation was observed between PDGFR- β and thrombospondin-1.($p=0.003$, $r=-0.440$) We saw that anemia, leukopenia, lymphopenia, LDH levels, hypoalbuminemia, splenomegaly, extranodal involvement, IPI score, stage are important prognostic factors on survival. Another conclusion to be drawn from this study, angiogenic factor expression shouldn't be used for the differentiation of reagent / neoplastic lymph node enlargement because there are many factors that affect the expression of angiogenic factors at tissue.

Key words: Diffuse large B-cell lymphoma, thrombospondin-1, VEGFR, PDGFR- β , prognosis

9. KAYNAKLAR

- 1.Armitage JO; Weisenburger DD. New approach to classifying non-Hodgkin's lymphomas:clinical features of the major histologic subtypes. Non-Hodgkin's Lymphoma Classification Project. J Clin Oncol.1998 Aug;16(8):2780-95.
2. Folkman J. Angiogenesis: an organizing principle for drug discovery? Nat Rev Drug Discov. 2007; 6: 273-86.
3. Bertolini F, Paolucci M, Peccatori F, Cinieri S, Agazzi A, Ferrucci PF, Cocorocchio E, Goldhirsch A, Martinelli G. Angiogenic growth factors and endostatin in non-Hodgkin's lymphoma. Br J Haematol .1999;106:504–9.
- 4.Ruan J, Luo M, Wang C, Fan L, Yang SN, Cardenas M, Geng H, Leonard JP, MelnickA, Cerchietti L, Hajjar KA. Imatinib disrupts lymphoma angiogenesis by targeting vascular pericytes. Blood. 2013 Jun 27;121(26):5192-202.)
- 5.Scarpino S, Di Napoli A, Taraboletti G, Cancrini A, Ruco LP.Hepatocyte growth factor (HGF) downregulates thrombospondin-1(TSP-1) expression in thyroid papillary carcinoma cells. J Pathol 2005;205:50–6.
- 6.YeeKO, Streit M, Hawighorst T, Detmer M, Lawler J. Expression of the type-1 repeats of thrombospondin-1 inhibits tumor growth through activation of transforming growth factor-. AmJ Pathol 2004;165:541–52.
- 7.Ferlay J, Bray F, Pisani P, Parkin DM. Estimating the world cancer burden: Globocan 2000. Int J Cancer.2001;94:153-156.
- 8.T.C. Sağlık Bakanlığı Sağlık İstatistikleri Yıllığı 2010. [http://sbu.saglik.gov.tr / Ekutuphane/ kitaplar/saglikistatistikleriyilligi 2010.pdf](http://sbu.saglik.gov.tr/Ekutuphane/kitaplar/saglikistatistikleriyilligi2010.pdf) (erişim: 17.08.2013)
- 9.İsıkdogan A, Ayyildiz O, Buyukcelik O, et al.Non-Hodgkin's lymphoma in southeast Turkey:clinicopathologic features of 490 cases. Ann Hematol 2004;83:265-9.
10. Swerdlow AJ. Epidemiology of Hodgkin's disease and non-Hodgkin's lymphoma. Eur Nucl Med Mol Imaging 30 2003;(Suppl. 1):S3-12.
- 11.Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Pileri S, Stein H, Jaffe ES. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. Lyon, France: IARC Press; 2008.)
- 12.<http://www.cancer.org/acs/groups/content/@nho/documents/document/acspc-024113.pdf> (Cancer Facts, erişim: 18.08.2013)
- 13.Ruacan Ş. WHO sınıflamasına genel bakış Epidemiyoloji ve Türkiye dökümü. Türk Hematoloji Derneği – Klinisyen patolog ortak lenfoma kursu.

14. Pathology & Genetics, Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues, World Health Organisation, IARC Press, Lyon 2001
15. Morgan G, Vornanen M, Puitinen J et al. Changing trends in the incidence of non-Hodgkin's lymphoma in Europe. Biomed Study Group. Ann Oncol 1997; 8 (Suppl 2): 49–54.
16. Morton LM, Wang SS, Devesa SS, et al. Lymphoma incidence patterns by WHO subtype in the United States, 1992-2001. Blood 2006; 107:265.
17. Hui D, Proctor B, Donaldson J, et al. Prognostic implications of extranodal involvement in patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with rituximab and cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone. Leuk Lymphoma 2010; 51:1658.
18. Jaffe ES, Harris NL, Stein H, Vardiman JW. World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and Genetics Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. Lyon, IARC Press, 2001;171-6.
19. Avilés A, Neri N, Huerta-Guzmán J. Large bowel lymphoma: an analysis of prognostic factors and therapy in 53 patients. J Surg Oncol 2002; 80:111.
20. Castillo JJ, Winer ES, Olszewski AJ. Sites of extranodal involvement are prognostic in patients with diffuse large B-cell lymphoma in the rituximab era: an analysis of the Surveillance, Epidemiology and End Results database. Am J Hematol 2014; 89:310.
21. Foon KA ve Fisher RI. Lymphomas, In: William's Haematology. Beutler E, Lichtman MA, Coller B, Kipps TJ, Eds. 5th edition, Mc Graw Hill, 2001
22. Yusuf Günaydın., Rituksimab-chop kombinasyon tedavisi alan cd 20 pozitif diffüz büyük b hücreli lenfoma hastalarında prognozun belirlenmesinde R-IPi'nin retrospektif olarak standart ipi ile karşılaştırılmalı değerlendirilmesi. Gazi üniversitesi medikal onkoloji uzmanlık tezi, 2014. Sayfa 5-6.
23. Dr. Burhan Ferhanoglu, Dr. Murat Özbalak. Türk hematoloji derneği Diffuz büyük B hücreli lenfoma kılavuzu 2013.3:2
24. İliçin. Biberoglu. Süleymanlar. Ünal. İç Hastalıkları kitabı . Sayfa 1700
25. Carbone A. Emerging pathways in the development of AIDS-related lymphomas. Lancet Oncol 2003; 4:22.
26. Piris MA. I. Pathological and clinical diversity in diffuse large B-cell lymphoma. Hematol Oncol. 2013; 31 Suppl 1: 23-5

27. Burns B, Warnke R, Doggett R, Rouse R. Expression of a T-cell antigen (Leu-1) by B-cell lymphomas. *Am J Pathol* 1983;113:165-71.
28. Harada S, Suzuki R, Uehira K, Yatabe Y, Kagami Y, Ogura M ve ark. Molecular and immunological dissection of diffuse large B cell lymphoma: CD5+, and CD5- with CD10+ groups may constitute clinically relevant subtypes. *Leukemia* 1999;13:1441-7.
29. Dogan A ve ark. CD10 and bcl-6 expression in paraffin sections of normal lymphoid tissue and B-cell lymphomas. *Am J Surg Pathol.* 2000;24:846-852.
30. Dominis M. ve ark. Diffuse large B-cell lymphoma and its variants. *Croat Med J.* 2002;43:535-40.
31. Lossos IS ve ark. Prognostic biomarkers in diffuse large B-cell lymphoma. *J Clin Oncol* 2006;24:995-1007.
32. Hans CP, Weisenburger DD, Greiner TC, et al. Confirmation of the molecular classification of diffuse large B-cell lymphoma by immunochemistry using a tissue microarray. *Blood* 2004;103:275-282.
33. Li Y, Gordon MW, Xu-Monette ZY, Visco C, Tzankov A, Zou D, Qiu L, Montes-Moreno S, Dybkaer K, Orazi A, Zu Y, Bhagat G, Richards KL, Hsi ED, Choi WW, Han van Krieken J, Huang Q, Ai W, Ponzoni M, Ferreri AJ, Winter JN, Go RS, Piris MA, Moller MB, Wu L, Wang M, Ramos KS, Medeiros LJ, Young KH. Single nucleotide variation in the TP53 3' untranslated region in diffuse large B-cell lymphoma treated with rituximab-CHOP: a report from the International DLBCL Rituximab-CHOP Consortium Program. *Blood.* 2013; 121(22): 4529-40.
34. Hu S, Xu-Monette ZY, Balasubramanyam A, Manyam GC, Visco C, Tzankov A, Liu WM, Miranda RN, Zhang L, Montes-Moreno S, Dybkaer K, Chiu A, Orazi A, Zu Y, Bhagat G, Richards KL, Hsi ED, Choi WW, Han van Krieken J, Huang Q, Huh J, Ai W, Ponzoni M, Ferreri AJ, Zhao X, Winter JN, Zhang M, Li L, Moller MB, Piris MA, Li Y, Go RS, Wu L, Medeiros LJ, Young KH. CD30 expression defines a novel subgroup of diffuse large B-cell lymphoma with favorable prognosis and distinct gene expression signature: a report from the International DLBCL Rituximab-CHOP Consortium Program Study. *Blood.* 2013; 121(14): 2715-24.
35. Kwee, T.C., Kwee, R.M., Nievelstein, R.A. (2008) Imaging in staging of malignant lymphoma: a systematic review. *Blood*, 111 (2), 504-516.)

- 36.Hehn, S.T., Grogan, T.M.,Miller, T.P. (2004) Utility of fine-needle aspiration as a diagnostic technique in lymphoma. *J Clin Oncol*, 22 (15), 3046-3052.
- 37.Rosenberg, S.A. (1977) Validity of the Ann Arbor staging classification for the non-Hodgkin's lymphomas. *Cancer Treat Rep*, 61 (6), 1023-1027
- 38.William's Hematology seventh edition, p1410
- 39.Harrison's Principles of Internal medicine,s 18th,p499
- 40.Bea S. ve ark. Clinicopathologic Significance and Prognostic Value of Chromosomal Imbalances in Diffuse Large B-Cell Lymphomas. *J Clin Oncol* 2004;22:3498-3506.
- 41.Sehn LH,Bery B,Chhanabi M ve ark. The revised International Prognostic Index(R-IPI) is a better predictor of outcome than the standart IPI for patients with diffuse large B cell lymphoma treated with R-CHOP.*Blood* 2007;109:1857-61.
- 42.A predictive model for aggressive non-Hodgkin's lymphoma. The International Non-Hodgkin's Lymphoma Prognostic Factors Project. *N Engl J Med*. 1993;329(14):987.
43. Diebold J, Anderson JR, Armitage JO, Connors JM, Maclennan KA, Müller-Hermelink HK ve ark. Diffuse Large B-cell Lymphoma:A Clinicopathologic Analysis of 444 Cases Classified According to the Updated Kiel Classification. *Leukemia&Lymphoma* 2002;43:97-104.
44. Barrans SL, Carter I, Owen RG, Davies FE, Patmore RD, Haynes AP ve ark.Germinal center phenotype and bcl-2 expression combined with the International Prognostic Index improves patient risk stratification in diffuse large B-cell lymphoma. *Blood* 2002;99: 1136-43.
- 45.Rosenwald A, Wright G, Chan WC, Connors JM, Campo E, Fisher RI ve ark.The use of molecular profiling to predict survival after chemotherapy for diffuse large B-cell lymphoma. *N Eng J Med* 2002;346:1937-47.
- 46.Fisher RI,Miller TP,O'Connor OA ,Diffuse Agressive lymphoma.*Hematology(Am Soc Hematol Educ Program)*.2004:221-36
- 47.Cartron, G., Watier, H., Golay, J.,Solal-Celigny, P. (2004) From the bench to the bedside: ways to improve rituximab efficacy. *Blood*, 104 (9), 2635-2642
- 48.Coiffier, B., Lepage, E., Briere, J., Herbrecht, R., Tilly, H., Bouabdallah, R. ve diğerleri. (2002) CHOP chemotherapy plus rituximab compared with CHOP alone in elderly patients with diffuse large-B-cell lymphoma. *N Engl J Med*, 346 (4), 235-242.

49. Pfreundschuh M, Schubert J, Ziepert M, et al. Six versus eight cycles of bi-weekly CHOP-14 with or without rituximab in elderly patients with aggressive CD20+ B-cell lymphomas: a randomised controlled trial (RICOVER-60). *Lancet Oncol* 2008;9:105–16.
50. McLaughlin, P., Grillo-Lopez, A.J., Link, B.K., Levy, R., Czuczman, M.S., Williams, M.E. ve diğerleri. (1998) Rituximab chimeric anti-CD20 monoclonal antibody therapy for relapsed indolent lymphoma: half of patients respond to a four-dose treatment program. *J Clin Oncol*, 16 (8), 2825-2833
51. Pfreundschuh M, Trümper L, Osterborg A, et al. CHOP-like chemotherapy plus rituximab versus CHOP-like chemotherapy alone in young patients with good-prognosis diffuse large-B-cell lymphoma: a randomised controlled trial by the MabThera International Trial (MInT) Group. *Lancet Oncol*. 2006 May;7(5):379-91.
52. http://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/nhl.pdf.
53. Miller TP, Dahlberg S, Cassady JR, et al. Chemotherapy alone compared to chemotherapy plus radiotherapy for localized intermediate and high grade non-Hodgkin Lymphoma. *N Engl J Med*. 1998;339:21-26
54. Türk Hematoloji derneği yaygın büyük b hücreli lenfoma tanı ve tedavi klavuzu 2012
55. Feugier P, Van Hoof A, Sebban C, Solal-Celigny P, Bouabdallah R, Ferme C, Christian B, Lepage E, Tilly H, Morschhauser F, Gaulard P, Salles G, Bosly A, Gisselbrecht C, Reyes F, Coiffier B. Long-term results of the R-CHOP study in the treatment of elderly patients with diffuse large B-cell lymphoma: a study by the Groupe d'Etude des Lymphomes de l'Adulte. *J Clin Oncol*. 2005; 23(18): 4117-26
56. Cunningham, D., Hawkes, E.A., Jack, A., Qian, W., Smith, P., Mouncey, P. ve diğerleri. (2013) Rituximab plus cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisolone in patients with newly diagnosed diffuse large B-cell non-Hodgkin lymphoma: a phase 3 comparison of dose intensification with 14-day versus 21-day cycles. *Lancet*, 381 (9880), 1817-1826.)
57. Hyder S.M., Stancel G.M. Regulation of angiogenic growth factors in the female reproductive tract by estrogens and progestins. *Mol. Endocrinol.* (1999) 13 806–811.
58. Li WW, Hutnik M, Gehr G. Antiangiogenesis in haematological malignancies. *Br J Haematol* 2008;143(5):622-31.
59. Folkman J. Role of angiogenesis in tumor growth and metastasis. *Semin Oncol* 2002;29(6 Suppl 16):15-8.

60. Shraddha V. Bhadada*, Bhoomika R. Goyal, Mayur M. Patel, Angiogenic targets for potential disorders, *Fundamental and clinical pharmacology*, 25 (2011) 29–47
61. Harrison Principles of Internal Medicine 18 th. sayfa 511-513
62. Shraddha V. Bhadada*, Bhoomika R. Goyal, Mayur M. Patel. Angiogenic targets for potential disorders. *Fundamental & Clinical Pharmacology* 25 (2011) 29–47
63. Hu DE, Hori Y, Fan TP. Interleukin 8 stimulates angiogenesis in rats. *Inflammation* 1993; 17: 135- 143.
64. Kerbel RS. Tumor angiogenesis: past, present and the near future. *Carcinogenesis* 2000; 21: 505- 515.
65. Masabumi Shibuya, Vascular endothelial growth factor and its receptor system: physiological functions in angiogenesis and pathological roles in various diseases, *J. Biochem.* 2013;153(1):13–19
66. Li WW, Hutnik M, Gehr G. Antiangiogenesis in haematological malignancies. *Br J Haematol* 2008;143(5):622-31.
67. Turhan MS. Meme tümörlü hastalarda vasküler endotelial büyüme faktörü, nitrik oksit ve ürokinaz plazminojen aktivator. *İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıpta Uzmanlık tezi*, 2004
68. Merle B, Malaval L, Lawler J, Delmas P, Clezardin P. Decorin inhibits cell attachment to thrombospondin-1 by binding to a KKTR-dependent cell adhesive site present within the N-terminal domain of thrombospondin-1. *J Biochem* 1997;67:75–83.
69. Sutton CD, O'Byrne K, Goddard JC, Marshall LJ, Jones L, Garcea G, et al. Expression of thrombospondin-1 in resected colorectal liver metastases predicts poor prognosis. *Clin Cancer Res* 2005;11:6567-73.
70. Sargiannidou I, Zhou J, Tuszynski GP. The role of thrombospondin-1 in tumor progression. *Exp Biol Med (Maywood)* 2001;226:726-33
71. Adams JC. Thrombospondins: multifunctional regulators of cell interactions. *Ann Rev Cell Dev Biol* 2001;17:25–51.
72. Bocci G, Francia G, Man S, Lawler J, Kerbel RS. Thrombospondin 1, a mediator of the antiangiogenic effects of low-dose metronomic chemotherapy. *PNAS* 2003;100:12917–22.
73. Jimenez, B. *et al.* (2000) Signals leading to apoptosis-dependent inhibition of neovascularization by thrombospondin-1. *Nat. Med.* 6, 41–48

74. Volpert OV, Zaichuk T, Zhou W, Reiher F, Ferguson TA, Stuart PM, et al. Inducer stimulated Fas targets activated endothelium for destruction by anti-angiogenic thrombospondin-1 and pigment epithelium-derived factor. *Nat Med* 2002;5:349–57.
75. Ohta Y, Shridhar V, GP Kalemkerian ve ark. Thrombospondin-1 expression and clinical implications in malignant pleural mesothelioma. *Cancer* 1999; 85 :2570-2576.
76. Lawler J, Detmar M. Tumor progression: the effects of thrombospondin-1 and 2. *Int J Biochem Cell Biol* 2004;36:1038–45
77. Yang QW, Liu S, Tian Y ve ark. Methylation-associated silencing of the Thrombospondin-1 gene in human neuroblastoma. *Cancer Res* 2003; 63: 6299-6310.
78. Scarpino S, Di Napoli A, Taraboletti G, Cancrini A, Ruco LP. Hepatocyte growth factor (HGF) downregulates thrombospondin-1 (TSP-1) expression in thyroid papillary carcinoma cells. *J Pathol* 2005;205:50–6.
79. Yee KO, Streit M, Hawighorst T, Detmer M, Lawler J. Expression of the type-1 repeats of thrombospondin-1 inhibits tumor growth through activation of transforming growth factor- β . *Am J Pathol* 2004;165:541–52
80. Albo D, Tuszynski GP. Thrombospondin 1 up regulates tumor cell invasion through the urokinase plasminogen activator receptor in head and neck cancer cells. *J Surg Res* 2004;120:21–6
81. Grossfeld GD, Carroll PR, Lindeman N ve ark. Thrombospondin-1 expression in patients with pathologic stage T3 prostate cancer undergoing radical prostatectomy: association with p53 alterations, tumor angiogenesis, and tumor progression. *Urology* 2002; 59:97-102 .
82. Fernandez PM, Rickles FR. Tissue factor and angiogenesis in cancer. *Curr Opin Hematol* 2000; 9: 401-406.
83. Hanahan, D. and Folkman, J. (1996) Patterns and emerging mechanisms of the angiogenic switch during tumorigenesis. *Cell* 86, 353_364
84. Kim, K.J., Li, B., Winer, J., Armanini, M., Gillett, N., Phillips, H.S., and Ferrara, N. (1993) Inhibition of vascular endothelial growth factor-induced angiogenesis suppresses tumour growth in vivo. *Nature* 362, 841-844
85. Zhao J, Yan F, Ju H, Tang J, Qin J. Correlation between serum vascular endothelial growth factor and endostatin levels in patients with breast cancer. *Cancer Lett* 2004;204(1): 87-95.

86. Ferrara N, Gerber HP, LeCouter J. The biology of VEGF and its receptors. *Nat Med* 2003;9(6):669-76
87. Tammela T, Enholm B, Alitalo K, et al. The biology of endothelial growth factors. *Cardiovaskuler Res*, 2005;65(3);550-563
88. McColl BK, Stacker SA, Achen MG. Molecular regulation of the VEGF family inducers of angiogenesis and lymphangiogenesis. *APMIS* 2004; 112: 463-480.
89. Ruan J, Hajjar K, Rafii S, Leonard JP. Angiogenesis and antiangiogenic therapy in non-Hodgkin's lymphoma. *Ann Oncol*. 2009 Mar;20(3):413-24.
90. Brown LF, Detmar M, Claffey K, Nagy JA, Feng D, Dvorak AM, Dvorak HF. Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor: a multifunctional angiogenic cytokine. *EXS*. 1997;79:233-69.
91. Ferrara N, Davis-Smyth T. The biology vascular endothelial growth factor. *Endocrin Rev* 1997; 18: 4-25.
92. Kaelin WG Jr. The von Hippel-Lindau tumor suppressor protein and clear cell renal carcinoma. *Clin Cancer Res* 2007; 13: 680s-684s.
93. Ferrara N, Kerbel RS. Angiogenesis as a therapeutic target. *Nature* 2005; 438:967-974.
94. Rak J, Mitsuhashi Y, Bayko L et al. Mutant ras oncogenes upregulate VEGF/VPF expression: implications for induction and inhibition of tumor angiogenesis. *Cancer Res* 1995; 55: 4575-4580.
95. Dews M, Homayouni A, Yu D et al. Augmentation of tumor angiogenesis by a Myc-activated microRNA cluster. *Nat Genet* 2006; 38: 1060-1065.
96. Pegram MD, Reese DM. Combined biological therapy of breast cancer using monoclonal antibodies directed against HER2/neu protein and vascular endothelial growth factor. *Semin Oncol* 2002; 29: 29-37.
97. Mayerhofer M, Valent P, Sperr WR et al. BCR/ABL induces expression of vascular endothelial growth factor and its transcriptional activator, hypoxia inducible factor-1a, through a pathway involving phosphoinositol 3-kinase and the mammalian target of rapamycin. *Blood* 2002; 100: 3767-3775.
98. Abramsson A, Lindblom P, Betsholtz C. Endothelial and nonendothelial sources of PDGF-B regulate pericyte recruitment and influence vascular pattern formation in tumors. *J Clin Invest* 2003; 112: 1142-1151.

99. Benjamin LE, Hemo I, Keshet E. A plasticity window for blood vessel remodelling is defined by pericyte coverage of the preformed endothelial network and is regulated by PDGF-B and VEGF. *Development* 1998; 125:1591–1598
100. Jin DK, Shido K, Kopp HG et al. Cytokine-mediated deployment of SDF-1 induces revascularization through recruitment of CXCR4+ hemangiocytes. *Nat Med* 2006; 12: 557–567.
101. Arai E, Kanai Y, Fujimoto H et al. Regional DNA hypermethylation and DNA methyltransferase (DNMT) 1 protein overexpression in both renal tumors and corresponding nontumorous renal tissues. *Int J Cancer* 2006; 119: 288-96
102. Ross, R., Raines, E. W. and Bowen-Pope, D. F. (1986) The biology of platelet-derived growth factor. *Cell* 46, 155-169
103. Fredriksson, L., Li, H., Eriksson, U.: The PDGF family: four gene products form five dimeric isoforms. *Cytokine & Growth Factor Reviews* ,2004; 15: 197–204.
104. Hellstrom M., Kahen M., Lindahl P., Abramsson A., Betshoholtz C., 1999. Role of PDGF-B and PDGFR- β in Recruitment of Vascular Smooth Muscle Cell and Pericytes During Embryonic Blood Vessel Formation in the Mouse. *Dev.*, 126,304.
105. Fredriksson L., Li H., Eriksson U., 2004. The PDGF Family: Four Gene Products Form Five Dimeric Isoforms. *Box*. 240:197-204
106. Lindahl P, Johansson BR, Lev´een P, Betsholtz C. Pericyte loss and microaneurysm formation in PDGF-B-deficient mice. *Science*. 1997;277(5323):242-245.
107. <http://www.biocarta.com/pathways/pdgf>.
108. Konopka G, Bonni A: Signaling pathways regulating gliomagenesis. *Curr Mol Med* 3: 2003, 73–84.
109. Stopeck AT, Unger JM, Rimsza LM, et al. A phase II trial of single agent bevacizumab in patients with relapsed, aggressive non-Hodgkin lymphoma: Southwest oncology group study S0108. *Leuk Lymphoma*. 2009;50(5):728–735.
110. Pietras K, Pahler J, Bergers G, Hanahan D. Functions of paracrine PDGF signaling in the proangiogenic tumor stroma revealed by pharmacological targeting. *PLoS Med*. 2008;5(1):e19.
111. Ma WW, Adjei AA. (2009) *CA Cancer J Clin* 59:111-137
112. Folkman J. Tumor angiogenesis: therapeutic implications. *N Engl J Med* 1971;285(21):1182-6.

113. Gratzinger D, Zhao S, Tibshirani RJ, et al. Prognostic significance of VEGF, VEGF receptors, and microvessel density in diffuse large B cell lymphoma treated with anthracycline-based chemotherapy. *Lab Invest* 2008;88:38–47.
114. Salven P, Orpana A, Teerenhovi L, Joensuu H, et al. Simultaneous elevation in the serum concentration of the angiogenic growth factors and bFGF is an independent predictor of poor prognosis in non-Hodgkin's lymphoma: a single institution study of 200 patients. *Blood* 2000;96:3712 – 3718.
115. Doussis-Anagnostopoulou IA, Talks KL, Turley H et al. Vascular endothelial growth factor (VEGF) is expressed by neoplastic Hodgkin-Reed-Sternberg cells in Hodgkin's disease. *J Pathol* 2002; 197: 677–683.
116. Foss HD, Araujo I, Demel G et al. Expression of vascular endothelial growth factor in lymphomas and Castleman's disease. *J Pathol* 1997; 183: 44–50.
117. Chen H, Treweek AT, West DC et al. In vitro and in vivo production of vascular endothelial growth factor by chronic lymphocytic leukemia cells. *Blood* 2000; 96: 3181–3187.
118. Sari Riihijarvi, Heidi Nurmi, Harald Holte, Magnus Björkholm, Øystein Fluge, Lars Møller Pedersen, Karin Rydstrom, Mats Jerkeman, Mikael Eriksson, Sirpa Leppä. High serum vascular endothelial growth factor level is an adverse prognostic factor for high-risk diffuse large B-cell lymphoma patients treated with dose-dense chemoimmunotherapy. *European Journal of Haematology* July 2012 ,89 (395–402).
119. Kabbinavar F, Hurwitz HI, Fehrenbacher L, Meropol NJ, Novotny WF, Lieberman G, Griffing S, Bergsland E. Phase II, randomized trial comparing bevacizumab plus fluorouracil (FU)/leucovorin (LV) with FU/LV alone in patients with metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol.* 2003 Jan 1;21(1):60-5.
120. Ganjoo KN, An CS, Robertson MJ, Gordon LI, Sen JA, Weisenbach J, et al. Rituximab, Bevacizumab and CHOP (RACHOP) in untreated diffuse large B-cell lymphoma: Safety, biomarker and pharmacokinetic analysis. *Leuk Lymphoma* 2006;47:998 – 1005.
121. Scarpino S, Di Napoli A, Tarabozzi G, Cancrini A, Ruco LP. Hepatocyte growth factor (HGF) downregulates thrombospondin-1 (TSP-1) expression in thyroid papillary carcinoma cells. *J Pathol* 2005;205:50–6.

122. Yee KO, Streit M, Hawighorst T, Detmer M, Lawler J. Expression of the type-1 repeats of thrombospondin-1 inhibits tumor growth through activation of transforming growth factor- β . *Am J Pathol* 2004;165:541–52.
123. Paydas S, Ergin M, Erdogan S, Seydaoglu G, Yavuz S, Disel U. Thrombospondin-1 (TSP-1) and Survivin (S) expression in non-Hodgkin's lymphomas. *Leukemia Research* 32 (2008) 243–250.
124. Bruce D. Cheson, Beate Pfistner, Malik E. Juweid, Randy D. Gascoyne, Lena Specht, Sandra J. Horning, Bertrand Coiffier, Richard I. Fisher, Anton Hagenbeek, Emanuele Zucca, Steven T. Rosen, Sigrid Stroobants, T. Andrew Lister, Richard T. Hoppe, Martin Dreyling, Kensei Tobinai, Julie M. Vose, Joseph M. Connors, Massimo Federico, and Volker Diehl. Revised Response Criteria for Malignant Lymphoma. *J Clin Oncol* .2007; 25:579-586.
125. Lawler J, Ferro P, Duquette M. Expression and mutagenesis of thrombospondin. *Biochemistry* 1992;31:1173–80.
126. Nissen LJ, Cao R, Hedlund EM, et al. Angiogenic factors FGF2 and PDGF-BB synergistically promote murine tumor neovascularization and metastasis. *J Clin Invest*. 2007;117(10):2766-2777.
127. Paydas S¹, Ergin M, Seydaoglu G, Erdogan S, Yavuz S. Prognostic [corrected] significance of angiogenic/lymphangiogenic, anti-apoptotic, inflammatory and viral factors in 88 cases with diffuse large B cell lymphoma and review of the literature. *Leuk Res*. 2009 Dec;33(12):1627-35.
128. Dias S, Hattori K, Zhu Z et al. Autocrine stimulation of VEGFR-2 activates human leukemic cell growth and migration. *J Clin Invest* 2000; 106: 511–521.
129. Fragoso R, Pereira T, Wu Y et al. VEGFR-1 (FLT-1) activation modulates acute lymphoblastic leukemia localization and survival within the bone marrow, determining the onset of extramedullary disease. *Blood* 2006; 107:1608–1616.
130. Petri Salven, Arto Orpana, Lasse Teerenhovi, and Heikki Joensuu. Simultaneous elevation in the serum concentrations of the angiogenic growth factors VEGF and bFGF is an independent predictor of poor prognosis in non-Hodgkin lymphoma: a single-institution study of 200 patients. *Blood*, 1 December 2000 .96,12;3712-3718.

131. Hazar B, Paydas S, Zorludemir S, Sahin B, Tuncer I, et al. Prognostic significance of microvessel density and vascular endothelial growth factor (VEGF) expression in non-Hodgkin's lymphoma. *Leukemia & Lymphoma* 2003;44:2089 – 2093.
132. Niitsu N, Okamoto M, Nakamine H, Yoshino T, Tamaru J, Nakamura S, et al. Simultaneous elevation of the serum concentration of vascular endothelial growth factor and interleukin-6 as independent predictors of prognosis in aggressive non-Hodgkin's lymphoma. *Eur J Haematol* 2004;68:91 – 100.
133. Tzankov A, Heiss S, Ebner S, Sterlacci W, Schaefer G, Augustin F, Fiegl M, Dirnhofer S. Angiogenesis in nodal B cell lymphomas: a high throughput study. *J Clin Pathol* 2007;60:476–82.
134. Jubb AM, Harris AL. Biomarkers to predict the clinical efficacy of bevacizumab in cancer. *Lancet Oncol* 2010; 11(12):1172-83.
135. Sandler AB, Gray R, Brahmer J, Dowlati A, Schiller JH, Perry MC, et al. Randomized phase II/III trial of paclitaxel (P) plus carboplatin (C) with or without bevacizumab (NSC 704865) in patients with advanced non-squamous non small cell lung cancer (NSCLC): an Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) Trial E4599. *Proc of ASCO* 2005;Abst# LBA4.
136. Kitadai Y, Sasaki T, Kuwai T, Nakamura T, Bucana CD, Fidler IJ. Targeting the expression of platelet-derived growth factor receptor by reactive stroma inhibits growth and metastasis of human colon carcinoma. *Am J Pathol.* 2006;169(6): 2054-2065.
137. Shen J, Vil MD, Prewett M, et al. Development of a fully human anti-PDGFR beta antibody that suppresses growth of human tumor xenografts and enhances antitumor activity of an anti-VEGFR2 antibody. *Neoplasia.* 2009;11(6):594-604.
138. Sano H, Sudo T, Yokode M, Murayama T, Kataoka H, Takakura N, Nishikawa S, Nishikawa SI, and Kita T (2001). Functional blockade of platelet-derived growth factor receptor-beta but not of receptor-alpha prevents vascular smooth muscle cell accumulation in fibrous cap lesions in apolipoprotein E-deficient mice. *Circulation* 103, 2955–2960
139. Hong J, Woo HS, Kim H, Ahn HK, Sym SJ, Park J, Ahn JY, Cho EK, Shin DB, Lee JH. Anemia as a useful biomarker in patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with R-CHOP immunochemotherapy. *Cancer Sci.* 2014 Dec;105(12):1569-75

- 140-Hasenclever D, Diehl V. A prognostic score for advanced Hodgkin's disease. International Prognostic Factors Project on Advanced Hodgkin's Disease. *N Engl J Med*. 1998 Nov 19;339(21):1506-14.
- 141-Mitrovic Z, Perry AM, Suzumiya J, Armitage JO, Au WY, Coiffier B, Holte H, Jaffe ES, Monserrat E, Rajan SK, Savage KJ, Tobinai K, Vose JM, Weisenburger DD. The prognostic significance of lymphopenia in peripheral T-cell and natural killer/T-cell lymphomas: a study of 826 cases from the International Peripheral T-cell Lymphoma Project. *Am J Hematol*. 2012 Aug;87(8):790-4.
142. Jung SH, Yang DH, Ahn JS, Kim YK, Kim HJ, Lee JJ. Serum lactate dehydrogenase with a systemic inflammation score is useful for predicting response and survival in patients with newly diagnosed diffuse large B-cell lymphoma. *Acta Haematol*. 2015; 133(1): 10-7.
143. Trebouet A, Marchand T, Lemal R, Gyan E, Broussais-Guillaumot F, Guillermin Y, Monjanel H, Salles G, Le Gouill S, Godmer P, Fruchart C, Damaj G, Feugier P, Thieblemont C, Maynadié M, Monnereau A, Troussard X, Rossille D, Lamy T, Houot R. Lymphoma occurring in patients over 90 years of age: characteristics, outcomes, and prognostic factors. A retrospective analysis of 234 cases from the LYSA. *Ann Oncol*. 2013 Oct;24(10):2612-8.
144. Gandarillas MA, Conde E, Mazorra F, Cuadrado MA, Baro J, Garijo J, Recio M, Richard C, Iriondo A, Castro F. Research on prognostic factors in large-cell lymphomas. *Med Clin (Barc)*. 1995 Apr 29;104(16):601-7.
145. Melchardt T, Troppan K, Weiss L, Hufnagl C, Neureiter D, Tränkenschuh W, Hopfinger G, Magnes T, Deutsch A, Neumeister P, Hackl H, Greil R, Pichler M, Egle A. A modified scoring of the NCCN-IPI is more accurate in the elderly and is improved by albumin and $\beta 2$ -microglobulin. *Br J Haematol*. 2015 Jan;168(2):239-45.
146. Coiffier B, Lepage E, Briere J, et al. CHOP chemotherapy plus rituximab compared with CHOP alone in elderly patients with diffuse large-B-cell lymphoma. *N Engl J Med* 2002;346:235–42.