



UNIVERZITET U NIŠU
MEDICINSKI FAKULTET

IVAN Z. PETKOVIĆ

**PREDIKTIVNI ZNAČAJ BIOMARKERA bcl2, bcl6,
CD10 i MUM1 KOD DIFUZNIH B
KRUPNOĆELIJSKIH LIMFOMA**

Doktorska disertacija

Niš, 2015. godine



**UNIVERSITY OF NIŠ
MEDICAL FACULTY**

IVAN Z. PETKOVIĆ

**PREDICTIVE VALUE OF BIOMARKERS bcl2, bcl6,
CD10 AND MUM1 IN DIFFUSE LARGE B CELL
LYMPHOMA**

PhD thesis

Niš, 2015 year

Podaci o mentoru:

Prof. dr Svetislav Vrbić, redovni profesor katedre za onkologiju Medicinskog Fakulteta Univerziteta u Nišu

Članovi komisije za ocenu i odbranu doktorske disertacije

Prof. Dr Ivica Pejčić, vanredni profesor MF Niš, predsednik

Prof. Dr Svetislav Vrbić, redovni profesor, mentor i član

Prof. Dr Slađana Filipović, redovni profesor, član

Prof. Dr Ljiljana Tukić, redovni profesor, član sa MF Univerziteta Odbrane, VMA

Doc. Dr Miljan Krstić, docent, član

Datum odbrane -----

"Nemoj misliti da si veliki čovek zato što ti je sena velika kad se sunce rađa"

Konfučije

Zahvalnost.

Pisanje naučno-istraživačkog rada predstavlja, pre svega individualno delo pojedinca. U izradi ove disertacije rukovodila me je iskrena želja za spoznajom prave naučne istine iz problema koji sam ispitivao.

Bez obzira što sam najveći deo posla i tereta podneo sam, zahvalio bih se onima koji su bili uz mene, dok je trajao mukotrpni rad oko pisanja ove disertacije. Mislim pre svega na svoju porodicu, prijatelje i kolege, koji su mi davali moralnu podršku.

Posebno, ovaj rad posvećujem svojoj ćerki Leni, jer sam u toku izrade ove disertacije, iako pored nje, bio u velikoj meri odsutan iz njenog detinjstva.

Ime i prezime:	Ivan Petković
Datum i mesto rođenja:	30.12.1976. Knjaževac
Sadašnje zaposlenje:	Specijalista interne medicine na Klinici za onkologiju KC Niš

II Doktorska disertacija

Naslov:	Prediktivni značaj biomarkera bcl2, bcl6, CD10 i MUM1 kod difuznih B krupnoćelijskih limfoma
Broj stranica:	251
Broj grafikona:	52
Broj slika/ šema:	8 / 2
Broj tabela:	126
Broj bibliografskih podataka:	391
Ustanova i mesto gde je rad izrađen:	Klinika za onkologiju KC Niš
Naučna i uža naučna oblast:	Klinička medicina, Onkologija
Mentor:	Prof. dr Svetislav Vrbić

III Ocena i odbrana

Datum prijave teme:	21.06.2013.
Broj odluke i datum prihvatanja teme doktorske disertacije:	04-KM-101/09 04.12.2013.
Komisija za ocenu podobnosti teme i kandidata:	1. Prof. dr Ivica Pejčić, predsednik, 2. Prof. dr Svetislav Vrbić, član, 3. Prof. dr Slađana Filipović, član
Komisija za ocenu i odbranu doktorske disertacije:	1. Prof. dr Ivica Pejčić, predsednik, 2. Prof. dr Svetislav Vrbić, mentor i član, 3. Prof. dr Slađana Filipović, član, 4. Prof. dr Ljiljana Tukić, član sa Medicinskog fakulteta, Univerziteta odbrane, VMA 5. Doc. dr Miljan Krstić, član

PREDIKTIVNI ZNAČAJ BIOMARKERA *bcl2*, *bcl6*, *CD10* i *MUM1*

KOD DIFUZNIH B-KRUPNOĆELIJSKIH LIMFOMA

Sažetak

UVOD: Bolesnici sa difuznim B-krupnoćelijskim limfomima (DLBCL) imaju veoma heterogen klinički tok i prognozu. Postoji kontinuirana potreba za iznalaženjem novih prediktivnih modela radi stratifikacije rizika kod obolelih. Imunohistohemijski biomarkeri u korelaciji sa kliničkim i bihemijskim parametrima, kao i sa skorovima prognoze nude jedan od prediktivnih modela radi takvog tipa stratifikacije bolesnika.

CILJ: Osnovni cilj istraživanja bio je da se ispita prediktivni značaj ekspresije imunohistohemijskih biomarkera (*bcl2*, *bcl6*, *CD10* i *MUM1*, po Hansovom i Murisovom algoritmu i supkategorija po Hansovom algoritmu) sa biohemijskim, kliničkim i indeks/skor karakteristika samostalno i u korelaciji radi definisanja njihovog uticaja na odgovor na primenjenu terapiju, rizika od smrtnog ishoda i dužine perioda bez progresije (PFS).

METODE: U ovoj prospektivnoj studiji korišćene su metode semikvantitativne imunohistohemije za analizu ekspresije ispitivanih biomarkera. Svi analizirani podaci su sakupljeni iz medicinske dokumentacije. Statističke analize uključivale su primenu neparametarskih metoda (χ^2 -testa, Mann-Whitney U testa, Kruskal-Wallisovog testa i drugih) i parametarskih testova tamo gde su obeležja bila numerička, a distribucija normalna (Studentov-t-test, ANOVA). Period trajanja PFS je ispitivan primenom Kaplan-Meierove analize. Urađene su univarijantna i multivarijantna analiza faktora rizika za odgovor na terapiju i dužinu PFS,

ZNAČAJ: Originalni doprinosi ove studije se ogledaju u potvrdi Murisovog skora, kao i *bcl2* biomarkera i IPI skora kao parametara koji imaju prediktivni značaj u risk stratifikaciji bolesnika u prognostičke kategorije i u eri primene rituksimaba. Pomenuti nalazi mogu imati realnu kliničku primenu. Po prvi put je pokazana korelacija NCCN-IPI skora i *bcl6* biomarkera u predikciji terapijskog odgovora. Nađeno je da muški pol kod DLBCL bolesnika predstavlja faktor rizika za smrtni ishod.

Ključne reči: *DLBCL*, *bcl2*, *bcl6*, *CD10*, *MUM1*, biomarkeri, prediktivni značaj

Naučna i uža naučna oblast: Klinička medicina, Onkologija

UDK: 616-006.44

PREDICTIVE VALUE OF BIOMARKERS bcl2, bcl6, CD10 AND MUM1 IN DIFFUSE LARGE B-CELL LYMPHOMAS

Summary

INTRODUCTION: Patients with diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) have heterogenous clinical course and prognosis. There is a continuing need for the development of contemporary predictive models for the stratification of patients. Immunohistochemical biomarkers in correlation with clinical and biochemical parameters can offer such predictive models for patient stratification.

AIM: The main objective of this study was to examine the predictive value of immunohistochemical biomarkers expression (bcl2, bcl6, CD10 and MUM1), according to Hans and Muris algorithm and subclassification of Hans algorithm) with biochemical, clinical and score/index characteristics in the studied patient population in order to define their impact on the response to therapy, the risk of death and duration of progression free survival (PFS).

METHODS: The technique of classical semiquantitative immunohistochemical analysis for the biomarkers expression were used. All analyzed data were collected from medical documentation. The statistical methods included the use of non-parametric tests (χ^2 -test, Mann-Whitney U test, Kruskal-Wallis tests and others) as well the use of parametric tests if the characteristics were numeric and distribution normal (Student's t-test, ANOVA). PFS was examined by Kaplan-Meier analysis. The univariate, and multivariate analysis of risk factors for response to therapy and duration of PFS were assessed.

IMPORTANCE: The original contributions of this study are reflected in the confirmation of Muris's score, as well as bcl2 biomarker and IPI score as parameters that have predictive value in the risk stratification of patients into prognostic categories in the rituximab era. This findings can be applied in real clinical practice. For the first time a correlation of NCCN-IPI score and bcl6 biomarker has been established in the prediction of therapeutic response. It was found that male gender was associated with an increased mortality risk in DLBCL patients.

Key words: *DLBCL, bcl2, bcl6, CD10, MUM1, biomarkers, predictive value*

Scientific fields: Clinical medicine, Oncology

UDK: 616-006.44

Skraćenice

AITL- Angioimunoblastni T ćelijski limfom

ALCL- Anaplastični krupnoćelijski T ćelijski limfom

ATLL- Adultni T ćelijski limfom/leukemija

AIDS- „Aquired immunodeficiency syndrome”-sindrom stečenog deficita imuniteta (SIDA)

ABC- „activated B cell” (aktivirana B ćelija)

AIHA- Autoimuna hemolizna anemija

Ann Arbor klasifikacija- Klasifikacija kliničkog stadijum limfoma iz 1971 koja je dogovorena u gradu Ann Arboru

ANXA 1- Aneksin 1

ALC- „absolute lymphocyte count”- (apsolutni broj limfocita)

AMC- „absolute monocyte count” (apsolutni broj monocita)

ALK- „anaplastic large kinase” (anaplastična kinaza krupnih ćelija)

aaIPI- „age adjusted” IPI (godištu prilagođen IPI skor)

ACE-27- „Adult comorbidity evaluation 27”

APRIL- „A proliferation inducing ligand”

BAFF- „B-cell activating factor” (faktor B ćelijske aktivacije)

BAFF-R- „B-cell activating factor receptor” (receptro za faktor B ćelijske aktivacije)

BCMA- "B-cell maturation antigen" (antigen B ćelijskog zrenja)

BL- Burkittov limfom

BLL- „Burkitt-like lymphoma”

BlyS- „B-lymphocyte stimulator”

BCR- „B cell receptor” (B ćelijski receptor)

Bcl2- B ćelijski limfomski/leukemijski protein tip 2

Bcl6- B ćelijski limfomski/leukemijski protein tip 6

BCCA- „British Columbia Cancer Agency”

BOB1- „B-cell specific octamer binding protein 1”

BTK- „Bruton’s tyrosine kinase”

CVID- „Common variable immunodeficiency disease” (bolest učestale varijabilne imunodeficijencije)

CLL/SLL- hronična limfocitna leukemija/limfom malih limfocita

CNS- Centralni nervni sistem

Skraćenice

Ciklin D2- Cyclin D2 protein ćelijskog ciklusa

CR- „complete remission” (kompletna remisija)

CRu- „complete remission unconfirmed” (nepotvrđena kompletna remisija)

95% CI- 95% „confidence interval” (interval poverenja)

DLBCL- Difuzni B krupnoćelijski limfom

DLBCL, NOS- Difuzni B krupnoćelijski limfoma, drugačije neoznačen

DHL- „double-hit” limfomi

DNA- Deoksiribonukleinska kiselina

ELISA test- „Enzyme linked immunosorbent assay” test

EMA- Epitelijalni membranski antigen

ECOG- „Eastern Cooperative Oncology Group”

EBER- „Epstein-Barr virus-encoded small RNAs”

EBV- Epstein-Barr virus

EFS- „event free survival” (preživljavanje bolesnika do narednog događaja)

ESMO- „European School of Medical Oncology”

FISH- fluorescentna in situ hibridizacija

FDRC- Folikularno dendritične retikularne ćelije

FLC- „free light chain” (slobodni laki lanci imunoglobulina)

FL- Folikularni limfom

FOXP 1- „Forkhead box-protein 1”

GEP- Genski ekspresioni profil

GCET 1- SERPINA 9 (serin proteaza inhibitor 9)

HBsAg- Hepatitis B površinski antigen

HIV- Virus humane imunodeficijencije

HCV- Hepatitis C virus

HDAC- Histon deacetilaza

HE- Hematoxilin-eosin

HL- Hodgkinov limfom

HTLV 1- Humani T limfotropni virus tip 1

HHV8- Humani herpes virus tip 8, sinonim Kaposi sarkoma virus

HR- „hazard ratio” (rizika količnik)

Skraćenice

HIM- Hematopoezna induktivna mikrookolina

HLA- Humani leukocitni antigen

HRS- „Hodgkin-Reed-Sternberg cells”

IgH geni- Geni za teške lance imunoglobulina

HCT-CI- „Haematopoietic Stem Cell Transplantation-specific comorbidity index”

IgA- Imunoglobulin A

IgD- Imunoglobulin D

IgG- Imunoglobulin G

IgM- Imunoglobulin M

IL-4- Interleukin 4

IL-6- Intreleukin 6

IFRT- „Involved field radiotherapy”

IVLBCL- Intravaskularni krupnoćelijski B ćelijski limfom

ICAM1- Intracelularni adhezioni molekul 1

IPI skor- Internacionalni prognostički skor

IMiD- „Immunomodulatory drug”

JAK-STAT- Janus kinaza-signalni transdjuser i aktivator transkripcije

JAK2- Janus kinaza tip 2

KSH- Kaposi sarkoma virus, sinonim HHV8

kDa- kilo Dalton

LPL- Limfoplazmocitni limfom

LYG- Limfomatoidna granulomatoza

LANA- „Latency associated nuclear antigen”

LDH- Laktat dehidrogenaza

MSCT- Multislajсна kompjuterizovana tomografija

MRI- Magnetno-rezonantni imidžing (nuklearna magnetna rezonanca)

MCL- Mantl ćelijski limfom

MUM1- Multipli mijelom antigen tip 1

MZL- Marginal zonalni limfom

MALT- Maltom (ekstranodalni marginal zonalni limfom)

mRNA- Informaciona (eng. mesendžer) ribonukleinska kiselina

mTOR- „mammalian target of rapamycin”

MCD- Multicentrična Kastlmanova bolest

MGG- May-Grünwald-Giemsa

Skraćenice

MYC- Gen zadužen za regulaciju ćelijskog ciklusa, apoptozu i ćelijsku transformaciju

MYD88- gen primarne mijeloidne diferencijacije 88

MVD- „microvascular density” (mikrovaskularna gustina)

M-CIRS- „Modified Cumulative Illness Rating Scale”

NHL- Non Hodgkin limfom

NCCN-IPI- National Comprehensive Cancer Network-International Prognostic Index

non-GCB-ne germinativno ćelijsko poreklo B limfocita

NK limfocit- „Natural killer”-limfocit prirodni ubica

NLPHL- Nodularno limfocitno predominantni Hodgkinov limfom

NFkB- Nuklarni faktor kapa B

OS- „Overall survival” (ukupno preživljavanje bolesnika)

OR-„Odds ratio” (unakrsni odnos)

ORR-„Overall response rate” (ukupni terapijski odgovor)

Oct-2-„Octamer transcription factor 2”

PBL- Plazmablastni limfom

PBL- „Primary bone lymphoma” (primarni koštani limfom)

PBLL- Prekursor B limfoblastni limfom/leukemija

PEL- Primarni efuzioni limfom

PAL- Pijotoraks asociirani limfom

PMLBCL- Primarni medijastinalni B krupnoćelijski limfom

PFS- „Progression free survival” (period do progresije bolesti)

PCLBCL-LT- Primarni kutani krupnoćelijski B ćelijski limfom, tip noge

R-IPI- Revidirani IPI

PI3K- Fosfatidil inozitol-3 kinaza

PD-1- protein „smrti” tip 1

PD-L1- protein „smrti” ligand tip 1

PD-L2- protein „smrti” ligand tip 2

PTCL, NOS- Periferni T ćelijski limfom, drugačije neoznačem

PTL- primarni testikularni limfom

PET- pozitronska emisiona tomografija

PAX5- „Paired box protein 5”

Skraćenice

REAL- „Revisited European-American Classification of lymphoma“-Revidirana evropsko-američka klasifikacija limfoma

REL- transkripcioni faktor udružen sa NFkB putem (REL/NFkB put)

RS- Rihterov sindrom

sIg- površinski imunoglobulin, onaj koji se nalazi na ćelijskoj membrani

Signet-ring cells- ćelije pečatnog prstena, morfološka forma malignih ćelija

Spindle cell- vretenasta ćelijska forma malignih ćelija

Syk- „Spleen tyrosine kinase“

TACI- " Transmembrane activator and calcium modulator and cyclophylin ligand interactor"

T cell/h rich DLBCL- T ćelijama/histiocitima bogat difuzni B krupnoćelijski limfom

TCL- T ćelijski limfom

TCR- T ćelijski receptor

TdT- Terminalna-deoksinukleotidil-transferaza

THL- „triple-hit“ limfom

TME- „B-cell/plasma cell tumor microenvironment“

TP53- „TP53-inducible glycolysis and apoptosis regulator“ (TIGAR)

tFL- Transformisani Folikularni limfom

TNF- „Tumor necrosis factor alpha“

VDJ- "Variable diverse joining"

VEGF- „Vascular endothelial growth factor“

VEGF-R- „Vascular endothelial growth factor receptor“

WHO- „World Health Organization“ (Svetska zdravstvena organizacija)

WF- „Working formulation“ (radna klasifikacija limfoma)

Lista tabela

Tabela 1.	Biološki razvojni put B limfocita u antigen nezavisnoj fazi
Tabela 2.	Imunofenotipske karakteristike najčešćih B ćelijskih NHL
Tabela 3.	Biološki razvojni put T limfocita
Tabela 4.	Klasifikacije limfoidnih neoplazmi po zadnjoj reviziji WHO 2008
Tabela 5.	Ann Arbor klasifikacija kliničkog stadijuma limfoma (NHL i HL)
Tabela 6.	WHO 2008 klasifikacija DLBCL
Tabela 7.	IPI skor, način bodovanja. Određuje se bolesnicima > 60 godina
Tabela 8.	aaIPI skor, način bodovanja. Određuje se bolesnicima < 60 godina
Tabela 9.	R-IPI skor, način bodovanja i interpretacije
Tabela 10.	Ishod u odnosu na rizik grupe definisane IPI, aaIPI i R-IPI skorovima
Tabela 11.	NCCN-IPI skor, način kalkulacije
Tabela 12.	Poređenje NCCN-IPI i IPI skora u stratifikaciji rizika i ishodu u 5-god. OS i PFS između NCCN i BCCA grupe
Tabela 13.	ECOG performans status
Tabela 14.	Tabelarni pregled korišćenih komercijalnih monoklonskih antitela
Tabela 15.	Distribucija ispitanika prema starosti i polu
Tabela 16.	Distribucija DLBCL tipa prema polu
Tabela 17.	Distribucija biohemijskih parametara u ispitivanoj populaciji
Tabela 18.	Distribucija kliničkih parametara u ispitivanoj populaciji
Tabela 19.	Distribucija Ann Arbor kliničkog stadijuma u ispitivanoj populaciji
Tabela 20.	Distribucija aaIPI skora
Tabela 21.	Distribucija IPI skora
Tabela 22.	Distribucija R-IPI skora
Tabela 23.	Distribucija NCCN-IPI skora
Tabela 24.	Odgovor na terapiju u odnosu na pol
Tabela 25.	Odgovor na terapiju u odnosu na CD10 biomarker
Tabela 26.	Odgovor na terapiju u odnosu na MUM1 biomarker
Tabela 27.	Odgovor na terapiju u odnosu na bcl6 biomarker
Tabela 28.	Odgovor na terapiju u odnosu na bcl2 biomarker
Tabela 29.	Odgovor na terapiju u odnosu na Hansov algoritam
Tabela 30.	Odgovor na terapiju u odnosu na Murisov algoritam
Tabela 31.	Supkategorije Hansovog algoritma u odnosu na odgovor na terapiju
Tabela 32.	Supkategorije Hansovog algoritma i bcl2 u odnosu na odgovor na terapiju
Tabela 33.	Biohemijski parametri u odnosu na odgovor na terapiju
Tabela 34.	Klinički parametri u odnosu na odgovor na terapiju
Tabela 35.	Biohemijski parametri u odnosu na CD10 biomarker
Tabela 36.	Biohemijski parametri u odnosu na MUM1 biomarker
Tabela 37.	Biohemijski parametri u odnosu na bcl6 biomarker
Tabela 38.	Biohemijski parametri u odnosu na bcl2 biomarker
Tabela 39.	Biohemijski parametri u odnosu na Hansov algoritam
Tabela 40.	Biohemijski parametri u odnosu na Murisov skor

Lista tabela

Tabela 41.	Biohemijski parametri u odnosu na supkategorije biomarkera
Tabela 42.	Klinički parametri u odnosu na CD10 biomarker
Tabela 43.	ECOG PS u odnosu na CD10 biomarker
Tabela 44.	Ann Arbor u odnosu na CD10 biomarker
Tabela 45.	Klinički parametri u odnosu na MUM1 biomarker
Tabela 46.	ECOG PS u odnosu na MUM1 biomarker
Tabela 47.	Ann Arbor u odnosu na MUM1 biomarker
Tabela 48.	Klinički parametri u odnosu na bcl6 biomarker
Tabela 49.	ECOG PS u odnosu na bcl6 biomarker
Tabela 50.	Ann Arbor u odnosu na bcl6 biomarker
Tabela 51.	Klinički parametri u odnosu na bcl2 biomarker
Tabela 52.	ECOG PS u odnosu na bcl2 biomarker
Tabela 53.	Ann Arbor u odnosu na bcl2 biomarker
Tabela 54.	Klinički parametri u odnosu na Hansov algoritam
Tabela 55.	ECOG PS u odnosu na Hansov algoritam
Tabela 56.	Ann Arbor u odnosu na Hansov algoritam
Tabela 57.	Klinički parametri u odnosu na Murisov skor
Tabela 58.	ECOG PS u odnos na Murisov skor
Tabela 59.	Ann Arbor u odnosu na Murisov skor
Tabela 60.	Klinički parametri u odnosu na supkategorije Hansovog algoritma
Tabela 61.	Ann Arbor u odnosu na supkategorije Hansovog algoritma
Tabela 62.	ECOG PS u odnosu na supkategorije Hansovog algoritma
Tabela 63.	Odnos aaIPI/CD10 biomarkera
Tabela 64.	Odnos aaIPI/MUM1 biomarkera
Tabela 65.	Odnos aaIPI/bcl6 biomarkera
Tabela 66.	Odnos aaIPI/bcl2 biomarkera
Tabela 67.	Odnos R-IPI/MUM1 biomarkera
Tabela 68.	Odnos R-IPI/bcl6 biomarkera
Tabela 69.	Odnos R-IPI/bcl2 biomarkera
Tabela 70.	Odnos NCCN-IPI/CD10 biomarkera
Tabela 71.	Odnos NCCN-IPI/MUM1 biomarkera
Tabela 72.	Odnos NCCN-IPI/bcl2 biomarkera
Tabela 73.	Odnos aaIPI/Hans algoritam
Tabela 74.	Odnos R-IPI/Hans algoritam
Tabela 75.	Odnos aaIPI/Muris skor
Tabela 76.	Odnos R-IPI/Muris skor
Tabela 77.	Odnos aaIPI/Hans algoritam (supkategorijska analiza)
Tabela 78.	Odnos IPI/Hans algoritam (supkategorijska analiza)
Tabela 79.	Odnos R-IPI/Hans algoritam (supkategorijska analiza)
Tabela 80.	Odnos NCCN-IPI/Hans algoritam (supkategorijska analiza)
Tabela 81.	Univarijantna regresiona analiza faktora rizika u odnosu na odgovor na terapiju
Tabela 82.	Smrtni ishod u odnosu na CD10 biomarker
Tabela 83.	Smrtni ishod u odnosu na MUM1 biomarker
Tabela 84.	Smrtni ishod u odnosu na bcl6 biomarker
Tabela 85.	Smrtni ishod u odnosu na bcl2 biomarker

Lista tabela

Tabela 86.	Smrtni ishod u odnosu na Hansov algoritam
Tabela 87.	Smrtni ishod u odnosu na Murisov skor
Tabela 88.	Supkategorije Hansovog algoritma u odnosu na smrtni ishod
Tabela 89.	Vrednost Ki 67 u odnosu na smrtni ishod
Tabela 90.	ECOG PS u odnosu na smrtni ishod
Tabela 91.	aaIPI u odnosu na smrtni ishod
Tabela 92.	Kaplan-Meier analiza PFS vremena u odnosu na CD10 biomarker
Tabela 93.	Kaplan-Meier analiza PFS vremena u odnosu na MUM1 biomarker
Tabela 94.	Kaplan-Meier analiza PFS vremena u odnosu na bcl6 biomarker
Tabela 95.	Kaplan-Meier analiza PFS vremena u odnosu na Hans algoritam
Tabela 96.	Kaplan-Meier analiza PFS vremena u odnosu na biokemijske parametre
Tabela 97.	Kaplan-Meier analiza PFS vremena u odnosu na kliničke parametre
Tabela 98.	Kaplan-Meier analiza PFS vremena u odnosu na skorove/indeks prognoze
Tabela 99.	PFS u odnosu na CD10 biomarker
Tabela 100.	PFS u odnosu na MUM1 biomarker
Tabela 101.	PFS u odnosu na bcl6 biomarker
Tabela 102.	PFS u odnosu na bcl2 biomarker
Tabela 103.	PFS u odnosu na Hansov algoritam
Tabela 104.	PFS u odnosu na Murisov skor
Tabela 105.	PFS u odnosu na ispitivane supkategorije Hansovog algoritma
Tabela 106.	PFS u odnosu na odnos (aaIPI/CD10)
Tabela 107.	PFS u odnosu na odnos (aaIPI/MUM1)
Tabela 108.	PFS u odnosu na odnos (aaIPI/bcl6)
Tabela 109.	PFS u odnosu na odnos (aaIPI/bcl2)
Tabela 110.	PFS u odnosu na odnos (IPI/CD10)
Tabela 111.	PFS u odnosu na odnos (IPI/bcl2)
Tabela 112.	PFS u odnosu na odnos (R-IPI/CD10)
Tabela 113.	PFS u odnosu na odnos (R-IPI/MUM1)
Tabela 114.	PFS u odnosu na odnos (R-PI/bcl6)
Tabela 115.	PFS u odnosu na odnos (R-IPI/bcl2)
Tabela 116.	PFS u odnosu na odnos (NCCN-IPI/CD10)
Tabela 117.	PFS u odnosu na odnos (NCCN-IPI/MUM1)
Tabela 118.	PFS u odnosu na odnos (NCCN-IPI/bcl6)
Tabela 119.	PFS u odnosu na odnos (NCCN-IPI/bcl2)
Tabela 120.	PFS u odnosu na odnos (aaIPI/Hans algoritam)
Tabela 121.	PFS u odnosu na odnos (R-PI/Hans algoritam)
Tabela 122.	PFS u odnosu na odnos (NCCN-IPI/Hans algoritam)
Tabela 123.	PFS u odnosu na odnos (aaIPI/Muris skor)
Tabela 124.	PFS u odnosu na odnos (R-IPI/Muris skor)
Tabela 125.	PFS u odnosu na odnos (NCCN-IPI/Muris skor)
Tabela 126.	Faktori rizika za PFS u regresionoj analizi

Lista grafikona

Grafikon 1.	Relativna procentualna zastupljenost najčešćih B ćelijskih NHL
Grafikon 2.	Relativna procentualna zastupljenost najčešćih T ćelijskih NHL
Grafikon 3.	Struktura ispitivane populacije u odnosu na tip DLBCL
Grafikon 4.	Distribucija CD10 biomarkera u odnosu na pol
Grafikon 5.	Distribucija MUM1 biomarkera u odnosu na pol
Grafikon 6.	Distribucija bcl6 biomarkera u odnosu na pol
Grafikon 7.	Distribucija bcl2 biomarkera u odnosu na pol
Grafikon 8.	Distribucija po Hansovom algoritmu u odnosu na pol
Grafikon 9.	Distribucija po Murisovom algoritmu u odnosu na pol
Grafikon 10.	Distribucija u odnosu na supkategorije po Hansovom algoritmu
Grafikon 11.	Distribucija u odnosu na odgovor na primenjenu terapiju
Grafikon 12.	Distribucija tipova DLBCL u odnosu na odgovor na primenjenu terapiju
Grafikon 13.	Učestalost povišenih vrednosti LDH u odnosu na odgovor na terapiju
Grafikon 14.	Učestalost smanjenih vrednosti albumina u odnosu na odgovor na terapiju
Grafikon 15.	Učestalost B simptoma u odnosu na odgovor na terapiju
Grafikon 16.	Učestalost „Bulky” bolesti u odnosu na odgovor na terapiju
Grafikon 17.	Učestalost ECOG PS u odnosu na odgovor na terapiju
Grafikon 18.	Učestalost Ann Arbor kliničkog stadijuma u odnosu na odgovor na terapiju
Grafikon 19.	Učestalost smanjenih vrednosti albumina u odnosu na MUM1 biomarker
Grafikon 20.	Učestalost povišenih vrednosti LDH u odnosu na bcl6 biomarker
Grafikon 21.	Učestalost smanjenih vrednosti albumina u odnosu na bcl2 biomarker
Grafikon 22.	Učestalost smanjenih vrednosti albumina u odnosu na Murisov skor
Grafikon 23.	Učestalost smanjenih vrednosti hemoglobina u odnosu na Murisov skor
Grafikon 24.	Odnos IPI skor/CD10 biomarker
Grafikon 25.	Odnos IPI skor/MUM1 biomarker
Grafikon 26.	Odnos IPI skor/bcl6 biomarker
Grafikon 27.	Odnos IPI skor/bcl2 biomarker
Grafikon 28.	Odnos R-IPI skor/CD10 biomarker
Grafikon 29.	Odnos NCCN-IPI skor/bcl6 biomarker
Grafikon 30.	Odnos IPI skor/Hans algoritam
Grafikon 31.	Odnos NCCN-IPI skor/Hans algoritam
Grafikon 32.	Odnos IPI skor/Muris algoritam
Grafikon 33.	Odnos NCCN-IPI skor/Muris algoritam
Grafikon 34.	Udeo smrtnosti u odnosu na pol
Grafikon 35.	Smrtni ishod u odnosu na DLBCL tip
Grafikon 36.	Učestalost povišenih vrednosti LDH u odnosu na smrtni ishod
Grafikon 37.	Učestalost smanjenih vrednosti hemoglobina u odnosu na smrtni ishod
Grafikon 38.	Učestalost B simptoma u odnosu na smrtni ishod
Grafikon 39.	Učestalost „Bulky” bolesti u odnosu na smrtni ishod
Grafikon 40.	Učestalost Ann Arbor kliničkog stadijuma u odnosu na smrtni ishod
Grafikon 41.	Učestalost IPI skorova u odnosu na smrtni ishod
Grafikon 42.	Učestalost R-IPI skorova u odnosu na smrtni ishod
Grafikon 43.	Učestalost NCCN-IPI skorova u odnosu na smrtni ishod

Lista grafikona

Grafikon 44.	Distribucija smrtnog ishoda u odnosu na dodatnu primenu terapije
Grafikon 45.	Kaplan-Meierova kriva PFS u odnosu na bcl2 biomarker
Grafikon 46.	Kaplan-Meierova kriva PFS u odnosu na Murisov skor
Grafikon 47.	Kaplan-Meierova kriva PFS u odnosu na beta 2 MG
Grafikon 48.	Kaplan-Meierova kriva PFS u odnosu na prisustvo „Bulky” bolesti
Grafikon 49.	PFS u odnosu na ispitivane odnose (IPI/MUM1) vs (IPI $\geq$ 2, MUM1+)
Grafikon 50.	PFS u odnosu na ispitivane odnose (IPI/bcl6) vs (IPI $\geq$ 2, bcl6-)
Grafikon 51.	PFS u odnosu na ispitivane odnose IPI/GCB/non-GCB vs IPI $\geq$ 2, non-GCB
Grafikon 52.	PFS u odnosu na ispitivane odnose IPI/Muris skor vs IPI 0,1 i Muris 1

Šema 1a	Prikaz Hansovog algoritma
Šema 1b	Prikaz Murisovog algoritma

Slika 1	DLBCL, NOS u limfnom nodusu (HE, 400x)
Slika 2.	Šematski prikaz BCR i njegove intracelularne organizacije
Slika 3.	Izrazita membranska pozitivnost CD20 biomarkera kod DLBCL, 400x
Slika 4.	Ekspresija CD10 biomarkera (membranska prebojenost > 30% ćelija), 400x
Slika 5.	Ekspresija bcl2 biomarkera (membranska prebojenost > 50% ćelija), 400x
Slika 6.	Ekspresija bcl6 biomarkera (jedarna prebojenost > 30% ćelija), 400x
Slika 7.	Ekspresija MUM1 biomarkera (jedarna prebojenost > 30% ćelija), 400x
Slika 8.	Visoka jedarna ekspresija Ki 67 indeksa kod DLBCL (> 70%), 400x

1. UVOD	1
1.1.1. Non Hodgkin limfomi	1
1.1.2. Etiologija NHL	3
1.1.3. Patogeneza NHL	4
1.1.3.1. B ćelijski limfomi: od normalne diferencijacije do limfoma	5
1.1.3.2. T ćelijski limfomi: od normalne diferencijacije do limfoma	9
1.1.4. Klasifikacija NHL	11
1.1.5. Klinička prezentacija, dijagnoza i stadiranje NHL	16
1.2. Difuzni B krupnoćelijski limfom (Diffuse large B-cell lymphoma-DLBCL)	19
1.2.1. Incidenca DLBCL	19
1.2.2. Dijagnoza DLBCL	19
1.2.3. Klasifikacija DLBCL prema poslednjoj reviziji WHO 2008.	19
1.2.3.1. DLBCL, drugačije neoznačen (DLBCL, not otherwise specified-NOS)	21
1.2.3.2. Mikromorfološka slika	21
1.2.3.3. Molekularne podgrupe-genski ekspresioni profil	23
1.2.3.4. Imunofenotip DLBCL-surogat markeri profila genske ekspresije	23
1.2.3.5. CD5+ DLBCL	26
1.2.3.6. Specifičnost kliničkog ispoljavanja	26
1.2.4. Podtipovi DLBCL	26
1.2.4.1. DLBCL bogat T ćelijama/histiocitima (T-cell/h rich large B-cell lymphoma)	26

Sadržaj

1.2.4.1.1. Mikromorfološka slika	26
1.2.4.1.2. Imunofenotip.....	27
1.2.4.1.3. Genski ekspresioni profil.....	27
1.2.4.1.4. Specifičnost kliničkog ispoljavanja.....	28
1.2.4.2. Primarni difuzni B krupnoćelijski limfom CNS-a (CNS DLBCL).....	28
1.2.4.2.1. Mikromorfološka slika.....	28
1.2.4.2.2. Imunofenotip.....	28
1.2.4.2.3. Genski ekspresioni profil.....	28
1.2.4.2.4. Specifičnost kliničkog ispoljavanja.....	29
1.2.4.3. Primarni kutani DLBCL, tip noge (PCLBCL, LT).....	29
1.2.4.3.1. Mikromorfološka slika.....	29
1.2.4.3.2. Imunofenotip.....	30
1.2.4.3.3. Genski ekspresioni profil.....	30
1.2.4.3.4. Specifičnost kliničkog ispoljavanja.....	30
1.2.4.4. Epstein Barr virus pozitivni DLBCL starijih (EBV+ DLBCL in elderly).....	30
1.2.4.4.1. Mikromorfološka slika.....	31
1.2.4.4.2. Imunofenotip.....	31
1.2.4.4.3. Genski ekspresioni profil.....	31
1.2.4.4.4. Specifičnost kliničkog ispoljavanja.....	31

1.2.5. Drugi limfomi krupnih B ćelija	32
1.2.5.1. Primarni medijastinalni (timični) krupnoćelijski B limfom (PMLBCL).....	32
1.2.5.1.1. Mikromorfološka slika.....	32
1.2.5.1.2. Imunofenotip.....	32
1.2.5.1.3. Genski ekspresioni profil.....	32
1.2.5.1.4. Specifičnost kliničkog ispoljavanja.....	33
1.2.5.2. Intravaskularni krupnoćelijski B ćelijski limfom (IVLBCL).....	33
1.2.5.2.1. Mikromorfološka slika.....	33
1.2.5.2.2. Imunofenotip.....	33
1.2.5.2.3. Genski ekspresioni profil.....	34
1.2.5.2.4. Specifičnost kliničkog ispoljavanja.....	34
1.2.5.3. DLBCL udružen sa hroničnom inflamacijom.....	34
1.2.5.3.1. Mikromorfološka slika.....	34
1.2.5.3.2. Imunofenotip.....	35
1.2.5.3.3. Genski ekspresioni profil.....	35
1.2.5.3.4. Specifičnost kliničkog ispoljavanja.....	35
1.2.5.4. Limfomatoidna granulomatoza (Lymphomatoid granulomatosis-LYG).....	35
1.2.5.4.1. Mikromorfološka slika.....	35
1.2.5.4.2. Imunofenotip.....	36
1.2.5.4.3. Genski ekspresioni profil.....	36

Sadržaj

1.2.5.4.4. Specifičnost kliničkog ispoljavanja.....	36
1.2.5.5. ALK+ krupnoćelijski B limfom.....	36
1.2.5.5.1. Mikromorfološka slika.....	36
1.2.5.5.2. Imunofenotip.....	37
1.2.5.5.3. Genski ekspresioni profil.....	37
1.2.5.5.4. Specifičnost kliničkog ispoljavanja.....	37
1.2.5.6. Plazmablastni limfom (Plasmablastic lymphoma-PBL).....	37
1.2.5.6.1. Mikromorfološka slika.....	37
1.2.5.6.2. Imunofenotip.....	38
1.2.5.6.3. Genski ekspresioni profil.....	38
1.2.5.6.4. Specifičnost kliničkog ispoljavanja.....	38
1.2.5.7. Krupnoćelijski B limfom koji izrasta iz HHV8-udružene multicentrične Kastlemanove bolesti.....	39
1.2.5.7.1. Mikromorfološka slika.....	39
1.2.5.7.2. Imunofenotip.....	39
1.2.5.7.3. Genski ekspresioni profil.....	39
1.2.5.7.4. Specifičnost kliničkog ispoljavanja.....	39
1.2.5.8. Primarni efuzioni limfom (Primary effusion lymphoma-PEL).....	39
1.2.5.8.1. Mikromorfološka slika.....	40
1.2.5.8.2. Imunofenotip.....	40

1.2.5.8.3. Genski ekspresioni profil.....	40
1.2.5.8.4. Specifičnost kliničkog ispoljavanja.....	40
1.2.6. Granični slučajevi-limfomi „sive zone”.....	41
1.2.6.1. B ćelijski limfom, neklasifikovani, sa karakteristikama između klasičnog difuznog krupnoćelijskog B limfoma i Burkittovog limfoma.....	41
1.2.6.1.1. Mikromorfološka slika.....	41
1.2.6.1.2. Imunofenotip.....	41
1.2.6.1.3. Genski ekspresioni profil.....	41
1.2.6.1.4. Karakteristike kliničkog ispoljavanja.....	42
1.2.6.2. B ćelijski limfom, neklasifikovani, sa karakteristikama između difuznog krupnoćelijs- kog B limfoma i klasičnog Hodgkinovog limfoma.....	42
1.2.6.2.1. Mikromorfološka slika.....	42
1.2.6.2.2. Imunofenotip.....	42
1.2.6.2.3. Genski ekspresioni profil.....	42
1.2.6.2.4. Karakteristike kliničkog ispoljavanja.....	43
1.2.7. Entiteti koji nisu obuhvaćeni WHO 2008 klasifikacijom.....	43
1.2.7.1. DLBCL koji nastaje transformacijom iz limfoma nižeg stepena malignosti.....	43
1.2.7.2 Molekularno-biološke varijante DLBCL („Double hit” i „triple hit” limfomi).....	45
1.2.7.3. Primarni testikularni DLBCL (PTL).....	45
1.2.7.4. Primarni DLBCL kostiju (Primary bone lymphoma).....	46
1.2.7.5. DLBCL udružen sa sekrecijom monoklalnog IgM paraproteina.....	46

Sadržaj

1.2.8. Stratifikacija rizika u DLBCL.....	47
1.2.8.1. Stratifikacija rizika u odnosu na pojedine biohemijske i kliničke parametre.....	48
1.2.8.1.1. Stratifikacija rizika u odnosu na pojedine aktuelno publikovane kliničke i biohemijske karakteristike DLBCL.....	49
1.2.8.1.2. Stratifikacija rizika u odnosu na prognostičke indekse.....	50
1.2.8.1.2.1. Internacionalni prognostički indeks (IPI).....	50
1.2.8.1.2.2. Revidirani internacionalni prognostički indeks (R-IPI).....	51
1.2.8.1.2.3. Poboljšani internacionalni prognostički indeks (NCCN-IPI).....	54
1.2.8.2. Stratifikacija rizika u odnosu na biološki vitalni potencijal	55
1.2.8.2.1. Starost bolesnika i performans status.....	55
1.2.8.2.2. Pol bolesnika.....	56
1.2.8.2.3. Telesna težina bolesnika.....	57
1.2.8.2.4. Komorbiditetni indeks skorovi.....	57
1.2.8.3.1. Stratifikacija rizika u odnosu na surogat markere, odnosno imunohistohemijsku ekspresiju pojedinih antigena (CD10, MUM1, bcl6).....	57
1.2.8.3.2. Ekspresija bcl2 proteina.....	58
1.2.8.3.3. Ekspresija drugih imunohistohemijskih markera i algoritama.....	59
1.2.8.3.4. Biomolekularne i genomske karakteristike limfomskog klona i tumorske strome kao buduća smernica stratifikacije rizika u DLBCL.....	60

Sadržaj

1.2.9. Tretman DLBCL.....	63
1.2.9.1. Potvrda superiornosti dodavanja rituksimab-a tretmanu DLBCL.....	63
1.2.9.2. Tretman mladih bolesnika (18–60 godina) niskog rizika (aaIPI-0).....	64
1.2.9.3. Tretman mladih bolesnika (18–60 godina) niskog rizika (aaIPI-0) sa „Bulky” bolešću, ili aaIPI-1 bez „Bulky” bolesti.....	64
1.2.9.4. Tretman mladih bolesnika (18–60 godina) visokog rizika (aaIPI $\geq$ 2).....	64
1.2.9.5. Tretman starijih bolesnika (60–80 godina).....	65
1.2.9.6. Tretman starijih bolesnika (> 80 godina).....	65
1.2.9.7. CNS profilaksa.....	65
1.2.9.8. Tretman pojedinih formi DLBCL koji zahtevaju posebno razmatranje.....	66
1.2.10. Evaluacija odgovora nakon tretmana DLBCL.....	68
1.2.10.1. Praćenje remisije DLBCL.....	68
1.2.11. Relaps/refraktarni oblik DLBCL (R/R DLBCL).....	68
1.2.12. Trenutno aktuelni klinički trajali u <i>de novo</i> i R/R DLBCL.....	70
2. PROBLEM, PREDMET I CILJEVI ISTRAŽIVANJA.....	73
2.1. Pregled problema i predmet istraživanja.....	73
2.2. Ciljevi istraživanja.....	74
3. HIPOTEZE ISTRAŽIVANJA.....	75
4. MATERIJAL I METODE.....	76
4.1. Bolesnici i dijagnoza.....	76

Sadržaj

4.2. Tretman bolesnika.....	77
4.3. Standardne patohistološke metode.....	78
4.4. Imunohistohemijske metode (IHH).....	79
4.4.1. Upotrebljavana antitela.....	79
4.5. Imunohistohemijska analiza ekspresija antitela.....	79
4.5.1. Analiza ekspresije CD20 biomarkera.....	80
4.5.2. Analiza ekspresije CD10 biomarkera.....	81
4.5.3. Analiza ekspresije bcl2 biomarkera.....	82
4.5.4. Analiza ekspresije bcl6 biomarkera.....	83
4.5.5. Analiza ekspresije MUM1 biomarkera.....	84
4.5.6. Analiza ekspresije Ki 67.....	85
4.6. Statističke analize.....	86
5. REZULTATI.....	87
5.1. Demografske, kliničke i biohemijske karakteristike u ispitivanoj populaciji.....	87
5.1.1. Demografske karakteristike u ispitivanoj populaciji.....	87
5.1.2. Analiza distribucije biohemijskih parametara u ispitivanoj populaciji.....	89
5.1.3. Analiza distribucije kliničkih parametara u ispitivanoj populaciji.....	89
5.1.4. Distribucija prema indeksima/ skorovima prognoze u ispitivanoj populaciji.....	91
5.1.5. Struktura ispitivane populacije u odnosu na ekspresiju pojedinačnih biomarkera.....	93
5.1.6. Struktura ispitivane populacije po Hansovom i Murisovom algoritmu (skoru).....	95

Sadržaj

5.1.7. Struktura ispitivane populacije u odnosu na supkategorijsku klasifikaciju biomarkera po Hansovom algoritmu.....	97
5.2. Rezultati odgovora na primenjenu terapiju	98
5.2.1. Analiza odgovora na terapiju u odnosu na pojedinačne biomarkere.....	100
5.2.2. Analiza terapijskog odgovora u odnosu na Hansov i Murisov algoritam (skor).....	102
5.2.2.1. Rezultati odgovora na terapiju u supkategorijama biomarkera po Hansovom algoritmu.....	103
5.2.3. Rezultati odgovora na terapiju u odnosu na biohemijske i kliničke parametre.....	104
5.2.3.1. Opšta analiza odgovora na terapiju u odnosu na biohemijske i kliničke parametre.....	104
5.2.3.2. Analiza biohemijskih i kliničkih parametara u odnosu na pojedinačne biomarkere, Hansov, Murisov algoritam, kao i supkategorijske analize po Hansovom algoritmu.....	109
5.2.4. Analiza odgovora na terapiju u odnosu na biomarkere sa različitim kombinacijama skorova/indeksa prognoze (aaIPI, IPI, R-IPI, NCCN-IPI).....	125
5.2.5. Rezultati logističke regresione analize.....	139
5.3. Rezultati u odnosu na smrtni ishod.....	140
5.3.1. Analiza smrtnog ishoda u odnosu na pojedinačne biomarkere, Hansov, Murisov algoritam i supkategorijska analiza za Hansov algoritam.....	142
5.3.2. Analiza smrtnog ishoda u odnosu na biohemijske parametre.....	144
5.3.3. Analiza smrtnog ishoda u odnosu na kliničke parametre.....	146
5.3.4. Analiza smrtnog ishoda u odnosu na skorove/indekse prognoze.....	149

Sadržaj

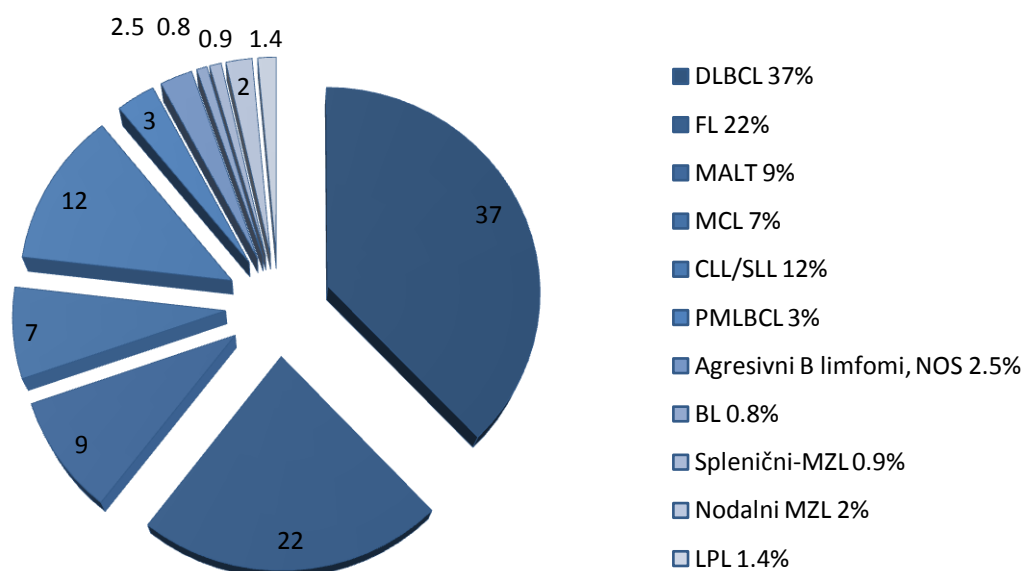
5.3.5. Analiza smrtnog ishoda u odnosu na dodatnu primenu terapije.....	151
5.4. Rezultati u odnosu na PFS.....	152
5.4.1. Kaplan-Meierova analiza PFS u odnosu na pojedinačne biomarkere, Hansov i Murisov algoritam.....	152
5.4.2. Kaplan-Meierova analiza PFS u odnosu na biohemijske i kliničke parametre.....	155
5.4.3. Analiza PFS u odnosu na pojedinačne biomarkere, Hansov, Murisov algoritam i supkategorijska analiza biomarkerskih kombinacija za Hansov algoritam (Mann-Whitney U test).....	158
5.4.3.1. Analiza PFS vremena u odnosu na biomarkere i skorove/indekse prognoze (Kruskal-Wallis test).....	160
5.4.4. Regresiona analiza faktora rizika za PFS.....	170
6. DISKUSIJA.....	171
7. ZAKLJUČCI.....	213
8. LITERATURA.....	215
Biografija kandidata.....	251
Prilozi: izjava 1.....	252
Prilozi: izjava 2.....	253
Prilozi: izjava 3.....	254

1. Uvod

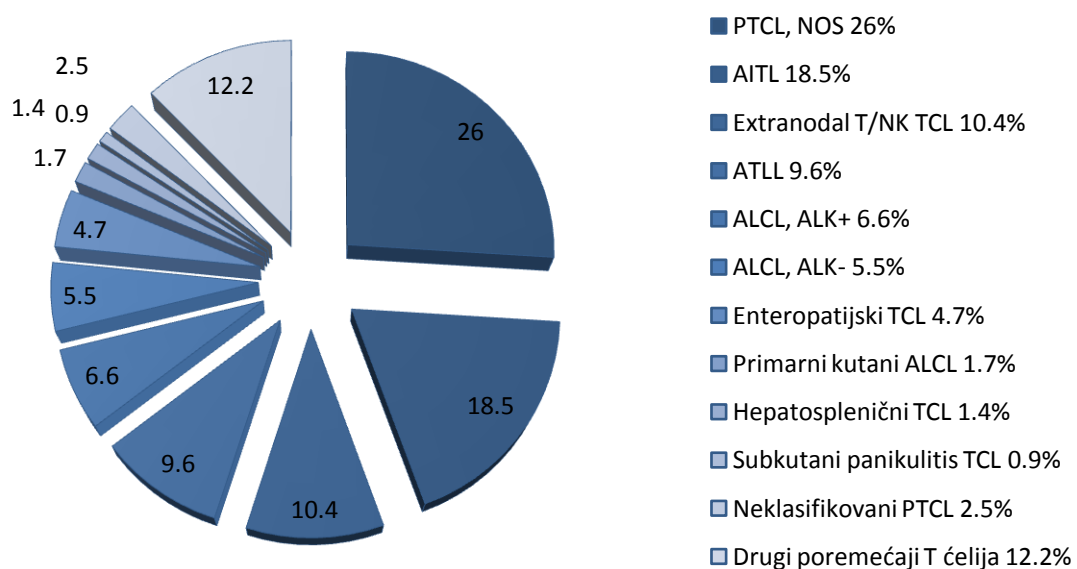
1.1.1. Non Hodgkin limfomi

Klinički i biološki non Hodgkin limfomi (NHL) spadaju u ekstremno heterogenu grupu malignih tumora limfnog tkiva. Mogu biti porekla B, T ili NK (eng. natural killer) limfocita. Na osnovu publikacije Boffete i sar. NHL nalaze se na 8. mestu po učestalosti kod muškaraca i 11. mestu kod žena, i čine približno 5,1% svih kancera sa učešćem u smrtnosti od 2,7% (1). U Sjedinjenim Američkim Državama incidenca NHL porasla je za 80% od 1970. godine i sada su na 5. mestu po učestalosti u odnosu na druge tipove kancera u tom regionu sveta. Poslednji podaci SEER-a (Surveillance, Epidemiology, and End Results Program) pokazuju da se NHL nalaze na 7. mestu po učestalosti, sa procenjenom stopom od 70.800 novoobolelih u 2014. godini. Muškarci imaju 50% veću incidencu NHL nego žene, dok belci imaju 35% veću incidencu u odnosu na crnce. Stope incidence porasle su u svim podtipovima NHL, posebno difuznih B krupnoćelijskih limfoma (DLBCL). Učestalost ekstrapnodalnih NHL porasla je više i brže u odnosu na nodalne forme NHL (2). Navedeni porast incidence delom se može tumačiti poboljšanom dijagnostikom (3), posebno u grupi ekstrapnodalnih limfoma (4). Pojava sindroma stečene imunodeficijencije (AIDS) u epidemijskim razmerama, kao i razvoj transplantacione medicine koja prouzrokuje produženu, jatrogenu imunosupresiju imaju uticaja na pomenute poraste incidence, ali nakon 1996.–2000. g. opada stopa incidenca oboljevanja od NHL vezane za HIV infekciju (2). Generalno porast incidence NHL je slabo shvaćen, jer smatra se da efekti HIV infekcije, jatrogene imunosupresije i poboljšane dijagnostike čine samo trećinu razloga za ovaj porast (2). Non–AIDS acocirana stopa incidence NHL nastavlja da raste pogotovo u ženskom polu, kod starijih bolesnika i crnaca (5). Na zapadnoj hemisferi učestalost B ćelijskih NHL je predominantna i kreće se oko 85% (6), odnosno 90% čine ukupno svi NHL, dok 10% otpada na Hodgkinov limfom (HL) (7). Najzastupljenija vrsta B ćelijskih NHL na zapadnoj hemisferi su DLBCL (6), na drugom mestu su folikularni limfomi (FL) (8), koji zajedno čine vodeću grupu NHL, preko 60%, a nakon toga sukcesivno se raspoređuju druge forme B ćelijskih NHL (**Grafikon 1**). Na istočnoj hemisferi dominiraju T ćelijski NHL. Njihova distribucija i učestalost relativna je i pokazuje značajne varijacije u zavisnosti od geografske regije sveta. Azijski kontinent najčešće je mesto njihove pojave (**Grafikon 2**).

1. Uvod



Grafikon 1. Relativna procentualna zastupljenost najčešćih B ćelijskih NHL (8, 9)



Grafikon 2. Relativna procentualna zastupljenost najčešćih T ćelijskih NHL (9)

1. Uvod

1.1.2. Etiologija NHL

Etiologija NHL generalno je nepoznata, međutim definisani su pojedini faktori rizika koji povećavaju ukupnu verovatnoću oboljevanja od ovih bolesti. Od značaja su izvesna urođena imunodeficijenta stanja: Wiscott-Aldrich sindrom, ataxia teleangiectasia, učestala varijabilna imunodeficijencija (eng. common variable immunodeficiency-CVID), hipogamaglobulinemija, koja značajno povećavaju rizik za razvoj, pre svega, zrelih B ćelijskih neoplazmi. Poznato je da neke autoimune bolesti povećavaju rizik oboljevanja od NHL. Reumatoidni artritis povećava rizik za razvoj DLBCL, Sjögrenov sindrom i Hashimoto tireoiditis povećavaju rizik za ekstrapnodalni limfom marginalne zone MALT i DLBCL, gluten-senzitivna enteropatija za T ćelijski enteropatijski NHL i dr. Mikrobiološki agensi, pre svega pojedini virusi *de facto* su definisani uzročnici koji doprinose ili direktno izazivaju razvoj pojedinih B, T i NK ćelijskih neoplazmi. U tom smislu, retrovirusi kao što su virus humane imunodeficijencije (HIV) i humani T-limfotropni virus tip 1 (HTLV 1) dva su najpoznatija virusna agensa koja svojim imunodestruktivnim dejstvom doprinose ili direktno utiču na genezu limfoma. HIV izaziva kompleksnu imunosupresiju i nosi apsolutni rizik za razvoj čitavog spektra NHL, pre svega zrelih B ćelija (primarni efuzioni limfom, plazmablastni limfom i multicentrična Kastlemanova bolest asocirana sa Kaposi sarkoma herpes virusom), kao i HL. Pored ovih povećava i rizik za razvoj Burkittovog limfoma (BL), DLBCL i drugih NHL. U severozapadnom delu Japana endemski je prisutna HTLV 1 infekcija koja izaziva adultni T-ćelijski limfom/ leukemiju (ATLL). Seroprevalenca pozitivnih slučajeva kreće se oko 10%, dok je kumulativni rizik za razvoj ATLL 6,9% za seropozitivne muškarce i 2,9% za seropozitivne žene (9). U zoni Kariba takođe je velika prevalenca HTLV 1 pozitivnih osoba i u odnosu na rasu, crnci imaju veću incidencu oboljevanja od ATLL (10). Epstein-Barr virus (EBV) jedan je od najinkriminisanijih agenasa za razvoj čitavog spektra različitih tipova limfoma, najčešće kao neizostavna karika u lancu kofaktora neophodnih za genezu bolesti. Azijski kontinent jedan je od endemskih lokaliteta sa visokom prevalencom EBV infekcije gde je i najveća incidenca EBV-asociranog T/NK ćelijskog ekstrapnodalnog limfoma, nazalni tip, zatim agresivne NK leukemije i pedijatrijskog EBV+ T/NK ćelijskog limfoma. U Hong Kongu EBV-asocirani ekstrapnodalni T/NK limfom, nazalni tip najčešći je tip limfoma čineći skoro 8% slučajeva (9). U ekvatorijalnoj Africi postoji endemska pojava BL, kod koga se detektuje u 100% slučajeva infekcija EBV-om, dok se kod sporadičnog i HIV-asociranog BL detektuje u oko 15–30% slučajeva (11, 12). Pored pomenutih tipova limfoma EBV je uključen u patogenezu mnogih B

1. Uvod

ćelijskih limfoma koji se pojavljuju kod imunosuprimiranih ili starih bolesnika, uključujući neke posttransplantacijske limfoproliferativne bolesti, plazmablastni limfom (PBL) i EBV+ DLBCL starijih (11, 12). Hronična aktivna EBV infekcija može prethoditi razvoju nekih EBV+ T ćelijskih limfoma (13, 14). Dva pedijatrijska limfoma kao što su, već pomenuti EBV+ T/NK ćelijski limfom dece i hidroa-vakciniformni (hydroa-vacciniformis) nalik T ćelijski limfom stoje u uskoj vezi sa EBV kao neophodnim kofaktorom bolesti. Humani herpes virus tip 8 (HHV-8) ili Kaposi sarkoma herpes virus (KSHV) redovan su nalaz kod primarnog efuzionog limfoma i u multicentričnoj Kastlmanovoj bolesti, koji su obavezno udruženi sa HIV infekcijom (15). Značaj hepatitis C virusa nije dovoljno definisan, ali bar jednim delom je uključen u genezu nekih limfoplazmocitnih limfoma udruženih sa krioglobulinemijom tip 2, spleničnim marginal zonalnim limfomom, nodalnim limfomom marginalne zone i DLBCL (9). Što se bakterija tiče, *Helicobacter pylori* sam ili posledično kao rezultat imunog odgovora na prisustvo bakterije ima ulogu u etiologiji gastričnih MALT limfoma (9). *Campylobacter jejuni* ima značaja u razvoju intestinalnog MALT limfoma udruženog sa bolešću alfa teških lanaca (16, 17). *Borrelia burgdorferi* ima značaja u razvoju nekih kutanih MALT limfoma i primarnih kutanih DLBCL u Evropi (18, 19, 20). Infekcije oka hlamidijom: *C. psittaci*, *C. pneumoniae*, *C. trachomatis* mogu biti uključene u genezu nekih okularnih adneksalnih MALT limfoma u pojedinim geografskim regijama (21, 22). Faktori spoljne sredine kao što je uticaj pojedinih hemikalija tipa pesticida ili herbicida mogu biti dovedeni u vezu sa razvojem folikularnog limfoma (FL) i DLBCL (23, 24).

1.1.3. Patogeneza NHL

Za poznavanje patogeneze NHL neophodno je poznavati normalan razvojni put limfoidne loze, jer patobiološki gledano, limfomi nastaju pojavom bloka na nekom od maturacionog ili diferencijacionog puta limfocita. Uprošćeno gledano ovaj proces koji se dešava može se označiti kao kočenje u sazrevanju (eng. maturation arrest), pri čemu ćelija ostaje "ukočena" u daljem sazrevanju i razvoju, ali zadržava ili pojačava svoju proliferativnu aktivnost, ili se povećava njen antiapoptotski potencijal. U zavisnosti od nivoa prekida u maturacionom i diferencijacionom putu, limfomi se klasifikuju na odgovarajuće tipove, u zavisnosti od zrelosti limfomske ćelije. Pomenute ćelije imaju tendenciju da imitiraju normalan tok zrenja limfocita, odnosno da maligni klon nalikuje svom benignom ćelijskom ekvivalentu, mada to nije uvek slučaj. U osnovi maligne alteracije leže razni tipovi numeričkih ili strukturnih hromozomskih aberacija, što rezultira

1. Uvod

aberrantnoj aktivaciji gena koji dalje vode izmeni normalnih signalnih puteva u ćeliji. Uprošćeno gledano dva osnovna procesa dominiraju u maligno transformisanoj ćeliji: proliferativni signalni putevi koji su van regularne inhibitorne kontrole što rezultira hiperproliferacijom malignog klona i antiapoptotski signalni putevi koji vode pojavi „imortalnosti“ klona, odnosno bolje rečeno dugom životnom veku maligne ćelije, pri čemu ona nadživljava normalne okolne ćelije i vremenom postaje dominantna ćelijska populacija. Ne treba zanemariti i uticaj tumorske mikrookoline i njene interakcije sa malignom ćelijom što rezultira formiranju jednog kompleksnog interaktivnog sistema koji daje šansu malignoj ćeliji da preživi i izbegne imuni odgovor domaćina. Tokom vremena genom limfomskih ćelija doživljava dodatne klonalne rearanžmane koji rezultiraju pojavom rezistencije na terapiju i vode ka refraktarnom obliku bolesti.

1.1.3.1. B ćelijski limfomi: od normalne diferencijacije do limfoma

B ćelijske neoplazme ili limfomi imaju tendenciju da u potpunosti imitiraju stadijume normalne B ćelijske diferencijacije i ta sličnost sa normalnim ćelijskim stadijumom predstavlja osnovu njihove klasifikacije i nomenklature (9). S toga, za razumevanje B ćelijskih proliferacija neophodno je poznavanje normalnog razvojnog puta ove loze. B limfocitna loza započinje svoj nastanak u koštanoj srži (primarnom limfnom organu) od matičnih ćelija, preko progenitor B ćelija do B limfoblasta, koji u sadejstvu hematopoezne induktivne mikrookoline (HIM) doživljavaju izmene u VDJ (eng. Variable Diverse Joining) genima za imunoglobuline. Ovaj proces se označava kao somatska rekombinacija i kroz niz etapnih stadijuma diferencijacije i maturacije nastaju IgM+, IgD+ zrele, ali antigen-naivne B ćelije (limfociti). Promene u genomu i imunohistohemijskoj ekspresiji od ranih progenitora B ćelija do naivnih IgM+, IgD+ B limfocita predstavljaju ranu fazu u razvoju B loze koja se označava i kao antigen nezavisna faza zrenja i prikazana je u **tabeli 1**. Bilo koji onkogeni događaj koji ukoči diferencijaciju i maturaciju B ćelija u vrlo ranim stadijumima zrelosti (pre nastanka naivnih IgM+, IgD+ B limfocita) dovodi do nastanka prekursornih B limfoblastnih limfoma, odnosno akutnih B limfoblastnih leukemija (definisan je veliki broj podvrsta u zavisnosti od imunohistohemije i citogenetskih aberacija koje se dešavaju unutar ćelija malignog klona). Postoji mala subpopulacija naivnih B limfociti koji koeksprimiraju T zavisni antigen CD5, žive u mantl zoni limfnih folikula i recirkulišu u perifernu krv i nazad. Smatra se da "mantle cell" limfom (MCL) upravo nastaje iz ovih naivnih CD5+ B limfocita (25), uz dodatne aberacije hromozoma koje najčešće vode prekomernoj ekspresiji ciklin D1 proteina u

1. Uvod

preko 98% slučajeva (26). U daljem toku naivni IgM⁺, IgD⁺ B limfociti nailaze na susret sa antigenima i preko svojih membranskih receptora stupaju u kontakt sa njima kada dolazi do blastne transformacije ćelija, odnosno započinje antigen zavisna faza u razvoju B limfocita. Molekularnu osnovu ovog procesa čine dva događaja: somatska hipermutacija u genima za teške lance imunoglobulina (IgH geni) i klasno prebacivanje (eng. class switching). Ovaj proces može započeti van germinativnog centra, koji je nezavisan od kontakta sa T limfocitnim antigenima kada nastaju rani, kratkoživeći plazmociti koji sekretuju solubilni IgM, koji predstavlja prvi, evolutivno najstariji i najprimitivniji imunoglobulin. On se prvi sekretuje u kontaktu sa antigenom i niske je specifičnosti. Monoklonske bolesti imunog sistema poznate po IgM sekreciji su Waldenströмова makroglobulinemija i limfoplazmocitni limfom. Karakterišu se proliferacijom monoklonskih limfoplazmocitnih ćelija, hiperviskoznim sindromom, pre svega kod Waldenströmove makroglobulinemije zbog IgM pentamera koji su vrlo krupni molekuli i odlikuju se relativno indolentnim kliničkim tokom, mada je bolest dosta heterogena pa nije uvek tako. Poremećaji koji su po patogenezi bliski pomenutim su bolesti teških lanaca i karakterišu su abnormalnom sekrecijom nepotpunih samo teških lanaca imunoglobulina i visoko su asocirani sa mogućnošću razvoja B ćelijskih NHL. Spadaju u retke fenomene. U germinativnom centru limfnih folikula odigrava se diferencijacija zrelih, antigen naivnih B limfocita, ali uz sadejstvo T limfocitnih antigena kada nastaju dugoživeći plazmociti koji sekretuju IgG ili IgA klasu imunoglobulina, koji su visoko specifični i evolutivno mlađi molekuli antitela. Pored plazmocita nastaju i B memorijske ćelije, koje recirkulišu i naseljavaju najčešće B zavisne zone i mantl zone limfnih folikula i aktiviraju se i pretvaraju u plazmocite pri ponovnom kontaktu sa specifičnim antigenom tokom života. Limfociti u germinativnom centru aktiviraju se i transformišu u centroblaste, ovaj proces je potpomognut folikulo-dendritičnim ćelijama osnove limfnog folikula (eng. Follicular dendritic reticular cells-FDRC) i populacijom T limfocita koja naseljava germinativne centre. Germinativno ćelijski centroblasti pokazuju nisku ekspresiju membranskih površinskih imunoglobulina (sIg) i isključuju ekspresiju bcl2 proteina koji ima antiapoptotski potencijal, čime se omogućuje apoptoza kao prirodni biološki događaj (27) što čini osnovu takozvane pozitivne selekcije klonova. Centroblasti ekspimiraju bcl6 protein (transkripcioni represor faktor) i opet vraćaju ekspresiju CD10 antigena, koji je bio eksprimiran na ranim progenitorima B ćelija, a kasnije se ne eksprimira u stadijumu naivnih B limfocita i stadijumu nakon završetka zrenja ćelija u plazmocitima, odnosno B memorijskim ćelijama. U germinativnom centru gen za bcl6 doživljava somatsku hipermutaciju,

1. Uvod

ali u manjem procentu nego u IgH genima (28). Glavni znaci germinativno ćelijskog porekla ćelija je mutacija za IgV region gena i bcl6 mutacija. Većina DLBCL komponovana je od centroblastnih ćelija koje nalikuju ćelijama germinativno ćelijskog porekla, ali mogu biti i post-germinativne ćelije po genetskoj osnovi sa zadržanom morfologijom centroblasta. BL je redovno bcl6+ i CD10+ i odgovara blastima germinativnog centra. BL je humana najagresivnija neoplazma, dok DLBCL predstavlja takođe agresivnu neoplazmu blastnih ćelija, ali nižeg stepena agresivnosti od BL (izuzetak su visoko agresivni DLBCL koji su molekularno na granici sa BL, kao što su "double hit" ili "triple hit" limfomi). Centroblasti dalje sazrevaju ka centrocitima koji migriraju i formiraju svetle (eng. light) zone germinativnih centara. Ovaj stadijum B limfocita ne doživljava apoptozu i fiziološki reeksprimira antiapoptotski bcl2 protein (29). U daljem toku u interakciji sa CD23 receptorom FDRC i CD40 ligandom T limfocita, centrociti dalje se diferentuju u B memorijske ćelije i/ili dugoživeće plazmocyte (28) i isključuju bcl6 proteinsku ekspresiju (30, 31). Bcl6 i MUM1 (često označen kao IRF4/MUM1) su recipročno eksprimirani, u smislu da je MUM1 eksprimiran u post-germinativno ćelijskim limfocitima, odnosno B memorijskim ćelijama i plazmocitima (32, 31). MUM1 igra kritičnu ulogu u nishodnoj reglaciji bcl6 ekspresije (31). FL su tumori komponovani od mešavine ćelija germinativnog centra (centroblasta i centrocita), morfološki. Translokacija hromozoma t(14;18)(q21;q22) je molekularna osnova ovog limfoma koja vodi preteranoj i nekontrolisanoj ekspresiji bcl2 antiapoptotskog proteina. Ovde više nema fiziološke pozitivne selekcije klonova već sve ćelije preživljavaju i prenaseljavaju germinativne centre, dovodeći do njihovog bubrenja i razaranja trodimenzionalnog citoretikuluma sastavljenog od FDRC osnove limfnog folikula i atrofije mantl zone, što predstavlja histološku osnovu dijagnoze. Centrociti uglavnom predominiraju (postoji histološko gradiranje FL) i tendenca ovih limfoma je da imaju indolentno kliničko ponašanje, sa mogućnošću transformacije u agresivnije limfome sa podizanjem gradusa (povećanje ukupnog broja centroblasta nad centrocitima) do konačnog razvoja DLBCL. Post-germinativne B ćelije kao što su memorijske B ćelije uglavnom recirkulišu i naseljavaju marginalne zone limfnih folikula odakle mogu nastati marginal zonalni limfomi (nodalni, ektranodalni: MALT-omi i splenične forme) koji uglavnom imaju benigni indolentan tok, jer su ćelije koja ga sačinjavaju već diferentovane i imaju slab proliferativni potencijal. Plazma ćelijske diskrazije nastaju od plazma ćelija koje su terminalno diferentovane i imaju sposobnost sekrecije imunoglobulina u slučajevima bolesti tipa multiplog mijeloma sekretuje se monoklonalni potpuni ili defektni imunoglobulini sa pratećom osteolizom kostiju koja

1. Uvod

je reaktivna i posledica najčešće aktivacije osteoklasta od strane sekretovanih citokina malignih plazmocita ili ćelija strome koštane srži. U **tabeli 2** date su imunofenotipske karakteristike najčešćih formi B-NHL.

Tabela 1. Biološki razvojni put B limfocita u antigen nezavisnoj fazi

Antigen	Matična ćelija	Pro-B ćelije			Pre-B ćelije		Nezrela B ćelija	Zrela B ćelija
CD34	+	+	+	+	-	-	-	-
CD45	-	+	+	+	+	+	+	+
CD43	-	+	+	+	-	-	-	-
CD19	-	-	+	+	+	+	+	+
CD10	-	-	+	+	+	+	+	-
CD40	-	-	-	-	-	+	+	+
CD23	-	-	-	-	-	-	-	+
sIgM	-	-	-	-	-	-	+	+
sIgD	-	-	-	-	-	-	-	+
CD20	-	-	-	-	-	-	-	+
CD22	-	-	-	-	-	-	-	+
CD79 α,β	-	-	-	-	-	-	+	+

1. Uvod

Tabela 2. Imunofenotipske karakteristike najčešćih B ćelijskih NHL

Neoplazma	sIg cIg	CD5	CD10	CD23	CD43	CD103	Bcl6	MUM1	Cyclin D1	ANXA1
CLL/SLL	+; -/+	+	-	+	+	-	-	+	-	-
								(PC)		
LPL	+; -/+	-	-	-	-/+	-	-	+	-	-
Splenic- MZL	+; -/+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
HCL	+;-	-	-	-	-	+	-	-	+/-	-
Plasma cell myeloma	-;+	-	-/+	-	-/+	-	-	+	-/+	-
MALT lymphoma	+; +/-	-	-	-/+	-/+	-	-	+	-	-
FL	+;-	-	+/-	-/+	-	-	+	-/+***	-	-
MCL	+;-	+	-	-	+	-	-	-	+	-
DLBCL	+/-; -/+	-§	-/+^	NA	-/+	NA	+/-°	+/-°	-	-
BL	+;-	-	+	-	+/-	NA	+	-/+	-	-

+ (>90%); +/- (>50%); -/+ (<50%); - (<10%); **ANXA1**-Anexin 1; **PC**-proliferativni centri; * plazma ćelijska komponenta je samo pozitivna; ** neki G3a i G3b FL; § neki DLBCL su CD5+ (10–15%); ^ DLBCL germinativno centarskog porekla (GCB) ekspirira CD10 i/ili bcl6; ° DLBCL aktiviranih B ćelija (ABC) su tipično MUM1+; **NA**-not applicable (nije primenjivo);

1.1.3.2. T ćelijski limfomi: od normalne diferencijacije do limfoma

T limfociti nastaju od prekursora u koštanoj srži odakle migriraju u timus gde dalje doživljavaju svoj celokupni razvojni put, koji je dat u **tabeli 3**. Maturacija započinje u korteksu timusa potpomognuta epitelnim ćelijama timusa. U toku zrenja T limfociti koji prepoznaju sopstvene peptidne antigene bivaju podvrgnuti mehanizmu apoptoze i dalje eliminisani od strane epitelnih ćelija timusa. Kortikalni (rani i kasni) T limfociti imaju nezreo imunofenotip sa ekspresijom terminalne-deoksinukleotidil-transferaze (TdT) i antigena CD1a, CD3, CD5 i CD7 koji prvo imaju

1. Uvod

citoplazmatsku ekspresiju, a nakon toga antigeni izlaze na membranu T limfocita. Blok u sazrevanju T limfocita na ovom stadijumu vodi nastanku prekursor T limfoblastnog limfoma ili akutne T limfoblastne leukemije (progenitor, pre T). Kako se T limfociti lagano spuštaju ka meduli timusa, tako razvijaju zreliji imunofenotip, odnosno postaju imunokompetentne ćelije. Medularni T limfociti timusa su zreli i imaju razvijen T ćelijski receptor (TCR), koji predstavlja oznaku njihove zrelosti. Nakon napuštanja medule timusa izlaze u perifernu krv, kao periferni T limfociti koji mogu biti CD4⁺ T (helper i supresor) i CD8⁺ T (citotoksični i indjuser) limfociti sa svojim jasno definisanim ulogama u imunim reakcijama. Ovi periferni limfociti dalje recirkulišu, naseljavajući T zavisne zone sekundarnih limfnih organa. TCR je heterodimer sastavljen od α i β lanca kod većine populacije T limfocita. Mali broj T limfocita ima TCR sagrađen od γ i δ lanaca, oko 5% populacije, ove ćelije ne ekspiriraju CD4, CD8 i CD5 receptor. $\gamma\delta$ T ćelije pokazuju češću distribuciju u koži, crvenoj pulpi slezine i intestinumu, i imaju ulogu prve linije odbrane od bakterijskih peptida, kao što su tzv. "hit shock" proteini (33). Pomenuta mesta distribucije najčešća su mesta javljanja $\gamma\delta$ T ćelijskih limfoma, koji su inače retki (34, 35, 36). Najpoznatiji predstavnici $\gamma\delta$ T ćelijskih limfoma su hepatosplenični, koji primarno zahvata jetru i slezinu, vrlo agresivnog toka i lošeg ishoda, dok je kutana varijanta nešto indolentnijeg toka. T ćelijski limfomi koji nastaju od limfocita pre antigenog zrenja uglavnom su ekstranodalne lokalizacije za razliku od zrelih koji imaju češću nodalnu prezentaciju. Većinu T ćelijskih limfoma čine periferni T ćelijski limfomi (PTCL, NOS), pod čijim nazivom se nalaze brojni podentiteti koji su relativno zasebni i specifični u svom kliničkom ponašanju i kreću se od relativno indolentnih do vrlo agresivnih limfoma. CD4⁺ T limfocitna populacija uglavnom sadrži populaciju ćelija pomoćnica (eng. helper) koje regulišu funkciju kompletnog imunog sistema. Dogma imunobiologije podrazumeva postajanje: Th1 tipa imunog odgovora koji dominantno stimuliše makrofage i ostale T ćelije i Th 2 tip koji stimuliše B ćelijsku diferencijaciju i maturaciju. Relativno novija saznanja pokazuju postojanje subpopulacije CD4⁺ T-helper limfocita koji naseljavaju germinativne centre i koji imaju ulogu u interakciji sa B limfocitima, u toku njihovog antigenog zrenja u germinativnim centrima. Ova subpopulacija ima vrlo specifičan, jedinstveni imunofenotip sa koekspresijom B antigena CD10 i jedarnog bcl6, uz svoju CD4⁺ ekspresiju imaju i marker NK ćelija CD57 i PD-1 koji produkuje CXCL13 hemokin i njegove receptore. Pomenuti hemokin ima ulogu u indukciji i proliferaciji FDRC i migraciji B ćelija, a povećavaju ekspresiju receptora za ovaj hemokin na ostalim T ćelijama germinativnih centara limfnih folikula. Otkriveno je da je CXCL13 povećano

1. Uvod

sekretovan i eksprimiranu ćelijama angioimunoblastnog T ćelijskog limfoma (AITL), što pojašnjava neke od karakteristika ovog tipa agresivnog T ćelijskog limfoma (9). AITL udružen je sa poliklonalnom hipergamaglobulinemijom i proliferacijom B ćelija i CD21+ ćelija FDRC osnovne limfnog folikula. Brojne studije pokušavale su da objasne izvesne kliničko-patološke događaje koje su udružene sa nekim T i NK ćelijskim limfomima, kao što su hemofagocitni sindrom za koji se smatra da je povezan sa povećanom sekrecijom citokina i hemokina, u domenu defektne citolitičke funkcije (9). Hiperkalcemija koja je udružena sa ATLL je povezana sa povećanom sekrecijom osteoklast-aktivirajućih faktora (37, 38). NK ćelije čine 10–15% limfocita periferne krvi, a njihovi reprezentativni biomarkeri su CD16, CD56 i CD57. Neoplazme NK ćelija su relativno retke, ali opisane, sa dijapazonom od indolentnog do vrlo agresivnog toka. Često imaju leukemijsku ili ekstrapnodalnu prezentaciju.

Tabela 3. Biološki razvojni put T limfocita

Antigen	protimocit	Subkapsularni timocit	Kortikalni timocit	Medularni timocit	Periferna T-ćelija
CD7	+	+	+	+	+
CD1a	-	-	+	+	-
CD2/CD5	+	+	+	+	+
CD3	-	Citoplazma +	Površinska membranska ekspresija markera		
CD4/CD8	-	-	Pojedinačna ekspresija CD4+ ili samo CD8+		
TdT	+	+	+	+	-
T-ćelijski limfoblastni limfom/leukemija (T-LBL/ALL)				Periferni T-ćelijski limfomi	

1.1.4. Klasifikacija NHL

Nijedan klinički entitet nije imao tako konfuznu i komplikovanu klasifikaciju tokom perioda vremena kao limfoidne neoplazme. Prvu klasifikaciju limfoma dao je Henry Rappaport sa saradnicima 1956. godine, čija suština se ogledala u razlikovanju limfoma samo na osnovu tipa rasta limfomskih ćelija (nodularni vs difuzni) (39). Ova klasifikacija bila je aktuelna skoro dve decenije, sa prvom značajnijom revizijom 1966. godine (uveden je termin „histiocitni” umesto „retikularni”, što se danas pokazalo pogrešnim), a početkom 70-ih godina uvedena je i kategorija

1. Uvod

limfoblastnih limfoma (40). Lukes i Collins, 1974. godine dali su klasifikaciju limfoma baziranu na ćelijskom poreklu i promenama koje nastaju tokom transformacije limfnih ćelija (41). Izvršena je po prvi put histogenetska podela na limfome B i T ćelijskog porekla, kao i morfološko-citološka diferencijacija ćelija na osnovu izgleda ćelija germinativnog centra (smatralo se da najveći broj limfoma vodi poreklo od B limfocita germinativnog centra). Limfomske ćelije podeljene su na velike i male, a na osnovu izgleda jedara na urezanih i neurezanih jedara. Iako naprednija u odnosu na Rappaporta, mane ove klasifikacije bile su što se smatralo da su hematopatolozi mogli da razlikuju B i T limfome samo na osnovu ćelijske morfologije. Kielska klasifikacija koja je izašla iste godine predložena je od strane Lennerta i Lukesa, a ona uvodi razlikovanje limfoma na osnovu stepena njihove diferencijacije, i po prvi put uvodi termine limfoma niskog stepena agresivnosti (eng. low grade) i visokog stepena agresivnosti (eng. high grade) (42). Tumori niske agresivnosti bili su građeni od diferencijalnih ćelija „citi“, a visoke agresivnosti od manje diferencijalnih ćelija „blasti“. Limfoidne leukemije bile su uključene u obe klasifikacije iz 1974. godine, jer se shvatilo da pojedini tipovi limfoma mogu imati leukemijsku prezentaciju. Godine 1988. izvršena je detaljna revizija Kielske klasifikacije i limfomi su jasno kategorisani na B i T ćelijske limfome, ubačeni su novi retki entiteti koji ranije nisu bili obuhvaćeni klasifikacijama (43, 44). Slabost ove klasifikacije bila je što u sebe nije uključila ektranodalne limfome kojih ima do 40% po današnjim statistikama. Radna formulacija (eng. The Working formulation of Non-Hodgkin Lymphomas for Clinical Usage-WF) nastala je na osnovu rezultata uporedne studije do tada publikovanih klasifikacija kao radna verzija otvorena za doradu (45). WF u stvari je modifikovana Rappaportova klasifikacija u koju su uključeni novi tipovi limfoma, uz izmenjenu terminologiju i kategorizaciju prema kliničkom toku bolesti. Revidirana Evropsko-američka klasifikacija limfnih neoplazmi (REAL) koja je proglašena 1994. godine predstavlja revidiranu Kielsku klasifikaciju, koja je delom uprošćena uz dodatak par novih entiteta, a po prvi put se u klasifikaciju uključuju i HL, plazmocitom/ mijelom i limfoidne leukemije, tako da su na jednom mestu obuhvaćene neoplazme imunog sistema (46, 47, 48). Ova klasifikacija u obzir uzima imunohistohemijsku klasifikaciju neoplazmi, kao i njihovu citogenetsku osnovu. Godine 2001., Svetska zdravstvena organizacija (World Health Organization-WHO) izdaje prvu zbirnu klasifikaciju svih hematoloških neoplazmi, koja uključuje morfološki, imunohistohemijski i citogenetski aspekt ovih neoplazmi. Nakon nje izašla je trenutno aktuelna revizija iz 2008. godine, sa nekoliko dodatih entiteta koji su u međuvremenu prepoznati kao zasebni (**Tabela 4**). Preliminarni plan bio je da se 2012. godine

1. Uvod

objavi nova revizija WHO klasifikacije, ali ona nije izvršena. U međuvremenu definisani su novi entiteti, između ostalih kao „in situ” limfomi za FL i MCL i nekoliko provizornih entiteta. Najnovija revizija WHO klasifikacije očekuje se 2015. godine.

Tabela 4. Klasifikacije limfoidnih neoplazmi prema zadnjoj reviziji Svetske zdravstvene organizacije (World Health Organization)-WHO 2008

PREKURSORNE NEOPLAZME B ČELIJA
Prekursorni B limfoblastni limfom/ leukemija (Precursor B-lymphoblastic lymphoma/leukemia)
ADULTNE (ZRELE) NEOPLAZME B ČELIJA
Limfom malih limfocita/ Hronična limfocitna leukemija (Small lymphocytic lymphoma/ Chronic lymphocytic leukemia-SLL/ CLL)
B ćelijska prolimfocitna leukemija (B-cell prolymphocytic leukemia)
Splenični limfom marginalne zone (Splenic-marginal zone lymphoma)
Leukemija vlasastih ćelija (Hairy cell leukemia)
Splenični limfom/ leukemija, neklasifikovani* (Splenic lymphoma/leukemia, unclassifiable)*
- Splenični difuzni B limfom malih limfocita koji zahvata crvenu pulpu slezine* (Splenic diffuse red pulp small B-cell lymphoma)*
- Leukemija vlasastih ćelija varijanta* (Hairy cell leukemia variant)*
Limfoplazmocitni limfom (Lymphoplasmacytic lymphoma)
- Waldeström-ova makroglobulinemija
Bolest teških lanaca (Heavy chain disease)
- Bolest alfa teških lanaca (α heavy chain disease)
- Bolest mi teških lanaca (μ heavy chain disease)
- Bolest gama teških lanaca (γ heavy chain disease)
Plazma ćelijski mijelom (Plasma cell myeloma)
Solitarni plazmocitom kostiju (Solitary plasmacytoma of bone)
Ekstraossealni plazmocitom (Extraosseous plasmacytoma)
Ekstranodalni limfom marginalne zone sluznica (Extranodal marginal zone lymphoma of mucosa-associated lymphoid tissue (MALT lymphoma)
Nodalni limfom marginalne zone (Nodal marginal zone lymphoma)
Folikularni limfom (Follicular lymphoma)
Pedijatrijski folikularni limfom* (Pediatric follicular lymphoma)*
Primarni kutani limfom folikularnog centra (Primary cutaneous follicle centre lymphoma)
Mantle cell limfom (Mantle cell lymphoma)
Difuzni B krupnoćelijski limfom, drugačije neoznačen (Diffuse large B-cell lymphoma, DLBCL, NOS)
- T ćelijski/ histiocitima bogat krupnoćelijski B limfom (T-cell/histiocyte rich large B-cell lymphoma)
- Primarni DLBCL centralnog nervnog sistema (Primary DLBCL of CNS)

1. Uvod

- Primarni kutani DLBCL, tip noge (Primary cutaneous DLBCL, leg type)
- EBV+ DLBCL starijih (EBV+ DLBCL of the elderly)
DLBCL udružen sa hroničnom inflamacijom (DLBCL associated with chronic inflammation)
Limfomatoidna granulomatoza (Lymphomatoid granulomatosis)
Primarni medijastinalni (timični) krupnoćelijski B limfom (Primary mediastinal (thymic) large B-cell lymphoma)
Intravaskularni krupnoćelijski B limfom (Intravascular large B-cell lymphoma)
ALK+ krupnoćelijski B limfom (ALK+ large B-cell lymphoma)
Plazmablastni limfom (Plasmablastic lymphoma)
Krupnoćelijski B ćelijski limfom koji izrasta iz HHV8 udružene multicentrične Kastlmanove bolesti (Large B-cell lymphoma arising in HHV8-associated multicentric Castleman disease)
Primarni efuzioni limfom (Primary effusion lymphoma)
Burkit-ov limfom (Burkitt lymphoma)
B ćelijski limfom, neklasifikovan sa karakteristikama između DLBCL i BL (B-cell lymphoma, unclassifiable, with features intermediate between DLBCL and BL)
B ćelijski limfom, neklasifikovan sa karakteristikama između DLBCL i HL (B-cell lymphoma, unclassifiable, with features intermediate between DLBCL and BL)
PREKURSORNE T/NK ĆELIJSKE NEOPLAZME
Prekursor T limfoblastni limfom/leukemija (Precursor T-lymphoblastic lymphoma/leukemia)
ADULTNE (ZRELE) NEOPLAZME T/NK ĆELIJA
T ćelijska prolimfocitna leukemija (T-cell prolymphocytic leukemia)
T ćelijska leukemija krupnih granuliranih limfocita (T-cell large granular lymphocytic leukemia)
Hronični limfoproliferativni poremećaj NK ćelija* (Chronic lymphoproliferative disease of NK cells)*
Agresivna NK ćelijska leukemija (Aggressive NK-cell leukemia)
Sistemska EBV+ T ćelijski limfoproliferativna bolest detinjstva (Systemic EBV+ T-cell lymphoproliferative disease of childhood)
Hidroa vakciniiformni nalik limfom (Hydroa vacciniforme-like lymphoma)
Adultni T ćelijski limfom/leukemija HTLV 1+ (Adult T-cell leukemia/lymphoma)
Ekstranodalni NK/T ćelijski limfom, nazalni tip (Extranodal NK/T-cell lymphoma, nasal type)
Enteropatijski udružen T ćelijski limfom (Enteropathy-associated T-cell lymphoma)
Hepatosplenični T ćelijski limfom (Hepatosplenic T-cell lymphoma)
Subkutani panikulitis nalik T ćelijski limfom (Subcutaneous panniculitis-like T-cell lymphoma)
Mikozis fungoides (Mycosis fungoides)
Sezarijev sindrom (Sézary syndrome)
Primarni kutani CD30+ T ćelijski limfoproliferativni poremećaji (Primary cutaneous CD30+ T-cell lymphoproliferative disorders)
- Limfomatoidna papuloza (Lymphomatoid papulosis)
- Primarni kutani anaplastični krupnoćelijski limfom (primary cutaneous anaplastic large cell lymphoma)
Primarni kutani $\gamma\delta$ T ćelijski limfom (Primary cutaneous $\gamma\delta$ T-cell lymphoma)
Primarni kutani CD8+ agresivni epidermotropični citotoksični T ćelijski limfom* (Primary cutaneous CD8+ aggressive epidermotropic cytotoxic T-cell lymphoma)*
Primarni kutani CD4+ mali/ intermedijerni T ćelijski limfom* (Primary cutaneous CD4+ small/medium T-cell

1. Uvod

lymphoma)*
Periferni T ćelijski limfom, NOS (Peripheral T-cell lymphoma, NOS)
Angioimunoblastni T ćelijski limfom (Angioimmunoblastic T-cell lymphoma)
Anaplastični krupnoćelijski limfom, ALK+ (Anaplastic large cell lymphoma, ALK+)
Anaplastični krupnoćelijski limfom, ALK- (Anaplastic large cell lymphoma, ALK-)
HODGKIN-OV LIMFOM
Nodularni limfocitno predominantni Hodgkinov limfom (Nodular lymphocyte predominant Hodgkin lymphoma)
Klasični Hodgkinov limfom (Classical Hodgkin lymphoma)
Nodularna skleroza klasični Hodgkinov limfom (Nodular sclerosis classical Hodgkin lymphoma)
Limfocitima bogat klasični Hodgkinov limfom (Lymphocyte-rich classical Hodgkin lymphoma)
Mešovita celularnost klasični Hodgkinov limfom (Mixed cellularity classical Hodgkin lymphoma)
Limfocitna deplecija klasični Hodgkinov limfom (Lymphocyte-depleted classical Hodgkin lymphoma)
HISTIOCITNE I DENDRITIČNO ĆELIJSKE NEOPLAZME
Histiocitni sarkom (Histiocytic sarcoma)
Langerhansova ćelijska histiocitoza (Langerhans cell histiocytosis)
Langerhansov ćelijski sarkom (Langerhans cell sarcoma)
Interdigitantni dendritični ćelijski sarkom (Interdigitating dendritic cell sarcoma)
Folikularni dendritični ćelijski sarkom (Follicular dendritic cell sarcoma)
Fibroblastni retikularni ćelijski tumor (Fibroblastic reticular cell sarcoma)
Intermedijerni dendritični ćelijski tumor (Intermediate dendritic cell tumor)
Diseminovana juvenilna ksantogranulomatoza (Disseminated juvenile xanthogranuloma)
POSTTRANSPLANTACIONI LIMFOPROLIFERATIVNI POREMEĆAJI (PTLD)
Rane lezije (Early lesions)
- Plazmocitna hiperplazija (Plasmacytic hyperplasia)
- Infektivna mononukleoza nalik PTLD (Infectious mononucleosis-like PTLD)
Polimorfni PTLD (Polymorphic PTLD)
Monomorfni PTLD (B i T/NK ćelijski tip)** (Monomorphic PTLD (B and T/NK-cell types))**
Klasični Hodgkinov limfom tip PTLD** (Classical Hodgkin lymphoma type PTLD)**

* Ovi histološki tipovi su provizionari entiteti za koje WHO radna grupa smatra da nemaju dovoljno dokaza da ih proglase zasebnim entitetima, u ovom trenutku.

** Ove lezije su klasifikovane u skladu sa tipom leukemije ili limfoma kome pripadaju.

1. Uvod

1.1.5. Klinička prezentacija, dijagnoza i stadiranje NHL

NHL najčešće se klinički prezentuju pojavom bezbolnih, uvećanih limfnih čvorova na predilekcionim mestima: perifernih limfnih čvorova (periferna limfadenopatija), ili pojavom centralne limfadenopatije unutrašnjih delova tela (medijastinum, retroperitoneum). Za ovakav klinički nalaz kaže se da limfom ima nodalnu prezentaciju. U zavisnosti od lokalizacije i dimenzija limfadenopatije klinički simptomi mogu varirati u jako širokom opsegu u smislu pojave lokalnih kompresivnih efekata uvećanih limfnih čvorova (sindrom gornje šuplje vene, kompresivni neurološki efekti, intestinalne opstrukcije ili opstrukcija hepatobiliarnog trakta, opstrukcije disajne cevi, opstrukcija urinarnog trakta kod retroperitonealne limfadenopatije itd). S obzirom na već ranije pomenutu difuznu organizaciju imunog sistema i prisustvo limfocita svuda u telu, limfomi se mogu pojaviti u bilo kom delu tela ili organa, kada se govori o limfomima sa ektranodalnom prezentacijom. Simptomi i klinički nalaz u ovim slučajevima zavise od stepena oštećenja i defekta u funkciji zahvaćenog organa ili tkiva. Prisustvo opštih simptoma bolesti definišu se kao „veliko B” (noćno preznojavaње, gubitak na telesnoj masi više od 10% za 6 meseci, pojava febrilnosti > 38°C i malaksalosti nepoznate geneze). Ukoliko opštih simptoma nema takav klinički tok se označava „velikim A”.

Dijagnoza NHL postavlja se isključivo biopsijom limfnog čvora koji je zahvaćen procesom ili biopsijom ekstralimfatičnog organa ili tkiva koje je infiltrirano procesom. Biopsija koštane srži je obavezna procedura u stadiranju, ali delom i u dijagnostici pojedinih formi NHL. Takozvana "core needle" biopsija nije reprezentativna metoda dijagnostike, kao ni punkcija limfnog čvora, jer predstavljaju samo orijentacionu dijagnostičku proceduru sa mogućnošću neprecizne dijagnoze. Dobijeno tkivo fiksira se u formalinskom rastvoru i šalje patologu sa iskustvom u oblasti hematopatologije radi precizne dijagnoze. Prvi nivo dijagnostike podrazumeva pregled preparata biopsije obojenih klasičnom hematoksilin-eozin metodom (HE) radi mikromorfološke analize. Dalja obrada tkiva podrazumeva primenu rutinskog panela imunohistohemije, koja uključuje bojenje na CD45, CD20 i CD3 (49). Ovim postupkom se omogućuje početno imunohistogenezo razvrstavanje tipa i ćelijskog porekla limfomskog procesa. Pozitivnost na CD45 upućuje na limfomsku histogenezu tkiva, a CD20 pozitivnost upućuje na B ćelijsko, dok CD3 pozitivnost na T ćelijsko poreklo NHL. Dalja evaluacija uključuje primenu širokog panela imunohistohemijskih bojenja (ćelijske membrane, citoplazme i jedara ćelija) radi razvrstavanja u pojedine podtipove

1. Uvod

NHL rukovodeći se aktuelnom klasifikacijom WHO 2008. Sveže smrznuti materijal za molekularnu karakterizaciju je preporučen, iako je profil genske ekspresije (GEP) još uvek u naučno-istraživačkim okvirima.

Osnovni principi stadiranja NHL su dogovoreni na konferenciji u gradu Ann Arbor, Mičigen, Sjedinjene Države 1971. godine, koji važe i danas. Oni su prikazani u **tabeli 5**.

Tabela 5. Ann Arbor klasifikacija kliničkog stadijuma limfoma (NHL i HL)

Stadijum bolesti	Opis stadijuma
Stadijum I	Zahvaćenost jedne grupe limfnih žlezda ili zahvaćenost jednog ekstralimfatičnog organa bez zahvatanja okolnih limfnih žlezdi ili drugih okolnih struktura (stadijum I E)
Stadijum II	Zahvaćenost dve ili više grupa limfnih žlezda ali sa iste strane dijafragme ili zahvaćenost jednog ekstralimfatičnog organa sa zahvatanjem regionalnih partija limfnih žlezda (stadijum II E)
Stadijum III	Zahvaćenost više grupa limfnih žlezda sa obe strane dijafragme
Stadijum IV	Diseminovana bolest. Difuzna zahvaćenost jednog organa ili više od jednog mesta ekstralimfatičnih organa, uključujući jetru i koštanu srž sa ili bez zahvaćenosti limfnih žlezda
S-zahvaćenost slezine; modifikuje kliničke stadijume I, II i III	
E-ekstranodalna zahvaćenost; modifikuje kliničke stadijume I, II i III	
A-bez opštih simptoma bolesti	
B -prisutni opšti simptomi bolesti: povišena telesna temperatura ($>38^{\circ}\text{C}$), noćno znojenje ili gubitak u telesnoj težini preko 10% u periodu od 6 meseci	

Stadiranje NHL označava određivanje stepena proširenosti, odnosno kliničkog stadijuma bolesti.

Rutinsko određivanje sedimentacije eritrocita, kompletne krvne slike sa diferencijalnom formulom ćelija deo je rutinske kliničke prakse. Primena metoda protočne citofloumetrije (iz periferne krvi, koštane srži, likvora ili drugih telesnih tečnost) metoda je izbora koja se primenjuje u nekim specifičnim situacijama u toku stadiranja limfoma (eventualne leukemijske prezentacije limfoma, infiltracija struktura mozga, ili kod efuzija telesnih duplji). Definisani su paneli monoklonskih antitela za određene tipove limfoma. Kompletne biohemijske analize od kojih je prema preporukama neophodno odrediti aktivnost laktat dehidrogenaze (LDH), koja ima i prognostički značaj. Potrebno je sagledati imunološki status bolesnika određivanjem ukupnih imunoglobulina

1. Uvod

seruma, elektroforeze proteina plazme, uz određivanje beta 2 mikroglobulina, koji je nezavisni prognostički faktor ranog relapsa, ukoliko je povišen (50). Virusološki status obavezan je segment stadiranja (ELISA test na HIV, HCV i HBsAg, EBV). U posebnim slučajevima treba uraditi i testiranje na druge viruse (npr. HTLV 1 kod ATLL). Serologija na bakterije neophodna je kod nekih vrsta limfoma (*Borelia burgdorferi* kod kutanih NHL, *Helicobacter pylori* kod MALT limfoma želuca). Od imidžing metoda kod bolesnika sa kurativnom intencijom primena multislajdsne kompjuterizovane tomografije (MSCT) dijagnostički je standard, radi otkrivanja stepena proširenosti limfadenopatije i njene distribucije, kao i eventualnih ektranodalnih infiltrata u ispitivanim regijama. Magnetno rezonantni imidžing (MRI) ima svoje prednosti iz više razloga, međutim nije rutinska metoda za stadiranje limfoma, osim u slučajevima pojedinih ektranodalnih lokalizacija kao što su primarni limfomi centralnog nervnog sistema (uključuje i oko) i limfomi kostiju, jer daje bolju vizualizaciju lezija. U pomenutim slučajevima spektrometrijska MRI sa većom verovatnoćom može da definiše histomorfologiju malignog procesa pre biopsije. Stereotaksička biopsija, odnosno operacija tumora mozga ili biopsija kostiju ostaje i dalje najvalidnija metoda dijagnostike. Pozitronska emisiona tomografija kompozitno sa CT-om (PET/CT) na osnovu vrednosti SUV (eng. standardized uptake value) indeksa može se koristiti u inicijalnom stadiranju NHL, ali *de facto* nije standard (iako bi mogao da rezultira podizanjem inicijalnog kliničkog stadijuma određenog samo primenom klasičnog MSCT), osim za HL. S druge strane, PET/CT nezaobilazan je u proceni odgovora nakon završetka indukciono terapije, pre svega kod HL, DLBCL, BL, ali i formi MCL, osim kod indolentnih tipova limfoma kao što su LPL i SLL/CLL. Na kraju, određivanje performans statusa bolesnika i ehokardiografsko ispitivanje ejekcione frakcije leve komore trebaju biti obezbeđene pre početka tretmana. Pre samog tretmana treba kalkulisati indekse prognoze koji su definisani za pojedine najčešće vrste NHL, a mogu nam služiti za definisanje obima i vrste terapijskog tretmana, pogotovo kod DLBCL, kao jednom od najčešćih vrsta agresivnih B ćelijskih NHL [I,A] (49).

1. Uvod

1.2. DIFUZNI B KRUPNOĆELIJSKI LIMFOM (Diffuse large B-cell lymphoma-DLBCL)

DLBCL predstavlja agresivnu neoplazmu zrelih B limfocita sagrađenu od dominantno krupnih ćelija blastoidnih morfoloških karakteristika. Karakterisan je difuznim obrascem rasta ćelija sa potpunim brisanjem regularne citoarhitektonike limfnog čvora ili organa/ tkiva koje je infiltrisano procesom. DLBCL može se pojaviti u bilo kom organu ili tkivu organizma, s obzirom na difuznu organizaciju imunog sistema.

1.2.1. Incidenca DLBCL

DLBCL najčešći je tip NHL u Evropi i Severnoj Americi. Učestalost DLBCL kreće se između 30% i 58% u publikovanim serijama NHL. Gruba incidence u Evropskoj Uniji iznosi oko 3–4/ 100 000 na godišnjem nivou. Porast incidence raste sa starošću, od 0,3/100.000 (35–39 godina) do 26,6 /100.000 (80–84 godina) (51). Po podacima Ayale E. DLBCL čini trećinu NHL sa stopom incidence od oko 30% u razvijenim zemljama (6). Stopa incidence NHL, uključujući DLBCL bila je u stalnom porastu 3% do 4% na godišnjem nivou u Sjedinjenim Državama od 1973. do sredine 1990. (52). Ovakav porast incidence beleži se kod oba pola, belaca i crnaca, kao i kod svih dobnih grupa, izuzev kod vrlo mladih. Opisani porast u incidenci DLBCL jedinstven je u odnosu na ostale humane neoplazme, izuzev kožnih kancera (53).

1.2.2. Dijagnoza DLBCL

Dijagnostika DLBCL identična je kao kod svih tipova limfoma i opisana je u poglavlju 1.1.5.

1.2.3. Klasifikacija DLBCL prema poslednjoj reviziji WHO 2008

Aktuelna klasifikacija DLBCL prikazana je u **tabeli 6**.

1. Uvod

Tabela 6. WHO 2008 klasifikacija DLBCL

Difuzni B krupnoćelijski limfom, drugačije neoznačen DLBCL, NOS
1.Uobičajene morfološke varijante
Centroblastni tip ćelija
Imunoblastni tip ćelija
Anaplastični tip ćelija
Retke morfološke varijante
2.Molekularne podgrupe
Germinativno centarski B-ćelijski nalikujući (GCB)
Aktiviranih B-ćelija nalikujući (ABC)
3.Imunohistohemijske podgrupe
CD5+ DLBCL
Germinativno centarski B-ćelijski nalikujući (GCB)
Ne-germinativno centarski B-ćelijski nalikujući (non-CCB)
4.Podtipovi difuznog B krupnoćelijskog limfoma
T-ćelijama/histiocitima bogat B krupnoćelijski limfom
Primarni difuzni B krupnoćelijski limfom centralnog nervnog sistema (CNS-a)
Primarni kutani DLBCL, nožni tip
EBV+ difuzni B krupnoćelijski limfom starijih (EBV+ DLBCL)
5.Drugi limfomi krupnih B ćelija
Primarni medijastinalni (timusni) B krupnoćelijski limfom
Intravaskularni krupnoćelijski B ćelijski limfom
Difuzni B krupnoćelijski limfom udružen sa hroničnom inflamacijom
Limfomatoidna granulomatoza
ALK+ krupnoćelijski B ćelijski limfom
Plazmablastni limfom
Krupnoćelijski B ćelijski limfom koji izrasta iz HHV8 asocirane multicentrične Kastlmanove bolesti
Primarni efuzioni limfom
6.Granični slučajevi
B ćelijski limfom, neklasifikovani, sa karakteristikama između difuznog krupnoćelijskog B limfoma i Burkittovog limfoma
B ćelijski limfom, neklasifikovani, sa karakteristikama između difuznog krupnoćelijskog B limfoma i klasičnog Hodgkinovog limfoma

1. Uvod

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

DLBCL, NOS najčešća je forma NHL. Čini oko 25–30% svih DLBCL odraslih u zapadnom svetu i nešto viši procenat u zemljama u razvoju. Češći je u starijih, sa medijanom pojave oko 7. decenije, ali može se javiti u svim dobnim grupama (deca i mladi odrasli). Nešto je veća incidenca u muškaraca u odnosu na žene (9). DLBCL, NOS veoma je heterogen entitet DLBCL sa različitom kliničkom prezentacijom i biološkim tokom, tako da će verovatno u skorijoj budućnosti biti rasčlanjen na nove entitete u zavisnosti od definisanja novih molekularnih biomarkera koji će biti uključeni u klasifikovanje pomenutog entiteta.

1.2.3.2. Mikromorfološka slika

DLBCL, NOS sagrađen je od tri osnovna tipa ćelija: centroblasta, imunoblasta, može imati anaplastičnu ćelijsku morfologiju, a vrlo retko atipičnu morfologiju. Način rasta je difuzan sa kompletnim brisanjem arhitektonike normalnog limfnog čvora kod nodalnih formi ili difuzno-infiltrativan prema parenhimu zahvaćenog organa kod ekstrapnodalnih lokalizacija DLBCL

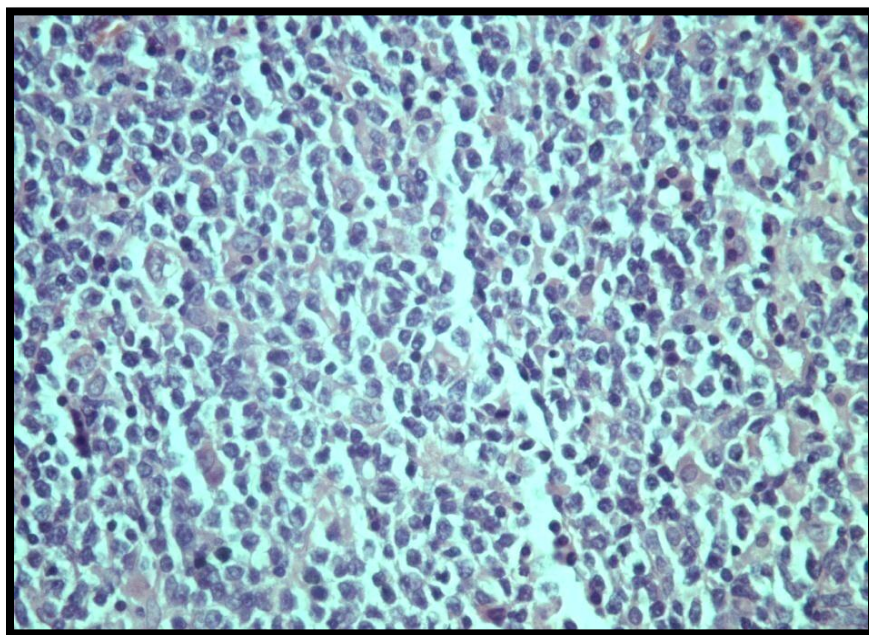
(Slika 1).

Centroblastni tip: Ovo je najčešća i najuobičajenija histološka varijanta. Centroblasti su limfoidne ćelije srednje do krupne veličine (do 40 μ) sa jednim krupnim, ovalnim ili okruglim, vezikularnim jedrom (veličine 2 puta veće od jedra malog limfocita periferne krvi), fino dispergovanog, rastresitog hromatina sa 2 do 4 malih bazofilnih nukleolusa lokalizovanih uz jedarnu opnu. Citoplazma je relativno oskudna svetla, amfofilna, do lako bazofilna. Ukoliko je tumor komponovan od > 90% centroblasta, kažemo da ima monomorfnu građu, što je suštinski redak slučaj. U najvećem broju slučajeva tumor ima polimorfnu građu sa mešavinom centroblasta i imunoblasta (imunoblasti < 90%) (9). U retkim slučajevima jedra centroblasta mogu biti multilobulirana što se viđa češće kod primarne ekstrapnodalne lokalizacije (recimo kod primarnih koštanih DLBCL). *Imunoblastna varijanta:* ova varijanta se proglašava kada dominantnu ćelijsku populaciju čine imunoblasti (> 90% ćelija su imunoblasti). Imunoblasti su ćelije koje su u ontogenetskom smislu na višem stepenu zrelosti od centroblasta, odnosno nalaze se na daljem putu ka plazma ćelijskoj diferencijaciji. Njihova morfologija karakteriše se jednim okruglim centralno postavljenim jedrom sa jednim ili ređe, više upadljivih, krupnih, eozinofilnih nukleolusa lokalizovanih u jedarnom centru i izrazito bazofilnom citoplazmom, obilnijom od centroblasta (54). Pri pojavi imunoblasta plazmacitoidne morfologije jedino primenom imunohistohemijskih metoda može se napraviti diferencijacija od plazmablastnog limfoma ili nezrelije forme multiplog

1. Uvod

mijeloma. Ova varijanta udružena je sa nešto lošijom prognozom (55). *Anaplastična varijanta:* Ova varijanta je retka i morfološki se karakteriše krupnim i veoma krupnim, ovalnim ili poligonalnim ćelijama, pleomorfni jedara nalik na Hodgkin/Reed-Sternberg (HRS) ćelije ili ćelije anaplastičnog krupnoćelijskog limfoma (ALCL). Ove ćelije mogu imati sinusoidni ili kohezivni obrazac rasta kada mogu simulirati sliku anaplastičnog nediferentovanog karcinoma (9). *Retke morfološke varijante:* u retkim slučajevima mogu se naći neočekivane morfološke varijacije ćelija, koje jako otežavaju dijagnozu baziranu samo na morfologiji. Opisane su morfološke varijante tipa ćelija „pečatnog prstena” (eng. signet ring cells), vretenasto-ćelijske forme (eng. spindle cells) ili ćelije sa mikrovilima, prisustvo miksoidne strome ili fibrilarnog matriksa. Ćelije veoma retko mogu formirati pseudo-rozete.

Mikromorfologija DLBCL predstavlja osnovni i početni model opisa tumorskog tkiva, njegove organizacije i načina rasta. Radi precizne diferencijacije neophodna je dalja imunohistohemijska evaluacija ćelija i određivanje genskog ekspresionog profila (još uvek nije standard dijagnoze).



Slika 1. DLBCL, NOS u limfnom nodusu (HE, 400x)

1. Uvod

1.2.3.3. Molekularne podgrupe-genski ekspresioni profil

U smisli genskog ekspresionog profila (GEP), DLBCL podeljen je u dve podgrupe po Alizadehu i sar. (56). Prvu podgrupu čine GCB-nalik (eng. germinal center B-like), a drugu ABC-nalik (eng. activated B cell-like). GCB-nalik DLBCL sačinjava oko 45–50% slučajeva i karakteriše se genskim ekspresionim profilom koji nalikuje limfoidnim ćelijama koje se nalaze na nivou zrelosti limfocita u germinativnim centrima sekundarnih limfnih folikula, s druge strane ABC-nalik DLBCL pokazuju gensku ekspresiju koja nalikuje ćelijama koje su zrelije i nalaze se u stadijumu limfocita nakon izlaska iz germinativnog centra, odnosno na zrele B limfocite periferne krvi. Ovo je potvrđeno u brojnim studijama (57). Inicijalno, izdvajala se i treća podgrupa koja nije imala genski ekspresioni profil niti GCB-nalik, niti ABC-nalik limfomima, međutim danas se smatra da ona ne predstavlja posebnu podgrupu (58). Kasnijim ispitivanjima potvrdilo se da ta treća podgrupa ima više karakteristike DLBCL ABC-nalik tipa. Pomenute dve velike podgrupe sa sobom nose potpuno drugačije genetske karakteristike, odnosno hromozomske aberacije. GCB-nalik DLBCL često nose izmene u hromozomu 12q12 (59, 60) i nose rearanžmane za bcl2 gen (61, 62). ABC-nalik DLBCL podgrupa ima česte izmene u hromozomima 3q, 18q21–q22 i ima gubitke 6q21–q22 (59, 60). Morfološki izgled ćelija ne može biti pouzdan osnov razlikovanja dve pomenute molekularne podgrupe DLBCL. Korelacija između imunohistohemijskog nalaza koji determiniše podgrupe (GCB i non-GCB) kao surogat markera genske ekspresije je varijabilna i ne podudara se uvek sa pravim profilom genske ekspresije (63, 58). Studije novijeg datuma u kojima je korišćen širi panel imunohistohemijskih biomarkera pokazuju povećanje konkordantnosti nalaza profila GEP-a određenog samo primenom imunohistohemijskih surogat markera (64).

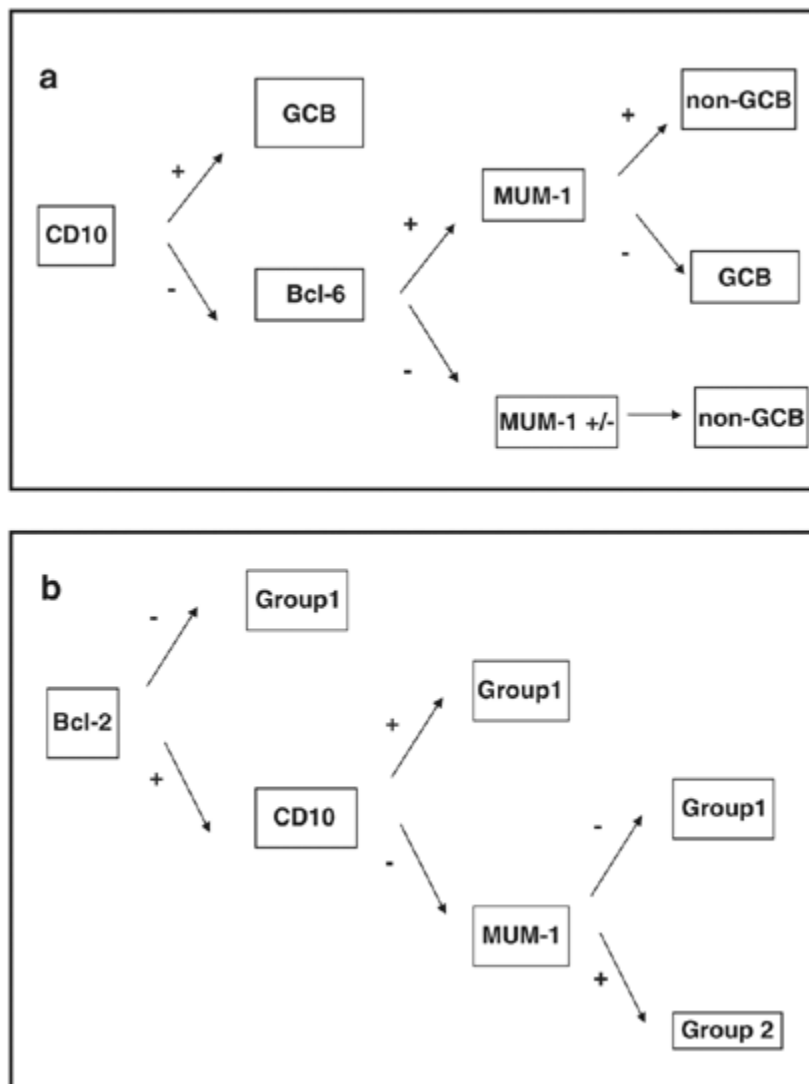
1.2.3.4. Imunofenotip DLBCL-surogat markeri profila genske ekspresije

DLBCL, NOS klasično eksprimira pan-B ćelijske markere CD19, CD20, CD22 i CD79α. CD20 je membranski protein 33–35 kDa eksprimiran u oko 95% B ćelijskih limfoma (65). Ekspresija u ćelijama DLBCL ide i do 99%. Ekspresija CD10 se nalazi u 30–60% slučajeva, bcl6 varijabilno od 60–90% i MUM1 u 35–65% slučajeva (9). Bcl2 je antiapoptotski faktor čija ekspresija je učestalo deregulisana u DLBCL (66). Jedan poznati dobro opisani mehanizam bcl2 overekspresije je translokacija t(14;18)(q32;q31) koji je visoko prisutan u GCB-nalik podtipu DLBCL (66), dok u ABC-nalik DLBCL mehanizam bcl2 overekspresije je povezan sa NF-κB aktivacijom, sa ili bez 18q21 amplifikacije gena (67, 68). Ekspresija CD30 je prisutna u anaplastičnoj varijanti DLBCL, NOS (69). Proliferativna frakcija Ki 67 je obično visoka (najčešće > 40%), a može ići i > 90% u

1. Uvod

pojedininim slučajevima i formama DLBCL (70). Ekspresija p53 proteina se kreće od 20–60% u nekim serijama (9). Na osnovu imunofenotipa DLBCL, NOS može se podeliti u dve podgrupe GCB-nalik i non-GCB-nalik DLBCL. Ovo podela predstavlja surogat markere u čijoj molekularnoj osnovi trebalo bi da leži genski ekspresioni profil. U tkivu DLBCL ukoliko je ekspresija CD10 > 30% govorimo o GCB-nalik DLBCL, isto kao i slučajevi koji su CD10-, MUM1-, ali bcl6+. Svi ostali slučajevi se smatraju non-GCB-nalik podtipovima. Ovi modeli predstavljaju osnovu imunohistohemijskog algoritma predloženu od strane Hansa i sar. (63). Prikaz Hansovog algoritma dat je na **šemi 1a**. Dokazano je da ovi surogat markeri ne koreliraju egzaktno sa profilom genske ekspresije (58, 71). Stepenn konkordantnosti sa genskim ekspresionim profilom iznosi približno 80% (za GCB podtip 71%, a non-GCB 88%) (63). Godine 2006. definisan je Murisov algoritam, koji u sebe uključuje i bcl2 biomarker sa Hansovim algoritmom. Definirano je dve grupe čije karakteristike se vide na **šemi 1b** (72).

1. Uvod



Šema 1a i b. Prikaz Hansovog algoritma (63) i Murisovog algoritma (72)

Godine 2009. definisan je Choi algoritam koji je uključio surogat markere GCET1, CD10, bcl6, MUM1, FOXP1 i ciklin D2 koji je pokazao da je nivo konkordantnosti sa genskim ekspresionim profilom približno do 93% (73). Ovaj klasifikacioni sistem nastao je kasnije nakon zadnje revizije WHO 2008, te ostaje da se vidi da li će zameniti do sada prihvaćeni Hansov algoritam.

Nakon ovog algoritma predloženo je i par drugih modela, kao što je Visco–Young koji uključuje biomarkere CD10, GCET1, FOXP1, MUM1 i bcl6, gde je stepen konkordantnosti sa genskim ekspresionim profilom 92,6% (74).

1. Uvod

1.2.3.5. CD5+ DLBCL

DLBCL koji koekspresira CD5 (marker T ćelija) prepoznat je od strane WHO 2008 klasifikacije kao posebna imunohistohemijska podgrupa DLBCL, NOS sa agresivnim biološkim tokom. Incidenca se kreće oko 5–10%. Neke od osnovnih kliničkih karakteristika su starije godište na prezentaciji, povišen LDH, nešto veća učestalost kod žena, češća ekstrapnodalna prezentacija, niži performans status bolesnika, veća incidenca zahvaćenosti CNS-a i lošiji ukupni odgovor na rituksimab bazirane režime (75). Većinom imaju genski ekspresioni profil aktiviranih B ćelija (ABC-DLBCL). U ovom trenutku ne zna se ukupni značaj koekspresije CD5 receptora, da li podstiče rezistenciju na terapiju, ili podiže nivo antiapoptotskih signala, ili pak utiče na tumorsku mikrokininu (75).

1.2.3.6. Specifičnosti kliničkog ispoljavanja

DLBCL, NOS ima klasičnu kliničku sliku agresivnog limfoma (progresivna limfadenopatija u nodalnom obliku bolesti). Ekstrapnodalna prezentacija bolesti daje znake i simptome zahvaćenog organa ili tkiva. B simptomi mogu ili ne biti prisutni.

1.2.4. PODTIPOVI DLBCL

Zvanična klasifikacija WHO 2008 prikazuje 4 osnovne podgrupe DLBCL entiteta.

1.2.4.1. DLBCL bogat T ćelijama/histiocitima (T-cell/h rich large B-cell lymphoma)

U WHO 2008 klasifikaciji T cell/h rich DLBCL je izdvojen kao poseban podtip DLBCL, morfološki karakterisan obiljem reaktivnih T ćelija i histiocita među kojima se umeće relativno mali broj krupnih limfomskih B ćelija. Čini < 10% svih varijanti DLBCL (9).

1.2.4.1.1. Mikromorfološka slika

Originalni termin „T ćelijama bogat B ćelijski limfom“ uveden je da bi se opisali varijeteti B ćelijskih limfoma sa prominentnom T ćelijskom reakcijom koja imitira T ćelijske limfome (76). Jedinstvena morfološka slika ovog podtipa DLBCL karakteriše se prisustvom < 10% (nekada samo do 1%) obično krupnih, atipičnih B ćelija u okruženju koje je bogato T ćelijama. T cell/h rich-DLBCL ima difuzan obrazac rasta sa kompletnim brisanjem regularne citoarhitektonike limfnog čvora ili retko nejasno nodularni tip rasta. Tumorske ćelije su krupnoćelijskog B porekla, raštrkane i usađene u pozadinu malih sitnih T limfocita ili varijabilnog broja tzv. neepiteloidnih histiocita koji predstavljaju značajan i poseban nalaz koji ide u prilog dijagnozi T cell/h rich DLBCL (9). Heterogenost krupnih B limfomskih ćelija je naglašena, one su atipične, mogu nalikovati centroblastima, ili da budu pleomorfne nalik Hodgkinovim ćelijama ili HRS ćelijama nodularne

1. Uvod

varijante limfocitne predominacije HL (NLPHL) (77, 78). T cell/h rich DLBCL se može smatrati paradigmom teškoće u postavljanju dijagnoze specifičnog podtipa DLBCL (79).

1.2.4.1.2. Imunofenotip

Limfomske ćelije T cell/h rich DLBCL ekspimiraju tipično pan B ćelijske markere. Posebno ispoljavaju bcl6 marker i varijabilno ekspimiraju bcl2 i EMA, dok ne ekspimiraju CD15, CD30 (tipične markere T ćelijskih i anaplastičnih limfoma kao i HL), kao ni CD138 (marker plazma ćelija). Dominantna je ekspresija T ćelijskih antigena CD5 i CD3, ili histiocitnog antigena CD68 koji su deo reaktivnog ćelijskog miljea, a ne tumorskog (9). Rane imunohistohemijske studije tumorske mikrokoline (strome) od strane Macona i sar. pretpostavile su da citokini kao što je interleukin 4 (IL-4) mogu igrati ulogu u histogenezi ovog limfoma (80). Ista grupa nešto kasnije objavila je da je reaktivni T ćelijski infiltrat komponovan od neaktiviranih CD8/TIA-1+/granzyme B- T ćelija, i pretpostavila da ovaj infiltrat ima manjeg značaja u posredovanju domaćinovog antitumorskog odgovora (81).

1.2.4.1.3. Genski ekspresioni profil

U determinisanju genskog ekspresionog profila T cell/h rich DLBCL postoje dva problema. Prvi je vezan za veoma otežanu izolaciju krupnih malignih B ćelija (< 10% u celokupnom tumorskom infiltratu) koje se teško izoluju iz T ćelijske/histiocitne tumorske strome, te s toga se dobijeni genski profil izolovane mRNA često može odnositi na ćelije tumorske strome (mikrokoline). Drugi problem je velika sličnost NLPHL sa T cell/h rich DLBCL. Abramson i sar. publikovali su GEP 2006. godine i pokazali da maligne krupne B ćelije T cell/h rich DLBCL imaju isto klonalno rearanžirane gene za imunoglobuline kao i germinalno centarske ćelije, s tim što nose nešto veći broj somatskih mutacija i intraklonalni diverzitet (82). Ograničene kariotipske studije nisu pokazale rekurentne genetske abnormalnosti. Pokazalo se da NLPHL ima veći stepen genetske nestabilnosti u odnosu na T cell/h rich DLBCL. Podvarijanta ovog limfoma koja je dominantno bila bogatija u histiocitima je imala domaćinov imuni odgovor i vrlo lošu prognozu (83).

1. Uvod

1.2.4.1.4. Specifičnosti kliničkog ispoljavanja

T cell/h rich DLBCL ima agresivno kliničko ponašanje i vrlo često se prezentuje uznapredovalim stadijumom bolesti, sa splenomegalijom i zahvatanjem koštane srži. Mikronodularno zahvatanje slezine može biti poseban izazov u dijagnostičkoj diferencijaciji pogotovo kod manje iskusnih kliničara (84). Generalno ovaj podtip DLBCL ima posebno kliničko ponašanje i lošu prognozu (85).

1.2.4.2. Primarni difuzni B krupnoćelijski limfom CNS-a (CNS DLBCL)

Primarni CNS DLBCL uključuje: primarne intracerebralne i intraokularne limfome. Iz ove klasifikacije treba isključiti primarne limfome moždanih ovojnica (limfomi dure), intravaskularne DLBCL koji se primarno javljaju u CNS-u, sistemski diseminovane limfome koji pored ostalih organa zahvataju i CNS, limfome povezane sa imunodeficijencijom koji često zahvataju CNS i relapse DLBCL koji sekundarno, kasnije u evoluciji bolesti zahvataju CNS. CNS DLBCL čine < 1% svih NHL, i približno oko 2–3% ukupno svih tumora CNS-a. Medijana godišta pri javljanju je oko 60, sa blagom predominacijom muškog pola (9). Primarni CNS limfomi su veoma agresivni sa rastućom incidencom u poslednjih 30-ak godina (86, 87).

1.2.4.2.1. Mikromorfološka slika

Krupne limfomske ćelije primarnog CNS DLBCL se tipično lociraju u perivaskularnim prostorima i imaju karakteristike centroblasta, okružene makrofazima, reaktivnim malim limfocitima, aktiviranim mikroglijalnim ćelijama ili reaktivnim astrocitima. Opsežna polja nekroze sa "penušavim" histiocitima mogu se videti, pogotovo kod osoba prethodno lečenih velikim dozama kortikosteroida. Ovaj fenomen se opisuje kao „iščezavajući tumori” (9).

1.2.4.2.2. Imunofenotip

Primarni CNS DLBCL ekspresiraju pan B ćelijske antigene. Ekspresija CD19, CD20 ide do 100%, bcl6 (60–100%), CD10 (10–20%) i MUM1 (90–100%) (88, 9). Ekspresija bcl2 koja nije povezana sa t(14;18)(q32;q21) je česta (89).

1.2.4.2.3. Genski ekspresioni profil

Primarni CNS DLBCL imaju visok nivo somatskih hipermutacija (oko 27%) (90). Mutacije takođe zahvataju bcl6, PIM1, MYC, RhoH/TTFn i PAX5 gene (91). Oko 30–40% CNS DLBCL imaju translokaciju gena za bcl6 (89). Na osnovu imunohistohemijski surogata i GEP-a većina primarnih CNS DLBCL ima ABC fenotip, što može objašnjavati njihovu ukupnu lošu prognozu (88).

1. Uvod

1.2.4.2.4. Specifičnosti kliničkog ispoljavanja

Najveći broj bolesnika sa primarnim CNS DLBCL razvija fokalne neurološke deficite (do 80%), kao kod bilo kog drugog ekspanzivnog intrakranijalnog procesa. Psihijatrijske ispade ima 20–30% kao i simptome povišenog intrakranijalnog pritiska. Meningealna zahvaćenost može biti praćena glavoboljama ili asimetričnim bulbarnim ispadima kranijalnih nerava. Oko 60% primarnih CNS DLBCL je lokalizovano supratentorijalno. U oko 20–40% postoje multiple lezije na prezentaciji. MRI može pokazati homogeni intenzitet signala ili znakove centralne nekroze tumora. Meningealna zahvaćenost se vidi u oko 5%. U slučaju okularne zahvaćenosti simptomi su vezani za progresivno slabljenje vida. Oko 20% bolesnika ima intraokularne lezije, a oko 80–90% bolesnika sa intraokularnim DLBCL razvija kontralateralnu zahvaćenost oka ili ima progresiju lezija intrakranijalno. Ekstrakranijalna diseminacija procesa, kao i zahvatanje koštane srži je ekstremno retko (9).

1.2.4.3. Primarni kutani DLBCL, tip noge (primary cutaneous DLBCL, leg type-PCLBCL, LT)

Primarni kutani DLBCL, tip noge je agresivna i retka neoplazma krupnih B ćelija prepoznata kao zaseban entitet u zadnjoj WHO 2008 klasifikaciji. Ovaj redak entitet čini 4% svih primarnih kutanih limfoma i 20% svih kutanih limfoma B ćelijskog porekla (92, 93). Tipično se pojavljuje kod starijih sa medijanom godišta oko 70 (9, 94). Bolest je višestruko češća u ženskoj populaciji sa odnosom približno 3–4 : 1 (92, 95). Uzrok bolesti je nepoznat, ali postoje izvesne asocijacije sa infekcijom prouzrokovanom bakterijom *Borrelia burgdorferi* na evropskom tlu (96). Jelić i sar. su takođe publikovali pozitivnu serologiju na *B. burgdorferi* kod 55% bolesnika sa primarnim kutanim limfomom (20). U oko 10–15% slučajeva PCLBCL, LT može biti diseminovan van kože potkolenica (9).

1.2.4.3.1. Mikromorfološka slika

Ovaj tip limfoma je komponovan od monotonog, difuznog, neepidermotropnog tumorskog infiltrata građenog od konfluentnih slojeva centroblasta ili imunoblasta sa izraženom okruglo-ćelijskom morfoloijom (9). Mitotske figure se često viđaju.

1. Uvod

1.2.4.3.2. Imunofenotip

Neoplastične ćelije ekspimiraju pan B ćelijske markere CD79 α , CD20. PCLBCL, LT skoro uvek snažno ekspimirira bcl2, MUM1 i FOXP-1 (8). Oko 10% slučajeva ne ekspimirira niti bcl2 niti MUM1 (95). Bcl6 je ekspimiran u većini slučajeva, dok je CD10 najčešće negativan (97). PCLBCL, LT je najčešće DLBCL non-GCB imuhistohemijskog podtipa.

1.2.4.3.3. Genski ekspresioni profil

PCLBCL, LT pokazuje brojne genetičke sličnosti sa klasičnim DLBCL, ali markantno se razlikuje od primarnog kutanog folikularnog limfoma (PCFCL). Interfazna fluorescentna in situ hibridizacija (FISH) analiza često pokazuje translokacije koje uključuju c-MYC onkogen, gen za bcl6 i gene za teške lance imunoglobulina. Genski ekspresioni profil PCLBCL, LT je tipa ABC-DLBCL (98). Najnovija saopštenja pokazuju visoku prevalencu MYD88 mutacije koja aktivira NFkB što je udruženo sa kraćim preživljavanjem i ABC genotipom (99).

1.2.4.3.4. Specifičnost kliničkog ispoljavanja

Klinički ovaj tip limfoma se prezentuje pojavom kožne lezije crvene ili modrikasto-crvene papule na jednoj ili obe potkolenice (9) i često se diseminuju ekstrakutano. Opisani su slučajevi sistemski diseminovane bolesti bez kutanih manifestacija, ili klinički „nevidljive“ forme sa diseminatima u potkožnom masnom tkivu (100). Ovi limfomi imaju 5-godišnje preživljavanje u oko 50% (101, 102). Prisustvo multiplih kutanih lezija na prezentaciji je značajan faktor loše prognoze (101).

1.2.4.4. Epstein Barr virus pozitivni DLBCL starijih (EBV+ DLBCL in elderly)

EBV pozitivni DLBCL starijih je klonalna B ćelijska proliferacijakoj se javlja kod starijih od 50 godina bez prethodne poznate ili postojeće imunodeficijencije ili prethodećeg primarnog limfoma (9). Ukoliko se pojavi u ranijoj životnoj dobi neophodne je isključiti eventualno postojeću imunodeficijenciju. Iz ovog entiteta se isključuju drugi sekundarno EBV pozitivni NHL (limfomatoidna granulomatoza, plazmablastni limfomi, primarni efuzioni limfom i DLBCL udružen sa hroničnom inflamacijom) kao i reaktivno stanje koje je prouzrokovano EBV-om i imitira ovaj limfom (infektivna mononukleoza prouzrokovana EBV). U zemljama Azije ovaj tip limfoma čini oko 8–10% DLBCL sa dokumentovanom predisponirajućom imunodeficijencijom (103, 104). Incidenca raste sa godištem i najveća je posle 90. godina života sa učestalošću od 20–25% (103). Medijana starosti pri javljanju je 71 godina, sa blagom predominacijom muškog pola (odnos 1,4 : 1).

1. Uvod

1.2.4.4.1. Mikromorfološka slika

Inicijalno su opisane dve morfološke prezentacije: polimorfna i krupno ćelijska, od kojih su obe komponovane od mnogobrojnih transformisanih ćelija tipa imunoblasta i HRS nalikujućih gigantskih ćelija. Obe opisane histološke slike često imaju opsežna polja nekroze. Polimorfna slika je često praćena varijabilnom komponentom reaktivnih ćelijskih elemenata kao što su mali limfociti, histiociti i epiteloidne ćelije. Neke studije su pokazale da morfološka slika nema prediktivni značaj na terapijski odgovor i preživljavanje bolesnika sa EBV+ DLBCL (103).

1.2.4.4.2. Imunofenotip

Neoplastične ćelije ekspiriraju pan B ćelijske markere, pre svega CD79 α i CD20. Obično su negativne na CD10 i bcl6, dok su MUM1 pozitivne. Slučajevi imunoblastne ili plazmablastne morfologije mogu biti bez ekspresije CD20 i mogu imati citoplazmatsku ekspresiju imunoglobulina. Ćelije su CD30 pozitivne u varijabilnom procentu, dok su CD15 negativne (9).

1.2.4.4.3. Genski ekspresioni profil

Klonalnost gena za imunoglobuline i EBV se obično detektuju u ćelijama EBV+ DLBCL. Ovo je značajno u razlikovanju polimorfnog tipa reaktivnog stanja kakva je infektivna mononukleoza od monoklonalne limfomske proliferacije.

1.2.4.4.4. Specifičnost kliničkog ispoljavanja

Klinički se bolest najčešće prezentuje visokim ili visoko-intermedijernim IPI indeksom, sa više od 70% bolesnika sa ektranodalnom prezentacijom (često je zahvatanje kože, pluća, tonzila i želuca) sa ili bez sinhronog zahvatanja limfnih čvorova. Oko 30% bolesnika ima nodalnu prezentaciju (9). Klinički tok EBV+ DLBCL je agresivan sa medijanom preživljavanja oko 2 godine (103, 104). IPI skor i histologija nemaju prediktivan značaj na preživljavanje, dok prisustvo B simptoma i starost > 70 godina su nezavisni parametri loše prognoze (103).

1. Uvod

1.2.5. Drugi limfomi krupnih B ćelija

Limfomi sagrađeni od krupnih B ćelija, koji takođe rastu u difuznom rasporedu definisani su kao drugi limfomi krupnih B ćelija prema WHO 2008 klasifikaciji. Prema pomenutoj klasifikaciji pripadaju entitetu DLBCL, ali u punoj meri pokazuju njegovu heterogenost.

1.2.5.1. Primarni mediastinalni (timični) krupnoćelijski B limfom (Primary mediastinal (thymic) large B-cell lymphoma-PMLBCL)

Prvi zapisi o krupnoćelijskom limfomu sa pratećom prominentnom fibrozom, koji pogađa predominantno mediastinum sa tendencijom invazije gornje šuplje vene, pogotovo kod mlađih žena su publikovani u ranim 80-tim godinama (105, 106, 107). PMLBCL izrasta iz mediastinuma i smatra se da je porekla timičnih B ćelija sa jedinstvenim kliničkim, patohistološkim i genetskim karakteristikama. Učestalost ovog podtipa limfoma se kreće oko 2–4% svih NHL (9) i tipično pogađa mlade odrasle u njihovoj trećoj ili četvrtoj dekadi života sa predominacijom ženskog pola (odnos 2 : 1) (108).

1.2.5.1.1. Mikromorfološka slika

Morfološka slika PMLBCL je vrlo heterogena. Krupne B ćelije su okružene i upletene u kolagena vlakna. Skleroza je markantna u približno polovine slučajeva sa kompartmentizacijom tipa alveolarne fibroze (9). Tipično tumorske ćelije su srednje do krupne veličine sa oskudnom bledom citoplazmom i ovoidnim, ili okruglim jedrom. U nekim slučajevima ćelije mogu biti pleomorfne i/ili sa multilobuliranim jedrima koji mogu nalikovati RS ćelijama što može buditi sumnju na HL (9). Ovaj limfom nekada može nalikovati limfomima „sive zone”, ili da ima karakteristike kompozitnog limfoma (HL+PMLBCL) (109).

1.2.5.1.2. Imunofenotip

PMLBCL eksprimira tipično pan B ćelijske antigene CD19, CD20, CD22 i CD79 α , ali po pravilu ne imunoglobuline (9). Za razliku od ćelija HL, CD30 je eksprimiran u preko 80% slučajeva, ali heterogenije i slabije (110, 111). CD15 je povremeno eksprimiran (112). Tumorske ćelije su često pozitivne na MUM1 (75%) i CD23 (70%), dok je ekspresija bcl2 (55–80%) i bcl6 (45–100%) varijabilna. CD10 je ređe eksprimiran (8–32%) (9).

1.2.5.1.3. Genski ekspresioni profil

PMLBCL ima jedinstveni genetski potpis, ali deli karakteristike klasičnog HL (113, 114). Konstitutivna aktivnost NF κ B (115) i JAK-STAT signalnog puta je osnovna odlika PMLBCL (116, 117). Amplifikacija 9p24.1 regiona je specifična strukturna aberacija koja dovodi do

1. Uvod

povećane ekspresije „programmed cell death ligand-1” (PD-L1) i uključuje i lokus za Janus kinazu 2 (JAK2) (118). Najnovija saopštenja pokazuju PMLBCL kao bolest čija biologija zavisi od aktivacije sledećih intracelularnih molekularnih puteva REL, JAK-STAT, PD-L1/PD-L2 i NFkB (119).

1.2.5.1.4. Specifičnost kliničkog ispoljavanja

Klinički se PMLBCL prezentuje kao veliki voluminozni „Bulky” tumor prednje-gornjeg medijastinuma sa brзом progresijom i lokalno kompresivnim efektima kao što su sindrom gornje šuplje vene u više od polovine bolesnika, dispneom, suvim nadražajnim kašljem, ređe disfagijom ili disfonijom. Infiltracija koštane srži na prezentaciji je retka. Ekstranodalna infiltracija je moguća, ali retka, prisutna je u relapsu bolesti. Smatra se da histološke varijacije nemaju prediktivni značaj na preživljavanje (120). Loši prognostički parametri su ekstenzija tumorske mase u organe grudne duplje, pleuralna i perikardijalna efuzija kao i loš performans status bolesnika (9). Plato na krivulji preživljavanja se beleži nakon 2 godine od postizanja remisije bolesti (121).

1.2.5.2. Intravaskularni krupnoćelijski B ćelijski limfom (Intravascular large B-cell lymphoma-IVLBCL)

IVLBCL je redak podtip ekstranodalnog limfoma krupnih B ćelija koji se karakteriše selektivnim ćelijskim rastom u lumenu krvnih sudova, pogotovo kapilara, sa izuzetkom velikih vena i arterija. Obično se dijagnostikuje u visoko diseminovanoj, odnosno uznapredovaloj formi bolesti, u ekstranodalnim organima, uključujući i koštanu srž. Limfni čvorovi su obično pošteđeni.

1.2.5.2.1. Mikromorfološka slika

Neoplastične krupne B ćelije su uglavnom prionute na zidove malih ili intermedijernih krvnih sudova. U nekim slučajevima se može naći tromboza, hemoragija ili nekroza. Ćelije su krupne sa prominentnim jedrima i čestim mitotskim figurama. Retko se nalaze ćelije anaplastične morfologije ili sitnijih dimenzija (122). Sinusoidalna infiltracija se može naći u organima tipa jetre, slezine i koštane srži (122). Vrlo retko se maligne ćelije mogu detektovati u perifernoј krvi.

1.2.5.2.2. Imunofenotip

Tumorske ćelije IVLBCL eksprimiraju B ćelijske antigene. Ekspresija CD10 je slaba do 13% slučajeva i uvek je praćena ekspresijom MUM1 antigena. Koekspresija CD5 se viđa u oko 38% (9). Postoji hipoteza da intravaskularni rast nastaje zbog defekta u „homing” receptoru neoplastičnih ćelija, kao što su defekt u CD29 (β 1 integrin) i CD54 (ICAM-1) adhezioni β molekuli (123, 124).

1. Uvod

1.2.5.2.3. Genski ekspresioni profil

Geni za imunoglobuline su klonski rearanžirani. Retko ima publikovanih slučajeva kariotipskih anomalija, ali su par njih publikovane (125).

1.2.5.2.4. Specifičnost kliničkog ispoljavanja

IVLCBL je agresivna neoplazma sa lošom prognozom koja rđavo odgovara na primenjenu sistemsku hemioterapiju (126). Može se javiti bilo gde u telu, s obzirom na distribuciju krvnih sudova i simptomi bolesti su ekstremno polimorfni i klinički nespecifični, zbog čega se kod većine bolesnika bolest dijagnostikuje jako kasno. Postoje dva glavna modela pojave bolesti: zapadni tip koji je klinički definisan pojavom simptoma infiltrisanog organa, predominantno neurološkim simptomima i zahvaćenošću kože i azijski tip koji je agresivniji sa multiorganskim oštećenjem, hepatosplenomegalijom, pancitopenijom i hemofagocitnim sindromom. B simptomi su prisutni kod 55–76% obolelih (9). Opisano je da bolju prognozu imaju bolesnici sa primarnim IVLBCL ograničenim samo na kožu (127). Rana dijagnoza i rana primena tretmana IVLBCL može poboljšati ishod lečenja ove opake bolesti, glavni su zaključci publikovanih serija bolesnika (128, 129).

1.2.5.3. DLBCL udružen sa hroničnom inflamacijom (DLBCL associated with chronic inflammation)

DLBCL udružen sa hroničnom inflamacijom se može definisati kao limfoidna neoplazma koja se razvija na terenu dugotrajne hronične inflamacije i redovno je udružena sa infekcijom EBV. Prototip ovakvog tipa limfoma predstavlja pitoraks asocirani limfom (eng. Pyothorax associated lymphoma-PAL). PAL se razvija kod osoba koje su lečene od tuberkuloze izazivanjem arteficijnog pneumotoraksa. Medijana pojave PAL od momenta izazivanja arteficijnog pneumotoraksa je 37 godina (9). Najveći broj prijavljenih slučajeva ima Japan i azijske zemlje (9). PAL je snažno udružen sa nadovezujućom infekcijom EBV.

1.2.5.3.1. Mikromorfološka slika

Morfološka slika je identična nalazu DLBCL, NOS. Jedino na osnovu kliničkih podataka se bolest može definisati kao DLBCL koji je udružen sa hroničnom inflamacijom.

1. Uvod

1.2.5.3.2. Imunofenotip

U većini slučajeva postoji ekspresija CD20 i CD79 α . U jednom delu bolesnika može se razviti plazmacitoidna diferencijacija sa gubitkom ekspresije CD20 i/ili CD79 α , a tada se eksprimiraju MUM1, CD138 i može CD30 (9). In situ hibridizacione metode jasno pokazuju EBV genom.

1.2.5.3.3. Genski ekspresioni profil

Geni za imunoglobuline su klonski rearanžirani i hipermutirani. TP53 mutacija se nalazi u oko 70% bolesnika (9). Citogenetske studije pokazuju kompleksan kariotip i brojne numeričke i strukturne hromozomske aberacije (130).

1.2.5.3.4. Specifičnost kliničkog ispoljavanja

Najčešće mesto gde se pojavljuje ovaj tiplimfoma je pleuralna duplja, kao rast tumorskog infiltrata uz zid grudnog koša praćen gnojnom eksudacijom, odnosno pitoraksom. Druga ređa mesta pojave ovog limfoma su kosti (pogotovo femur), vilice i periartikularno meko tkivo (131). U slučaju PAL-a tumor je najčešće veći od 10 cm u prečniku u više od polovine slučajeva (132).

1.2.5.4. Limfomatoidna granulomatoza (Lymphomatoid granulomatosis-LYG)

LYG je angiocentrično i angiodestruktivno limfoproliferativno oboljenje, koje zahvata ektranodalna mesta, komponovano od EBV pozitivnih B ćelija izmešanih sa reaktivnim T ćelijama, koje obično dominiraju. Lezija ima spektar histoloških gradusa i kliničke agresivnosti, što je u direktnoj vezi sa porcijama krupnih B ćelija. Ovo je retko oboljenje, uglavnom zahvata odrasle ili retko decu sa imunodeficijencijom. Muškarci su pogođeni više od ženske populacije (odnos $\geq 2 : 1$) (9). Predisponirajuća stanja su X-vezani limfoproliferativni sindrom, Wiskott-Aldrich sindrom, stanje nakon alogene transplantacije koštane srži ili HIV/AIDS.

1.2.5.4.1. Mikromorfološka slika

LYG se karakteriše angiocentričnim i angiodestruktivnim polimorfnim ćelijskim infiltratima (133, 134). Obično dominira mali broj EBV pozitivnih B ćelija sa obiljem reaktivnih ćelija u pozadini (plazma ćelije, histiociti, imunoblasti). Vaskularne promene tipa infiltracije zida krvnog suda se vide u skoro svim slučajevima. Ovaj fenomen dovodi do infarkt-nalikujućoj tkivnoj nekrozi ili fibrinoidnoj nekrozi koja može biti posredovana EBV indukovanoj sekreciji citokina (135). Zbog sličnog angiodestruktivnog rasta LYG treba diferencirati od ektranodalnog NK/T ćelijskog limfoma-nazalni tip, jer je i on EBV pozitivan (136). LYG se histološki gradira u 3 gradusa u zavisnosti od rastućeg broja krupnih B ćelija. Što je gradus LYG-a veći, veći je broj krupnih B

1. Uvod

transformisanih malignih ćelija. U sumarnoj reviziji dijagnostike datoj od strane Colbyja 2012. godine, danas se smatra da je LYG dijagnostikovao ako se nađe varijabilan broj mononuklearnih CD20+ B ćelija koje su pozitivne na EBER metodom in situ hibridizacije i koje vrše invaziju vaskularnog zida sa većim brojem reaktivnih T ćelija u okruženju (137).

1.2.5.4.2. Imunofenotip

EBV pozitivne B ćelije obično eksprimiraju CD20. Pozitivnost na CD30 je varijabilna, ali su uvek CD15 negativne (9). Reaktivna pozadina je CD3 pozitivna, sa većim brojem CD4 T limfocita nego CD8.

1.2.5.4.3. Genski ekspresioni profil

U većini slučajeva gradusa 2 i 3 bolesti klonalnost imunoglobulinskih gena se može dokazati molekularnim tehnikama (9). Nema publikovanih podataka o genetskim alteracijama.

1.2.5.4.4. Specifičnost kliničkog ispoljavanja

Bolesnici najčešće imaju simptome i znake bolesti respiratornog sistema. Zahvaćenost pluća se viđa u 90% bolesnika na prezentaciji. Ostala mesta zahvaćenosti mogu biti: mozak (26%), bubrezi (32%), jetra (29%) i koža (25–50%) (9). Vremenom LYG nekada može progredirati u EBV+ DLBCL. Opisane su i spontane remisije bolesti. U podacima baziranim na istorijskim serijama medijana preživljavanja je bila ispod 2 godine (133). Novi modaliteti lečenja u smislu agresivnijeg lečenja mogu promeniti biološki tok bolesti u pozitivnom smeru.

1.2.5.5. ALK+ krupnoćelijski B limfom (ALK+ DLBCL)

ALK+ krupnoćelijski B limfom je neoplazma ALK+ monomorfni imunoblast-nalikujućih ćelija sa neretko plazmablastnom morfologijom. Ovaj tip limfoma se nalazi kao izuzetan raritet sa incidencom < 1% i sa samo oko 40-ak prijavljenih slučajeva do sada (138). Stiče se utisak da se češće javlja kod muškog pola (odnos 3 : 1), nalazeći se u svim dobnim grupama sa medijanom javljanja oko 36. godine života (138).

1.2.5.5.1. Mikromorfološka slika

Kao što je već pomenuto osnovni ćelijski tip koji reprezentuje ovaj podtip limfoma su imunoblast-nalikujuće ćelije sa okruglim bledim jedrom sa krupnim centralnim nukleolusom i oskudnom citoplazmom. Neki slučajevi pokazuju plazmablastnu diferencijaciju (139, 140). Atipične multinuklearne ćelije se takođe nekada mogu naći (9).

1. Uvod

1.2.5.5.2. Imunofenotip

Limfomske ćelije snažno su pozitivne na ALK protein. ALK⁺ krupnoćelijski B limfom takođe snažno eksprimira markere plazmacitoidne diferencijacije CD138, CD38, ali negativan je na najčešće pan B ćelijske markere CD20 i CD79 α , neretko je pozitivan na MUM1 antigen (9). CD45 marker slabo je eksprimiran ili negativan, dok je EMA visoko pozitivan što je dijagnostički vrlo problematično u smislu zamene ove neoplazme sa karcinomima (9, 141). Ovaj tip tumora treba diferencirati od ALK⁺ ALCL T/NK limfocita.

1.2.5.5.3. Genski ekspresioni profil

Geni za imunoglobuline su klonski rearanžirani. Genski profil najviše odgovara post-germinativno ćelijskoj neoplazmi sa plazma ćelijskom diferencijacijom. Gen za ALK protein je na 2. hromozomu i najčešće uočene translokacije su t(2;17)(p23;q23), dok t(2;5)(p23;35) je retko opisana i nije tipična kao kod ALCL T/NK fenotipa (9).

1.2.5.5.4. Specifičnost kliničkog ispoljavanja

Većina bolesnika javlja se u uznapređovalom stadijumu bolesti (III/IV po Ann Arbor stadijumu). Najčešća je nodalna prezentacija ili se prezentuje kao medijastinalna masa. Ekstranodalna zahvaćenost povremeno je opisivana u literaturi, ali čini se da je retka (9). Medijana preživljavanja u uznapređovalo formi bolesti je 11 meseci (138). Kod dece prijavljena su dugotrajna preživljavanja (> 156 meseci) (142). S obzirom da je većina ovih tumora CD20 negativna, rituksimab nema efekta u terapiji.

1.2.5.6. Plazmablastni limfom (Plasmablastic lymphoma-PBL)

PBL je difuzna proliferacija krupnih neoplastičnih ćelija od kojih većina nalikuje imunoblastima, ali u kojoj većina tumorskih ćelija ima plazma ćelijski imunofenotip. Primarno je opisan kao limfom usne šupljine (eng. oral cavity lymphoma), ali danas se zna da se može pojaviti i na drugim mestima u telu, pre svega ekstranodalno. Specifičnost PBL je da je visoko udružen sa HIV infekcijom i da se ustvari smatra HIV asociranim limfomom. Naravno, pored infektivne imunodeficijencije, uzroci mogu biti i jatrogena i staračka imunodeficijencija, no ipak ređe. Medijana godišta pri javljanju je 50 godina, međutim može pogoditi i decu sa imunodeficijencijom (9).

1. Uvod

1.2.5.6.1. Mikromorfološka slika

Morfološki ćelije PBL pokazuju varijaciju od ćelija koje imponuju imunoblastnoj morfologiji do ćelija koje imaju tipičnu sliku plazma ćelijskih proliferacija nalik na multipli mijelom. Mitotske figure su česte. Ćelije monomorfne plazmablastne morfologije najčešće se viđaju kod HIV inficiranih i to najčešće kao oralni, paranazalni i nazalni ektranodalni infiltrati. Diferencijalna dijagnoza prema anaplastičnom ili plazmablastnom plazma ćelijskom mijelomu ustvari je ključni problem patologa. Prisustvo visokog proliferativnog indeksa, ektranodalne lokalizacije, istorija imunodeficijencije i dokaz EBV genoma metodom in situ hibridizacije idu u prilog dijagnozi PBL (9). Postoje zagovaranja pojedinih autora da je pitanje klasifikacije PBL diskutabilno i da se on može smatrati ustvari plazmaproliferativnom bolešću, a ne tipom DLBCL, kako ga trenutno vidi aktuelna klasifikacija WHO 2008.

1.2.5.6.2. Imunofenotip

Neoplastične ćelije PBL ekspimiraju tipično plazma ćelijske markere CD138, CD38, MUM1, a negativne su ili vrlo slabo ekspimiraju CD45, CD20 i PAX5. CD79 α pozitivan je u oko 50–85% slučajeva. EMA i CD30 su često ekspimirani. Ki 67 indeks obično je vrlo visok (> 90%). EBV EBER in situ hibridizacijom pozitivan je u 60–75% slučajeva. EBV pozitivnost ide do 100% u slučajevima oralno-mukozne prezentacije PBL koji je udružen sa HIV-om, dok je HHV8 odsutan (9).

1.2.5.6.3. Genski ekspresioni profil

Postoji klonalni rearanžman za IgH lance imunoglobulina.

1.2.5.6.4. Specifičnost kliničkog ispoljavanja

Većina bolesnika na prezentaciji ima uznapredovali klinički stadijum bolesti (III/IV Ann Arbor stadijum). IPI skor obično je visok. Najčešća je ektranodalna prezentacija kao limfom usne duplje (oral cavity lymphoma), pored toga mogu biti zahvaćeni orbita, sinonazalne šupljine, koža, kosti, meka tkiva i gastrointestinalni trakt. Nodalna prezentacija je opisana, ali je ređa, s tim da je češća kod HIV negativnih bolesnika (143, 144, 145). Podaci iz literature o HIV negativnim PBL su na nivou kauzistike i najčešće su opisani kao ekstraoralni i ektranodalni PBL (146, 147, 148). Klinički tok PBL je vrlo agresivan sa smrtnim ishodom unutar godinu dana od dijagnoze bolesti (141, 142, 143). Ishod ove bolesti nešto je poboljšán od kako je unapređen menadžment HIV infekcije (149).

1. Uvod

1.2.5.7. Krupnoćelijski B limfom koji izrasta iz HHV8-udružene multicentrične Kastlmanove bolesti (Large B-cell lymphoma arising in HHV8-associated multicentric Castleman disease)

Krupnoćelijski B limfom koji izrasta iz HHV8-udružene multicentrične Kastlmanove bolesti (MCD) je monoklonalna proliferacija HHV8 inficiranih limfoidnih ćelija koje imaju plazmablastnu morfologiju eksprimirajući IgM i rastući kao MCD. Redovno je udružena sa HIV infekcijom. Endemski može se naći kod HIV negativnih bolesnika u zonama gde vlada HHV8 (Afrika i zemlje Mediterana) (150). Na nivou kauzistike, publikovani su sporadični slučajevi HIV negativne MCD (151).

1.2.5.7.1. Mikromorfološka slika

Limfni čvorovi i slezina kao primarna mesta lokalizacije ovog limfoma morfološki se karakterišu različitim stepenom involucije i hijalinizacije germinativnih centara sa prominentnom mantl zonom koja može potisnuti germinativne centre i kompletno ih zameniti. U mantl zonama ovih proliferata nalazi se varijabilan broj krupnijih plazmablastnih ćelija. Sa progresijom bolesti plazmablasti se slivaju u konfluentne mikroskopske klastere (152).

1.2.5.7.2. Imunofenotip

Tipičan imunofenotip pokazuje tačkastu prebojenost jedara malignih ćelija na LANA-1, virusni lambda IL-6 i snažno eksprimiraju sIgM sa restrikcijom lambda lakih lanaca. Ćelije su pozitivne ili negativne na marker CD20, negativne na CD79 α , CD138, dok je CD38-/+.

1.2.5.7.3. Genski ekspresioni profil

Aktivacija signalnog puta IL-6 smatra se da ima ulogu u razvoju ove bolesti (9).

1.2.5.7.4. Specifičnost kliničkog ispoljavanja

Ovaj podtip limfoma ima nodalnu prezentaciju i zahvata slezinu, ali može se diseminovati u druge organe putem krvi ili pak retko imati leukemijsku prezentaciju (152, 153). Pacijenti su najčešće u dubokoj imunodeficijenciji sa uvećanim limfnim nodusima i masivnom splenomagalijom često sa manifestacijama Kaposijevog sarkoma (152, 153). Bolest je veoma agresivna sa preživljavanjem od samo nekoliko meseca.

1.2.5.8. Primarni efuzioni limfom (Primary effusion lymphoma-PEL)

PEL je jedinstveni klinički entitet, jer predstavlja likvidni, aleukemijski limfom koji se prezentuje kao rekurentna efuzija organskih duplji (torakalne, perikardijalne ili peritonealne) bez bilo kakve detektabilne tumorske mase. Maligne ćelije indukuju curenje tečnosti u organske duplje i koriste je

1. Uvod

kao supstrat za život i razmnožavanje. Mogu se dokazati u punktatima na preparatima citološkog razmaza sedimenta ili floucitometrijski. PEL je redovno udružen sa infekcijom HHV8, odnosno KSHV. Opisane su retke forme HHV8+ limfoma, ali kao solidne mase koje nisu HHV8 MCD i koje su nazvane ekstrakavitarni PEL (9).

1.2.5.8.1. Mikromorfološka slika

Na razmazima sedimenta izliva dobijenih punkcijom zahvaćenih duplji (najčešće pleuralni izliv) koji su bojeni po May-Grünwald-Giemsa (MGG) metodi vide se krupne ćelije imunoblastnih ili plazmablastnih morfoloških karakteristika, ponekad anaplastične kada je dijagnoza otežana. Citološki pregled pokazuje ćelije izrazito bazofilne, tamno plave citoplazme sa ekscentričnim jedrom koje je krupno, okruglo ili nepravilnih kontura (9).

1.2.5.8.2. Imunofenotip

Ćelije eksprimiraju CD45, ali ne i pan B ćelijske antigene CD20, CD19, CD79 α (154, 155). Prisustvo plazma ćelijskih markera kao i linijski ne asociranih markera je prisutno: HLA-DR, CD30, CD38, CD138, i EMA je tipično. Jedra malignih ćelija pozitivna su na HHV8-asocirani protein LANA (ORF73) (156). Imunofenotip ekstrakavitarnog PEL-a ima slične karakteristike kao likvidni oblik, ali sa nešto jačom ekspresijom B ćelijski asociranih antigena (157).

1.2.5.8.3. Genski ekspresioni profil

Geni za imunoglobuline klonski su rearanžirani i hipermutirani. Virusni genom HHV8 prisutan je u svim slučajevima. Genski profil AIDS-udruženog PEL-a pokazuje poseban profil sa karakteristikama i plazma ćelija i EBV-transformisanih limfoblastoidnih ćelijskih linija (158).

1.2.5.8.4. Specifičnost kliničkog ispoljavanja

Bolest se tipično prezentuje pojavom efuzija bez klinički evidentne limfadenopatije ili organomegalije. Oko polovine bolesnika ima preegzistirajući razvoj Kaposijevog sarkoma (159). Pojedini slučajevi povezani su sa MCD (160). Tipičan bolesnik sa PEL-om je mladi ili sredovečni homo ili biseksualac zaražen HIV-om. Koinfekcija EBV česta je kod ovakvih bolesnika (9). Od PEL-a oboljevaju i drugi imunodeficienti, pogotovo u regionima gde vlada endemska infekcija HHV8, kao što je Mediteran (160).

1. Uvod

1.2.6. Granični slučajevi-limfomi „sive zone”

Granični slučajevi uključuju takozvane limfome „sive zone” (eng. „grey zone”), koji dele karakteristike DLBCL i BL, ili DLBCL i klasičnog tipa HL.

1.2.6.1. B ćelijski limfom, neklasifikovani, sa karakteristikama između difuznog krupnoćelijskog B limfoma i Burkittovog limfoma

Postoje slučajevi koji su granični prema DLBCL sa jedne strane i BL sa druge strane. Ovakvi slučajevi mogu morfološki nalikovati DLBCL, a imati imunofenotip koji više ide u prilog BL ili obrnuto. Predstavljaju dijagnostički problematične entitete. Stari naziv za ovakve slučajeve je bio Burkitt-nalikujući limfom („Burkitt-like lymphoma“-BLL).

1.2.6.1.1. Mikromorfološka slika

Morfološki ovi granični slučajevi limfoma građeni su od srednje do krupnih transformisanih B ćelija bez stromalne reakcije i fibroze. Obrazac rasta je difuzan. Prisustvo slike „zvezdanog neba” (eng. starry sky) redovno je prisutna sa makrofagima koji fagocituju ćelijski debri i difuzno su zastupljeni u tumorskom infiltratu imitirajući „zvezde na noćnom nebu“. Mitotske figure su prisutne u velikom broju i ovakva slika apsolutno ide u prilog BL. Ono što odstupa od morfologije klasičnog BL je veći procenat ćelijske varijacije u dimenziji jedara ili pak imunofenotip koji nije u potpunosti konzistentan sa BL. Opisani su slučajevi blastoidnih ćelija koje nalikuju prekursor B limfoblastnom limfomu/leukemiji (PBL) i koji se moraju diferencirati imunohistohemijom, pre svega TdT markerom koji je pozitivan samo kod PBL. Slučajevi DLBCL koji imaju vrlo visok proliferativni indeks Ki 67 takođe se moraju odvojiti od ovog graničnog entiteta (161).

1.2.6.1.2. Imunofenotip

Ovi limfomi ekspimiraju pan B ćelijske markere CD19, CD20, CD22, CD79a, i tipično sIg. Imunofenotip koji ide u prilog BL je tipično germinativno-ćelijski: bcl6+, CD10+, bcl2- i MUM1-. TdT je diferencijalni marker prema PBL. Indeks proliferacije Ki 67 veoma je visok i ide do 100% što odgovara BL.

1.2.6.1.3. Genski ekspresioni profil

Geni za imunoglobuline klonski su rearanžirani. U oko 35–50% slučajeva postoji 8q24/MYC translokacija (9). Oko 15% ovih limfoma ima bcl2 translokaciju, a detektuju se i udruženo sa MYC translokacijom i tada su to tzv. „double hit” limfomi. Dosta ređe može se detektovati bcl6 translokacija, ukoliko je udružena sa MYC i bcl2 translokacijom to su tzv. „triple hit” limfomi, čija incidenca raste sa godinama života i prisutna je u preko 30% kod starijih bolesnika (9).

1. Uvod

Kompleksan kariotip koji se neretko detektuje, nije tipičan za BL (162). Za BL tipična je translokacija između 14. hromozoma gde su locirani geni za teške lance imunoglobulina sa 8. parom hromozoma gde je lokalizovan protonkogen MYC i tada se sa sigurnošću može reći da je u pitanju tipičan BL.

1.2.6.1.4. Karakteristike kliničkog ispoljavanja

Radi se o agresivnoj ili vrlo agresivnoj neoplazmi refraktarnoj na terapiju, pogotovo ako postoji kompleksan kariotip ili ako su u pitanju „double” ili „triple hit” slučajevi. Klinički se prezentuje kao brzo rastuća nodalna ili ekstrapnodalna masa, a ponekad ima sliku leukemijskog limfoma.

1.2.6.2. B ćelijski limfom, neklasifikovani, sa karakteristikama između difuznog krupnoćelijskog B limfoma i klasičnog Hodgkinovog limfoma

Drugi tip graničnog slučaja je limfom koji ima osobine HL i DLBCL. Može se definisati kao preklopni entitet u kliničkom, morfolološkom i/ili imunofenotipskom smislu između klasičnog HL i DLBCL. Najčešće se javljaju kod mlađih muškaraca u periodu između 20–40 godina (163, 164). Etiologija nije poznata, ali se EBV sekvenca detektuje u oko 20% slučajeva (9).

1.2.6.2.1. Mikromorfološka slika

Tipičan rast tumora podrazumeva konfluentne pleomorfne tumorske ćelije u slojevima koje su uronjene u difuznu fibroznu stromu (163, 164). Tumor podseća na PMBCL, ali za razliku od njega ovde su ćelije krupnije i pokazuju veću pleomorfnost. Pleomorfne ćelije nalikuju lakunarnoj varijanti tipa nodularne skleroze klasičnog cHL. Pri pregledu preparata biopsije nailazi se na zone tumorskog infiltrata koji više ide u prilog dijagnozi cHL, a potom u drugim delovima infiltrata ima više centroblastnih ćelija DLBCL. Nekroze u tumoru su prisutne i česte, ali za razliku od istih kod cHL nema neutrofilne infiltracije u njoj.

1.2.6.2.2. Imunofenotip

Limfomske ćelije ekspiriraju imunofenotip koji je tranzicionalan između ćelija cHL i DLBCL (163, 164). Ćelije su CD45 pozitivne, kao i CD20 i CD79 α , ali u većini slučajeva pokazuje markere cHL (CD30 i CD15). Transkripcioni faktori tipa BOB-1, Oct-2 i PAX5 često su ekspirirani. ALK je negativan, a bcl6 varijabilno je ekspiriran, dok CD10 nije ekspiriran (9).

1.2.6.2.3. Genski ekspresioni profil

Studijama genske ekspresije pokazalo se da je ovaj entitet u bliskoj vezi sa profilom genske ekspresije cHL i PMLBCL, ali nema preciznijih studija koje su publikovane o profilu genske ekspresije ovog entiteta (113, 114).

1. Uvod

1.2.6.2.4. Karakteristike kliničkog ispoljavanja

Klinički ovaj entitet najčešće se prezentuje kao medijastinalni voluminozni tumor koji može dati regionalne kompresivne efekte (sindrom gornje šuplje vene, pareza rekurentnog nerva i sl.). Obično, agresivnost tumora je veća u poređenju sa pojedinačnih izdvojenim entitetima sa ukupnim lošijim ishodom.

1.2.7. Entiteti koji nisu obuhvaćeni WHO 2008 klasifikacijom

Postoje specifične forme DLBCL koje se izdvajaju po svom kliničkom toku, biologiji ili genetici, a koje klasifikacija WHO 2008 nije izdvojila kao posebne entitete. S obzirom na njihove specifičnosti potrebno je posebno ih razmotriti.

1.2.7.1. DLBCL koji nastaje transformacijom iz limfoma nižeg stepena malignosti

DLBCL koji nastaju transformacijom iz prethodećih limfoma indolentnijeg toka, tokom perioda vremena, mogu se smatrati transformisanim DLBCL. Međutim, postavlja se pitanje kada se zaista radi o transformaciji indolentnog u agresivni limfom, a kada je u pitanju slučajna, nezavisna pojava novog agresivnog limfoma tipa DLBCL na terenu preegzistirajućeg indolentnog limfoma. Ako DLBCL nastane zbog imunodeficijencije izazvane prethodnom limfoproliferativnom neoplazmom ili jatrogeno zbog primenjene terapije u lečenju pomenute bolesti, otvoreno je pitanje da li je to *de novo* ili transformisana neoplazma. Transformisanim DLBCL mogao bi se smatrati limfom koji je nastao daljom, dubljom izmenom u genomu malignog klona ćelija indolentnih limfoma, pojavom novih, dodatnih hromozomskih aberacija ili mutacija gena. Takav DLBCL bi se mogao smatrati transformisanim DLBCL koji je nastao iz limfoma niže maligne potencije (transformacija FL ili Rihterov sindrom kod SLL/CLL entiteta). Pojava DLBCL koji nastaje nezavisno, od ćelija *de novo* klona, kasnije u nekom trenutku evolucije indolentnog limfoma, može se smatrati sekundarnom neoplazmom. Za diferencijaciju ova dva fenomena neophodna je primena preciznih molekularnih tehnika, koje još uvek nisu deo rutinske prakse, već su deo eksperimentalne medicine. Sinhrona pojava DLBCL sa nekim drugim tipom NHL ili HL označava se kao kompozitni limfom, gde DLBCL i druga limfoproliferativna neoplazma nastaju u isto vreme, ali su potpuno dva nezavisna fenomena, verovatno nastala iz dva nezavisna maligna klona koja najverovatnije slučajno nastaju u istom trenutku.

Najbolje opisane su transformacija FL i sindroma SLL/CLL, ređe to mogu biti transformacija MALT limfoma u DLBCL, ili vrlo retko nekog drugog. FL, kao drugi po učestalosti i najčešći indolentni limfom razvijenih zemalja i zapadne hemisfere najčešći je opisivani primer

1. Uvod

transformacije indolentnog limfoma u agresivni. FL može vremenom, postepeno da iz nižih gradusa pređe u više graduse i transformiše se u DLBCL, ili bez etapnih faza. Incidenca transformacije je varijabilna, verovatno u zavisnosti od kriterijuma koji se uzimaju za njenu procenu, ali procenjena je na oko 3% na godišnjem nivou (165). Danas se smatra da 30–40% FL može doživeti histološku transformaciju u agresivne limfome, pre svega DLBCL (166). Patogenetski mehanizam predmet je ispitivanja i u osnovi je nepoznat. Rizik od transformacije imaju bolesnici uznapredovalog FL i visokog Follicular International Prognostic Index (FLIPI) indeksa, pokazano je u prospektivnoj studiji Montotoa i sar. (167). Transformisani FL (tFL) je specifično udružen sa alteracijama i deregulacijom ćelijskog ciklusa i odgovora na DNA oštećenja (MYC, TP53 mutacija, aberantna somatska hipermutacija, CDKN2A/B). Genski ekspresioni profil tFL deli vrlo visoke sličnosti sa *de novo* GCB imunofenotipskim DLBCL (166). U prospektivnom trajalu Montotoa i sar. pokazano je da histološki transformisan DLBCL ima i kraći period preživljavanja i period do progresije bolesti ($p < 0,0001$) (167).

Rihterov sindrom RS predstavlja transformaciju CLL ili sindroma SLL/CLL u agresivni limfom tipa DLBCL, najčešće non-GCB imunofenotipa, koji je klonalno povezan sa preegzistirajućom CLL (168). RS ima vrlo lošu prognozu i patogenetski mehanizam ovog sindroma nedovoljno je jasan (168). Lezije genoma u RS su heterogene. Deregulacija MYC onkogenog puta može biti jedan od glavnih onkogenih događaja u patogenezi klonalno povezanog RS sa prethodećom CLL (168). Danas su predložena bar dva mehanizma nastanka RS: klonalno povezan, koji ustvari predstavlja pravi RS, jer nastaje dodatnom izmenom u genomu već postojećeg malignog klona indolentnog limfoma/leukemije SLL/CLL, najčešće nastankom p53 mutacije ili delecijom 17p13 hromozoma, i drugi mehanizam koji nije pravi RS, već nastanak *de novo* DLBCL kod bolesnika koji boluju od SLL/CLL (169). Dva pomenuta DLBCL entiteta imaju potpuno drugačiju biologiju i klinički tok. Kumulativna incidenca RS nije tako malo i prelazi 10% za period od 10 godina, što znači da se kreće 1% na godišnjem nivou (169). Definisani su neki od rizik faktora koji mogu biti prediktori mogućeg razvoja RS ili progresije CLL kao što su: ekspresija CD38 na ćelijama CLL, odsustvo delecije 13q14 i veličina limfnih nodusa $\geq$ od 3 cm (170). Terapija RS je ekstremni problem, jer radi se o refraktarnom DLBCL kratkog preživljavanja. U trenutno najsvežijem retrospektivnom trajalu izraelske grupe autora potvrđen je benefit od dodatka rituksimaba hemioterapijskim šemama u tretmanu RS. Rezultati dobijeni u dugotrajnom praćenju ($n=119$)

1. Uvod

bolesnika u 12 izraelskih centara pokazali su poboljšanje 2-godišnjeg preživljavanja sa 19% na 42% ($p=0,001$) (171).

1.2.7.2. Molekularno-biološke varijante DLBCL („Double hit” i „triple hit” limfomi)

Ovaj molekularni podentitet zaslužuje posebno sagledavanje, iako je već pomenut u odeljku 1.2.6.1., s obzirom na rastuća saznanja iz oblasti molekularne biologije limfoma. Limfomi koji nose MYC/8q24 rearanžman u kombinaciji sa translokacijama koji zahvataju gene za bcl2, bcl3 i bcl6 označeni su kao „double hit” limfomi (DHL) (172). Kao što je napomenuto predstavljaju limfome koji se najčešće kategorišu kao DLBCL, neklasifikovani sa karakteristikama između BL, redovno su GCB-nalik imunofenotipa, i vrlo retko mogu biti DLBCL, NOS tipa. Najveći broj opisanih slučajeva su MYC⁺/BCL2⁺ slučajevi po podacima negde oko 60%, dosta ređe su opisani DH limfomi gde postoji MYC⁺/BCL6⁺, s tim što ovaj poslednji tip najčešće predstavlja „triple hit” (TH) limfome, jer ima trostruke prelome hromozoma MYC⁺/BCL2⁺/BCL6⁺ (173). Tremin DHL je relativno neprecizan, jer pored MYC translokacije najčešće postoje još nekoliko udruženih translokacija te se govori o TH ili „quadriple hit” limfomima i sl. MYC⁺/BCL6⁺ DH limfomi imaju češće ektranodalnu prezentaciju, agresivni su i za razliku od DLBCL/BL tipa limfoma češće imaju fenotip CD10⁻, MUM1⁺, više nalikuju BL, ali slabije eksprimiraju bcl2 i imaju niži stepen citogenetskih kompleksnosti kariotipa od BCL2⁺ DH limfoma (174). Generalno, klinička prezentacija DH, TH ili „quadriple hit” limfoma je postojanje visokog proliferativnog indeksa, dominantan GCB imunofenotip, ekstenzivna bolest, česta infiltracija koštane srži i/ili CNS-a na prezentaciji (173). Bolesnici sa DH limfomima generalno imaju brzo progredirajući tok bolesti, čak i nakon primene visokodoznih režima. Uzrok ovakvom toku visoka su kompleksnost izmena u genomu ovih tumora (172, 173). Opisana sfera molekularnih otkrića daleko produbljuje naša aktuelna saznanja i nudi potpuno drugi obim sagledavanja DLBCL i limfoma uopšte. Ovo otvara suštinsko pitanje individualizacije pristupa i uvođenje target molekularne terapije prema specifičnom profilu genetskih alteracija i konsektivno aktiviranom onkogenom putu, što u osnovi i predstavlja budući suštinski cilj lečenja DLBCL.

1.2.7.3. Primarni testikularni DLBCL (PTL)

PTL predstavlja poseban klinički entitet, jer ima vrlo agresivan biološki tok i neuobičajenu tendenciju ka relapsa u CNS ili kontralateralnom testisu. Iz ovih razloga može se razmatrati izdvojeno iz ostale grupe DLBCL, jer ovde imamo fenomen da specifična lokalizacija limfoma ima drugačije biološko ponašanje u odnosu na druge ektranodalne lokalizacije DLBCL. PTL čini

1. Uvod

1–2% svih NHL, 4% ekstrapnodalnih NHL i varijabilno 1–10% testikularnih neoplazmi koje pogađaju muškarce starije od 60 godina sa rđavom prognozom (175, 176). U HIV+ bolesnika incidenca PTL je u porastu i pojavljuje se u dosta ranijem životnom periodu (medijana oko 37. godine), praćen vrlo lošom prognozom (177). Kod odraslih PTL je u 80–90% tipa DLBCL, dok ostale forme uključuju BL, primarni FL testisa i vrlo retko druge (opisani su MZL i MCL, kao i LBL), kod dece najveći broj slučajeva PTL porekla su BL, DLBCL i LBL (178). Pored već rečenog da PTL imaju izraziti afinitet ka relapsu u CNS i kontraletaralni testis, opisano je da imaju i tendencu ka relapsu u plućima, koži i Waldeyerovom krajničkom prstenu (179, 180). Varijable koje koincidiraju sa lošom prognozom su: starost bolesnika, prisustvo B simptoma, tumor > 9 cm, invazija spermatičnog voda, povišen nivo LDH, histološki gradus, vaskularna invazija, Ann Arbor stadijum, IPI skor, CNS zahvaćenost (181, 182). Oko 90% bolesnika je u stadijumu I ili II po Ann Arbor klasifikaciji, na prezentaciji, dok se bilateralna testikularna zahvaćenost sreće u oko 35% slučajeva (183). O tretmanu će biti reči u delu koji opisuje terapijski pristup posebnim formama DLBCL.

1.2.7.4. Primarni DLBCL kostiju

Primarni koštani limfomi (eng. Primary bone lymphoma-PBL) su retke bolesti, čineći < 2% svih limfoma odraslih (184). Smatra se da čine 5% ekstrapnodalnih limfoma (185) i da skoro svi tipovi NHL mogu biti primarni koštani limfomi (186), s tim da oko 80% otpada na DLBCL tipove (185). Više publikovanih radova pokazuje nešto veću učestalost muške populacije u odnosu na žensku, iznoseći odnos 1,2–1,8 : 1 (187–190). Klinički prezentuju se kao mekotkivne lezije kostiju koje mogu infiltrirati okolne mekotkivne strukture i kožu, pojavom patoloških fraktura ili pojavom kompresivnih efekata na nervne plexuse, u zavisnosti od lokalizacije primarnog procesa. Sistemski B simptomi u vreme dijagnoze mogu biti prisutni na prezentaciji (190). Sporadično, simptomi mogu perzistirati mesecima pre nego što se bolesnik obrati lekaru. S obzirom na raritet pojavljivanje nema optimalno definisanog tretmana za ovaj tip limfoma. Ukupna prognoza relativno je dobra, s tim što jedan manji procenat bolesnika relapsira (191).

1.2.7.5. DLBCL udružen sa sekrecijom monoklonalnog IgM paraproteina

U skorije vreme publikovano je par slučajeva DLBCL koji sekretuju paraprotein IgM. Publikovana je serija od (n=19) bolesnika u grupi od (n=151) bolesnika sa DLBCL koji su lečeni konvencionalnom imunohemioterapijom. Pokazano je da je većina ovih bolesnika imala imunoblastnu morfologiju, non-GCB imunofenotip, uznapredovali klinički stadijum, češću

1. Uvod

infiltraciju koštane srži i veći broj ektranodalnih mesta sa visokim IPI skorom. Neretko kod ovih oblika može postojati asocirana autoimuna hemolizna anemija (AIHA). Ovaj tip DLBCL najverovatnije jeste poseban oblik bolesti sa vrlo lošom prognozom i velikom tendencijom ka CNS infiltraciji u relapsu bolesti (192).

1.2.8. Stratifikacija rizika u DLBCL

Prvi pokušaji stratifikacije rizika kod obolelih od DLBCL počeli su još od definisanja kliničkog stadijuma bolesti na konferenciji u Ann Arboru, po kome se i danas vrši stadiranje NHL, odnosno DLBCL, o kojima je ovde reč. Još iz tih vremena datiraju saznanja da se kao loši prediktori preživljavanja smatraju uznapredovala bolest (III/IV klinički stadijum, loš performans status na prezentaciji bolesnika i prisustvo voluminozne „Bulky” bolesti).

Parametri rizika kod DLBCL se mogu didaktički razmotriti kroz 3 velike grupe pokazatelja:

1. Kliničko-biohemijski parametri (Ann Arbor klinički stadijum, prisustvo nodalne ili ektranodalne forme bolesti, infiltracija koštane srži, nivo LDH na prezentaciji, nivo albumina, beta 2 mikroglobulina, hemoglobina na prezentaciji, itd.). Sumarno gledano iz nekih od ovih parametara izvedeni su tzv. skorovi prognoze ili indeksi. U ovom delu treba razmotriti i čitav spektar novijih kliničko-biohemijskih parametara prognoze koji se aktuelno publikuju (nivo vitamina D, slobodnih lakih lanaca, odnos apsolutnog broja limfocita i monocita, itd.).
2. Vitalni kapacitet bolesnika (starost bolesnika, performans status, pol, indeks telesne mase, prisustvo komorbiditeta).
3. Specifične osobine malignog klona limfomskih ćelija i tumorske mikrookoline DLBCL. Osobine malignog klona očitavaju se preko ekspresije različitih molekularnih biomarkera. Ovi biomarkeri prvo su definisani na osnovu raznih imunohistohemijski ekspresionih surogata koji predstavljaju vidljivi odraz unutrašnjih aktiviranih onkogenih puteva u ćeliji malignog klona DLBCL. Novi specifični agensi iz brojnih aktuelnih kliničkih studija jasno ukazuju da je izrazita biološka i klinička heterogenost DLBCL upravo posledica različitih poremećaja u autonomnoj aktivaciji unutrašnjih onkogenih signalnih puteva, koji determinišu ćelijsku diferencijaciju, maturaciju, ćelijski ciklus, preživljavanje i dr. U osnovi ovih izmena stoje promene genomske funkcije maligno alterisane ćelije DLBCL. S druge strane rastuća su saznanja koja sve više ističu značaj mikrookoline tumora (okolnih ćelija i ekstracelularnog matriksa koji se nalaze u kontaktu sa ćelijama DLBCL). Navedena saznanja pretenduju da u budućnosti predstavljaju okosnicu personalizovane i ciljano usmerene terapije DLBCL.

1. Uvod

1.2.8.1. Stratifikacija rizika u odnosu na pojedine biohemijske i kliničke parametre

Pojedine kliničke i biohemijske parametre treba razmotriti posebno s obzirom na publikovane radove koji ukazuju na njihov poseban značaj u prognozi DLBCL.

Povišene vrednosti LDH od ranije su poznate kao parametar loše prognoze u ishodu tretmana DLBCL. Iz tog razloga nivo LDH ušao je u standardne indekse prognoze kao jedan od osnovnih parametara. Nivo beta 2 mikroglobulina na prezentaciji nezavisni je prognostički parametar ranog relapsa bolesti, već je istaknuto napred (50). Pored ovih ispitivan je čitav niz serumskih parametara, pre svega reaktanata akutne faze (fibrinogen, ceruloplazmin, nivo serumskog bakra, feritin i dr), čija visoka vrednost korelira sa uznapredovalom bolešću i lošijim ishodom lečenja. Snižen nivo albumina parametar je lošeg ishoda tretmana DLBCL, pre svega u dužini preživljavanja bolesnika (193). Razlog je multifaktorijalan (loš nutritivni status bolesnika, gubitak proteina preko digestivnog trakta ili bubrega, mada pravi razlog ostaje nepoznat). Snižen nivo hemoglobina takođe je parametar uznapredovale bolesti i samim tim prediktor loše prognoze. Smatra se da je povišen nivo interleukina 6 (IL-6) i inadekvatna eritrocitopoeza razlog anemije i da koreliraju sa uznapredovalom bolešću i lošim ukupnim ishodom lečenja (194). Infiltracija koštane srži sama po sebi ukoliko je prisutna na prezentaciji nosi lošu prognozu (5-godišnje preživljavanje manje od 10%), dok diskordantna pojava infiltracije nosi nešto bolju prognozu (5-godišnje preživljavanje u oko 62%). Loše preživljavanje udruženo sa konkordantnom infiltracijom koštane srži bilo je nezavisno od IPI skora (195, 196, 197). Prisustvo „Bulky” bolesti predstavlja izraz velike tumorske mase, često zapuštene bolesti i parametar je loše prognoze. Prisustvo B simptoma isto tako može biti posledica ekscesivnog lučenja citokina, koji dalje mogu voditi hipoalbuminemiji ili anemiji što zajedno predisponira lošiju prognozu DLBCL (194). Lokalizacija limfoma u smislu nodalnog ili ektranodalnog nije se pokazala kao parametar koji značajno definiše ishod tretmana DLBCL. Neki od pomenutih kliničkih i biohemijskih parametara su uključeni u tzv. indekse prognoze o kojima će biti reči u posebnom poglavlju koje razmatra ovu problematiku.

1. Uvod

1.2.8.1.1. Stratifikacija rizika u odnosu na pojedine aktuelno publikovane kliničke i biohemijske karakteristike DLBCL

U studiji Maurera i sar. ispitivan je prognostički značaj povišenih vrednosti slobodnih lakih lanaca u serumu (eng. free light chain-FLC) kod ($n=259$) bolesnika gde su nađene povišene vrednosti kod 32% bolesnika (198). Pokazano je da je i poliklonalna i monoklonalna elevacija FLC povezana sa statistički značajnim inferiornim EFS i OS u ispitivanim kohortama. Multivarijantna analiza pokazala je da su pomenuta elevacija FLC koja je uključila i 5 komponente IPI skora, jaki prediktori preživljavanja. Ove analize potvrđene su i od strane Jardina i sar. u njihovoj kohorti od ($n=409$) bolesnika, gde je pokazano da abnormalni odnos IgM kapa/IgM lambda takođe predviđaju inferiorni PFS (HR 1,54 $p=0,03$) (199). Interesantni su nalazi sniženih vrednosti vitamina D kao prediktora lošije prognoze kod NHL bolesnika (200, 201). Podaci *in vitro* studije ukazuju na mogućnost loše rituksimab posredovane citotoksičnosti zbog niskih serumskih vrednosti vitamina D (202). Apsolutni broj limfocita (eng. absolute lymphocyte count-ALC), određeni iz krve slike mogu se smatrati surogat markerom za imuni sistem domaćina. Urađen je veći broj studija koji je analizirao ALC i dobijeni rezultati pokazuju da veći nivo ALC korelira sa boljim ishodom u pogledu PFS i OS, koji je nezavisan od IPI skora, „cut off“ vrednosti su se kretale od 0,8 do $1,3 \times 10^9/L$. Ovi nalazi su izgleda verodostojni i u eri pre i posle uvođenja rituksimaba (203, 204, 205). Cox i sar. su publikovali studiju koja je poredila ALC sa R-IPI skorom i u multivarijantnoj analizi dobili su da ALC/R-IPI skor predstavlja vrlo moćan prediktor PFS i OS (206). Suprotno ovome snižen apsolutni broj monocita (eng. absolute monocyte count-AMC) predstavlja loš prognostički parametar. Wilcox i sar. su opisali dihotomu klasifikaciju AMC koja stratifikuje bolesnike u tri prognostičke grupe (205). Par studija ispitivalo je odnos AMC/ALC koje su pokazale da ovaj odnos korelirao sa ishodom tretmana DLBCL bolesnika nezavisno od IPI skora i porekla ćelija DLBCL (207,208). U ovom domenu još uvek nema prospektivnih studija. Razvoj limfopenije nakon R-CHOP (rituksimab, ciklofosamid, doksorubicin, vinkristin, prednizon) indukciono terapije su opisane kao rizik faktor za relaps DLBCL (209, 210). ALC u vreme prvog relapsa opisan je kao nezavisni prediktor preživljavanja (211). Sistemska imunosupresija u NHL može biti posledica poremećenog fenotipa monocita periferne krvi i često je udružena sa visokim stadijumom bolesti, agresivnijom biologijom i bržom progresijom bolesti (212). U studijama sa citokinima pokazalo se da brojni citokinski molekuli mogu korelisati sa prezentacijom bolesti i njenom prognozom, npr. solubilni interleukin-2 receptori (213). Pomenuti markeri predstavljaju

1. Uvod

buduće smernice u daljoj risk stratifikaciji limfoma, odnosno DLBCL i verovatno će biti inkorporirani u buduće preciznije indekse prognoze.

1.2.8.1.2. Stratifikacija rizika u odnosu na prognostičke indekse

Stratifikacija rizika u DLBCL postala je rutinski inkorporirana praksa i ušla je u zvanične ESMO preporuke kao sastavni deo stadiranja DLBCL. Ona predstavlja značajan faktor u terapijskom odlučivanju o tipu indukciono imunohemioterapije, broju ciklusa i eventualnom dodavanju radioterapije ili dodatnih modaliteta lečenja. Istorijski razvojni put skorova i indeksa prognoze biće opširnije prezentovani u narednim podnaslovima ovog poglavlja. Skoro svi scoring sistemi uzimaju kao parametre Ann Arbor stadirajući sistem (I/II stadijum vs III/IV stadijum), visinu LDH, čiji značaj je već opisan, prisustvo diseminovane bolesti.

1.2.8.1.2.1. Internacionalni prognostički indeks („International prognostic index”-IPI)

Godine 1993. Sehn i sar., prvi put su napravili moćan prediktivni instrument baziran na opštim kliničkim pokazateljima u DLBCL i prezentovali ga naučnoj javnosti kao Internacionalni prognostički indeks (IPI) skor (214). IPI skor jasno diferencira bolesnike sa *de novo* DLBCL na 4 prognostičke podgrupe: nizak rizik (0–1), nizak-intermedijerni (2), visok intermedijerni (3), visok (4–5). Način i principi bodovanja dati su u **tabeli 7 i 8**. Treba napomenuti da se IPI skor odnosi na ishod bolesnika lečenih samo hemioterapijom CHOP, jer je nastao pre ere primene rituksimaba.

Tabela 7. IPI skor, način bodovanja. Određuje se bolesnicima ≥ 60 godina (214)

Parametri	IPI	Broj poena
Starosna dob	≤ 60 godina	0
	> 60 godina	1
Ann Arbor Klinički stadijum	I ili II	0
	III ili IV	1
ECOG Performans status	0 ili 1	0
	2–4	1
Serumska aktivnost LDH	Normalna	0
	Povišena	1
Ekstranodalna zahvaćenost	$\leq$ od 1 mesta	0
	$>$ od 1 mesta	1

1. Uvod

Tabela 8. aaIPI skor, način bodovanja. Određuje se bolesnicima < 60 godina (214)

Parametri	aaIPI	Broj poena
Ann Arbor Klinički stadijum	I ili II	0
	III ili IV	1
Serumska aktivnost LDH	Normalna	0
	Povišena	1
Ekstranodalna zahvaćenost	≤ od 1 mesta	0
	> od 1 mesta	1

1.2.8.1.2.2. Revidirani internacionalni prognostički indeks („Revised IPI”-R-IPI)

Od momenta uvođenja rituksimaba u tretman DLBCL, kao dodatka CHOP indukcionoj hemioterapiji, koja je decenijama perzistirala kao „zlatni standard” lečenja, došlo je do dramatičnog poboljšanja u PFS i OS u odnosu na ishod lečenja primenom same hemioterapije. Prethodni indeks prognoze IPI definisan je, kao što je već rečeno za bolesnike lečene samo CHOP hemioterapijom, s obzirom da je nastao u vreme kada se rituksimab nije primenjivao. Grupa autora sa Sehnem LH na čelu je 2007. godine publikovala tzv. revidirani IPI skor i nazvala ga R-IPI. Indeks je dobijen retrospektivnom, nerandomizovanom analizom bolesnika iz baze podataka „British Columbia Cancer Agency” (BCCA), na grupi od (n=365) bolesnika. Uključeni bolesnici praćeni su od 2001. godine (period od kada je počela primena rituksimaba u ovoj britanskoj provinciji) do 2006. godine. Medijana starosti bolesnika bila je 61 godina (od 16 do 90 godina), koji su imali centralnu laboratorijsku potvrdu CD20+ DLBCL i lečeni su primenom 6-8 indukcionih ciklusa R-CHOP (92%) sa kurativnom intencijom, 21% imalo je i dodatnu radioterapiju (215). Analizom se pokazalo da je nakon uvođenja rituksimaba u redovnu terapiju DLBCL, IPI skor zadržao sposobnost prediktivnosti u odnosu na preživljavanje i PFS, ali samo je mogao da diferencira 2 podgrupe bolesnika (sa dobrom i lošom prognozom), a ne više 4 kako je inicijalno bio definisan. R-IPI skor sada je sa jasnom, statističkom značajnošću mogao da izdvoji 3 podgrupe bolesnika (sa vrlo dobrom, dobrom i lošom prognozom). Zaključak studije bio je da se R-IPI pokazao kao klinički koristan prognostički indeks koji može pomoći u vođenju terapijskog planiranja i interpretaciji kliničkih studija (215).

1. Uvod

Način izračunavanja R-IPI skora i bodovanja prikazan je u **tabeli 9**, a prognostička značajnost komparirana sa IPI skorom, odnosno aaIPI mlađih bolesnika (< 60 godina) data je u **tabeli 10**. Treba jasno naglasiti da R-IPI skor nije validiran kroz prospektivnu evaluaciju, s toga originalni IPI skor i dalje ostaje najbolje validirani prognostički parametar (216, 217).

Tabela 9. R-IPI skor, način bodovanja i interpretacije

Parametri	IPI	Broj poena
Starosna dob	≤ 60 godina	0
	> 60 godina	1
Ann Arbor Klinički stadijum	I ili II	0
	III ili IV	1
ECOG Performans status	0 ili 1	0
	2–4	1
Serumska aktivnost LDH	Normalna	0
	Povišena	1
Ekstranodalna zahvaćenost	≤ od 1 mesta	0
	> od 1 mesta	1
Vrlo dobar skor 0–1; dobar: skor 2; loš: skor ≥ 3		

1. Uvod

Tabela 10. Ishod u odnosu na rizik grupe definisane Internacionalnim prognostičkim indeksom (IPI), godištu-prilagođenom (aaIPI) i revidiranom (R-IPI)

Rizik grupa	Broj rizik faktora	Distribucija bolesnika (%)	Kompletna remisija			Preživljavanje	
			Stopa (%)	Preživljavanje bez relapsa		2-god. stopa (%)	5-god. stopa (%)
				2-god. stopa (%)	5-god. stopa (%)		
IPI, svi pacijenti (n=2031)¹							
Nizak	0 ili 1	35	87	79	70	84	73
Nizak-intermed.	2	27	67	50	50	66	51
Visok-intermed.	3	22	55	49	49	54	43
Visok	4 ili 5	16	44	40	40	34	26
Godištu prilagođen Age adjusted aa IPI, bolesnici ≤ 60 godina (n=1274)							
Nizak	0	22	92	88	86	90	83
Nizak-intermed.	1	32	78	74	66	79	69
Visok-intermed.	2	32	62	62	53	59	46
Visok	3	14	61	61	58	37	32
R-IPI, DLBCL (n=365) bolesnika							
Vrlo dobar	0	10			94 ²		94 ³
Dobar	1 ili 2	45			80 ²		79 ³
Loš	3, 4 ili 5	45			53 ²		55 ³
¹ Pacijenti uključeni 1385 u početni uzorak i 646 u validirani uzorak; ² 4-god. PFS; ³ 4-god. OS.							

1. Uvod

1.2.8.1.2.3. „Poboljšani” internacionalni prognostički indeks („National Comprehensive Cancer Network”-NCCN-IPI)

Jedan od posljednje publikovanih kliničko-prognostičkog modela dobijen je iz baze podataka „National Comprehensive Cancer Network” (NCCN), koja je analizirala (n=1650) odraslih bolesnika sa *de novo* DLBCL (period od 2000–2010. godine) iz 7 NCCN centara u Sjedinjenim Državama. Praćeno je 5 prediktora (starost, odnos dobijenog LDH sa gornjom normalom referentne vrednost laboratorije za LDH, broj zahvaćenih mesta, Ann Arbor klinički stadijum i ECOG performans status). Formirano je 4 grupa rizika: nizak (0–1), nizak-intermedijerni (2–3), visok-intermedijerni (4–5) i visok (6–8). Model je nazvan „poboljšani” ili „ojačani” IPI, odnosno NCCN-IPI skor i publikovan je od strane Zhoua i sar. 2014. godine (218). Način kalkulacije i komparacija NCCN-IPI skora sa IPI skorom dat je u **tabeli 11 i 12**. NCCN-IPI pokazao je bolju mogućnost diferenciranja niske i visoko-rizične podgrupe u odnosu na tradicionalni IPI skor. Kada je ovaj novi skor poređen sa nezavisnom grupom (n=1138) bolesnika dobijenom iz baze podataka BCCA, retrospektivno kao istorijskom kontrolom, takođe je pokazao poboljšanu mogućnost diskriminacije u obe: nisko-rizičnoj i visoko-rizičnoj grupi bolesnika. "Novi-stari" skor ima sve karakteristike kao standardni IPI, ali u nešto drugačijem rasporedu vrednosti i to ga čini takozvanim „poboljšanim” ili „ojačanim” IPI skorom.

Tabela 11. NCCN-IPI skor, način kalkulacije

NCCN-IPI	Skor (broj poena)
Starost bolesnika (broj godina)	
> 40 do ≤ 60	1
> 60 do ≤ 75	2
> 75 godina	3
LDH, odnos dobijenog LDH sa gornjom granicom referentne vrednosti LDH date laboratorije	
> 1 do ≤ 3	1
> 3	2
Ann Arbor stadijum III–IV	1
Ekstranodalna bolest*	1
Performans status (ECOG) ≥ 2	1
*Bolest prisutna u koštanoj srži, CNS-u, jetri/gastrointestinalnom traktu ili plućima.	

1. Uvod

Tabela 12. Poređenje NCCN-IPI i IPI skora u stratifikaciji rizika i ishodu u 5-godišnjem OS i PFS između NCCN i BCCA grupe

	Skor		5-godišnji OS		5-godišnji PFS	
	NCCN-IPI	IPI	NCCN-IPI	IPI	NCCN-IPI	IPI
NCCN grupa (n=1650)						
Rizik						
Nizak	0–1 (19%)	0–1 (38%)	96%	90%	91%	85%
Nizak-Intermed.	2–3 (42%)	2 (26%)	82%	77%	74%	66%
Visok-intermed.	4–5 (22%)	3 (22%)	64%	62%	51%	52%
Visok	≥ 6 (8%)	4-5 (14%)	33%	54%	30%	39%
BCCA grupa (n=1138)						
Nizak	0–1 (12%)	0–1 (33%)	96%	84%	94%	81%
Nizak-intermed.	2–3 (37%)	2 (24%)	77%	72%	72%	66%
Visok-intermed.	4–5 (37%)	3 (22%)	56%	54%	54%	54%
Visok	≥ 6 (14%)	4-5 (21%)	38%	43%	35%	41%

1.2.8.2. Stratifikacija rizika u odnosu na biološki vitalni potencijal

Pod biološkim vitalnim potencijalom se mogu smatrati opšti faktori organizma kao što su: opšti aspekt bolesnika, odnosno njegov performans status, starost bolesnika, telesna težina, odnosno indeks telesne mase, prisustvo komorbiditeta i sl. Svi navedeni faktori imaju uticajna ishod tretmana DLBCL.

1.2.8.2.1. Starost bolesnika i performans status

Starost bolesnika kao i njegov opšti aspekt predstavljaju značajne parametre koji mogu uticati na terapijski odgovor i prognozu DLBCL. Performans status definisala je („Eastern Cooperative Oncology Group”-ECOG) koja predstavlja jednu od najvećih istraživačkih kancerskih grupa u Sjedinjenim Američkim Državama i koja je dala skalu bodovanja ECOG performans statusa (219). Prikaz je dat u **tabeli 13**.

1. Uvod

Tabela 13. ECOG performans status (219)

ECOG 0	Asimptomatski bolesnici
ECOG 1	Simptomatski bolesnici, ali kompletno se mogu rešiti ambulantno
ECOG 2	Simptomatski bolesnici koji su vezani za postelju, ali < od 50% za ceo dan
ECOG 3	Simptomatski bolesnici koji su vezani za postelju, ali > od 50% za ceo dan
ECOG 4	Bolesnik koji je vezan za postelju, kompletno onesposobljen za bilo kakvu dnevnu aktivnost
ECOG 5	Smrt

ECOG performans status označava se još i kao Zubrodov skor (posle G. Zubroda) ili jednostavno WHO skor. Predstavlja vrlo jednostavan klinički scoring sistem, u čemu mu je i prednost primene u odnosu na recimo, Karnofsky skor ili neki dr. Samostalno vrlo je važan parametar ishoda tretmana onkoloških bolesnika, s toga je i uključen kao sastavni deo u sve trenutno aktuelne indekse prognoze (IPI, aaIPI, R-IPI, NCCN-IPI). Starost bolesnika označava vitalni kapacitet organizma, odnosno ima značajan uticaj na preživljavanje onkoloških bolesnika. Stariji bolesnici imaju izmenjenu farmakokinetiku lekova, najčešće imaju prateće komorbiditete, i češće imaju viši ECOG performans status. Svi pomenuti faktori mogu imati prediktivni i prognostički značaj na ishod tretmana DLBCL.

1.2.8.2.2. Pol bolesnika

Pol bolesnika pokazalo se u novijim studijama da ima efekta, pre svega na farmakokinetiku rituksimaba, što utiče na iskoristljivost ovog monoklonskog antitela. U studiji Mullera i sar. pokazalo se da je klirens rituksimaba kod žena redukovaniiji i da se duže zadržava u plazmi nego kod muškaraca. Krupniji, gojazni muškarci imaju brži klirens rituksimaba, čime se zaključilo da stariji muškarci imaju manji benefit od dodavanja rituksimaba CHOP hemioterapiji nego žene (220). Kod mladih muškaraca i žena izgleda da nema razlike u klirensu rituksimaba. Pitanje da li su stariji bolesnici subdozirani rituksimabom pri primeni njegove standardne doze od 375 mg/m² ostaje otvoreno. Aktuelna DSHNHL studija treba da nam pruži odgovor da li dodavanje viših doza rituksimaba doprinosi porastu benefita od ovog leka kod inkriminisane supkategorije bolesnika (221).

1. Uvod

1.2.8.2.3. Telesna težina bolesnika

U retrospektivnoj studiji sprovedenoj na grupi od (n=183) neselektovanih bolesnika, na bazi iskustva jednog centra, došlo se do saznanja da je prekomerni indeks telesne mase ($BMI \geq 25 \text{ kg/m}^2$) povezan sa poboljšanim preživljavanjem bolesnika sa DLBCL. Interesantno je da se povišeni indeks telesne mase pokazao kao nezavisni prognostički faktor za OS i u multivarijantnoj analizi (HR 0,557; $p=0,043$) (222).

1.2.8.2.4. Komorbiditetni indeksi i skorovi

Prisustvo dodatnih bolesti ili patoloških stanja (komorbiditeta) kod osoba obolelih od DLBCL mogu imati uticaja na ukupni ishod tretmana. Definisan je veći broj skorova koji razmatraju komorbiditete. ACE-27 (eng. Adult Comorbidity Evaluation-27) (223), HCT-CI (eng. Haematopoietic Stem Cell Transplantation-specific comorbidity index) (224) i M-CIRS (eng. Modified Cumulative Illness Rating Scale) (225) su tri ispitivana komorbiditetna indeksa. U univarijantnoj analizi pokazalo se da bolesnici sa DLBCL prema ACE-27 ($p=0,007$) i HCT-CI ($p=0,03$) imaju niže ukupno preživljavanje koje je bilo zavisno od skorova, a ne od vrste primenjenjene terapije. Indeks komorbiditeta M-CIRS u istoj analizi nije se pokazao kao prediktivan za preživljavanje. U multivarijantnoj analizi skor baziran na HDC-CI i aalPI skor pokazali su se kao najbolji prediktori preživljavanja (224).

1.2.8.3. Stratifikacija rizika u odnosu na molekularne biomarkere

Molekularni biomarkeri mogu se posmatrati kroz ekspresiju pojedinih biomolekula na ćelijskoj površini, citoplazmi, ili jedru maligne ćelije DLBCL, kao i signalne puteve koji su aktivirani u njoj. Neki tek skorije opisani parametri prognoze će takođe biti opisani u ovom poglavlju.

1.2.8.3.1. Stratifikacija rizika u odnosu na surogat markere, odnosno imunohistohemijsku ekspresiju pojedinih antigena (CD10, MUM1, bcl6)

Ekspresija pojedinih markera koji se dokazuju imunohistohemijskim metodama na ćelijskoj opni, u citoplazmi ili jedarnoj opni, odnosno jedru ćelija DLBCL direktno su povezani sa prediktivnim značajem i prognozom ishoda DLBCL.

CD10 predstavlja membranski proteinski kompleks označen kao neprilisin, odnosno membranski enzim metalo-endopeptidaza (MME), neutralna endopeptidaza. Poznat je i pod nazivom CALLA (eng. common acute lymphoblastic leukemia antigen). Pomenuti biomarker kodiran je od strane gena MME sa 3. para hromozoma. Treba pomenuti da je CD10 eksprimiran na nekim nehematopoeznim tkivima kao što su bubreg, ili u nekim nelimfoidnim tumorima. Na ćelijama B

1. Uvod

loze eksprimira se na nivou ranih progenitornih B ćelija (rani B, Pro B i pre B limfocita), zatim se povlači, a reekspirimira se u stadijumu antigen zavisne faze zrenja B limfocita u germinativnim centrima limfnih folikula. S toga je on biomarker germinativno ćelijskog porekla B limfocita. Od NHL koji redovno eksprimiraju CD10 biomarker treba pomenuti FL, BL i GCB-nalik tip DLBCL. Visoka ekspresija CD10 ima povoljan prognostički značaj saopšteno je u par studija (226, 227), ali ima i oprečnih saopštenja.

MUM1 (multipli mijelom onkogen 1) pripada familiji interferon regulatornih proteina tip 4 (IRF4). Često je označen kao IRF4/MUM1. Kodirajući gen je na 6p25–23 paru hromozoma. Uloga mu je da učestvuje u regulaciji nuklearne transkripcije i aktivaciji B limfocita. Eksprimira se u jedrima postgerminativnih limfocita i plazma ćelijama, kao izraz njihove maturacije. U grupi malignih bolesti eksprimiran je u DLBCL non-GCB nalik podtipa (63), multiplog mijeloma (228), HRS ćelija HL (229) i melanoma (228). U jednoj manjoj studiji MUM1 pokazao se kao nepovoljan prognostički parametar, s tim što su prikazani bolesnici bili lečeni samo hemioterapijom CHOP (230).

Bcl6 (eng. B-cell lymphoma 6) protein kodiran je od strane BCL6 gena na hromozomu 3q27. Predstavlja evoluciono konzervirani cink-finger transkripcioni faktor, koji deluje kao represor transkripcije gena koji su uključeni u limfocitnoj aktivaciji i diferencijaciji, kao i kontroli ćelijskog ciklusa. U tom smislu ekspresija bcl6 koči sazrevanje B limfocita (eng. maturation arrest) u njihovoj daljoj biološkoj putanji ka postgerminativnom statusu. Normalno je eksprimiran u B-limfocitima germinativnih centara limfnih folikula u periodu centroblastne faze zrenja, ali se kasnije isključuje. Zaostala ekspresija bcl6 prisutna je kod malignih tumora limfoidnog sistema koji su ukočeni u germinativno centarskoj fazi B limfocita, kao što su BL, FL i DLBCL. U slučaju ekspresije u DLBCL pronađeno je da je gen za bcl6 često translociran i hipermutiran (231). Visok nivo bcl6 ekspresije povezan je sa GCB imunofenotipom i marker je dobre prognoze, prema nekim studijama (227, 228).

1.2.8.3.2. Ekspresija bcl2 proteina

Bcl2 (eng. B-cell lymphoma 2) antiapoptotski protein kodiran je od strane BCL2 gena na 18. paru hromozoma koji je član velike familije ovih proteina sa ulogom u sprečavanju apoptoze (232, 233). Prvo otkriće bcl2 proteinske overekspresije bilo je kod FL koja je nastajala kao rezultat t(14;18). Kod DLBCL pronađeno je da je pomenuti tip overekspresije bcl2 proteina samo prisutan kod GCB tipa DLBCL, dok se kod non-GCB tipa DLBCL overekspresija ovog proteina dešava

1. Uvod

preko sasvim drugog mehanizma, pre svega preko aktivacije NFkB puta, o čemu je bilo reči u poglavlju (1.2.3.4.). Mehanizam apoptoze je fiziološki put homeostaze ćelije i odigrava se u kompleksnom sadejstvu brojnih signalnih kaskadnih puteva, čiji opis prevazilazi potrebe ovog poglavlja, ali ukratko se može reći da se završava aktivacijom kaspaze 9 koja lizira ćeliju (234). Značaj ekspresije bcl2 proteina kod DLBCL višestruko je ispitivan, ali su stalno saopštavani kontradiktorni podaci u vezi sa njegovim značajem. Studije starijeg datuma iz ere pre rituksimaba ukazivale su na negativni značaj overekspresije bcl2 proteina kod DLBCL (235,236). Studije nakon ere rituksimaba opet su vrlo kontradiktorne, Wilson i sar. nisu uspjeli da dokažu da bcl2 ima bilo kakvih uticaja na period bez progresije (PFS) i na ukupno preživljavanje (OS) bolesnika (237). Nyman i sar. analizirali su GCB/non-GCB, ekspresiju FOXP1 i bcl2 i pokazali su da je bez obzira na dodatak rituksimaba, bcl2 overekspresija imala uticaja kako na PFS tako i na OS. Smatra se da je ova razlika ostvarena na račun non-GCB podtipa (238).

1.2.8.3.3. Ekspresija drugih imunohistohemijskih biomarkera i algoritama

O lošem značaju ekspresije CD5 biomarkera bilo je govora u poglavlju (1.2.3.6.). Ekspresija CD30 biomarkera pokazala se u studiji Maesa i sar., kao povoljan prognostički parametar (239). U eri rituksimaba, Hu i sar. analizirali su značaj CD30 ekspresije kod (n=900) bolesnika sa *de novo* DLBCL i pokazali povoljan prognostički značaj njegove ekspresije kako u GCB tako i non-GCB podtipu DLBCL (240). O lošem značaju ekspresije ALK biomarkera već je pisano u poglavlju o ALK+ DLBCL (1.2.5.5). Ekspresija plazma ćelijskih markera CD138/CD38 takođe je opisana u poglavljima koja su razmatrala plazmablastne limfome i povezani su sa lošom prognozom i non-GCB podtipom DLBCL. Ekspresija CD43 antigena kod DLBCL nedovoljno je razjašnjena, ali ima saopštenja o njegovom lošem prognostičkom značaju kod bolesnika tretiranih konvencionalnom imunohemioterapijom (241). Proliferativni indeks Ki 67 govori u prilogu broja ćelija koje su proliferativnoj fazi, odnosno koje se aktivno dele. Rutinski se određuje u analizi tkiva DLBCL. Njegova prognostička značajnost dosta je ispitivana, ali su dobijani kontradiktorni rezultati. Nekoliko studija pokazalo je njegovu negativnu vrednost u smislu ukupnog preživljavanja i perioda do progresije bolesti (241, 242).

Nakon pojave Hansovog algoritma 2004. godine, definisan je veći broj algoritama kao što su Muris, Choi, Nyman, Visco-Young, Tilly i dr. Svi su proširivali paletu imunohistohemijskih biomarkera sa ciljem da što preciznije definišu i približe svoj surogat potencijal pravom profilu genske ekspresije. Bez obzira na to, ni danas nema konsenzusa koji od ovih algoritama je

1. Uvod

„najbolji“ za kliničku primenu, s toga i dalje ostaje Hansov algoritam kao jedan od najčešće upotrebljavanih u kliničkoj praksi i kliničkim studijama gde se GEP nije sprovodio (243).

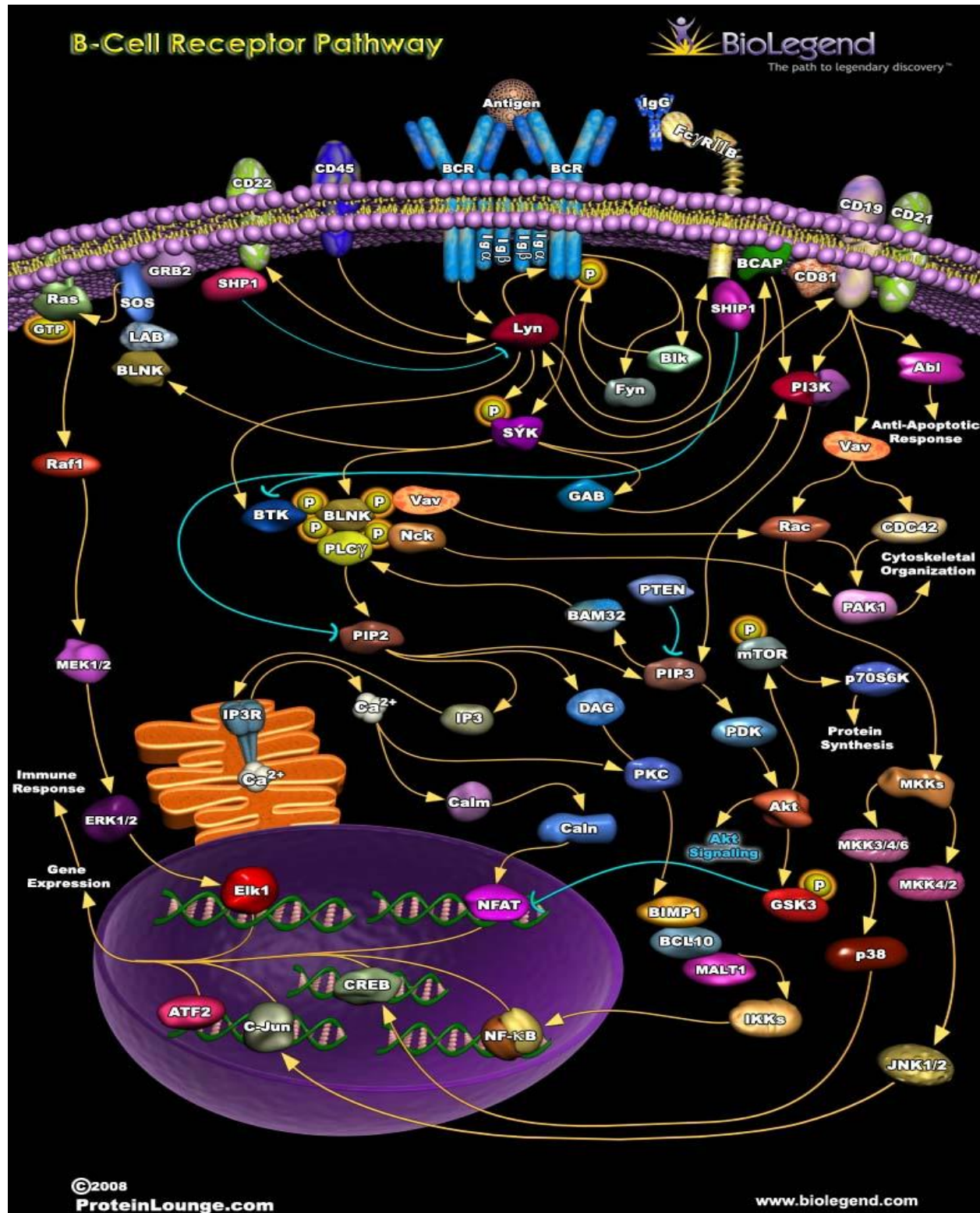
1.2.8.3.4. Biomolekularne i genomske karakteristike limfomskog klona i tumorske strome kao buduća smernica stratifikacije rizika u DLBCL

Sve je veći broj naučnih dokaza da je B ćelijski receptor (BCR) povezan sa patogenezom različitih B ćelijskih neoplazmi (244, 245). Rastući broj dokaza ide u prilog da antigen-nezavisna autonomna aktivacija BCR predstavlja ključni događaj u razvoju B ćelijskih neoplazmi (244, 246). S ovim u vezi postoji ogroman broj aktuelnih studija sa agensima koji utiču na BCR ćelijsku signalizaciju, pre svega primenom različitih inhibitora intracelularnih tirozin kinaza (Syk, Lyn, ZAP 70, PI3K i brojne druge), koje su u direktnoj vezi sa BCR i predstavljaju signalne kaskadne puteve unutar citozola B limfocita, koji se aktiviraju nakon aktivacije BCR, a u krajnjoj instanci dovode do uticaja na genom B ćelije utičući na ključne procese ćelijske proliferacije, preživljavanja, diferencijacije i maturacije. Ovi procesi su suštinski narušeni u limfomskoj ćeliji. Problem modulacije B ćelijske signalizacije je buduća smernica potpuno nove generacije terapijskih agenasa koji su u velikoj ekspanziji, o čemu će biti kratko reči u poglavlju o novim terapijskim agensima i aktuelnim kliničkim trajalima u tretmanu DLBCL. Na **slici 2** je prikazana trenutno aktuelna šema BCR i njegove intracelularne signalizacione organizacije. B limfocitni stimulator (BlyS), odnosno B ćelijski faktor aktivacije (eng. B-cell activating factor-BAFF) je solubilni plazma molekul koji pripada familji faktora tumorske nekroze (TNF). Fiziološki BAFF igra važnu ulogu u homeostazi B ćelija. Primećeno je da BAFF može imati ulogu u proliferaciji malignih B limfocita (247). BAFF se u organizmu vezuje za tri vrste receptora BAFF-R, TACI (eng. transmembrane activator and calcium modulator and cyclophylin ligand interactor) kao i za BCMA (eng. B-cell maturation antigen). Nakon vezivanja za svoje receptore intracelularni događaji su uglavnom vezani za aktivaciju NFkB signalnog puta koji je bitan za ćelijsko preživljavanje (povećana ekspresija bcl2), ili aktivacija puteva zavisnih od fosfatidil inozitol 3 kinaze (PI3K) i mTOR (eng. mammalian target of rapamycin) koji promovišu ćelijsku proliferaciju (BAFF-BAFF-R interakcija) (248). Treba pomenuti i da je otkriven još jedan solubilni plazma molekul APRIL (eng. A proliferation inducing ligand) koji se takođe vezuje za BCMA i TACI, a predstavlja TNF familijarni molekul. APRIL je visoko eksprimiran u brojnim malignim tumorima, između ostalog i u limfoproliferativnim neoplazmama (249). Pomenuti molekuli i njihovi receptori predmet su brojnih ispitivanja i nepoznanica, ali ono što je publikovano do sada govori u prilogu

1. Uvod

da je nivo koncentracije BAFF-a i APRIL-a povećan u bolesnika sa NHL u odnosu na zdravu populaciju (250) i da bolesnici sa visokim nivoom BAFF-a imaju lošiju prognozu (251). Ovi molekuli već su u fazi ispitivanja u smislu primene njihovih inhibitora monoklonalnim antitelima (belimumab, talamumab i dr.). Vaskularni endotelijalni faktor (VEGF) kao faktor vaskularne neoproliferacije je faktor koji nedvosmisleno utiče na održanje tumorske homeostaze i njegove progresije. Ekspresija VEGF detektovana je kod 42–60% slučajeva DLBCL (252). Nekoliko studija pokazalo je, u predkliničkim modelima da povećana ekspresija molekula (VEGFR1 i VEGF-A i C) korelira sa lošijom prognozom kod DLBCL (253, 254, 255). U novije vreme postoje sve jači dokazi da tumorska mikrokolina (stroma) i imunitet domaćina igraju važnu ulogu u limfomskoj progresiji (256). TME (eng. B-cell/plasma cell tumor microenvironment) pokazano je da značajno doprinosi malignoj transformaciji i patogenezi tumora u smislu bidirekcionih interakcija sa malignim ćelijama. TME utiče na tumorsku inicijaciju, progresiju u smislu ustaljene proliferacije i rasta, povećanja kapaciteta samoobnovljivosti limfomski ćelija, imunog izbegavanja, migracije i invazije, kao i rezistencije na ćelijsku smrt (257). U jednoj studiji koja se bavila izolovanjem CD19- ćelija izolovana su 2 genska potpisa (stromalni faktor 1 i 2). Nađeno je da stromalni faktor 1 doprinosi boljem ishodu tretmana, i da potiče najverovatnije makrofaga/monocit+/-mijeloidnih ćelija (258). Stromalni faktor 2 je korelirao sa većim obimom stromalne mikrovaskularizacije (eng. microvascular density-MVD) i bio je udružen sa lošijim ukupnim preživljavanjem. S obzirom na napred navedeno, čitava klasa lekova koji deluju na mikrokolinu, čiji mehanizam nije u potpunosti razjašnjen, ali najverovatnije deluju redukcijom neovaskularizacije, aktiviranjem imunog sistema, pre svega T ćelija i NK ćelija, imaju benefita u tretmanu DLBCL. Ovi agensi će biti komentarisani u poglavlju o trenutnim aktuelnim trajalima u tretmanu DLBCL. Veliki značaj u dolazećim vremenima imaće rastuća saznanja o epigenetskim poremećajima (metilacija, acetilacija i dr. histona), čije je ispitivanje u punom jeku kod DLBCL.

1. Uvod



Slika 2. Šematski prikaz BCR i njegove intracelularne signalizacije organizacije

1. Uvod

1.2.9. Tretman DLBCL

Smatra se da je kurabilnost DLBCL u današnjim uslovima u više od 50% bolesnika (259). Uvodna (indukciona) terapija koja godinama perzistira kao „zlatni standard” je R-CHOP na 21 dan razmaka. Za većinu bolesnika ovaj režim predstavlja odličan izbor, međutim, produbljivanjem znanja iz oblasti molekularne biologije DLBCL, kroz brojne kliničke studije, uvidelo se da pojedini bolesnici i podentiteti DLBCL nemaju podjednak benefit od pomenute terapije. S toga se intenzivno traga, pre svega za prediktivnim parametrima koji bi rano mogli da definišu optimalnu uvodnu terapiju za DLBCL kod individualnog bolesnika.

Klinički vodiči dati od strane „European School of Medical Oncology“ (ESMO) predstavljaju osnovnu smernicu za tretman i kliničko vođenje bolesnika obolelih od DLBCL na teritoriji Evropske Unije i zemalja koje njoj gravitiraju. Prema savremenim smernicama ESMO aktuelni tretman DLBCL sprovodi se stratifikacijom rizik faktora u odnosu na indekse prognoze (aaIPI, odnosno IPI skora), starosti bolesnika i izvodljivosti dozne intenzifikacije.

1.2.9.1. Potvrda superiornosti dodavanja rituksimaba tretmanu DLBCL

U MInT studiji (MabThera International Trial) koja je sprovedena na (n=824) bolesnika, prvi put je pokazan benefit od dodavanja rituksimaba konvencionalnoj indukcionoj hemioterapiji CHOP kod mladih bolesnika dobre prognoze (bolesnici od 18–60 godina, aaIPI skora 0-1, kliničkog stadijuma II-IV, i I sa „Bulky” volumenom). Bolesnici koji su primali hemioterapiju i rituksimab su imali produženo preživljavanje bez novog događaja (event free survival-EFS) u 3-godišnjem praćenju (79% vs 59%, $p < 0,0001$), i produženo 3-godišnje ukupno preživljavanje (overall survival-OS) (93% vs 84%, $p = 0,0001$) u odnosu na one koji su imali samo hemioterapiju bez dodavanja rituksimaba (260). Rezultati iste studije iz 2011. godine, pokazali su da je 6-godišnji EFS (74.3% vs 55.8%, $p < 0,0001$), bolji u korist rituksimab grupe. Multivarijantna analiza studije pokazala je da je EFS bio definisan izabranom grupom, prisustvom „Bulky” bolesti i aaIPI skorom, dok je OS bio definisan samo prisustvom „Bulky” bolesti i izabranom grupom ispitanika (261). Recher i sar. su ispitivali intenzivirani tip indukcione imunohemioterapije po R-ACVBP protokolu (doksorubicin, ciklofosamid, vindesin, bleomicin, prednizon i rituksimab) u odnosu na R-CHOP kod mladih bolesnika (18–59) godina sa aaIPI 1. Rezultati su pokazali da je u 44-mesečnom praćenju 3-godišnji EFS bio (81% vs 67%, $P = 0,0035$) u korist R-ACVBP grupe. Procenjeni period do progresije bolesti (progression free survival-PFS) je bio (87% vs 73%, $p = 0,0015$) i u OS (92% vs 84%, $p = 0,0071$) opet u korist R-ACVBP protokola. Ova francuska

1. Uvod

grupa autora koja je vršila studiju je pokazala da kod bolesnika sa niskim-intermedijernim rizikom u odnosu na IPI skor, R-ACVBP je superiornija kombinacija u odnosu na R-CHOP u svim ispitivanim parametrima (EFS, PFS i OS), s tim što je hematološka toksičnost bila veća, ali titrabilna (262). Na osnovu napred iznetog rituksimab, koji predstavlja prvu generaciju anti CD20 monoklonskih antitela, pridodat nekom od hemioterapijskih (CHOP, ACVBP ili dr.) režima predstavlja okosnicu aktuelne terapije DLBCL.

1.2.9.2. Tretman mladih bolesnika (18–60 godina) niskog rizika (aaIPI-0)

Prema aktuelno važećim ESMO kriterijumima bolesnici pomenute grupe treba da budu lečeni primenom 6 ciklusa R-CHOP imunohemioterapije u indukciji, bez dodavanja konsolidacione radioterapije, koja nema benefita u ovoj grupi [I,A] (260, 263).

1.2.9.3. Tretman mladih bolesnika (18–60 godina) niskog rizika (aaIPI-0) sa “Bulky” bolešću, ili aaIPI-1 bez „Bulky” bolesti

Rezultati već pomenute MInT studije su pokazali da primena R-CHOP 21 u 6 ciklusa uz dodatak radioterapije na mesta prethodne „Bulky” bolesti su standard lečenja ove supkategorije bolesnika (260). Alternativa može biti primena R-ACVBP 14 koja pokazuje poboljšano preživljavanje u poređenju sa R-CHOP 21 datih u 8 ciklusa, s tim što je u prezentovanoj studiji radioterapija bila izostavljena u obe grupe bolesnika (262). ESMO 2012 vodič preporučuje tretman sa 6 ciklusa R-CHOP + konsolidaciona radioterapija na prethodno „Bulky” mesto ili alternativno intenzivniji režim R-ACVBP bez dodatka konsolidacione radioterapije.

1.2.9.4. Tretman mladih bolesnika (18–60 godina) visokog rizika (aaIPI $\geq$ 2)

Ova supkategorija bolesnika predstavlja najveći izazov kliničarima koji se bave lečenjem DLBCL. Ne postoji optimalno definisan terapijski indukcionni protokol za ovu supkategoriju bolesnika i prema ESMO preporukama trebalo bi ih lečiti u okviru kliničkih trajala kad god je to izvodljivo. Većina centara u svetu ipak primenjuje inicijalno tretman sa standardnim R-CHOP 21 režimom 6-8 ciklusa. Pitanje primene visokodozne hemioterapije praćene autologom potporom matičnim ćelijama, još uvek je u domenu kliničkih studija faze II i u ovom momentu ne mogu se preporučiti kao standardni pristup u lečenju prve linije [II,C] (49).

1. Uvod

1.2.9.5. Tretman starijih bolesnika (od 60–80 godina)

Trenutni standard terapije u ovoj uzrasnoj kategoriji je primena CHOP hemioterapije sa rituksimabom datih na 21 dan razmaka (264). U poređenju sa R-CHOP 14 u odnosu na R-CHOP 21 nema dokaza o benefitu u preživljavanju, sem u povećanju toksičnih neželjenih efekata i većoj potrebi za transfuzijama eritrocita (265, 266). Postoje trajali koji pokazuju da ako se daje CHOP na 14 dana, rituksimab treba dodati bar još 2 ciklusa preko toga, da bi ih bilo ukupno 8 (267). Kod bolesnika sa lokalizovanom bolešću, konsolidacija radioterapijom nema dokazanog benefita u eri pre primene rituksimaba (268).

1.2.9.6. Tretman starijih bolesnika (> 80 godina)

Ovaj subset bolesnika predstavlja čestu populaciju, s obzirom na značajan skok incidence DLBCL sa starošću. Tretman izbora u indukciji je relativno sličan tretmanu prethodno razmatranih uzrasnih grupa, s tim što pitanje upotrebe antraciklina ostaje otvoreno, pre svega zbog učestalih komorbiditeta, u najvećem procentu kardiovaskularne prirode u ovoj uzrasnoj grupi bolesnika. Elektivni tretman u ovom momentu je primena hemioimunoterapije: CHOP sa rituksimabom. CHOP terapija može ići sa redukcijom doze doksorubicina na 25 mg/m^2 , kao mini-CHOP hemioterapija, ili eventualno izostavljanje antraciklina i njegova susptitucija sa lipozomalnim doksorubicinom ili etopozidom, ili bez njih kao CVP (COP) terapija. Pokazano je u studijama da kombinacija rituksimaba sa mini-CHOP terapijom može indukovati dugotrajne kompletne remisije i dugo preživljavanje u bolesnika starijih od 80 godina bez komorbiditeta (269). Terapija se može započeti antraciklinima, a u slučaju loše tolerancije oni se mogu kasnije izostaviti. S obzirom da je već pokazano da je bendamustin sa rituksimabom podjednako efikasan kao i CHOP, a da je praćen nižom toksičnošću, logično se postavlja mogućnost da ovaj tretman može biti modalitet lečenja ove subpopulacije bolesnika.

1.2.9.7. CNS profilaksa

Pokazalo se da pojedini bolesnici sa specifičnom ekstrapodalnom lokalizacijom DLBCL, pogotovo sa ≥ 1 mesta ekstrapodalne zahvaćenosti, visokim IPI skorom (≥ 2), povišenim vrednostima LDH, imaju veći rizik od relapsa bolesti u CNS (270). Testikularni DLBCL obavezno treba da prime CNS profilaksu. Neka specifična ekstrapodalna mesta (DLBCL paranazalnih sinusa, gornjeg dela vrata ili infiltracija koštane srži) su tradicionalno smatrana, kao stanja gde je neophodna CNS profilaksa, ali prema najnovijim shvatanjima nema eksplicitnih dokaza o redukciji rizika za relaps u ovim situacijama (271). Način sprovođenja profilakse može biti davanje metotreksata

1. Uvod

intratekalno, kako se to radilo godinama, međutim danas se smatra da to nije optimalna metoda. Intravenska primena visokodoznog metotreksata udružena sa efektivnom kontrolom bolesti može predstavljati jednu od interesantnih alternativa (272, 273).

1.2.9.8. Tretman pojedinih formi DLBCL koji zahtevaju posebno razmatranje

Elektivni tretman za najveći broj slučajeva DLBCL je jasno definisan dugogodišnji "zlatni standard" R-CHOP. Pojedine lokalizacije ili forme DLBCL ipak zahtevaju drugačiji terapijski pristup u odnosu na standardni R-CHOP.

PMLBCL je poseban tip DLBCL za koji R-CHOP 21 najverovatnije nije optimalan tretman. Brojni centri i dalje primenjuju pomenuti režim uz dodatak konsolidacione radioterapije, ukoliko se postigne CR, čija je dodatna primena takođe predmet kontroverzi. Najveći broj publikovanih trajala iz oblasti PMLBCL su retrospektivnog karaktera sa saopštenjima koja ne daju jasnu distinkciju koji od ispitivanih protokola ima najoptimalniji benefit po bolesnike, jer nema statističke značajnosti u preživljavanju pri poređenju protokola R-CHOP sa protokolima tzv. treće generacije (R-MACOP-B, R-VACOP-B). Jedna od najvećih retrospektivnih studija publikovana od strane „British Columbia” centra na (n=153) bolesnika je navodno uočila trend boljeg ishoda sa agresivnijim protokolima pomenute treće generacije, ali samo u ORR (274). Po saopštenjima Dunleavy i sar. koji su sprovedi prospektivnu studiju faze II na (n=51) bolesnika, pokazalo se da je primenom indukciono terapije po visokodoznom režimu DA-EPOCH-R [dose adjusted-(džno prilagođeni)-etopozid, prednison, vinkristin, ciklofosfamid i doksorubicin + rituksimab], ORR bio 97%, sa CR postignutom u 93% što je znatno više u odnosu na R-CHOP, gde je ORR nešto preko 80%, a stopa CR se kreće oko 80%, i da nakon primene ovog režima nije potrebno konsolidovati bolesnike dodatnom radioterapijom medijastinuma (275). Iako primarno smatran limfomom loše prognoze i ishoda, danas se može reći da mu je ishod lečenja u rangu sa klasičnom DLBCL, NOS, ako ne čak i nešto bolji, po zaključku pomenutog prospektivnog trajala. Najverovatnije da pomenuti indukcioni protokol nudi bolje i kvalitetnije postizanje remisije, čime najverovatnije utiče i na ukupni OS, što ostaje da se proveriti u većim randomizovanim studijama faze III. Autor sa saradnicima ističe DA-EPOCH-R, kao novi elektivni tretman za PMLBCL.

Primarni CNS-DLBCL se tretira lekovima koji bolje prolaze hematoencefalnu barijeru i trenutni standard lečenja sa kurativnom intencijom je „De Angelis” režim (visoke doze citarabina i metotreksata u 4 konsektivna ciklusa, praćenih konsolidacionom radioterapijom mozga). U

1. Uvod

slučaju lošeg performans statusa, primenjuju se visoke doze deksametazona sa radioterapijom mozga čiji je ukupni efekat palijativan.

Primarni testikularni DLBCL zahteva posebno terapijsko razmatranje zbog značajno povećanog rizika od ektranodalnog, CNS relapsa i relapsa u kontraateralni testis sa lošim ukupnim ishodom (276). U lokalizovanoj formi bolesti (stadijum I i II), koja je i najčešća, standardizovani tretman predstavlja R-CHOP 21 sa CNS profilaksom bilo kao intratekalnom ili interkaliranim visokodoznim metotreksatom datim intravenski, ili primenom oba načina u isto vreme sa profilaktičkom iradijacijom kontralateralnog testisa (277).

Primarni koštani limfomi mogu imati multiple relapse, postoje saopštenja da bendamustin sa rituksimabom može prevazići refraktarnost u relapsu nakon primene standardne R-CHOP indukcije (278).

HIV-asocirani DLBCL najčešće imaju plazmablastnu morfologiju, agresivan i brz klinički tok. Primena HAART (eng. high active antiretroviral therapy), jedina je opcija koja pruža benefit, dok optimalna antilimfomska terapija nije definisana i najčešće ako se primeni ima samo kratkotrajan palijativan efekat. Opisane su i kraće ili duže remisije. Najveći broj bolesnika biva lečen palijativno uz maksimalnu suportivnu negu.

Limfomi koji nose visok molekularni rizik (DH, TH limfomi) zahtevaju potpuno drugačije sagledavanje. Iako metode molekularne biologije nisu u ovom momentu postale rutinski dijagnostički standard, pre svega zbog visoke cene koštanja, definitivno kod DLBCL, NOS ili drugog tipa koji nose DH ili TH genski ekspresioni profil, R-CHOP terapija nema nikakvog benefita i nije elektivna terapijska opcija u indukciji (279). Najnoviji radovi koji su razmatrali kinesku populaciju bolesnika sa pomenutim tipovima limfoma navode ista saznanja (280). Izbor tretmana je u domenu klinički kontrolisanih studija sa nedefinisanim ishodom koji su još uvek u fazi ispitivanja.

1. Uvod

1.2.10. Evaluacija odgovora nakon tretmana DLBCL

Nakon početka indukcijske imunohemioterapije, odnosno tretmana bolesnika sa nekom od formi DLBCL, radiološki testovi bi trebali da budu ponovljeni posle trećeg, ili četvrtog ciklusa tretmana (49) (ranije se smatralo posle svakog parnog ciklusa). Biopsija koštane srži koja je se radi inicijalno u stadiranju bolesti, treba da se ponovi posle završetka tretmana samo ako je inicijalno nalaz bio pozitivan (281). Rana primena PET/CT evaluacije nakon prvog do četvrtog ciklusa indukcije, može imati prediktivnu vrednost na ukupan terapijski odgovor, pokazano je u par publikovanih studija, ali nisu sve studije sa istim zaključkom (49). Definitivno je jasno da se PET/CT snažno preporučuje u evaluaciji potvrde kompletne remisije, u saglasnosti sa revidiranim kriterijumima odgovora nakon završene indukcijske imunohemioterapije (281).

1.2.10.1. Praćenje remisije DLBCL

Nakon završene indukcijske imunohemioterapije, i postignute remisije bolesti, nastavlja se sa redovnim kontrolama bolesnika (eng. follow-up). Ne postoje jasno definisani algoritmi praćenja, koji imaju utemeljenja u medicini baziranoj na dokazima, ali se po nekakvom ustaljenom onkološkom principu kontrole sprovode na 3 meseca u prvoj godini nakon lečenja, a onda na 6 meseci naredne 2 godine, a posle 3. godine, praćenje se nastavlja jednom godišnje. Ovo praćenje je neophodno ne samo radi očekivanja eventualnog relapsa bolesti, nego i zbog ranih ili kasnih posledica primenjenog lečenja (imunohemioterapija±radioterapija). Ovakav princip praćenja dat je u zadnjem vodiču ESMO preporuka za DLBCL (49). Za kontrolni pregled neophodna je krvna slika i LDH kao minimum obrade. Minimalni nivo radioloških pretraga je primena CT skena na 6, 12 i 24 meseca nakon završetka terapijskog tretmana. Ovakva rutinska pretraga je bez jasnih dokaza o kliničkom benefitu (271, 282). Rutinska primena PET/CT u kontrolama nije preporučena (49). Bolesnici visokog rizika sa kurativnim potencijalom i intencijom mogu imati eventualni benefit od češćih kontrola (49).

1.2.11. Relaps/refraktarni oblik DLBCL (R/R DLBCL)

Uprkos ukupnom napretku u ishodu lečenja DLBCL, približno trećina bolesnika će razviti R/R DLBCL koji ostaje glavni uzrok morbiditeta i mortaliteta (283). Osnovni pristup u takvim situacijama je primena „salvage” (spašavajuće) terapije, uglavnom bazirane na nekim od platinskih protokola, odnosno protokola koji nemaju ukrštenu rezistenciju sa primarnim. Princip je prvo definisati o kakvom tipu relapsa se radi (ranom ili kasnom), a nakon toga jasno definisati terapijski cilj (izlečiti bolesnika ili lečiti palijativno sa maksimalnom podržavajućom negom). Rani relaps

1. Uvod

podrazumeva povratak bolesti unutar 12 meseci od postignute CR, najbolje procenjenom PET/CT metodom i predstavlja najveći izazov kliničarima, jer *de facto* predstavlja bolest koja ima refraktaran karakter. Kasni relaps je povratak bolesti nakon perioda od 12 meseci i duže, kada bi bilo poželjno uraditi ponovnu biopsiju, pre svega radi definisanja statusa CD20 ekspresije, a manje zbog očekivanja eventualne druge patohistološke dijagnoze.

Prema zadnjem publikovanom ESMO 2012 vodiču kod transplantaciono podobnih bolesnika moguća je primena „debulking” procedure nekim od salvage protokola sa rituksimabom: R–DHAP (rituksimab, visoke doze deksametazona, cisplatin i citarabin) ili R–ICE (rituksimab, ifosfamid, karboplatin, etopozid), pri čemu nema dokaza koji od ova dva protokola nosi veći benefit (284). U slučaju senzitivne bolesti, nakon toga sledi primena visokodozne hemioterapije. Najčešće korišćeni kondicioni režim je BEAM (BCNU, etopozid, melfalan, citarabin) praćen autologom potporom matičnim ćelijama hematopoeze (auto–SCT). Ovakav pristup ima visok nivo dokaza i preporuka [II A] kod bolesnika koji su transplantaciono podobni (imaju dobar performans status, nemaju značajnije disfunkcije vitalnih organa, i u dobi su < 65–70 godina (285, 286). Eventualni benefit od primene R–DHAP režima u slučaju relapsa GCB nalik tipa DLBCL treba još uvek da se razjasni u budućim prospektivnim randomizovanim trajalima, mada ima potvrde u Bio-CORAL studiji da R/R DLBCL GCB nalik tipa imaju bolji ORR (287). Nakon eventualnog drugog relapsa posle auto-SCT, ili ranog relapsa, odnosno primarno refraktarne bolesti može se primeniti allo–SCT kao opcija (288). Primena ovakvog načina lečenja sa sobom nosi visok rizik od mortaliteta vezanog za proceduru. Moguća je primena metode redukovano intenziteta kondicioniranja (RIC) u kategorijama vulnerabilnijih ili starijih bolesnika nižeg performans statusa. Bolesnici primarno refraktarni mogu biti podvrgnuti „debulking” proceduri primenom auto-SCT, a nakon toga primenom allo–SCT kao tandem procedure. Rizik transplantacionog mortaliteta je visok u ovakvim slučajevima i ovakav način lečenja rezervisan je za visoko razvijene centre sa iskustvom i potrebnom pratećom infrastrukturom. U slučaju bolesnika nepodobnih za visokodozne i transplantacione procedure ponuđena mogućnost je primena "salvage" režima sa gemcitabinom, npr. R-GEMOX (rituksimab, gemcitabin, oksaliplatin) koji se može kombinovati sa tzv. „involved field” iradijacijom (IFRT) (288). Dva agensa, piksantron (antracenoid niže kardiotoksičnosti od svog parnjaka mitoksantrona) i lipozomalna formulacija vinkristina mogu biti interesantna opcija u "salvage" tretmanu kod pretretiranih bolesnika sa agresivnim NHL (289, 290). Opciona solucija je

1. Uvod

uključenje bolesnika u neki od dostupnih, tekućih studija sa novim, inovativnim lekovima o kojima će biti reči u sledećem podnaslovu.

1.2.12. Trenutno aktuelni klinički trajali u *de novo* i R/R DLBCL

Brojni klinički trajali koji se sprovode u cilju iznalaženja što rafiniranijeg načina lečenja i pristupa pacijentima sa *de novo* DLBCL su u značajnoj ekspanziji. „Zlatni standard” R-CHOP i dalje perzistira kao elektivni tretman, iako je posve jasno da nije optimalan pristup u pojedinim molekularnim i kliničkim podgrupama DLBCL. Poređenje R-CHOP 14 sa R-CHOP 21 u nekim od zadnjih saopštenja nisu našli razliku između „dose-density”, odnosno protokola dozne gustine, i godinama standardizovanog 21-dnevnog režima. Cunningham i sar. publikovali su rezultate svog trajala na grupi od (n=1080) bolesnika, godišta ≥ 18 godina, sa *de novo* DLBCL, stadijuma „Bulky” IA do IV. Grupe su bile dobro balansirane (n=540) je primalo R-CHOP 21 i (n=540) R-CHOP 14. Srednje vreme praćenja je bilo 46 meseci (raspon 35–57 meseci). Rezultati su pokazali da je 2-godišnji OS bio 82.7% u R-CHOP 14 grupi, a u grupi R-CHOP 21 80.8% (HR 0,90; 95% CI 0,7–1,15; p=0,3763). Visok IPI skor, loše prognostičke molekularne karakteristike i ćelijsko poreklo nije bilo prediktivno za benefit. Zaključak je bio da R-CHOP 14 nije superiorniji u odnosu na R-CHOP 21 u prethodno ne tretiranih bolesnika sa DLBCL, iz tog razloga R-CHOP 21 se i dalje može smatrati standardom. U ispitivanim grupama se pokazalo da molekularne karakteristike uopšte nisu uticale na ishod dozno intenzifikovanog protokola (291). Agresivniji režimi kao što je R-EPOCH, koji po Dunleavyju i sar. predstavlja opcioni protokol za PMLBCL, je ispitivan od strane Yanga i sar. na (n=39) bolesnika u *de novo* DLBCL, NOS bolesnika, sa medijanom starosti od 52 godine (24 bolesnika su bila u stadijumu I/II, a 15 u III/IV stadijumu). Niži stadijumi su primili 4–6 ciklusa, a uznapredovalije forme 6–8 ciklusa. Medijana praćenja je bila 57,7 meseci. U 1-godišnjem preživljavanju stopa je iznosila 81,8%, u 3-godišnjem 70,9%, a u 5-godišnjem 58,8%. Profil toksičnosti je bio srednjeg stepena, bez indukcione smrtnosti. Zaključak studije je da je R-EPOCH efikasan i bezbedan u bolesnika sa DLBCL (292). Dalja ispitivanja su neophodna radi evaluacije prognostičkih grupa koje bi posebno imale benefit od ove vrste terapije. Faza Ib studije ispitivala je Bruton tirozin kinazni inhibitor (BTK) ibrutinib sa standardnim R-CHOP imunohemioterapijom u bolesnika ≥ 18 godina, sa *de novo* DLBCL. Cilj studije bio je optimizacija doze ibrutiniba. Tri kategorije bolesnika razmatrane su sa doznom eskalacijom od: 280 mg, 420 mg do 560 mg u kombinaciji sa R-CHOP 21. Uključeno je bilo (n=33) bolesnika, a (n=32) su evaluirana. U fazi II studije je pokazano da maksimalna doza nije dostignuta i bila je preporučena

1. Uvod

doza od 560 mg. Svih (n=32) bolesnika imalo je klinički odgovor. Zaključak trajala je da dodavanje ibrutiniba R-CHOP 21 indukcionoj terapiji može poboljšati ishod lečenja, ali su rezultati preuranjeni i neophodna je potvrda pravog kliničkog značaja u narednoj fazi III studije (293). U populaciji bolesnika 60–80 godina sprovedena je studija faze II sa dodatkom lenalidomida R-CHOP 21 standardnoj indukcionoj terapiji. Uključeno je bilo (n=49) bolesnika netretiranih sa CD20+ DLBCL, svih IPI skorova, ECOG 0–2. Doze lenalidomida bile su 15 mg dnevno 14 konsektivnih dana sa 6 ciklusa R-CHOP 21. Rezultati su pokazali da je 45 bolesnika (92%) odgovorilo na tretman [42 (86%) postiglo je CR, 3 (6%) PR, 3 nisu odgovorili (6%), a 1 (2%) je umro, ali od drugih razloga nevezanih za terapiju]. Bezbedonosni profil bio je umeren bez gradusa 4 neutropenije i smrtnosti u indukciji. Zaključak studije je da je lenalidomid sa R-CHOP 21 indukcionom terapijom efikasan i siguran u starijih bolesnika sa netretiranim DLBCL (294). U fazi II studije Nowakowskiog i sar. pokazano je na (n=60) evaluabilnih bolesnika da dodatak 25 mg lenalidomida 10 dana R-CHOP 6 ciklusa indukcionoj terapiji, može prevazići negativni prognostički značaj non-GCB imunofenotipa DLBCL (295). Finalni rezultati MAIN studije definitivno su pokazali da dodavanje bevacizumaba standardnoj R-CHOP indukcionoj terapiji nije rezultiralo u podizanju efikasnosti terapije, a povećalo je broj kardioloških događaja u smislu značajnijeg pada ejekcione frakcije leve komore u bevacizumab grupi (18% vs 8%, OR 2,51) i češćoj pojavi kongestivne srčane insuficijencije (16% vs 7%, OR 2,79) (296). Ovi nalazi praktično isključuju bevacizumab iz daljeg razmatranja kao novog terapijskog agensa u tretmanu DLBCL. Dodavanje epratuzumaba (anti CD22 monoklonskog antitela) indukcionoj R-CHOP terapiji kao ER-CHOP tretman ispitan je u fazi II studije kod *de novo* DLBCL bolesnika. Uključeno je bilo (n=107) bolesnika, a doza epratuzumaba bila je 360 mg/m² intravenski u 6 ciklusa. Toksičnost bila je slična kao kod R-CHOP terapije. Ukupni odgovor bio je 96% (74% CR/CRu) u 81 evaluabilnih bolesnika. Zaključak je bio da ER-CHOP ima dobru tolerabilnost i da u poređenju sa kontrolnom grupom od (n=215) tretiranih standardnom R-CHOP terapijom pokazuju obećavajuće rezultate (297).

Klinički trajali koji se aktuelno sprovode u tretmanu R/R DLBCL su brojni, obzirom da tretman bolesti u fazi izmicanja kontroli dostupnim terapijskim opcijama predstavlja najveći izazov kliničarima. Broj trajala koji su u opticaju je preobiman i povećava se neprekidno, stalno uključujući novije klase medikamenata. Pomenućemo samo neke sa izvesnim preliminarnim rezultatima. Saopšteni su rezultati aktivnosti sledećih agenasa: bendamustina u kombinaciji sa

1. Uvod

rituksimabom, novija anti CD20 monoklonska antitela koja targetuju druge epitope ovog receptora ili su dobijena glikoinženjerskim postupcima (ofatumumab, obinutuzumab, veltuzumab), već pomenuto anti CD22 antitelo (epratuzumab), zatim anti CD40 antitelo (dacetuzumab), anti CD19 i CD3 (blinatumumab), inhibitor citotoksičnog T limfocitnog antigena 4 (ipilimumab), konjugati sa antitelima na CD22 receptor (inotuzumab ozogamicin), mTOR inhibitori (temsirolimus, everolimus), proteazomni inhibitori (bortezomib, karfilzomib), histon-deacetilazni inhibitori (HDAC) inhibitori (vorinostat), imunomodulatorni (IMiD) lekovi (lenalidomid), pomenuti BTK inhibitor (ibrutinib), inhibitor slezinske kinaze (Syk) kao što je fostamatinib i drugi, inhibitori PI3K puta (idelalisib) i drugi (298–310).

2. Problem, predmet i ciljevi istraživanja

2.1. Pregled problema i predmeta istraživanja

Značaj imunohistohemijske ekspresije biomarkera bcl2, bcl6, CD10 i MUM1 višestruko je ispitivan u brojnim studijama, najčešće u smislu njihovog prognostičkog značaja sa heterogenim rezultatima u zavisnosti od publikovanih studija. Najveći broj dobijenih podataka o značaju biomarkera odnose se na period pre ere primene rituksimaba, dok su analize nakon uvođenja rituksimaba manje zastupljene i dobijeni rezultati su kontradiktorni. Pitanje da li rituksimab zaista ima sposobnost ukidanja negativne prediktivne vrednosti ekspresije pojedinih biomarkera ili algoritama, ostaje otvoreno, s toga se u ovoj prospektivnoj studiji analizira značaj biomarkera u eri nakon uvođenja rituksimaba u terapiju DLBCL. Traganje za odgovorom da li biomarkeri samostalno ili u korelaciji sa biohemijskim, kliničkim parametrima ili skorovima/indeksima prognoze mogu imati prediktivnu moć u odnosu na terapijski odgovor, rizik od smrtnog ishoda i dužine trajanja PFS su osnovni problem kojim će se baviti ova studija. Analiza odnosa biomarkera sa novijim skorovima/indeksima prognoze (NCCN-IPI), gde još uvek ima malo publikovanih rezultata, predstavlja oblast onkologije gde još uvek nema dovoljno saznanja. Metode molekularnih analiza (genski ekspresioni profil) predstavljaju još uvek skup i relativno nedostupan metod za širu primenu. S toga širenje palete ispitivanih imunohistohemijskih biomarkera i iznalaženje formula za njihovu što prisniju korelaciju sa pravim genskim profilom može biti jedna od opcija za kliničku primenu prognostičke stratifikacije bolesnika sa DLBCL. U tom smislu metode „ukrštanjem“ biomarkera sa kliničkim parametrima mogu imati svoju značajnu ulogu, do momenta kada će metode molekularnog profiliranja DLBCL postati rutinska praksa.

Predmet ovog istraživanja bio je da se analizira prediktivan značaj pomenutih imunohistohemijskih biomarkera, pojedinačno i grupno po Hansovom i Murisovom algoritmu (skoru), kao i supkategorijska analiza biomarkera po Hansovom algoritmu i korelacija sa biohemijskim, kliničkim parametrima, i skorovima/indeksima prognoze u cilju sagledavanja njihove prediktivne vrednosti na terapijski odgovor, rizika od smrtnog ishoda i dužine trajanja PFS, u eri primene imunohemioterapije. Poseban značaj ove studije se ogleda u analizi međuzavisnosti pomenutih imunohistohemijskih biomarkera sa, u ovom momentu, novim NCCN-IPI skorom.

2. Problem, predmet i ciljevi istraživanja

2.2. Ciljevi istraživanja

- Odrediti učestalost imunohistohemijske ekspresije pojedinačnih biomarkera (bcl2, bcl6, CD10 i MUM1), po Hansovom algoritmu (GCB i non-GCB podtipova), zatim po Murisovom algoritmu (skoru) (tip 1 i 2) i supkategorijske ekspresije biomarkera po Hansovom algoritmu u analiziranoj populaciji bolesnika
- Ispitati prediktivni značaj imunohistohemijske ekspresije pojedinačnih biomarkera, njihovih kombinacija po Hansovom algoritmu, Murisovom skoru, kao i supkategorijske analize kombinacija biomarkera po Hansovom algoritmu sa terapijskim odgovorom, rizikom od smrtnog ishoda i dužinom trajanja PFS u analiziranoj populaciji bolesnika
- Ispitati prediktivni značaj biohemijskih parametara (nivo LDH, albumina, hemoglobina i beta 2 mikroglobulina), kliničkih parametara (prisustvo B simptoma, „Bulky” bolesti, nodalne/ ektranodalne prezentacije DLBCL, Ann Arbor kliničkog stadijuma, ECOG PS i prisustva infiltracije koštane srži) i skorova/indeksa prognoze (aaIPI, IPI, R-IPI, NCCN-IPI) na terapijski odgovor, rizik od smrtnog ishoda i dužinu trajanja PFS u analiziranoj populaciji bolesnika
- Ispitati prediktivni značaj korelacije imunohistohemijskih biomarkera (pojedinačno, po Hansovom algoritmu, Murisovom skoru i supkategorijske analize kombinacija biomarkera po Hansovom algoritmu) sa navedenim biohemijskim, kliničkim parametrima i sa skorovima/ indeksima prognoze u odnosu na terapijski odgovor, rizik od smrtnog ishoda i dužinu trajanja PFS u analiziranoj populaciji bolesnika

3. Hipoteze istraživanja

- Bolesnici koji su CD10+, bcl6+ i MUM1- imaju bolji odgovor na terapiju i duži period PFS
- Bolesnici koji su bcl2+ imaju kraći period PFS, dok je bcl2+ manje značajan za odgovor na primenjenu terapiju
- Supkategorijska analiza biomarkerskih kombinacija CD10, MUM1 i bcl6 je povezana sa različitim prediktivnim i prognostičkim potencijalom
- Bolesnici sa Murisovim algoritmom (skorom) tipa 2 lošije odgovaraju na primenjenu imunohemioterapiju i imaju kraći period PFS
- Bolesnici sa visokim LDH, niskim albuminima, niskim hemoglobinom, prisustvom B simptoma, „Bulky” bolešću, visokim Ann Arbor kliničkim stadijumom, i visokim skorovima/indeksima prognoze imaju lošiji odgovor na primenjenu terapiju, veći rizik od smrtnog ishoda i kraći period trajanja PFS

4. Materijali i metode

4.1. Bolesnici i dijagnoza

Ova prospektivna studija sprovedena je na grupi od (n=80) odraslih bolesnika sa patohistološki i imunohistohemijski verifikovanom dijagnozom *de novo* DLBCL. U našu studiju uključivani su bolesnici sa postavljenom dijagnozom DLBCL na osnovu aktuelno važeće klasifikacije WHO 2008, u nekom od referentnih centara/instituta za patologiju Srbije (centra za patologiju KC Niš, patologije VMA Beograd, KC Srbije, ili Instituta za onkologiju Vojvodine, jedan nalaz je iz patološkog instituta iz Kardifa). Nije bilo centralne revizije patohistoloških nalaza. Period uključenja u studiju bio je od aprila 2009. do oktobra 2014. godine. Presek stanja načinjen je januara 2015. godine. Kriterijumi uključenja u studiju podrazumevali su da su svi evaluirani bolesnici morali imati postavljenu dijagnozu DLBCL na osnovu klasične hematoksilin-eozin metode bojenja tkiva (HE) (biopsirani limfni nodusi, ektranodalni infiltrati ili operativni materijal kod nekih vrsta ektranodalnih formi DLBCL). Nakon toga su bolesnici morali imati minimum imunohistohemijske obrade tumorskog tkiva sledećim biomarkerima: CD20, CD10, bcl2, bcl6, MUM1, i Ki 67 proliferativni indeks iskazan u procentima. Uključeni su bili bolesnici ECOG PS 0–3, sa nodalnom ili ektranodalnom prezentacijom DLBCL, svih Ann Arbor kliničkih stadijuma (I–IV). Prognostički skorovi: aaIPI (bolesnici od 18–60 godina), IPI (> 60 godina), R-IPI i NCCN-IPI kao indeksi prognoze su bili kalkulisani za sve uključene bolesnike i evaluirani su bolesnici svih skorova. Svi bolesnici su imali kompletnu hematološku i biohemijsku obradu, uz obavezne sledeće parametre: hemoglobin, albumine, beta 2 mikroglobulin i LDH. U studiji su analizirani sledeći klinički parametri: prisustvo B simptoma, prisustvo „Bulky” bolesti, ektranodalni, nodalni oblik bolesti, Ann Arbor klinički stadijum, ECOG PS i status koštane srži. Svi bolesnici su stadirani i lečeni u stacionarnom delu Klinike za onkologiju u Knez selu, Kliničkog Centra u Nišu. Klinički podaci prikupljani su iz istorija bolesti (kompletna laboratorijska dokumentacija, patohistološki izveštaji, dekurzusi napravljeni nakon prikupljenih svih nalaza). Svi uključeni bolesnici su imali potpisanu pisanu saglasnost za pristanak na sprovođenje medicinskih procedura dijagnostike i lečenja.

Kriterijumi isključenja iz studije su bili: nepotpuna dokumentacija u odnosu na zahtevane parametre, imunoreaktivnost na HIV i ECOG PS 4.

4. Materijali i metode

4.2. Tretman bolesnika

Ukupno 77/80 (96,25%) bolesnika primili su imunoterapiju na 21 dan razmaka, po standardnoj šemi (rituksimab 375mg/m²), uz primenu nekih od hemioterapijskih protokola: CHOP-21 primilo je 66 (85,71%) bolesnika, CVP-21 primilo je 8 (10,39%) bolesnika i (dozno prilagođen) DA-EPOCH primilo je 3 (3,90%) bolesnika. Preostala 3 (3,75%) bolesnika primili su samo hemioterapiju bez dodatka rituksimaba. Od toga 2 bolesnika primala su CHOP hemioterapiju: jedan bolesnik imao je CD20- DLBCL anaplastični tip, drugi je primio hitno terapiju pre administrativne odluke o primeni rituksimaba i zbog lošeg ECOG PS nije ušao u dalju primenu rituksimaba, treći bolesnik primao je HD Mtx/HD citarabine, „De Angelis“ protokol, zbog primarnog CNS DLBCL. Bolesnici sa inicijalnom „Bulky” bolešću (definisani kao limfomska masa ili konglomerati limfnih nodusa ≥ 7 cm) ili DLBCL sa pojedinim ektranodalnim lokalizacijama primali su i dodatnu radioterapiju ukoliko su postizali kompletnu ili parcijalnu remisiju. Neki od bolesnika imali su primarnu hiruršku eksciziju ektranodalnog limfoma pre početka sprovođenja sistemskog lečenja (n=9) bolesnika, od toga (n=1) sa ekstirpacijom primarnog CNS limfoma, (n=1) sa hemikastracijom zbog primarnog limfoma testisa, (n=2) sa hemikolektomijom zbog primarnog DLBCL kolona i ostalih (n=4) sa totalnom gastrektomijom zbog primarnog DLBCL želuca. Kod (n=14) bolesnika je primenjivana dodatna terapija do postizanja kompletne remisije. Od toga kod (n=5) bolesnika primenjena je visokodozna hemioterapija sa autologom potporom u prvoj liniji lečenja, (n=2) bolesnika iz navedene grupe imalo je progresivnu bolest bez obzira na proceduru i umrlo, a kod (n=3) bolest je bila senzitivna i uvedeni su u kompletnu remisiju nakon procedure koja se održavala do datuma preseka stanja. Praćenje bolesnika bilo je do 01. januara 2015. godine, kada je načinjen presek stanja. Procena terapijskog odgovora vršena je MSCT-om kod (n=15) bolesnika, u periodu pre primene PET/CT u Srbiji i (n=39) bolesnika PET/CT-om. Umrli bolesnici (n=24) su procenjivani uglavnom MSCT-om, jer su progredirali tokom primene terapije i nije bilo razloga za PET/CT procenom. Odgovor na terapiju definisan je kao kompletna remisija, parcijalna remisija ili progresivna bolest, na osnovu definisanih kriterijumima stadiranja terapijskog odgovora kod DLBCL. Procena terapijskog odgovora vršena je pre primene bilo konsolidacione ili palijativne radioterapije, sekundarne linije hemioterapije ili primene visokodozne hemioterapije praćene autologom potporom, tako da je odgovor na terapiju računat samo u odnosu na prvu liniju terapije. Bolesnici koji su nakon svih dodatnih terapija postigli kompletnu remisiju uračunati su

4. Materijali i metode

kao bolesnici sa kompletnom remisijom, jer su *de facto* i imali senzitivnu bolest, (n=3) bolesnika. Bolesnicima kod kojih je lečenje bilo još u toku, tokom preseka stanja (n=2) bolesnika, primili su minimum 3 ciklusa indukcijske terapije, te je načinjena procena odgovora po standardnom protokolu (MSCT) i bili su responderi na terapiju. Iz tog razloga uračunati su kao bolesnici sa parcijalnom remisijom bolesti. Period PFS meren je od datuma postavljanja dijagnoze DLBCL, i početka indukcijske terapije do datuma zabeležene progresije bolesti, odnosno do datume preseka stanja. Bolesnici kod kojih je lečenje još uvek trajalo do datuma preseka stanja PFS vreme prikazano je kao 0.

4.3. Standardne patohistološke metode

Biopsijski ili operativni materijal je nakon hirurške ekstirpacije ili operacije dostavljan u navedene ustanove za patologiju u 10% puferisanom formalinu. Uzorci su opisivani makroskopski, uzimani su isečci i fiksirani u 10% puferisanom formalinu tokom 24h. Nakon rutinske obrade, uzorci su standardnom procedurom kalupljeni u tečni parafin i sečeni na rezove debljine 4–5µm. Deparafinisani uzorci su bojeni klasičnom HE metodom. Svim bolesnicima rađena je biopsija koštane srži u sklopu stadiranja bolesti i uzorci cilindara bioptata koštane srži dostavljani su u ustanove patologije u 10% rastvoru formalina. Nakon fiksacije u trajanju od 18–24h uzorci su dekalcinisani u rastvoru mravlje kiseline 6–12h, zavisno od veličine, zatim obrađivani po standardnoj proceduri i ukalupljeni u parafin. Svi uzorci sečeni su na debljine od 5µm. Deparafinisani uzorci koštane srži histološki su obrađivani i bojeni klasičnom HE metodom i standardnom imunohistohemijom. Pripremljeni patohistološki preparati analizirani su optičkim mikroskopom na malom, srednjem i velikom uvećanju. Dijagnoza je postavljana standardnom morfološkom i imunohistohemijskom analizom bioptičkog materijala prema aktuelnoj klasifikaciji WHO iz 2008. godine.

4. Materijali i metode

4.4. Imunohistohemijske metode (IHH)

4.4.1. Upotrebljavana antitela

Upotrebljavana komercijalna antitela za imunohistohemijsku (IHH) analizu ekspresije antitela data su u **Tabeli 14**.

Tabela 14. Tabelarni pregled korišćenih komercijalnih monoklonskih antitela

Ispitivan antigen	Naziv komercijalno korišćenog monoklonskog antitela	Razređenje
CD20	DAKO, Mouse monoclonal antibody, Clone L26 (M0755)	1:250
bcl2	DAKO, Mouse monoclonal antibody, Clone 124 (M0887)	1:75
bcl6	DAKO, Mouse monoclonal antibody, Clone PG-B6p (M7211)	1:10
CD10	DAKO, Mouse monoclonal antibody, Clone 56C6 (M7308)	1:50
MUM1	DAKO, Mouse monoclonal antibody, Clone 56C6 (M7308)	1:30
Ki 67	DAKO, Mouse monoclonal antibody, Clone MIB-1 (M7240)	1:100

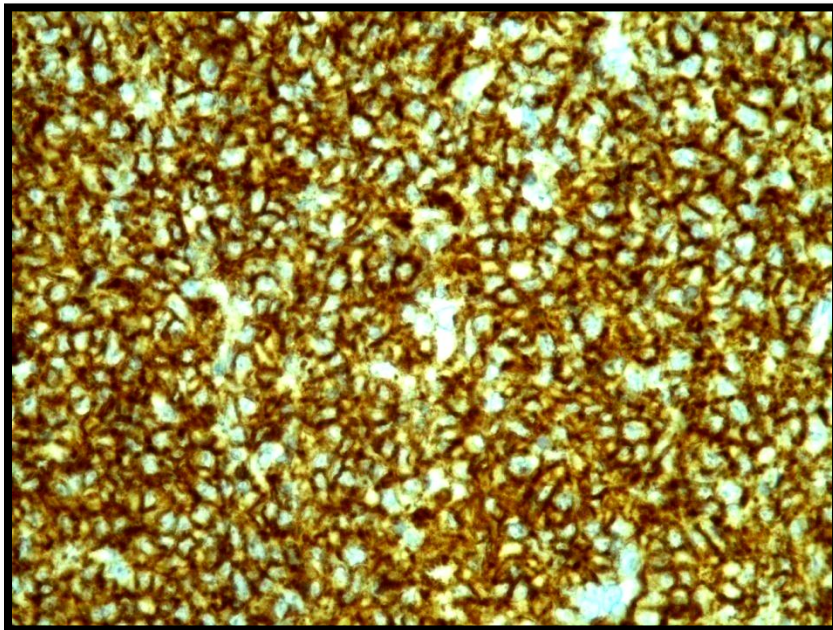
4.5. Imunohistohemijska analiza ekspresije antitela

Određivanje ekspresije biomarkera (antigena) vršeno je navedenim antitelima u sklopu rutinske imunohistohemijske analize koja se vrši u postavljanju dijagnoze DLBCL. Ekspresija biomarkera prikazana je slikama, s tim što se pored biomarkera bcl2, bcl6, MUM1 i CD10 koji su direktno tema istraživanja u našoj studiji, prikazuje i ekspresija CD20 receptora i Ki 67 indeksa, s obzirom da analiza njihove ekspresije predstavlja neizostavnu kariku u lancu dijagnoze DLBCL.

4. Materijali i metode

4.5.1. Analiza ekspresije CD20 biomarkera

U proceni ekspresije CD20 biomarkera semikvantitativnom metodom procenjen je % obojenih ćelijskih opni tumorskih ćelija, nezavisno od intenziteta bojenja. Procena je izvršena na 10 vidnih polja velikog uvećanja. Nalaz više od 30% obojenih tumorskih ćelija sa obojenom membranom računat je kao pozitivan nalaz. Pozitivna kontrola su B limfociti tonzile (**slika 3**).

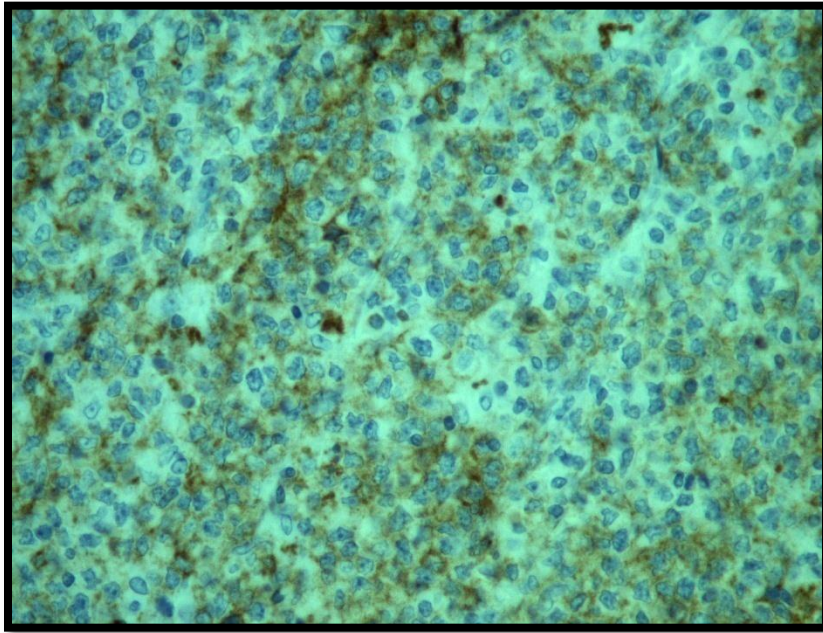


Slika 3. Izrazita membranska pozitivnost CD20 biomarkera kod DLBCL, 400x

4. Materijali i metode

4.5.2. Analiza ekspresije CD10 biomarkera

U proceni ekspresije CD10 biomarkera semikvantitativnom metodom procenjen je % obojenih ćelijskih opni tumorskih ćelija, nezavisno od intenziteta bojenja. Procena je izvršena na 10 vidnih polja velikog uvećanja. Nalaz više od 30% obojenih tumorskih ćelija sa obojenom membranom računat je kao pozitivan nalaz. Pozitivna kontrola je tanko crevo (**slika 4**).

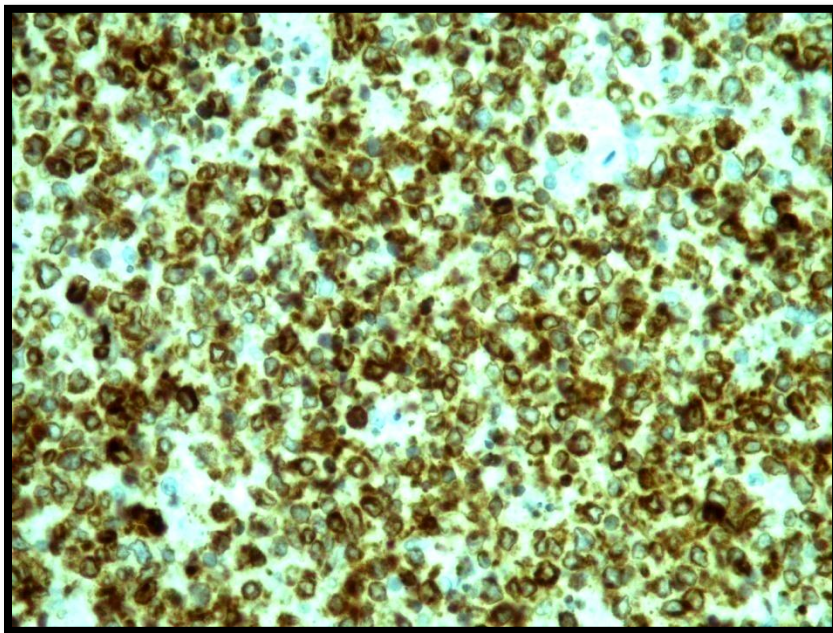


Slika 4. Ekspresija CD10 biomarkera (membranska prebojenost > 30% ćelija), 400x

4. Materijali i metode

4.5.3. Analiza ekspresije bcl2 biomarkera

U proceni ekspresije bcl2 biomarkera semikvantitativnom metodom procenjen je % obojenih ćelijskih opni tumorskih ćelija, nezavisno od intenziteta bojenja. Procena je izvršena na 10 vidnih polja velikog uvećanja. Nalaz više od 50% obojenih tumorskih ćelija sa obojenom membranom računat je kao pozitivan nalaz. Pozitivna kontrola je tanko crevo (**slika 5**).

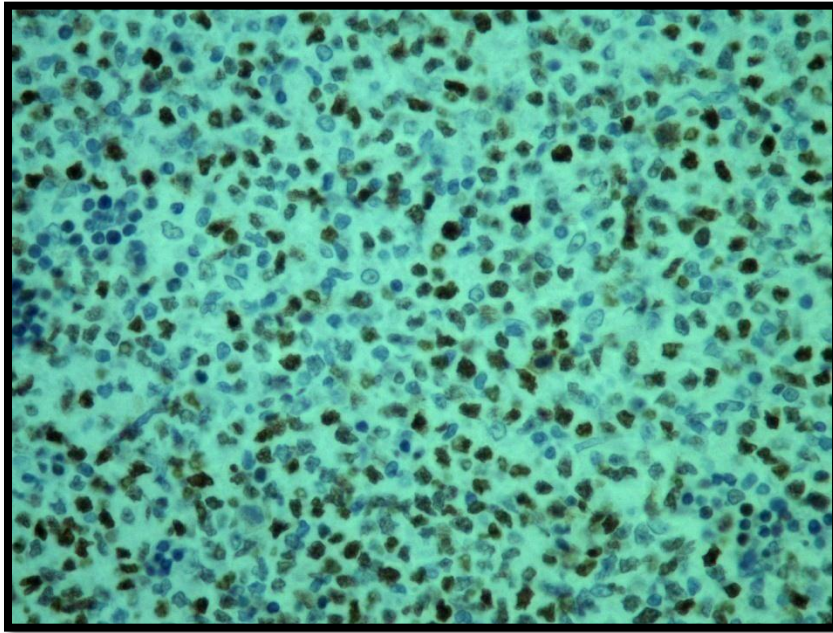


Slika 5. Ekspresija bcl2 biomarkera (membranska prebojenost > 50% ćelija), 400x

4. Materijali i metode

4.5.4. Analiza ekspresije bcl6 biomarkera

U proceni ekspresije bcl6 biomarkera semikvantitativnom metodom procenjen je % obojenih jedara tumorskih ćelija, nezavisno od intenziteta bojenja. Procena je izvršena na 10 vidnih polja velikog uvećanja. Nalaz više od 30% obojenih jedara tumorskih ćelija računat je kao pozitivan nalaz. Pozitivna kontrola su centroblasti normalne tonzile (**slika 6**).

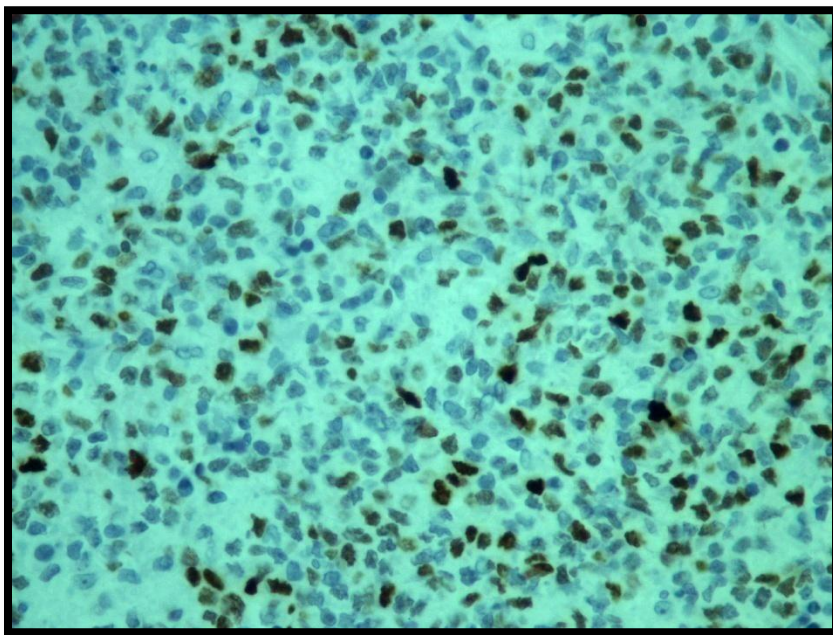


Slika 6. Ekspresija bcl6 biomarkera (jedarna prebojenost > 30% ćelija), 400x

4. Materijali i metode

4.5.5. Analiza ekspresije MUM1 biomarkera

U proceni ekspresije MUM1 biomarkera semikvantitativnom metodom procenjen je % obojenih jedara tumorskih ćelija, nezavisno od intenziteta bojenja. Procena je izvršena na 10 vidnih polja velikog uvećanja. Nalaz više od 30% obojenih jedara tumorskih ćelija računat je kao pozitivan nalaz. Pozitivna kontrola su plazmociti normalne tonzile (**slika 7**).

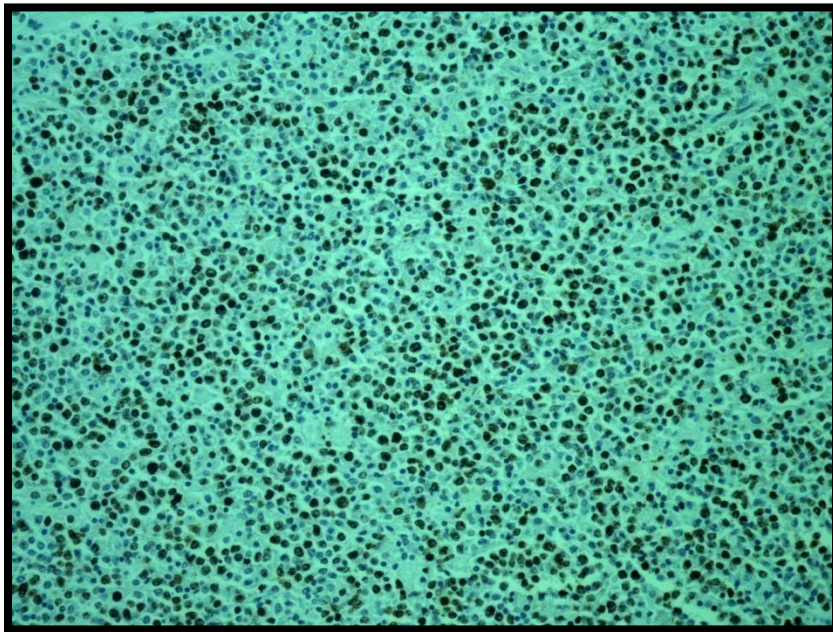


Slika 7. Ekspresija MUM1 biomarkera (jedarna prebojenost > 30% ćelija), 400x

4. Materijali i metode

4.5.6. Analiza ekspresije Ki 67

U proceni ekspresije Ki 67 indeksa semikvantitativnom metodom procenjen je % obojenih jedara tumorskih ćelija, nezavisno od intenziteta bojenja. Procena je izvršena na 10 vidnih polja velikog uvećanja. Nalaz više od 30% obojenih jedara tumorskih ćelija računat je kao pozitivan nalaz. Pozitivna kontrola su ćelije na dnu kripti tankog i debelog creva (**slika 8**).



Slika 8. Visoka jedarna ekspresija Ki 67 indeksa kod DLBCL (> 70%), 400x

4. Materijali i metode

4.6. Statističke analize

Dobijeni podaci su unešeni u bazu podataka, sređeni tabelarno i prikazani grafički. U sklopu deskriptivne statistike podaci su predstavljeni u vidu aritmetičke sredine i standardne devijacije, medijane i interkvartilne razlike, ili u vidu apsolutnih ili relativnih brojeva. Testiranje normalnosti podataka je vršeno Kolmogoro-Smirnovim testom. Za upoređivanje dve grupe podataka, ukoliko je zadovoljena normalna distribucija korišćen je t-test, ukoliko distribucija podataka nije normalna korišćen je Mann-Whitneyjev U test. Za poređenje tri ili više grupa podataka, ukoliko je zadovoljena normalna distribucija korišćena je ANOVA, a kao post hoc analiza korišćen je Tukeyev test. Ukoliko nije zadovoljena normalna distribucija pri poređenju tri i više grupa podataka korišćen je Kruskal-Wallisov test, u tom slučaju kao post hoc analiza korišćen je Mann-Whitneyjev U test. Radi utvrđivanja međupovezanosti između ispitivanih varijabli određivan je Pirsonov koeficijent proste linearne korelacije, odnosno Spirmanov koeficijent rang korelacije u zavisnosti od distribucije podataka.

Analiza preživljavanja (eng. survival analysis) je analiza određenog događaja tokom vremena uz evidenciju trenutka kada je došlo do određenog događaja, a da je pri tome dobro definisano početno vreme praćenja. Da bi se analiza preživljavanja mogla primeniti, podaci moraju sadržati vreme nekog događaja koji se prati. Svrha analize preživljavanja bez progresije bolesti sastoji se u mogućnosti predviđanja, tj. uspostavljanja prediktivnog modela u kojem rizik posmatranog događaja zavisi od ispitivanih varijabli. Za ovu vrstu analiza je potrebno da se evidentira tačan datum kada su pojedinci ušli u studiju i tačan datum kada je došlo do određenog događaja (tj. kada je postignut odgovor). Formirana je Kaplan-Meierova kriva preživljavanja u odnosu na ispitivane varijable. Log rank testom je upoređivano prosečno preživljavanje u odnosu na ispitivane parametre. Coxova regresiona analiza je korišćena radi određivanja unakrsnog odnosa (eng. Odds ratio – OR) za svaki od ispitivanih biohemijskih parametara. Statistička značajnost je uzimana za nivo verovatnoće $p < 0,05$.

Statistička obrada podataka koja obuhvata metode deskriptivne statistike, Kaplan-Meierove krive, Coxovu regresionu analizu je sprovedena u programskom paketu SPSS 16.0 (SPSS Inc, Chicago IL, USA).

5. Rezultati

5.1. Demografske, kliničke i biohemijske karakteristike u ispitivanoj populaciji

U prospektivno istraživanje uključeno je 80 odraslih bolesnika sa dijagnozom *de novo* DLBCL. Bolesnici su analizirani u odnosu na demografske karakteristike (pol i starost), biohemijske parametre (nivo LDH, albumina, beta 2 mikroglobulina i hemoglobina) i kliničke parametre (prisustvo B simptoma, prisustvo „Bulky” bolesti, klinička prezentacija DLBCL (nodalna vs ektranodalna), infiltracija koštane srži, ECOG PS i Ann Arbor klinički stadijum). Izvršena je analiza distribucije i na osnovi skorova/ indeksa prognoze (aaIPI, IPI, R-IPI i NCCN-IPI). Prikazani su rezultati pojedinačne ekspresije biomarkera i u odnosu na Hans, Muris i supkategorijska analiza po Hansovom algoritmu, kao i njihova „ukrštena” analiza sa gore navedenim parametrima. Sve analize rađene su u odnosu na terapijski odgovor, rizik od smrtnog ishoda i PFS.

5.1.1. Demografske karakteristike u ispitivanoj populaciji

Polna struktura ispitivane populacije imala je 36 muških (45,00%) i 44 ženskih ispitanika (55,00%), sa prosečnom starošću od 58,15±15,83 godina (min 18, max 86 godina). Starost bolesnika bila je ujednačena prema polu (muški: 58.08±17.16 godina, ženski: 58,20±14,86 godina, $t=0,033$, $p=0,973$). U ispitivanoj populaciji bilo je 37 bolesnika starosti 18 do 60 godina (46,20%) i 43 bolesnika starijih od 60 godina (53,80%). U grupi mlađih od 60 godina bilo je 16 muškarca i 21 žena, u grupi starijih od 60 godina 20 muškaraca i 23 žene. U ispitivanom uzorku bilo je nešto više starijih bolesnika od 60 godina, ali nije postojala statistički značajna razlika u odnosu na starost ispitanika, niti u odnosu starosti prema polu ($X^2=0,005$, $p=0,946$) (**Tabela 15**).

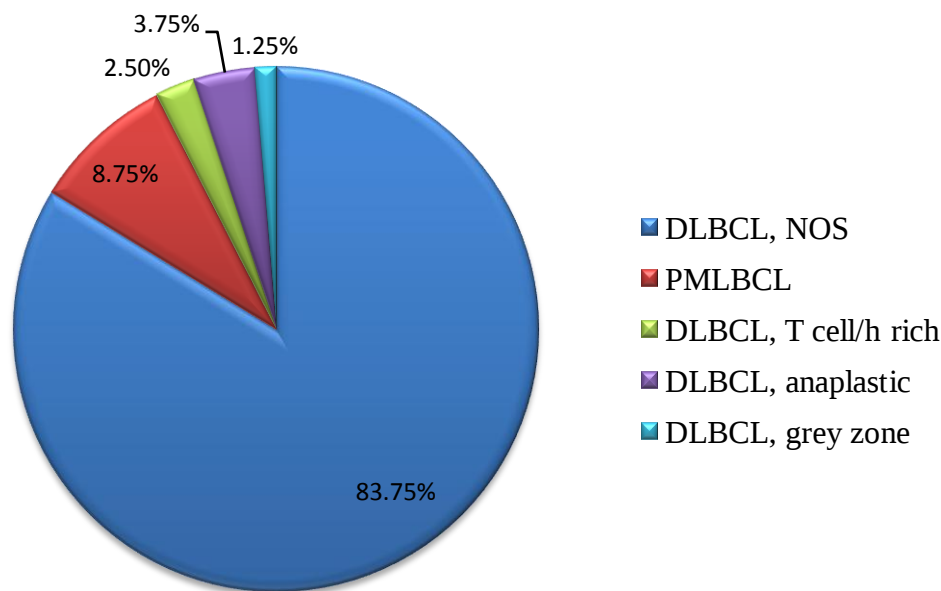
Tabela 15. Distribucija ispitanika prema starosti i polu

Starost	Pol	
	Muški	Ženski
Mlađi od 60 godina	16 (44,40%)	21 (47,70%)†
Stariji od 60 godina	20 (55,60%)	23 (52,30%)
Ukupno	36 (100,00%)	44 (100,00%)

† - n (%)

5. Rezultati

Struktura u odnosu na tip DLBCL bila je sledeća: 67 bolesnika sa DLBCL, NOS (83,75%), 7 bolesnika sa PMLBCL (8,75%), 2 bolesnika sa T cell/h rich DLBCL (2,50%), 3 bolesnika sa anaplastičnom histološkom varijantom DLBCL (3,75%) i 1 bolesnik koji je imao dijagnozu DLBCL/ HL „grey zone” limfom (1,25%) (**Grafikon 3**).



Grafikon 3. Struktura ispitivane populacije u odnosu na tip DLBCL

Distribucija DLBCL tipova u odnosu na pol bila je ujednačena. Najčešći tip limfoma bio je DLBCL, NOS i kod muškog i ženskog pola (83,33%, odnosno 84,10%). Kod ženskog pola bio je veći broj bolesnik sa PMLBCL, ali se kod njih u ispitivanoj populaciji nije javljao DLBCL, T cell/h rich i „grey zone” tip. Utvrđeno je da ne postoji statistički značajna razlika u distribuciji DLBCL tipova u odnosu na pol ($p=0,218$) (**Tabela16**).

Tabela 16. Distribucija DLBCL tipa prema polu

DLBCL tip	Pol		X^2	p
	Muški	Ženski		
DLBCL, NOS	30 (83,33)	37 (84,10) †	5,578	0,218
PMLBCL	2 (5,60)	5 (11,40)		
DLBCL, T cell/h rich	2 (5,60)	0		
DLBCL, anaplastic	1 (2,80)	2 (4,50)		
DLBCL, grey zone	1 (2,80)	0		

† - n (%), X^2 – Hi kvadrat test

5. Rezultati

5.1.2. Analiza distribucije biohemijskih parametara u ispitivanoj populaciji

U ispitivanoj populaciji bolesnika analizirani su sledeći biohemijski parametri: nivo LDH, nivo albumina, nivo beta 2 MG i nivo hemoglobina.

Povišene vrednosti LDH bile su prisutne kod 38 bolesnika (47,50%), a referentni opseg imalo je 42 (52,50%) bolesnika. Smanjene vrednosti albumina bile su prisutne kod 28 bolesnika (35,00%), a referentni opseg imalo je 52 (65,00%). Povišene vrednosti beta 2 MG imalo je 38 bolesnika (47,50%), a referentni opseg 42 (52,50%) bolesnika i smanjene vrednosti hemoglobina bile su prisutne kod 36 bolesnika (46,00%), a referentni opseg imalo je 44 (54,00%) bolesnika (Tabela 17).

Tabela 17. Distribucija biohemijskih parametara u ispitivanoj populaciji

Biohemijski parametri	Broj	%
Povišene vrednosti LDH	38	47,50
Normalne vrednosti LDH	42	52,50
Smanjene vrednosti albumina	28	35,00
Normalne vrednosti albumina	52	65,00
Povišen beta 2 MG	38	47,50
Normalan beta 2 MG	42	52,50
Smanjeni hemoglobin	36	45,00
Normalan hemoglobin	44	54,00

5.1.3. Analiza distribucije kliničkih parametara u ispitivanoj populaciji

Analizirano je 7 kliničkih parametara u ispitivanoj populaciji bolesnika: B simptomi, nodalna vs ektranodalna prezentacija DLBCL, infiltracija koštane srži, ECOG PS, prisustvo vs odsustvo „Bulky” bolesti. B simptome imalo je 43 bolesnika (53,80%), dok je bez njih bilo 37 (46,20%). U ispitivanoj populaciji bilo je 40 bolesnika sa „Bulky“ (50,00%) bolešću i 40 bolesnika bez „Bulky” bolesti (50,00%). Nodalnu prezentaciju imalo je 40 bolesnika (50,00%) i 40 bolesnika imalo je ektranodalnu prezentaciju (50,00%). ECOG 0 imalo je 46 bolesnika (57,50%), ECOG 1 imalo je 25 bolesnika (31,20%), ECOG 2 imalo je 6 bolesnika (7,50%) i

5. Rezultati

ECOG 3 imala su 3 bolesnika (3,80%). Bilo je statistički značajnije bolesnika sa minimalnim simptomima bolesti (ECOG 0 i 1). Infiltrisanu koštanu srž imalo je 14 bolesnika (17,50%), a 68 (72,50%) bolesnika nije imalo zahvaćenu koštanu srž, što je značajnije češće u korist onih bez infiltracije (**Tabela 18**).

Tabela 18. Distribucija kliničkih parametara u ispitivanoj populaciji

Klinički parametri	Broj	%
B simptomi	43	53,50
Bez B simptoma	37	46,20
Infiltrisana koštana srž	14	17,50
Bez infiltracije koštane srži	68	72,50
PS ECOG 0	46	57,50
PS ECOG 1	25	31,20
PS ECOG 2	6	7,50
PS ECOG 3	3	3,80
„Bulky”	40	50,00
Non-Bulky	40	50,00
Nodalna prezentacija	40	50,00
Ekstranodalna prezentacija	40	50,00

Klinički stadijum određen po Ann Arbor stadijumu imao je sledeću distribuciju: Ann Arbor 1 imalo je 8 bolesnika 10%, Ann Arbor 2 imalo je 15 bolesnika 18,75%, Ann Arbor 3 imalo je 12 bolesnika 15%, i Ann Arbor 4 imalo je 45 bolesnika 56,25%. Statistički značajno bilo je više bolesnika sa visokim Ann Arbor 4 kliničkim stadijumom (**Tabela 19**).

Tabela 19. Distribucija Ann Arbor kliničkog stadijuma u ispitivanoj populaciji

Klinički stadijum	Broj	%
Ann Arbor 1	8	10,00
Ann Arbor 2	15	18,75
Ann Arbor 3	12	15,00
Ann Arbor 4	45	56,25

5. Rezultati

5.1.4. Distribucija prema indeksima/ skorovima prognoze u ispitivanoj populaciji

Bolesnicima od (18–60) godina kalkulisan je aaIPI skor. Ukupno je bilo 37 (100,00%) bolesnika: sa aaIPI 0 bilo je 9 (24,32%) bolesnika: od toga 4 bolesnika i 5 bolesnica, sa aaIPI 1 bilo je 10 (27,03%) bolesnika: od toga 4 bolesnika i 6 bolesnica, sa aaIPI 2 bilo je 12 (32,43%) bolesnika: od toga 4 bolesnika i 8 bolesnica i sa aaIPI 3 bilo je 6 (16,22%) bolesnika: od toga 4 bolesnika i 2 bolesnice. Nije bilo statistički značajne razlike u polnoj distribuciji u odnosu na aaIPI skor (Tabela 20).

Tabela 20. Distribucija aaIPI skora

aaIPI skor	Pol	
	Muški	Ženski
0	4 (10,81)	5 (13,51) †
1	4 (10,81)	6 (16,22)
2	4 (10,81)	8 (21,62)
3	4 (10,81)	2 (5,41)
Ukupno	16 (43,24)	21 (56,76)

† - n (%),

Bolesnicima starijim od 60 godina kojima je kalkulisan IPI skor bilo je ukupno 43 (100,00%), od toga sa IPI 0 bilo je 0 bolesnika, sa IPI 1 bilo je 18 (41,86%) bolesnika: od toga 8 bolesnika i 10 bolesnica, a sa IPI ≥ 2 bilo je 25 (58,14%) bolesnika: od toga 12 bolesnika i 13 bolesnica. Nije bilo statistički značajne razlike u polnoj distribuciji u odnosu na IPI skor (Tabela 21).

Tabela 21. Distribucija IPI skora

IPI skor	Pol	
	Muški	Ženski
0	0	0
1	8 (18,60)	10 (23,26) †
≥ 2	12 (27,91)	13 (30,23)
Ukupno	20 (46,51)	23 (53,49)

† - n (%),

5. Rezultati

Prema R-IPI indeksu distribucija je bila sledeća: sa R-IPI 0 (vrlo dobar) bilo je 12 (15,00%) bolesnika: od toga po 6 u oba pola, sa R-IPI 1 (dobar) bilo je 38 (47,50%) bolesnika: od toga 15 bolesnika i 23 bolesnica, i sa R-IPI 2 (loš) bilo je 30 (37,50%) bolesnika: od toga po 15 u oba pola. Nije bilo statistički značajne razlike u polnoj distribuciji u odnosu na R-IPI skor (**Tabela 22**).

Tabela 22. Distribucija R-IPI skora

R-IPI skor	Pol	
	Muški	Ženski
0 (vrlo dobar)	6 (7,50)	6 (7,50) †
1 (dobar)	15 (18,75)	23 (28,75)
2 (loš)	15 (18,75)	15 (18,75)
Ukupno	36 (45,00)	44 (55,00)

† - n (%),

Prema poslednje publikovanom NCCN-IPI skoru, distribucija je bila sledeća: NCCN-IPI 0,1 imalo je 7 (8,75%) bolesnika: od toga 2 bolesnika i 5 bolesnica, NCCN-IPI 2,3 imalo je 42 (52,50%) bolesnika: od toga 17 bolesnika i 25 bolesnica, NCCN-IPI 4,5 imalo je 22 (27,50%) bolesnika: od toga 10 bolesnika i 12 bolesnica i NCCN-IPI 6–8 imalo je 9 (11,25%) bolesnika: od toga 6 bolesnika i 3 bolesnice. Nije bilo statistički značajne razlike u polnoj distribuciji u odnosu na NCCN-IPI skor (**Tabela 23**).

Tabela 23. Distribucija NCCN-IPI skora

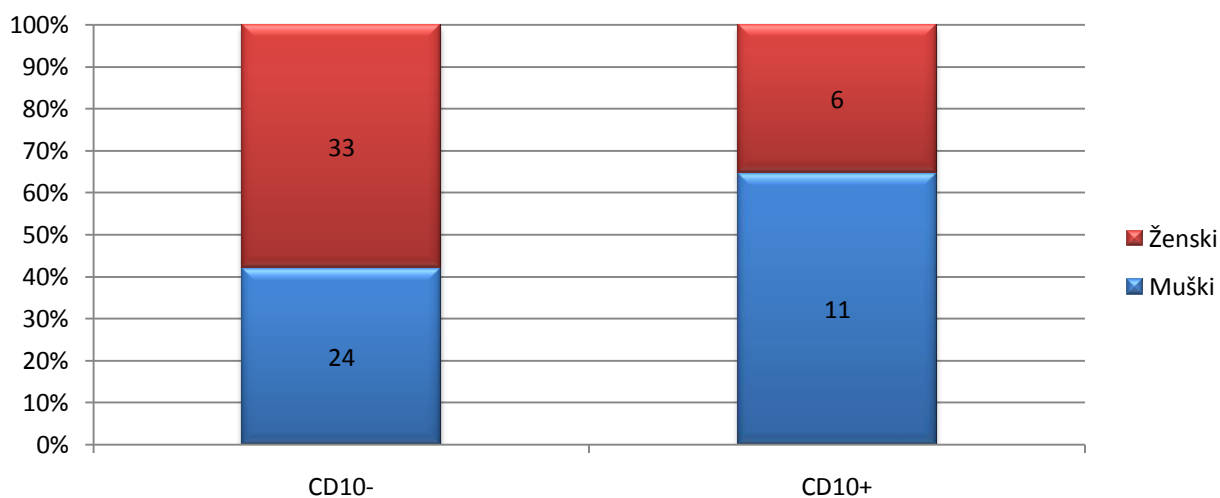
NCCN-IPI skor	Pol	
	Muški	Ženski
0,1	2 (2,50)	5 (6,25) †
2,3	17 (21,25)	25 (31,25)
4,5	10 (12,50)	12 (15,00)
6-8	6 (7,50)	3 (3,75)
Ukupno	36 (43,75)	44 (56,25)

† - n (%),

5. Rezultati

5.1.5. Struktura ispitivane populacije u odnosu na ekspresiju pojedinačnih biomarkera

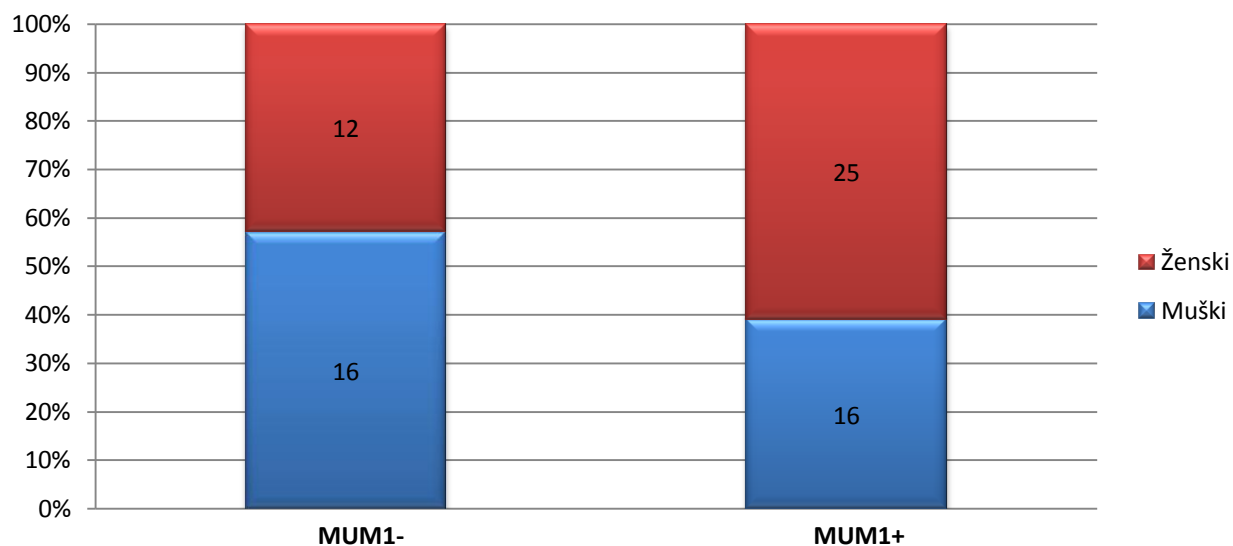
U ispitivanoj populaciji 57 bolesnika (77,00%) bilo je CD10-, a 17 bolesnika bilo je CD10+ (23,00%). Distribucija ovog biomarkera u odnosu na pol bila je sledeća: 24 bolesnika i 33 bolesnice bile su CD10-, a 11 bolesnika i 6 bolesnica bilo je CD10+ (**Grafikon 4**). Utvrđeno je da ne postoji statistički značajna razlika u distribuciji CD10 biomarkera u odnosu na pol ($X^2=1,853$; $p=0,173$).



Grafikon 4. Distribucija CD10 biomarkera u odnosu na pol

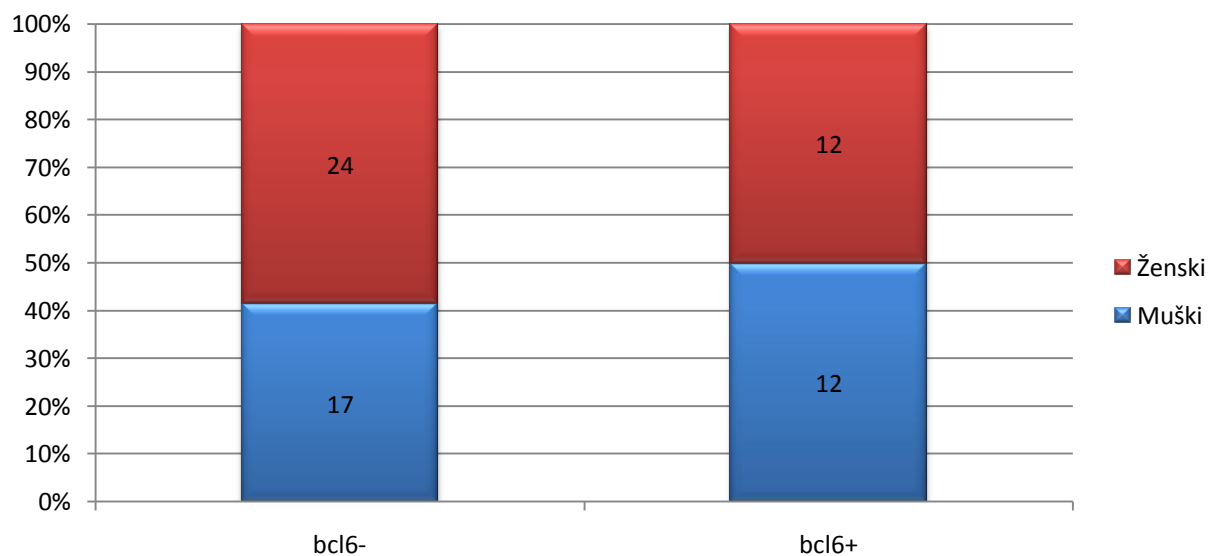
U ispitivanoj populaciji 28 bolesnika bilo je MUM1- (40,60%), a 41 bolesnik bio je MUM1+ (59,40%). U odnosu na pol bez ekspresije MUM1 biomarkera bilo je 16 bolesnika i 12 bolesnica. Ekspresija MUM1 bila je prisutna kod 16 bolesnika i 25 bolesnice (**Grafikon 5**). Utvrđeno je da ne postoji statistički značajna razlika u distribuciji MUM1 biomarkera u odnosu na pol ($X^2=1,528$; $p=0,216$).

5. Rezultati



Grafikon 5. Distribucija MUM1 biomarkera u odnosu na pol

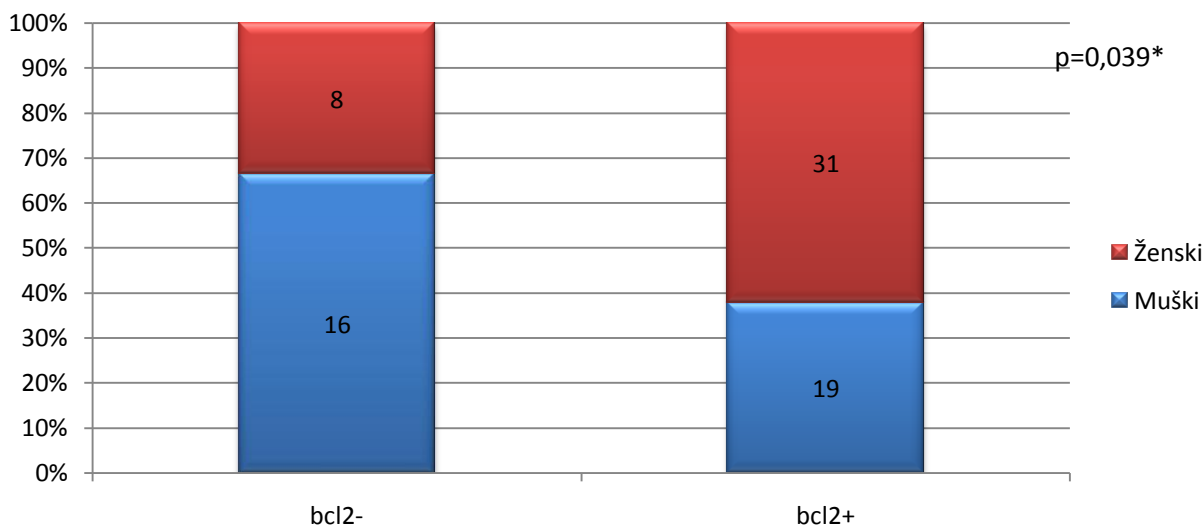
Bcl6- bolesnika bilo je 41 bolesnik (63,10%), a 24 bolesnika bilo je bcl6+ (36,90%). Gledano po polnoj distribuciji, ekspresija bcl6 biomarkera (bcl6+) bila je prisutna kod 12 bolesnika i 12 bolesnica. Bcl6- bilo je 17 bolesnika i 24 bolesnice (**Grafikon 6**). Utvrđeno je da ne postoji statistički značajna razlika u distribuciji bcl6 biomarkera u odnosu na pol ($X^2=0,168$; $p=0,682$).



Grafikon 6. Distribucija bcl6 biomarkera u odnosu na pol

5. Rezultati

U ispitivanoj populaciji u odnosu na bcl2 biomarker videlo se da je 50 bolesnika imalo ekspresiju ovog biomarkera (bcl2+), što predstavlja (67,60%), a bez ekspresije ovog markera (bcl2-) bilo je 24 bolesnika (32,40%). U odnosu na polnu distribuciju bcl2+ imalo je 19 bolesnika i 31 bolesnica, dok je bcl2- bilo kod 16 bolesnika i 8 bolesnica (**Grafikon 7**). Utvrđeno je da postoji statistički značajna razlika u distribuciji bcl2 biomarkera u odnosu na pol ($X^2=4,258$; $p=0,039^*$).

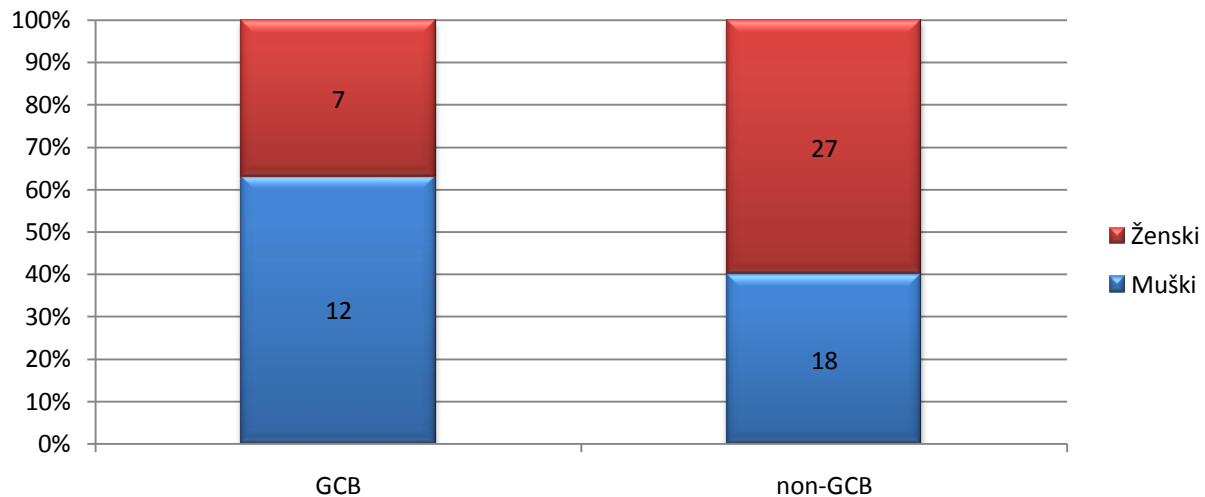


Grafikon 7. Distribucija bcl2 biomarkera u odnosu na pol

5.1.6. Struktura ispitivane populacije po Hansovom i Murisovom algoritmu (skoru)

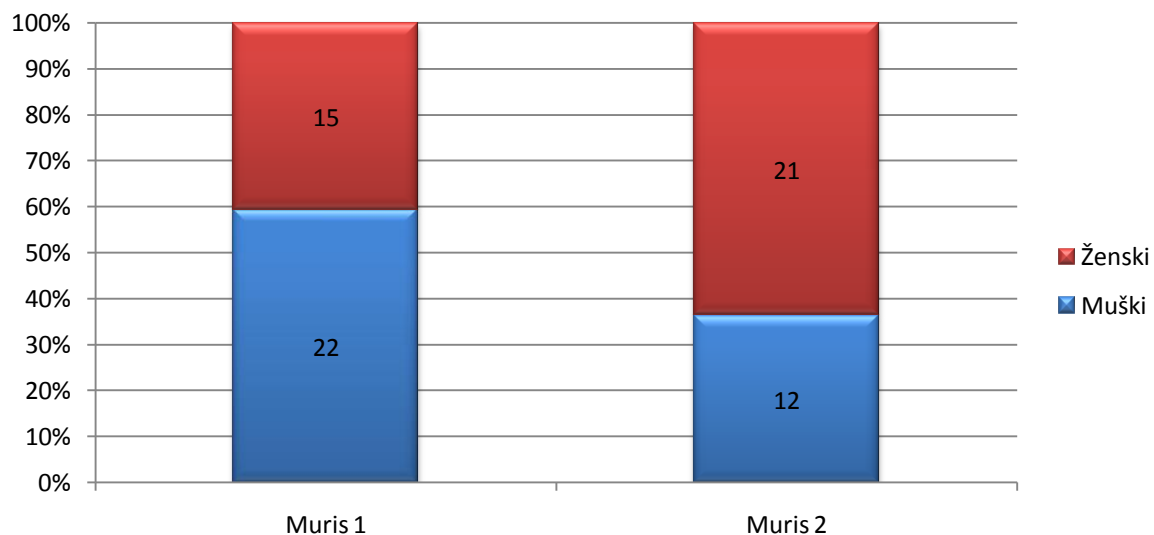
U odnosu na Hansov algoritam u ispitivanoj populaciji bilo je 19 bolesnika sa GCB (29,68%) i 45 bolesnika sa non-GCB podtipom (70,32%). Distribucija po Hansovom algoritmu u odnosu na pol bila je sledeća: 12 bolesnika i 7 bolesnica su imali GCB podtip, a 18 bolesnika i 27 bolesnica su imali non-GCB podtip (**Grafikon 8**). Utvrđeno je da ne postoji statistički značajna razlika u distribuciji GCB i non-GCB podtipa u odnosu na pol ($X^2=2,022$; $p=0,155$).

5. Rezultati



Grafikon 8. Distribucija po Hansovom algoritmu u odnosu na pol

U ispitivanoj populaciji po Murisovom algoritmu, Muris 1 tip imalo je 37 bolesnika (52,90%) i 33 bolesnika bilo je sa Muris 2 tipom (47,10%). U odnosu na polnu distribuciju Muris 1 tip imalo je 22 bolesnika i 15 bolesnica, dok je Muris 2 tip bio zastupljen kod 12 bolesnika i 21 bolesnice (**Grafikon 9**). Utvrđeno je da ne postoji statistički značajna razlika u distribuciji Muris skorova u odnosu na pol ($X^2=2,858$; $p=0,091$).

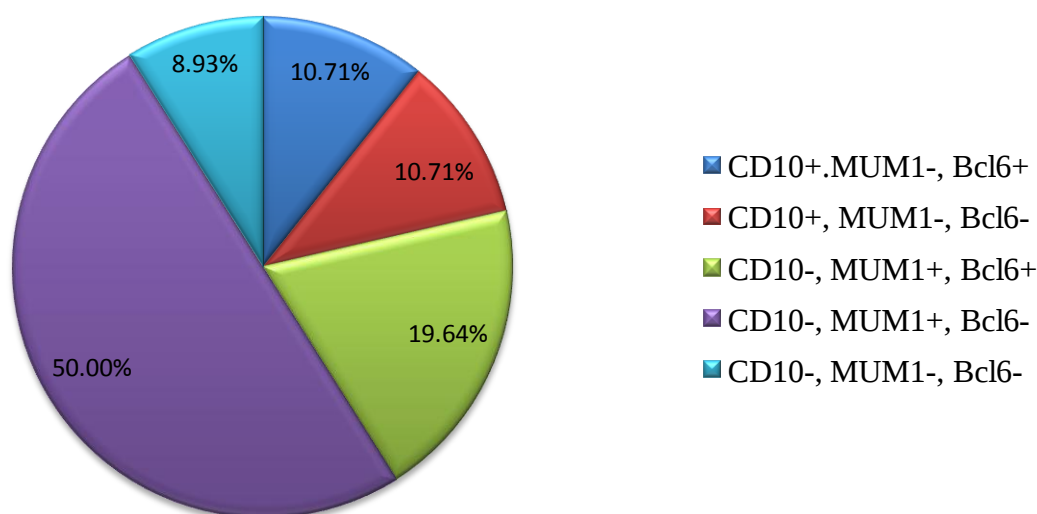


Grafikon 9. Distribucija po Murisovom algoritmu odnosu na pol

5. Rezultati

5.1.7. Struktura ispitivane populacije u odnosu na supkategorijsku klasifikaciju biomarkera po Hansovom algoritmu

U ispitivanoj populaciji, u GCB podtipu je bilo: 6 bolesnika (10,70%) sa (CD10+, MUM1-, bcl6+), 6 bolesnika (10,70%) sa (CD10+, MUM1-, bcl6-). U podtipu non-GCB bilo je: 11 bolesnika (19,60%) sa (CD10-, MUM1+, bcl6+), 28 bolesnika (50,00%) sa (CD10-, MUM1+, bcl6-) i 5 bolesnika sa (CD10-, MUM1-, bcl6-). Imunofenotip non-GCB podtipa (CD10-, MUM1+, bcl6-) se statistički značajno najčešće nalazio u ispitivanoj populaciji bolesnika (**Grafikon 10**). Analizirana kohorta bolesnika nije imala podkategoriju iz GCB podtipa CD10+, MUM1+, bcl6+), koja spada u najrede.



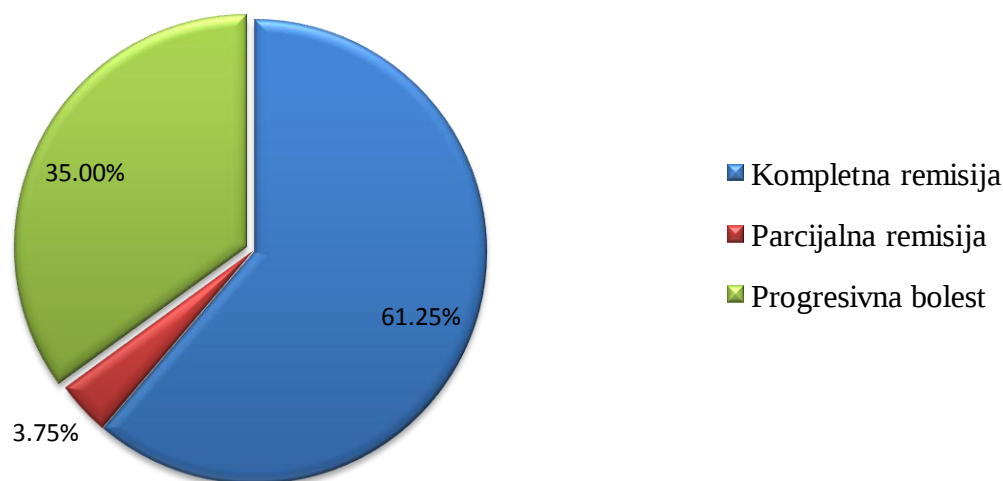
Grafikon 10. Distribucija u odnosu na supkategorije po Hansovom algoritmu

5. Rezultati

5.2. Rezultati odgovora na primenjenu terapiju

Nakon ordinirane indukcijske terapije procenjivan je odgovor na terapiju kod ispitivane populacije bolesnika. Imunohemioterapiju primilo je 77 od 80 bolesnika, odnosno (96,25%), a ostala 3 bolesnika samo hemioterapiju (3,75%).

Ukupan terapijski odgovor (eng. overall response rate-ORR) iznosio je 66,25% (53 bolesnika). Od toga kompletnu remisiju postiglo je 49 bolesnika (61,25%), a parcijalnu remisiju 3 bolesnika (3,75%), nije bilo bolesnika sa stabilnom bolešću. Progresija bolesti bila je prisutna kod 28 bolesnika (35,00%). (**Grafikon 11**).



Grafikon 11. Distribucija u odnosu na odgovor na primenjenu terapiju

Starost bolesnika koji su postigli kompletnu remisiju bila je ($57,94 \pm 14,28$) godina, onih koji su postigli parcijalnu remisiju bila je ($60,33 \pm 18,15$) godina, a starost bolesnika sa progresijom bolesti ($58,29 \pm 18,59$) godina. Utvrđeno je da ne postoji statistički značajna razlika u starosti bolesnika u odnosu na odgovor na terapiju ($F=0,033$; $p=0,967$).

5. Rezultati

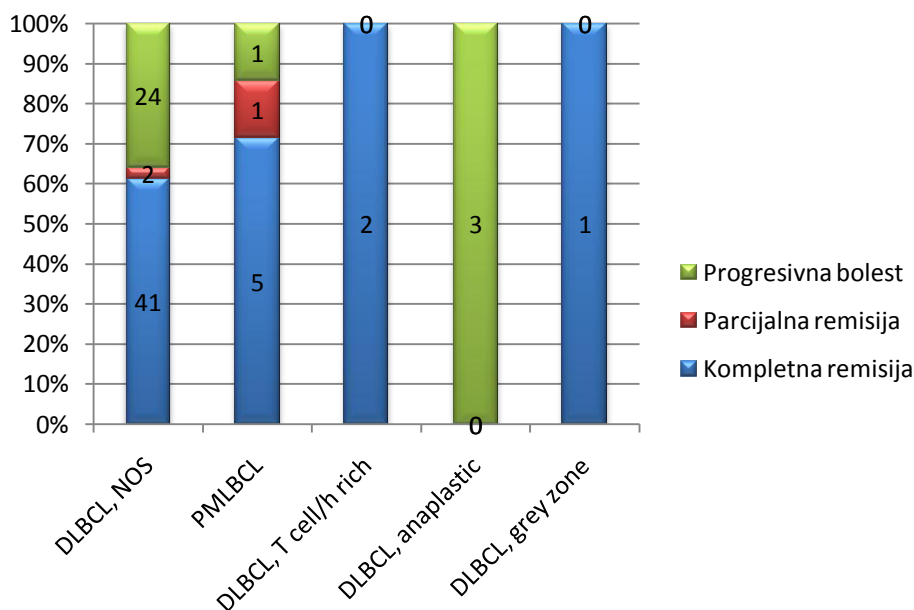
Kompletna remisija postignuta je kod 18 (50,00%) bolesnika i 31 (70,50%) bolesnice. Parcijalna remisija postignuta je kod 2 (5,60%) bolesnika i 1 (2,30%) bolesnice. Progresivna bolest bila je prisutna kod 16 (44,40%) bolesnika i 12 (27,30%) bolesnica. Utvrđeno je da ne postoji statistički značajna razlika u odgovoru na terapiju u odnosu na pol ($p=0,165$) (**Tabela 24**).

Tabela 24. Odgovor na terapiju u odnosu na pol

	Pol		X^2	p
	Muški	Ženski		
Kompletna remisija	18 (50,00)	31 (70,50) †	3,602	0,165
Parcijalna remisija	2 (5,60)	1 (2,30)		
Progresija bolesti	16 (44,40)	12 (27,20)		

† - n (%), X^2 – Hi kvadrat test

Kompletna remisija postignuta je kod 41 bolesnika sa DLBCL, NOS (61,20%), 5 bolesnika sa PMLBCL (71,40%), 2 bolesnika sa DLBCL, T cell/h rich (100,00%) i kod 1 bolesnika sa DLBCL "grey zone" (100,00%). Parcijalna remisija postignuta je kod 2 bolesnika sa DLBCL, NOS (3,00%) i 1 bolesnika sa PMLBCL (14,30%). Progresivna bolest bila je prisutna kod 24 bolesnika sa DLBCL, NOS (35,80%), 1 bolesnika sa PMLBCL (14,30%) i kod 3 bolesnika sa anaplastičnim DLBCL (100,00%). Utvrđeno je da ne postoji statistički značajna razlika u odgovoru na terapiju u odnosu na tip DLBCL ($X^2=11,786$; $p=0,161$) (**Grafikon 12**).



Grafikon 12. Distribucija tipova DLBCL u odnosu na odgovor na primenjenu terapiju

5. Rezultati

5.2.1. Analiza odgovora na terapiju u odnosu na pojedinačne biomarkere

Kompletna remisija postignuta je kod 38 (66,70%) bolesnika sa CD 10-, 9 (52,20%) bolesnika sa CD10+. Parcijalna remisija postignuta je kod 2 (3,50%) bolesnika sa CD10+. Progresija bolesti bila je prisutna kod 17 (29,80%) bolesnika sa CD10+, i 8 (47,10%) bolesnika sa CD10- (**Tabela 25**). Utvrđeno je da ne postoji statistički značajna razlika u odgovoru na terapiju u odnosu na CD10 biomarker ($p=0,285$).

Tabela 25. Odgovor na terapiju u odnosu na CD10 biomarker

Odgovor na terapiju	CD10		X^2	p
	CD10-	CD10+		
Kompletna remisija	38 (66,70)	9 (52,90) †	2,514	0,285
Parcijalna remisija	2 (3,50)	0		
Progresija bolesti	17 (29,80)	8 (47,10)		

† - n (%), X^2 – Hi kvadrat test

Kompletna remisija postignuta je kod 16 (57,10%) bolesnika sa MUM1-, i 28 (68,30%) bolesnika sa MUM1+. Parcijalna remisija postignuta je kod 2 (4,90%) bolesnika sa MUM1+. Progresija bolesti bila je prisutna kod 12 (42,90%) MUM1- bolesnika, i 11 (26,80%) bolesnika sa MUM1+. Utvrđeno je da ne postoji statistički značajna razlika u odgovoru na terapiju u odnosu na MUM1 biomarker ($p=0,160$) (**Tabela 26**).

Tabela 26. Odgovor na terapiju u odnosu na MUM1 biomarker

Odgovor na terapiju	MUM1		X^2	p
	MUM1-	MUM1+		
Kompletna remisija	16 (57,10)	28 (68,30) †	3,667	0,160
Parcijalna remisija	0	2 (4,90)		
Progresija bolesti	12 (42,90)	11 (26,80)		

† - n (%), X^2 – Hi kvadrat test

5. Rezultati

Kompletna remisija postignuta je kod 29 (70,70%) bolesnika sa bcl6-, i 13 (54,20%) bolesnika sa bcl6+. Parcijalna remisija postignuta je kod 2 (8,30%) bolesnika sa bcl6+. Progresija bolesti bila je prisutna kod 12 (29,30%) bcl6- bolesnika, i 9 (37,50%) bolesnika sa bcl6+. Utvrđeno je da ne postoji statistički značajna razlika u odgovoru na terapiju u odnosu na bcl6 biomarker (p=0,084) (Tabela 27).

Tabela 27. Odgovor na terapiju u odnosu na bcl6 biomarker

Odgovor na terapiju	bcl6		X ²	p
	bcl6+	bcl6-		
Kompletna remisija	29 (70,70)	13 (54,20) †	4,956	0,084
Parcijalna remisija	0	2 (8,30)		
Progresija bolesti	12 (29,30)	9 (37,50)		

† - n (%), X² – Hi kvadrat test

Kompletna remisija postignuta je kod 13 (54,20%) bolesnika sa bcl2+ i 33 (66,00%) bolesnika sa bcl2-. Parcijalna remisija postignuta je kod 3 (6,00%) bolesnika sa bcl2-. Progresija bolesti bila je prisutna kod 11 (45,80%) bcl2+ bolesnika i 14 (28,00%) bolesnika sa bcl2-. Utvrđeno je da ne postoji statistički značajna razlika u odgovoru na terapiju u odnosu na bcl2 biomarker (p=0,124) (Tabela 28).

Tabela 28. Odgovor na terapiju u odnosu na bcl2 biomarker

Odgovor na terapiju	bcl2		X ²	p
	bcl2+	bcl2-		
Kompletna remisija	13 (54,20)	33 (66,00) †	4,179	0,124
Parcijalna remisija	0	3 (6,00)		
Progresija bolesti	11 (45,80)	14 (28,00)		

† - n (%), X² – Hi kvadrat test

5. Rezultati

5.2.2. Analiza terapijskog odgovora u odnosu na Hansov i Murisov algoritam (skor)

U odnosu na Hansov algoritam, kompletna remisija postignuta je kod 12 (63,20%) bolesnika sa GCB i 30 (66,70%) bolesnika sa non-GCB podtipom. Parcijalna remisija postignuta je kod 2 (4,40%) bolesnika sa non-GCB podtipom. Progresija bolesti bila je prisutna kod 7 (36,80%) bolesnika sa GCB i 13 (28,90%) bolesnika sa non-GCB podtipom. Utvrđeno je da ne postoji statistički značajna razlika u odgovoru na terapiju u odnosu na Hansov algoritam ($p=0,428$) (Tabela 29).

Tabela 29. Odgovor na terapiju u odnosu na Hansov algoritam

Odgovor na terapiju	Hans algoritam		X^2	p
	GCB	non-GCB		
Kompletna remisija	12 (63,20)	30 (66,70) †	1,696	0,428
Parcijalna remisija	0	2 (4,40)		
Progresija bolesti	7 (36,80)	13 (28,90)		

† - n (%), X^2 – Hi kvadrat test

U grupi bolesnika sa Murisovim algoritmom (skorom), Muris tip 1 bio je zastupljen kod 23 (62,20%) bolesnika sa kompletnom remisijom i 14 (37,80%) bolesnika sa progresijom bolesti. U grupi bolesnika sa Muris tipom 2 bilo je 22 (66,70%) sa kompletnom remisijom, i 2 (6,10%) bolesnika sa parcijalnom remisijom i 9 (27,30%) bolesnika sa progresijom bolesti. Utvrđeno je da ne postoji statistički značajna povezanost između Muris tipova i odgovora na terapiju ($p=0,160$) (Tabela 30).

Tabela 30. Odgovor na terapiju u odnosu na Murisov algoritam

Odgovor na terapiju	Muris algoritam		X^2	p
	Muris 1	Muris 2		
Kompletna remisija	23(62,20)	22 (66,70) †	3,662	0,160
Parcijalna remisija	0	2 (6,10)		
Progresija bolesti	14(37,80)	9 (27,30)		

† - n (%), X^2 – Hi kvadrat test

5. Rezultati

5.2.2.1. Rezultati odgovora na terapiju u supkategorijama biomarkera po Hansovom algoritmu

Supkategorijska analiza biomarkera uključila je opisane supkategorije Hansovog algoritma i kombinacija sa bcl2 biomarkerom.

U GCB podgrupi, na terapiju odgovorilo je 2 (33,30%) bolesnika iz prve podgrupe, i 3 (50,00%) bolesnika iz druge podgrupe. U non-GCB podgrupi odgovor na terapiju imalo je 10 (88,90%) bolesnika iz prve podgrupe, 20 (74,10%) bolesnika iz druge podgrupe i 4 (66,70%) iz treće podgrupe. Utvrđeno je da ne postoji statistički značajna razlika u učestalosti odgovora na terapiju u odnosu na različite kombinacije biomarkera ($X^2=7,587$, $p=0,108$) (Tabela 31).

Tabela 31. Supkategorije Hansovog algoritma u odnosu na odgovor na terapiju

Odgovor na terapiju	GCB podtipovi		non-GCB podtipovi			X^2	P
	CD10+, MUM1-, bcl6+	CD10+, MUM1-, bcl6-	CD10-, MUM1+, bcl6+	CD10-, MUM1+, bcl6-	CD10-, MUM1-, bcl6-		
Da	2 (33,30)	3 (50,00)	10 (88,90)	20 (74,10)	4 (66,70) †	7,587	0,108
Ne	4 (66,70)	3 (50,00)	1 (11,10)	8 (28,60)	1 (20,00)		

† - n (%), X^2 – Hi kvadrat test

U narednoj analizi supkategorija biomarkera, napravljeno je ukrštanje GCB podtipova sa bcl2+/bcl2- i isto tako non-GCB podtipova. Podtip CD10-, MUM1-, bcl6- nije imao bcl2- podgrupu u analiziranoj populaciji bolesnika. Utvrđeno je da ne postoji statistički značajna razlika u učestalosti različitih kombinacija markera u odnosu na odgovor na terapiju ($p=0,129$) (Tabela 32).

Tabela 32. Supkategorije Hansovog algoritma i bcl2 u odnosu na odgovor na terapiju

Odgovor na terapiju	GCB podtipovi				non-GCB podtipovi					P
	CD10+, MUM1-, bcl6+	CD10+, MUM1-, bcl6-	CD10+, MUM1-, bcl6+	CD10+, MUM1-, bcl6-	CD10-, MUM1+, bcl6+	CD10-, MUM1+, bcl6-	CD10-, MUM1-, bcl6+	CD10-, MUM1-, bcl6-	CD10-, MUM1-, bcl6-	
Da	0	2 (66,70)	1 (33,30)	2 (66,70)	9 (90,00)	1 (100,00)	12 (70,60)	7 (77,80)	4 (80,00) †	0,129
Ne	3 (100,00)	1 (33,30)	2 (66,70)	1 (33,30)	1 (10,00)	0	5 (29,40)	2 (22,20)	1 (20,00)	

† - n (%), X^2 – Hi kvadrat test

5. Rezultati

5.2.3. Rezultati odgovora na terapiju u odnosu na biohemijske i kliničke parametre

U analizi rezultata biohemijskih i kliničkih parametara koji se standardno ispituju kod DLBCL, prvo je urađena klasična analiza u odnosu na odgovor na terapiju, a zatim analiza koja razmatra povezanost biomarkera sa biohemijskim i kliničkim parametrima.

5.2.3.1. Opšta analiza odgovora na terapiju u odnosu na biohemijske i kliničke parametre

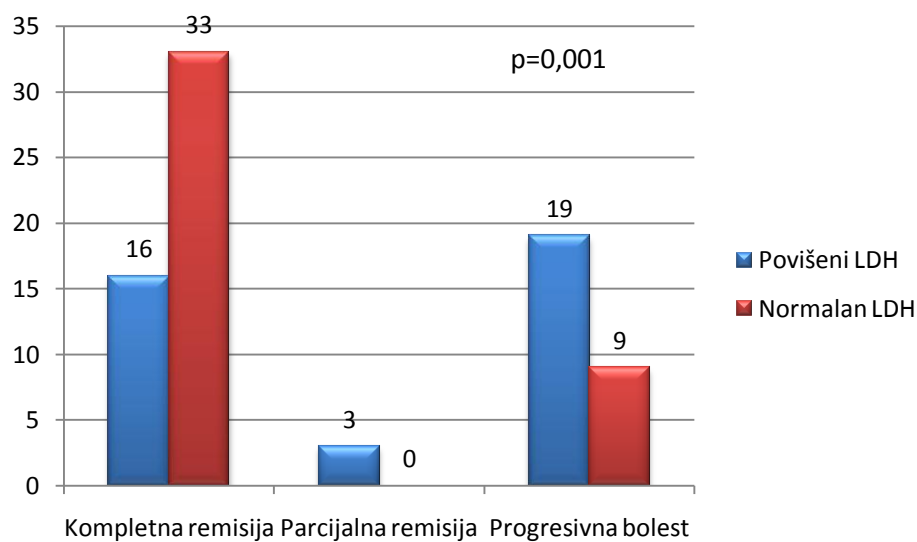
Povišene vrednosti LDH statistički značajno su se najređe javljale kod bolesnika koji su imali kompletnu remisiju ($p=0,001$) (**Grafikon 13**). Smanjena vrednost albumina statistički značajno najređe javljala se kod bolesnika sa kompletnom remisijom ($p=0,041$) (**Grafikon 14**). Učestalost povišenih vrednosti beta 2 MG i smanjenih vrednosti hemoglobina statistički značajno se ne razlikuje u odnosu na odgovor na terapiju ($p=0,348$, odnosno, $p=0,115$) (**Tabela 33**).

Tabela 33. Biohemijski parametru u odnosu na odgovor na terapiju

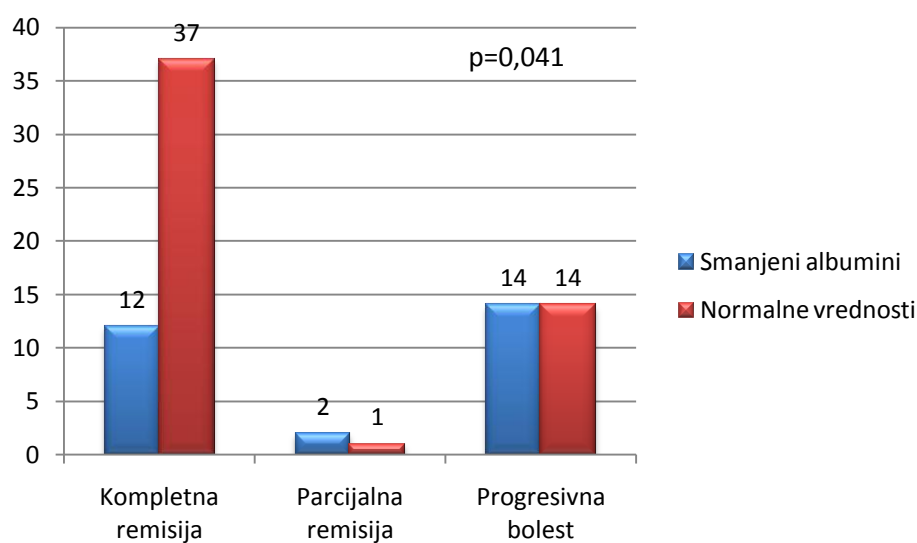
Biohemijski markeri	Odgovor na terapiju			X^2	p
	Kompletna remisija	Parcijalna remisija	Progresija bolesti		
Povišeni LDH	16 (32,70)	3 (100)	19 (67,90) †	13,633	0,001*
Smanjeni albumin	12 (24,50)	2 (66,70)	14 (50,00)	6,403	0,041*
Povišen beta2MG	20 (54,10)	2 (66,70)	16 (72,70)	2,111	0,348
Smanjeni Hgb	18 (36,70)	1 (33,30)	17 (60,70)	4,325	0,115

† - n (%), X^2 – Hi kvadrat test, * statistički značajno

5. Rezultati



Grafikon 13. Učestalost povišenih vrednosti LDH u odnosu na odgovor na terapiju



Grafikon 14. Učestalost smanjenih vrednosti albumina u odnosu na odgovor na terapiju

5. Rezultati

B simptomi bili su prisutni kod 36,70% bolesnika sa kompletnom remisijom, 100,00% bolesnika sa parcijalnom remisijom i 78,60% bolesnika sa progresijom bolesti. Utvrđeno je da postoji statistički značajna razlika u učestalosti B simptoma u odnosu na odgovor na terapiju ($X^2=16,919$, $p<0,001$) (**Grafikon 15**).

Koštana srž bila je infiltrisana kod 8 bolesnika (16,30%) sa kompletnom remisijom, 1 bolesnika (33,33%) sa parcijalnom remisijom i 5 bolesnika (17,90%) sa progresijom bolesti. Utvrđeno je da ne postoji statistički značajna razlika u učestalosti infiltracije koštane srži u odnosu na odgovor na terapiju ($X^2=0,486$, $p=0,784$).

„Bulky” bolest bila je prisutna kod 38,80% bolesnika sa kompletnom remisijom, 100,00% bolesnika sa parcijalnom remisijom i 64,30% bolesnika sa progresijom bolesti. Utvrđeno je da postoji statistički značajna razlika u učestalosti „Bulky” bolesti u odnosu na odgovor na terapiju ($X^2=8,967$, $p=0,011$) (**Grafikon 16**).

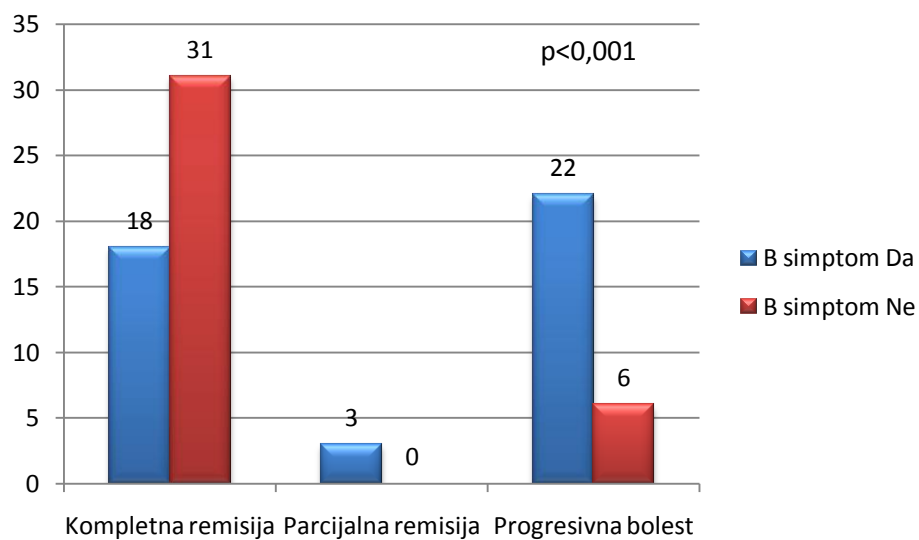
Nodalni oblik bio je prisutan kod 25 bolesnika (51,00%) sa kompletnom remisijom, 1 bolesnika (33,33%) sa parcijalnom remisijom i 14 bolesnika (50,00%) sa progresijom bolesti. Ekstranodalni tip bio je prisutan kod 24 bolesnika (49,00%) sa kompletnom remisijom, 2 bolesnika (66,67%) sa parcijalnom remisijom i 14 bolesnika (50,00%) sa progresijom bolesti. Utvrđeno je da ne postoji statistički značajna razlika u odgovoru na terapiju u zavisnosti od nodalne odnosno ekstranodalne prezentacije DLBCL ($X^2=0,360$, $p=0,835$) (**Tabela 34**).

Tabela 34. Klinički parametri u odnosu na odgovor na terapiju

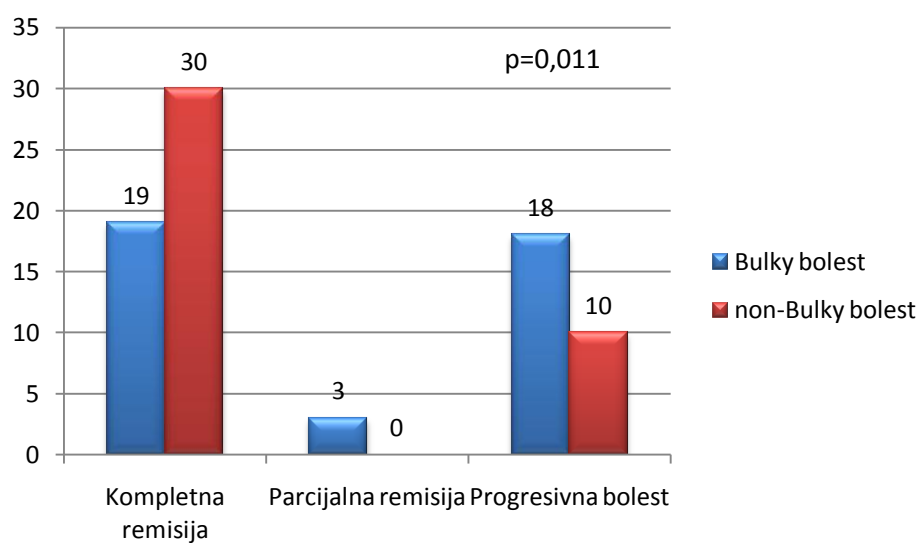
Klinički parametri	Odgovor na terapiju			X^2	p
	Kompletna remisija	Parcijalna remisija	Progresija bolesti		
Prisustvo B simptoma	18 (36,70)	3 (100,00)	22 (78,60) †	16,919	<0,001*
Infiltrisana koštana srž	8 (16,30)	1 (33,30)	5 (17,90)	0,486	0,784
Prisustvo Bulky bolesti	19 (38,80)	3 (100,00)	18 (64,30)	8,967	0,011*
Nodalni oblik	25 (51,00)	1 (33,30)	14 (50,00)	0,360	0,835

† - n (%), X^2 – Hi kvadrat test, * statistički značajno

5. Rezultati



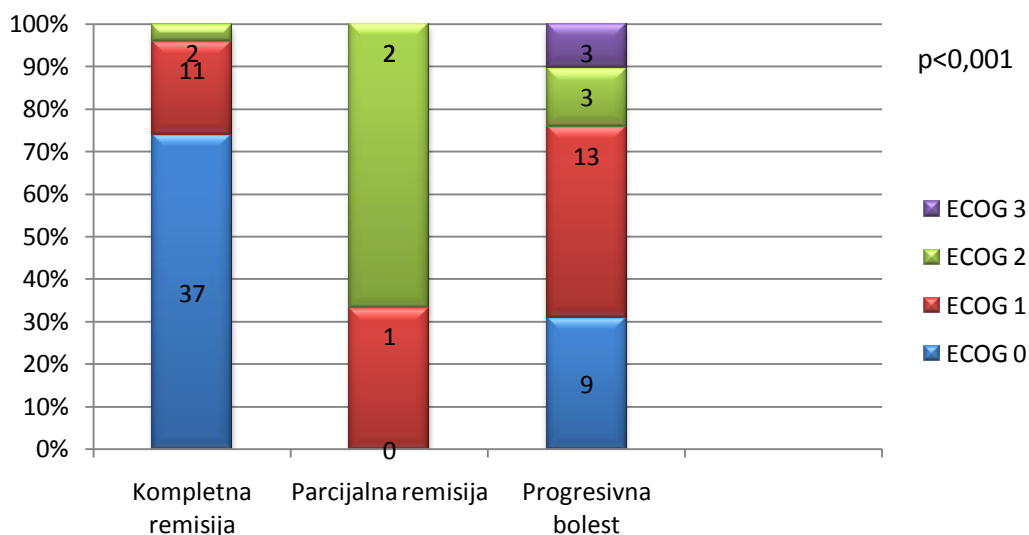
Grafikon 15. Učestalost B simptoma u odnosu na odgovor na terapiju



Grafikon 16. Učestalost „Bulky” bolesti u odnosu na odgovor na terapiju

5. Rezultati

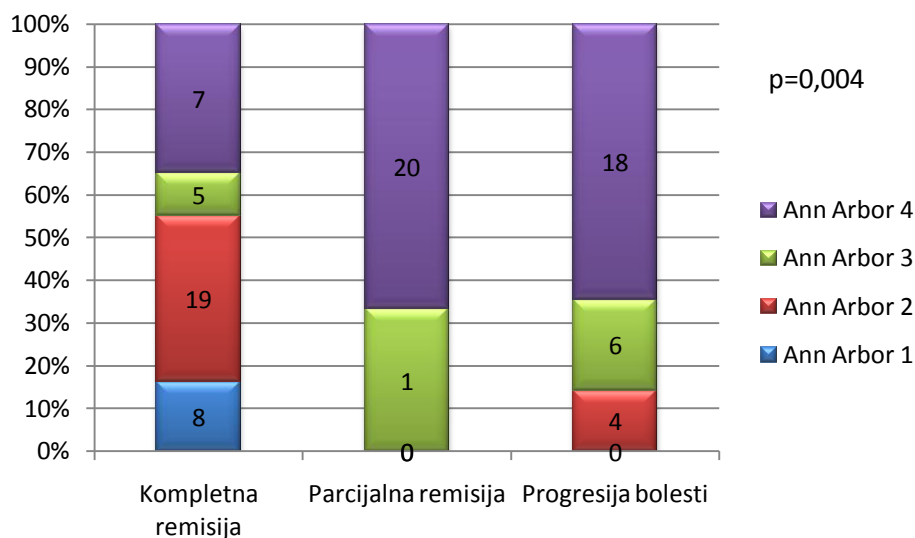
U analizi ECOG PS nađeno je da je statistički češće bio prisutan nizak ECOG PS kod bolesnika koji su postizali kompletnu remisiju ($p < 0.001$) (**Grafikon 17**).



Grafikon 17. Učestalost ECOG PS u odnosu na odgovor na terapiju

Kod bolesnika sa kompletnom remisijom najčešće je bio prisutan Ann Arbor 2 klinički stadijum bolesti (38,80%). Kod bolesnika sa parcijalnom remisijom najčešće je bio prisutan Ann Arbor 4 klinički stadijum bolesti (66,67%), kao i kod bolesnika sa progresijom bolesti (64,30%). Utvrđeno je da postoji statistički značajna razlika u zavisnosti od Ann Arbor kliničkog stadijuma u odnosu na odgovor na terapiju ($p=0,004$) (**Grafikon 18**).

5. Rezultati



Grafikon 18. Učestalost Ann Arbor kliničkog stadijuma u odnosu na odgovor na terapiju

5.2.3.2. Analiza biohemijskih i kliničkih parametara u odnosu na pojedinačne biomarkere, Hansov, Murisov algoritam, kao i supkategorijske analize po Hansovom algoritmu

Povišeni LDH imalo je 47,40% bolesnika sa CD10- i 41,20% bolesnika sa CD10+. Utvrđeno je da ne postoji statistički značajna razlika u učestalosti povišenih vrednosti LDH u odnosu na CD10 biomarker ($p=0,863$).

Smanjene vrednosti albumina bile su prisutne kod 38,60% bolesnika sa CD10- i 23,50% bolesnika sa CD10+. Utvrđeno je da ne postoji statistički značajna razlika u učestalosti smanjenih vrednosti albumina u odnosu na CD10 biomarker ($p=0,394$).

Povišene vrednosti beta 2 MG bile su prisutne kod 59,50% bolesnika sa CD10- i 64,30% bolesnika sa CD10+. Utvrđeno je da ne postoji statistički značajna razlika u učestalosti povišenih vrednosti beta2MG u odnosu na CD10 biomarker ($p=0,998$).

Smanjeni vrednosti hemoglobina bile su prisutne kod 45,60% bolesnika sa CD10- i 41,20% bolesnika sa CD10+. Utvrđeno je da ne postoji statistički značajna razlika u učestalosti smanjenih vrednosti hemoglobina u odnosu na CD10 biomarker ($p=0,964$) (Tabela 35).

5. Rezultati

Tabela 35. Biohemijski parametri u odnosu na CD10 biomarker

Biohemijski parametri	CD10		X ²	p
	CD10-	CD10+		
Povišeni LDH	27 (47,40)	7 (41,20) †	0,030	0,863
Smanjeni albumin	22 (38,60)	4 (23,50)	0,727	0,394
Povišen beta2MG	25 (59,50)	9 (64,30)	0,001	0,998
Smanjeni Hgb	26 (45,60)	7 (41,20)	0,002	0,964

† - n (%), X² – Hi kvadrat test

Povišeni LDH imalo je 39,30% bolesnika sa MUM1- i 51,20% bolesnika sa MUM1+. Utvrđeno je da ne postoji statistički značajna razlika u učestalosti povišenih vrednosti LDH u odnosu na MUM1 biomarker (p=0,465).

Smanjene vrednosti albumina bile su prisutne kod 17,90% bolesnika sa MUM1- i 46,30% bolesnika sa MUM1+. Utvrđeno je da postoji statistički značajna razlika u učestalosti smanjenih vrednosti albumina u odnosu na MUM1 biomarker (p=0,029) (**Grafikon 19**).

Povišene vrednosti beta 2 MG bile su prisutne kod 59,50% bolesnika sa MUM1- i 61,30% bolesnika sa MUM1+. Utvrđeno je da ne postoji statistički značajna razlika u učestalosti povišenih vrednosti beta2MG u odnosu na MUM1 biomarker (p=0,998).

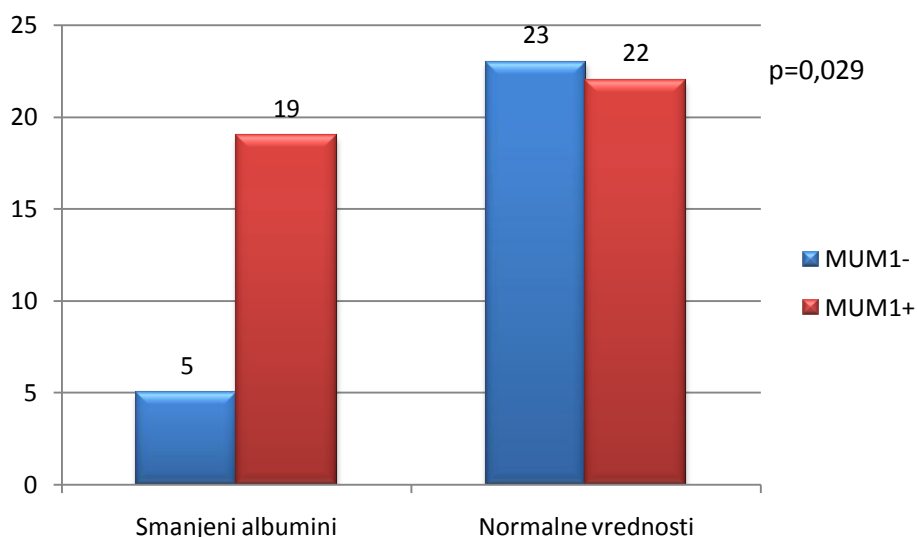
Smanjeni vrednosti hemoglobina bile su prisutne kod 39,30% bolesnika sa MUM1- i 46,30% bolesnika sa MUM1+. Utvrđeno je da ne postoji statistički značajna razlika u učestalosti smanjenih vrednosti hemoglobina u odnosu na MUM1 biomarker (p=0,739) (**Tabela 36**).

Tabela 36. Biohemijski parametri u odnosu na MUM1 biomarker

Biohemijski parametri	MUM1		X ²	p
	MUM1-	MUM1+		
Povišeni LDH	11 (39,30)	21(51,20) †	0,533	0,465
Smanjeni albumin	5 (17,90)	19(46,30)	4,761	0,029*
Povišen beta2MG	13 (59,10)	19(61,30)	0,001	0,998
Smanjeni Hgb	11 (39,30)	19(46,30)	0,111	0,739

† - n (%), X² – Hi kvadrat test, * statistički značajno

5. Rezultati



Grafikon 19. Učestalost smanjenih vrednosti albumina u odnosu na MUM1 biomarker

Povišene vrednosti LDH bile su najčešće kod bolesnika sa bcl6- (66,70%). Utvrđeno je da postoji statistički značajna razlika u učestalosti povišenih vrednosti LDH u odnosu na bcl6 biomarker ($p=0,037$) (**Grafikon 20**).

Smanjene vrednosti albumina bile su najčešće prisutne kod bolesnika sa bcl6-, a najređe kod bolesnika sa bcl6+. Utvrđeno je da ne postoji statistički značajna razlika u učestalosti smanjenih vrednosti albumina u odnosu na bcl6 biomarker ($p=0,588$).

Povišene vrednosti beta 2 MG bile su najčešće prisutne kod bolesnika sa bcl6-. Utvrđeno je da ne postoji statistički značajna razlika u učestalosti povišenih vrednosti beta 2 MG u odnosu na bcl6 marker ($p=0,674$).

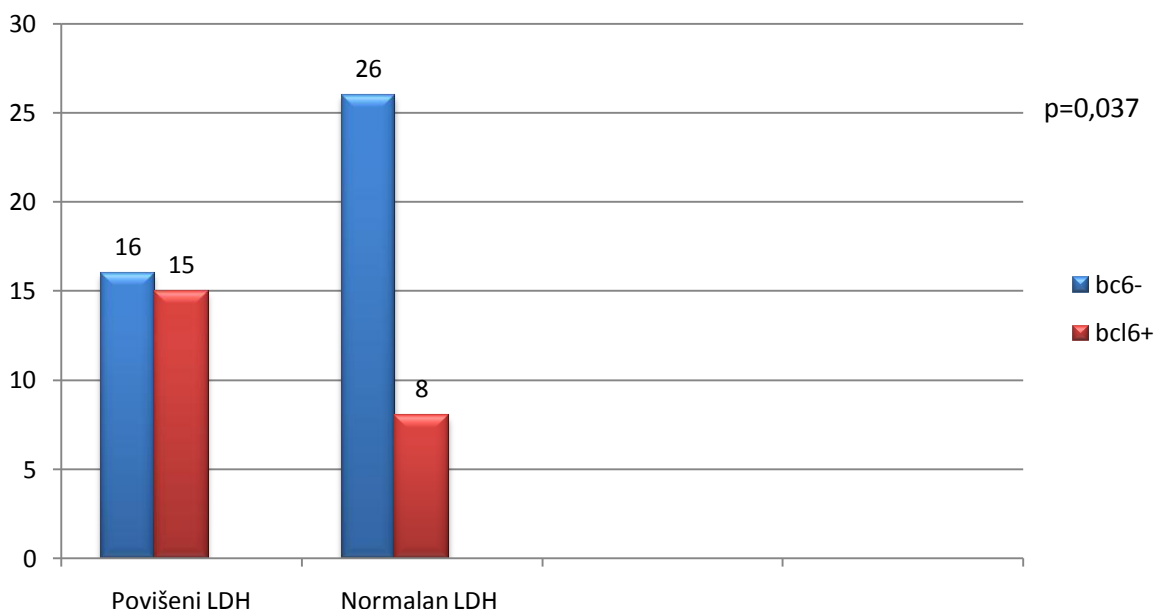
Smanjene vrednosti hemoglobina bile su ujednačeno raspoređene u obe grupe. Utvrđeno je da ne postoji statistički značajna razlika u učestalosti smanjenih vrednosti hemoglobina u odnosu na bcl6 biomarker ($p=0,999$) (**Tabela 37**).

5. Rezultati

Tabela 37. Biohemijski parametri u odnosu na bcl6 biomarker

Biohemijski parametri	bcl6		X ²	p
	bcl6+	bcl6-		
Povišeni LDH	15 (36,60)	16 (66,70) †	4,351	0,037*
Smanjeni albumini	13 (31,70)	10 (41,70)	0,293	0,588
Povišen beta2MG	18 (56,20)	12 (66,70)	0,177	0,674
Smanjeni Hgb	17 (41,50)	10 (41,70)	0,001	0,999

† - n (%), X² – Hi kvadrat test, * statistički značajno



Grafikon 20. Učestalost povišenih vrednosti LDH u odnosu na bcl6 biomarker

Povišene vrednosti LDH bile su najčešće kod bolesnika sa bcl2+ (69,40%). Utvrđeno je da ne postoji statistički značajna razlika u učestalosti povišenih vrednosti LDH u odnosu na bcl2 biomarker (p=0,930).

Smanjene vrednosti albumina bile su najčešće prisutne kod bolesnika sa bcl2-. Utvrđeno je da postoji statistički značajna razlika u učestalosti smanjenih vrednosti albumina u odnosu na bcl2 biomarker (p=0,041) (**Grafikon 21**).

5. Rezultati

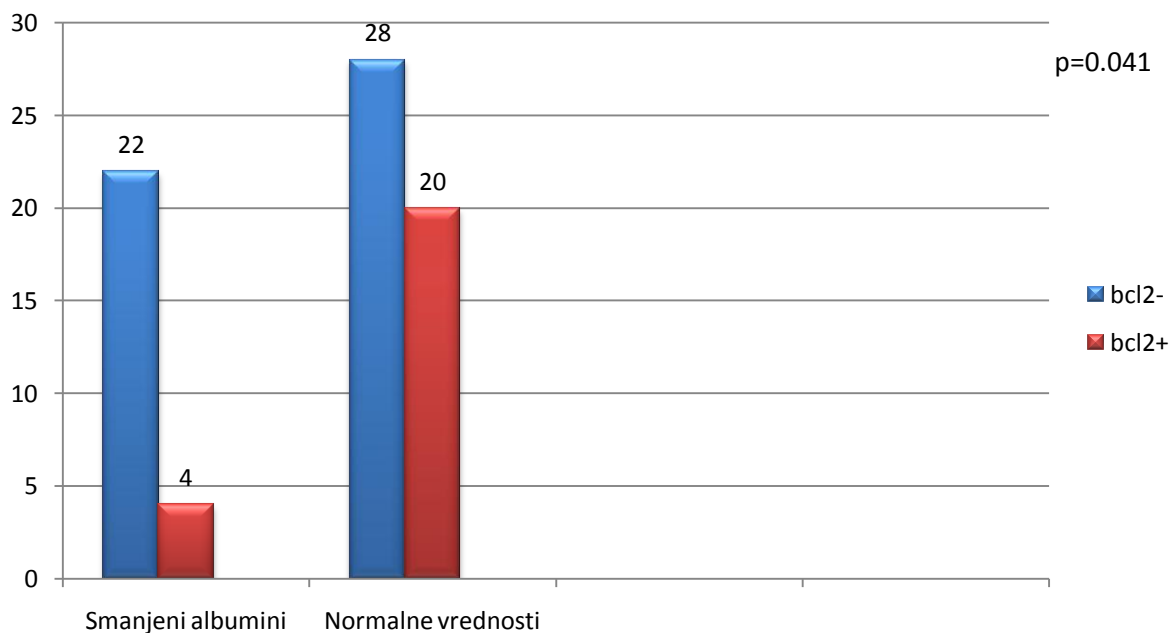
Povišene vrednosti beta2 MG bile su najčešće prisutne kod bolesnika sa bcl2+. Utvrđeno je da ne postoji statistički značajna razlika u učestalosti povišenih vrednosti beta 2 MG u odnosu na bcl2 biomarker ($p=0,834$).

Smanjene vrednosti hemoglobina bile su najčešće prisutne kod bolesnika sa bcl2-, a najređe kod bolesnika sa bcl2+. Utvrđeno je da ne postoji statistički značajna razlika u učestalosti povišenih vrednosti hemoglobina u odnosu na bcl2 biomarker ($p=0,052$) (**Tabela 38**).

Tabela 38. Biohemijski parametri u odnosu na bcl2 biomarker

Biohemijski parametri	bcl2		X^2	p
	bcl2+	bcl2-		
Povišeni LDH	11(45,80)	25 (69,40) †	0,008	0,930
Smanjeni albumini	4 (16,70)	22 (44,00)	4,184	0,041*
Povišen beta2MG	10(55,60)	25 (62,50)	0,044	0,834
Smanjeni Hgb	6 (25,00)	26 (52,00)	3,779	0,052

† - n (%), X^2 – Hi kvadrat test, * statistički značajno



Grafikon 21. Učestalost smanjenih vrednosti albumina u odnosu na bcl2 biomarker

Povišeni LDH imalo je 36,80% bolesnika sa GCB i 50,10% bolesnika sa non-GCB. Utvrđeno je da ne postoji statistički značajna razlika u učestalosti povišenih vrednosti LDH u odnosu na Hansov algoritam ($p=0,441$).

5. Rezultati

Smanjene vrednosti albumina bile su prisutne kod 21,10% bolesnika sa GCB i 42,20% bolesnika sa non-GCB. Utvrđeno je da ne postoji statistički značajna razlika u učestalosti smanjenih albumina u odnosu na Hansov algoritam ($p=0,184$).

Povišene vrednosti beta 2 MG bile su prisutne kod 60,00% bolesnika sa GCB i 62,90% bolesnika sa non-GCB. Utvrđeno je da ne postoji statistički značajna razlika u učestalosti povišenih vrednosti beta2MG u odnosu na Hansov algoritam ($p=0,849$).

Smanjene vrednosti hemoglobina bile su prisutne kod 31,60% bolesnika sa GCB i 46,70% bolesnika sa non-GCB. Utvrđeno je da ne postoji statistički značajna razlika u učestalosti smanjenih vrednosti hemoglobina u odnosu na Hansov algoritam ($p=0,401$) (**Tabela 39**).

Tabela 39. Biohemijski parametri u odnosu na Hansov algoritam

Biohemijski parametri	Hans algoritam		X^2	p
	GCB	Non-GCB		
Povišeni LDH	7 (36,80)	23 (51,10) †	0,594	0,441
Smanjeni albumin	4 (21,10)	19 (42,20)	1,762	0,184
Povišen beta2MG	9 (60,00)	22 (62,90)	0,001	0,849
Smanjeni Hgb	6 (31,60)	21 (46,70)	0,705	0,401

† - n (%), X^2 – Hi kvadrat test

Povišeni LDH imalo je 37,80% bolesnika sa Muris tipom 1 i 57,60% bolesnika sa Muris 2 tipom. Utvrđeno je da ne postoji statistički značajna razlika u učestalosti povišenih vrednosti LDH u odnosu na Murisov skor ($p=0,158$).

Smanjene vrednosti albumina bile su prisutne kod 18,90% bolesnika sa Muris 1 tipom i 54,50% bolesnika sa Muris 2 tipom. Utvrđeno je da postoji statistički značajna razlika u učestalosti smanjenih albumina u odnosu na Murisov skor ($p=0,004$) (**Grafikon 22**).

Povišene vrednosti beta 2 MG bile su prisutne kod 63,30% bolesnika sa Muris 1 tipom i 54,20% bolesnika sa Muris 2 tipom. Utvrđeno je da ne postoji statistički značajna razlika u učestalosti povišenih vrednosti beta 2 MG u odnosu na Murisov skor ($p=0,687$) (**Tabela 40**).

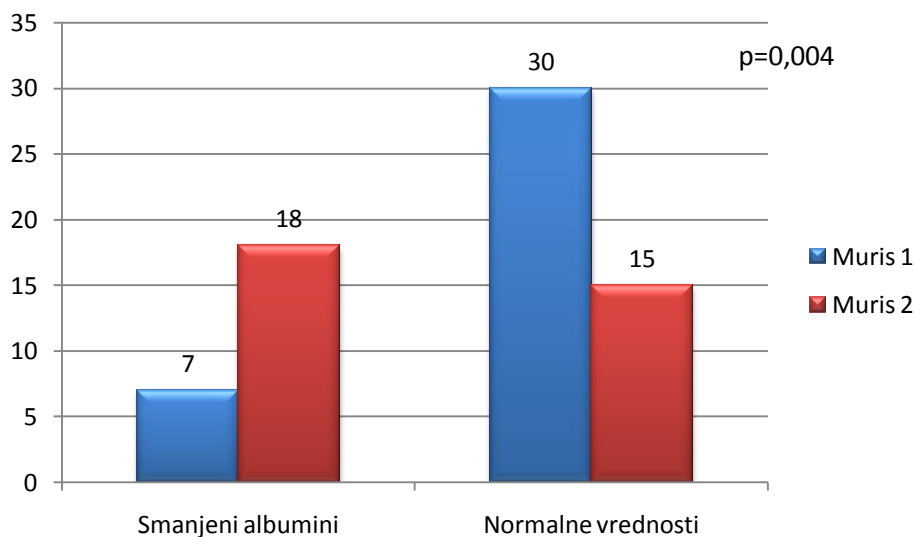
Smanjeni vrednosti hemoglobina bile su prisutne kod 27,00% bolesnika sa Muris tip 1 i 57,60% bolesnika sa Muris tip 2. Utvrđeno je da postoji statistički značajna razlika u učestalosti smanjenih vrednosti hemoglobina u odnosu na Murisov skor ($p=0,019$) (**Grafikon 23**).

5. Rezultati

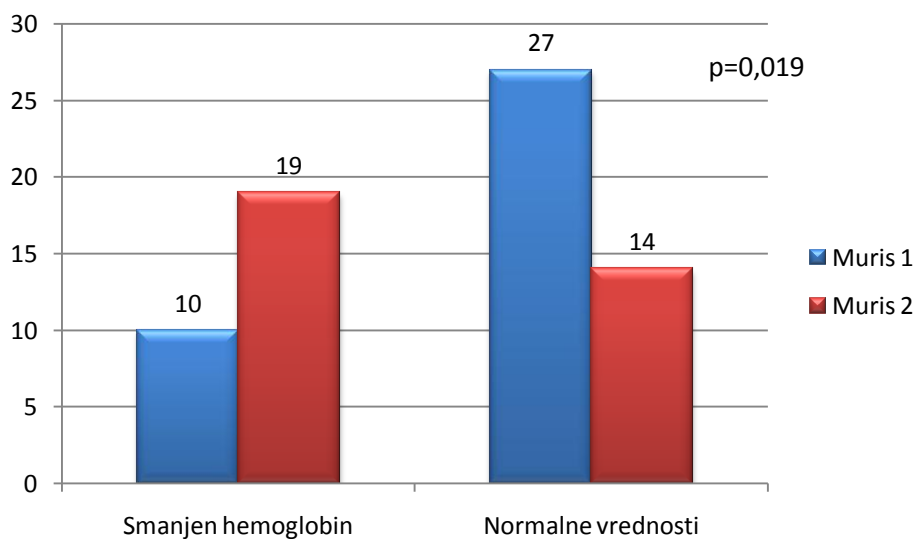
Tabela 40. Biohemijski parametri u odnosu na Murisov skor

Biohemijski parametri	Muris		X^2	p
	Muris 1	Muris 2		
Povišeni LDH	14 (37,80)	19(57,60) †	1,993	0,158
Smanjeni albumin	7 (18,90)	18(54,50)	8,154	0,004*
Povišen beta2MG	19 (63,30)	13(54,20)	0,162	0,687
Smanjeni Hgb	10 (27,00)	19(57,60)	5,509	0,019*

† - n (%), X^2 – Hi kvadrat test, * statistički značajno



Grafikon 22. Učestalost smanjenih vrednosti albumina u odnosu na Murisov skor



Grafikon 23. Učestalost smanjenih vrednosti hemoglobin u odnosu na Murisov skor

5. Rezultati

U odnosu na podgrupe markera ne postoji statistički značajna razlika u odnosu na učestalost povišenih vrednosti LDH ($p=0,144$), smanjenih vrednosti albumina ($p=0,138$), povišenih vrednosti beta 2 MG ($p=0,126$) i smanjenih vrednosti hemoglobina ($p=0,772$) (**Tabela 41**).

Tabela 41. Biohemijski parametri u odnosu na supkategorije biomarkera

Biohemijski markeri	GCB tipovi		non-GCB tipovi			X^2	p
	CD10+, MUM1-, bcl6+	CD10+, MUM1-, bcl6-	CD10-, MUM1+, bcl6+	CD10-, MUM1+, bcl6-	CD10-, MUM1-, bcl6-		
Povišeni LDH	5 (18,50)	2 (7,40)	7 (25,90)	12 (44,40)	1 (3,70) †	6,849	0,144
Smanjeni albumin	3 (14,30)	1 (4,80)	5 (23,80)	12 (57,10)	0	6,970	0,138
Povišen beta2MG	5 (19,20)	2 (7,70)	3 (11,50)	14 (53,80)	2 (7,70)	7,196	0,126
Smanjeni Hgb	2 (8,30)	4 (16,70)	5 (20,80)	11 (45,80)	2 (8,30)	1,801	0,772

† - n (%), X^2 – Hi kvadrat test

U analizi kliničkih parametara sa biomarkerima nađeno je sledeće: B simptomi su se javili kod 56,10% bolesnika sa CD10- i 41,20% bolesnika sa CD10+. „Bulky“ bolest javila se kod 47,40% bolesnika sa CD10- i 52,90% bolesnika sa CD10+. Nodalni oblik prisutan je kod 45,60% bolesnika sa CD10- i 52,90% bolesnika sa CD10+. Ekstranodalni oblik prisutan je kod 54,40% bolesnika sa CD10- i 47,10% bolesnika sa CD10+. Utvrđeno je da ne postoji statistički značajna razlika u učestalosti B simptoma ($p=0,419$), „Bulky“ bolesti ($p=0,899$), nodalnog i ekstranodalnog oblika ($p=0,799$) u odnosu na CD10 biomarker (**Tabela 42**).

Tabela 42. Klinički parametri u odnosu na CD10 biomarker

Klinički parametri	CD 10		X^2	p
	CD10-	CD10+		
B simptomi	32(56,10)	7 (41,20) †	0,653	0,419
Bulky bolest	27(47,40)	9 (52,90)	0,016	0,899
Nodalni oblik	26(45,60)	9 (52,90)	0,065	0,799
Ekstranodalni oblik	31(54,40)	8 (47,10)		

† - n (%), X^2 – Hi kvadrat test

5. Rezultati

I kod bolesnika sa CD10- i kod bolesnika sa CD10+ postoji ujednačena distribucija različitih ECOG PS. Najčešće se u obe grupe javlja ECOG 0, preko 50,00%, a najmanje ECOG 3 (5,30%, odnosno 0,00%). Utvrđeno je da ne postoji statistički značajna razlika u distribuciji različitih ECOG PS u odnosu na CD10 marker ($p=0,388$) (**Tabela 43**).

Tabela 43. ECOG PS u odnosu na CD10 biomarker

ECOG	CD 10		X^2	p
	CD10-	CD10+		
0	33(57,90)	9 (52,90) †	3,021	0,388
1	19(33,30)	6 (35,30)		
2	2 (3,50)	2 (11,80)		
3	3 (5,30)	0		

† - n (%), X^2 – Hi kvadrat test

U obe grupe je ujednačena distribucija Ann Arbor kliničkih stadijuma. Najčešći Ann Arbor u obe grupe je 3 (43,90%, odnosno 58,80%). Utvrđeno je da ne postoji statistički značajna razlika u učestalosti Ann Arbor-a u odnosu na CD10 biomarker ($p=0,658$) (**Tabela 44**).

Tabela 44. Ann Arbor u odnosu na CD10 biomarker

Ann Arbor	CD 10		X^2	p
	CD10-	CD10+		
1	6 (10,50)	2 (11,80) †	1,606	0,658
1	19(33,30)	4 (23,50)		
2	7 (12,30)	1 (5,90)		
3	25 (43,90)	10 (58,80)		

† - n (%), X^2 – Hi kvadrat test

B simptomi javili su se kod 39,30% bolesnika sa MUM1-, i 41,20% bolesnika sa MUM1+. „Bulky“ bolest javila se kod 46,40% bolesnika sa MUM1-, i 51,10% bolesnika sa MUM1+. Nodalni oblik prisutan je kod 46,40% bolesnika sa MUM1-, i 46,30% bolesnika sa MUM1+. Ekstranodalni oblik prisutan je kod 53,60% bolesnika sa MUM1-, i 53,740 bolesnika sa MUM1+. Utvrđeno je da ne postoji statistički značajna razlika u učestalosti B simptoma ($p=0,185$), „Bulky” bolesti ($p=0,884$), nodalnog i ekstranodalnog oblika ($p=0,994$) u odnosu na MUM1 biomarker (**Tabela 45**).

5. Rezultati

Tabela 45. Klinički parametri u odnosu na MUM1 biomarker

Klinički parametri	MUM1		X ²	p
	MUM1-	MUM1+		
B simptomi	11(39,30)	24(58,50) †	1,757	0,185
Bulky bolest	13(46,40)	21(51,10)	0,021	0,884
Nodalni oblik	13(46,40)	19(46,30)	0,001	0,994
Ekstranodalni oblik	15(53,60)	22(53,70)		

† - n (%), X² – Hi kvadrat test

I kod bolesnika sa MUM1- i kod bolesnika sa MUM1+ postoji ujednačena distribucija različitih ECOG PS. Najčešće se u obe grupe javlja ECOG 0, preko 50,00%, u grupi MUM1- 57,10%, a u grupi MUM1+ 53,70%. Utvrđeno je da ne postoji statistički značajna razlika u distribuciji različitih ECOG PS u odnosu na MUM1 biomarker (p=0,345) (**Tabela 46**).

Tabela 46. ECOG PS u odnosu na MUM1 biomarker

ECOG	MUM1		X ²	p
	MUM1-	MUM1+		
0	16(57,10)	22(53,70) †	3,316	0,345
1	10(35,70)	14(34,10)		
2	2 (7,10)	2 (4,90)		
3	0	3 (7,30)		

† - n (%), X² – Hi kvadrat test

U obe grupe je ujednačena distribucija Ann Arbor kliničkih stadijuma. Najčešći Ann Arbor u obe grupe je 3 (46,40%, odnosno 48,80%). Utvrđeno je da ne postoji statistički značajna razlika u učestalosti Ann Arbor-a u odnosu na MUM1 biomarker (p=0,637) (**Tabela 47**).

Tabela 47. Ann Arbor u odnosu na MUM1 biomarker

Ann Arbor	MUM1		X ²	p
	MUM1-	MUM1+		
1	4 (14,30)	3 (7,30) †	1,699	0,637
1	9 (32,40)	12(29,30)		
2	2 (7,10)	6 (14,60)		
3	13 (46,40)	20 (48,80)		

† - n (%), X² – Hi kvadrat test

5. Rezultati

B simptomi javili su se kod 46,30% bolesnika sa bcl6-, i 58,30% bolesnika sa bcl6+., „Bulky“ bolest javila se kod 39,00% bolesnika sa bcl6-, i 62,50% bolesnika sa bcl6+. Nodalni oblik prisutan je kod 48,80% bolesnika sa bcl6-, i 45,80% bolesnika sa bcl6+. Ekstranodalni oblik prisutan je kod 51,20% bolesnika sa bcl6-, i 54,20% bolesnika sa bcl6+. Utvrđeno je da ne postoji statistički značajna razlika u učestalosti B simptoma ($p=0,499$), „Bulky“ bolesti ($p=0,166$), nodalnog i ekstranodalnog oblika ($p=0,818$) u odnosu na bcl6 biomarker (**Tabela 48**).

Tabela 48. Klinički parametri u odnosu na bcl6 biomarker

Klinički parametri	bcl6		X^2	p
	bcl6-	bcl6+		
B simptomi	19(46,30)	14(58,30) †	0,457	0,499
Bulky bolest	16(39,00)	15(62,50)	2,469	0,166
Nodalni oblik	20(48,80)	11(45,80)	0,053	0,818
Ekstranodalni oblik	21(51,20)	13(54,20)		

† - n (%), X^2 – Hi kvadrat test

I kod bolesnika sa bcl6-, i kod bolesnika sa bcl6+ postoji ujednačena distribucija različitih ECOG PS. Najčešće se u obe grupe javlja ECOG 0, preko 50,00%, u grupi bcl6- 63,40%, a u grupi bcl6+ 54,20%. Utvrđeno je da ne postoji statistički značajna razlika u distribuciji različitih ECOG PS u odnosu na bcl6 biomarker ($p=0,159$) (**Tabela 49**).

Tabela 49. ECOG PS u odnosu na bcl6 biomarker

ECOG	bcl6		X^2	p
	bcl6-	bcl6+		
0	26(63,40)	13(54,20)1†	5,177	0,159
1	9 (22,00)	10(41,70)		
2	3 (7,30)	1 (4,20)		
3	3 (7,30)	0		

† - n (%), X^2 – Hi kvadrat test

U obe grupe ujednačena je distribucija Ann Arbor kliničkih stadijuma. Najčešći Ann Arbor u obe grupe je 3 (39,00%, odnosno 58,30%). Utvrđeno je da ne postoji statistički značajna razlika u učestalosti Ann Arbor-a u odnosu na bcl6 biomarker ($p=0,347$) (**Tabela 50**).

5. Rezultati

Tabela 50. Ann Arbor u odnosu na bcl6 biomarker

Ann Arbor	bcl6		X ²	p
	bcl6-	bcl6+		
1	4 (9,80)	3 (12,50)†	3,308	0,347
1	14(34,10)	4 (16,70)		
2	7 (17,10)	3 (12,50)		
3	16 (39,00)	14 (58,30)		

† - n (%), X² – Hi kvadrat test

B simptomi javili su se kod 54,20% bolesnika sa bcl2-, i 54,00% bolesnika sa bcl2+., „Bulky“ bolest javila se kod 45,80% bolesnika sa bcl2-, i 52,00% bolesnika sa bcl2+. Nodalni oblik prisutan je kod 45,80% bolesnika sa bcl2-, i 52,00% bolesnika sa bcl2+. Ekstranodalni oblik prisutan je kod 54,20% bolesnika sa bcl2-, i 48,00% bolesnika sa bcl2+. Utvrđeno je da ne postoji statistički značajna razlika u učestalosti B simptoma (p=0,989), „Bulky” bolesti (p=0,804), nodalnog i ekstranodalnog oblika (p=0,804) u odnosu na bcl2 marker (**Tabela 51**).

Tabela 51. Klinički parametri u odnosu na bcl2 biomarker

Klinički parametri	bcl2		X ²	p
	bcl2-	bcl2+		
B simptomi	13(54,20)	27(54,00) †	0,001	0,989
Bulky bolest	11(45,80)	26(52,00)	0,062	0,804
Nodalni oblik	11(45,80)	26(52,00)	0,062	0,804
Ekstranodalni oblik	13(54,20)	14(48,00)		

† - n (%), X² – Hi kvadrat test

I kod bolesnika sa bcl2-, i kod bolesnika sa bcl2+ postoji ujednačena distribucija različitih ECOG PS. Najčešće se u obe grupe javlja ECOG 0, preko 50,00%, u grupi bcl2- 70,80%, a u grupi bcl2+ 54,00%. Utvrđeno je da ne postoji statistički značajna razlika u distribuciji različitih ECOG PS u odnosu na bcl2 biomarker (p=0,339) (**Tabela 52**).

Tabela 52. ECOG PS u odnosu na bcl2 biomarker

ECOG	bcl2		X ²	p
	bcl2-	bcl2+		
0	17(70,80)	27(54,00)†	3,360	0,339
1	6 (25,00)	16(32,00)		
2	1 (4,20)	5 (10,00)		
3	0	2 (4,00)		

† - n (%), X² – Hi kvadrat test

5. Rezultati

U obe grupe ujednačena je distribucija Ann Arbor kliničkih stadijuma. Najčešći Ann Arbor u obe grupe je 3 (39,00%, odnosno 58,30%). Utvrđeno je da ne postoji statistički značajna razlika u učestalosti Ann Arbora u odnosu na bcl2 biomarker ($p=0,347$) (**Tabela 53**).

Tabela 53. Ann Arbor u odnosu na bcl2 biomarker

Ann Arbor	bcl2		X^2	p
	bcl2-	bcl2+		
1	2 (8,30)	6 (12,00)†	2,145	0,543
1	5 (20,80)	14(28,00)		
2	6 (25,00)	6 (12,00)		
3	11 (45,80)	24 (48,00)		

† - n (%), X^2 – Hi kvadrat test

B simptomi javili su se kod 36,80% bolesnika sa GCB, i 54,00% bolesnika sa non-GCB. „Bulky” bolest javila se kod 42,10% bolesnika sa GCB, i 51,10% bolesnika sa non-GCB. Nodalni oblik prisutan je kod 52,60% bolesnika sa GCB, i 44,40% bolesnika sa non-GCB. Ekstranodalni oblik prisutan je kod 47,40% bolesnika sa GCB i 55,60% bolesnika sa non-GCB. Utvrđeno je da ne postoji statistički značajna razlika u učestalosti B simptoma ($p=0,274$), „Bulky” bolesti ($p=0,700$), nodalnog i ekstranodalnog oblika ($p=0,745$) u odnosu na Hansov algoritam (**Tabela 54**).

Tabela 54. Klinički parametri u odnosu na Hansov algoritam

Klinički parametri	Hans algoritam		X^2	p
	GCB	non-GCB		
B simptomi	7 (36,80)	25(55,60) †	1,198	0,274
Bulky bolest	8 (42,10)	23(51,10)		
Nodalni oblik	10(52,60)	20(44,40)		
Ekstranodalni oblik	9 (47,40)	25(55,60)		

† - n (%), X^2 – Hi kvadrat test

I kod bolesnika sa GCB i kod bolesnika sa non-GCB postoji ujednačena distribucija različitih ECOG PS. Najčešće se u obe grupe javlja ECOG 0, preko 50,00%, u grupi GCB 57,90%, a u grupi non-GCB 53,30%. Utvrđeno je da ne postoji statistički značajna razlika u distribuciji različitih ECOG PS u odnosu na Hansov algoritam ($p=0,400$) (**Tabela 55**).

5. Rezultati

Tabela 55. ECOG PS u odnosu na Hansov algoritam

ECOG	Hans algoritam		X^2	p
	GCB	Non-GCB		
0	11(57,90)	24(53,30)†	2,948	0,400
1	6 (31,60)	16(35,60)		
2	2 (10,50)	2 (4,40)		
3	0	3 (6,70)		

† - n (%), X^2 – Hi kvadrat test

U obe grupe je ujednačena distribucija Ann Arbor kliničkih stadijuma. Najčešći Ann Arbor u obe grupe je 3 (52,60%, odnosno 46,70%). Utvrđeno je da ne postoji statistički značajna razlika u učestalosti Ann Arbora u odnosu na Hansov algoritam ($p=0,511$) (**Tabela 56**).

Tabela 56. Ann Arbor u odnosu na Hansov algoritam

Ann Arbor	Hans algoritam		X^2	p
	GCB	non-GCB		
1	3 (15,80)	3 (6,70)†	2,310	0,511
1	5 (26,30)	15(33,30)		
2	1 (5,30)	6 (13,30)		
3	10 (52,60)	21 (46,70)		

† - n (%), X^2 – Hi kvadrat test

B simptomi javili su se kod 42,90% bolesnika sa Muris skorom 1, i 63,60% bolesnika sa Muris skorom 2. „Bulky” bolest se javila kod 37,10% bolesnika sa Muris skorom 1, i 60,60% bolesnika sa Muris skorom 2. Nodalni oblik je prisutan kod 42,90% bolesnika sa Muris skorom 1,i 48,50% bolesnika sa Muris skorom 2. Ekstranodalni oblik je prisutan kod 57,10% bolesnika sa Muris skorom 1,i 51,50% bolesnika sa Muris skorom 2. Utvrđeno je da ne postoji statistički značajna razlika u učestalosti B simptoma ($p=0,141$), „Bulky” bolesti ($p=0,091$), nodalnog i ekstranodalnog oblika ($p=0,824$) u odnosu na Murisov skor (**Tabela 57**).

Tabela 57. Klinički parametri u odnosu na Murisov skor

Klinički parametri	Muris skor		X^2	p
	1	2		
B simptomi	15(42,90)	21(63,60) †	2,169	0,141
Bulky bolest	13(37,10)	20(60,60)		
Nodalni oblik	15(42,90)	16(48,50)	0,049	0,824
Ekstranodalni oblik	20(57,10)	17(51,50)		

† - n (%), X^2 – Hi kvadrat test

5. Rezultati

I kod bolesnika sa Muris skorom 1 i kod bolesnika sa Muris skorom 2 postoji ujednačena distribucija različitih ECOG PS. Najčešće se u obe grupe javlja ECOG 0 u grupi Muris skorom 1 68,60%, a u grupi Muris skorom 2 48,50%. Utvrđeno je da ne postoji statistički značajna razlika u distribuciji različitih ECOG PS u odnosu na Murisov skor ($p=0,168$) (**Tabela 58**).

Tabela 58. ECOG PS u odnosu na Murisov skor

ECOG	Muris skor		X^2	p
	1	2		
0	24(68,60)	16(48,50)†	5,056	0,168
1	9 (25,70)	13(39,40)		
2	2 (5,70)	2 (6,10)		
3	0	2 (6,10)		

† - n (%), X^2 – Hi kvadrat test

U obe grupe je ujednačena distribucija Ann Arbor kliničkih stadijuma. Najčešći Ann Arbor u obe grupe je 3 (45,70%, odnosno 51,50%). Utvrđeno je da ne postoji statistički značajna razlika u učestalosti Ann Arbor-a u odnosu na Muris skor ($p=0,424$) (**Tabela 59**).

Tabela 59. Ann Arbor u odnosu na Muris skor

Ann Arbor	Muris skor		X^2	p
	1	2		
1	5 (14,300)	2 (6,10)†	2,795	0,424
1	8 (22,90)	11(33,30)		
2	6 (17,10)	3 (9,10)		
3	16 (45,70)	17 (51,50)		

† - n (%), X^2 – Hi kvadrat test

5. Rezultati

U odnosu na ispitivane supkategorije biomarkera nije utvrđena statistički značajna razlika u učestalosti „Bulky” bolesti, infiltracije koštane srži, B simptoma i nodalnog i ekstrapnodalnog oblika bolesti (**Tabela 60**).

Tabela 60. Klinički parametri u odnosu na supkategorije Hansovog algoritma

Klinički parametri	GCB podtipovi		non-GCB podtipovi			X ²	p
	CD10+, MUM1-bcl6+	CD10+, MUM1-bcl6-	CD10-, MUM1+, bcl6+	CD10-, MUM1+, bcl6-	CD10-, MUM1-, bcl6-		
„Bulky” bolest	3 (50,00)	3 (50,00)	6 (54,50)	12 (42,90)	1 (20,00) [†]	1,948	0,745
B simptomi	3 (50,00)	3 (50,00)	6 (54,50)	15 (53,60)	1 (20,00)	2,161	0,706
Nodalni oblik	3,(50,00)	3 (50,00)	5 (45,50)	13 (46,40) ²	2 (40,00)	0,149	0,997
Ekstrapnodalni oblik	3 (50,00)	3 (50,00)	5 (54,50)	15 (53,60)	3 (60,00)		

[†] - n (%), X² – Hi kvadrat test

Učestalost različitih Ann Arbor kliničkih stadijuma statistički značajno se ne razlikuje u odnosu na supkategorije biomarkera (**Tabela 61**).

Tabela 61. Ann Arbor u odnosu na supkategorije Hansovog algoritma

Ann Arbor	GCB podtipovi		non-GCB podtipovi			X ²	p
	CD10+, MUM1-bcl6+	CD10+, MUM1-bcl6-	CD10-, MUM1+, bcl6+	CD10-, MUM1+, bcl6-	CD10-, MUM1-, bcl6-		
1	0	1 (16,70)	2 (18,20)	2 (7,10)	1 (20,00) [†]	14,612	0,263
2	1 (16,70)	1 (16,70)	3 (27,30)	9 (32,10)	3 (60,00)		
3	0	1 (16,70)	0	6 (21,40)	0		
4	5,(83,30)	3 (50,00)	6 (54,50)	11 (39,30)	1 (20,00)		

[†] - n (%), X² – Hi kvadrat test

5. Rezultati

Učestalost različitih ECOG PS statistički značajno se ne razlikuje u odnosu na supkategorije biomarkera (**Tabela 62**).

Tabela 62. ECOG PS u odnosu na supkategorije Hansovog algoritma

ECOG	GCB podtipovi		non-GCB podtipovi			X ²	p
	CD10+, MUM1- bcl6+	CD10+, MUM1- bcl6-	CD10-, MUM1+, bcl6+	CD10-, MUM1+, bcl6-	CD10-, MUM1-, bcl6-		
0	2 (33,30)	3 (50,00)	6 (54,50)	17(60,70)	4 (80,00)†	15,419	0,219
1	4 (66,70)	1 (16,70)	5 (45,50)	7 (25,00)	1 (20,00)		
2	0	2 (33,30)	0	1 (3,60)	0		
3	0	0	0	3 (10,70)	0		

† - n (%), X² – Hi kvadrat test

5.2.4. Analiza odgovora na terapiju u odnosu na biomarkere sa različitim kombinacijama skorova/indeksa prognoze (aaIPI, IPI, R-IPI, NCCN-IPI)

Analiza biomarkera sa aaIPI skorom (bolesnici 18–60 godina): utvrđeno je da ne postoji statistički značajna razlika u odgovoru na terapiju u odnosu na različite kombinacije aaIPI skorova i CD10 biomarkera (p=0,547) (**Tabela 63**).

Tabela 63. Odnos aaIPI/ CD10 biomarkera

Kombinacije	Odgovor na terapiju		X ²	p
	Ne	Da		
aaIPI 0,1 CD10-	3 (25,00)	9 (75,00) †	2,124	0,547
aaIPI ≥ 2 CD10-	4 (28,60)	10 (71,40)		
aaIPI 0,1 CD10+	1 (20,00)	4 (80,00)		
aaIPI ≥ 2 CD10+	2 (66,70)	1 (33,30)		

† - n (%), X² – Hi kvadrat test

5. Rezultati

Utvrđeno je da ne postoji statistički značajna razlika u odgovoru na terapiju u odnosu na različite kombinacije aaIPI skorova i MUM1 biomarkera ($p=0,068$) (**Tabela 64**).

Tabela 64. Odnos aaIPI/ MUM1 biomarkera

Kombinacije	Odgovor na terapiju		X^2	p
	Ne	Da		
aaIPI 0,1 MUM1-	2 (25,00)	6 (75,00) †	7,119	0,068
aaIPI ≥ 2 MUM1-	4 (80,00)	1 (20,00)		
aaIPI 0,1 MUM1+	1 (12,50)	7 (87,50)		
aaIPI ≥ 2 MUM1+	3 (23,10)	10 (76,90)		

† - n (%), X^2 – Hi kvadrat test

Utvrđeno je da ne postoji statistički značajna razlika u odgovoru na terapiju u odnosu na različite kombinacije skorova i bcl6 biomarkera ($p=0,619$) (**Tabela 65**).

Tabela 65. Odnos aaIPI/ bcl6 biomarkera

Kombinacije	Odgovor na terapiju		X^2	p
	Ne	Da		
aaIPI 0,1 bcl6-	1 (11,10)	8 (88,90) †	1,782	0,619
aaIPI ≥ 2 bcl6-	3 (33,30)	6 (66,70)		
aaIPI 0,1 bcl6+	2 (33,30)	4 (66,70)		
aaIPI ≥ 2 bcl6+	2 (33,30)	4 (66,70)		

† - n (%), X^2 – Hi kvadrat test

Utvrđeno je da ne postoji statistički značajna razlika u odgovoru na terapiju u odnosu na različite kombinacije skorova i bcl2 biomarkera ($p=0,428$) (**Tabela 66**).

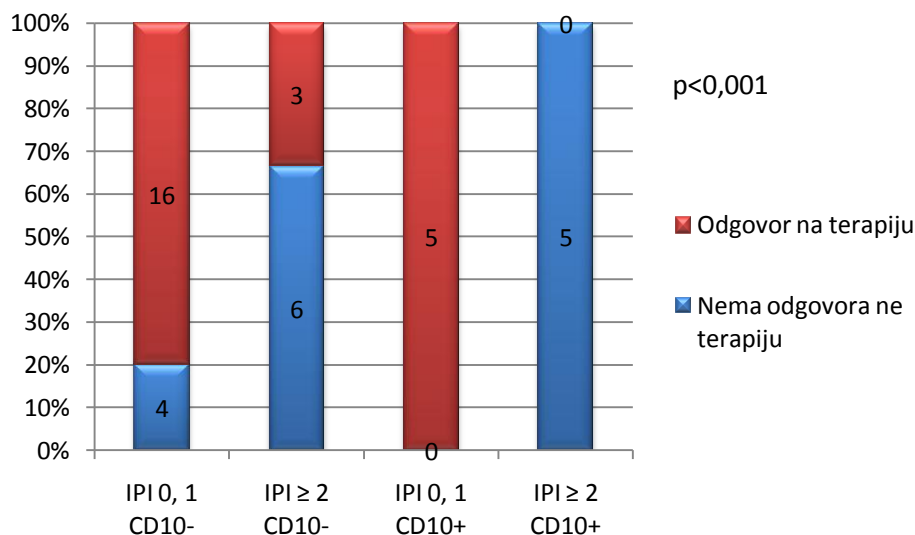
Tabela 66. Odnos aaIPI/ bcl2 biomarkera

Kombinacije	Odgovor na terapiju		X^2	p
	Ne	Da		
aaIPI 0,1 bcl2-	1 (14,30)	6 (85,70) †	2,774	0,428
aaIPI ≥ 2 bcl2-	2 (66,70)	1 (33,30)		
aaIPI 0,1 bcl2+	3 (25,00)	9 (75,00)		
aaIPI ≥ 2 bcl2+	4 (30,80)	9 (69,20)		

† - n (%), X^2 – Hi kvadrat test

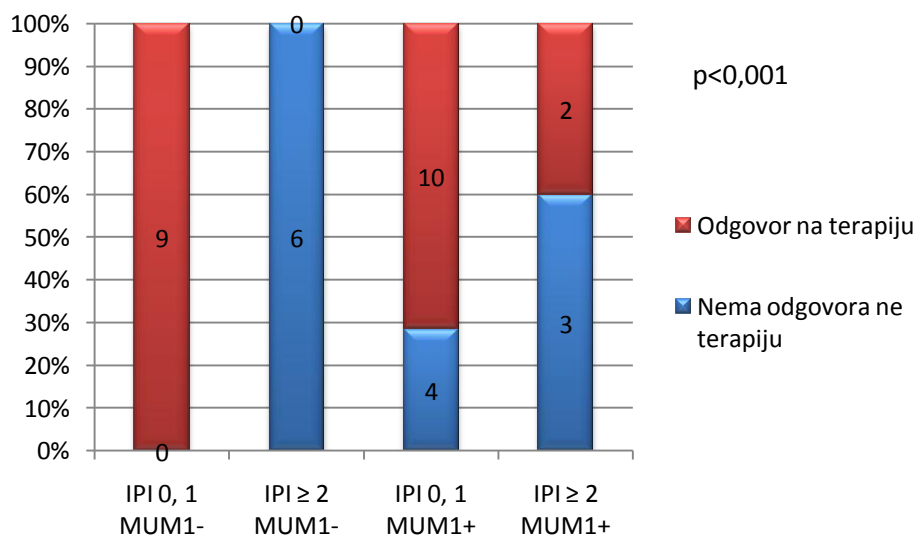
5. Rezultati

Analiza biomarkera sa IPI skorom (bolesnici > 60 godina): Bolesnici sa IPI 0, 1 i CD10- i bolesnici sa IPI 0, 1 i CD10+ imaju statistički značajno bolji odgovor na terapiju ($p < 0.001$) u odnosu na bolesnike visokog IPI skora ≥ 2 (**Grafikon 24**).



Grafikon24. Odnos IPI skor/CD10 biomarker

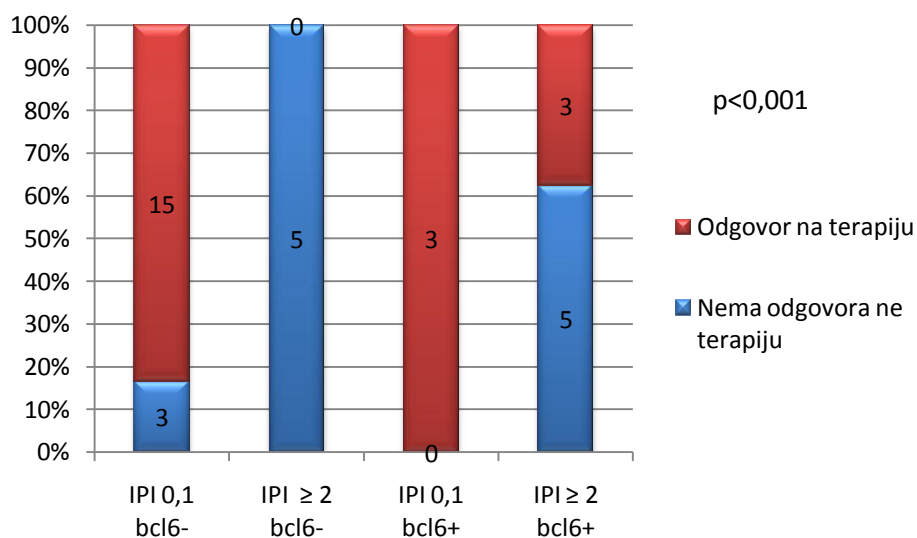
Bolesnici sa IPI 0, 1 i MUM1- i bolesnici sa IPI 0, 1 i MUM1+ imaju statistički značajno bolji odgovor na terapiju ($p < 0.001$) u odnosu na bolesnike visokog IPI skora ≥ 2 (**Grafikon 25**).



Grafikon 25. Odnos IPI skor/MUM1 biomarker

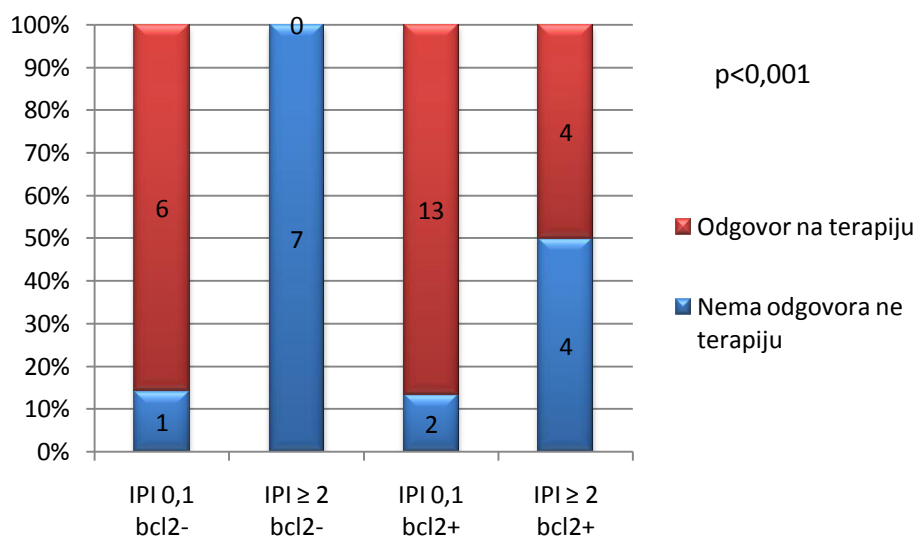
5. Rezultati

Bolesnici sa IPI 0,1 i bcl6- i bolesnici sa IPI 0, 1 i bcl6+ imaju statistički značajno bolji odgovor na terapiju ($p<0,001$) u odnosu na bolesnike visokog IPI skora ≥ 2 (**Grafikon 26**).



Grafikon 26. Odnos IPI skor/bcl6 biomarker

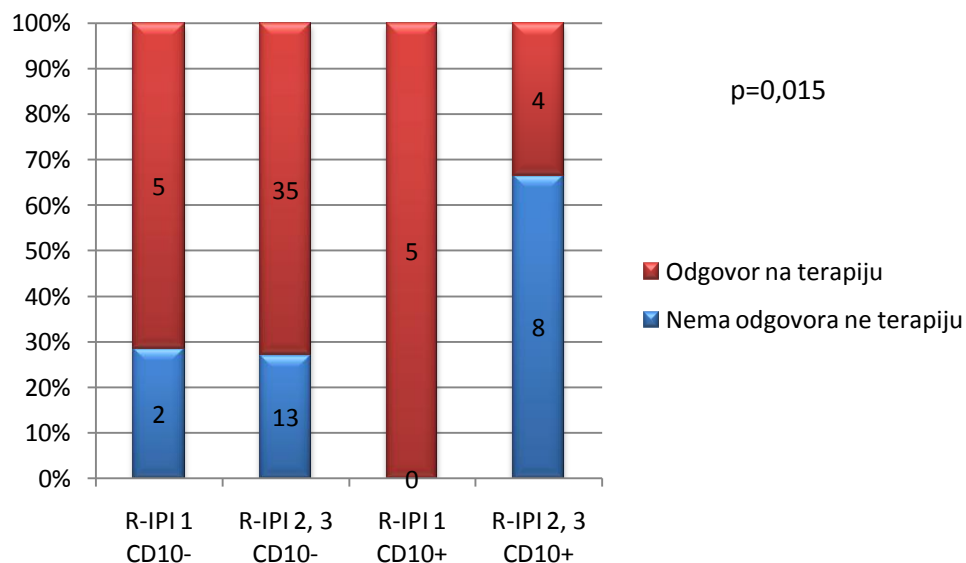
Bolesnici sa IPI 0, 1 i bcl2- i bolesnici sa IPI 0, 1 i bcl2+ imaju statistički značajno bolji odgovor na terapiju ($p<0,001$) u odnosu na bolesnike visokog IPI skora ≥ 2 (**Grafikon 27**).



Grafikon 27. Odnos IPI skor/bcl2 biomarker

5. Rezultati

Bolesnici sa R-IPI 1 i CD10-, bolesnici sa R-IPI 2,3 i CD10-, kao i bolesnici sa R-IPI 1, i CD10+ imaju statistički značajno bolji odgovor na terapiju u odnosu na bolesnike sa R-IPI 2,3 i CD10+ ($p=0,015$) (**Grafikon 28**).



Grafikon 28. Odnos R-IPI skor/CD10 biomarker

Utvrđeno je da ne postoji statistički značajna razlika u odgovoru na terapiju u odnosu na različite kombinacije skorova R-IPI i MUM1 biomarkera ($p=0,127$) (**Tabela 67**).

Tabela 67. Odnos R-IPI/ MUM1 biomarkera

Kombinacije		Odgovor na terapiju		X^2	p
		Ne	Da		
R-IPI 1	MUM1-	2 (25,00)	6 (75,00) †	5,708	0,127
R-IPI 2, 3	MUM1-	10 (50,00)	10 (50,00)		
R-IPI 1	MUM1+	0	3 (100,00)		
R-IPI 2, 3	MUM1+	10 (26,00)	27 (73,00)		

† - n (%), X^2 – Hi kvadrat test

5. Rezultati

Utvrđeno je da ne postoji statistički značajna razlika u odgovoru na terapiju u odnosu na različite kombinacije skorova R-IPI i bcl6 biomarkera ($p=0,239$) (**Tabela 68**).

Tabela 68. Odnos R-IPI/ bcl6 biomarkera

Kombinacije	Odgovor na terapiju		X^2	p
	Ne	Da		
R-IPI 1 bcl6-	1 (16,70)	5 (83,30) †	4,216	0,239
R-IPI 2, 3 bcl6-	10 (29,40)	24 (70,60)		
R-IPI 1 bcl6+	0	3 (100,00)		
R-IPI 2, 3 bcl6+	9 (42,90)	12 (57,10)		

† - n (%), X^2 – Hi kvadrat test

Utvrđeno je da ne postoji statistički značajna razlika u odgovoru na terapiju u odnosu na različite kombinacije skorova R-IPI i bcl2 biomarkera ($p=0,185$) (**Tabela 69**).

Tabela 69. Odnos R-IPI/ bcl2 biomarkera

Kombinacije	Odgovor na terapiju		X^2	p
	Ne	Da		
R-IPI 1 bcl2-	0	2 (100,00) †	4,821	0,185
R-IPI 2, 3 bcl2-	7 (31,80)	15 (68,20)		
R-IPI 1 bcl2+	1 (11,10)	8 (88,90)		
R-IPI 2, 3 bcl2+	16 (40,00)	24 (60,00)		

† - n (%), X^2 – Hi kvadrat test

NCCN-IPI je dihotomiziran kao nizak i nizak intermedijerni vs visok-intermedijerni i visok. Utvrđeno je da ne postoji statistički značajna razlika u odgovoru na terapiju u odnosu na različite kombinacije skorova NCCN-IPI i CD10 biomarkera ($p=0,610$) (**Tabela 70**).

Tabela 70. Odnos NCCN-IPI/ CD10 biomarkera

Kombinacije	Odgovor na terapiju		X^2	p
	Ne	Da		
NCCN-IPI 1, 2 CD10-	11 (29,70)	26 (70,30) †	1,823	0,610
NCCN-IPI 3, 4 CD10-	9 (47,40)	10 (52,60)		
NCCN-IPI 1, 2 CD10+	3 (30,00)	7 (70,00)		
NCCN-IPI 3, 4 CD10+	3 (37,50)	5 (62,50)		

† - n (%), X^2 – Hi kvadrat test

5. Rezultati

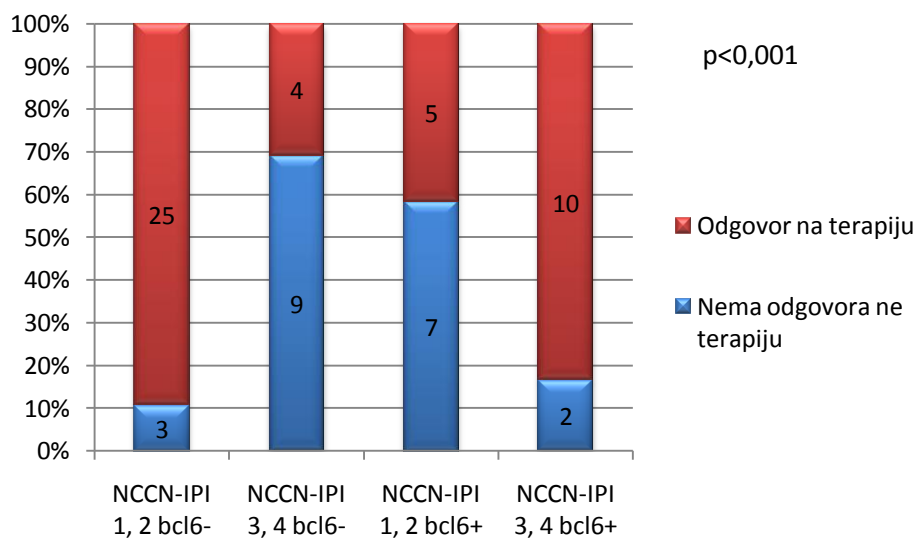
Utvrđeno je da ne postoji statistički značajna razlika u odgovoru na terapiju u odnosu na različite kombinacije skorova NCCN-IPI i MUM1 biomarkera ($p=0,239$) (**Tabela 71**).

Tabela 71. Odnos NCCN-IPI/ MUM1 biomarkera

Kombinacije	Odgovor na terapiju		X^2	p
	Ne	Da		
NCCN-IPI 1, 2 MUM1-	6 (33,30)	12 (66,70) †	3,051	0,384
NCCN-IPI 3, 4 MUM1-	4 (40,00)	6 (60,00)		
NCCN-IPI 1, 2 MUM1+	6 (24,00)	19 (76,00)		
NCCN-IPI 3, 4 MUM1+	8 (50,00)	8 (50,00)		

† - n (%), X^2 – Hi kvadrat test

Bolesnici sa NCCN-IPI 1,2 i bcl6- i bolesnici sa NCCN-IPI 3,4 i bcl6+ imaju statistički značajno bolji odgovor u odnosu na ostale bolesnike ($p<0,001$) (**Grafikon 29**).



Grafikon 29. Odnos NCCN-IPI skor/bcl6 biomarker

5. Rezultati

Utvrđeno je da ne postoji statistički značajna razlika u odgovoru na terapiju u odnosu na različite kombinacije skorova NCCN-IPI i bcl2 biomarkera ($p=0,376$) (**Tabela 72**).

Tabela 72. Odnos NCCN-IPI/ bcl2 biomarkera

Kombinacije	Odgovor na terapiju		X^2	p
	Ne	Da		
NCCN-IPI 1, 2 bcl2-	3 (20,00)	12 (80,00) †	3,105	0,376
NCCN-IPI 3, 4 bcl2-	4 (44,40)	5 (55,60)		
NCCN-IPI 1, 2 bcl2+	9 (30,00)	21 (70,00)		
NCCN-IPI 3, 4 bcl2+	9 (45,00)	11 (55,00)		

† - n (%), X^2 – Hi kvadrat test

Utvrđeno je da ne postoji statistički značajna razlika u odgovoru na terapiju u odnosu na različite kombinacije aaIPI skorova i Hansovog algoritma ($p=0,199$) (**Tabela 73**).

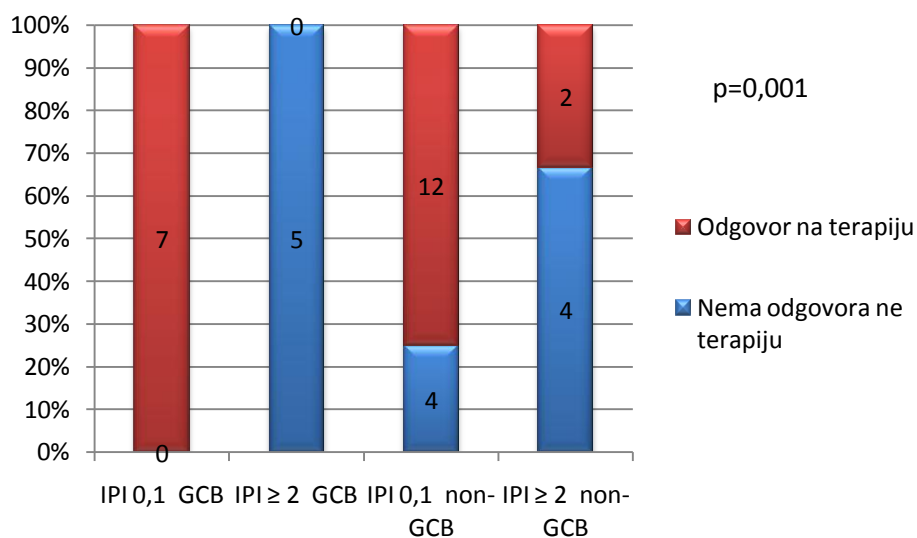
Tabela 73. Odnos aaIPI/ Hans algoritam

Hans algoritam	Odgovor na terapiju		X^2	p
	Ne	Da		
aaIPI 0,1 GCB	0	4 (100,00) †	4,655	0,199
aaIPI ≥ 2 GCB	2 (66,70)	1 (33,30)		
aaIPI 0,1 non-GCB	2 (22,20)	7 (77,80)		
aaIPI ≥ 2 non-GCB	3 (23,10)	10 (76,90)		

† - n (%), X^2 – Hi kvadrat test

5. Rezultati

Bolesnici sa IPI 0,1 i GCB i bolesnici sa IPI 0,1 i non-GCB imali su statistički značajno bolji odgovor na terapiju u odnosu na ostale bolesnike ($p=0,001$) (**Grafikon 30**).



Grafikon 30. Odnos IPI skor/Hans algoritam

Utvrđeno je da ne postoji statistički značajna razlika u odgovoru na terapiju u odnosu na različite kombinacije R-IPI skorova i Hansovog algoritma ($p=0,183$) (**Tabela 74**).

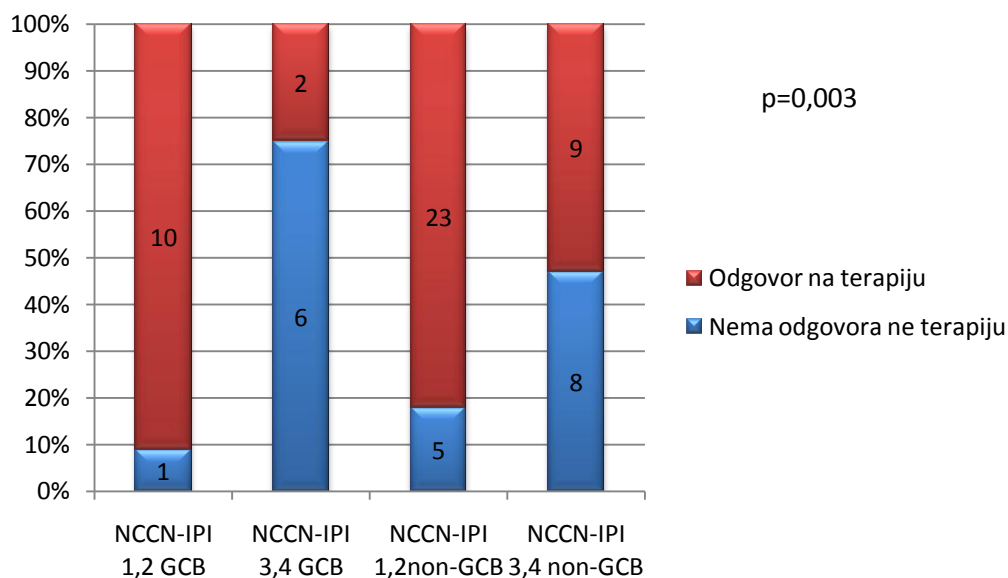
Tabela 74. Odnos R-IPI / Hans algoritam

Hans algoritam	Odgovor na terapiju		X^2	p
	Ne	Da		
R-IPI 1, GCB	0	4 (100,00) †	4,858	0,183
R-IPI 2,3 GCB	7 (46,70)	8 (53,30)		
R-IPI 1, non-GCB	1 (25,00)	3 (75,00)		
R-IPI 2,3 non-GCB	11(27,50)	29(72,50)		

† - n (%), X^2 – Hi kvadrat test

5. Rezultati

Bolesnici sa NCCN-IPI 1,2 i GCB i bolesnici sa NCCN-IPI 1,2 i non-GCB imali su statistički značajno bolji odgovor na terapiju u odnosu na ostale bolesnike ($p=0,003$) (**Grafikon 31**).



Grafikon 31. Odnos NCCN-IPI skor/Hans algoritam

Utvrđeno je da ne postoji statistički značajna razlika u odgovoru na terapiju u odnosu na različite kombinacije aaIPI skorova i Muris skora ($p=0,118$) (**Tabela 75**).

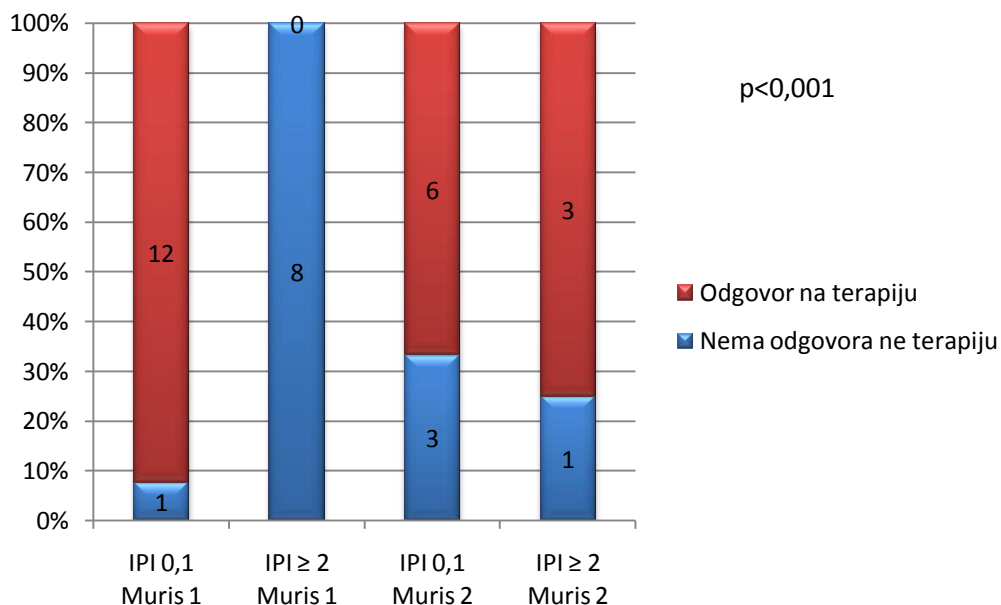
Tabela 75. Odnos aaIPI/ Muris skor

Muris algoritam		Odgovor na terapiju		X^2	p
		Ne	Da		
aaIPI 0,1	Muris 1	1 (10,00)	9 (90,00) †	5,867	0,118
aaIPI ≥ 2	Muris 1	4 (66,70)	2 (33,30)		
aaIPI 0,1	Muris 2	2 (28,60)	5 (71,40)		
aaIPI ≥ 2	Muris 2	3 (25,00)	9 (75,00)		

† - n (%), X^2 – Hi kvadrat test

5. Rezultati

Bolesnici sa IPI 0,1 i Muris 1 i bolesnici sa IPI 0,1 i Muris 2 i bolesnici sa IPI ≥ 2 i Muris 2 imaju statistički značajno bolji odgovor na terapiju u odnosu na bolesnike sa IPI ≥ 2 i Muris 1 ($p < 0,001$) (**Grafikon 32**).



Grafikon 32. Odnos IPI skor/Muris skor

Utvrđeno je da ne postoji statistički značajna razlika u odgovoru na terapiju u odnosu na različite kombinacije R-IPI skorova i Muris skora ($p = 0,052$) (**Tabela 76**).

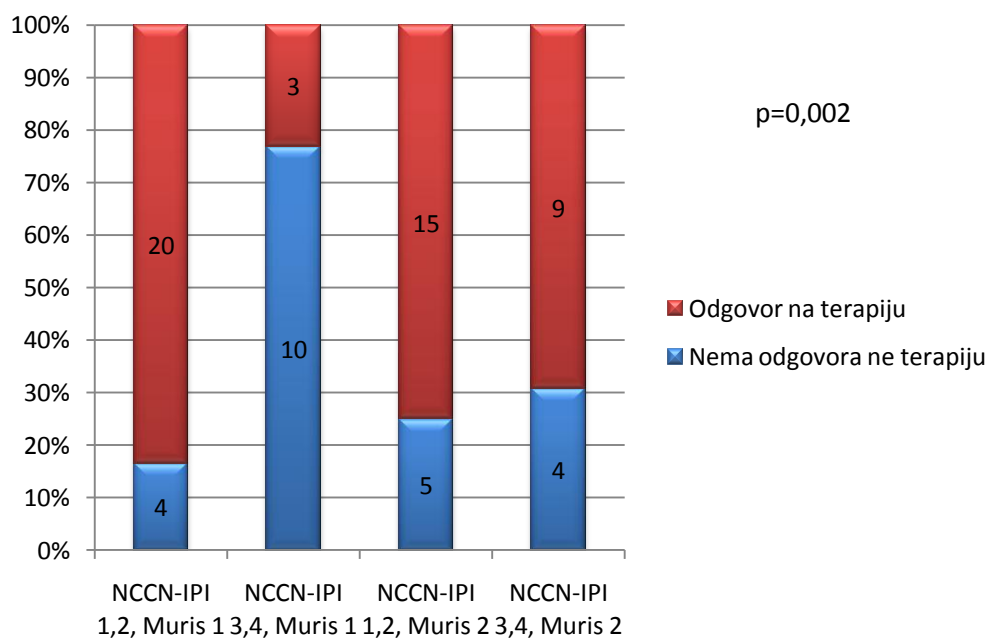
Tabela 76. Odnos R-IPI/ Muris skor

Muris algoritam	Odgovor na terapiju		X^2	p
	Ne	Da		
R-IPI 1, Muris 1	0	6 (100,00) †	7,713	0,052
R-IPI 2,3, Muris 1	14(45,20)	17(54,80)		
R-IPI 1, Muris 2	1 (25,00)	3 (75,00)		
R-IPI 2,3, Muris 2	7 (25,00)	21(75,00)		

† - n (%), X^2 – Hi kvadrat test

5. Rezultati

Bolesnici sa NCCN-IPI 1,2 i Muris 1 i bolesnici sa NCCN-IPI 1,2 i Muris 2, kao i bolesnici sa NCCN-IPI 3,4 i Muris 2 imali su statistički značajno bolji odgovor na terapiju u odnosu na ostale bolesnike ($p=0,002$) (**Grafikon 33**).



Grafikon 33. Odnos NCCN-IPI skor/Muris algoritam

5. Rezultati

Utvrđeno je da ne postoji statistički značajna razlika u odgovoru na terapiju u odnosu na različite kombinacije aaIPI skorova i potkategorije markera (**Tabela 77**).

Tabela 77. Odnos aaIPI/ Hans algoritam (supkategorijska analiza)

Hans algoritam-podgrupe	Odgovor na terapiju		p*
	Ne	Da	
aaIPI 0,1, CD10+, MUM1-, bcl 6+	0	1 (100,00)	0,769*
aaIPI ≥ 2 CD10+, MUM1-, bcl 6+	1 (50,50)	1 (50,00)	0,415*
aaIPI 0,1, CD10-, MUM1+, bcl6-	0	1 (100,00)	0,769*
aaIPI ≥ 2 CD10-, MUM1+, bcl6-	1 (100,00)	0	0,230*
aaIPI 0,1, CD10-, MUM1+, bcl 6+	0	2 (100,00)	0,584*
aaIPI ≥ 2 CD10-, MUM1+, bcl 6+	1 (25,00)	3 (75,00)	0,675*
aaIPI 0,1, CD10-, MUM1+, bcl6-	0	5 (100,00)	0,298
aaIPI ≥ 2 CD10-, MUM1+, bcl6-	2 (25,00)	6 (75,00)	0,621
aaIPI 0,1, CD10-, MUM1-, bcl6-	1 (50,00)	1 (50,00)	0,415
aaIPI ≥ 2 CD10-, MUM1-, bcl6-	0	0	-

* Fisherov test egzaktne verovatnoće

Bolesnici sa IPI ≥ 2 i CD10+, MUM1-, bcl 6+ i bolesnici sa IPI ≥ 2 i CD10-, MUM1+, bcl6- imaju statistički značajno lošiji odgovor na terapiju u odnosu na ostale bolesnike ($p=0,045$, odnosno $p=0.045$) (**Tabela 78**).

Tabela 78. Odnos IPI/ Hans algoritam (supkategorijska analiza)

Hans algoritam-podgrupe	Odgovor na terapiju		p*
	Ne	Da	
IPI 0,1, CD10+, MUM1-, bcl 6+	0	0	-
IPI ≥ 2 CD10+, MUM1-, bcl 6+	3 (100,00)	0	0,045**
IPI 0,1, CD10-, MUM1+, bcl6-	0	2 (100,00)	0,512
IPI ≥ 2 CD10-, MUM1+, bcl6-	2 (100,00)	0	0,135
IPI 0,1, CD10-, MUM1+, bcl 6+	0	3 (100,00)	0,268
IPI ≥ 2 CD10-, MUM1+, bcl 6+	0	1 (100,00)	0,620
IPI 0,1, CD10-, MUM1+, bcl6-	3 (25,00)	9 (75,00)	0,259
IPI ≥ 2 CD10-, MUM1+, bcl6-	3 (100,00)	0	0,045**
IPI 0,1, CD10-, MUM1-, bcl6-	0	3 (100,00)	0,268
IPI ≥ 2 CD10-, MUM1-, bcl6-	0	0	-

* Fisherov test egzaktne verovatnoće, ** statistički značajno

5. Rezultati

Bolesnici sa R-IPI 2,3, CD10+, MUM1-, bcl 6+ imaju statistički značajno lošiji odgovor na terapiju u odnosu na ostale bolesnike (p=0,021) (**Tabela 79**).

Tabela 79. Odnos R-IPI/ Hans algoritam (supkategorijska analiza)

Hans algoritam-podgrupe	Odgovor na terapiju		p*
	Ne	Da	
R-IPI 0,1, CD10+, MUM1-, bcl 6+	0	1 (100,00)	0,709
R-IPI 2 CD10+, MUM1-, bcl 6+	4 (80,00)	1 (20,00)	0,021**
R-IPI 0,1, CD10-, MUM1+, bcl6-	0	1 (100,00)	0,709
R-IPI 2 CD10-, MUM1+, bcl6-	3 (60,00)	2 (40,00)	0,141
R-IPI 0,1, CD10-, MUM1+, bcl 6+	0	1 (100,00)	0,709
R-IPI 2 CD10-, MUM1+, bcl 6+	1 (10,00)	9 (90,00)	0,250
R-IPI 0,1, CD10-, MUM1+, bcl6-	0	2 (100,00)	0,499
R-IPI 2 CD10-, MUM1+, bcl6-	6 (25,00)	18 (75,00)	0,773
R-IPI 0,1, CD10-, MUM1-, bcl6-	1 (50,00)	1 (50,00)	0,501
R-IPI 2 CD10-, MUM1-, bcl6-	1 (25,00)	3 (75,00)	0,669

* Fisherov test egzaktne verovatnoće, ** statistički značajno

Bolesnici sa NCCN-IPI 3,4, CD10+, MUM1-, bcl 6+ i bolesnici sa NCCN-IPI 3,4, CD10-, MUM1+, bcl6- imaju statistički značajno lošiji odgovor u odnosu na ostale bolesnike (p=0,006, odnosno p=0,016). Bolesnici sa NCCN-IPI 1,2, CD10-, MUM1+, bcl6- imaju statistički značajno bolji odgovor na terapiju u odnosu na ostale bolesnike (p=0,013) (**Tabela 80**).

Tabela 80. Odnos NCCN-IPI/ Hans algoritam (supkategorijska analiza)

Hans algoritam-podgrupe	Odgovor na terapiju		p*
	Ne	Da	
NCCN-IPI 1,2, CD10+, MUM1-, bcl 6+	0	2 (100,00)	0,481
NCCN-IPI 3,4, CD10+, MUM1-, bcl 6+	4 (100,00)	0	0,006**
NCCN-IPI 1,2, CD10-, MUM1+, bcl6-	1 (25,00)	3 (75,00)	0,646
NCCN-IPI 3,4, CD10-, MUM1+, bcl6-	2 (100,00)	0	0,088
NCCN-IPI 1,2, CD10-, MUM1+, bcl 6+	1 (14,30)	6 (85,70)	0,421
NCCN-IPI 3,4, CD10-, MUM1+, bcl 6+	0	4 (100,00)	0,302
NCCN-IPI 1,2, CD10-, MUM1+, bcl6-	1 (5,60)	17(94,40)	0,013**
NCCN-IPI 3,4, CD10-, MUM1+, bcl6-	6 (66,70)	3 (33,30)	0,016**
NCCN-IPI 1,2, CD10-, MUM1-, bcl6-	1 (25,00)	3 (75,00)	0,646
NCCN-IPI 3,4, CD10-, MUM1-, bcl6-	1 (50,00)	1 (50,00)	0,518

* Fisherov test egzaktne verovatnoće, ** statistički značajno

5. Rezultati

5.2.5. Rezultati logističke regresione analize

U univarijantnom regresionom modelu (log rank testu) kao statistički značajni nezavisni faktori rizika za loš terapijski odgovor izdvojili su se: povišeni LDH (OR=0,273, p=0,009), smanjeni nivo albumina (OR=0,368, p=0,042), smanjeni nivo hemoglobina (OR=0,373, p=0,041) od biohemijskih parametara i prisustvo B simptoma (OR=2,203, p=0.003) od kliničkih parametara. Biomarkeri samostalno, kao ni u grupnoj analizi se nisu statistički značajno izdvojili kao parametri rizika za loš odgovor na terapiju (**Tabela 81**).

Tabela 81. Univarijantna regresiona analiza faktora rizika u odnosu na odgovor na terapiju

Parametar	OR	95% CI	p
Muški pol	2,133	0,838-5,429	0,112
Starost	0,999	0,970-1,029	0,955
GCB	1,436	0,462-4,460	0,532
CD10+	0,478	0,158-1,449	0,192
MUM1+	2,045	0,739-5,664	0,169
bcl6+	0,690	0,238-2,002	0,494
bcl2+	2,176	0,790-5,991	0,132
Muris 1	1,623	0,589-4,475	0,349
Ki 67	0,985	0,956-1,016	0,343
Povišeni LDH	0,273	0,103-0,722	0,009*
Smanjeni albumin	0,368	0,141-0,964	0,042*
Povišeni beta 2 MG	0,458	0,149-1,413	0,175
Smanjeni hemoglobin	0,373	0,145-0,959	0,041*
Bulky bolest	0,458	0,175-1,200	0,112
B simptomi	0,203	0,70-0,591	0,003*

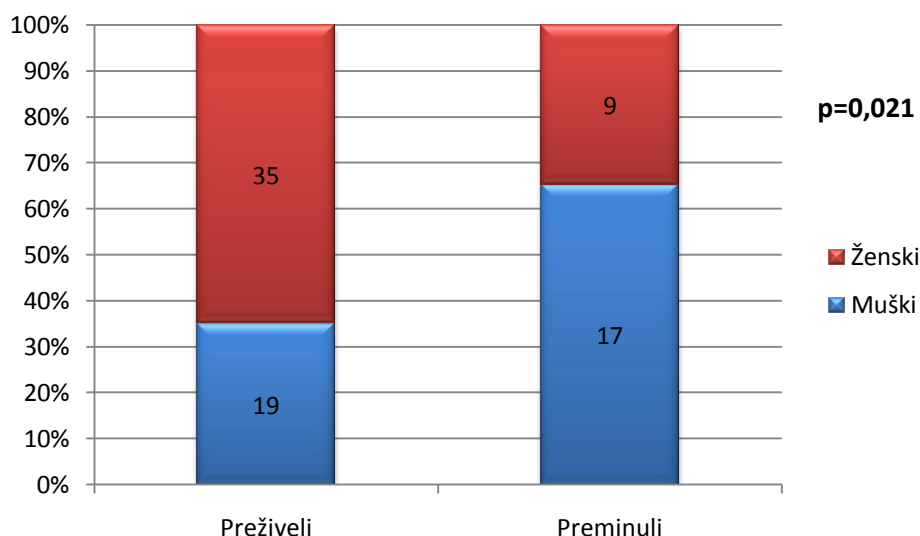
OR – unakrsni odnos, 95%CI – 95% interval poverenja, *statistički značajno

Ovi parametri zatim su ubačeni u multivarijantni model (Cox regresionu analizu), gde se nijedan od testiranih parametara nije izdvojio kao statistički značajan faktor rizika za loš terapijski odgovor.

5. Rezultati

5.3. Rezultati u odnosu na smrtni ishod

U ispitivanoj populaciji umrlo je 26 bolesnika (34,60%). Struktura umrlih prema polu bila je sledeća: 17 bolesnika (65,40%) i 9 bolesnika (34,90%). Utvrđeno je da postoji statistički značajna razlika u učestalosti smrtnog ishoda u odnosu na pol ($X^2=5,304$, $p=0,021$) (**Grafikon 34**).

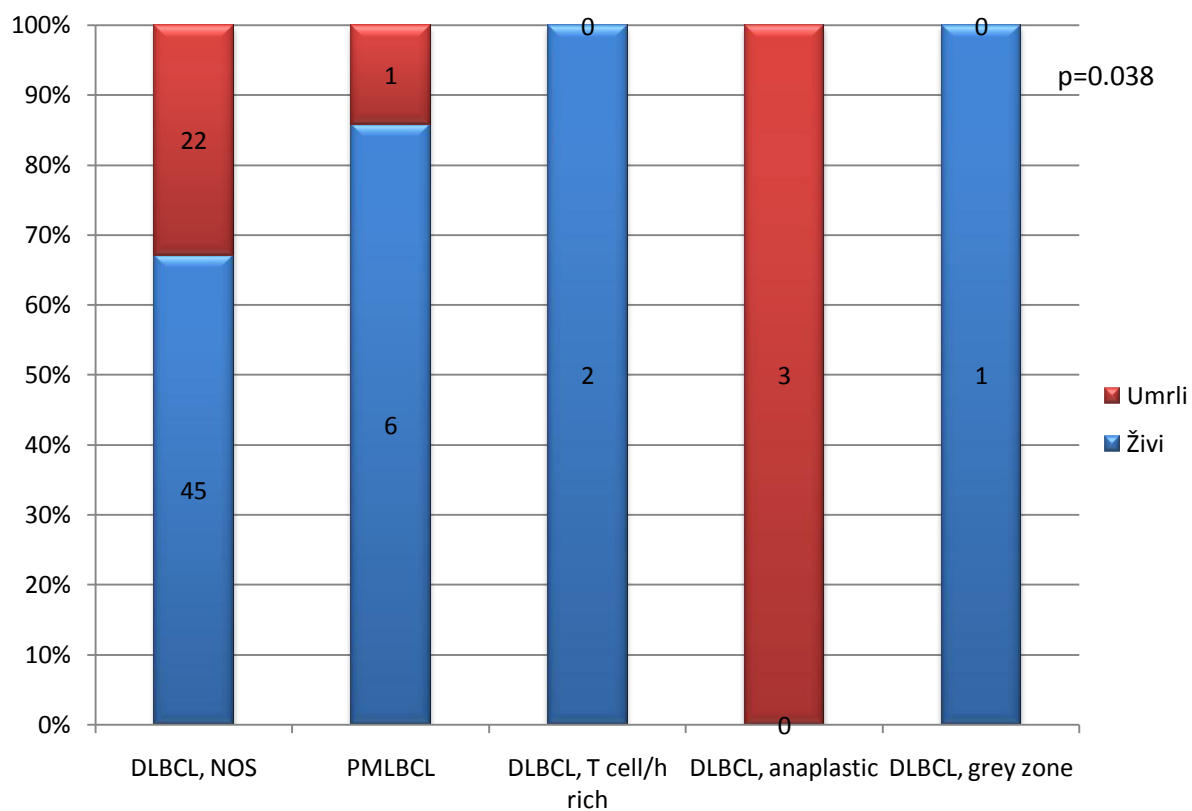


Grafikon 34. Udeo smrtnosti u odnosu na pol

Umrli bolesnici bili su nešto stariji ($58,58 \pm 19,54$) u odnosu na preživjele bolesnike ($57,94 \pm 13,91$), ali nije bilo statistički značajne razlike ($t=0,166$, $p=0,868$).

U grupi preminulih bolesnika bilo je 22 bolesnika sa DLBCL, NOS (84,60%), 1 bolesnik sa PMLBCL (3,80%), 3 bolesnika sa DLBCL anaplastic (11,50%). Utvrđeno je da postoji statistički značajna razlika u smrtnom ishodu u odnosu na tip DLBCL ($X^2=10,328$, $p=0,038$). Smrtni ishod bio je češći kod bolesnika sa anaplastičnim DLBCL tipom (**Grafikon 35**).

5. Rezultati



Grafikon 35. Smrtni ishod u odnosu na DLBCL tip

5. Rezultati

5.3.1. Analiza smrtnog ishoda u odnosu na pojedinačne biomarkere, Hansov, Murisov algoritam i supkategorijska analiza za Hansov algoritam

U grupi umrlih bilo je 24,50% bolesnika sa CD10-, i 52,90% bolesnika sa CD10+. Utvrđeno je da ne postoji statistički značajna razlika u smrtnom ishodu u odnosu na CD10 biomarker ($p=0,055$) (Tabela 82).

Tabela 82. Smrtni ishod u odnosu na CD10 biomarker

Smrtni ishod	CD10		X^2	p
	CD10-	CD10+		
Živi	43 (75,40)	8 (47,10) †	3,688	0,055
Umrli	14(24,60)	9 (52,90)		

† - n (%), X^2 – Hi kvadrat test

U grupi umrlih bilo je 42,90% bolesnika sa MUM1-, i 22,00% bolesnika sa MUM1+. Utvrđeno je da ne postoji statistički značajna razlika u smrtnom ishodu u odnosu na MUM1 biomarker ($p=0,113$) (Tabela 83).

Tabela 83. Smrtni ishod u odnosu na MUM1 biomarker

Smrtni ishod	MUM1		X^2	p
	MUM1-	MUM1+		
Živi	16 (57,10)	32 (78,00) †	2,518	0,113
Umrli	12 (42,90)	9 (22,00)		

† - n (%), X^2 – Hi kvadrat test

U grupi umrlih bilo je 26,80% bolesnika sa bcl6-, i 37,50% bolesnika sa bcl6+. Utvrđeno je da ne postoji statistički značajna razlika u smrtnom ishodu u odnosu na bcl6 biomarker ($p=0,535$) (Tabela 84).

Tabela 84. Smrtni ishod u odnosu na bcl6 biomarker

Smrtni ishod	bcl6		X^2	p
	bcl6-	bcl6+		
Živi	30 (73,20)	15 (62,50) †	0,386	0,535
Umrli	11 (26,80)	9 (37,50)		

† - n (%), X^2 – Hi kvadrat test

5. Rezultati

U grupi umrlih bilo je 45,80% bolesnika sa bcl2-, i 26,00% bolesnika sa bcl2+. Utvrđeno je da ne postoji statistički značajna razlika u odgovoru na terapiju u odnosu na bcl2biomarker ($p=0,150$) (**Tabela 85**).

Tabela 85. Smrtni ishod u odnosu na bcl2 biomarker

Smrtni ishod	bcl2		X^2	p
	bcl2-	bcl2+		
Živi	13(54,20)	37 (74,00) †	2,076	0,150
Umrli	11(45,80)	13(26,00)		

† - n (%), X^2 – Hi kvadrat test

U grupi umrlih bilo je 42,10% bolesnika sa GCB i 24,40% bolesnika sa non-GCB. Utvrđeno je da ne postoji statistički značajna razlika u smrtnom ishodu u odnosu na Hansov algoritam ($p=0,266$) (**Tabela 86**).

Tabela 86. Smrtni ishod u odnosu na Hansov algoritam

Smrtni ishod	Hans algoritam		X^2	p
	GCB	non-GCB		
Živi	11 (57,90)	34 (75,60) †	1,240	0,266
Umrli	8 (42,10)	11(24,40)		

† - n (%), X^2 – Hi kvadrat test

Muris algoritam tip 1 bio je prisutan kod 62,20% živih i 37,80% umrlih bolesnika. Muris algoritam tip 2 registrovan je kod 75,80% živih i 24,20% umrlih bolesnika. Utvrđeno je da ne postoji statistički značajna povezanost između Muris skora i smrtnog ishoda ($p=0,334$) (**Tabela 87**).

Tabela 87. Smrtni ishod u odnosu na Murisov skor

Smrtni ishod	Muris		X^2	p
	1	2		
Živi	23 (62,20)	25 (75,80) †	0,932	0,334
Umrli	14 (37,80)	8 (24,20)		

† - n (%), X^2 – Hi kvadrat test

5. Rezultati

Bolesnici sa CD10+, MUM1-, bcl 6+ i bolesnici sa CD10+, MUM1+, bcl6- imaju statistički značajno češće smrtni ishod u odnosu na ostale bolesnike ($p=0,049$, odnosno $p=0,049$) (**Tabela 88**).

Tabela 88. Supkategorije Hansovog algoritma u odnosu na smrtni ishod

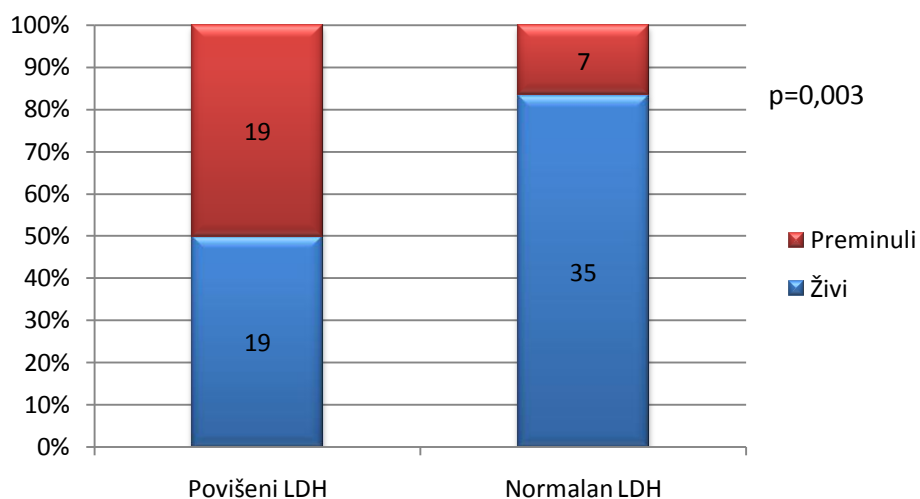
Podgrupe Hans algoritma	Smrtni ishod		p*
	Ne	Da	
GCB CD10+, MUM1-, bcl 6+	2 (33,3)	4 (66,7)	0,049**
CD10+, MUM1-, bcl6-	2 (33,3)	4 (66,7)	0,049**
non- CD10-, MUM1+, bcl 6+	10(90,9)	1 (9,10)	0,149
GCB CD10-, MUM1+, bcl6-	22(78,6)	6 (21,4)	0,375
CD10-, MUM1-, bcl6-	4 (80,0)	1 (20,0)	0,555

* Fisherov test egzaktne verovatnoće, ** statistički značajno

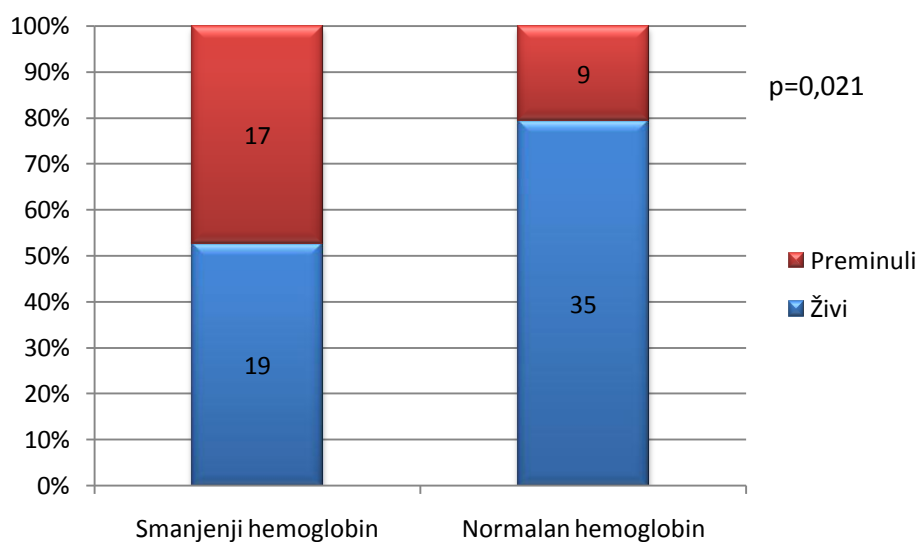
5.3.2. Analiza smrtnog ishoda u odnosu na biohemijske parametre

Povišene vrednosti LDH su se statistički značajno češće javljale kod umrlih bolesnika (73,10% vs 35,20%, $p=0,003$) (**Grafikon 36**). Smanjeni albumini javili su se kod 27,80% preživelih bolesnika i 50,00% umrlih bolesnika. Utvrđeno je da ne postoji statistički značajna razlika u učestalosti smanjenih nivoa albumina u odnosu na smrtni ishod ($p=0,089$). Povišeni beta 2 mikroglobulin bio je prisutan kod 56,10% preživelih i 71,40% umrlih bolesnika. Utvrđeno je da ne postoji statistički značajna razlika u učestalosti povišenih vrednosti ovog biohemijskog parametra u odnosu na smrtni ishod ($p=0,369$). Smanjene vrednosti hemoglobina su statistički značajno češće bile kod umrlih bolesnika (65,40% vs 35,20%, $p=0,021$) (**Grafikon 37**).

5. Rezultati



Grafikon 36. Učestalost povišenih vrednosti LDH u odnosu na smrtni ishod



Grafikon 37. Učestalost smanjenih vrednosti hemoglobina u odnosu na smrtni ishod

5. Rezultati

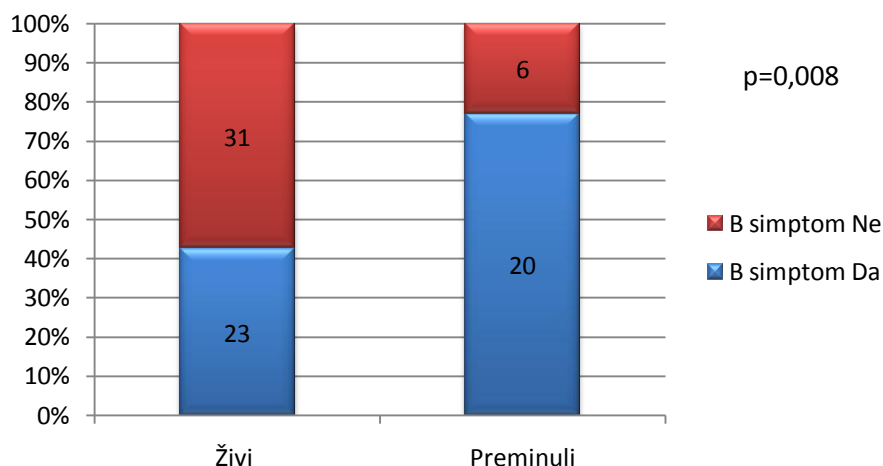
5.3.3. Analiza smrtnog ishoda u odnosu na kliničke parametre

B simptomi bili su prisutni kod 42,60% preživelih bolesnika i 76,90% umrlih bolesnika. Utvrđeno je da postoji statistički značajna razlika u učestalosti B simptoma u odnosu na smrtni ishod ($X^2=6,997$, $p=0,008$) (**Grafikon 38**).

Koštana srž bila je infiltrisana kod 9 preživelih bolesnika (16,70%) i 5 umrlih bolesnika (19,20%). Utvrđeno je da ne postoji statistički značajna razlika u učestalosti infiltracije koštane srži u odnosu na smrtni ishod ($X^2=0,001$, $p=0,777$).

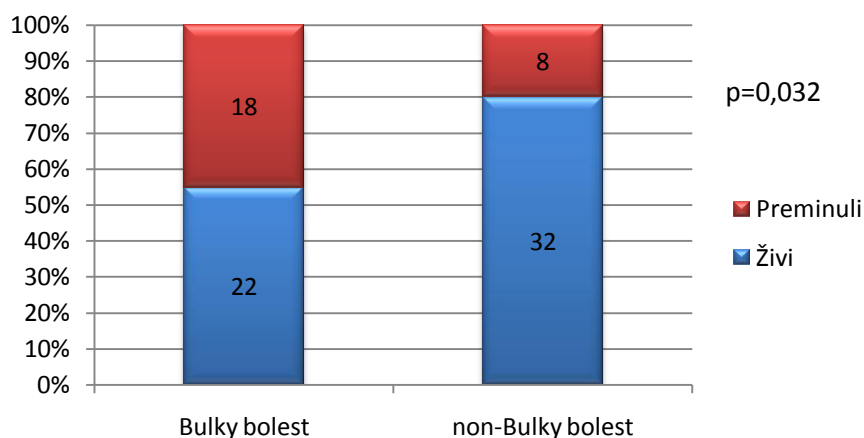
„Bulky” bolest bila je prisutna kod 40,70% preživelih bolesnika i 69,20% umrlih bolesnika. Utvrđeno je da postoji statistički značajna razlika u učestalosti „Bulky” bolesti u odnosu na smrtni ishod ($X^2=4,615$, $p=0,032$) (**Grafikon 39**).

Nodalni oblik DLBCL bio je prisutan kod 26 preživelih bolesnika (48,10%) i 14 umrlih bolesnika (53,80%). Ekstranodalni tip DLBCL bio je prisutan kod 28 umrlih bolesnika (51,90%) i 12 umrlih bolesnika (46,20%). Utvrđeno je da ne postoji statistički značajna razlika poređenjem kliničke prezentacije DLBCL (nodalni vs ekstranodalni) u odnosu na smrtni ishod ($X^2=0,057$, $p=0,811$).



Grafikon 38. Učestalost B simptoma u odnosu na smrtni ishod

5. Rezultati



Grafikon 39. Učestalost “Bulky” bolesti u odnosu na smrtni ishod

Marker Ki 67 bio je veći kod umrlih bolesnika $61,88 \pm 14,95$, u odnosu na preživjele bolesnike $55,67 \pm 16,57$. Utvrđeno je da ne postoji statistički značajna razlika u vrednostima Ki 67 u odnosu na smrtni ishod ($t=0,1,606$, $p=0,115$).

U analizi Ki 67 proliferativnog indeksa preko „cut off“ vrednosti, nađeno je sledeće: Ki 67 < 40% imalo je (12,50%) umrlih bolesnika. Vrednost Ki 67 > 40-80% imalo je (66,70%) umrlih bolesnika i vrednosti > 80% imalo je (6,80%). Utvrđeno je da ne postoji statistički značajna razlika u učestalosti različitih vrednosti Ki 67 u odnosu na smrtni ishod ($p=0,212$) (**Tabela 89**).

Tabela 89. Vrednosti Ki 67 u odnosu na smrtni ishod

Ki 67 %	Smrtni ishod		X^2	p
	Živi	Umrli		
<40	15 (30,60)	3 (12,50) †	3,089	0,212
41-80	26 (53,10)	16 (66,70)		
>80	8 (16,30)	5 (6,80)		

† - n (%), X^2 – Hi kvadrat test

ECOG PS 0,1 imalo je 94,40% preživelih i 76,90% preminulih bolesnika. ECOG PS 2,3 imalo je 5,60% preživelih i 23,10% preminulih bolesnika. Utvrđeno je da ne postoji statistički značajna razlika u distribuciji različitih ECOG PS u odnosu na smrtni ishod ($p=0,052$) (**Tabela 90**).

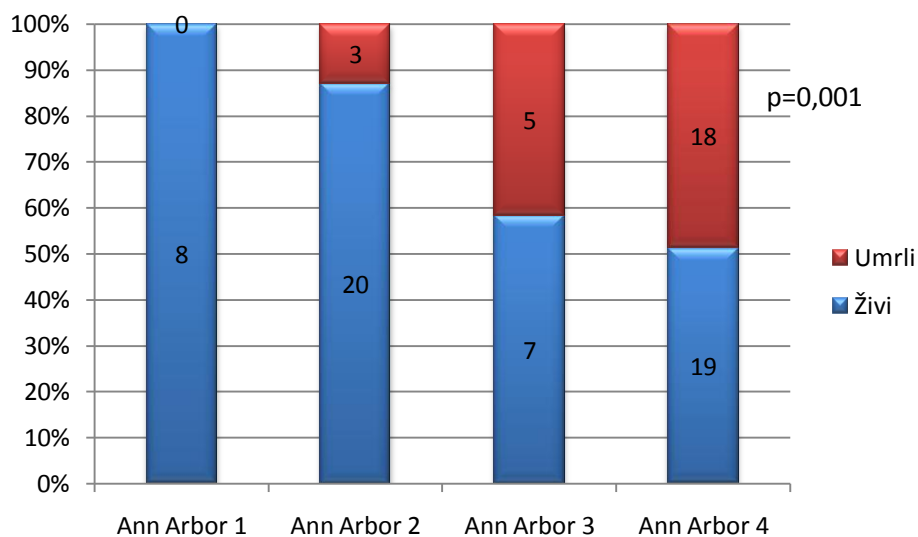
5. Rezultati

Tabela 90. ECOG PS u odnosu na smrtni ishod

ECOG	Živi	Umrli	p
0,1	51 (94,40)	20 (76,90)	0,052#
2,3	3 (5,60)	6 (23,10)	

Fisherov test

Kod preživelih bolesnika najčešće je bio prisutan Ann Arbor stadijum 2 (37,00%), a kod umrlih bolesnika dominirao je stadijum 4 (69,20%). Utvrđeno je da postoji statistički značajna razlika vezano za Ann Arbor klinički stadijum u odnosu na smrtni ishod ($p=0,001$) (**Grafikon 40**).



Grafikon 40. Učestalost Ann Arbor kliničkog stadijuma u odnosu na smrtni ishod

5. Rezultati

5.3.4. Analiza smrtnog ishoda u odnosu na skorove/indekse prognoze

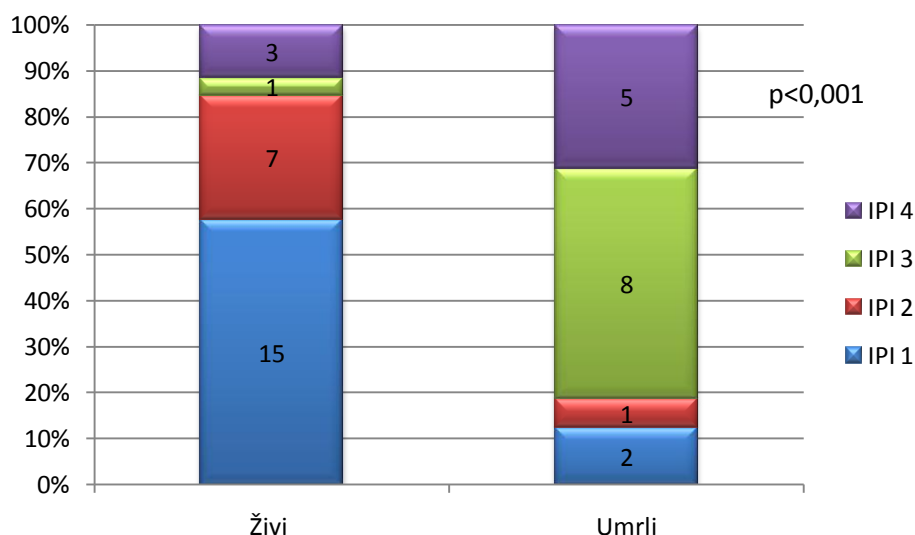
U grupi mlađih bolesnika (18–60 godina) računat je aaIPI skor. Njegova distribucija u odnosu na smrtni ishod bila je sledeća: kod preživelih bolesnika ravnomerno su bili zastupljeni skorovi 0,1,2 (po 29,60%), a kod umrlih bolesnika 40,00% imalo je aaIPI 2 (**Tabela 91**). Utvrđeno je da ne postoji statistički značajna razlika u učestalosti različitih aaIPI skorova u odnosu na smrtni ishod ($p=0,348$).

Tabela 91. aaIPI u odnosu na smrtni ishod

aaIPI	Živi	Umrli	X^2	p
0	8(29,60)	1 (10,00) †	3,300	0,348
1	8 (29,60)	2 (20,00)		
2	8 (29,60)	4 (40,00)		
3	3 (11,10)	3 (30,00)		

† - n (%), X^2 – Hi kvadrat test

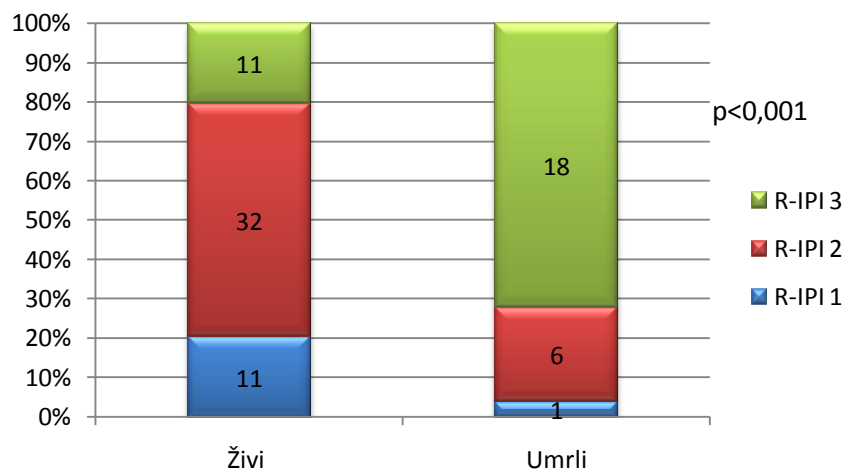
U grupi bolesnika životne dobi (> 60 godina) računat je IPI skor. Njegova distribucija u odnosu na smrtni ishod bila je sledeća: većina preživelih bolesnika imali su skor 1 (57,70%), a kod umrlih bolesnika najčešći skor je bio 3 (50,00%). Utvrđeno je da postoji statistički značajna razlika u učestalosti različitih IPI skorova u odnosu na smrtni ishod ($p<0,001$) (**Grafikon 41**).



Grafikon 41. Učestalost IPI skorova u odnosu na smrtni ishod

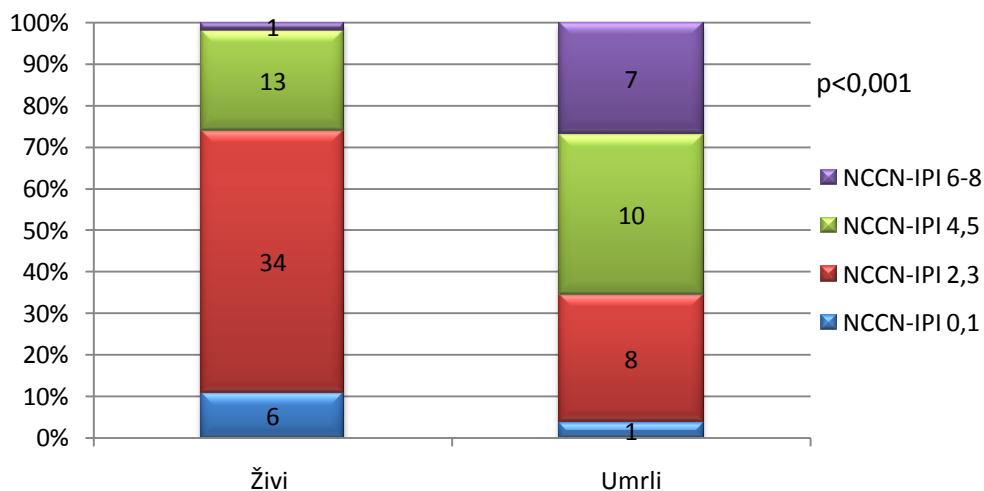
5. Rezultati

Kod preživelih bolesnika najčešće je bio zastupljen R-IPI skor 2, a kod umrlih bolesnika R-IPI skor 3. Utvrđeno je da postoji statistički značajna razlika u učestalosti različitih R-IPI skorova u odnosu na smrtni ishod ($p<0,001$) (**Grafikon 42**).



Grafikon 42. Učestalost R-IPI skorova u odnosu na smrtni ishod

Većina preživelih bolesnika (63,00%) imala je NCCN-IPI skor 2,3, a kod umrlih bolesnika najčešći skor je bio 4,5. Utvrđeno je da postoji statistički značajna razlika u učestalosti različitih NCCN-IPI skorova u odnosu na smrtni ishod ($p<0,001$) (**Grafikon 43**).

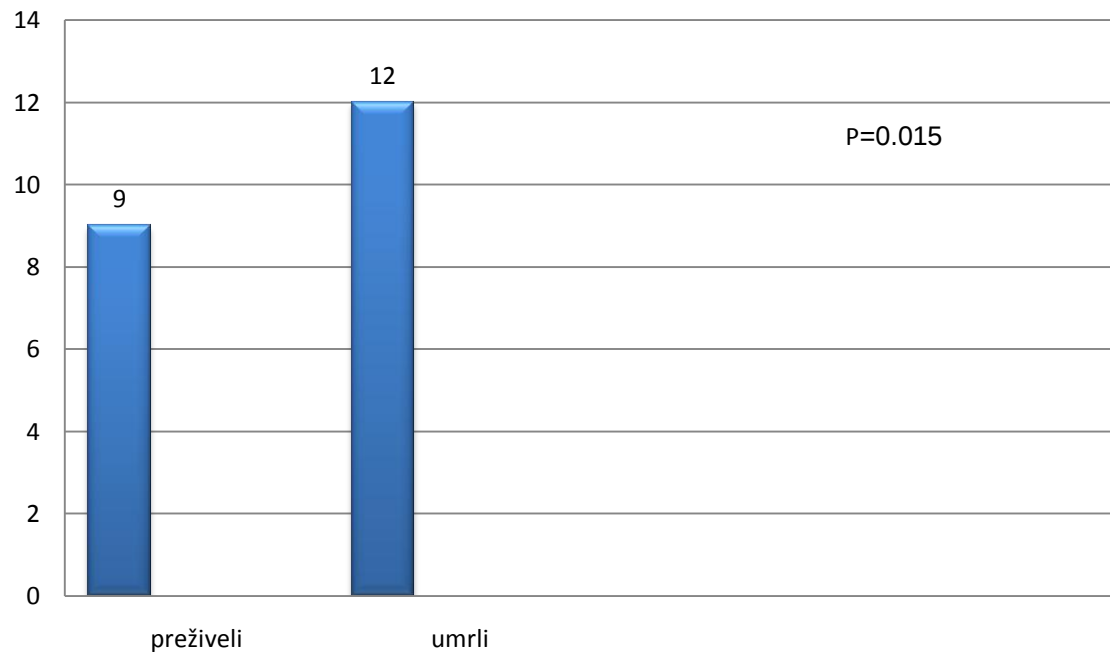


Grafikon 43. Učestalost NCCN-IPI skorova u odnosu na smrtni ishod

5. Rezultati

5.3.5. Analiza smrtnog ishoda u odnosu na dodatnu primenu terapije

Dodatna terapija primenjivana je kod 9 preživelih bolesnika (17,30%) i 12 umrlih bolesnika (46,20%). Utvrđeno je da postoji statistički značajna razlika u učestalosti primene dodatne terapije u odnosu na smrtni ishod ($X^2=5,938$, $p=0,015$) (**Grafikon 44**).



Grafikon 44. Distribucija smrtnog ishoda u odnosu na dodatnu primenu terapije

5. Rezultati

5.4. Rezultati u odnosu na PFS

Za dužinu perioda bez progresije bolesti (PFS) računato je vreme od momenta postavljanja dijagnoze do trenutka registrovanja pojave progresivne bolesti. S obzirom na heterogeni period vremena do pojave progresivne bolesti, PFS vreme je prikazano medijanom. U ispitivanoj populaciji medijana PFS iznosila je 14,85 meseci (Min 0 meseci, Max 71 mesec).

5.4.1 Kaplan-Meierova analiza PFS u odnosu na pojedinačne biomarkere, Hansov i Murisov algoritam

PFS vreme bilo je duže kod bolesnika sa CD10+ u odnosu na CD10-, ali nije utvrđena statistički značajna razlika ($p=0,511$) (Tabela 92).

Tabela 92. Kaplan-Meierova analiza PFS vremena u odnosu na CD10 biomarker

Marker	Medijana	SE	X ² *	p
CD10-	26,90	2,14	0,432	0,511
CD10+	26,20	7,66		

SE – standardna greška, * log rank test

PFS vreme bilo je duže kod bolesnika sa MUM1- u odnosu na MUM1+, ali nije utvrđena statistički značajna razlika ($p=0,170$) (Tabela 93).

Tabela 93. Kaplan-Meierova analiza PFS vremena u odnosu na MUM1 biomarker

Marker	Medijana	SE	X ² *	p
MUM1-	26,83	0,69	1,887	0,170
MUM1+-	25,06	5,91		

SE – standardna greška, * log rank test

5. Rezultati

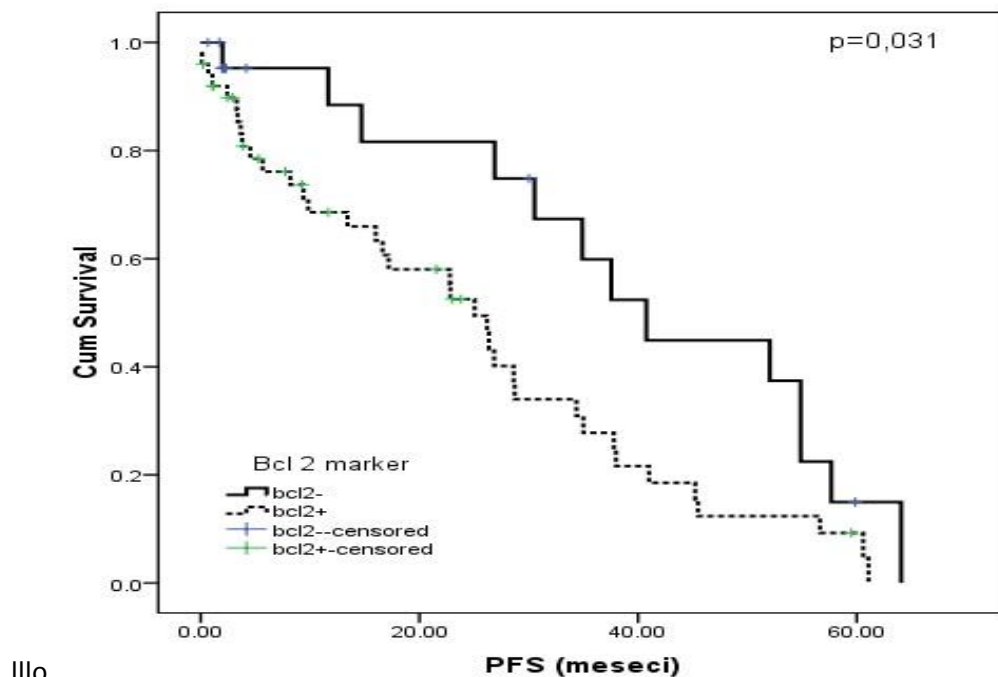
PFS vreme bilo je duže kod bolesnika sa bcl6- u odnosu na bcl6+, ali nije utvrđena statistički značajna razlika ($p=0,440$) (**Tabela 94**).

Tabela 94. Kaplan-Meierova analiza PFS vremena u odnosu na bcl6 biomarker

Marker	Medijana	SE	X ² *	p
bcl6-	30,53	5,64	0,597	0,440
bcl6+	22,80	5,58		

SE – standardna greška, * log rank test.

Kod bolesnika sa bcl2- PFS vreme bilo je statistički značajno duže u odnosu na bolesnike sa ekspresijom (bcl2+) biomarkera ($p=0,031$) (**Grafikon 45**).



Grafikon 45. Kaplan-Meierova kriva PFS u odnosu na bcl 2 biomarker

5. Rezultati

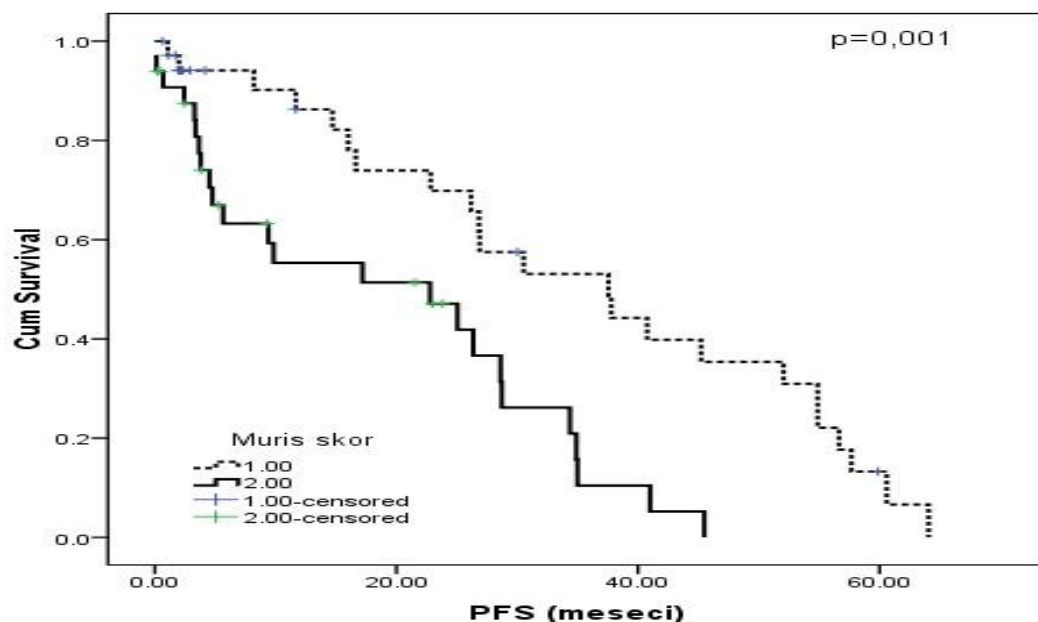
PFS vreme bilo je malo duže kod bolesnika sa GCB u odnosu na bolesnike sa non-GCB, ali ne postoji statistički značajna razlika ($p=0,187$) (Tabela 95).

Tabela 95. Kaplan-Meierova analiza PFS vremena u odnosu na Hansov algoritam

Marker	Medijana	SE	X ^{2*}	p
GCB	26,20	3,58	1,738	0,187
Non-GCB	25,07	6,04		

SE – standardna greška, * log rank test

Kod bolesnika sa Muris skorom 1 PFS vreme bilo je statistički značajno duže u odnosu na bolesnike sa Muris skorom 2 ($p=0,001$) (Grafikon 46).



Grafikon 46. Kaplan-Meierova kriva PFS u odnosu na Murisov skor

5. Rezultati

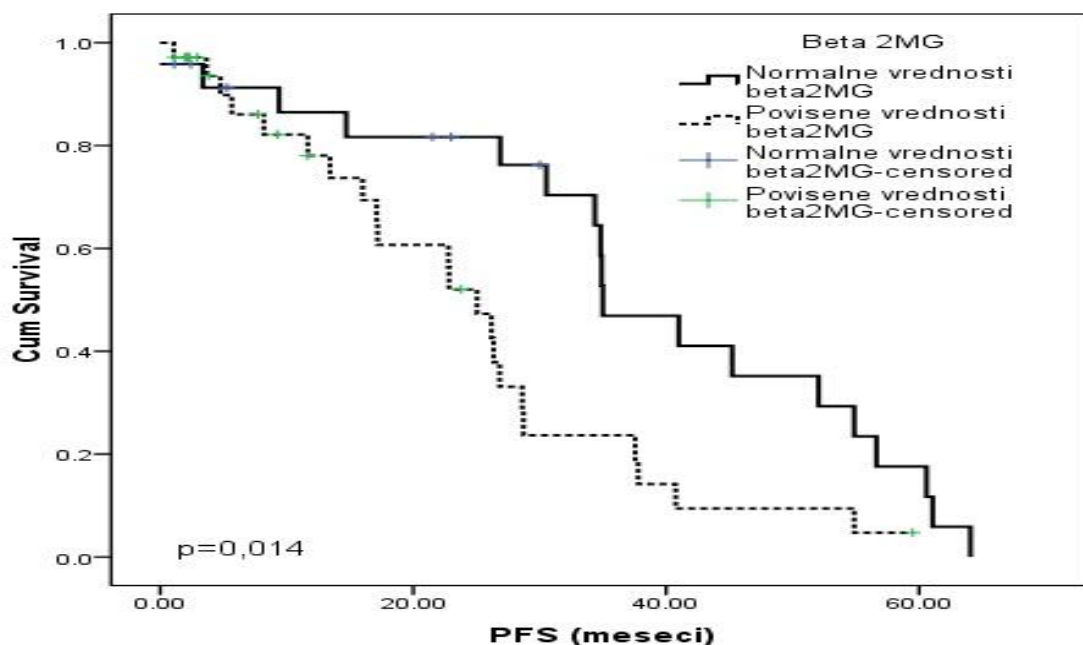
5.4.2. Kaplan-Meierova analiza PFS u odnosu na biohemijske i kliničke parametre

U analiziranoj grupi biohemijskih parametara, vrednosti LDH, albumina, i hemoglobina nisu se izdvojili kao bitni parametri u odnosu na PFS, odnosno njihove vrednosti nisu bile statistički značajno različite u odnosu na PFS vreme (Tabela 96).

Tabela 96. Kaplan-Meierova analiza u odnosu na biohemijske parametre

Marker	Medijana	SE	X ²	p
Referentnevrednosti LDH	30,53	4,68	0,804	0,370
Povišene vrednosti LDH	26,37	2,43		
Referentne vrednosti albumina	30,53	5,19	3,509	0,061
Snižene vrednosti albumina	22,80	7,22		
Referentne vrednosti hemoglobin	34,37	5,36	0,982	0,322
Snižene vrednosti hemoglobina	22,80	5,20		

Bolesnici sa povišenim vrednostima beta 2 MG imali su statistički značajno kraće vreme PFS u odnosu na bolesnike sa referentnim vrednostima ovog parametra ($X^2=6,077$, $p=0,014$) (Grafikon47).



Grafikon 47. Kaplan-Meierova kriva PFS u odnosu na povišene vrednosti beta 2 MG

5. Rezultati

U analizi PFS u odnosu na kliničke parametre nađeno je da nodalna u odnosu na ekstrapodalnu prezentaciju DLBCL, prisustvo infiltracije koštane srži, prisustvo ili odsustvo B simptoma i Ann Arbor klinički stadijum statistički značajno ne koreliraju sa PFS vremenom (**Tabela 97**).

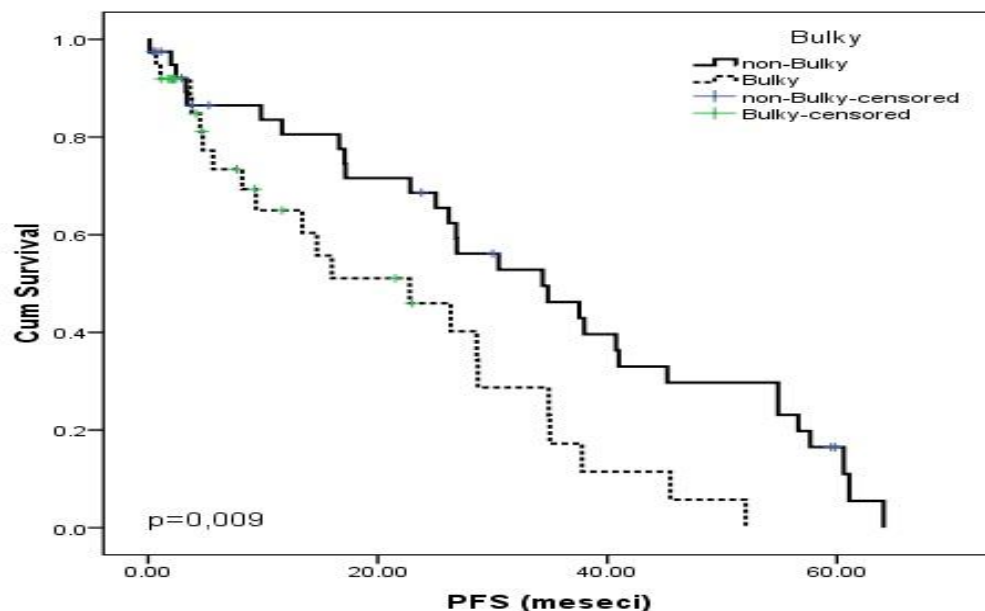
Pronađeno je da bolesnici sa „Bulky” bolešću imaju statistički značajno kraći PFS u odnosu na bolesnike bez „Bulky” bolesti ($X^2=6,860$, $p=0,009$) (**Grafikon 48**).

Tabela 97. Kaplan-Meierova analiza u odnosu na kliničke parametre

Marker	Medijana	SE	X^{2*}	p
Odsustvo B simptoma	29,14	3,26	0,449	0,503
Prisustvo B simptoma	29,55	4,55		
Ne infiltrisana koštana srž	27,68	2,89	0,720	0,396
Infiltrisana koštana srž	34,11	6,14		
Nodalni oblik	26,73	3,48	0,625	0,429
Ekstrapodalni oblik	31,45	3,88		
Ann Arbor 1	24,11	7,29	2,802	0,423
Ann Arbor 2	24,73	4,43		
Ann Arbor 3	33,81	7,20		
Ann Arbor 4	32,69	4,37		

SE – standardna greška, * log rank test

5. Rezultati



Grafikon 48. Kaplan-Meierova kriva PFS u odnosu na prisustvo „Bulky” bolesti

Kaplan-Meierova analiza pokazala je da ne postoji statistički značajna razlika u PFS u odnosu na ispitivane skorove/indekse prognoze (**Tabela 98**).

Tabela 98. Kaplan-Meierova analiza u odnosu na skorove/indekse prognoze

Marker	Medijana	SE	X ^{2*}	p
aaIPI 0,1	31,18	5,54	0,659	0,417
aaIPI ≥ 2	26,85	4,93		
IPI 0,1	26,41	4,58		
IPI ≥ 2	36,34	5,97		
R-IPI 0	27,13	6,65	0,342	0,843
R-IPI 1	30,43	3,51		
R-IPI 2	27,36	5,24		
NCCN-IPI 1,2	28,66	3,02	0,172	0,678
NCCN-IPI 3,4	30,08	5,04		

SE – standardna greška, * log rank test

5. Rezultati

5.4.3. Analiza PFS u odnosu na pojedinačne biomarkere, Hansov, Murisov algoritam i supkategorijska analiza biomarkerskih kombinacija za Hansov algoritam (Mann-Whitney U test)

PFS bio je duži kod bolesnika sa CD10- u odnosu na bolesnike sa CD10+, ali ne postoji statistički značajna razlika ($p=0,531$) (Tabela 99).

Tabela 99. PFS u odnosu na CD10 biomarker

	CD10+	CD10-	Z#	p
PFS	19,02±21,15*	20,81±18,88	0,626	0,531
	11,67(0,67-60,60)†	17,17(0,00-61,07)		

* (AS+SD), † Medijana (Min-Max), # Mann-Whitney U test

PFS bio je duži kod bolesnika sa MUM1- u odnosu na bolesnike sa MUM1+, ali ne postoji statistički značajna razlika ($p=0,841$) (Tabela 100).

Tabela 100. PFS u odnosu na MUM1 biomarker

	MUM1+	MUM1-	Z#	p
PFS	18,40±17,46*	20,04±20,04	0,201	0,841
	11,67(0,00-57,67)†	14,70(0,67-60,60)		

* (AS+SD), † Medijana (Min-Max), # Mann-Whitney U test

PFS bio je duži kod bolesnika sa bcl6- u odnosu na bolesnike sa bcl6+, ali ne postoji statistički značajna razlika ($p=0,248$) (Tabela 101).

Tabela 101. PFS u odnosu na bcl6 biomarker

	bcl6+	bcl6-	Z#	p
PFS	15,69±16,38*	20,88±18,03	1,154	0,248
	9,40 (0,00-59,87)†	16,63(0,13-57,67)		

* (AS+SD), † Medijana (Min-Max), # Mann-Whitney U test

PFS bio je duži kod bolesnika sa bcl2- u odnosu na bolesnike sa bcl2+, ali ne postoji statistički značajna razlika ($p=0,458$) (Tabela 102).

5. Rezultati

Tabela 102. PFS u odnosu na bcl2 biomarker

	bcl2+	bcl2-	Z#	p
PFS	19,11±17,87*	25,64±23,24	0,742	0,458
	14,72(0,00-61,07)†	26,90(0,67-64,07)		

* (AS+SD), † Medijana (Min-Max), # Mann-Whitney U test

PFS bio je duži kod bolesnika sa non-GCB podtipom u odnosu na bolesnike sa GCB podtipom, ali ne postoji statistički značajna razlika (p=0,703) (**Tabela 103**).

Tabela 103. PFS u odnosu na Hansov algoritam

	GCB	non-GCB	Z#	p
PFS	19,46±17,42*	24,15±23,21	0,381	0,703
	9,80 (1,47-53,63)†	10,47(0,60-71,03)		

* (AS+SD), † Medijana (Min-Max), # Mann-Whitney U test

PFS bio je duži kod bolesnika sa Muris skorom 1 u odnosu na bolesnike sa Muris skorom 2, ali ne postoji statistički značajna razlika (p=0,121) (**Tabela 104**).

Tabela 104. PFS u odnosu na Murisov skor

	Muris 1	Muris 2	Z#	p
PFS	24,68±21,96*	14,58±13,87	1,550	0,121
	19,73(0,67-67,07)†	9,30 (0,00-45,50)		

* (AS+SD), † Medijana (Min-Max), # Mann-Whitney U test

Utvrdeno je da ne postoji statistički značajna razlika u dužini PFS u odnosu na ispitivane supkategorije. Najkraći PFS bio je kod bolesnika sa CD10+, MUM1-, bcl6-, a najduži kod bolesnika sa CD10-, MUM1+, bcl6- i kod bolesnika sa CD10-, MUM1-, bcl6- (**Tabela 105**).

Tabela 105. PFS u odnosu na ispitivane supkategorije Hansovog algoritma

	GCB podgrupe		non-GCB podgrupe			X²#	p
	CD10+, MUM1-, bcl6+	CD10+, MUM1-, bcl6-	CD10-, MUM1+, bcl6+	CD10-, MUM1+, bcl6-	CD10-, MUM1-, bcl6-		
PFS	16,37±22,73*	7,69±7,20	16,12±14,34	22,79±18,61	21,29±22,17	4,756	0,313
	5,57 (2,07- 59,87)†	6,83 (0,67- 16,00)	17,20 (0,00- 45,23)	22,67 (0,13- 57,67)	16,63 (1,07- 56,63)		

* (AS+SD), † Medijana (Min-Max), # Kruskal-Wallisov test,

5. Rezultati

5.4.3.1. Analiza PFS vremena u odnosu na biomarkere i skorove/indekse prognoze (Kruskal-Wallis test)

Analiza kod bolesnika < 60 godina (aaIPI skor): PFS bio je najduži kod bolesnika sa aaIPI 0,1 i CD10-, a najkraći kod bolesnika sa aaIPI 0,1 i CD10+, ali ne postoji statistički značajna razlika ($p=0,404$) (Tabela 106).

Tabela 106. PFS u odnosu na odnos (aaIPI/CD10)

	aaIPI 0,1 CD10-	aaIPI ≥ 2 CD10-	aaIPI 0,1 CD10+	aaIPI ≥ 2 CD10+	X ² #	p
PFS	21,06 $\pm$ 21,62* 7,35 (1,70-56,63)†	21,69 $\pm$ 17,04 22,27(0,00-54,87)	22,81 $\pm$ 23,92 22,83 (2,00-60,60)	7,60 $\pm$ 4,39 8,20 (2,93-11,67)	0,961	0,811

* (AS+SD), † Medijana (Min-Max), # Kruskal-Wallisov test,

PFS je najduži kod bolesnika sa aaIPI 0,1 i MUM1-, a najkraći kod bolesnika sa aaIPI ≥ 2 i MUM1-, ali ne postoji statistički značajna razlika ($p=0,244$) (Tabela 107).

Tabela 107. PFS u odnosu na odnos (aaIPI/MUM1)

	aaIPI 0,1 MUM1-	aaIPI ≥ 2 MUM1-	aaIPI 0,1 MUM1+	aaIPI ≥ 2 MUM1+	X ² #	p
PFS	26,10 $\pm$ 22,75* 24,52(2,00-60,60)†	5,79 $\pm$ 4,04 4,17 (2,00-11,67)	18,59 $\pm$ 20,70 6,60 (2,43-54,87)	23,05 $\pm$ 16,94 23,00(0,00-54,87)	4,163	0,244

* (AS+SD), † Medijana (Min-Max), # Kruskal-Wallisov test,

PFS je najduži kod bolesnika sa aaIPI ≥ 2 i bcl6-, a najkraći kod bolesnika sa aaIPI 0,1 i bcl6-, ali ne postoji statistički značajna razlika ($p=0,232$) (Tabela 108).

Tabela 108. PFS u odnosu na odnos (aaIPI/bcl6)

	aaIPI 0,1 bcl6-	aaIPI ≥ 2 bcl6-	aaIPI 0,1 bcl6+	aaIPI ≥ 2 bcl6+	X ² #	p
PFS	25,44 $\pm$ 22,39* 30,53(2,00-56,63)†	26,66 $\pm$ 17,84 28,63(3,83-54,87)	12,80 $\pm$ 14,73 12,02(1,70-38,00)	12,95 $\pm$ 10,86 12,70(0,00-26,37)	4,289	0,232

* (AS+SD), † Medijana (Min-Max), # Kruskal-Wallisov test,

5. Rezultati

PFS je najduži kod bolesnika sa aaIPI 0,1 i bcl2-, a najkraći kod bolesnika sa aaIPI 0,1 i bcl2+, ali ne postoji statistički značajna razlika ($p=0,766$) (**Tabela 109**).

Tabela 109. PFS u odnosu na odnos (aaIPI/bcl2)

	aaIPI 0,1 bcl2-	aaIPI ≥ 2 bcl2-	aaIPI 0,1 bcl2+	aaIPI ≥ 2 bcl2+	X ² #	p
PFS	32,23 $\pm$ 23,84*	20,34 $\pm$ 29,91	19,57 $\pm$ 21,54	19,92 $\pm$ 14,00	1,146	0,766
	34,90(1,70-64,07)†	4,17 (2,00-54,87)	7,35(2,43-60,60)	21,53(0,00-45,50)		

* (AS+SD), † Medijana (Min-Max), # Kruskal-Wallisov test,

Analiza kod bolesnika > 60 godina (IPI skor): PFS je najduži kod bolesnika sa IPI 0,1 i CD10+, a najkraći kod bolesnika sa IPI ≥ 2 i CD10+, ali ne postoji statistički značajna razlika ($p=0,893$) (**Tabela 110**).

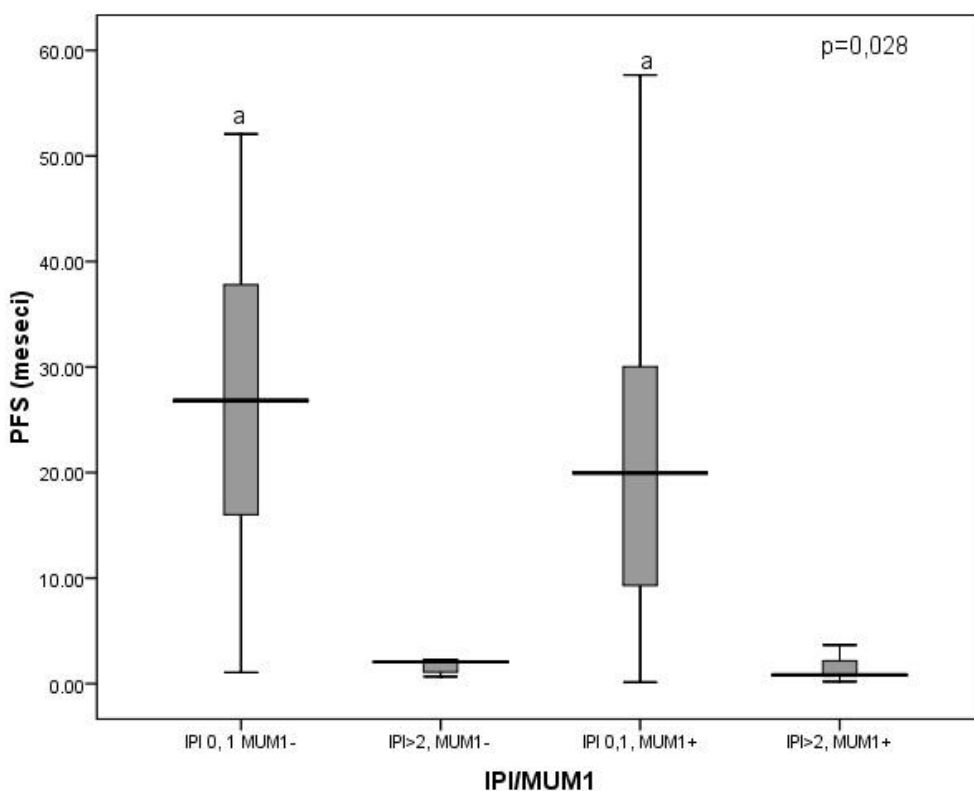
Tabela 110. PFS u odnosu na odnos (IPI/CD10)

	IPI 0,1 CD10-	IPI ≥ 2 CD10-	IPI 0,1 CD10+	IPI ≥ 2 CD10+	X ² #	p
PFS	24,26 $\pm$ 18,29*	12,24 $\pm$ 21,35	28,67 $\pm$ 15,97	13,20 $\pm$ 26,09	5,352	0,148
	24,43(0,13-61,07)†	2,13 (0,20-59,50)	22,80 (14,70-52,07)	2,07 (0,67-59,87)		

* (AS+SD), † Medijana (Min-Max), # Kruskal-Wallisov test,

5. Rezultati

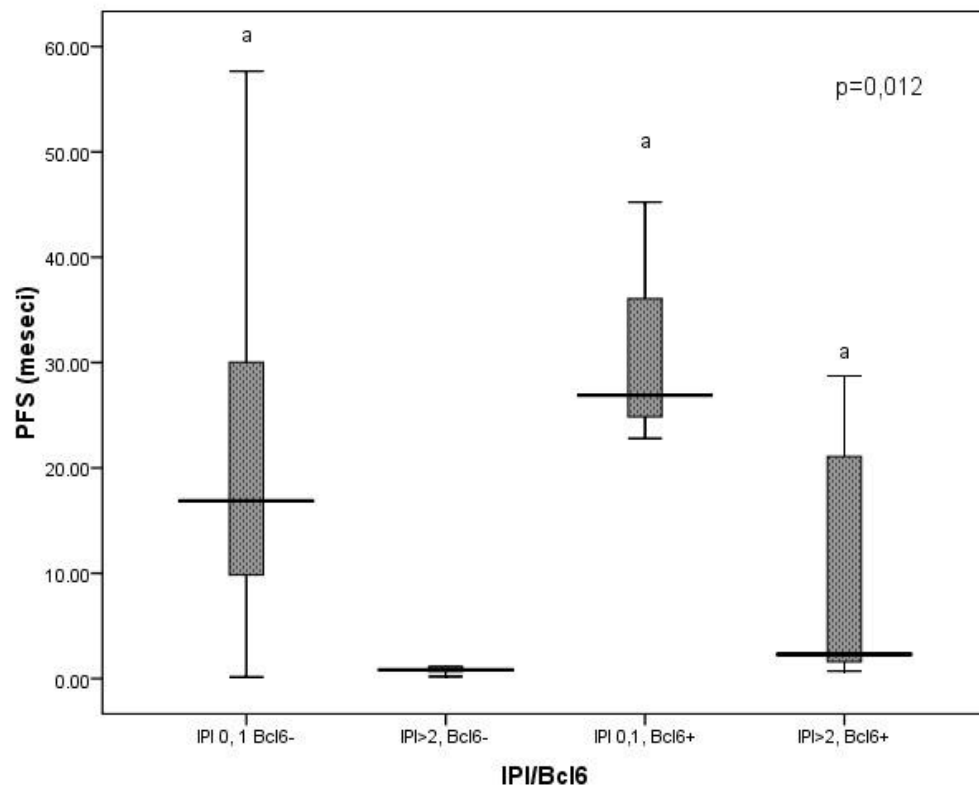
PFS bio je najduži kod bolesnika sa IPI 0,1 i MUM1-, a najkraći kod bolesnika sa IPI ≥ 2 i MUM1+. Utvrđeno je da postoji statistički značajna razlika u dužini PFS u odnosu na ispitivane grupe ($p=0,028$). Post-hoc analizom pokazano je da statistički značajna razlika postoji između sledećih grupa: IPI 0,1 i MUM1- i IPI ≥ 2 i MUM1- ($z=2,733$, $p=0,004$), IPI 0,1 i MUM1+ i grupe IPI ≥ 2 i MUM1+ ($z=2,407$, $p=0,016$) (**Grafikon 49**).



Grafikon 49. PFS u odnosu na ispitivane odnose (IPI/MUM1) ^avs (IPI ≥ 2 , MUM1+)

5. Rezultati

PFS je najduži kod bolesnika sa IPI 0,1 i bcl6+, a najkraći kod bolesnika sa IPI ≥ 2 i bcl6-. Utvrđeno je da postoji statistički značajna razlika u dužini PFS u odnosu na ispitivane grupe ($p=0,012$). Daljom analizom utvrđeno je između kojih grupa postoji statistički značajna razlika: IPI 0,1 i bcl6- i IPI ≥ 2 i bcl6- ($z=2,832$, $p=0,005$), grupe IPI ≥ 2 i bcl6- i grupe IPI 0,1 i bcl6+ ($z=2,236$, $p=0,025$), grupe IPI ≥ 2 i bcl6- i grupe ≥ 2 i bcl6+ ($z=2,030$, $p=0,042$) (**Grafikon 50**).



Grafikon 50. PFS u odnosu na ispitivane odnose (IPI/bcl6)^a vs (IPI ≥ 2 , bcl6-)

5. Rezultati

PFS je najduži kod bolesnika sa IPI 0,1 i bcl2-, a najkraći kod bolesnika sa IPI ≥ 2 i bcl2-, ali ne postoji statistički značajna razlika ($p=0,063$) (**Tabela 111**).

Tabela 111. PFS u odnosu na odnos (IPI/bcl2)

	IPI 0,1 bcl2-	IPI ≥ 2 bcl2-	IPI 0,1 bcl2+	IPI ≥ 2 bcl2+	X ² #	p
PFS	33,40 $\pm$ 17,64*	11,53 $\pm$ 23,69	22,82 $\pm$ 17,44	13,56 $\pm$ 21,02	7,284	0,063
	30,03(11,67-57,67)†	2,13 (0,67-59,87)	22,80(0,13-61,07)	2,40 (0,20-59,50)		

* (AS+SD), † Medijana (Min-Max), # Kruskal-Wallisov test,

Analiza R-IPI skora: PFS je najduži kod bolesnika sa R-IPI 0,1 i CD10+, a najkraći kod bolesnika sa R-IPI 0,1 i CD10-, ali ne postoji statistički značajna razlika ($p=0,683$) (**Tabela 112**).

Tabela 112. PFS u odnosu na odnos (R-IPI/CD10)

	R-IPI 0,1 CD10-	R-IPI 2 CD10-	R-IPI 0,1 CD10+	R-IPI 2 CD10+	X ² #	p
PFS	16,44 $\pm$ 21,78*	21,88 $\pm$ 18,54	23,97 $\pm$ 22,80	16,97 $\pm$ 21,11	1,495	0,683
	4,70 (3,30-56,63)†	22,17(0,00-61,07)	22,83 (2,00-60,60)	7,30 (0,67-59,87)		

* (AS+SD), † Medijana (Min-Max), # Kruskal-Wallisov test,

PFS je najduži kod bolesnika sa IPI 0,1 i MUM1-, a najkraći kod bolesnika sa IPI 0,1 i MUM1+, ali ne postoji statistički značajna razlika ($p=0,323$) (**Tabela 113**).

Tabela 113. PFS u odnosu na odnos (R-IPI/MUM1)

	R-IPI 0,1 MUM1-	R-IPI 2 MUM1-	R-IPI 0,1 MUM1+	R-IPI 2 MUM1+	X ² #	p
PFS	26,10 $\pm$ 22,75*	17,48 $\pm$ 18,86	3,49 $\pm$ 0,27	20,10 $\pm$ 17,54	3,484	0,323
	24,52 (2,00-60,60)†	11,67(0,67-59,87)	3,37(3,30-3,80)	17,20(0,00-57,67)		

* (AS+SD), † Medijana (Min-Max), # Kruskal-Wallisov test,

PFS je najduži kod bolesnika sa R-IPI 2 i bcl6-, a najkraći kod bolesnika sa R-IPI 2 i bcl6+, ali nije utvrđena statistički značajna razlika ($p=0,401$) (**Tabela 114**).

Tabela 114. PFS u odnosu na odnos (R-IPI/bcl6)

	R-IPI 0,1 bcl6-	R-IPI 2 bcl6-	R-IPI 0,1 bcl6+	R-IPI 2 bcl6+	X ² #	p
PFS	16,94 $\pm$ 22,52*	22,18 $\pm$ 17,37	21,38 $\pm$ 17,39	14,84 $\pm$ 16,52	2,939	0,401
	4,55 (2,00-56,63)†	19,33(0,13-57,67)	22,83(3,30-38,00)	8,80 (0,00-59,87)		

* (AS+SD), † Medijana (Min-Max), # Kruskal-Wallisov test,

5. Rezultati

PFS je najduži kod bolesnika sa R-IPI 2 i bcl2-, a najkraći kod bolesnika sa R-IPI 0,1 i bcl2-, ali ne postoji statistički značajna razlika ($p=0,687$) (**Tabela 115**).

Tabela 115. PFS u odnosu na odnos (R-IPI/bcl2)

	R-IPI 0,1 bcl2-	R-IPI 2 bcl2-	R-IPI 0,1 bcl2+	R-IPI 2 bcl2+	X ² #	p
PFS	16,27±20,17*	25,07±22,03	24,45±22,96	19,15±18,12	1,479	0,687
	16,27(2,00-30,53)†	14,70(0,67-64,07)	22,83(3,30-60,60)	16,32(0,00-61,07)		

* (AS+SD), † Medijana (Min-Max), # Kruskal-Wallisov test,

Analiza NCCN-IPI skora: U analizi NCCN-IPI skora grupe su sumirane tako da 1 i 2 skor predstavljaju grupe niskog i intermedijerno-niskog rizika, a grupe 3 i 4 su grupe intermedijerno-visokog i visokog rizika. PFS bio je najduži kod bolesnika sa NCCN-IPI 1,2 i CD10-, a najkraći kod bolesnika sa NCCN-IPI 3,4 i CD10+, ali ne postoji statistički značajna razlika ($p=0,683$) (**Tabela 116**).

Tabela 116. PFS u odnosu na odnos (NCCN-IPI/CD10)

	NCCN-IPI 1,2 CD10-	NCCN-IPI 3,4 CD10-	NCCN-IPI 1,2 CD10+	NCCN-IPI 3,4 CD10+	X ² #	p
PFS	22,84±19,99*	16,90±18,34	19,89±21,39	11,64±14,09	3,321	0,345
	20,47(0,47-61,07)†	9,40 (0,00-59,50)	15,35 (1,10-60,60)	5,57 (0,67-37,80)		

* (AS+SD), † Medijana (Min-Max), # Kruskal-Wallisov test,

PFS je najduži kod bolesnika sa NCCN-IPI 1,2 i MUM1+, a najkraći kod bolesnika sa NCCN-IPI 3,4 i MUM1-, ali ne postoji statistički značajna razlika ($p=0,358$) (**Tabela 117**).

Tabela 117. PFS u odnosu na odnos (NCCN-IPI/MUM1)

	NCCN-IPI 1,2 MUM1-	NCCN-IPI 3,4 MUM1-	NCCN-IPI 1,2 MUM1+	NCCN-IPI 3,4 MUM1+	X ² #	p
PFS	19,05±19,78*	12,05±12,43	22,91±19,45	14,73±16,55	3,228	0,358
	14,07 (1,07-60,60)†	8,80 (0,67-37,80)	23,80(0,47-59,87)	7,03 (0,00-57,67)		

* (AS+SD), † Medijana (Min-Max), # Kruskal-Wallisov test,

5. Rezultati

PFS je najduži kod bolesnika sa NCCN-IPI 1,2 i bcl6-, a najkraći kod bolesnika sa NCCN-IPI 3,4 i bcl6-, ali nije utvrđena statistički značajna razlika ($p=0,156$) (**Tabela 118**).

Tabela 118. PFS u odnosu na odnos (NCCN-IPI/bcl6)

	NCCN-IPI 1,2 bcl6-	NCCN-IPI 3,4 bcl6-	NCCN-IPI 1,2 bcl6+	NCCN-IPI 3,4 bcl6+	X ² #	p
PFS	23,79±17,83*	14,59±17,48	15,82±19,32	15,58±14,04	5,220	0,156
	24,43(1,07-56,63)†	9,30 (0,13-57,67)	3,30 (1,13-59,87)	13,30(0,00-45,23)		

* (AS+SD), † Medijana (Min-Max), # Kruskal-Wallisov test,

PFS je najduži kod bolesnika sa NCCN-IPI 1,2 i bcl2-, a najkraći kod bolesnika sa NCCN-IPI 3,4 i bcl2-, ali ne postoji statistički značajna razlika ($p=0,248$) (**Tabela 119**).

Tabela 119. PFS u odnosu na odnos (NCCN-IPI/bcl2)

	NCCN-IPI 1,2 bcl2-	NCCN-IPI 3,4 bcl2-	NCCN-IPI 1,2 bcl2+	NCCN-IPI 3,4 bcl2+	X ² #	p
PFS	29,84±21,76*	15,70±19,38	21,36±20,37	17,26±16,82	4,129	0,248
	32,72(2,00-64,07)†	8,20 (0,67-57,67)	19,42(1,07-61,07)	14,15(0,00-59,50)		

* (AS+SD), † Medijana (Min-Max), # Kruskal-Wallisov test,

PFS je najduži kod bolesnika sa aaIPI 0,1 i GCB, a najkraći kod bolesnika sa aaIPI ≥ 2 i GCB, ali ne postoji statistički značajna razlika ($p=0,577$) (**Tabela 120**).

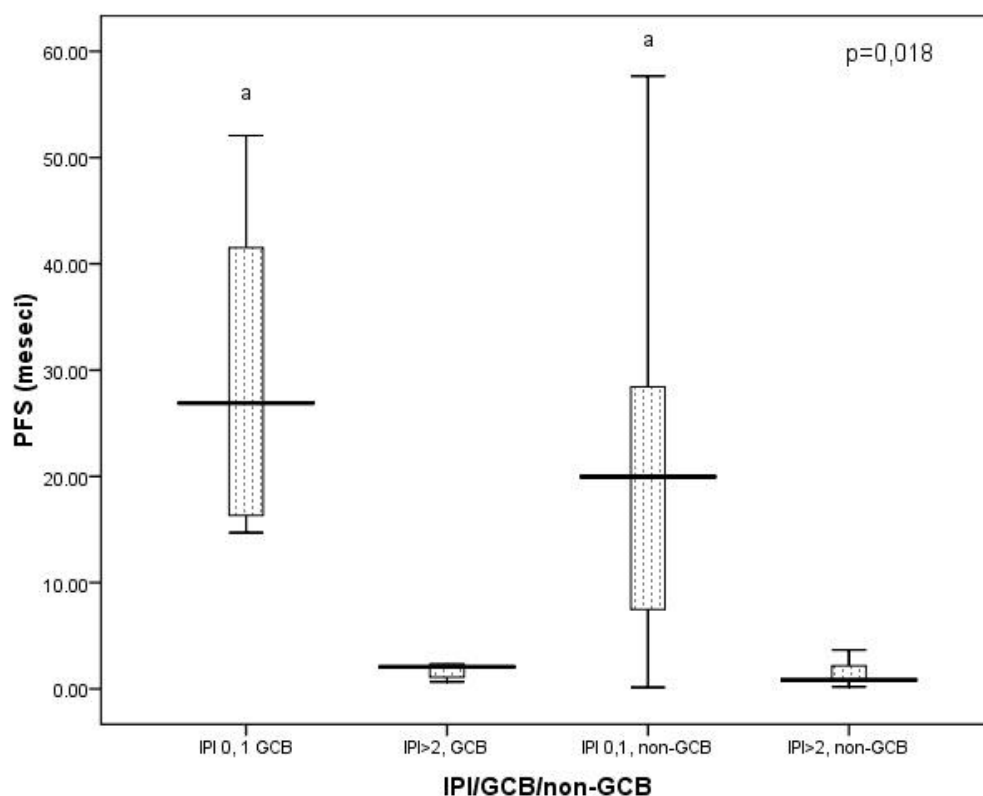
Tabela 120. PFS u odnosu na odnos (aaIPI/Hans algoritam)

	aaIPI 0,1 GCB	aaIPI ≥ 2 GCB	aaIPI 0,1 non-GCB	aaIPI ≥ 2 non-GCB	X ² #	p
PFS	27,91±24,28*	7,60±4,40	17,12±19,86	23,05±16,94	1,976	0,577
	24,52(2,00-60,60)†	8,20 (2,93-11,67)	5,30 (2,43-54,87)	23,00(0,00-54,87)		

* (AS+SD), † Medijana (Min-Max), # Kruskal-Wallisov test,

5. Rezultati

PFS najduži je kod bolesnika sa IPI 0,1 i GCB, a najkraći kod bolesnika sa IPI ≥ 2 i non-GCB. Utvrđeno je da postoji statistički značajna razlika u dužini PFS u odnosu na ispitivane grupe ($p=0,018$). Daljom analizom pokazano je između kojih grupa postoji statistički značajna razlika: IPI 0,1 i GCB i grupe IPI ≥ 2 i GCB ($z=2,842$, $p=0,004$), grupe IPI 0,1 i non-GCB i grupe IPI ≥ 2 i non-GCB ($z=2,395$, $p=0,017$) (**Grafikon 51**).



Grafikon51. PFS u odnosu na ispitivane odnose (IPI/GCB/non-GCB)^a vs (IPI ≥ 2 , non-GCB)

5. Rezultati

PFS je najduži kod bolesnika sa R-IPI 0,1 i GCB, a najkraći kod bolesnika sa R-IPI 0,1 i non-GCB, ali ne postoji statistički značajna razlika ($p=0,467$) (Tabela 121).

Tabela 121. PFS u odnosu na odnos (R-IPI/Hans algoritam)

	R-IPI 0,1 GCB	R-IPI 2 GCB	R-IPI0,1 non-GCB	R-IPI 2 non-GCB	X²#	p
PFS	27,91±24,28*	19,88±19,89	3,94±0,93	19,79±17,38	2,546	0,467
	24,52(2,00-60,60)†	14,70(0,67-59,87)	3,58 (3,30-5,30)	17,20(0,00-57,67)		

* (AS±SD), † Medijana (Min-Max), # Kruskal-Wallisov test,

PFS je najduži kod bolesnika sa NCCN-IPI 1,2 i GCB, a najkraći kod bolesnika sa NCCN-IPI 3,4 i non-GCB, ali ne postoji statistički značajna razlika ($p=0,215$) (Tabela 122).

Tabela 122. PFS u odnosu na odnos (NCCN-IPI/Hans algoritam)

	NCCN-IPI 1,2 GCB	NCCN-IPI 3,4 GCB	NCCN-IPI 1,2 non-GCB	NCCN-IPI 3,4 non-GCB	X²#	p
PFS	25,08±19,97*	16,74±21,38	20,31±17,20	13,68±16,88	4,465	0,215
	22,83(1,10-60,60)†	7,30 (0,67-59,87)	17,17(0,47-54,87)	4,30 (0,00-57,67)		

* (AS±SD), † Medijana (Min-Max), # Kruskal-Wallisov test,

PFS je najduži kod bolesnika sa aaIPI 0,1 i Muris 1, a najkraći kod bolesnika sa aaIPI 0,1 i Muris 1, ali ne postoji statistički značajna razlika ($p=0,108$) (Tabela 123).

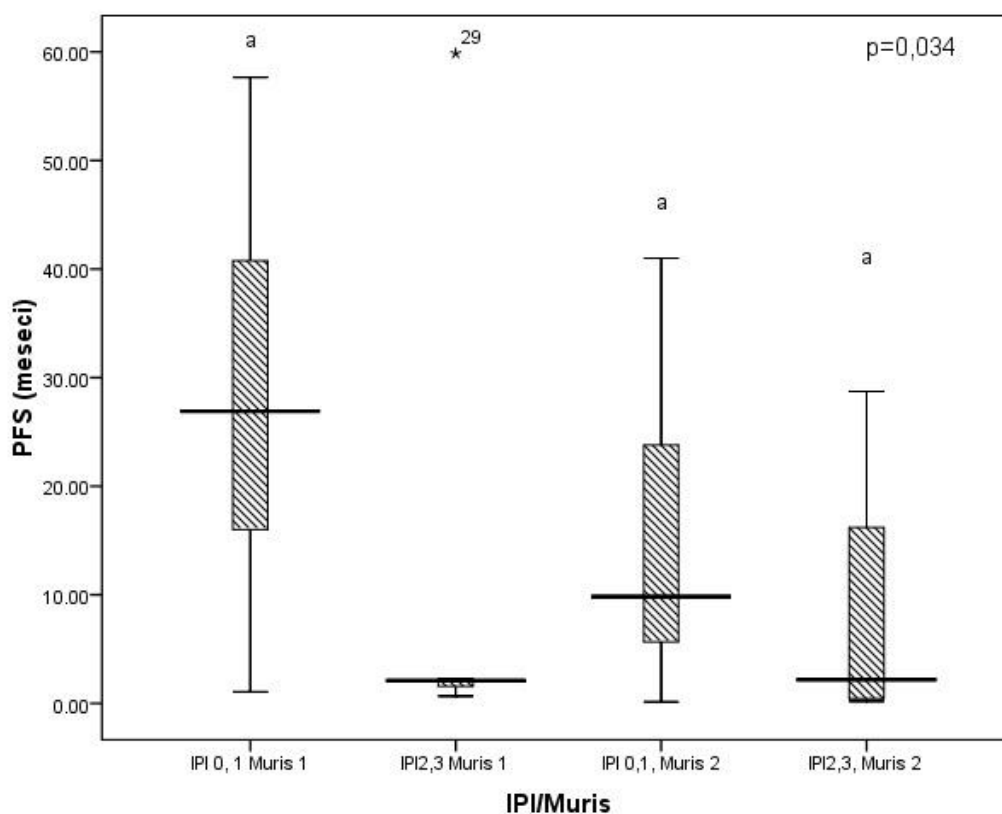
Tabela 123. PFS u odnosu na odnos (aaIPI/Muris skor)

	aaIPI 0,1 Muris 1	aaIPI ≥ 2 Muris 1	aaIPI 0,1 Muris 2	aaIPI ≥ 2 Muris 2	X²#	p
PFS	35,70±23,11*	13,97±20,36	8,80±11,76	20,39±14,61	6,075	0,108
	34,05(1,70-64,07)†	6,18 (2,00-54,87)	3,80 (2,43-34,90)	20,27(0,00-45,50)		

* (AS±SD), † Medijana (Min-Max), # Kruskal-Wallisov test,

5. Rezultati

PFS bio je najduži kod bolesnika sa IPI 0,1 i Muris 1, a najkraći kod bolesnika sa IPI ≥ 2 i Muris 1. Utvrđeno je da postoji statistički značajna razlika u dužini PFS u odnosu na ispitivane grupe ($p=0,034$). Daljom analizom je pokazano između kojih grupa postoji statistički značajna razlika: IPI 0,1 i Muris 1 i grupe IPI ≥ 2 i Muris 2 ($z=2,179$, $p=0,029$), grupe IPI 0,1 i Muris 1 i grupe IPI 0,1 i Muris 2 ($z=2,037$, $p=0,042$), grupe IPI 0,1 i Muris 2 i grupe IPI ≥ 2 i Muris 2 ($z=2,038$, $p=0,042$) (**Grafikon 52**).



Grafikon 52. PFS u odnosu na ispitivane odnose (IPI/Muris skor)^a vs IPI 0,1 i Muris 1

5. Rezultati

PFS je najduži kod bolesnika sa R-IPI 0,1 i Muris 1, a najkraći kod bolesnika sa R-IPI 0,1 i Muris 2, ali ne postoji statistički značajna razlika ($p=0,229$) (Tabela 124).

Tabela 124. PFS u odnosu na odnos (R-IPI/Muris skor)

	R-IPI 0,1 Muris 1	R-IPI 2 Muris 1	R-IPI 0,1 Muris 2	R-IPI 2 Muris 2	X ² #	p
PFS	33,13±22,08*	22,99±21,91	3,94±0,93	16,61±14,12	4,316	0,229
	28,37(2,00-60,60)†	22,02(0,67-64,07)	3,58 (3,30-5,30)	13,52(0,00-45,50)		

* (AS±SD), † Medijana (Min-Max), # Kruskal-Wallisov test,

PFS je najduži kod bolesnika sa NCCN-IPI 1,2 i Muris 1, a najkraći kod bolesnika sa NCCN-IPI 3,4 i Muris 2, ali ne postoji statistički značajna razlika ($p=0,141$) (Tabela 125).

Tabela 125. PFS u odnosu na odnos (NCCN-IPI/Muris skor)

	NCCN-IPI 1,2 Muris 1	NCCN-IPI 3,4 Muris 1	NCCN-IPI 1,2 Muris 2	NCCN-IPI 3,4 Muris 2	X ² #	p
PFS	27,61±21,69*	18,82±22,22	16,20±14,61	12,08±12,81	5,462	0,141
	26,52(1,07-64,07)†	7,30 (0,67-59,87)	9,62(0,47-45,50)	4,77 (0,00-35,00)		

* (AS±SD), † Medijana (Min-Max), # Kruskal-Wallisov test,

5.4.4. Regresiona analiza faktora rizika za PFS

U linearnoj regresionoj analizi utvrđeno je da nijedan ispitivani parametar nije bio statistički značajan prediktor za PFS (Tabela 126).

Tabela 126. Faktori rizika za PFS u regresionoj analizi

Faktori rizika	Nestandardizovani koeficijent (B)	Standardizovani koeficijent (β)	95%CI	p
Muški pol	-2,967	-0,072	-12,464-6,528	0,535
CD10+	-5,227	-0,109	-16,755-6,301	0,369
MUM1+	3,349	0,078	-7,391-14,089	0,534
bcl6+	-2,465	-0,059	-13,247-8,317	0,649
bcl2+	-8,727	-0,195	-19,346-1,893	0,106
Povišeni LDH	2,127	0,052	-7,363-11,617	0,447
Smanjeni albumini	-5,955	-0,138	-15,860-3,951	0,235
Povišeni beta2MG	-1,844	-0,044	-13,072-9,385	0,743
Smanjeni hemoglobin	4,773	0,116	-4,682-14,228	0,318

6. Diskusija

U našoj studiji prezentovane su demografske, biohemijske, kliničke, prognostičke skor/indeks i imunohistohemijske karakteristike 80 bolesnika sa dijagnozom *de novo* DLBCL, stadiranih i lečenih u stacionarnom delu Klinike za onkologiju u Knez Selu Kliničkog centra u Nišu. Ukupni period praćenja bolesnika bio je 5,8 godina, počevši od prvog uključenog bolesnika, dok je medijana praćenja iznosila 14,8 meseci. Osnovni cilj izvršenog ispitivanja bio je utvrđivanje samostalnog značaja ekspresije imunohistohemijskih biomarkera (bcl2, bcl6, CD10 i MUM1, Hansovog, Murisovog algoritma i supkategorijska analiza ekspresije biomarkera po Hansovom algoritmu), kao i njihove povezanosti sa biohemijskim, kliničkim i skorovima/indeksima prognoze, u odnosu na terapijski odgovor, faktore rizika za smrtni ishod i analizu dužine trajanja PFS vremena.

U analizi dobijenih demografskih podataka pokazalo se da je na uzorku od 80 ispitivanih bolesnika, polna distribucija bila relativno ujednačena. DLBCL se sa podjednakom učestalošću javljao u oba pola, sa odnosom (44 : 36) u korist ženskog pola. Nalaz ravnomerne polne distribucije u korelaciji je sa brojnim publikovanim rezultatima studija (311, 312, 313). Gratzinger i sar. pokazali su u svojoj studiji blagu predominaciju ženskog pola u oboljevanju od DLBCL (314), dok smo u našoj zajedničkoj studiji Srpske limfomske grupe (SLG) pronašli nešto veću učestalost muškog pola (55,3%) (315). U pomenutim, ali ni u drugim publikovanim, studijama nije postojala statistički značajna razlika u polnoj distribuciji obolelih od DLBCL. Prosečna starost ispitivane populacije iznosila je $58,15 \pm 15,83$ godina (minimalno 18, maksimalno 86 godina). DLBCL nešto češće se javljao kod starijih od 60 godina ($n=43$) u odnosu na mlađe od 60 godina ($n=37$), ali nije bilo statistički značajne razlike u analiziranoj kohorti bolesnika. Porast incidence DLBCL sa starošću davno je poznata naučna činjenica (51), međutim trendovi pomeranja ka mlađoj uzrasnoj grupi postoje danas u gotovo svim onkološkim oboljenjima. U uvodu je rečeno da je porast trenda oboljevanja od DLBCL značajno porastao u svim uzrasnim grupama, sem kod vrlo mladih (53). Naša kohorta od 80 bolesnika nedovoljna je za valjanu epidemiološku interpretaciju, za koju je potrebna veća serija bolesnika, odnosno veća statistička masa. S obzirom na aktuelno važeću WHO 2008 klasifikaciju, u našu studiju bili su uključeni bolesnici sa nekoliko podtipova DLBCL. DLBCL, NOS imalo je 67 bolesnika, odnosno 83,75%. Pored ovog entiteta, bilo je 7 bolesnika sa PMLBCL, odnosno 8,75%, kao tipom limfoma „drugih krupnih B ćelija”. Nakon toga, bilo je 3 bolesnika sa DLBCL

6. Diskusija

anaplastične ćelijske morfologije, odnosno 3,75%, 2 sa T cell/h rich podtipom DLBCL, odnosno 2,50% i 1 bolesnik sa graničnim DLBCL/HL, odnosno „grey zone” limfomom 1,25%. Najčešća histološka forma u našoj studiji bila je DLBCL, NOS, koja i predstavlja vodeću morfološku formu DLBCL. Saopštavana incidenca ovog podtipa DLBCL kreće se oko 30% u zemljama zapadne hemisfere, dok je u zemljama u razvoju veća (9). Srbija spada u grupu zemalja u razvoju i shodno tome uklapa se u šemu visoke prevalencije DLBCL, NOS tipa. Godinama unazad saopštavana incidenca PMLBCL kretala se između 2% i 4%, u odnosu na sve druge forme DLBCL (9). Dunleavy i sar. u svojim najskorijim istraživanjima saopštili su veću incidencu ovog entiteta, gde se ona kretala i do 10% (316). S tim u vezi, nalaz incidence od 8,75%, koja je zabeležena u našoj grupi bolesnika, korelira sa aktuelnim podacima. T cell/h rich DLBCL javljao se relativno retko sa udelom < 10% što se poklapa sa aktuelnom statistikom za ovaj podtip DLBCL (9). U odnosu na polnu distribuciju podtipova DLBCL, entitet DLBCL, NOS imao je gotovo potpuno izjednačene incidence u odnosu na pol. Podentitet PMLBCL izdvajao se češćom pojavom kod ženskog pola (od 7 bolesnika, 2 su bila muškog, a 5 ženskog pola), ali ova razlika nije dostigla statističku značajnost zbog malog broja bolesnika. Ovakav nalaz polne raspodele kod PMLBCL entiteta korelira sa do sada publikovanim demografskim podacima, gde se taj odnos kreće 2 : 1 u korist ženskog pola (108). Forme DLBCL, anaplastične ćelijske morfologije i granični „grey zone“ DLBCL bili su zastupljeni samo kod muškog pola. Ovakav nalaz, s obzirom na mali broj bolesnika može se smatrati rezultatom slučajnog izbora bolesnika. Podaci iz literature pokazuju da se radi o retkim formama DLBCL, pri čemu se „grey zone” DLBCL češće javljao kod muškog pola (9).

Distribucija biohemijskih parametara bila je relativno ujednačena kada su se posmatrale grupe sa normalnim u odnosu na one sa povišenim vrednostima LDH, beta 2 mikroglobulina i u odnosu na bolesnike sa sniženim vrednostima hemoglobina, dok se grupa bolesnika sa sniženim vrednostima albumina najređe javljala. Nije zabeležena statistički značajno veća učestalost nekog od analiziranih biohemijskih parametara.

U analizi kliničkih parametara nađeno je da je B simptomatologija bila zastupljena kod više od polovine ispitanih, odnosno 53,80% bolesnika. Ovakva učestalost pojave B simptoma uklapa se u neke saopštavane rezultate, gde su se B simptomi pojavljivali u 45–60% bolesnika sa DLBCL (317). U našoj studiji SLG, grupa analiziranih bolesnika imala je B simptome u 50% slučajeva sa različitim tipovima NHL (315). Pregledom literature ustanovljeno je da su se B simptomi javljali

6. Diskusija

sa različitom učestalošću u zavisnosti od serije bolesnika, ali može se reći da se kretala oko 50% i više. Na osnovu toga, može se reći da se dobijeni rezultati u našoj kohorti bolesnika poklapaju sa saopštavanjem rezultatima drugih autora. Infiltracija koštane srži ćelijama DLBCL našla se kod 14 bolesnika, odnosno 17,50%. Konkordantna infiltracija koštane srži relativno je retka, ali se prema nekim novijim podacima ona može naći kod 10–25% bolesnika sa DLBCL (195). Rezultati distribucije infiltracije koštane srži nađene u našoj kohorti bolesnika u skladu su sa saopštavanjem podacima u literaturi. „Bulky“ bolest imalo je tačno polovina ispitivane grupe bolesnika, odnosno 50%. Ovakav dobijeni rezultat predstavlja relativno visoku frekvencu ovakvog nalaza u odnosu na saopštavane podatke iz literature. Problem definisanja „Bulky“ bolesti i danas ostaje donekle otvoren. U zavisnosti od kliničkih studija, za „cut off“ vrednost uzimala se limfomska masa, ili konglomerat limfnih nodusa u intervalu od ≥ 5 cm do ≥ 10 cm. U nekim, relativno novijim, kliničkim studijama može se naići na podatke da je za proglašenje „Bulky“ volumena kao „cut off“ vrednost uziman dijametar tumorske mase ≥ 10 cm (318, 53). Pomenuti dijametar pominje se nakon uvođenja rituksimaba u terapiju DLBCL, jer se našlo da on predstavlja prikladnu marginu za delineaciju bolesnika sa „Bulky“ bolešću (318). U našoj studiji, kao „cut off“ vrednost za „Bulky“ bolest uziman je dijametar tumorske mase ≥ 7 cm. Razlog visoke učestalosti pojave „Bulky“ bolesti u našoj grupi bolesnika može biti trivijalan. U šta mogu spadati: dugo prosečno čekanje na postavljanje dijagnoze NHL/DLBCL, kao i relativno zakasnela dijagnoza DLBCL. Ekstranodalni oblici DLBCL bili su zastupljeni u tačno polovine, odnosno 50% naših slučajeva, što je nešto više u odnosu na publikovane serije, gde taj procenat ide do 40% (9). Razlog tome može ležati u odabiru grupa bolesnika, jer se mnogi bolesnici sa ekstranodalnim limfomima preusmeravaju češće u onkološke centre (kakav je naš), dok oni sa klasičnom nodalnom ili leukemijskom prezentacijom primarno odlaze u ustanove hematologije. U odnosu na Ann Arbor klinički stadijum, bilo je najmanje bolesnika sa niskim Ann Arbor kliničkim stadijumom I (10%), dok je najviše bilo bolesnika sa visokim Ann Arbor kliničkim stadijumom IV (56,25%). Ovakva distribucija bolesnika pokazuje da je kod većine bolesnika bolest bila uznapredovala, što može ukazivati da je kod analizirane grupe bolesnika bolest kasno dijagnostikovana. Razlog ovakvom nalazu treba tražiti u kasnom javljanju bolesnika lekaru i kasnom prepoznavanju od strane ustanova, pre svega primarne zdravstvene zaštite, mada treba istaći i svakodnevne podatke o dugom periodu čekanja na postavljanje patohistološke dijagnoze limfoma.

6. Diskusija

Distribucija bolesnika prema skorovima/indeksima prognoze bila je sledeća: mlađi bolesnici imali su relativno ujednačenu distribuciju aaIPI skorova od 0 do 2, najmanje je bilo sa visokim aaIPI, ali nije bilo statistički značajne razlike u odnosu na distribuciju među vrednostima skorova i u odnosu na polnu distribuciju aaIPI skora. U grupi starijih bolesnika, kojima je kalkulisan IPI skor, nije bilo bolesnika sa skorom 0, s obzirom da se starost bolesnika (> 60 godina), uzima kao kriterijum bodovanja. Bilo je nešto više bolesnika sa višim skorom (≥ 2), koji spadaju u terapijski i prognostički najproblematičniju grupu. Nije bilo statistički značajne razlike između grupa bolesnika upoređivanih na osnovu IPI skorova (41,86% bolesnika IPI 1 vs 58,14% bolesnika IPI ≥ 2), niti u distribuciji u odnosu na pol. R-IPI skor bio je relativno ravnomerno distribuiran: najmanje bolesnika bilo je sa vrlo dobrim skorom, a najviše sa dobrim skorom. Nije postojala statistički značajna razlika u odnosu na različite R-IPI grupe skorova, niti u odnosu na polnu distribuciju R-IPI skorova. U grupi NCCN-IPI skora, koji su definisali Zhou i sar. 2014. g. (218), bilo je najviše bolesnika sa niskim intermedijernim NCCN-IPI skorom (2 i 3), ukupno 52,50%, dok su nizak i visok nepovoljan skor bili slabije zastupljeni. Ovakva distribucija bolesnika poklapa se sa originalnom kolekcijom bolesnika prezentovanoj u studiji Zhoua i sar. (218). Nije postojala statistički značajna razlika u odnosu na polnu distribuciju unutar grupa NCCN-IPI skora.

U odnosu na pojedinačnu ekspresiju biomarkera u našoj kohorti bolesnika, nađeno je da je CD10 ekspresiju imalo 23%, ekspresiju bcl6 imalo je 36,90%, a ekspresiju MUM1 biomarkera imalo je 59,40% bolesnika. Ekspresija navedenih biomarkera granično korelira sa podacima koje prezentuje zvanična WHO 2008 klasifikacija, osim za bcl6 biomarker. Aktuelno publikovani opseg ekspresije za CD10 biomarker kreće se 30–60%, za MUM1 biomarker 35–65% i za bcl6 biomarker 60–90% (9). Iz navedenih podataka, naše serije bolesnika, uočava se da je postojala dominantna ekspresija MUM1 biomarkera, što sugerise dominaciju non-GCB fenotipa. Distribucija biomarkera CD10, MUM1 i bcl6 nije se statistički značajno razlikovala u odnosu na pol. Ekspresija bcl2 bila je prisutna u 67,60% bolesnika, sa statistički značajno češćom pojavom u ženskom polu ($p=0,039$). Zvanična WHO 2008 klasifikacija nema podataka o učestalosti bcl2 ekspresije (9). U revijskom prikazu Lossosa i sar. o prognostičkim parametrima kod DLBCL, pokazano je da se ekspresija bcl2 biomarkera kreće 47–58% (319). Sehn je pokazao približno istu ekspresiju, u intervalu 40–60% (320). Obe publikovane serije ukazuju na to da je ekspresija bcl2 biomarkera bila nešto manja u odnosu na našu grupu bolesnika. U radovima u kojima su

6. Diskusija

razmatrani krupnoćelijski B limfomi tipa DHL i još aktuelnije, atipični DHL, saopštavana je visoka ekspresija bcl2, čak u preko 90% slučajeva (321). Ovakav podatak može da pobudi sumnju da je naša kohorta bolesnika možda imala i slučajeve DHL. Pojava statistički značajno češće ekspresije bcl2 proteina u ženskom polu nije opisivana u svetskoj literaturi i njen značaj se ne zna. Moguće da je takav rezultat sasvim slučajan i da je posledica sastava uključenih bolesnika. Pregledom publikovane literature moglo se naći jedino da je bcl2 biomarker češće eksprimiran kod starijih osoba, odnosno da nivo ekspresije bcl2 biomarkera raste sa starošću, pri čemu je "cut off" vrednost zabeležena oko 40. godine života. Ovakav trend postoji i u GCB i non-GCB imunohistohemijskim podtipovima, mada nešto više u non-GCB podtipu (322). Postoje studije koje su pokazale da imunohistohemijska ekspresija bcl2 proteina, merena semikvantitativnom metodologijom na membranama ćelija DLBCL (kakva je rađena u našoj studiji), u velikoj meri koreliraju sa (eng. microarray) studijama kvantitativnog RT-PCR (eng. real time-polymerase chain reaction), koje identifikuju mRNA (eng. messenger-Ribonucleic acid), za budući bcl2 protein u citoplazmi ćelije (323). Ovo ukazuje na to da su metode imunohistohemije veoma pouzdane i dovoljno senzitivne za detekciju nivoa ekspresije ovog proteina.

U ispitivanoj populaciji bolesnika u odnosu na Hansov algoritam, koga su definisali Hans i sar. 2004. godine (63), bilo je 19 bolesnika, odnosno 29,68% sa GCB podtipom i 45 bolesnika, odnosno 70,32% sa non-GCB podtipom. U prikazanoj grupi ispitanika statistički značajno bio je veći broj non-GCB podtipova, dok na nivou polne distribucije nije utvrđena statistički značajna razlika. U odnosu na statistike vezane za imunohistohemijsku ekspresiju surogat markera profila genske ekspresije (GCB i non-GCB podtipova), u našoj studiji bilo je značajno više non-GCB podtipova, praktično 2/3 slučajeva. U vezi sa ovim nalazom postoji prava kolizija podataka prezentovanih od strane različitih autora. U studiji Shizoawe i sar. u 248 evaluiranih japanskih bolesnika, nađeno je da je 29% bilo GCB, a 71% non-GCB podtipova (324), što je gotovo identično nalazu u odnosu na našu kohortu bolesnika. Yamaguchi i sar. pokazali su na 81 mlađih bolesnika takođe diminaciju non-GCB fenotipa sa udelom od 59%, dok je GCB podtipova bilo 41% (325). Alacacioglu i sar. su u Turskoj analizirali 50 bolesnika i pronašli da je 30% bilo GCB, a 70% non-GCB podtipova (326), što je identično nalazu sa našom grupom bolesnika. U analizi Limfomske studijske grupe iz Nebraske, od strane Fua i sar. na grupi od 131 bolesnika pokazali su blagu predominaciju GCB grupe sa 52%, dok je non-GCB bilo 48% bolesnika (327).

6. Diskusija

Saad i sar. retrospektivno su analizirali parafinske blokove 30 slučajeva DLBCL i pokazali značajniju predominaciju GCB podtipa sa 57%, dok je 43% bilo non-GCB (328). Castillo i sar. analizirali su 730 uzoraka i pokazali da je GCB podtipova bilo 48,8%, a non-GCB podtipova 51,8% (329). U disertaciji Popovića iz Novog Sada pronađena je identična distribucija bolesnika u odnosu na Hansov algoritam (330), kao u našoj studiji. Na osnovu iznetih podataka izgleda da postoje regionalne razlike u distribuciji imunofenotipova, odnosno GCB/non-GCB podtipova po Hansovom algoritmu. U vezi sa ovim problemom valjano je pomenuti i mogućnost subjektivnog uticaja patologa u toku imunohistohemijske ekspertize, jer se radi o semikvantitativnoj metodi analize. S druge strane, treba pomenuti da neke studije nisu koristile isti „cut off“ za proglašenje pozitivnosti biomarkera, čime izazivaju koliziju u saopštavanim nalazima i nemogućnost adekvatnog poređenja. Poznata činjenica je da se imunohistohemijska ekspresija ne poklapa u potpunosti sa pravim profilom genske ekspresije. Podsećanja radi, nađeno je da se stepen konkordantnosti u Hansovoj algoritamskoj grupi kreće oko 80% (73% za GCB i 87% za non-GCB podtip) (63). U studiji o molekularnoj analizi „The Lymphoma/Leukemia Molecular Profiling Project” detektovano je približno 60% GCB i 40% non-GCB podtipova, upotrebom analize genskog ekspresionog profila (327, 331). Podaci saopštavanih analiza profila genske ekspresije potiču sa prostora zapadne Evrope, s toga je otvoreno pitanje da li je situacija ista u svim regijama sveta. Ne postoje podaci iz literature o analizi genskog ekspresionog profila kod DLBCL na serijama bolesnika iz Srbije i okolnih geografskih regiona.

Murisov algoritam (skor) uključuje u sebe bcl2 biomarker kombinovan sa Hansovim algoritmom (72). U analizi naših bolesnika videlo se da je zastupljenost Muris skorova u odnosu na tip (1 i 2) bio potpuno ujednačen, a u odnosu na pol takođe nije se našla statistički značajna razlika. Ovakav dobijeni rezultat korelira sa publikovanim rezultatima originalne studije Murisa i sar. koji su definisali ovaj skor (72).

U supkategorijskoj analizi ekspresije biomarkera u odnosu na Hansov algoritam videlo se da je najviše bolesnika bilo sa imunoprofilom klasičnog non-GCB podtipa: CD10-, MUM1+, bcl6- ukupno 50%, što je bilo statistički značajnije u odnosu na druge supkategorije biomarkera. Ovakav nalaz poklapa se sa već navedenim podacima o dominaciji non-GCB podtipa DLBCL u našoj grupi bolesnika. Ostale supkategorije imunoprofila bile su relativno ujednačene zastupljenosti, odnosno bez statističke značajnosti razlika. Koekspresija opozitnih biomarkera (koji su međusobno isključivi), MUM1+/bcl6+ bila je prisutna u 19,60% slučajeva. U jednoj

6. Diskusija

studiji zabeležena je koekspresija i do 50% (332), ali uglavnom je bila niska prebojenost jedara ćelija. Najmanje bolesnika bilo je bez ekspresije ispitivanih biomarkera CD10-, MUM1-, bcl6-, ukupno 8.93%, koji se svrstavaju u non-GCB podtip DLBCL (333). U našoj kohorti nije bilo bolesnika sa statistički najredom grupom: CD10+, MUM1+ i bcl6+, koja spada u GCB podtip.

U analizi odgovora na indukcionu terapiju ukupni terapijski odgovor (ORR) dobijen je kod 53 bolesnika, odnosno 66,25%. Imunohemioterapija (rituksimab+hemioterapija) bila je primenjena kod 77 od 80 bolesnika, odnosno 96,25%. Ostala 3 bolesnika, odnosno 3,75% primila su samo hemioterapiju. Rezultati MInT studije koja je analizirala bolesnike mlađe od 60 godina dobrog ECOG PS 0–1, kliničkih stadijuma II–IV, i I „Bulky“, pokazali su impozantnu efikasnost lečenja sa postizanjem CR > 80% bolesnika (260). Rezultati GELA LNH–98.5 studije III faze koja je analizirala bolesnike starije od 60 godina, takođe su pokazali odličnu efikasnost u R–CHOP grupi od > 70% postignutih CR (334). U studiji Cunninghama i sar. ORR se kretao do 88% u R–CHOP 21 grupi, dok je u R–CHOP 14 grupi bio i veći, što u ovom razmatranju nije od značaja. Studija je imala 1080 bolesnika (540 u svakoj grani); bilo je 237 smrtnih ishoda i 318 relapsa i progresija bolesti pod terapijom (335). U pomenutim studijama ORR kretao se > 80%, što je značajno više u odnosu na dobijene rezultate na našoj seriji bolesnika. Rezultate naše studije možemo objasniti pre svega neselektovanim i nehomogenim grupama bolesnika, po više osnova, koje su ispitivane. U našu analizu bili su uključeni bolesnici starosti od 18 do 86 godina, različitih skorova/indeksa prognoze, različitih kliničkih karakteristika i umereno različitih hemioterapijskih šema, mada je CHOP bio dominantan. U delu poglavlja 4, gde se razmatrao tretman bolesnika, navedeno je da je bilo 66 bolesnika koji su primali R–CHOP 21 protokol, 8 bolesnika suboptimalni R–CVP 21 protokol, bez primene antraciklina (glavni razlog njihovog izostavljanja bila je niska ejekciona frakcija leve komore < 50% na prezentaciji), 3 bolesnika primala su dozno prilagođen (eng. dose-adjusted) DA–EPOCH–R (3 bolesnika sa PMLBCL) i 1 bolesnik HD Mtx/ HD citarabin (sa primarnim DLBCL CNS-a), 2 bolesnika primala su samo CHOP. Neki od bolesnika su tokom perioda lečenja razvili klinički evidentnu kardiotoksičnost (koja je bila ehokardiografski verifikovana), te su bili diskontinuirani sa antraciklina i nastavili dalje lečenje primenom R–CVP protokola. Prema aktuelnom ESMO vodiču iz 2012. godine (49), ovakvim bolesnicima može se dodati etopozid umesto antraciklina, radi podizanja efikasnosti tretmana, ali mi to nismo praktikovali kao terapijsku opciju. Jedan od hipotetičkih uzroka niže dobijenog ORR možda treba tražiti u visokoj ekspresiji bcl2 proteina, koji je zabeležen kod

6. Diskusija

67,60% bolesnika, što je bilo više u odnosu na publikovane serije bolesnika iz literature. Ovakav podatak može da pobudi sumnju da je u našoj kohorti bilo bolesnika sa DHL, što nije moglo biti dokazano, jer se gensko profiliranje DLBCL rutinski ne primenjuje u Srbiji, a ni u svetu. Ovakva sumnja može se opravdati činjenicom da su dominirali bolesnici koji su doživljavali progresiju bolesti pod terapijom, odnosno imali su rezistentnu bolest. Ovo je tipično za entitete DHL, koji se trenutno nalaze u žiži svetskih ispitivanja u domenu genetske supklasifikacije DLBCL. Danas je sasvim jasno da R-CHOP nije terapija izbora za ove entitete, jer je bez značajnijeg efekta (279, 280). Od 53 bolesnika koji su imali odgovor na terapiju bilo je njih 49, odnosno 61,25% sa postignutom CR i 3 bolesnika, odnosno 3,75% sa PR, pri čemu su u momentu preseka stanja 2 bolesnika u grupi sa PR još uvek primala sistemsku indukcionu terapiju. Ovi bolesnici svrstani su u grupu respondera koji su, do momenta preseka stanja, dostigli PR. Progresija bolesti bila je prisutna kod 28 bolesnika, odnosno 35%. Dominantan broj bolesnika progredirao je u toku primene same terapije, odnosno imali su kratak period odgovora na terapiju, a onda su doživeli progresiju. U našoj kohorti bolesnika samo jedna bolesnica imala je postignutu CR kratkog trajanja (rani relaps) verifikovanu pomoću PET/CT, dok bolesnika sa kasnim relapsom nije bilo. Kao jedan od mogućih razloga tome treba tražiti u dugom periodu inkluzije bolesnika u našu studiju (od aprila 2009. do oktobra 2014. godine), kao i u heterogenom i relativno kratkom periodu praćenja bolesnika. Jednostavno nije se desilo da ispitivana grupa bolesnika ima one sa kasnim relapsom, već samo one sa refraktarnom bolešću ili ranim relapsom, što opet više nalikuje primarno refraktarnoj bolesti. Thieblemontova i sar. ukazuju na to da bez obzira na poboljšanu efikasnost terapije u eri R-CHOP indukciono imunohemioterapije, 40% bolesnika doživljava loš odgovor na terapiju, odnosno rezistenciju ili relapsira (336). Slične podatke saopštava i jedan od vodećih svetskih autoriteta iz oblasti limfoproliferativnih bolesti, Prof. Armitage sa Departmana za hematologiju i onkologiju, Univerziteta iz Nebraske, Sjedinjene Američke Države, u jednoj od svojih publikacija o samostalnom pristupu tretmanu bolesnicima sa DLBCL (337). U odnosu na pol i starost bolesnika nije utvrđena statistički značajna razlika u odgovoru na primenjenu terapiju. Posmatrano u odnosu na tip DLBCL takođe je utvrđeno da nema statistički značajne razlike u odgovoru na terapiju. Bez obzira što tip DLBCL nije značajno uticao na terapijski odgovor, primećeno je bilo da su svi bolesnici (njih 3) sa anaplastičnom ćelijskom morfologijom DLBCL, odnosno 100%, progredirala i umrla od uzroka vezanih za samu progresiju bolesti. Ovi bolesnici bili su rezistentni na lečenje, što implicira da ova

6. Diskusija

histološka forma DLBCL nosi sa sobom lošu prognozu. Serija slučajeva od 3 bolesnika prikazanih u našoj studiji nedovoljna je da bi dobijeni rezultat mogao da se generalizuje. Ovakav nalaz zahteva potvrdu na većoj kohorti bolesnika.

Urađena je analiza odgovora na terapiju u odnosu na svaki imunohistohemijski biomarker pojedinačno. Dobijeni rezultati pokazali su da se nijedan od ispitivanih biomarkera samostalno (bcl2, bcl6, MUM1 i CD10) nije izdvojio kao nezavisni prediktor terapijskog odgovora. Ovakav nalaz samo donekle može se tumačiti činjenicom da se očitavanje ekspresije biomarkera vrši semikvantitativnim imunohistohemijskom metodologijom, koja je bar jednim delom zavisna od subjektivne procene patologa. Drugi aspekt problema je što su brojne publikovane studije, koje su ukazivale na činjenicu da imunohistohemijski biomarkeri mogu imati uticaja na ishod tretmana, koristile različite „cut off“ vrednosti za tumačenje ekspresije imunohistohemijskih biomarkera. Iz ovih razloga saopštavani su vrlo različiti i neretko kontradiktorni rezultati, ali pre svega o prognostičkom značaju ekspresije biomarkera. Tehnika semikvantitativne imunohistohemije za supklasifikaciju DLBCL izvodljiva je i reproducibilna, ali pokazuje varijabilnu stopu konkordance za različite analizirane biomarkere (338). U navedenoj studiji de Jonga i sar. zabeležena je visoka konkordanca za CD20 i CD10 biomarker, dok je za bcl6 i Ki 67 proliferativni indeks postojala vrlo niska saglasnost među različitim patolozima koji su vršili ekspertizu istih imunohistohemijskih preparata.

Gotovo da nema publikovanih studija koje su ispitivale direktan uticaj CD10 biomarkera u odnosu na odgovor na primenjenu terapiju. Uglavnom je evaluiran njegov prognostički značaj, odnosno njegov uticaj na dugoročne efekte u preživljavanju bolesnika. U tom smislu dobijani su kontradiktorni rezultati. Studije Colomoa i sar. kao i studije Fabiani i sar. pokazale su da CD10 biomarker gotovo da nema nikakav uticaj na preživljavanje bolesnika sa DLBCL (339, 340). Studija Uherove i sar. pokazala je negativan značaj ekspresije CD10 biomarkera na ishod lečenja DLBCL (341). Pomenuta studija odnosi se na period pre ere primene rituksimaba u terapiju DLBCL. Studije koje su sugerisale pozitivni prognostički značaj CD10 ekspresije su, pre svega, studije Hansa i sar., ali i drugih autora (63, 342, 343). Ove studije prikazale su rezultate kod bolesnika koji su bili tretirani rituksimabom sa hemioterapijom. Rezultati dobijeni u našoj seriji bolesnika pokazali su da u analizi imunohistohemijske ekspresije CD10 biomarkera (CD10+ vs CD10-), kao samostalne varijable, nema statistički značajne razlike u odgovoru na primenjenu terapiju.

6. Diskusija

MUM1 biomarker ispitivan je kao prognostički faktor u brojnim studijama sa vrlo kontradiktornim zaključcima. Nema studija koje su ispitivale njegov direktan uticaj u odnosu na odgovor na terapiju. Tradicionalno smatra se da je MUM1 ekspresija povezana sa lošim prognostičkim potencijalom u smislu kraćeg OS (63, 344), dok druge studije nisu pronašle nikakav prognostički značaj (227, 345, 346). Rezultati dobijeni u našoj seriji bolesnika pokazali su da u analizi imunohistohemijske ekspresije MUM1 biomarkera (MUM1+ vs MUM1-), kao samostalne varijable, nema statistički značajne razlike u odgovoru na primenjenu terapiju.

Ekspresija bcl6 biomarkera tradicionalno se smatra povoljnim prognostičkim nalazom, što je saopštavano u studijama i pre i nakon primene rituksimaba (227). Nema podataka iz literature koji su analizirali direktan uticaj bcl6 biomarkera u odnosu na odgovor na primenjenu terapiju. Rezultati dobijeni u našoj seriji bolesnika pokazali su da se u analizi imunohistohemijske ekspresije bcl6 biomarkera, kao samostalne varijable, uočio trend ka boljem odgovoru na primenjenu terapiju u grupi bcl6+ bolesnika ($p=0,08$), ali bez dostizanja statistički značajne razlike u poređenju sa bcl6- grupom bolesnika.

Ekspresija bcl2 biomarkera, jednog od najispitivanijih biomarkera u DLBCL, pokazala je najveću kontradiktornost nalaza. Najveći broj studija, iz perioda pre primene rituksimaba, isticale su negativni prognostički uticaj bcl2 overekspresije. Nakon involviranja rituksimaba u terapiju DLBCL, prognostički značaj bcl2 overekspresije saopštavan je dosta raznoliko, od njegovog negativnog uticaja, do toga da je rituksimab uspeo da prevaziđe negativni uticaj bcl2 overekspresije na ishod tretmana DLBCL. Rezultati dobijeni u našoj seriji bolesnika pokazali su da u analizi imunohistohemijske ekspresije bcl2 biomarkera, kao samostalne varijable, iako je bilo više bcl2- bolesnika koji su odgovorili na terapiju, nije bilo statistički značajne razlike u odgovoru na terapiju u odnosu na bcl2+ grupu.

U analizi biomarkera grupisanih po Hansovom algoritmu nije se našla statistički značajna razlika u odgovoru na primenjenu terapiju. Ima radova koji su pokazali da je rituksimab uspeo da prevaziđe negativni uticaj non-GCB podtipa na terapijski odgovor koji je postojao u eri pre primene rituksimaba (347), međutim to se dominantno odnosi na dugoročni, prognostički uticaj non-GCB podtipa.

U analizi uticaja Murisovog algoritma (skora), nije se našla statistička značajna razlika između Muris skora tipa 1 i tipa 2 u odgovoru na indukcionu terapiju. Odgovor na terapiju bio je skoro ekvivalentan u oba tipa po Murisovom skor.

6. Diskusija

U analizi uticaja supkategorija biomarkera po Hansovom algoritmu nije se našla statistički značajna razlika među upoređivanim grupama u odgovoru na indukcionu terapiju. Ovde treba naglasiti da se dogodila velika disperzija bolesnika unutar analiziranih grupa, te da se dobio jako mali uzorak različitih supkategorija biomarkera, koji nije bio validan za statističku interpretaciju. Za ovakav tip analize potrebna je značajno veća serija bolesnika.

Na kraju razmatranja ovog početnog segmenta naše studije važno je istaći da imunohistohemijski biomarkeri i iz njih izvedeni algoritmi predstavljaju surogat markere, čija je konkordanca sa pravim profilom genske ekspresije dostigla maksimalno 93%, prema aktuelnim saopštenjima. Publikacija Garciae i sar. upravo opominje da se imunohistohemijski algoritmi trebaju koristiti sa velikom oprežnošću, jer često ne odražavaju pravo stanje genskog ekspresionog profila (348). Najnovije publikacije, takođe potvrđuju da i u eri rituksimaba (R-CHOP terapije), imunohistohemijski algoritmi Hans, Muris, ali i novijeg datuma Choi, Tally i Visco-Young, mogu da izdvoje one bolesnike sa evidentno lošim prognostičkim profilom, ali da ne mogu da predvide biološko ponašanje i ishod tretmana DLBCL (349). U ovom smislu takođe govore rezultati skoro saopštene metaanalize Reada i sar. u kojoj su obrađene 24 studije koje su se bavile ispitivanjem značaja Hans, Muris i Choi imunohistohemijskih algoritama. Rezultati ove metaanalize pokazali su nedostatak dokaza koji podržavaju upotrebu pomenutih algoritama u stratifikaciji bolesnika u posebne prognostičke grupe, navodeći da profil genske ekspresije ostaje preferirana metoda koja nudi takve mogućnosti (350). Na osnovu iznetih pregleda literature, od kojih je jedna metaanaliza, koja kao statistička metoda nudi najjači nivo dokaza, početni rezultati naše studije u korelaciji su sa pomenutim. Bez obzira na napred navedeno i dalje se sprovode studije koje stavljaju akcent na određivanje imunohistohemijskog profila ekspresije, pri čemu se broj ispitivanih biomarkera sve više povećava, a algoritmi usložnjavaju čime se konkordanca sa pravim profilom genske ekspresije lagano približava maksimumu, odnosno potpunom podudaranju. Jedan od razloga za insistiranje na imunohistohemiji je to što određivanje profila genske ekspresije još uvek predstavlja veoma skup model, koji delom nije standardizovan za rutinsku upotrebu. S druge strane, imunohistohemija je doživela maksimalnu rutinu, a pritom je dosta jeftinija i široko dostupna. Jedino donekle ostaje problem semikvantitativne metodologije određivanja nivoa ekspresije biomarkera.

U daljem toku ispitivanja analizirani su opšti podaci biohemijskih i kliničkih parametara radi evaluacije njihovog uticaja na terapijski odgovor u našoj kohorti bolesnika.

6. Diskusija

Kao biohemijske varijable analizirani su: nivo LDH, nivo albumina, nivo beta 2 mikroglobulina i nivo hemoglobina. U ovom nivou ispitivanja dobijeni su rezultati koji su ukazali da su se povišene vrednosti LDH statistički značajno češće javljale kod bolesnika koji su imali progresivnu bolest, odnosno kod bolesnika koji su postizali CR vrednosti LDH bile su statistički značajno niže ($p=0,001$). Sličan nalaz dobijen je kod smanjenih vrednosti albumina, koji su se sa manjom statističkom značajnošću u odnosu na LDH najređe javljali kod bolesnika koji su postizali CR ($p=0,041$). Povišene vrednosti LDH su, bez sumnje, udružene sa velikom tumorskom masom i uznapredovalom bolešću. Patofiziološki gledano visoke vrednosti LDH su posledica visoke celularne dinamike u malignom limfoidnom tkivu, čiju osnovu čini povećana proliferacija blasta DLBCL praćena nekrozom limfomskog tkiva i povećanim izlivanjem enzima. Većina studija ranijih datuma, iz ere pre primene rituksimaba, ističu pre svega, negativan prognostički značaj povišenih vrednosti LDH (351). Zbog svog dokazanog negativnog prognostičkog značaja, nivo LDH je sastavni deo kalkulacije svih skorova/indeksa prognoze (aaIPI, IPI, R-IPI, NCCN-IPI). U našoj studiji se ističe negativan prediktivan potencijal povišenih vrednosti LDH, odnosno njegov uticaj na ometanje efikasnosti primenjene indukciono imunohemioterapije (era nakon primene rituksimaba) i smanjenje mogućnosti postizanja remisije bolesti. Ovakav aspekt veoma je retko razmatran u publikovanim studijama. Pregledom literature pronađena je studija Parka i sar. iz 2014.godine, koja po prvi put ističe da kod bolesnika sa visokim vrednostima LDH postoji statistički značajna veza sa nižom stopom postizanja CR u odnosu na one sa referentnim vrednostima ovog biohemijskog parametra (73,1% vs 95,2%). Efekti ovakvog uticaja na obaranje efikasnosti imunohemioterapije bili su najizraženiji kod bolesnika koji su imali povišen LDH u visokom IPI skoru (≥ 2). U pomenutoj studiji pokazano je da je povišen LDH bio najšire distribuiran parametar loše prognoze u IPI skoru i da su vrednosti LDH > 2000 IU/L signifikantno korelisale sa kraćim OS. Zaključak ove studije jeste da su povišene vrednosti LDH najrelevantniji parametar iz IPI skora, sa najjačim uticajem na prognozu, ali da nalazi zahtevaju dalju validaciju u većim kohortama bolesnika (352). Rezultati dobijeni u našoj studiji u potpunosti koreliraju sa navedenim nalazom Parka i sar. čime naša studija predstavlja drugu studiju ovakve vrste koja potvrđuje nalaze navedene grupe autora. Treba pomenuti nalaz studije Tomite i sar. koji su našli da je elevacija LDH za > 2 puta od normale, povezana sa povećanim rizikom od CNS infiltracije (353). Nalaz koji je u toku analize bolesnika uzgredno bio uočen je da je kod nekolicine bolesnika zapažen paradoksalan rezultat.

6. Diskusija

Navedeni bolesnici imali su normalan nivo LDH, a uznapredovalu bolest koja je bila refraktarna na terapiju. Podaci o ovakvim slučajevima nisu publikovani do sada u svetskoj literaturi, i ostaje otvoreno pitanje značaja ovakvog nalaza. Možda je ovakav nalaz u domenu serije prikaza slučajeva, međutim u svakodnevnoj kliničkoj praksi primećeno je da se ovakvi „paradoksi” normalnih vrednosti LDH u uznapredovaloј bolesti povremeno sreću i da bi zahtevali ozbiljniju analizu na većim serijama bolesnika.

Snižen nivo albumina korelirao je sa lošijim terapijskim odgovorom. Ovakav nalaz vezan za nivo albumina u korelaciji je sa postojećim podacima iz literature (354). Neke od poslednjih publikovanih studija pokazuju da snižen nivo albumina ostaje loš i prognostički parametar u eri nakon uvođenja rituksimaba u terapiju DLBCL. Marcheselli i sar. ovaj fenomen objašnjavaju postojanjem povećanog inflamatornog odgovora organizma, povećanim oslobađanjem citokina iz tumora, kao i lošijim nutritivnim statusom bolesnika, mada generalno fenomen ostaje nerazjašnjen (355). U analizi Dalia i sar. pronađeno je da nivo albumina ispod 37 g/dl predstavljaju „cut off” vrednost za loš terapijski ishod i kraći OS na primenjenu terapiju (era R-CHOP indukcione imunohemioterapije) (356). Pitanje zašto snižen nivo albumina smanjuje efikasnost primenjene imunohemioterapije, ostaje velikim delom nerazjašnjeno. Jedna od hipoteza je da je smanjen nivo albumina povezan sa smanjenim kapacitetom vezivanja primenjenih lekova za albumine, čime bi se ubrzavao njihov klirens iz organizma, što bi vodilo njihovom kraćem zadržavanju i smanjenju perioda ekspozicije tumora dejstvu primenjenih lekova. Nizak nivo albumina, kao što je već navedeno, povezan je sa smanjenim nutritivnim statusom organizma što može voditi ka lošijem podnošenju primenjene terapije i njenoј većoj toksičnosti. Ove poslednje navedene spekulacije predstavljaju radne hipoteze koje zahtevaju prospektivnu studijsku evaluaciju.

Pronađeno je da smanjene vrednosti hemoglobina i povišene vrednosti beta 2 mikroglobulina nisu statistički značajno korelirale sa odgovorom na terapiju. Nivo beta 2 mikroglobulina značajniji je kao marker relapsa i kraćeg PFS i OS (50). Nema publikovanih rezultata o prediktivnom uticaju na efekat primenjene terapije.

U analizi odgovora na indukcionu terapiju ispitivane su sledeće kliničke varijable: prisustvo B simptoma, prisustvo „Bulky” bolesti, prisustvo infiltracije koštane srži, nodalna vs ektranodalna prezentacija DLBCL, ECOG PS i Ann Arbor klinički stadijum.

6. Diskusija

Našlo se da su se B simptomi sa velikom statističkom značajnošću javljali kod bolesnika koji su progredirali, odnosno nisu imali dobar tok bolesti (36,7% kod bolesnika sa CR, 100% kod bolesnika sa PR i 78,60% kod bolesnika sa PD, $p < 0,001$, respektivno). Do sada publikovani rezultati uglavnom su se odnosili na značaj prisustva B simptoma kao lošeg prognostičkog parametra, manje je poznato da mogu imati uticaja na modulaciju terapijskog odgovora. Prisustvo B simptoma pre svega je rezultat paraneoplastičnog sindroma specifično prisutnog u limfoproliferativnim neoplazmama (HL i NHL). Oni su posledica povećane produkcije i sekrecije citokina i medijatora inflamacije koji vode pojavi hroničnog inflamatornog odgovora organizma. U literaturi najčešće se pominje značaj interleukina 6 (IL-6), koji je multipotentni citokin, autokrino sekretovan od strane malignih ćelija NHL i čije su povišene koncentracije u plazmi obolelih povezane sa prisustvom B simptoma (357). Visok nivo citokina i drugih produkata tumora remete brojne metaboličke puteve na više nivoa, dovodeći do tipičnih inflamatornih simptoma bolesti, što najverovatnije moduliše dejstvo imunohemioterapije umanjujući njenu efikasnost. B simptomi su, sa druge strane, često udruženi i sa ostalim faktorima loše prognoze (viši klinički stadijum bolesti, „Bulky” bolest, sniženi albumini, hemoglobin i sl.). U našoj, analiziranoj kohorti bolesnika 53,50% je imalo prisutne B simptome, što je bilo idealno za poređenje dveju grupa: one sa prisutnim B simptomima i bez B simptoma.

Nije se pokazalo da prisustvo infiltracije koštane srži značajno utiče na terapijski odgovor, što uostalom i nije opisivano. Uglavnom se zna za uticaj ovog kliničkog parametra, pre svega na OS bolesnika (5-godišnji OS $< 10\%$, kod konkordantno prisutne infiltracije) (195, 196, 197).

„Bulky” bolest statistički značajno korelira sa lošijim terapijskim odgovorom ($p = 0,01$). Ovaj rezultat može se tumačiti uznapređovalom bolešću koja je obično praćena i prisustvom dodatnih parametara loše predikcije odgovora na terapiju i ukupne prognoze (povišen LDH, snižene vrednosti albumina i hemoglobina, i sl.). U analizi kliničke prezentacije DLBCL (nodalna vs ektranodalna) nije se našla statistički značajna razlika u odnosu na odgovor na primenjenu terapiju. Grupe za komparaciju bile su odlično izbalansirane (odnos 50% vs 50%). Od bolesnika sa ektranodalnom prezentacijom u našu studiju bili su uključeni bolesnici sa limfomskom infiltracijom sledećih ektranodalnih lokalizacija: želuca, kolona, hipofarinksa, kostiju, mozga, testisa, ovarijuma, mokraćne bešike, retrobulbarnog regiona, jetre i pluća, bilo je i bolesnika sa ≥ 1 ektranodalne lokalizacije. Unutargrupna analiza odgovora na terapiju u odnosu na

6. Diskusija

ekstranodalno mesto nije sprovedena, jer bilo je malo bolesnika za adekvatno poređenje, a i to prevazilazi potrebne okvire ove studije. U studiji Huija i sar. koja je retrospektivno analizirala 1781 bolesnika (od kojih je 513 primalo R-CHOP, a njih 133 imalo ekstranodalnu prezentaciju DLBCL) našlo se da ekstranodalna prezentacija u odnosu na nodalnu nema nikakvog uticaja u odnosu na odgovor na primenjenu terapiju, kao ni primarno mesto ekstranodalne prezentacije, pogotovo u eri primene rituksimaba (358). Ovakvi rezultati potvrđeni su i u našoj seriji bolesnika, mada je to značajno manja grupa.

U analizi odgovora na primenjenu terapiju u odnosu na ECOG PS našla se visoka statistička značajnost boljeg odgovora na terapiju u grupi niskog ECOG PS (0 i 1) ($p < 0,001$), u odnosu na grupe višeg ECOG PS (2 i 3). Ovakav nalaz je očekivan, jer je viši ECOG PS najčešće povezan sa uznapredovalom bolešću, koja vodi opštem slabljenju i propadanju organizma i gubitku opšteg vitalnog kapaciteta bolesnika. Visok ECOG PS samostalno podiže nivo skorova/indeksa prognoze, s obzirom na to da je sastavni deo u njihovom izračunavanju, koji su opet povezani sa lošijim ishodom tretmana i pre svega lošijim preživljavanjem bolesnika sa DLBCL.

U analizi u odnosu na Ann Arbor klinički stadijum pokazano je da je u višim stadijumima (3 i 4) bolesti statistički značajno zabeležena manja efikasnost u ukupnom odgovoru na primenjenu terapiju ($p = 0,004$), u odnosu na niže stadijume (1 i 2). Ovaj rezultat može se veoma slično komentarisati kao i nalaz o ECOG PS. Naime, Ann Arbor klinički stadijum samostalno predstavlja takođe jedan od sastavnih parametara u izračunavanju skorova/indeksa prognoze, pri čemu viši stadijumi podižu njihovu lestvicu i vode umanjeњу efikasnosti tretmana. Eventualni dodatak tumačenju bi bio da su viši klinički stadijumi po Ann Arboru povezani sa većom diseminacijom bolesti, i većim ukupnim tumorskim volumenom, što otežava sistemske terapije da postigne efikasnu eradikaciju limfomskog tkiva. Rezidualno vijabilno limfomsko tkivo nakon terapije jeste morfološka osnova relapsa bolesti ili njegove brze progresije u okviru refraktarne bolesti.

U daljem toku statističkih analiza urađena je uporedna analiza povezanosti biohemijskih i kliničkih parametara sa eksprimacijom pojedinačnih biomarkera (CD10, MUM1, bcl6 i bcl2). Analiza je započeta od ispitivanja povezanosti pojedinačnih biomarkera i biohemijskih parametara.

Pronađeno je da CD10 biomarker ne korelira ni sa jednim od ispitivanih biohemijskih parametara.

6. Diskusija

Analizom korelacije MUM1 biomarkerske ekspresije sa biohemijskim parametrima, nađena je statistički značajno češća ekspresija MUM1 biomarkera (MUM1+) kod bolesnika sa smanjenim nivoom albumina na prezentaciji ($p=0,029$). Isti biomarker nije statistički značajno korelirao sa drugim parametrima biohemije. Ranije studije, iz ere pre primene rituksimaba, govore su u prilog lošeg, samostalnog, prognostičkog značaja MUM1 ekspresije (72). Pregledom literature nađeno je u pojedinim publikacijama da MUM1+ samostalno korelira sa lošim prognostičkim potencijalom (PFS, OS) i u eri primene rituksimaba (359, 360). Korelacija sa sniženim nivoom albumina do sada nije opisivana u svetskoj literaturi, ali već je pomenut negativan prognostički značaj niskih albumina (354). U rezultatima iz naše studije u prethodnim analizama pokazano je da je snižen nivo albumina samostalno korelirao sa lošim odgovorom na indukcionu terapiju. Dakle, na osnovu rezultata dobijenih u ovoj studiji može se izvesti indirektan zaključak da ekspresija MUM1 biomarkera (MUM1+) u asocijaciji sa sniženim vrednostima albumina, korelira sa lošim ishodom na indukcionu terapiju, i u eri rituksimaba, ali ne samostalno. Ovakav rezultat nastaje sumiranjem efekata niskih albumina i MUM1+ ekspresije. Nalazi zahtevaju da budu validirani u većim serijama bolesnika.

Analizom korelacije ekspresije bcl6 biomarkera sa parametrima biohemije, pronađena je korelacija bcl6 ekspresije sa vrednostima LDH. Uvidelo se da je bcl6- (odsustvo imunohistohemijske ekspresije) bilo statistički značajno češće prisutno kod bolesnika koji su imali povišen nivo LDH ($p=0,037$). Ujedno, iz grafikona 29, poglavlje 5, vidi se da je bcl6+ bolesnika bilo značajno više u grupi sa normalnim vrednostima LDH. U našoj studiji već je ranije pomenut nalaz da više vrednosti LDH koreliraju sa lošijim odgovorom na terapiju. Na osnovu iznetih rezultata naše studije, može se reći da je ekspresija bcl6 biomarkera (bcl6+) povoljan prediktor terapijskog odgovora, kada je korelisan sa nivoom aktivnosti LDH u ispitivanom uzorku bolesnika. Obrnuto, odsustvo ekspresije bcl6 biomarkera (bcl6-) predstavlja nepovoljan zavisni prediktor u grupi bolesnika sa povišenim vrednostima LDH. Ukupni zaključak koji se može izvesti jeste da je bcl6 zavisni prediktor odgovora u odnosu na nivo LDH u ispitivanoj kohorti bolesnika. Ovakav nalaz korelira sa brojnim publikovanim rezultatima koji su ispitivali uticaj imunohistohemijske ekspresije bcl6 biomarkera kao prognostičnog činioca u DLBCL. Većina ovih studija evaluirala je samostalni prognostički značaj bcl6 ekspresije, ali u eri pre primene rituksimaba. Studija Sjoa i sar. pokazala je ekspresiju bcl6 kao povoljan parametar prognoze i u eri primene rituksimaba (227). Studija Wintera i sar. ispitivala je

6. Diskusija

prognostički značaj ekspresije bcl6 biomarkera poređenjem dve grupe bolesnika u eri rituksimaba (CHOP vs R-CHOP). Zaključak studije je da je benefit postojao od dodavanja rituksimaba samo u bcl6- DLBCL grupi, dok bcl6+ grupa nije imala benefit od dodavanja rituksimaba, s tim da je neophodno sprovesti dodatna ispitivanja da bi se dobio pravi zaključak (361). Nakon involviranja rituksimaba izgleda da se prognostički značaj bcl6 ekspresije gubi, ali to još uvek ostaje nejasno i postoje potrebe za velikim randomizovanim studijama koje bi ustanovile pravi značaj bcl6 ekspresije kod DLBCL na ishod tretmana u eri rituksimaba. U jednoj od poslednje publikovanih studija Culpina i sar. pokazalo se da vezano za PFS, ekspresija bcl6 niža od 60% korelira sa kraćim PFS vremenom (362). Međutim, u ovoj studiji kao “cut off” vrednost za bcl6 pozitivnost uzimala se visoka vrednost jedarne pozitivnosti (> 60%) ćelija DLBCL, te se nalaz ne može porediti sa rezultatima dobijenim u našoj studiji. Pomenute studije analizirale su samostalni uticaj bcl6 biomarkera, koji nije bio zavisen od drugih ispitivanih parametara. U literaturi nema podataka kakvi su saopšteni u našoj studiji, da bi se mogli porediti, s toga je neophodna potvrda navedenog nalaza u većim serijama bolesnika.

Analizom korelacije ekspresije bcl2 biomarkera sa biohemijskim parametrima pronađeno je da su bolesnici sa smanjenim vrednosti albumina statistički značajno češće bili bcl2- bolesnici ($p=0,041$). Statistička značajnost nije bila visoka, ali detektovana je. Ovakav nalaz implicira zavisnu negativnu prediktivnu vrednost negativnosti bcl2 biomarkera. U nalazu naše studije dobijeni rezultati nekonzistentni su sa do sada poznatim, jer je bcl2- korelirao sa sniženim vrednostima albumina, za koje se pokazalo da sami statistički značajno utiču na negativan odgovor na primenjenu terapiju. S tim u vezi iz rezultata naše studije može se zaključiti da je bcl2- parametar lošeg odgovora na terapiju, odnosno da ima negativan prediktivni značaj, ali samo kada je koreliran sa niskim albuminima. Ovakav odnos bcl2 biomarkera sa biohemijskim parametrima do sada nije opisivan u svetskoj literaturi, te zahteva potvrdu u analizi veće serije bolesnika.

U grupnoj analizi biomarkera po Hansovom algoritmu nije pronađena statistička značajna korelacija sa nekim od biohemijskih parametara.

U analizi korelacije Murisovog algoritma (skora) sa biohemijskim parametrima, pronađeno je da bolesnici sa Murisovim skorom tipa 2 imaju statistički značajno češće smanjene vrednosti albumina ($p=0,004$) i hemoglobina ($p=0,019$), što direktno implicira ranije poznatu činjenicu o lošem prognostičkom značaju Murisovog skora tipa 2, koja je saopštena od strane autora ovog

6. Diskusija

skoring sistema (72). U nalazu naše studije smanjene vrednosti albumina su korelirale sa lošim odgovorom na terapiju i povećanim rizikom od smrtnog ishoda, dok su snižene vrednosti hemoglobina korelirale i sa lošijim odgovorom na terapiju (rezultati univarijantne analize) i sa povećanim rizikom od smrtnog ishoda. Muris skor tip 2 u sebi sadrži bcl2+/non-GCB fenotip, koji samostalno nosi kraći OS, kao i PFS (72, 63). Ovakav dobijeni rezultat u našoj studiji pokazuje da se Murisov skor tipa 2 „ukršta” sa dva inače nepovoljna parametra rizika u DLBCL, čime mu daje negativan i prediktivan i prognostički značaj, koji je u ovoj analizi zavisao od pomenutih parametara.

U supkategorijskoj analizi biomarkera po Hansovom algoritmu nije pronađena statistički značajna povezanost sa nekim od ispitivanih biohemijskih parametara. Ovaj nalaz najverovatnije je posledica velike disperzije bolesnika kada se izvrši pomenuti tip raščlanjivanja biomarkerskih kombinacija i zato se ne može dobiti potrebna statistička masa bolesnika za adekvatnu statističku analizu.

Analizom korelacije kliničkih parametara (prisustva B simptoma, kliničke prezentacije DLBCL, prisustvo „Bulky” bolesti, infiltracije koštane srži, ECOG PS i Ann Arbor kliničkog stadijuma bolesti) sa ekspresijom imunohistohemijskih biomarkera nije pronađena statistički značajna korelacija kod naših bolesnika.

U daljem toku ispitivanja urađena je analiza odnosa biomarkera sa skorovima/indeksima prognoze.

Prilikom posmatranja pojedinačnih biomarkera (CD10, MUM1, bcl6 i bcl2) u odnosu na bolesnike starosne dobi od 18 do 60 godina, kojima se određuje aaIPI skor, utvrđeno je da ne postoji statistički značajna korelacija ni jednog od ispitivanih biomarkera sa aaIPI skorom u odnosu na odgovor na primenjenu indukcionu terapiju. Razlog za ovakav nalaz verovatno je mali broj ispitanika u grupi (samo 37), što dovodi do njihove disperzije kada se bolesnici kategorišu po nivou rizika prema aaIPI skor.

U analizi IPI skora, koji se određuje bolesnicima starijim od 60 godina, pronađeno je da bolesnici niskog IPI skora (0 i 1), nezavisno od toga da li ekspiriraju ili ne bilo koji od ispitivanih biomarkera ponaosob (CD10, MUM1, bcl6 ili bcl2) imaju statistički značajno bolji terapijski odgovor na indukcionu terapiju ($p < 0,001$, respektivno) u odnosu na bolesnike višeg IPI skora (≥ 2), opet nezavisno od ekspresije biomarkera. Ovakav dobijeni rezultat na prvi pogled nalikuje kontradiktornom nalazu. Pravo objašnjenje verovatno leži u tome što ni jedan od

6. Diskusija

pomenutih biomarkera samostalno nema prediktivnu vrednost u odnosu na odgovor na terapiju. Glavni razlog za statistički bolji odgovor u prognostički niskoj IPI grupi ustvari je nezavisan i samostalan uticaj IPI skora. Ovakav nalaz sugerise prediktivan značaj IPI skora u odnosu na terapijski odgovor i u eri primene rituksimaba.

U daljem toku urađena je analiza odnosa biomarkera sa R-IPI skorom. Treba napomenuti da je R-IPI skor u ovoj analizi posmatran kao dihotom, naime sumirane su vrednosti R-IPI skora na sledeći način: R-IPI 1 (vrlo dobar) vs R-IPI 2 i 3 (dobar i loš). U posmatranoj grupi bolesnika u odnosu na CD10 biomarker, nezavisno od njegove ekspresije (CD10+ ili CD10-) u niskoj R-IPI grupi 1 (vrlo dobar), kao i u visokoj R-IPI 2, 3 (dobar i loš) grupi, ali bez ekspresije CD10 biomarkera (CD10-) pronađeno je da ti bolesnici imaju statistički značajno ($p=0,015$) bolji odgovor na indukcionu imunohemioterapiju u odnosu na visoku R-IPI 2, 3 (dobar i loš) grupu sa ekspresijom CD10 biomarkera (CD10+). Dobijeni rezultati u odnosu na nizak R-IPI skor 1 (vrlo dobar) pokazao je da nezavisno od ekspresije CD10 biomarkera postoji statistički značajan bolji odgovor na terapiju. Ovakav rezultat se može tumačiti dominantnim, odnosno samostalnim uticajem R-IPI skora na terapijski odgovor, koji je nezavisan od statusa CD10 ekspresije. Pravo pitanje ostaje u analizi odnosa visokog R-IPI skora 2, 3 (dobar i loš) i CD10 biomarkerske ekspresije, gde se jasno uočila statistički značajna razlika u odgovoru na terapiju između grupa CD10+ i CD10-. U ovom slučaju se ekspresija biomarkera može smatrati faktorom uticaja za odgovor na terapiju. Rezultati naše studije, bar u ovom segmentu, kontradiktorni su u odnosu na tvrdnje o dobrom prognostičkom značaju CD10 ekspresije, jer su bolesnici u našoj kohorti imali lošiji odgovor na terapiju ukoliko su bili CD10+. U pregledu literature ima radova koji su isticali negativan prognostički značaj CD10 ekspresije (341), ali nema publikovanih rezultata ovakvog tipa razmatranja, gde je analizirana „ukrštena” analiza R-IPI skora sa CD10 ekspresijom, te se može reći da je ovo još jedan od novih doprinosa naše studije. Pravo tumačenje ostaje otvoreno, i neophodno ga je potvrditi u većoj kohorti bolesnika pod istim uslovima sažimanja R-IPI skora. U ostalim evaluiranim odnosima biomarkera (MUM1, bcl6 i bcl2) sa R-IPI skorom nije pronađena statistička značajnost u odnosu na odgovor na primenjenu terapiju.

U analizi odnosa biomarkera sa NCCN-IPI skorom, treba najpre istaći da je izvršena dihotoma prezentacija NCCN-IPI skora na sledeći način: spojeni su niski i niski-intermedijerni NCCN-IPI skor i predstavljeni kao NCCN-IPI (1 i 2) vs visoki-intermedijerni i visoki NCCN-IPI skor koji su predstavljeni kao NCCN-IPI skor (3 i 4). U evaluiranom odnosu NCCN-IPI skora sa bcl6

6. Diskusija

biomarkerom nađeno je da bolesnici sa NCCN-IPI (1 i 2), koji su bili bcl6- i bolesnici sa NCCN-IPI skorom (3 i 4), koji su bili bcl6+ su imali statistički značajno bolji odgovor na primenjenu terapiju ($p < 0,001$), u odnosu na sve ostale grupe u svojoj kategoriji, kao i u odnosu na sve druge ispitivane biomarkere. Ovaj nalaz je prvi put evidentiran u ovoj studiji, i nema publikovanih studija koje su razmatrale ovakav način poređenja i analize odnosa NCCN-IPI skora i biomarkera. Slobodno se može reći da je ovo i jedan od najoriginalnijih nalaza naše studije, koji definitivno zaslužuje dalje ispitivanje kliničkog značaja ovakvog nalaza i njegove potvrde od strane drugih autora. Ono o čemu se eventualno može diskutovati jeste činjenica da bolesnici niskog NCCN-IPI skora, koji su bcl6- imaju veći benefit od terapije, zbog dominantnog uticaja niskog NCCN-IPI skora, a ne odsustvo ekspresije bcl6 biomarkera. U prilog takvoj tvrdnji stoje saopštenja iz studija koje su opisivale odsustvo bcl6 ekspresije kao negativan prognostički činilac. To bi moglo značiti da nizak NCCN-IPI skor ima snagu da prevaziđe negativnu prediktivnu vrednost odsustva ekspresije bcl6 biomarkera. Ovde treba podsetiti i na studiju Wintera i sar. (136), koja je tvrdila da je primena rituksimaba pokazala benefit samo kod bcl6-grupe bolesnika, delujući kao faktor koji amortizuje negativnu prediktivnu vrednost odsustva ekspresije ovog biomarkera. U ovakvom razmatranju bi smo mogli imati uticaj niskog NCCN-IPI skora i amortizujuće dejstvo rituksimaba na negativnu prediktivnu vrednost odsustva bcl6 ekspresije. Drugi nalaz koji je pokazao da visoko rizične grupe NCCN-IPI skora koje eksprimiraju bcl6 biomarker imaju benefit od terapije, može se tumačiti dominantnim uticajem bcl6 ekspresije. U prilog takvoj tvrdnji stoje rezultati pojedinih studija koje ističu ekspresiju bcl6 biomarkera kao faktora dobre prognoze (227). Postoji mogućnost da bcl6 overekspresija uspeva da prevaziđe negativan prognostički uticaj visoko rizičnog NCCN-IPI skora. U daljim analizama odnosa NCCN-IPI skora sa preostala 3 biomarkera (bcl2, MUM1 i CD10) nije pronađena statistički značajna povezanost koja bi rezultirala uticajem na terapijski odgovor.

U analizi odnosa aaIPI skora sa Hansovim algoritmom (GCB i non-GCB podtipovi) nije pronađena statistička značajnost u odgovoru na primenjenu terapiju. Ovakav nalaz može se objasniti time da Hansov algoritam samostalno ne definiše odgovor na terapiju, već je njegov uticaj vezan za dugoročnu prognozu bolesnika sa DLBCL.

U grupi bolesnika starijih od 60 godina, nađeno je da bolesnici niskog IPI skora (0 i 1) imaju statistički značajno bolji odgovor na terapiju ($p = 0,001$), nezavisno od podtipa Hansovog algoritma (bolji odgovor i kod GCB i non-GCB podtipova) u odnosu na grupe visokog IPI skora

6. Diskusija

(≥ 2). Ovaj nalaz može se tumačiti dominantnim uticajem samog IPI skora, dok je Hansova klasifikacija bez ikakvog uticaja na terapijski odgovor u ispitivanoj kohorti bolesnika. Ovakav nalaz samo potvrđuje prediktivni i diskriminatorski nezavisni uticaj IPI skora na terapijski odgovor i u eri primene rituksimaba.

U analizi odnosa Hansovog algoritma sa R-IPI skorom nije bilo statističke značajnosti u odgovoru na terapiju među upoređivanim grupama.

U analizi odnosa Hansovog algoritma sa NCCN-IPI skorom, pronađena je statistički značajna razlika ($p=0,003$) u odgovoru na primenjenu inducionu terapiju između grupa niskog NCCN-IPI skora (1 i 2) nezavisno od tipa Hansovog algoritma (bolji odgovor i kod GCB i non-GCB podtipa) i grupa višeg NCCN-IPI skora (3 i 4). Ovakav nalaz se može tumačiti isto kao nalaz koji je postojao kod IPI skora i biomarkera samostalno. Dakle, najverovatnije se radi o dominantnom uticaju samog NCCN-IPI skora, dok su imunofenotipovi bez uticaja na terapijski odgovor.

U analizi odnosa aaIPI skora sa Murisovim algoritmom (skorom) nije pronađena statistička značajnost u odnosu na odgovor na indukcionu terapiju. Ovakav nalaz se može objasniti malim brojem ispitivanih bolesnika.

U daljoj analizi odnosa IPI skora sa Murisovim algoritmom pronađena je statistički značajna razlika između sledećih analiziranih grupa: grupe niskog IPI skora (0 i 1) i Muris skora tipa 1 i tipa 2 i grupa visokog IPI skora (≥ 2) i Muris skora tipa 2. Pomenute grupe imaju statistički značajno bolji odgovor ($p<0,001$) u poređenju sa bolesnicima visokog IPI skora (≥ 2) i Muris skora tipa 1. Ovakav nalaz je neočekivan, jer visoki IPI skor sam po sebi određuje pre svega lošiju prognozu, a Muris skor tip 2 takođe je definisan kao parametar loše prognoze (72). Možda bi jedno od objašnjenja za ovakav nalaz trebalo tražiti opet u malom broju analiziranih bolesnika i uticajem njihove disperzije kada se izvrši ovakva distribuciju. Uvidom u tačnu distribuciju bolesnika videlo se da je bilo 8 bolesnika sa Muris skorom tipa 2, niskog IPI skora (0 i 1), od kojih nijedan nije odgovorio na terapiju, što iznosi ravno 100%, a bolesnika sa Muris skorom tipa 2, niskog IPI skora (0 i 1) bilo je 4, od čega su 3 odgovorila na terapiju, a 1 nije. S obzirom na, ipak mali broj bolesnika ovakav nalaz zaslužuje dodatno ispitivanje i sagledavanje na većoj kohorti radi potvrde nalaza.

U daljoj analizi odnosa R-IPI skora sa Murisovim algoritmom nije pronađena statistička značajnost u razlici odgovora između grupa, s tim da je postojao visok trend razlike između

6. Diskusija

grupe R-IPI (1) i Muris skora tipa 1 vs R-IPI (2 i 3) skora i Muris skora tipa 2 ($p=0,052$). Ovakav nalaz je očekivan i verovatno bi ubrzo dostigao statističku značajnost na većoj seriji bolesnika.

U analizi odnosa NCCN-IPI skora i Muris algoritma (skora) pronađena je statistički značajna razlika ($p=0,002$) između sledećih analiziranih grupa: grupe niskog NCCN-IPI skora (1 i 2) i oba Muris skora (tip 1 i 2) i grupa visokog NCCN-IPI skora (3 i 4) i Muris skora tipa 2 u poređenju sa bolesnicima visokog NCCN-IPI skora (3 i 4) i Muris skora tipa 1. Ovakav nalaz je identičan sa nalazima u analizi IPI skora, mada je ovde distribucija bolesnika bila relativno dobro balansirana, te je zaista otvoreno pitanje koji je pravi razlog ovakvog nalaza. Neophodne su dalje studije na većoj grupi ispitanika radi potvrde nalaza.

U analizama odnosa aaIPI skora i supkategorijske analize biomarkera u odnosu na Hansov algoritam utvrđeno je da nema statističke značajnosti u odnosu na bilo koju od kombinacija biomarkera sa odgovorom na indukcionu terapiju. Na ovakav nalaz uticao je vrlo mali broj analiziranih bolesnika, zbog čega je i bio primenjen neparametrijski Fisherov test za male uzorke. No, bez obzira na to kada su se ovako razmatrale supkategorije biomarkera došlo je do velike disperzije uzorka te se nije mogla dostići statistička masa bolesnika za adekvatnu statističku analizu i interpretaciju.

U analizi odnosa IPI skora i supkategorijske analize biomarkera u odnosu na Hansov algoritam pronađena je relativno niska statistička značajnost lošijeg odgovora na terapiju ($p=0,045$) u grupama visokog IPI skora (≥ 2) i biomarkerske kombinacije klasičnog GCB podtipa DLBCL (CD10+, MUM1+, bcl6+) i biomarkerske kombinacije klasičnog non-GCB podtipa (CD10-, MUM1+, bcl6-). Ovakav nalaz najverovatnije je posledica visokog IPI skora, a ne imunohistohemijskog fenotipa ćelija DLBCL. S druge strane broj analiziranih bolesnika bio je veoma mali (po 3 u obe pomenute grupe), gde su svi imali loš odgovor na primenjenu terapiju.

U analizi odnosa R-IPI skora i supkategorijske analize biomarkera u odnosu na Hansov algoritam pronađeno je da je grupa bolesnika višeg R-IPI skora (2 i 3) i klasičnog GCB podtipa (CD10+, MUM1+, bcl6+) imala statistički značajno lošiji odgovor ($p=0,021$) u odnosu na sve druge analizirane kombinacije biomarkera po Hansovom algoritmu. Ukupan broj analiziranih bolesnika bio je 5, od toga 4 sa lošim odgovorom, a 1 sa postignutom remisijom. Opet se nametnulo pitanje malog broja bolesnika, koji su se dispergovali, ali i uticaja samog visokog R-IPI skora. Mada ovaj nalaz korelira sa pomenutim nalazom R-IPI skora u samostalnoj analizi i biomarkera CD10, gde je zabeležen statistički značajno lošiji odgovor na terapiju u grupi

6. Diskusija

visokog R-IPI skora (2 i 3) i CD10+. Pomenuti nalaz potrebno je potvrditi u većim kohortama bolesnika.

U analizi odnosa NCCN-IPI skora i supkategorijske analize biomarkera u odnosu na Hansov algoritam pronađeno je da je grupa bolesnika višeg NCCN-IPI skora (3 i 4) i klasičnog GCB podtipa (CD10+, MUM1-, bcl6+) i grupa klasičnog non-GCB podtipa (CD10-, MUM1+, bcl6-) imala statistički značajno lošiji odgovor ($p=0,006$, odnosno $p=0,016$) u odnosu na ostale analizirane grupe. Sa druge strane, izdvojila se grupa nižeg NCCN-IPI skora (1 i 2) i grupa klasičnog non-GCB podtipa (CD10-, MUM1+, bcl6-) koja je imala statistički značajno najbolji odgovor na terapiju ($p=0,013$). Nalaz lošijeg terapijskog odgovora u analiziranoj kohorti sa NCCN-IPI skorom treba tumačiti dominantnim i nezavisnim uticajem samog prognostički lošeg skora, a ne imunohistohemijskim podtipom biomarkera (bili su GCB i non-GCB podtipovi).

U ukupnom plasmanu u poslednjoj seriji supkategorijskih analiza biomarkera po Hansovom algoritmu, došlo je do velike disperzije bolesnika, te su dobijene vrlo male grupe. Bez obzira na adekvatan izbor statističkog testa, izgleda da su dobijeni nalazi statističke značajnosti u odnosu na odgovor na primenjenu terapiju pre svega posledica dominantnog uticaja skorova/indeksa prognoze, a ne podtipa biomarkerskih kombinacija po Hansovom algoritmu.

U univariјantnoj analizi logističke regresije (Log rank test) pokazalo se da su se kao statistički značajni nezavisni faktori rizika za loš odgovor na terapiju izdvojili: povišen nivo LDH, snižen nivo albumina, snižen nivo hemoglobina i prisustvo B simptoma. Iz univariјantne analize logističke regresije jasno se uočava da su unakrsni odnosi povišenih u odnosu na referentne vrednosti LDH visoko signifikantno korelisale sa smanjenom efikasnošću na primenjenu terapiju kod bolesnika sa povišenim vrednostima ovog biohemijskog parametra (OR=0,273, 95% CI 0,103–0,722, $p=0,009$), dok su snižene vrednosti albumina i hemoglobina bile statistički značajne, ali dosta slabije (OR=0,368, 95% CI 0,141–0,964, $p=0,042$) i (OR=0,373, 95% CI 0,145–0,959, $p=0,041$), respektivno. Kao faktori rizika za loš terapijski ishod lečenja sa najvišom statističkom značajnošću pokazalo se prisustvo B simptoma, u odnosu na njihovo odsustvo (OR=0,203, 95% CI 0,70–0,591, $p=0,003$). O patofiziološkom i kliničkom značaju svih statistički signifikantnih rezultata iz univariјantne analize već je bilo reči. U univariјantnoj analizi logističke regresije nijedan od biomarkera, niti kombinacija po Hansovom i Murisovom algoritmu (skoru) nisu se izdvojili kao statistički značajni za odgovor na primenjenu terapiju.

6. Diskusija

Kada su ispitivani parametri ubačeni u Cox proporcionalni hazard regresioni model, odnosno multivarijantnu analizu, nijedan od pomenutih parametara više se nije pokazao kao statistički značajan faktor lošeg terapijskog odgovora. Jedno od mogućih objašnjenja ovakvog nalaza je mali uzorak bolesnika, odnosno niska statistička masa ispitanika. Pretpostavka je da bi se u većoj masi mogao očekivati statistički značajan nalaz.

U statističkoj analizi u odnosu na rizik od smrtnog ishoda, nađeno je da je 26 bolesnika umrlo u toku trajanja studije, odnosno 34,60%. Pomenuti bolesnici umrli su od progresije osnovne bolesti, s tim da je samo jedna bolesnica imala kratak period kompletne remisije, a nakon toga je usledio novi zamah bolesti koji je bio praćen rezistentnom bolešću. Period praćenja bolesnika bio je relativno kratak, tako da nije bilo opravdano raditi analizu ukupnog preživljavanja (eng. overall survival), već su samo analizirani parametri rizika za smrtni ishod. Procenat smrtnog ishoda, odnosno neuspeha terapije, prikazanog u našoj studiji nalazi se okvirima saopštavane statistike (336, 337).

Utvrđeno je da je smrtni ishod bio statistički značajno češći u muškaraca, nego u žena, ($p=0,021$). U analizama novijeg datuma koje su pošle od saznanja da je muški pol nepovoljan prognostički faktor za HL, primenom Kaplan-Meierove analize, videlo se da je ženski pol u odnosu na muški, kod NHL B ćelijskog tipa, pre svega DLBCL, imao statistički značajno bolji PFS (4-god. PFS 75% vs 60%, $p=0,013$) kod onih tretiranih hemioterapijom sa rituksimabom. U grupi tretiranih samo hemioterapijom takva razlika se nije videla, što implicuje da ženski pol ima veći benefit od primene rituksimaba (363). Retrospektivna studija Carella i sar. koja je ispitivala prognostički značaj muškog pola kod bolesnika sa DLBCL tretiranih rituksimabom, takođe je pokazala u univarijantnoj analizi da je muški pol predstavljao loš prognostički faktor. Ovakav trend održao se i u multivarijantnoj analizi, kada je bio prilagođen sa IPI skorom. To direktno implicira hipotezu o eskalaciji doze rituksimaba kod muškaraca radi postizanja boljih efekata u preživljavanju u odnosu na ženski pol (364). U ovom smislu studije u kojima je ispitivana farmakokinetika rituksimaba pokazale su njegov različit klirens u odnosu na pol sa povoljnijim efektima kod ženskog pola, sa zaključkom da to može uticati na ishod tretmana DLBCL (202). S obzirom na napred navedene rezultate, može se izvesti zaključak da su rezultati koji su dobijeni u ovoj studiji (prikazani bolesnici su tretirani rituksimabom) u korelaciji sa najskorije publikovanim rezultatima svetskih studija, koje potenciraju manji benefit od rituksimaba, i veći rizik od smrtnog ishoda kod muškog pola. U odnosu na starost, bilo je nešto više starijih

6. Diskusija

bolesnika koji su umrli, ali nije bilo statistički značajne razlike između mladih (< 60 god.) i starijih bolesnika (> 60 god.).

U odnosu na tip DLBCL statistički signifikantno izdvojila se grupa sa anaplastičnom ćelijskom morfologijom DLBCL u odnosu na druge grupe, kao prediktor kraćeg preživljavanja, odnosno većeg rizika od smrtnog ishoda ($p=0,038$). Problem anaplastične ćelijske morfologije DLBCL slabo je proučavan i ima samo nekoliko publikovanih radova na nivou prikaza slučajeva (eng. case reports) koji su se odnosili na ovu temu (365, 366). U WHO 2008 klasifikaciji ovaj entitet je definisan kao DLBCL, NOS koji ima karakterističnu ćelijsku morfologiju (opisana u poglavlju 1.2.3.2), sa imunohistohemijskim eksprimiranjem CD30+ (ranije nazivan Ki 1+), uz obavezan ALK negativan (ALK-) fenotip (9). Pomenuta grupa bolesnika u našoj studiji uklapala se u kriterijume WHO 2008 klasifikacije (bolesnici su bili ALK-, a CD30+). U analizi kliničkog značaja ekspresije CD30 biomarkera našlo se da on korelira sa boljom prognozom, što je komentarisano u uvodnom delu naše studije. Prezentovane studije Maesa i sar., kao i Hua i sar. isticale su povoljan značaj ekspresije CD30 biomarkera i u GCB i non-GCB podtipu DLBCL (239, 240). Ono što u nalazu naše studije odudara od publikovanih rezultata napred navedenih autora, jeste to što su prezentovani bolesnici imali rezistentnu bolest, ili nisko senzitivnu koja je ubrzo progredirala. Ovo se može tumačiti negativnom predikcijom histologije limfoma i drugih manje poznatih faktora, gde sama pozitivnost na CD30 biomarker nije predstavljala dovoljan parametar za povoljan odgovor na primenjenu terapiju. Uopšteno posmatrano, u onkologiji tumori koji imaju anaplastičnu morfologiju izraz su dediferentovanosti malignog procesa, visokog nivoa rezistencije i lošeg terapijskog odgovora. Ovakva situacija analogna je verovatno i kada je u pitanju DLBCL. U prilog dediferentovanosti govori i nalaz CD20- kod jednog od bolesnika sa anaplastičnom morfologijom DLBCL, što takođe predstavlja redak nalaz. U literaturi se može naći da *de novo* CD20- DLBCL pripadaju ALK+ DLBCL, plazmablastnoj histološkoj varijanti ili se javljaju kod DLBCL HIV+ koji imaju plazmablastnu morfologiju (PEL, MCD) (9). Literatura za ovakve slučajeve takođe se nalazi na nivou prikaza slučajeva koji sugerišu loš odgovor na terapiju kod ovih bolesnika (367, 368). U retrospektivnoj studiji kontrole slučaja na bazi iskustva jednog centra, nailazi se na podatak koji govori u prilog tome da *de novo* CD20- DLBCL koji su HIV negativni, češće imaju lošiji odgovor na primenjenu terapiju i loš odgovor na konvencionalnu hemioterapiju u poređenju sa grupom CD20+ DLBCL (369). Rezultati ove studije pokazali su češće postojanje non-GCB fenotipa kod ovakvih bolesnika,

6. Diskusija

visokog Ki 67 proliferativnog indeksa i učestaliju ekstrapodalnu prezentaciju limfoma. Pomenuti bolesnik iz naše studije imao je ekspresiju B ćelijskih markera kao što su CD79 α i GCB imunofenotipske biomarkere, visok Ki 67 indeks, dok je klinički imao ekstrapodalno zahvatanje organa male karlice u bloku sa konglomeratima limfnih nodusa. U inicijalnom antivirusnom skriningu, koji se redovno primenjuje po ESMO vodičima kod svih ispitivanih bolesnika, pokazalo se da je bolesnik anti HIV nisko reaktivan. U ponovljenoj analizi se pokazao kao negativan. Bolest je tekla kao nisko senzitivna, a onda je došlo do progresije pod terapijom (CHOP). Nijedan od narednih „salvage“ terapijskih protokola nije davao rezultate lečenja, a bolesnik nije bio podoban za program visokodozne hemioterapije sa autologom potporom, kao jednim od eventualno mogućih modaliteta lečenja u ovakvim situacijama. Ostale dve bolesnice takođe su imale redukciju limfomske mase za kratko vreme (nedovoljnu za kriterijum parcijalne remisije), a nakon toga progresiju pod terapijom sa smrtnih ishodom. Prezentovana grupa bolesnika iz naše studije od samo 3 slučaja sa anaplastičnom ćelijskom morfologijom DLBCL koji su imali loš tok bolesti, nedovoljan je za širi informativniji zaključak. S obzirom da se ovakav nalaz može tumačiti na nivou statističke greške, izneti rezultati komentarisani su na nivou prikaza slučaja pojedinačnih bolesnika (serija slučaja).

U analizi rizika od smrtnog ishoda u odnosu na pojedinačne biomarkere (CD10, MUM1, bcl6 i bcl2) i njihove grupne klasifikacije po Hansovom i Murisovom algoritmu (skoru), nije nađena statistički značajna razlika u odnosu na smrtni ishod među upoređivanim varijablama. Fisherovim testom egzaktne verovatnoće nulte hipoteze nađeno je da su oba imunofenotipa unutar GCB imunohistohemijskih podtipova (CD10+, MUM1-, bcl6+) i (CD10+, MUM1-, bcl6-) imali statistički značajno češći smrtni ishod u odnosu na druge supkategorije biomarkera, koje su sve pripadale non-GCB podgrupi. Dostignuti nivo statističke značajnosti bio je graničan ($p=0,049$) i radilo se o vrlo malom broju bolesnika (ukupno 6 po podgrupi, od toga 2 živa, a 4 umrla u obe podgrupe). Bez obzira na to dobijeni rezultat bio je potpuno kontradiktoran u odnosu na dosadašnja saznanja i publikacije. Ovakav nalaz donekle se može objasniti time da je unutar GCB imunohistohemijske podgrupe bilo bolesnika na čiju su smrt pored progresije bolesti uticali dodatni uzroci, nevezani samo za progresiju bolesti. S toga se može smatrati da je ovaj nalaz rezultat „kolateralne štete” i da nema pravu vrednost koja se temelji na naučnim činjenicama. Neophodno ga je proveriti na većem broju bolesnika.

6. Diskusija

Opštom analizom rizika od smrtnog ishoda u odnosu na biokemijske parametre nađena je statistička značajna korelacija kod bolesnika sa povišenim vrednostima LDH ($p=0,003$) i sniženim vrednostima hemoglobina ($p=0,021$), na prezentaciji. Snižen nivo albumina i povišen nivo beta 2 mikroglobulina, iako su bili češći kod bolesnika koji su umrli, nisu statistički značajno korelisali sa rizikom od smrtnog ishoda. Povišen nivo LDH već je od ranije poznat kao negativni prognostički činitelj kod DLBCL, samim tim je i uključen u sve aktuelno važeće skorove/indeks prognoze (aaIPI, IPI, R-IPI) (214, 215). U NCCN-IPI skoru još je delikatnije prezentovan, kao odnos dobijene vrednosti LDH sa gornjom granicom referentne vrednosti LDH za datu laboratoriju, (vrednost od 1 do 3 nose 1 bod, a vrednosti > 3 , nose 2 boda), ukazujući time na njegov veliki klinički značaj (218). Ovakav nalaz o kliničkom značaju povišenih vrednosti LDH je očekivan. Studije relativno novijeg datuma takođe su potvrdile da povišen nivo LDH predstavlja značajan negativan parametar preživljavanja kod bolesnika sa DLBCL, čak i kod rizik-adaptirane primene hemioterapije (370). Mehanizam nastanka anemije u DLBCL najverovatnije je posledica defektne endogene produkcije eritropoetina, jer je pronađeno da je nivo hepcidina bio signifikantno povišen u grupi bolesnika sa anemijom ($p=0,006$). U studiji Tisija i sar. u kohorti od 53 bolesnika sa DLBCL pokazano je da bolesnici sa vrlo aktivnom bolešću, sa povišenim LDH ($p=0,0004$), B simptomima ($p=0,07$) i visokim aaIPI indeksom > 1 ($p=0,01$), imaju anemiju. U prezentovanim rezultatima nađeno je da je i u univarijantnoj i multivarijantnoj logističkoj regresionoj analizi IL-6 inverzno korelisao sa nivoom hemoglobina, uključujući i hepcidin i eritropoetin kao varijable ($p=0,04$). Zaključak ove studije je da su povišene vrednosti hepcidina i inadekvatan odgovor na sekretovani eritropoetin često prisutni kod bolesnika sa DLBCL, ali da nivo IL-6 igra glavnu ulogu u razvoju anemije (194). Povišene vrednosti IL-6 pokazane su kao vodeći faktor kraćeg OS u bolesnika sa DLBCL, saopštenja su nekih od najnovijih studija (371). U publikovanoj studiji Suzukija i sar. pokazano je da anemija predstavlja negativan prognostički činitelj, u analizi selektovane grupe bolesnika sa R/R DLBCL (372). Publikacija Hinga i sar. ukazuje na anemiju kao negativan činitelj rizika od ranog relapsa nakon tretmana R-CHOP terapijom, ukoliko perzistira 6 meseci nakon završetka indukcionog tretmana (373). S obzirom na napred navedeno, nalaz anemije kao faktora koji je povezan sa većim rizikom od smrtnog ishoda u našoj studiji, u potpunosti korelira sa prezentovanim rezultatima istraživanja u svetu.

6. Diskusija

Opštom analizom kliničkih parametara u odnosu na rizik od smrtnog ishoda, pronađeno je da su bolesnici sa prisutnim B simptomima ($p=0,008$), „Bulky” bolešću ($p=0,032$) i visokog Ann Arbor kliničkog stadijuma ($p=0,001$) korelirali sa većim rizikom. Dobijeni rezultati analiza kliničkih parametara mogu se smatrati očekivanim i u korelaciji su sa publikovanim radovima ranijih datuma. B simptomi i „Bulky” bolest još su se u analizi terapijskog odgovora izdvojili kao faktori koji direktno utiču na smanjenje efikasnosti primenjene imunohemioterapije. Već je ranije pokazano da je prisustvo B simptoma povezano sa ekscesivnim lučenjem citokina i medijatora inflamacije i da su oni najčešće udruženi sa uznapredovalom bolešću, kao i da je „Bulky” bolest povezana sa bolešću koja je visoko uznapredovala i često ima B simptome. Pomenuta 3 klinička parametra stoje u jakoj međusobnoj povezanosti te je i očekivano da budu udruženi sa povišenim rizikom od smrtnog ishoda.

Viši Ann Arbor klinički stadijum bolesti sam po sebi povezan je sa brojnim drugim negativnim, biohemijskim i kliničkim parametrima prognoze, s toga da rizik od smrtnog ishoda očekivano raste sa stadijumom bolesti. Uostalom, Ann Arbor klinički stadijum, kao i povišen nivo LDH inkorporirani su u IPI indeks, gde svaki ponaosob podižu lestvicu rizika za po 1 bod i produbljuju negativni prognostički potencijal IPI skora (214).

Konkordantna infiltracija koštane srži kod DLBCL nije imala statistički značajnog uticaja na rizik od smrtnog ishoda. Ovde treba naglasiti kontradiktorna saopštenja, koja su razmatrala ovaj klinički parametar. U uvodu pominjanoj studiji Chunga i sar. prisustvo infiltracije koštane srži na prezentaciji bio je nezavisni faktor loše prognoze i kraćeg OS (196), dok Campbell i sar. tvrde da je prognostički značaj infiltracije loš, ali da zavisi od stepena infiltracije koštane srži (195). U našoj kohorti bolesnika, analizom podataka patohistoloških izveštaja, stepen infiltracije koštane srži bio je nizak i nije se mogao očitati na imprintnim preparatima, nego samo primenom imunohistohemijskih metoda. S toga je, možda, to glavni razlog ne postojanja statistički značajne korelacije sa smrtnim ishodom. Drugi razlog može biti relativno kratak period praćenja bolesnika, jer se negativni efekti infiltracije koštane srži na preživljavanje bolesnika odražavaju sa protokom vremena.

U analizi kliničke prezentacije DLBCL (nodalne vs ektranodalne) nije se našla statistička zanačajnost u odnosu na rizik od smrtnog ishoda. U ektranodalnoj formi nije rađena podanaliza u odnosu na broj ektranodalnih mesta, jer takva analiza je prevazilazila potrebne okvire ove studije. Poznato je da se i kod skorova/indeksa prognoze (aaIPI, IPI) taj parametar uzima kao

6. Diskusija

faktor negativnog bodovanja. NCCN-IPI skor je čak precizirao i specifična mesta ekstrapodalnog zahvatanja sa posebnim rizikom na ishod tretmana (218). Rezultati analize u odnosu na nivo Ki 67 indeksa proliferacije u našoj kohorti bolesnika nisu pokazali statističku značajnost u odnosu na rizik od smrtnog ishoda. Prvo je urađeno parametrijsko testiranje hipoteze analizom srednjih vrednosti ekspresije Ki 67 indeksa, gde se pokazalo da je Ki 67 bio veći kod bolesnika koji su umrli ($61,88 \pm 14,95$) u odnosu na preživeli ($55,65 \pm 16,57$), ali bez statistički značajne razlike. U drugoj analizi se Ki 67 trihotomo razmatrao kao nizak ($< 40\%$), intermedijerni (do 80%) i visok ($> 80\%$), ali se i u ovakvoj postavci nije statistički pokazao značajnim u odnosu na rizik od smrtnog ishoda. Ovakav nalaz nije u korelaciji sa brojnim publikovanim studijama skorijeg datuma koje su razmatrale značaj Ki 67 proliferativnog indeksa, u eri primene rituksimaba. S druge strane ima i saopštenih rezultata koji su u korelaciji sa rezultatima prezentovanim u našoj studiji. U tom smislu je studija Lenza i sar. pokazala da, u eri primene rituksimaba, Ki 67 nije se pokazao kao nezavisni prediktor preživljavanja (256). S druge strane, mnogo više je studija koje ukazuju na značaj nivoa Ki 67 ekspresije na preživljavanje bolesnika sa DLBCL. Tako je, studija Lija i sar. pokazala, u multivarijantnoj analizi, da je visok Ki 67 proliferativni indeks udružen sa inferiornim PFS i OS, pre svega u non-GCB grupi bolesnika i u eri primene rituksimaba (374). U analizi Broydea i sar. nađeno je da u slučajevima DLBCL „cut off“ vrednost za Ki 67 proliferativni indeks $> 70\%$ može napraviti distinkciju bolesnika sa dobrim, odnosno lošim ishodom, ali samo kada se kombinuje sa drugim prognostičkim faktorima kao što su nizak IPI skor i „Bulky“ bolest (375). U studiji kineskih autora takođe se ističe značaj visokog Ki 67 indeksa, gde je „cut off“ vrednost bila $> 75\%$ za loš ishod DLBCL bolesnika, ali opet kada se udružila sa drugim parametrima loše prognoze (B simptomi, visok Ann Arbor klinički stadijum, visok IPI i visoka vrednost LDH) (376). Studija Peruničiće i sar. pokazala je loš prediktivni potencijal visokog Ki 67 indeksa, opet ne samog po sebi, nego kada se posmatrao u spoju sa bcl2+ overekspresijom i visokim IPI skorom (377). Na kraju treba pomenuti rezultate metaanalize, novijeg datuma, u kojoj je ispitivana prognostička značajnost Ki 67 kod raznih tipova limfoma. U njoj se pokazalo da, što se tiče DLBCL, visoka ekspresija Ki 67 značajno korelira sa kraćim OS (HR=1,457, 95% CI 1,123–1,891) i u eri primene rituksimaba (378). Interesantno je da su rezultati ove metaanalize pokazali da visok Ki 67 ne korelira sa lošim biohemijskim i kliničkim parametrima kod DLBCL. U našoj studiji nije vršena ukrštena analiza

6. Diskusija

Ki 67 indeksa sa drugim parametrima loše prognoze, te je to možda i razlog za nepostojanje statističke značajnosti u odnosu na rizik od smrtnog ishoda.

Analiza ECOG PS vršena je dihotomo, tako što su upoređivane grupe ECOG PS (0 i 1) sa grupom bolesnika ECOG PS (2 i 3). Rezultati ovakvog razmatranja pokazali su visok trend ka većem riziku od smrtnog ishoda u lošijem ECOG PS ($p=0,052$), ali bez dostizanja statističke značajnosti. Razlog ovakvom nalazu najverovatnije je posledica načina na koji su upoređivane grupe bile formirane. Najveći broj naših bolesnika bio je sa dobrim ECOG PS (0 i 1), dok je bilo manje bolesnika sa lošim ECOG PS (2 i 3), a oni sa ECOG PS 4 nisu bili uključivani u studiju. S obzirom na ostvaren visok trend, gotovo je izvesno da bolesnici koji na prezentaciji imaju loš ECOG PS imaju značajno veći rizik od smrtnog ishoda.

U odnosu na skorove/indekse prognoze nađeni su očekivani rezultati statističke značajnosti u odnosu na IPI, R-IPI i NCCN-IPI skor, gde je viši skor visoko signifikantno korelisao sa rizikom od smrtnog ishoda ($p<0,001$, respektivno). Ovi rezultati u potpunosti koreliraju sa publikovanim rezultatima studija koje su definisale IPI, R-IPI i NCCN-IPI skorove/indekse prognoze i potvrđeni su i na našoj kohorti bolesnika (214, 215, 218). NCCN-IPI skor skoro je definisan tako da je još uvek predmet studija koje se bave njegovim potvrđivanjem u različitim kliničkim kategorijama bolesnika. Do sada poznati rezultati o NCCN-IPI skoru jedino upućuju na to da je on veoma moćan prediktor preživljavanja i da pre svega vrši bolju diskriminaciju bolesnika diferencirajući grupe niskog i visokog rizika u odnosu na standardni IPI skor (218). Jedno od poslednjih saopštenja govori u prilog tvrdnji da ovaj skor trenutno predstavlja najmoćniji prediktor preživljavanja u grupi lokalizovanog DLBCL (379). Neočekivani nalaz je to što se kod aaIPI skora nije našla statistički značajna korelacija sa rizikom od smrtnog ishoda, s tim da se našlo da je bilo više umrlih bolesnika u višim skorovima ($aaIPI \geq 2$). Jedno od mogućih objašnjenja za ovakvo stanje jeste mali broj analiziranih bolesnika koji su bili mlađi od 60 godina, njih 37 i njihova disperzija. Pretpostavka je da je verovatno potrebna veća masa bolesnika da bi se dobila statistička značajnost koja bi hipotetički trebalo da postoji. Mlađi bolesnici najčešće imaju očuvan ukupni vitalni kapacitet, bolje podnose primenjenu imunohemioterapiju, kao i dodatne terapije i sl. Bez obzira na značaj aaIPI skora, izgleda da IPI skor ima jaču prediktivnu moć.

Kod 21 bolesnika koji nije odgovorio na prvu liniju terapije primenjivana je dodatna terapija kako bi se postigla remisija bolesti. Dobijeni rezultati pokazali su da se dodavanjem nove

6. Diskusija

terapijske linije dobila statistička značajnost koja korelira sa smrtnim ishodom, u smislu veće smrtnosti kod onih bolesnika gde je bila primenjivana dodatna terapija (9 preživelih bolesnika (17,30%) vs 12 umrlih bolesnika (46,20%), $p=0,015$). Ovaj naizgled paradoksalni rezultat nije bio posledica smrti bolesnika od pretretiranosti lekovima, nego je bio rezultat rezistentne bolesti, koja nije odgovarala na dodatne primenjivane terapije.

PFS vreme prikazano je kao vreme od datuma postavljanja dijagnoze i započinjanja indukciono terapije do datuma kada se verifikovala progresivna bolest, odnosno do datuma preseka stanja, ukoliko se progresija bolesti nije desila. Datum preseka stanja predstavlja takozvano cenzorisano vreme, odnosno period do kada su bolesnici prospektivno bili praćeni. S obzirom da je period uključenja bolesnika u studiju bio dugačak, period praćenja bolesnika bio je heterogen, te je PFS vreme prikazano medijanom. Medijana PFS vremena iznosila je 14,85 meseci (minimalno 0, maksimalno 71 mesec).

Idući redom kako su rezultati predstavljeni, najpre je posmatran samostalni uticaj pojedinačnih biomarkera na PFS vreme. U Kaplan–Meierovoj analizi (eng. survival analysis) nije pronađena statistički značajna razlika u PFS vremenu u odnosu na pojedinačnu CD10, MUM1 i bcl6 ekspresiju biomarkera. Ono što se uočilo jeste da su bolesnici sa CD10+, MUM1- i bcl6- imali duže ukupno trajanje PFS vremena. Nalaz bcl6- korelacije sa dužim ukupnim PFS bio je neočekivan, s obzirom na saopštavane podatke o boljem preživljavanju bcl6+ bolesnika. Prezentovana brojna studijska razmatranja vezana za prognostički značaj ekspresije pomenuta 3 biomarkera manje ili više su kontradiktorna, ali podsećanja radi, najčešće se nailazi na saopštenja koja su ukazivala na to da je ekspresija MUM1 biomarkera povezana sa negativnim prognostičkim značenjem, a ekspresija bcl6 biomarkera sa pozitivnim prognostičkim značenjem. Za ekspresiju CD10 biomarkera prisutna je velika kolizija rezultata u zavisnosti od prezentovanih studija.

Na našem uzorku bolesnika Kaplan–Meierova analiza preživljavanja pokazala je statistički značajnu razliku između grupa bcl2+ i bcl2- bolesnika. Bolesnici koji su bili bcl2- imali su statistički značajno duže vreme PFS, u odnosu na bcl2+ bolesnike ($p=0,031$). Od ranije je poznato da su publikovani kontradiktorni podaci u vezi sa značajem bcl2 overekspresije koji se odnose na dužinu PFS i OS. U studijama ranijeg datuma, iz ere pre upotrebe rituksimaba, bcl2 pozitivnost ćelija DLBCL jasno se potvrdila kao loš prognostički parametar (380, 381, 382). U studiji Maeshimae i sar. na velikoj seriji od 285 bolesnika sa *de novo* DLBCL, tretiranih

6. Diskusija

rituksimabom i hemioterapijom, bcl2 overekspresija korelirala je sa kraćim PFS i OS. Statistička značajnost zadržana je i u multivarijantnoj analizi ($p=0,0015$) (383). Ova studija takođe je pokazala statistički značajnu asocijaciju bcl2+ sa primarno refraktarnim oblikom DLBCL ($p=0,0029$). U studiji Nymana i sar. (238), pominjanoj u uvodnom delu naše studije, u kojoj je analiziran značaj ekspresije bcl2 i FOXP1 biomarkera, pokazalo se da je bcl2 ekspresija bila povezana sa non-GCB podtipom i da je zadržala negativni prognostički značaj i u eri primene imunohemioterapije. U studija Iqbala i sar. tvrdi se da je bcl2 overekspresija povezana sa negativnim prognostičkim značajem, ali samo u GCB fenotipu, kod bolesnika tretiranih R-CHOP indukcionom imunohemioterapijom (384). Peruničić i sar. u svojoj analizi takođe su pokazali negativnu korelaciju bcl2 overekspresije sa dužinom trajanja PFS i OS (377). U njihovoj analizi bcl2+, bila je povezana sa višim IPI skorom bolesnika, što je dalje vodilo lošijem OS bolesnika, pri čemu su rezultati potvrđeni i u Cox regresionom modelu ($IPI > 3$, visok Ki 67 i bcl2+, $p < 0,05$). Uostalom, u studiji Murisa i sar. (72) istaknut je značaj bcl2 ekspresije kao vrlo nepovoljnog parametra prognoze DLBCL. U studiji Veelkena i sar. na grupi od 60 bolesnika sa *de novo* DLBCL, koji su bili tretirani risk-adaptiranom terapijom, bcl2 overekspresija i dalje je zadržala negativan prognostički potencijal na dužinu trajanja PFS (385). S druge strane, ima studija u kojima se opovrgava prognostički značaj bcl2 overekspresije u eri rituksimab imunoterapije, kao što je studija Mouniera i sar. u kojoj se pokazuje da u Cox regresionom modelu bcl2 overekspresija prestaje da bude negativni prognostički činilac, a autori zaključuju da je rituksimab sposoban da prevaziđe negativni prognostički uticaj bcl2 overekspresije (386). U revijskom radu novijeg datuma Dunleavyja i sar., koji su opsežno razmatrali problem visoke disonance nalaza o prognostičkom značaju bcl2 overekspresije, pokazan je uticaj različitih mehanizama bcl2 aktivacije na molekularnom nivou. Pomenuti mehanizmi direktno utiču na ovako veliku heterogenost i koliziju nalaza vezanih za prognostički značaj bcl2 overekspresije (387). U uvodnom delu naše studije prezentovana su 2 najpoznatija mehanizma bcl2 overekspresije, koja su do sada prepoznata i opisana, vezano za GCB i non-GCB podtip DLBCL. U podtipu GCB, odnosno u molekularnom GCB-nalik tipu, dominantan mehanizam bcl2 overekspresije vezan je za prisustvo t(14;18)(q32;q31) (66), dok je u ABC-nalik DLBCL mehanizam bcl2 overekspresije povezan sa NF- κ B aktivacijom, sa 18q21 amplifikacije gena ili bez nje (67, 68). U ovom smislu Zeng i sar. (388) potvrdili su na svojoj kohorti od 214 analiziranih bolesnika da je bcl2 overekspresija statistički značajno ($p=0,002$) bila udružena sa

6. Diskusija

genskom amplifikacijom i NFkB aktivacijom u non-GCB imunohistohemijskom podtipu u odnosu na GCB podtip. Ova grupa autora pronašla je da je bcl2 overekspresija korelirala sa kraćim ukupnim OS (31.2 vs 40.2 meseca), da je rizik od smrtnog ishoda bio 1,89 puta veći u bcl2+ kohorti bolesnika i predlažu upotrebu bcl2+ kao prognostičkog biomarkera nezavisnog od kliničkog stadijuma i Hansovog algoritma. Na kraju ovog razmatranja, vezano za analizu bcl2 biomarkera i njegovog uticaja na PFS, može se zaključiti da se i u ovako kratkoj medijani vremena praćenja bolesnika, kakva je bila u našoj studiji, pronašla statistička značajnost kraćeg PFS vremena u bcl2+ grupi. Ovakav nalaz vodi zaključku da bcl2 overekspresija ima kliničku značajnost, koja ostaje aktuelna i u eri primene rituksimaba. Dobijeni rezultati naše studije u korelaciji su sa rezultatima brojnih publikovanih i ovde iznetih studija. Ostaje otvoreno pitanje da li je ta značajnost ostvarena na račun non-GCB grupe bolesnika, kao što tvrde Nyman i sar. (238). U našoj studiji nije rađena takva podanaliza, mada pronađena je značajno veća zastupljenost non-GCB imunohistohemijskog podtipa. Za takvu kliničku diskriminaciju potrebne su dodatne statističke analize, koje su prevazilazile potrebne okvire ove studije.

U analizi PFS u odnosu na Hansov algoritam, pronađeno je da je GCB grupa bolesnika imala trend ka dužem trajanju PFS, u odnosu na non-GCB grupu, ali bez dostizanja statistički značajne razlike među ispitivanim grupama ($p=0,187$). Ovakav nalaz odudara od rezultata studije Hansa i sar. (63), koji su prvi istakli prognostički značaj Hansovog imunohistohemijskog algoritma, ali treba napomenuti da su oni imali duži period praćenja bolesnika. U studiji Nymana i sar. saopšteni rezultati su oprečni onima u Hansovoj studiji (238). Ova grupa nije našla statistički značajnu razliku između GCB i non-GCB podtipa, u preživljanju u 2-godišnjem praćenju bolesnika. Medijana praćenja njihove grupe bolesnika bila je kratka da bi dobijeni rezultati mogli imati veći informativni značaj. U našoj studiji medijana praćenja bolesnika bila je još kraća, te ako bi statistička razlika u dužini PFS i postojala nije bilo dovoljno vremena da se ona detektuje.

U analizi PFS u odnosu na Murisov skor postojala je statistički značajna razlika u dužini trajanja PFS vremena između bolesnika sa Muris skorom tipa 1 i Muris skorom tipa 2 (63 vs 45 meseci, respektivno, $p=0,001$). Dobijeni rezultati naše studije pokazuju da je Muris scoring sistem imao visoku diskriminatornu snagu, jer se statistička značajnost pojavila za dosta kratku medijanu praćenja PFS. Dobijeni rezultati ukazuju da pomenuti skor, kao imunohistohemijski zasnovan algoritam može da izvrši jasnu stratifikaciju bolesnika na kategorije rizika. Studija Murisa i sar. pokazala je da je Murisov skor moćan instrument u stratifikaciji bolesnika na one sa niskim, a

6. Diskusija

pogotovo na one sa visokim rizikom za loš ishod lečenja ($p=0,04$ i $p<0,001$, respektivno) (72). Ipak, treba naglasiti da je ova studija razmatrala samo nodalne forme DLBCL. U studiji Jablonske i sar., koji su na svojoj kohorti od 66 bolesnika sa *de novo* DLBCL analizirali uticaj, između ostalog i Murisovog skora na OS, bile su uključene obe kliničke prezentacije DLBCL bolesnika. Dobijeni su oprečni rezultati koji nisu pokazali statistički značajnu razliku u OS između Muris skorova, iako su bolesnici sa Murisovim skorom tipa 1 imali blago duži 5-godišnji OS (389). U našu studiju uključeni su bili bolesnici sa obe kliničke prezentacije DLBCL, pri čemu je odnos između nodalne i ekstrapnodalne prezentacije bio ekvivalentan (50% : 50%). Nalaz da je Muris skor bio statistički značajan za PFS u našoj kohorti bolesnika, pokazuje da je on zadržao svoju sposobnost diskriminacije i kada su bili posmatrani bolesnici sa ekstrapnodalnom prezentacijom DLBCL. Ovakav rezultat ostaje da bude proveren na većoj kohorti i od strane drugih autora, jer nema mnogo radova iz oblasti analize Murisovog skora, s obzirom da su se u svetu pojavili noviji imunohistohemijski scoring sistemi, odnosno algoritmi, koji su pokazali veću konkordancu sa pravim profilom genske ekspresije.

U analizi supkategorija biomarkera po Hansovom algoritmu nije pronađena statistički značajna razlika u dužini trajanja PFS, među ispitivanim grupama. Detektovan je trend ka dužem PFS u grupi sledećih supkategorija biomarkera: CD10-, MUM1+, bcl6- i CD10-, MUM1-, bcl6-, dok je najkraći PFS bio u GCB supkategoriji biomarkera CD10+, MUM1-, bcl6-. Ovakav nalaz delimično korelira sa retkim publikovanim studijama koje su analizirale ovakav pristup. U našoj studiji nije dostignuta statistička značajnost, verovatno zbog visoke disperzije u maloj grupi bolesnika i kratkog vremena praćenja bolesnika. Bez obzira na naš nalaz, retko se mogu naći radovi koji su se uopšte bavili analizom supkategorija biomarkera po Hansovom algoritmu. Publikacija Andersona i sar. (334), koja je analizirala 155 bolesnika sa DLBCL, podelivši ih u 6 supkategorija biomarkera po Hansovom algoritmu (3 GCB i 3 non-GCB podgrupe) pokazala je da postoji statistički značajna razlika u medijani preživljavanja ($p=0,014$) između različitih ispitivanih supkategorija. Supkategorije GCB podtipa imale su sledeću distribuciju preživljavanja: CD10-, MUM1-, bcl6+ imala je medijanu od 143 meseca, vrlo retka supkategorija CD10+, MUM1+, bcl6+ imala je vrlo kratku medijanu od 11 meseci i supkategorija CD10+, MUM1-, bcl6+ pokazala je kratku medijanu od 32 meseca preživljavanja. Unutar samog podtipa GCB zabeležena je visoka statistički značajna razlika u preživljavanju ($p=0.002$) između supkategorija CD10-, MUM1-, bcl6+ i pomenute vrlo retke supkategorije

6. Diskusija

CD10+, MUM1+, bcl6+. U supkategorijskoj analizi non-GCB podtipa DLBCL, zabeležene su sledeće medijane u OS: za supkategoriju CD10-, MUM1+, bcl6- medijana je bila 58 meseci, za supkategoriju CD10-, MUM1-, bcl6- medijana je bila 54 meseci, a za supkategoriju CD10-, MUM1+, bcl6+ bila je najkraća medijana od 27 meseci. Ova studija pokazala je dalju heterogenizaciju u ukupnom prognostičkom značaju GCB i non-GCB podtipova, ukazujući da se oni ne mogu univerzalno i homogeno posmatrati. Unutar pomenutih imunohistohemijskih podtipova DLBCL prognoze bolesnika nisu homogene, kada se izvrši supkategorijska klasifikacija kombinacija na osnovu ekspresija CD10, MUM1 i bcl6 biomarkera.

U analizi PFS u odnosu na biohemijske parametre pronađeno je da jedino referentni opseg beta 2 mikroglobulina predstavlja prediktor statistički značajno dužeg PFS ($p=0,014$). Rezultati studije Avillesa i sar. koji su pokazali da povišen nivo beta 2 mikroglobulina predstavlja prediktor ranog relapsa (50), odnose se na period pre primene rituksimaba. U našoj studiji ispitivan je prognostički značaj nivoa beta 2 mikroglobulina u eri primene rituksimaba. Na poslednjem kongresu ASH (eng. American Society of Hematology) decembra 2014. godine, prezentovani su rezultati studija Seo i sar. i Miyashitae i sar. u kojima je analiziran značaj povišenih vrednosti beta 2 mikroglobulina na većem broju bolesnika (834 i 781, respektivno), tretiranih R-CHOP indukcionom imunohemioterapijom. Analizom preživljavanja, primenom log rank testa, potvrđeno je da visok nivo beta 2 mikroglobulina zadržava negativni prognostički značaj u PFS ($HR=1,9$ $p<0,001$), a takođe i u OS (390), odnosno da zadržava visoku signifikantnost u kraćem PFS ($HR=2,11$ $p=0,04$) (391). Ovi najsvežiji podaci gotovo u potpunosti se slažu sa nalazima pronađenim u našoj seriji bolesnika. Nalaz niskih albumina pokazao je trend ka kraćoj medijani PFS ($p=0,061$), ali bez dostizanja statističke značajnosti. Nivo LDH i nivo hemoglobina pronađeno da ne koreliraju sa dužinom PFS. Poslednje navedeni rezultati verovatno su posledica kratke medijane praćenja bolesnika, jer ne koreliraju sa do sada poznatim rezultatima studija.

U analizi PFS u odnosu na kliničke parametre nađeno je da jedino postojanje „Bulky” bolesti statistički značajno korelira sa kraćim PFS ($p=0,009$). Rezultati o značaju „Bulky” bolesti kao lošeg parametra preživljavanja potiču iz brojnih studija, između ostalog i iz rezultata MINT studije, gde je navedeno da rituksimab nije uspeo da eliminiše negativni prognostički uticaj „Bulky” bolesti kod bolesnika mlađih od 60 godina (260). „Bulky” bolest otežava postizanje povoljnog odgovora na terapiju (nalaz na našem kliničkom materijalu) i utiče na brzi relaps bolesti. U našoj studiji medijana praćenja bolesnika bila je relativno kratka, a već se ispoljila

6. Diskusija

statistička značajnost u ispitivanom parametru. Jedno od objašnjenja može biti da primenjena terapija ne uspeva da dovoljno efikasno eradiciira bolest, s obzirom da je kvantitet limfomskog tkiva obiman, i da je trenutno aktuelnom terapijom otežano postizanje, tzv. „dubine” remisije. Drugo objašnjenje bi moglo da bude da u uznapređovaloj, voluminoznoj bolesti postoje klonovi ćelija DLBCL koji su već rezistentni na dejstvo imunohemioterapije, te da je to osnovni razlog za negativni prognostički značaj „Bulky” bolesti. Kod ovih bolesnika na osnovu poslednjih kriterijuma ESMO 2012, neophodno je dodati radioterapiju (49), pre svega u niskim IPI skorovima. U grupi bolesnika iz naše studije primenjivana je dodatna konsolidaciona radioterapija i kod bolesnika viših IPI skorova, ali efekat je i dalje bio minoran. Ovakav nalaz delom se poklapa sa činjenicom da primena radioterapije u visokim IPI skorovima na „Bulky” masu, nema efekta na ukupno preživljavanje bolesnika (49), dok je pitanje PFS otvoreno. U analizama nijedan od ostalih ispitivanih kliničkih parametara nije se pokazao kao statistički značajan za PFS (klinička prezentacija limfoma, prisustvo B simptoma, prisustvo infiltracije koštane srži i Ann Arbor klinički stadijum).

U daljem toku istraživanja urađene su analize odnosa svakog pojedinačnog biomarkera (CD10, MUM1, bcl6 i bcl2) sa skorovima/indeksima prognoze (aaIPI, IPI, R-IPI i NCCN-IPI). Pronađeni odnosi međuzavisnosti biće sukcesivno diskutovani, kako su navedeni u poglavlju o rezultatima. U grupi mlađih bolesnika, kojima je kalkulisan aaIPI skor, nije pronađena statistički značajna korelacija sa bilo kojim od pojedinačnih biomarkera u odnosu na period trajanja PFS. Razlog za ovakav nalaz ostaje nejasan, da li je u pitanju mala serija analiziranih bolesnika, ili kratka medijana praćenja.

U analizi bolesnika starijih od 60 godina, kojima je kalkulisan IPI skor sa pojedinačnim biomarkerima, pronađeno je da bolesnici niskog IPI skora (0 i 1) i MUM1- imaju statistički značajno najduži period PFS u odnosu na bolesnike svih drugih skorova i MUM1 statusa ekspresije. Ukupna medijana njihovog trajanja PFS bila je najduža, i iznosila je oko 27 meseci. Nakon nje sledili su bolesnici niskog IPI skora (0 i 1) i MUM1+, čija je ukupna medijana trajanja PFS iznosila oko 20 meseci. Između ovih grupa razlika nije bila statistički značajna. Ova razlika možda bi dostigla statističku značajnost da je medijana praćenja bolesnika bila duža. Svi bolesnici visokog IPI skora (≥ 2) nezavisno od MUM1 statusa ekspresije (MUM1+ i MUM1-), imali su kratke medijane trajanja PFS, koje su bile relativno približne i kretale su se u opsegu manjem od 5 meseci. Najkraća ukupna medijana trajanja PFS bila je u grupi bolesnika visokog

6. Diskusija

IPI skora (≥ 2) i MUM 1+ i trajala je samo 1 mesec. Odnos između grupa bolesnika niskog IPI skora (0 i 1) i MUM1- vs visokog IPI skora (≥ 2) i MUM1+, pokazao je najveću statistički značajnu razliku u dužini trajanja PFS ($p=0,028$). Ovakav nalaz otvara intrigantno pitanje, koliki je zaista uticaj IPI skora, a koliki status MUM1 biomarkerske ekspresije. Statistički gledano, obe varijable mogu imati uticaja na dužinu trajanja medijane PFS vremena. Problem je što su grupe bile nekomparabilne, jer su poređeni IPI skorovi različitih bazično definisanih rizika, dok različiti MUM1 statusi ekspresije, sa druge strane, mogu biti komparabilni. Ovakva postavka problema otežava definisanje koja od ispitivanih varijabli je sa sigurnošću imala presudan uticaj na dužinu trajanja PFS. U daljoj post-hoc analizi jasno se identifikuju grupe sa visokom statističkom značajnošću za duži period PFS: IPI (0, 1) i MUM1- vs IPI (≥ 2) i MUM1- ($p=0,004$). Dobijeni rezultat korelira i sa nađenim odnosima u analizi odgovora na indukcionu terapiju. Verovatno da je ovde prisutan dominantan i samostalan uticaj IPI skora, jer u obe grupe je postojalo odsustvo ekspresije MUM1 biomarkera (MUM1-). Nađena je i distinkcija u grupi bolesnika koji ekspresiraju MUM1 biomarker, naime grupa niskog IPI skora (0 i 1) i MUM1+ i visokog IPI skora (≥ 2) i MUM1+, pokazuje statistički značajne razlike u PFS vremenu ($p=0,016$). U analizi ovog odnosa takođe se može govoriti i dominantnom i samostalnom uticaju IPI skorova. U ukupnom razmatranju navedenih rezultata, otvara se pitanje koliki je pravi uticaj ekspresije MUM1 biomarkera, a koliki samog IPI skora na dobijene medijane PFS. Evidentno je da bolesnici i niskog i visokog IPI skora koji su MUM1+ imaju kraći PFS, u odnosu na bolesnike niskog IPI skora i MUM1-, dok se to ne može reći za grupe visokog IPI skora koje su MUM1-. Brojne studije ukazivale su na to da je MUM1 ekspresija faktor koji korelira sa kraćim PFS i OS, i u eri rituksimaba (360, 361). Rezultati dobijeni u ovoj studiji, nisu mogli da potvrde takvu tvrdnju, ali su ipak otvorili sumnju da MUM1+ može biti prediktor dužeg PFS. Nalaz da bolesnici niskog IPI skora i MUM1+ imaju najdužu ukupnu medijanu trajanja PFS vremena, u odnosu na sve poredbene grupe zaslužuje da bude ispitan u dužem periodu praćenja i na većoj kohorti bolesnika. Statistički gledano, najopravdanija bila bi ona razlika koja bi se eventualno pronašla u grupama istog IPI skora, a različitih statusa MUM1 biomarkerske ekspresije.

U analizi odnosa bcl6 biomarkera sa IPI skorom nađeno je da su bolesnici niskog IPI skora (0 i 1) i bcl6+ imali najdužu dostignutu ukupnu medijanu trajanja PFS od oko 28 meseci. Nakon nje sledili su bolesnici niskog IPI skora (0 i 1) i bcl6-, čija je dostignuta ukupna medijana trajanja PFS bila oko 17 meseci. Između ovih grupa nije nađena statistički značajna razlika. Ostale grupe

6. Diskusija

bolesnika visokog IPI skora (≥ 2), nezavisno od ekspresije bcl6 biomarkera (bcl6+ i bcl6-), su imali vrlo kratke medijane trajanja PFS koje se kreću približno oko 3 meseca. Najveća statistička značajna razlika u PFS nađena je između grupa niskog IPI skora (0 i 1) i bcl6+ i grupe visokog IPI skora (≥ 2) i bcl6- ($p=0,012$). U post hoc-analizi nađena je i statistička značajna distinkcija u grupama niskog IPI skora (0 i 1) i bcl6- i grupama visokog IPI skora (≥ 2) i bcl6- ($p=0,005$), kao i u grupama niskog IPI skora (0 i 1) i bcl6+ i grupama visokog IPI skora (≥ 2) i bcl6+ ($p=0,025$) i u grupama visokih IPI skorova (≥ 2) bcl6- i bcl6+ ($p=0,042$). Ovaj poslednji saopšteni nalaz vrlo je diskutabilan. Pažljivom analizom box-plot grafikona uočava se da je grupa visokog IPI skora i bcl6- potpuno homogena, jer su sve vrednosti kvartila zbijene oko medijane, dok grupa visokog IPI skora i bcl6+, iako ima medijanu približnu prethodnoj grupi, ima dosta bolesnika koji su imali duže preživljavanje, te se zato našla niska statistički značajna razlika unutar poredbenih grupa. U ukupnoj analizi evidentno je da bolesnici niskih IPI skorova imaju duži PFS nezavisno od ekspresije bcl6 biomarkera. Ovakav nalaz nameće odgovor da je IPI skor imao dominantan i nezavisan uticaj na dužinu PFS, a ne status ekspresije samog bcl6 biomarkera.

U analizama IPI skora sa bcl2 i CD10 biomarkerima nisu nađene statistički značajne razlike u dužini trajanja PFS.

Zaključno gledano rezultati naše studije pokazali su da je IPI skor, koji je definisan u eri pre primene rituksimaba, ostao najmoćniji nezavisni prediktor za PFS, i u eri posle primene rituksimaba.

U analizi odnosa R-IPI skora sa pojedinačnim biomarkerima nije se našla statistička značajna razlika u upoređivanim grupama u odnosu na PFS. Ovde treba napomenuti da je R-IPI skor razmatran u dihotomij organizaciji, naime spojeni su R-IPI skorovi (vrlo dobar i dobar) vs (loš).

U analizi odnosa NCCN-IPI skora sa pojedinačnim biomarkerima nije se našla statistički značajna razlika među različitim ispitivanim biomarkerima u dužini PFS.

U analizi odnosa aaIPI skora i Hansovog algoritma, pronađeno je da bolesnici sa niskim aaIPI skorom (0 i 1) i GCB podtipa po Hansovom algoritmu imaju trend najdužeg PFS, dok grupa visokog aaIPI skora (≥ 2) i GCB podtipa po Hansovom algoritmu ima trend najkraćeg PFS ($p=0,057$). Statistički značajna razlika nije dobijena, ali bila je veoma blizu. Ovakva unutargrupna razlika u GCB podtipu neočekivana je i verovatno je posledica slučajne selekcije naše grupe bolesnika. Razlika između aaIPI skora i GCB podtipa vs aaIPI skora i non-GCB podtipa bila je manje izražena.

6. Diskusija

Kod bolesnika starijih od 60 godina, pronađeno je da bolesnici niskog IPI skora (0 i 1) i GCB podtipa imaju najdužu ukupnu medijanu trajanja PFS, koja se kretala oko 27 meseci. Nakon nje sledili su bolesnici niskog IPI skora (0 i 1) i non-GCB podtipa koji su imali ukupnu medijanu trajanja PFS oko 19 meseci. Između ovih upoređivanih grupa nije postojala statistički značajna razlika u dužini trajanja medijane PFS. Ovakav nalaz, bez obzira što nije pokazao statistički značajnu razliku, ukazuje na trend u GCB podtipu ka dužem trajanju PFS. Verovatno bi statistički značajna razlika bila dostignuta da je vreme praćenja bolesnika bilo duže. Grupe bolesnika visokog IPI skora (≥ 2) i GCB, kao i non-GCB podtipa, imale su vrlo približne ukupne medijane trajanja PFS, koje su se kretale oko 1 i 3 meseca, respektivno. Utvrđeno je da grupa bolesnika sa niskim IPI skorom (0 i 1) i GCB fenotipom statistički značajno ima najduži period PFS u odnosu na grupu visokog IPI skora (≥ 2) i non-GCB fenotipa ($p=0,018$), koja ima najkraći period PFS. Ova dobijena razlika otvara pitanje koliki je bio uticaj samog IPI skora, a koliki Hansovog algoritma. Statistička metodologija pruža mogućnost uticaja obe varijable (različitih IPI skorova i različitog fenotipa GCB i non-GCB). Ostaje otvoreno pitanje u kojoj meri je koji od faktora imao uticaja na PFS. U daljoj post-hoc analizi pokazala se distinkcija između grupa niskog IPI skora (0 i 1) i GCB fenotipa i visokog IPI skora (≥ 2) i GCB fenotipa ($p=0.004$) i grupe niskog IPI skora (0 i 1) i non-GCB fenotipa i grupe visokog IPI skora (≥ 2) i non-GCB fenotipa ($p=0,017$). Rezultati post-hoc analize se mogu relativno lako protumačiti i zaključiti da je IPI skor odigrao samostalan i nezavisan uticaj na medijane trajanja PFS. Sumarno gledano, pokazano je da je grupa niskog IPI skora i GCB fenotipa, grupa koja ima najduži period PFS i verovatno najbolje prognostičke izglede na duže preživljavanje, što je u korelaciji sa nalazom studije Hansa i sar. (72). Ranije pominjana studija Xea i sar. koji su publikovali da je grupa GCB podtipa bolesnika i niskog IPI skora statistički značajno sa boljim 5-godišnjim PFS ($p=0,003$) u odnosu na non-GCB grupu bolesnika (360), takođe potvrđuje rezultate Hansove studije. Rezultati naše studije pokazali su trend ka takvom nalazu, ali se nije dobio potreban nivo za proglašenje statističke značajnosti. Razlog za to može ležati u kratkoj medijani praćenja bolesnika. S toga, može se zaključiti da je potrebno duže vreme praćenja za adekvatnu procenu. Što se tiče unutargrupnog diverziteta (poređenja GCB/GCB i non-GCB/non-GCB, različitih IPI skorova), sasvim je jasno da je ispoljen dominantan uticaj IPI skora, koji i u eri rituksimaba, predstavlja scoring sistem sa visokim kapacitetom distinkcije unutar grupa istog Hansovog algoritma u odnosu na dužinu trajanja PFS. Ovakav nalaz dala je i ranije pominjana studija

6. Diskusija

Maeshimae i sar. koja je pokazala da visok IPI skor statistički značajno korelira sa kraćim PFS i u eri rituksimab imunohemioterapije (383).

U analizi odnosa Hansovog algoritma sa R-IPI skorom nije bilo statistički značajne razlike između grupa GCB i non-GCB podtipa DLBCL. Grupa niskog R-IPI skora i GCB fenotipa imala je najduži period PFS, ali bez statistički značajne razlike. Razlog ovakvom nalazu, verovatno je, kratka medijana praćenja bolesnika.

U analizi odnosa Hansovog algoritma sa NCCN-IPI skorom pronađeno je da je medijana trajanja PFS u grupama niskog NCCN-IPI skora (1 i 2) i GCB fenotipa bila duža u odnosu na visok NCCN-IPI skor (3 i 4) i non-GCB fenotip, ali bez dostizanja statistički značajne razlike među upoređivanim grupama. Razlog je verovatno kratka medijana praćenja bolesnika.

U analizi odnosa Murisovog algoritma kod bolesnika mlađih od 60 godina, nije pronađena statistički značajna razlika u medijanama trajanja PFS između grupa različitih aaIPI skorova i Muris skora tipa 1 ili 2. Najduža ukupna medijana trajanja PFS bila je u grupi niskog aaIPI skora i Muris skora tipa 1, a najkraća u grupi niskog aaIPI skora i Muris skora tipa 2, ali razlika nije bila statistički značajna.

U analizi odnosa Murisovog algoritma kod bolesnika starijih od 60 godina, pronađeno je da su bolesnici niskog IPI skora (0 i 1) i Muris skora tipa 1 imali najdužu ukupnu medijanu trajanja PFS od oko 28 meseci, u odnosu na sve ostale poredbene grupe. Nakon nje sledila je grupa bolesnika niskog IPI skora (0 i 1) i Muris skora tipa 2 koji su dostigli ukupnu medijanu trajanja PFS od oko 9 meseci. U grupama visokog IPI skora (≥ 2), nezavisno od tipa Muris skora (tip 1 i 2) ukupna medijana trajanja PFS bila je najkraća, gotovo identična i kretala se oko 2 meseca. Utvrđena je statistički značajna razlika u dužini trajanja PFS između grupa niskog IPI skora (0 i 1) i Muris skora tipa 1 vs grupe visokog IPI skora (≥ 2) i Muris skora tipa 2 ($p=0,029$). Ova razlika bila je najupadljivija, sa najvećom statističkom značajnošću, međutim sam nalaz otvara pitanje samostalnog uticaja IPI skora na dužinu trajanja PFS, sa jedne strane i Murisovog imunohistohemijskog algoritma, sa druge strane. U daljoj post-hoc analizi pronađene su distinkcije između grupa: niskog IPI skora (0 i 1) i Muris skora tipa 1 vs grupe visokog IPI skora (≥ 2) i Muris skora tipa 1, ($p=0,034$), grupe niskog IPI skora (0 i 1) i Muris skora tipa 2 vs grupe visokog IPI skora (≥ 2) i Muris skora tipa 2 ($p=0,042$), kao i grupe niskog IPI skora (0 i 1) i Muris skora tipa 1 vs grupe niskog IPI skora (0 i 1) i Muris skora tipa 2 ($p=0,042$). Ovaj poslednje navedeni nalaz je i najznačajniji, jer pokazuje diskriminaciju bolesnika unutar istih IPI

6. Diskusija

skorova, a različitih Muris skorova. Ovo nedvosmisleno ukazuje da je Murisov skor samostalno bio nezavisan faktor diskriminacije između grupa, a ne IPI skor. Takav nalaz ističe činjenicu da bolesnici koji pripadaju Murisovom skor tipa 1 i niskom IPI skorom imaju najveći, statistički značajno, potvrđen benefit u dužini trajanja PFS. Dobijeni rezultat demonstrira uticaj Murisovog skora kao moćnog instrumenta diskriminacije dužine trajanja PFS. Njegov značaj je u toliko veći, jer se statistička značajnost pojavila za vrlo kratku medijanu praćenja bolesnika. Ukupno gledano grupa niskog IPI skora (0 i 1) i Muris skora tip 1 je grupa bcl2-/GCB bolesnika, i ona nosi najveći benefit u dužini trajanja PFS, a verovatno i u OS bolesnika. Na osnovu svega navedenog može se reći da su rezultati naše studije pokazali da Murisov imunohistohemijski algoritam (skor) može biti klinički instrument stratifikacije rizika kod DLBCL bolesnika. Dobijeni rezultati koreliraju sa zaključcima studije Murisa i sar. koji su i definisali pominjani skor (72). Suprotno tome, studija Jablonske i sar., kao jedna od retkih studija koja je prospektivno evaluirala Murisov skor, nekoliko godina nakon njegovog saopštenja u javnosti, negirala je takav zaključak u svojoj analiziranoj kohorti bolesnika (389).

U analizi odnosa Murisovog algoritma sa R-IPI skorom nije se našla statistička značajna razlika u dužini PFS između analiziranih podgrupa bolesnika. Najduži PFS bio je u niskoj R-IPI grupi i Muris skor tipa 1, a najkraći PFS u niskoj R-IPI grupi i Muris skor tipa 2.

U analizi odnosa Murisovog algoritma sa NCCN-IPI skorom pronađen je blagi trend dužeg PFS u grupi niskog NCCN-IPI skora (1 i 2) i Muris skora tipa 1 u odnosu na grupu bolesnika sa visokim NCCN-IPI skorom (3 i 4) i Muris skorom tipa 2. Razlika nije bila statistički značajna ($p=0,141$).

Statistička analiza odnosa skorova/indeksa prognoze sa supkategorijskom klasifikacijom biomarkera po Hansovom algoritmu nije rađena zbog malog broja bolesnika i velike disperzije bolesnika u uzorku, što ne daje mogućnost validne analize i interpretacije rezultata.

U analizi linearne regresije faktora rizika za dužinu trajanja PFS nije se izdvojio, kao statistički značajan, nijedan od faktora rizika za kraći PFS. Statistički gledano postojao je blagi trend kraćeg trajanja PFS između bcl2+ grupe bolesnika u odnosu na bcl2- grupu ($p=0,106$), ali se nije postigla statistički značajna razlika.

6. Diskusija

U sveukupnoj analizi dobijenih rezultata ove studije može se izneti zaključak da su analizirani imunohistohemijski biomarkeri i dalje zadržali svoje mesta u pružanju mogućnosti prognostičke stratifikacije bolesnika sa DLBCL. U tom smislu dominantno su se istakli bcl2 overekspresija i Murisova algoritamska (skor) klasifikacija tipa 2. Pomenuti imunohistohemijski parametri mogu imati realnu kliničku implikaciju u stratifikaciji bolesnika sa povišenim rizikom od terapijskog neuspeha, odnosno loše ukupne prognoze. Bez obzira što se profil genske ekspresije sve više ističe kao budući model za ciljano vođenje terapije, što svakako i jeste cilj onkologije, ova studija ukazuje da imunohistohemija i dalje ima prostora za svakodnevnu kliničku primenu. Širenjem palete imunohistohemijskih biomarkera i definisanjem novih algoritamskih imunohistohemijskih šema približavamo se gotovo potpunom poklapanju imunohistohemije i genskog ekspresionog profila DLBCL. Ovo sa svoje strane otvara pitanje koja će od metoda zauzeti primat, jer je imunohistohemija, bar za sada finansijski isplativija i pogodnija za rutinsku kliničku upotrebu.

1. Pronađena je značajno veća učestalost non-GCB podtipa u odnosu na GCB podtip, u skladu sa tim najčešći fenotip bio je CD10-, MUM1+, bcl6-, dok je bcl2 biomarker imao veću učestalost ekspresije u odnosu na publikovane serije, sa statistički značajno češćom pojavom u ženskom polu.
2. Biomarkeri bcl2, bcl6, CD10 i MUM1, Hans i Muris algoritam (skor), i supkategorija biomarkera po Hansovom algoritmu nemaju nezavisni prediktivni značaj u odnosu na terapijski odgovor i rizik od smrtnog ishoda, dok su se bcl2 i Muris skor tipa 2 izdvojili kao statistički značajni nezavisni faktori kraćeg PFS.
3. Prisustvo B simptoma, „Bulky“ bolesti, visokog Ann Arbor kliničkog stadijuma, povišenog LDH, na prezentaciji, statistički značajno su uticali na lošiji odgovor na indukcionu terapiju i veći rizik od smrtnog ishoda, dok su niski albumini statistički značajno uticali na lošiji odgovor na indukcionu terapiju. Bolesnici sa sniženim hemoglobinom, muškog pola, anaplastičnog histomorfološkog tipa DLBCL imaju statistički značajno češći rizik od smrtnog ishoda. Bolesnici sa povišenim beta 2 mikroglobulinom i “Bulky” bolešću imaju statistički značajno kraći period trajanja PFS. U univarijantnoj analizi faktora rizika za loš odgovor na terapiju izdvojili su se: povišen LDH, sniženi albumini i hemoglobin, i prisustvo B simptoma.
4. Postojala je statistički značajna korelacija MUM1+ i bcl2- sa sniženim albuminima, bcl6- sa povišenim LDH, Muris skora tipa 2 sa smanjenim albuminima i hemoglobinom. Bolesnici NCCN-IPI skora (1 i 2) i bcl6-, kao i NCCN-IPI skora (3 i 4) i bcl6+ imali su statistički značajno bolji odgovor na indukcionu terapiju u odnosu na druge poredbene grupe. Muris skor prilagođen sa niskim IPI skorom zadržao je statistički značajan prediktivni značaj za dužinu trajanja PFS.

7. Zaključci

5. **Muris skor pokazao se kao nezavisni faktor prognostičke diskriminacije bolesnika, dok su IPI skor i bcl2 biomarker zadržali nezavisni prediktivni značaj za dužinu trajanja PFS i u eri primene rituksimaba.**
6. **Originalni doprinos ove teze ogleda se u mogućnosti primene Murisovog skora i bcl2 biomarkera u kliničkoj praksi radi prognostičke stratifikacije rizika kod DLBCL bolesnika, čime se otvara mogućnost izbora novih terapijskih modaliteta za visoko-rizične grupe bolesnika, dok odnos NCCN-IPI skora sa bcl6 biomarkerom zahteva dodatnu potvrdu u većoj grupi bolesnika i od strane drugih autora.**

8. Literatura

1. Boffeta P. Epidemiology of adult non-Hodgkin lymphoma. *Ann Oncol* 2011; 22 suppl 4: 27-31.
2. Chiu BC, Weisenburger DD. An update of the epidemiology of non-Hodgkin's lymphoma. *Clin Lymphoma* 2003; 4 (3): 161-8.
3. Cartwright R, Brincker H, Carli PM, et al. The rise in incidence of lymphomas in Europe 1985-1992. *Eur J Cancer* 1999; 35 (4): 627-33.
4. Greiner TC, Medeiros LJ, Jaffe ES. Non-Hodgkin's lymphoma. *Cancer* 1995; 75 suppl 1: 370-80.
5. Eltom MA, Jemal A, Mbulaiteye SM, et al. Trends in Kaposi's sarcoma and non-Hodgkin's lymphoma incidence in the United States from 1973 through 1998. *J Natl Cancer Inst* 2002; 94 (16): 1204-10.
6. Ayala E. Hematopoietic cell transplantation for B-cell lymphoma: an update. *Cancer Control* 2012; 19 (3): 175-86.
7. Shankland KR, Armitage JO, Hancock BW. Non-Hodgkin lymphoma. *Lancet* 2012; 380 (9844): 848-57.
8. Ayala E, Tomblyn M. Hematopoietic cell transplantation for lymphomas. *Cancer Control* 2011; 18 (4): 246-57.
9. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, et al. WHO classification of tumours of hematopoietic and lymphoid tissues. IARC; Lyon 2008.
10. Gascoyne RD, Aoun P, Wu D, et al. Prognostic significance of anaplastic lymphoma kinase (ALK) protein expression in adult with anaplastic large cell lymphoma. *Blood* 1999; 93 (11): 3913-21.
11. Hamilton-Dutoit SJ, Raphael M, Audouin J, et al. In situ demonstration of Epstein-Barr virus small RNAs (EBER 1) in acquired immunodeficiency syndrome-related lymphomas; correlation with tumor morphology and primary site. *Blood* 1993; 82 (2): 619-24.
12. Prevot S, Hamilton-Dutoit S, Audouin J, et al. Analysis of African Burkitt's and high-grade B cell non-Burkitt's lymphoma for Epstein-barr virus genomes using in situ hybridization. *Br J Haematol* 1992; 80 (1): 27-32.

8. Literatura

13. Kanegane H, Bhatia K, Gutierrez M, et al. A syndrome of peripheral blood T-cell infection with Epstein-Barr virus (EBV) followed by EBV-positive T-cell lymphoma. *Blood* 1998; 91 (6):2085-91.
14. Quintanilla-Martinez L, Kumar S, Fend F, et al. Fulminant EBV (+) T-cell lymphoproliferative disorder following acute/chronic EBV infection: a distinct clinicopathologic syndrome. *Blood* 2000; 96 (2): 443-51.
15. Cesarman E, Chang Y, Moore PS, et al. Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus-like DNA sequences in AIDS-related body-cavity-based lymphomas. *N Eng J Med* 1995; 322 (18): 1186-91.
16. Price SK. Immunoproliferative small intestinal disease: a study of 13 cases with alpha heavy-chain disease. *Histopathology* 1990; 17 (1): 7-17.
17. Ramot S, Shahin N, Bubis JJ. Malabsorption syndrome in lymphoma of small intestine. A study of 13 cases. *Isr Med J* 1965; 47: 221-6.
18. Bentz M, Barth TF, Brüderlein S, et al. Gain of chromosome arm 9p is characteristic of primary mediastinal B-cell lymphoma (MBL): comprehensive molecular cytogenetic analysis and presentation of a novel MBL cell line. *Genes Chromosomes Cancer* 2001; 30 (4):393-401.
19. Santucci M, Pimpinelli N. Primary cutaneous B-cell lymphomas. *Current concepts*. *I. Haematologica* 2004; 89 (11): 1360-71.
20. Jelić S, Filipović-Ljesković I. Positive serology for Lyme disease borrelias in primary cutaneous B-cell lymphoma: a study in 22 patients; is it a fortuitous finding? *Hematol Oncol* 1999; 17 (3): 107-16.
21. Chanudet E, Zhou Y, Bacon CM, et al. Chlamydia psittaci is variably associated with ocular adnexal MALT lymphoma in different geographical regions. *J Pathol* 2006; 209 (3): 344-51.
22. Ruiz A, Reischl U, Swerdlow SH, et al. Extranodal marginal zone B-cell lymphomas of the ocular adnexa, multiparameter analysis of 34 cases including interphase molecular cytogenetics and PCR for Chlamydia psittaci. *Am J Surg Pathol* 2007; 31 (5): 792-802.
23. Coll JS, Davis S, Severson RK, et al. Residential insecticide use and risk of non-Hodgkin's lymphoma. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2006; 15 (2): 251-7.
24. Hartge P, Colt JS, Severson RK, et al. Residential herbicide use and risk of non-Hodgkin lymphoma. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005; 14 (4): 934-7.

8. Literatura

25. Hummel M, Tamaru J, Kalvelage B, et al. Mantle cell (previously centrocytic) lymphomas express VH genes with no or very little somatic mutations like the physiologic cells of the follicle mantle. *Blood* 1994; 84 (2): 403-7.
26. Mantle cell lymphoma: 2013 Updates on diagnosis, risk-stratification, and clinical management. *Am J Hematol* 2013; 88 (12): 1082-8.
27. Reed JC. Bcl-2-family proteins and hematologic malignancies: history and future prospects. *Blood* 2008; 111 (7): 3322-30.
28. Pasqualucci L, Migliazza A, Fracchiolla N, et al. BCL-6 mutations in normal germinal center B cells: evidence of somatic hypermutation acting outside Ig loci. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95 (20): 11816-21.
29. MacLennan IC. Germinal centers. *Annu Rev Immunol* 1994; 12: 117-39.
30. Chadburn A, Chen JM, Hsu DT, et al. The morphologic and molecular genetic categories of posttransplantation lymphoproliferative disorders are clinically relevant. *Cancer* 1998; 82 (10): 1978-87.
31. Saito M, Gao J, Basso K, et al. A signaling pathway mediating downregulation of BCL6 in germinal center B cells is blocked by BCL6 gene alterations in B cell lymphoma. *Cancer Cell* 2007; 12 (3): 280-92.
32. Falini B, Fizzotti M, Pucciarini A, et al. A monoclonal antibody (MUM1p) detects expression of the MUM1/IRF4 protein in a subset of germinal center B cells, plasma cells, and activated T cells. *Blood* 2000; 95 (6): 2084-92.
33. Brown SL, Greene MH, Gershon SK, et al. Tumor necrosis factor antagonist therapy and lymphoma development: twenty-six cases reported to the Food and Drug Administration. *Arthritis Rheum* 2002; 46 (12): 3151-8.
34. Anon. National Cancer Institute sponsored study of classification of non-Hodgkin's lymphomas: summary and description of a working formulation for clinical usage. The Non-Hodgkin's Lymphoma Pathologic Classification Project. *Cancer* 1982; 49 (10): 2112-35.
35. Borenstein J, Pezzella F, Gatter KC. Plasmablastic lymphomas may occur as post-transplant lymphoproliferative disorders. *Histopathology* 2007; 51 (6): 774-7.
36. Lima M, Almeida J, Dos Anjos TM, et al. TCR alphabeta+/CD4+ large granular lymphocytosis: a new clonal T-cell lymphoproliferative disorder. *Am J Pathol* 2003; 163 (2): 763-71.

8. Literatura

37. Falini B, Martelli MP, Bolli N, et al. Immunohistochemistry predicts nucleophosmin NPM mutations in acute myeloid leukemia. *Blood* 2006; 108 (6): 1999-2005.
38. Macpherson N, Lesack D, Klasa R, et al. Small noncleaved non-Burkitt's (Burkitt like) lymphoma: cytogenetics predict outcome and reflect clinical presentation. *J Clin Oncol* 1999; 17 (5): 1558-67.
39. Hicks EB, Rappaport H, Winter WJ. Follicular lymphoma;a re-evaluation of its position in the scheme of malignant lymphoma, based on a survey of 253 cases. *Cancer* 1956; 9 (4): 792-821.
40. Rappaport H. Tumors of hematopoietic system. U Atlas of tumor pathology, Series I, Section III. Armed forces Institute of Pathology, Washington DC, 1966.
41. Lukes R, Collins R. Immunologic characterization of human malignant lymphomas. *Cancer* 1974; 34 suppl 4: 1488-503.
42. Gerard-Marchant R, Hamlin I, Lennert K, et al. Classification of non-Hodgkin's lymphoma. *Lancet* 1974; 2: 406-8.
43. Stansfeld A, Diebold J, Noel H, et al. Updated Kiel classification for lymphomas. *Lancet* 1988; 1(8580): 292-3.
44. Lennert K, Feller AC. Histopathology of non-Hodgkin's lymphomas (Based on the updated Kiel classification). Springer-Verlag, Berlin 1992.
45. National Cancer Institutesponsored study of classifications of non-Hodgkin's lymphomas: summary and description of a working formulation for clinical usage. The Non-Hodgkin's Lymphoma Pathologic Classification Project. *Cancer* 1982; 49 (10): 2112-35.
46. Harris NL, Jaffe ES, Stein H, et al. A revised European-American classification of lymphoid neoplasms: a proposal from the International Lymphoma Study Group. *Blood* 1994; 84 (5):1361-92.
47. Chan JKC, Banks PM, Cleary ML, et al. A proposal for classification of lymphoid neoplasms (by the International Lymphoma Study Group). *Histopathology* 1994; 25 (6): 517-36.
48. Chan JKC, Banks PM, Cleary ML, et al. A revised European-American classification of lymphoid neoplasms proposed by the International Lymphoma Study Group. *Am J Clin Pathol* 1995; 103 (5):543-60.

8. Literatura

49. Tilly H, Vitolo U, Walewski M, et al. Diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL): ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 2012; 23 suppl 7: 78-82.
50. Avilés A, Narváez BR, Díaz-Maqueo JC, et al. Value of serum beta 2 microglobulin as an indicator of early relapse in diffuse large cell lymphoma. *Leuk Lymphoma* 1993; 9 (4-5): 377-80.
51. Morgan G, Vomanen M, Puitinen J, et al. Changing trends in the incidence of non-Hodgkin's lymphoma in Europe. Biomed Study Group. *Ann Oncol* 1997; 8 supp 2: 49-54.
52. Fisher SG, Fisher RI. The epidemiology of non-Hodgkin's lymphoma. *Oncogene* 2004; 23 (38): 6524-34.
53. Friedberg JW, Fisher RI. Diffuse Large B-cell lymphoma. *Hematol Oncol Clin North Am* 2008; 22 (5): 941-52.
54. Hui PK, Feller AC, Lennert K. High-grade non-Hodgkin's lymphoma of B-cell type I. Histopathology. *Histopathology* 1988; 12 (2): 127-43.
55. Ott G, Ziepert M, Klapper E, et al. Immunoblastic morphology but not the immunohistochemical GCB/nonGCB classifier predicts outcome in diffuse large B-cell lymphoma in the RICOVER-60 trial of the DSHNHL. *Blood* 2010; 116 (23): 4916-25.
56. Alizadeh AA, Eisen MB, Davis RE, et al. Distinct types of diffuse large B-cell lymphoma identified by gene expression profiling. *Nature* 2000; 403 (6769): 503-11.
57. Rüdiger T, Weisenburger DD, Anderson JR, et al. Peripheral T-cell lymphoma (excluding anaplastic large-cell lymphoma): results from the Non-Hodgkin's Lymphoma Classification Project. *Ann Oncol* 2002; 13 (1): 140-9.
58. Hummel M, Bentink S, Berger H, et al. A biologic definition of Burkitt's lymphoma from transcriptional and genomic profiling. *N Eng J Med* 2006; 354 (23): 2419-30.
59. Bea S, Zetll A, Wright G, et al. Diffuse large B-cell lymphoma subgroups have distinct genetic profiles that influence tumor biology and improve gene-expression-based survival prediction. *Blood* 2005; 106 (9): 3183-90.
60. Tagawa H, Suguro M, Tsuzuki S, et al. Comparison of genome profiles for identification of distinct subgroups of diffuse large B-cell lymphoma. *Blood* 2005; 106 (5): 1770-7.

8. Literatura

61. De Paepe P, Achten R, Verhoef G, et al. Large cleaved and immunoblastic lymphoma may represent two distinct clinicopathologic entities within the group of diffuse large B-cell lymphomas. *J Clin Oncol* 2005; 23 (28): 7060-8.
62. Huang JZ, Sanger WG, Greiner TC, et al. The t(14;18) defines a unique subset of diffuse large B-cell lymphoma with a germinal center B-cell gene expression profile. *Blood* 2002; 99 (7): 2285-90.
63. Hans CP, Weisenburger DD, Greiner TC, et al. Confirmation of the molecular classification of diffuse large B-cell lymphoma by immunohistochemistry using a tissue microarray. *Blood* 2004; 103 (1): 275-82.
64. Hwang HS, Park CS, Yoon DH, et al. High Concordance of Gene Expression Profiling-correlated Immunohistochemistry Algorithms in Diffuse Large B-cell Lymphoma, Not Otherwise Specified. *Am J Surg Pathol* 2014; 38 (8): 1046-57.
65. Davis TA, Czerwinski DK, Levy R. Therapy of B-cell lymphoma with anti-CD20 antibodies can result in the loss of CD20 antigen expression. *Clin Cancer Res* 1999; 5 (3): 611-5.
66. Igbal J, Sanger WG, Horsman DE, et al. BCL2 translocation defines a unique tumor subset within the germinal center B-like-like diffuse large B-cell lymphoma. *Am J Pathol* 2004; 165 (1): 159-66.
67. Davis RE, Brown KD, Siebenlist U, et al. Constitutive nuclear factor kappaB activity is required for survival of activated B-cell-like diffuse large B cell lymphoma cells. *J Exp Med* 2001; 194 (12): 1861-74.
68. Igbal J, Neppalli VT, Wright G, et al. BCL2 expression is a prognostic marker of for the activated B-cell-like type of diffuse large B-cell lymphoma. *J Clin Oncol* 2006; 24 (6): 961-8.
69. Piris M, Brown DC, Gatter KC, et al. CD30 expression in non-Hodgkin's lymphoma 1990; 17 (3): 211-8.
70. Meller TP, Grogan TM, Dahlberg S, et al. Prognostic significance of the Ki-67-associated proliferative antigen in aggressive non-Hodgkin's lymphomas: a prospective Southeast Oncology Group trial. *Blood* 1994; 83 (6): 1460-6.
71. Rosenwald A, Wright G, Chan WC, et al. The use of molecular profiling to predict survival after chemotherapy for diffuse large B-cell lymphoma. *N Engl J Med* 2002; 346 (25): 1937-47.

8. Literatura

72. Muris JJ, Meijer CJ, Vos W, et al. Immunohistochemical profiling based on Bcl-2, CD10 and MUM1 expression improves risk stratification in patients with primary nodal diffuse large B cell lymphoma. *J Pathol* 2006; 208 (5): 714-23.
73. Choi WW, Weisenburger DD, Greiner TC, et al. A new immunostain algorithm classifies diffuse large B-cell lymphoma into molecular subtypes with high accuracy. *Clin Cancer Res* 2009; 15 (17): 5494-502.
74. Visco C, Li Y, Xu-Monette ZY, et al. Comprehensive gene expression profiling and immunohistochemical studies support application of immunophenotypic algorithm for molecular subtype classification in diffuse large B-cell lymphoma: a report from the International DLBCL Rituximab-CHOP Consortium Program Study. *Leukemia* 2012; 26 (9): 2103-13.
75. Jain P, Fayad LE, Rosenwald A, et al. Recent advances in de novo CD5+ diffuse large B cell lymphoma. *Am J Hematol* 2013; 88 (9): 798-802.
76. Ramsay AD, Smith WJ, Isaacson PG. T-cell-rich B-cell lymphoma. *Am J Surg Pathol* 1988; 12 (6): 433-43.
77. Dogan A, Burke JS, Goteri G, et al. Micronodular T-cell/histiocyte-rich large B-cell lymphoma of the spleen: histology, immunophenotype, and differential diagnosis. *Am J Surg Pathol* 2003; 27 (7): 903-11.
78. Lim MS, Beaty M, Sorbara L, et al. T-cell/histiocyte-rich large B-cell lymphoma: a heterogeneous entity with derivation from germinal center B cells. *Am J Surg Pathol* 2002; 26 (11): 1458-66.
79. Pittaluga S, Jaffe SE. T-cell/histiocyte-rich large B-cell lymphoma. *Haematologica* 2010; 95 (3): 352-6.
80. Macon WR, Cousar JB, Waldron JA, et al. Interleukin-4 may contribute to the abundant T-cell reaction and paucity of neoplastic B cells in T-cell-rich B-cell lymphomas. *Am J Pathol* 1992; 141 (5): 1031-6.
81. Felgar RE, Steward KR, Cousar JB, et al. T-cell rich-large-B-cell lymphomas contain non-activated CD8+ cytolytic T cells, show increased tumor cell apoptosis, and have lower Bcl-2 expression than diffuse large-B-cell lymphomas. *Am J Pathol* 1998; 153 (6): 1707-15.
82. Brauninger A, Kuppers R, Spiekler T, et al. Molecular analysis of single B cells from T-cell-rich B-cell lymphoma shows the derivation of the tumor cells from mutating germinal center B

8. Literatura

cells and exemplifies means by which immunoglobulin genes are modified in germinal center B cells. *Blood* 1999; 93 (8): 2679-87.

83. Monti S, Savage KJ, Kutok JL, et al. Molecular profiling of diffuse large B-cell lymphoma identifies robust subtypes including one characterized by host inflammatory response. *Blood* 2005; 105 (5): 1851-61.

84. Jaffe ES, Pitalluga S. Aggressive B-cell lymphomas: a review of new and old entities in the WHO classification. Educational Book, ASH 2011; 2011 (1): 506-14.

85. Abramson JS. T-cell/histiocyte-rich B-cell lymphoma: biology, diagnosis, and management. *Oncologist* 2006; 11 (4): 384-92.

86. Makino K, Nakamura H, Kino T, et al. Rising incidence of primary central nervous system lymphoma in Kumamoto, Japan. *Surg Neurol* 2006; 66 (5): 503-6.

87. Haldorsen IS, Krossnes BK, Aarseth JH, et al. Increasing incidence and continued dismal outcome of primary central nervous system lymphoma in Norway 1989-2003: time trends in a 15-year national survey. *Cancer* 2007; 110 (8): 1803-14.

88. Camilleri-Broet S, Criniere E, Broet P, et al. A uniform activated B-cell-like immunophenotype might explain the poor prognosis of primary central nervous system lymphomas: analysis of 83 cases. *Blood* 2006; 107 (1): 190-6.

89. Cobbers JM, Wolter M, Reifenberger J, et al. Frequent inactivation of CDKN2A and rare mutation of TP53 in PCNSL. *Brain Pathol* 1998; 8 (2): 263-76.

90. Montesinos-Rongen M, Küppers R, Schlüter D, et al. Primary central nervous system lymphomas are derived from germinal –center B cells and show a preferential usage of the V4-34 gene segment. *Am J Pathol* 1999; 155 (6): 2077-86.

91. Montesinos-Rongen M, Van Roost D, Schaller C, et al. Primary diffuse large B-cell lymphomas of the central nervous system are targeted by aberrant somatic hypermutation. *Blood* 2004; 103 (5): 1869-75.

92. Willemze R, Jaffe ES, Burg G, et al. WHO-EORTC classification for cutaneous lymphomas. *Blood* 2005;105 (10): 3768-85.

93. Huang CT, Yang WC, Liu YC, et al. Primary cutaneous diffuse large B-cell lymphoma, leg type, with unusual clinical presentation of bluish-reddish multicolored rainbow pattern. *J Clin Oncol* 2011; 29 (17):e497-8.

8. Literatura

94. Grange F, Beylot-Barry M, Courville P, et al. Primary cutaneous diffuse large B-cell lymphoma, leg type: clinicopathologic features and prognostic analysis in 60 cases. *Arch Dermatol* 2007; 143 (9): 1144-50.
95. Senff NJ, Hoefnagel JJ, Jansen PM, et al. Reclassification of 300 primary cutaneous B-cell lymphomas according to the new WHO-EORTC classifications and identification of prognostic markers. *J Clin Oncol* 2007; 25 (12): 1581-7.
96. Santucci M, Pimpinelli N. Primary cutaneous B-cell lymphomas. Current concepts.I. *Haematologica* 2004; 89 (11): 1360-71.
97. Hoefnagel JJ, Vermeer MH, Jansen PM, et al. Bcl-2, Bcl-6, and CD10 expression in cutaneous B-cell lymphoma: further support for a follicle centre cell origin and differential diagnostic significance. *Br J Dermatol* 2003; 149 (6): 1183-91.
98. Hoefnagel JJ, Dijkman R, Basso K, et al. Distinct types of primary cutaneous large B-cell lymphoma identified by gene expression profiling. *Blood* 2005; 105 (9): 3671-8.
99. Pham-Ledard A, Beylot-Barry M, Barbe C, et al. High frequency and clinical prognostic value of MYD88L265P mutation in primary cutaneous diffuse large B-cell lymphoma, leg-type. *JAMA Dermatol* 2014; 150 (11): 1173-9.
100. Antic D, Petrovic N, Pelemis M, et al. "Invisible" primary cutaneous diffuse large B-cell lymphoma, leg type, as a cause of fever of unknown origin. *J Clin Oncol* 2013; 31 (17): e276-9.
101. Grange F, Bekkenk MW, Wechsler J, et al. Prognostic factors in primary cutaneous large B-cell lymphomas: a European multicenter study. *J Clin Oncol* 2001; 19 (16): 3602-10.
102. Vermeer MH, Geelen FA, van Haselen CW, et al. Primary cutaneous large B-cell lymphomas of the legs. A distinct type of cutaneous B-cell lymphoma with an intermediate prognosis. Dutch Cutaneous Lymphoma Working Group. *Arch Dermatol* 1996; 132 (11): 1304-8.
103. Oyama T, Yamamoto K, Asano N, et al. Age-related EBV-associated B-cell lymphoproliferative disorders constitute a distinct clinicopathologic group: a study of 96 patients. *Clin Cancer Res* 2007; 13 (17): 5124-32.
104. Park S, Lee J, Ko YH, et al. The impact of Epstein-Barr virus status on clinical outcome in diffuse large B-cell lymphoma. *Blood* 2007; 110 (3): 972-8.

8. Literatura

105. Miller JB, Variakojis D, Bitran JD, et al. Diffuse histiocytic lymphoma with sclerosis: a clinicopathological entity frequently causing superior vena caval obstruction. *Cancer* 1982; 47 (4): 748-56.
106. Trump DL, Mann RB. Diffuse large cell and undifferentiated lymphomas with prominent mediastinal involvement: a poor prognostic subset of patients with non-Hodgkin's lymphoma. *Cancer* 1982; 50 (2): 277-82.
107. Levitt LJ, Aisenberg AC, Harris NL, et al. Primary non-Hodgkin's lymphoma of the mediastinum. *Cancer* 1982; 50 (11): 2486-92.
108. Boleti E, Johnson PW. Primary mediastinal B-cell lymphoma. *Hematol Oncol* 2007; 25 (4): 157-63.
109. Traverse-Glehen A, Pittaluga S, Gaulard P, et al. Mediastinal grey zone lymphoma: the missing link between classic Hodgkin's lymphoma and mediastinal large B-cell lymphoma. *Am J Surg Pathol* 2005; 29 (11): 1411-21.
110. Higgins JP, Warnke RA. CD30 expression is common in mediastinal large B-cell lymphoma. *Am J Clin Pathol* 1999; 112 (2): 241-7.
111. Pileri SA, Gaidano G, Zinzani E, et al. Primary mediastinal B-cell lymphoma high frequency of BCL-6 mutations and consistent expression of the transcription factors OCT-2, BOB-1, and PU 1 in the absence of immunoglobulins. *Am J Pathol* 2003; 162 (1): 243-53.
112. Möller P, Moldenhauer G, Momburg F, et al. Mediastinal lymphoma of clear cell type is a tumor corresponding to terminal steps of B cell differentiation. *Blood* 1987; 69 (4): 1087-95.
113. Rosenwald A, Wright G, Leroy K, et al. Molecular diagnosis of primary mediastinal B cell lymphoma identifies a clinically favorable subgroup of diffuse large B cell lymphoma related to Hodgkin lymphoma. *J Exp Med* 2003; 198 (6): 851-62.
114. Savage KJ, Monti S, Kutok JL, et al. The molecular signature of mediastinal large B-cell lymphoma differs from that of other diffuse large B-cell lymphomas and shares features with classical Hodgkin lymphoma. *Blood* 2003; 102 (12): 3871-9.

8. Literatura

115. Feuerhake F, Kutok JL, Monti S, et al. NFkappaB activity, function, and target-gene signatures in primary mediastinal large B-cell lymphoma subtypes. *Blood* 2006; 106 (4): 1392-9.
116. Guiter C, Dusanter-Fourt I, Copie-Bergman C, et al. Constitutive STAT6 activation in primary mediastinal large B-cell lymphoma. *Blood* 2004; 104 (2): 543-9.
117. Melzner I, Bucur AJ, Brüderlein S, et al. Biallelic mutation of SOCS-1 impairs JAK2 degradation and sustains phospho-JAK2 action in the MedB-1 mediastinal lymphoma line. *Blood* 2005; 105 (6): 2535-42.
118. Green MR, Monti S, Rodig SJ, et al. Integrative analysis reveals selective 9p24.1 amplification, increased PD-1 ligand expression, and further induction via JAK2 in nodular sclerosing Hodgkin lymphoma and primary mediastinal large B-cell lymphoma. *Blood* 2010; 116 (17): 3268-77.
119. Twa DD, Chan FC, Ben-Neriah S, et al. Genomic rearrangements involving programmed death ligands are recurrent in primary mediastinal large B-cell lymphoma. *Blood* 2014; 123 (13): 2062-5.
120. Paulli M, Sträter J, Gianielli U, et al. Mediastinal B-cell lymphoma: a study of its histomorphologic spectrum based on 109 cases. *Hum Pathol* 1999; 30 (2): 178-87.
121. Savage KJ, Al-Rajhi N, Voss N, et al. Favorable outcome of primary mediastinal large B-cell lymphoma in a single institution: the British Columbia experience. *Ann Oncol* 2006; 17 (1): 123-30.
122. Ponzoni M, Ferreri AJ, Campo E, et al. Definition, diagnosis, and management of intravascular large B-cell lymphoma: proposals and perspectives from an international consensus meeting. *J Clin Oncol* 2007; 25 (21): 3168-73.
123. Ferry JA, Harris NL, Picker LJ, et al. Intravascular lymphomatosis (malignant angioendotheliomatosis). A B-cell neoplasm expressing surface homing receptors. *Mod Pathol* 1988; 1 (6): 444-52.
124. Ponzoni M, Arrigoni G, Gould VE, et al. Lack of CD29 (beta 1 integrin) and CD54 (ICAM-1) adhesion molecules in intravascular lymphomatosis. *Hum Pathol* 2000; 31 (2): 220-6.
125. Molina A, Lombard C, Donlon T, et al. Immunohistochemical and cytogenetic studies indicate that malignant angioendotheliomatosis is a primary intravascular (angiotropic) lymphoma. *Cancer* 1990; 66 (3): 474-9.

8. Literatura

126. Ferreri AJ, Campo E, Ambrosetti A, et al. Anthracycline-based chemotherapy as primary treatment for intravascular lymphoma. *Ann Oncol* 2004; 15 (8): 1215-21.
127. Ponzoni M, Ferreri AJ. Intravascular lymphoma: a neoplasm of "homeless" lymphocytes? *Hematol Oncol* 2006; 24 (3): 105-12.
128. Patel SS, Aasen GA, Dolan MM, et al. Early diagnosis of intravascular large B-cell lymphoma: clues from routine blood smear morphologic findings. *Lab Med* 2014; 45 (3):248-52.
129. Koyano S, Hashiguchi S, Tanaka F. Literature overview of intravascular lymphomatosis. *Brain Nerve* 2014; 66 (8): 927-46.
130. Takakuwa T, Luo WJ, Ham MF, et al. Establishment and characterization of unique cell lines derived from pyothorax-associated lymphoma which develops in long-standing pyothorax and is strongly associated with Epstein-Barr virus infection. *Cancer Sci* 2003; 94 (10): 858-63.
131. Cheuk W, Chan AC, Chan JK, et al. Metallic implant-associated lymphoma: a distinct subgroup of large B-cell lymphoma related to pyothorax-associated lymphoma? *Am J Surg Pathol* 2005; 29 (6): 832-6.
132. Aozasa K. Hashimoto's thyroiditis as a risk factor of thyroid lymphoma. *Acta Pathol Jpn* 1990; 40 (7): 459-68.
133. Katzenstein AL, Carrington CB, Liebow AA. Lymphomatoid granulomatosis: a clinicopathologic study of 152 cases. *Cancer* 1979; 43 (1): 360-73.
134. Koss MN, Hochholzer L, Langloss JM, et al. Lymphomatoid granulomatosis: a clinicopathologic study of 42 patients. *Pathology* 1986; 18 (3): 283-8.
135. Teruya-Feldstein J, Jaffe ES, Burd PR, et al. The role of Mig, the monokine induced by intereferon-gamma, and IP-10, the interferon-gamma-inducible protein-10, in tissue necrosis and vascular damage associated with Epstein-Barr virus-positive lymphoproliferative disease. *Blood* 1997;90 (10): 4099-105.
136. Jaffe ES, Chan JK, Su IJ, et al. Report of the Workshop on Nasal and Related Extranodal Angiocentric T/Natur Killer Cell Lymphomas. Definitions, differential diagnosis, and epidemiology. *Am J Surg Pathol* 1996; 20 (1): 103-11.
137. Colby TV. Current histological diagnosis of lymphomatoid granulomatosis. *Mod Pathol* 2012; 25 supp 1: 39-42.
138. Reichard KK, McKenna RW, Kroft SH, et al. ALK-positive diffuse large B-cell lymphoma: report of four cases and review of the literature. *Mod Pathol* 2007; 20 (3): 310-9.

8. Literatura

139. Delsol G, Lamant L, Mariame B, et al. A new subtype of large B-cell lymphoma expressing the ALK kinase and lacking the 2; 5 translocation. *Blood* 1997; 89 (5): 1483-90.
140. Gascoyne RD, Lamant L, Martin-Subero JI, et al. ALK-positive diffuse large B-cell lymphoma is associated with Clathrin-ALK rearrangements: report of 6 cases. *Blood* 2003; 102 (7): 2568-73.
141. Stachurski D, Miron PM, AI Homsy S, et al. Anaplastic lymphoma kinase-positive diffuse large B-cell lymphoma with a complex karyotype and cryptic 3' ALK gene insertion to chromosome 4 q22-24. *Hum Pathol* 2007; 38 (6): 940-5.
142. Onciu M, Behm FG, Downing JR, et al. ALK-positive plasmablastic B-cell lymphoma with expression of the NPM-ALK fusion transcript: report of 2 cases. *Blood* 2003;102 (7): 2642-4.
143. Colomo L, Loong F, Rives S, et al. Diffuse large B-cell lymphomas with plasmablastic differentiation represent a heterogeneous group of disease entities. *Am J Surg Pathol* 2004; 28 (6): 736-47.
144. Delecluse HJ, Anagnostopoulos I, Dallenbach F, et al. Plasmablastic lymphomas of the oral cavity: a new entity associated with the human immunodeficiency virus infection. *Blood* 1997; 89 (4): 1413-20.
145. Dong HY, Scadden DT, de Leval L, et al. Plasmablastic lymphoma in HIV-positive patients: an aggressive Epstein-Barr virus associated extramedullary plasmacytic neoplasm. *Am J Surg Pathol* 2005; 29 (12): 1633-41.
146. Mihaljevic BS, Todorovic MR, Andjelic BM, et al. Unusual presentation of gastric plasmablastic lymphoma in HIV-negative patient. *Med Oncol* 2012; 29 (2): 1186-9.
147. Saraceni C, Agostino N, Cornfield DB, et al. Plasmablastic lymphoma of the maxillary sinus in an HIV-negative patient: a case report and literature review. *Springerplus* 2013; 2 (1): 142.
148. Dorwal P, Sachdev R, Mishra P, et al. Extraoral plasmablastic lymphoma detected using ascetic fluid cytology and flow cytometry: a case report with a review of the literature. *Acta Cytol* 2014; 58 (3): 309-17.
149. Teruya-Feldstein J, Chiao E, Filippa DA, et al. CD20-negative large -cell lymphoma with plasmablastic features: a clinically heterogeneous spectrum in both HIV-positive and -negative patients. *Ann Oncol* 2004; 15 (11): 1673-9.

8. Literatura

150. Boshoff C, Weiss RA. Epidemiology and pathogenesis of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2001; 356 (1408): 517-34.
151. Sbenghe MM, Besa E. HHV-8-associated multicentric Castleman's disease in HIV-negative patient: a novel therapy for an orphan disease. *Oncologist* 2012; 17 (1): 145-6.
152. Dupin N, Diss TL, Kellam P, et al. HHV-8 is associated with a plasmablastic variant of Castleman disease that is linked to HHV-8-positive plasmablastic lymphoma. *Blood* 2000; 95 (4): 1406-12.
153. Oksenhendler E, Boulanger E, Galicier L, et al. High incidence of Kaposi sarcoma-associated herpesvirus-related non-Hodgkin lymphoma in patient with HIV infection and multicentric Castleman disease. *Blood* 2002; 99 (7): 2331-8.
154. Knowles DM, Inghirami G, Ubriaco A, et al. Molecular genetic analysis of three AIDS-associated neoplasms of uncertain lineage demonstrates their B-cell derivation and the possible pathogenetic role of the Epstein-Barr virus. *Blood* 1989; 73 (3): 792-9.
155. Nador RG, Cesarman E, Chadburn A, et al. Primary effusion lymphoma: a distinct clinicopathologic entity associated with the Kaposi's sarcoma-associated herpes virus. *Blood* 1996; 88 (2): 645-56.
156. Dupin N, Fisher C, Kellam P, et al. Distribution of human herpesvirus-8 latently infected cells in Kaposi's sarcoma, multicentric Castleman's disease and primary effusion lymphoma. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999; 96 (8): 4546-51.
157. Chadburn A, Hyjek E, Mathew S, et al. KSHV-positive solid lymphomas represent an extra-cavitary variant of primary effusion lymphoma. *Am J Surg Pathol* 2004; 28 (11): 1401-16.
158. Klein U, Gloghini A, Gaidano G, et al. Gene expression profile analysis of AIDS-related primary effusion lymphoma (PEL) suggests a plasmablastic derivation and identifies PEL-specific transcripts. *Blood* 2003; 101 (10): 4115-21.
159. Ansari MQ, Dawson DB, Nador R, et al. Primary body cavity-based AIDS-related lymphomas. *Am J Clin Pathol* 1996; 105 (2): 221-9.
160. Teruya-Feldstein J, Zauber P, Setsuda JE, et al. Expression of human herpesvirus-8 oncogene and cytokine homologues in an HIV-seronegative patient with multicentric Castleman's disease and primary effusion lymphoma. *Lab Invest* 1998; 78 (12): 1637-42.
161. Chuang SS, Ye H, Du MQ, et al. Histopathology and immunohistochemistry in distinguishing Burkitt lymphoma from diffuse large B-cell lymphoma with very high

8. Literatura

proliferation index and with or without a starry-sky pattern: a comparative study with EBER and FISH. *Am J Clin Pathol* 2007; 128 (4): 558-64.

162. Le Gouill S, Talmant P, Touzeau C, et al. The clinical presentation and prognosis of diffuse large B-cell lymphoma with t(4;14) and 8q24/c-MYC rearrangement. *Haematologica* 2007; 92 (10): 1335-42.

163. Garcia JF, Mollejo M, Fraga M, et al. Large B-cell lymphoma with Hodgkin's features. *Histopathology* 2005; 47 (1): 101-10.

164. Traverse-Glehen A, Pittaluga S, Gaulard P, et al. Mediastinal gray zone lymphoma: the missing link between classic Hodgkin's lymphoma and mediastinal large B-cell lymphoma. *Am J Surg Pathol* 2005; 29 (11): 1411-21.

165. De Jong D, de Boer JP. Predicting transformation in follicular lymphoma. *Leuk Lymphoma* 2009; 50 (9): 1406-11.

166. Pasqualucci L, Khiabanian H, Fangazio M, et al. Genetics of follicular lymphoma transformation. *Cell Rep* 2014; 6 (1): 130-40.

167. Montoto S, Davies AJ, Matthews J, et al. Risk and clinical implications of transformation of follicular lymphoma to diffuse large B-cell lymphoma. *J Clin Oncol* 2007; 25 (17): 2426-33.

168. Scandurra M, Rossi D, Deambrogi C, et al. Genomic profiling of Richter's syndrome: recurrent lesions and differences with de novo diffuse large B-cell lymphomas. *Hematol Oncol* 2010; 28 (2): 62-7.

169. Rossi D, Gaidano G. Richter syndrome: molecular insights and clinical perspectives. *Hematol Oncol* 2009; 27 (1): 1-10.

170. Fangazio M, De Paoli L, Rossi D, et al. Predictive marker and driving factors behind Richter syndrome development. *Expert Rev Anticancer Ther* 2011; 11 (3): 433-42.

171. Tadmor T, Shvidel L, Bairey O, et al. Richter's transformation to diffuse large B-cell lymphoma: A retrospective study reporting clinical data, outcome and the benefit of adding rituximab to chemotherapy, from the Israeli CLL Study Group. *Am J Hematol* 2014; 89 (11): e218-22.

172. Li S, Lin P, Young KH, et al. MYC/BCL2 double-hit high-grade B-cell lymphoma. *Adv Anat Pathol* 2013; 20 (5): 315-26.

173. Aukema SM, Siebert R, Schuurin E, et al. Double hit lymphomas. *Blood* 2011; 117 (8): 19-31.

8. Literatura

174. Pillai RK, Santhanoori M, Van Oss SB, et al. Double-hit B-cell lymphomas with BCL6 and MYC translocations are aggressive, frequently extranodal lymphomas distinct from BCL2 double-hit B-cell lymphomas. *Am J Surg Pathol* 2013; 37 (3): 323-32.
175. Vitolo U, Chiappella A, Ferreri AJ, et al. First-line treatment for primary testicular diffuse large B-cell lymphoma with ritucimab-CHOP, CNS prophylaxis, and contralateral testis irradiation: Final results of an International phase II trial. *J Clin Oncol* 2011; 29 (20): 2766-72.
176. Gundrum JD, Mathiason MA, Moore DB, et al. Primary testicular diffuse large B-cell lymphoma: A population-based study on the incidence, natural history, and survival comparison with primary nodal counterpart before and after the introduction of rituximab. *J Clin Oncol* 2009; 27 (31): 5227-32.
177. Shahab N, Doll DC. Testicular lymphoma. *Semin Oncol* 1999; 26 (3): 259-69.
178. Miedler JD, MacLennan GT. Primary testicular lymphoma. *J Urol* 2007; 178 (6): 2645.
179. Fonseca R, Habermann TM, Colgan JP, et al. Testicular lymphoma is associated with a high incidence of extranodal recurrence. *Cancer* 2000; 88 (1): 154-61.
180. Wang C, Wang H, Wang Q, et al. Primary testicular lymphoma. Experience with 13 cases and literature review. *Int J Hematol* 2013; 97 (2): 240-5.
181. Cao B, Ji DM, Zhou XY, et al. A clinical analysis of primary testicular diffuse large B-cell lymphoma in China. *Hematology* 2011; 16 (5): 291-7.
182. Mazloom A, Fowler N, Medeiros LJ. Outcome of patients with diffuse large B-cell lymphoma of the testis by era of treatment. The M. D. Anderson Cancer Center experience. *Leuk Lymphoma* 2010; 51 (7): 1217-24.
183. Ahmad SS, Idris SF, Follows GA, et al. Primary testicular lymphoma. *Clin Oncol (R Coll Radiol)* 2012; 24 (5): 358-65.
184. Dubey P, Ha CS, Besa PC, et al. Localized primary malignant lymphoma of bone. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1997; 37 (5):1087-93.
185. Mikhaeel NG. Primary bone lymphoma. *Clin Oncol (R Coll Radiol)* 2012; 24 (5): 366-70.
186. Zinzani PL, Carrillo G, Ascani S, et al. Primary bone lymphoma: experience with 52 patients. *Haematologica* 2003; 88 (3): 280-5.
187. Jawad MU, Schneiderbauer MM, Min ES, et al. Primary lymphoma of bone in adult patients. *Cancer* 2010; 116 (4):871-9.

8. Literatura

188. Mulligan ME, McRae GA, Murphey MD. Imaging features of primary lymphoma of bone. *AJR Am J Roentgenol* 1999; 173 (6):1691-7.
189. Cai L, Stauder MC, Zhang YJ, et al. Early-stage primary bone lymphoma: a retrospective, multicenter Rare Cancer Network (RCN) Study. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2012; 83 (1):284-91.
190. Bruno Ventre M, Ferreri AJ, Gospodarowicz M, et al. Clinical features, management, and prognosis of an international series of 161 patients with limited-stage diffuse large B-cell lymphoma of the bone (the IELSG-14 study). *Oncologist* 2014; 19 (3):291-8.
191. Ford DR, Wilson D, Sothi S, et al. Primary bone lymphoma-treatment and outcome. *Clin Oncol (R Coll Radiol)* 2007; 19 (1): 50-5.
192. Cox MC, Di Napoli A, Scarpino S, et al. Clinicopathologic characterization of diffuse-large-B-cell lymphoma with an associated serum monoclonal IgM component. *PloS One* 2014; 9 (4): e93903.
193. Coiffier B, Lepage E. Prognostic factors in large-cell lymphomas. *Leuk Lymphoma*. 1993;10 Suppl:57-60.
194. Tisi MC, Bozzoli V, Giachelia M, et al. Anemia in diffuse large B-cell non-Hodgkin lymphoma: the role of interleukin-6, hepcidin and erythropoietin. *Leuk Lymphoma* 2014; 55 (2): 270-5.
195. Campbell J, Seymour JF, Matthews J, et al. The prognostic impact of bone marrow involvement in patients with diffuse large cell lymphoma varies according to the degree of infiltration and presence of discordant marrow involvement. *Eur J Haematol* 2006; 76 (6): 473-80.
196. Chung R, Lai R, Wei P, et al. Concordant not discordant bone marrow involvement in diffuse large B-cell lymphoma predicts a poor clinical outcome independent of the International Prognostic Index. *Blood* 2007; 110 (4): 1278-82.

8. Literatura

197. Robertson LE, Redman JR, Butler JJ, et al. Discordant bone marrow involvement in diffuse large cell lymphoma: a distinct clinical-pathologic entity associated with a continuous risk of relapse. *J Clin Oncol* 1991; 9 (2): 236-42.
198. Maurer MJ, Micallef IN, Cehran JR, et al. Elevated serum free chains are associated with event-free and overall survival in two independent cohorts of patients with diffuse large B-cell lymphoma. *J Clin Oncol* 2011; 29 (12): 1620-6.
199. Jardin F, Delfau-Larue MH, Molina TJ, et al. Immunoglobulin heavy chain/light chain pair measurement is associated with survival in diffuse large B-cell lymphoma. *Leuk Lymphoma* 2013; 54 (9): 1898-907.
200. Drake MT, Maurer MJ, Link BK, et al. Vitamin D insufficiency and prognosis in non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol* 2010; 28 (27): 4191-8.
201. Tretli S, Schwartz GG, Torjesen PA, et al. Serum levels of 25-hydroxyvitamin D and survival in Norwegian patients with cancer of breast, colon, lung, and lymphoma: a population-based study. *Cancer Causes Control* 2012; 23 (2): 363-70.
202. Bittenbring JT, Neumann F, Altmann B, et al. Vitamin-D deficiency impairs rituximab-mediated cellular cytotoxicity and outcome of patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with but not without rituximab. *J Clin Oncol* 2014; 32 (29): 3242-8.
203. Kim DH, Baek JH, Chae YS, et al. Absolute lymphocyte count predicts response to chemotherapy and survival in diffuse large B-cell lymphoma. *Leukemia* 2007; 21 (10): 2227-30.
204. Oki Y, Yamamoto K, Kato H, et al. Low absolute lymphocyte count is a poor prognostic marker in patients with diffuse large B-cell lymphoma and suggests patient's survival benefit from rituximab. *Eur J Haematol* 2008; 81 (6): 448-53.
205. Wilcox RA, Ristow K, Habermann TM, et al. The absolute monocyte and lymphocyte prognostic score predicts survival and identifies high-risk patients in diffuse large B-cell lymphoma. *Leukemia* 2011; 25 (9): 1502-9.

8. Literatura

206. Cox MC, Nofroni I, Ruco L, et al. Low absolute lymphocyte count is a poor prognostic factor in diffuse-large-B-cell-lymphoma. *Leuk Lymphoma* 2008; 49 (9): 1745-51.
207. Porrata LF, Ristow K, Habermann TM, et al. Absolute monocyte/lymphocyte count prognostic score is independent of immunohistochemically determined cell of origin in predicting survival in diffuse large B-cell lymphoma. *Leuk Lymphoma* 2012; 53 (11): 2159-65.
208. Li ZM, Huang JJ, Xia Y, et al. Blood lymphocyte-to-monocyte ratio identifies high-risk patients in diffuse large B-cell lymphoma treated with R-CHOP. *PloS One* 2012; 7 (7): e41658.
209. Porrata LF, Ristow K, Inwards DJ, et al. Lymphopenia assessed during routine follow-up after immunochemotherapy (R-CHOP) is a risk factor for predicting relapse in patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Leukemia* 2010; 24 (7): 1343-9.
210. Aoki T, Nishiyama T, Imahashi N, et al. Lymphopenia following the completion of first-line therapy predicts early relapse in patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Am J Hematol* 2012; 91 (3): 375-82.
211. Porrata LF, Ristow K, Habermann TM, et al. Absolute lymphocyte count at the time of first relapse predicts survival in patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Am J Hematol* 2009; 84 (2): 93-7.
212. Lin Y, Gustafson MP, Bulur PA, et al. Immunosuppressive CD14+KLA-DR (low)/-monocytes in B-cell non-Hodgkin lymphoma. *Blood* 2011; 117 (3): 872-81.
213. Ennishi D, Yokoyama M, Terui Y, et al. Soluble interleukin-2 receptor retains prognostic value in patients with diffuse large B-cell lymphoma receiving rituximab plus CHOP (RCHOP) therapy. *Ann Oncol* 2009; 20 (3): 526-33.
214. Anon. 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): 987-94.

8. Literatura

215. Sehn LH, Berry B, Chhanabhai M, et al. The revised International Prognostic Index (R-IPI) is a better predictor of outcome than the standard IPI for patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with R-CHOP. *Blood* 2007;109 (5):1857-61.
216. Cultrera JL, Dalia SM. Diffuse large B-cell lymphoma: current strategies and future directions. *Cancer Control* 2012; 19 (3): 204-13.
217. Sinha R, Nastoupil L, Flowers CR. Treatment strategies for patients with diffuse large B-cell lymphoma: past, present, and future. *Blood Lymphat Cancer* 2012; 2012 (2): 87-98.
218. Zhou Z, Sehn LH, Rademaker AW, et al. An enhanced International Prognostic Index NCCN-IPI for patients with diffuse large B-cell lymphoma treated in the rituximab era. *Blood* 2014; 123 (6): 837-42.
219. Oken MM, Creech RH, Tormey DC, et al. Toxicity and response criteria of the Eastern Cooperative Oncology Group. *Am J Clin Oncol* 1982; 5 (6): 649-55.
220. Müller C, Murawski N, Wiesen MH, et al. The role of sex and weight on rituximab clearance and serum elimination half-life in elderly patients with DLBCL. *Blood* 2012; 119 (14): 3276-84.
221. Pfreundschuh M, Mueller C, Zeynalova S, et al. Differential impact of sex in young and elderly patients with DLBCL: Correlation with rituximab R pharmacokinetics. *J Clin Oncol* 2013; 31 supp: 8570. [meeting abstract].
222. Weiss L, Melchardt T, Habringer S, et al. Increased body mass index is associated with improved overall survival in diffuse large B-cell lymphoma. *Ann Oncol* 2014; 25 (1): 171-6.
223. Piccirillo JF, Creech C, Zequeira R. Inclusion of comorbidity into oncology data registries. *J Reg Mngt* 1999; 26 (2): 66-70.
224. Sorrow ML, Maris MB, Storb R, et al. Hematopoietic cell transplantation (HCT)-specific comorbidity index: a new tool for risk assessment before allogeneic HCT. *Blood* 2005; 106 (8): 2912-9.
225. Salvi F, Miller MD, et al. A manual of guidelines to score the modified cumulative illness rating scale and its validation in acute hospitalized elderly patients. *J Am Geriatr Soc* 2008; 56 (10): 1926-31.

8. Literatura

226. Dunphy CH. Gene expression profiling data in lymphoma and leukemia. *Arch Pathol Lab Med* 2006; 130 (4): 483-520.
227. Sjö LD, Poulsen CB, Hansen M, et al. Profiling of diffuse large B-cell lymphoma by immunohistochemistry: identification of prognostic subgroups *Eur J Haematol* 2007;79 (6): 501-7.
228. Natkunam Y, Warnke RA, Montgomery K, et al. Analysis of MUM1/IRF4 protein expression using tissue microarrays and immunohistochemistry. *Mod Pathol* 2001; 14 (7): 686-94.
229. Carbone A, Gloghini A, Aldinucci D, et al. Expression pattern of MUM/IRF4 in the spectrum of pathology of Hodgkins disease. *Br J Haematol* 2002; 117 (2): 366-72.
230. Ninan MJ, Wadhwa PD, Gupta P Prognostication of diffuse large B-cell lymphoma in the rituximab era *Leuk Lymphoma* 2011;52 (3): 360-73.
231. Ye BH, Lista F, Lo Coco F, et al. Alterations of a zinc finger-encoding gene, BCL-6, in diffuse large-cell lymphoma. *Science* 1993; 262 (5134): 747-50.
232. Tsujimoto Y, Finger LR, Yunis J, et al. Cloning of the chromosome breakpoint of neoplastic B cells with the t(14;18) chromosome translocation. *Science* 1984; 226 (4678): 1097-9.
233. Cleary ML, Smith SD, Sklar J. Cloning and structural analysis of cDNAs for bcl-2 and a hybrid bcl-2/immunoglobulin transcript resulting from the t(14;18) translocation. *Cell* 1986; 47 (1): 19-28.
234. Karantza-Wadsworth V, White E. Programmed cell death in DeVita et al. *Cancer, principles and practice of Oncology* LWW 2008
235. Gascoyne RD, Adomat SA, Krajewski S, et al. Prognostic significance of Bcl-2 protein expression and Bcl-2 gene rearrangement in diffuse aggressive non-Hodgkin's lymphoma. *Blood* 1997; 90 (1): 244-51.

8. Literatura

236. Wilson WH, Grossbard ML, Pittaluga S, et al. Dose adjusted EPOCH chemotherapy for untreated large B-cell lymphomas: a pharmacodynamic approach with high efficacy. *Blood* 2002; 99 (8): 2685-93.
237. Winter JN, Weller EA, Horning SJ, et al. Prognostic significance of Bcl-6 protein expression in DLBCL treated with CHOP or R-CHOP: a prospective correlative study. *Blood* 2006; 107 (11): 4207–13.
238. Nyman H, Jerkeman M, Karjalainen-Lindsberg ML, et al. Bcl-2 but not FOXP1, is an adverse risk factor in immunochemotherapy-treated nongerminal center diffuse large B-cell lymphomas. *Eur J Haematol* 2009; 82 (5): 364–72.
239. Maes B, Anastasopoulou A, Kluin-Nelemans JC, et al. Among diffuse large B-cell lymphomas, T-cell-rich/histiocyte-rich BCL and CD30+ anaplastic B-cell subtypes exhibit distinct clinical features *Ann Oncol* 2001; 12 (6): 853-8.
240. Hu S, Xu-Monette ZY, Balasubramanyam A, et al. CD30 expression defines a novel subgroup of diffuse large B-cell lymphoma with favorable prognosis and distinct gene expression signature: a report from the International DLBCL Rituximab-CHOP Consortium Program Study. *Blood* 2013; 121 (14): 2715-24.
241. Perry AM, Mitrovic Z, Chan WC. Biological prognostic markers in diffuse large B-cell lymphoma. *Cancer Control* 2012; 19 (3): 214-26.
242. B. Mihaljevic, D. Antic, B. Andjelic, et al. High Ki-67 protein expression as prognostic factor in diffuse large B-cell lymphoma – experience of Serbian Lymphoma study Group Abstract 416; International Society of Haematology Congress, Jerusalem , Israel 2010.
243. Vaidya R, Witzig TA. Prognostic factors for diffuse large B-cell lymphoma in the R(X)CHOP era. *Ann Oncol* 2014; 25 (11): 2124-33.
244. Seda V, Mraz M. B cell receptor (BCR) signalling and its crosstalk with other pathways in normal and malignant cells. *Eur J Haematol* 2014; 94 (3): 193-205.
245. Mraz M, Kipps TJ. MicroRNAs and B cell receptor signalling in chronic lymphocytic leukemia. *Leuk Lymphoma* 2013; 54 (8): 1836-9.

8. Literatura

246. Duhren-von Minden M, Ubelhart R, Schneider D, et al. Chronic lymphocytic leukaemia is driven by antigen-independent cell-autonomous signalling. *Nature* 2012; 489 (7415): 309-12.
247. Sun J, Lin Z, Li Y, Shen BF. B lymphocyte stimulator: a new target for treating B cell malignancies. *Chin Med J (Engl)* 2008; 121 (14): 1319-23.
248. Paydas S, Ergin M, Seydaoglu G, et al. 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; 33 (12): 1627-35.
249. Nardelli B, Belvedere O, Roschke V, et al. Synthesis and release of B-lymphocyte stimulator from myeloid cell. *Blood* 2001; 97 (1): 198-204.
250. Tangye SG, Bryant VL, Cuss AK, Good KL. BAFF, APRIL and human B cell disorders. *Semin Immunol* 2006; 18 (5): 305-17.
251. Novak AJ, Grote DM, Stenson M, et al. Expression of BLyS and its receptors in B-cell non-Hodgkin lymphoma: correlation with disease activity and patient outcome. *Blood* 2004; 104 (8): 2247-53.
252. Ganjoo KN, An CS, Robertson MJ, et al. Rituximab, bevacizumab and CHOP (R-CHOP) in untreated diffuse large B-cell lymphoma: safety, biomarker and pharmacokinetic analysis. *Leuk Lymphoma* 2006; 47 (6): 998–1005.
253. Paydas S, Ergin M, Seydaoglu G, Erdogan S, Yavuz S. Prognostic [corrected] significance of angiogenic/lymphangiogenic, anti-apoptotic, inflammatory and viral factors in 88 cases with diffuse large B cell lymphoma and review of the literature. *Leuk Res* 2009; 33 (12): 1627-35.
254. Paydas S, Seydaoglu G, Ergin M, et al. The prognostic significance of VEGF-C and VEGF-A in non-Hodgkin lymphomas. *Leuk Lymphoma* 2009; 50 (3): 366-73.
255. Ganjoo KN, Moore AM, Orazi A, et al. The importance of angiogenesis markers in the outcome of patients with diffuse large B cell lymphoma: a retrospective study of 97 patients. *J Cancer Res Clin Oncol* 2008; 134 (3): 381-7.
256. Lenz G, Wright G, Dave SS, et al. Stromal gene signature s in large B-cell lymphomas. *N Engl J Med* 2008; 359 (22): 2313-23.

8. Literatura

257. Shain KH, Dalton WS, Tao J. The tumor microenvironment shapes hallmarks of B-cell malignancies. *Oncogene* 2015; ahead of print.
258. Meyer PN, Fu K, Greiner T, et al. The stromal cell marker SPARC predicts for survival in patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with rituximab. *Am J Clin Pathol* 2011; 135 (1): 54-61.
259. Armitage OJ. My treatment approach to patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Mayo Clin Proc* 2012; 87 (2): 161-71.
260. 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; 7 (5): 379-91.
261. Pfreundschuh M, Kuhnt E, Trümper L, et al. CHOP-like chemotherapy with or without rituximab in young patients with good-prognosis diffuse large B-cell lymphoma: 6-year results of an open-label randomized study of the MabThera International Trial MInT Group. *Lancet Oncol* 2011; 12 (11): 1013-22.
262. Récher C, Coiffier B, Haioun C, et al. Intensified chemotherapy with ACVBP plus rituximab versus standard CHOP plus rituximab for the treatment of diffuse large B-cell lymphoma (LNH03-2B): an open-label randomized phase 3 trial. *Lancet* 2011; 378 (9806): 1858-67.
263. Reyes F, Lepage E, Ganem F, et al. ACVBP versus CHOP plus radiotherapy for localized aggressive lymphoma. *N Engl J Med* 2005; 352 (12): 1197-205.
264. 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 (4): 235-42.
265. Cunningham D, Hawkes EA, Jack A, et al. 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* 2013; 381 (9880): 1817-26.

8. Literatura

266. Delarue R, Tilly H, Mounier N, et al. Dose-dense rituximab-CHOP compared with standard rituximab-CHOP in elderly patients with diffuse large B-cell lymphoma (the LNH03–6B GELA study): a randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2013; 14 (6): 525-33.
267. 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 randomized controlled trial (RICOVER-60). *Lancet Oncol* 2008; 9 (2): 105-16.
268. Bonnet C, Fillet G, Mounier N, et al. CHOP alone compared with CHOP plus radiotherapy for localized aggressive lymphoma in elderly patients: a study by the Groupe d'Etude des Lymphomes de l'Adulte. *J Clin Oncol* 2007; 25 (7): 787-92.
269. Peyrade F, Jardin F, Thieblemont C, et al. Attenuated immunochemotherapy regimen R-miniCHOP in elderly patients older than 80 years with diffuse large B-cell lymphoma: a multicentre, single-arm, phase 2 trial. *Lancet Oncol* 2011; 12 (5): 460-8.
270. Kridel R, Dietrich PY. Prevention of CNS relapse in diffuse large B-cell lymphoma. *Lancet Oncol* 2011; 12 (13): 1258–66.
271. Barosi G, Carela A, Lazzarino M, et al. Management of nodal diffuse large B-cell lymphomas: practice guidelines from the Italian Society of Hematology, the Italiana Society of Experimental Hematology and the Italian Group for Bone Marrow Transplantation. *Haematologica* 2006; 91 (1): 96-103.
272. Tilly H, Lepage E, Coiffier B, et al. Intensive conventional chemotherapy (ACVBP regimen) compared with standard CHOP for poor-prognosis aggressive nonHodgkin lymphoma. *Blood* 2003; 102 (13): 4284–9.
273. Abramson JS, Hellmann M, Barnes JA, et al. Intravenous methotrexate as central nervous system (CNS) prophylaxis is associated with a low risk of CNS recurrence in high-risk patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Cancer* 2010; 116 (18): 4283–90.
274. Savage KJ, Al-Rajhi N, Voss N, et al. Favourable outcome of primary mediastinal large B-cell lymphoma in a single institution: the British Columbia experience. *Ann Oncol* 2006; 17 (1): 123-30.

8. Literatura

275. Dunleavy K, Pittaluga S, Maeda LS, et al. Dose-adjusted EPOCH-rituximab therapy in primary mediastinal B-cell lymphoma. *N Engl J Med* 2013; 368 (15): 1408-16.
276. Zucca E, Conconi A, Mughal TI, et al. Patterns of outcome and prognostic factors in primary large-cell lymphoma of the testis in a survey by the International Extranodal Lymphoma Study Group. *J Clin Oncol* 2003; 21 (1): 20-7.
277. Vitolo U, Chiappella A, Ferreri AJ, et al. First-line treatment of primary testicular diffuse large B-cell lymphoma with rituximab-CHOP, CNS Prophylaxis, and contralateral testis irradiation: final results of an international phase II trial. *J Clin Oncol* 2011; 29 (20): 2766-72.
278. Mondello P, Mian M, Arrigo C, et al. Primary diffuse large B-cell lymphoma of the bone: bendamustin and rituximab are able to overcome resistant disease. *Springerplus* 2014; 3: 342.
279. Green TM, Young KH, Visco C, et al. Immunohistochemical double-hit score is a strong predictor of outcome in patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with rituximab plus cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone. *J Clin Oncol* 2012; 30 (28): 3460-7.
280. Yan LX, Liu YH, Luo DL, et al. MYC expression in concert with BCL2 and BCL6 expression predicts outcome in Chinese patients with diffuse large B-cell lymphoma, not otherwise specified. *PloS One* 2014; 9 (8):e104068.
281. Cheason BD, Pfishner B, Juweid ME, et al. Revised response criteria for malignant lymphoma. *J Clin Oncol* 2007; 25 (5): 579-86.
282. Armitage JO, Loberiza FR. Is there a place for routine imaging for patients in complete remission from aggressive lymphoma? *Ann Oncol* 2006; 17 (6): 883-4.
283. Friedberg JW. Relapsed/refractory diffuse large B-cell lymphoma. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2011; 2011: 498-505.
284. Gisselbrecht C, Glass B, Mounier N, et al. Salvage regimens with autologous transplantation for relapsed large B-cell lymphoma in the rituximab era. *J Clin Oncol* 2010; 28 (27): 4184-90.

8. Literatura

285. Horwitz SM, Negrin RS, Blume KG, et al. Rituximab as adjuvant to high-dose therapy and autologous hematopoietic cell transplantation for aggressive non-Hodgkin lymphoma. *Blood* 2004; 103 (3): 777-83.
286. Kewalramani T, Zelenetz AD, Nimer SD, et al. Rituximab and ICE as second-line therapy before autologous stem cell transplantation for relapsed or primary refractory diffuse large B-cell lymphoma. *Blood* 2004; 103 (10): 3684-8.
287. Thieblemont C, Briere J, Mounier N, et al. The germinal/activated B-cell subclassification has a prognostic impact for response to salvage therapy in relapsed/refractory diffuse large B-cell lymphoma: a Bio-CORAL study. *J Clin Oncol* 2011; 29 (31): 4079-87.
288. El Gnaoui T, Dupuis J, Belhadj K, et al. Rituximab, gemcitabine and oxaliplatin: an effective salvage regimen for patients with relapsed or refractory B-cell lymphoma not candidates for high-dose therapy. *Ann Oncol* 2007; 18 (8): 1363-8.
289. Mukherji D, Pettengell R. Pixantrone for the treatment of aggressive non-Hodgkin lymphoma. *Expert Opin Pharmacother* 2010; 11 (11): 1915-23.
290. Ridriguez MA, Pytlik R, Kozak T, et al. Vincristine sulfate liposomes injection (Marquibo) in heavily pretreated patients with refractory aggressive non-Hodgkin lymphoma: report of the pivotal phase 2 study. *Cancer* 2009; 115 (15): 3475-82.
291. Cunningham D, Hawkes EA, Jack A, et al. 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* 2013; 381 (9880): 1817-26.
292. Yang XY, Zhai YP, Liu HN, et al. Long-term follow-up for 39 newly diagnosed diffused large B-cell lymphoma patients treated by (R)-EPOCH. *Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi* 2014; 22 (2): 333-8.
293. Younes A, Thieblemont C, Morschhauser F, et al. Combination of ibrutinib with rituximab, cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone (R-CHOP) for treatment-naïve patients with CD20-positive B-cell non-Hodgkin lymphoma: a non-randomised, phase 1b study. *Lancet Oncol* 2014; 15 (9): 1019-26.
294. Vitolo U, Chiappella A, Franceschetti S, et al. Lenalidomide plus R-CHOP21 in elderly patients with untreated diffuse large B-cell lymphoma: results of the REAL07 open-label, multicentre, phase 2 trial. *Lancet Oncol* 2014; 15 (7): 730-7.

8. Literatura

295. Nowakowski GS, La Plant B, Macon WR, et al. Lenalidomide combined with R-CHOP overcomes negative prognostic impact of non-germinal center B-cell phenotype in newly diagnosed diffuse large B-cell lymphoma: a phase II study. *J Clin Oncol* 2015; 33 (3): 251-7.
296. Stopeck AT, Unger JM, Rimsza LM, et al. A phase 2 trial standard-dose cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, prednisone CHOP and rituximab plus bevacizumab for patients with newly diagnosed diffuse large B-cell non-Hodgkin lymphoma: SWOG 0515. *Blood* 2012; 120 (6): 1210-7.
297. Micallef IN, Maurer MJ, Wiseman GA, et al. Epratuzumab with rituximab, cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone chemotherapy in patients with previously untreated diffuse large B-cell lymphoma. *Blood* 2011; 118 (15): 4053-61.
298. Dupire S, Coiffier B. Targeted treatment and new agents in diffuse large B-cell lymphoma. *Int J Hematol* 2010; 92 (1):12-24.
299. Fayad L, Offner F, Smith MR, et al. Safety and clinical activity of a combination therapy comprising two antibody-based targeting agents for the treatment of non-Hodgkin lymphoma: results of a phase I/II study evaluating the immunoconjugate inotuzumab ozogamicin with rituximab. *J Clin Oncol* 2013; 31 (5): 573-83.
300. Friedberg JW, Sharman J, Sweetenham J, et al. Inhibition of DYK with fostamatinib disodium has significant clinical activity in non-Hodgkin lymphoma and chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2010; 115 (13): 2578-85.
301. Habermann TM. New developments in the management of diffuse large B-cell lymphoma. *Hematology* 2012; 17 suppl 1:S93-7.
302. Mahadevan D, Fisher RI. Novel therapeutics for aggressive non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol* 2011; 29 (14): 1876-84.
303. Martelli M, Ferreri AJ, Agostinelli C, et al. Diffuse large B-cell lymphoma. *Crit Rev Oncol/Hematol* 2013; 87 (2): 146-71.
304. Murawski N, Pfreundschuh M. New drugs for aggressive B-cell and T-cell lymphomas. *Lancet Oncol* 2010; 11 (11): 1074-85.
305. Ohmachi K, Niitsu N, Uchida T, et al. Multicenter phase II study of bendamustine plus rituximab in patients with relapsed or refractory diffuse large B-cell lymphoma. *J Clin Oncol* 2013; 31 (17): 2103-9.

8. Literatura

306. Seymour JF, Pfreundschuh M, Trneny M, et al. R-CHOP with or without bevacizumab in patients with previously untreated diffuse large B-cell lymphoma: final MAIN study outcome. *Haematologica* 2014; 99 (8): 1343-9.
307. Wang M, Fowler N, Wagner-Bartak N, et al. Oral lenalidomide with rituximab in relapsed or refractory diffuse large cell, follicular and transformed lymphoma: a phase II clinical trial. *Leukemia* 2013; 27 (9): 1902-9.
308. Wilson WH, Hernandez-LLizaliturri FJ, Dunleavy K, et al. Novel disease targets and management approaches for diffuse large B-cell lymphoma. *Leuk Lymphoma* 2010; 51 supp 1: 1-10.
309. Wiernik PH, Lossos IS, Tuscano JM, et al. Lenalidomide monotherapy in relapsed or refractory aggressive non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol* 2008; 26 (30): 4952-7.
310. Zinzani PL, Pellegrini C, Merla E, et al. Bortezomib as salvage treatment for heavily pretreated relapsed lymphoma patients: a multicenter retrospective study. *Hematol Oncol* 2013; 31 (4): 179-82.
311. Office for National Statistics. Cancer statistics registrations: registrations of cancer diagnosed in 2007, England. Series MB1 no.38. Surrey, UK: Office of Public Sector Information, 2010.
312. Cancer Research UK. Non-Hodgkin lymphoma (NHL) statistics—key facts. <http://info.cancerresearchuk.org/cancerstats/keyfacts/non-hodgkin-lymphoma/>
313. Jemal A, Siegel R, Xu J, Ward E. Cancer statistics, 2010. *CA Cancer J Clin* 2010; 60 (5):277–300.
314. Gratzinger D, Advani R, Zhao S, et al. Lymphoma cell VEGFR2 expression detected by immunohistochemistry predicts poor overall survival in diffuse large B cell lymphoma treated with immunochemotherapy (R-CHOP). *Br J Haematol* 2010; 148 (2): 235–44.
315. B. Mihaljevic, D. Antic, B. Andjelic, et al. Characteristics of 917 Non-Hodgkin's lymphoma patients in Serbia according to the WHO classification of lymphoid neoplasms-LIRA national register-based study *Ann Oncol* 2011; 22 Supp 4: iv204.
316. Dunleavy K, Wilson WH. Primary mediastinal B-cell lymphoma and mediastinal gray zone lymphoma: do they require a unique therapeutic approach? *Blood* 2015; 125 (1): 33-9.
317. Friedberg J, Mauch P, Rimsza L, Fisher R Section 2: Non-Hodgkin Lymphomas from DeVita et al *Cancer, principles and practice of Oncology* LWW 2008

8. Literatura

318. Pfreundschuh M, Ho DA, Stahl CA, et al. Prognostic significance of maximum tumor (bulk) diameter in young patient with good-prognosis diffuse large-B-cell lymphoma treated with CHOP-like chemotherapy with or without rituximab: an exploratory analysis of the MabThera International Trial Group (MInT) study. *Lancet Oncol* 2008; 9 (5): 435-44.
319. Lossos IS, Morgensztern D. Prognostic biomarkers in diffuse large B-cell lymphoma. *J Clin Oncol* 2006; 24 (6): 995-1007.
320. Sehn LH. Optimal use of prognostic factors in non-Hodgkin lymphoma. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2006: 295-302.
321. Li S, Seegmiller AC, Lin P, et al. B-cell lymphomas with concurrent MYC and BCL2 abnormalities other than translocations behave similarly to MYC/BCL2 double-hit lymphomas. *Mod Pathol* 2015; 28 (2): 208-17.
322. Thunberg U, Amini RM, Linderöth J, et al. BCL2 expression in de novo diffuse large B-cell lymphoma partly reflects normal differences in age distribution. *Br J Haematol* 2009; 146 (6): 683-4.
323. Shen Y, Iqbal J, Huang JZ, et al. BCL2 protein expression parallels its mRNA level in normal and malignant B cells. *Blood* 2004; 104 (9): 2936-9.
324. Shiozawa E, Yamochi-Onizuka T, Takimoto M, Ota H. The GCB subtype of diffuse large B-cell lymphoma is less frequent in Asian countries. *Leuk Res* 2007; 31 (11): 1579–83.
325. Yamauchi A, Fujita S, Ikeda J, et al. Diffuse large B-cell lymphoma in the young in Japan: a study by the Osaka Lymphoma Study Group. *Am J Hematol* 2007; 82 (10): 893–7.
326. Alacacioglu I, Ozcan MA, Ozkal S, et al. Prognostic significance of immunohistochemical classification of diffuse large B-cell lymphoma. *Hematology* 2009; 14 (2): 84–9.
327. Fu K, Weisenburger DD, Choi WW, et al. Addition of rituximab to standard chemotherapy improves the survival of both the germinal center B-cell-like and non-germinal center B-cell-like subtypes of diffuse large B-cell lymphoma. *J Clin Oncol* 2008; 26 (28): 4587–94.
328. Saad AA, Awed NM, Abdel-Hafeez ZM, et al. Prognostic value of immunohistochemical classification of diffuse large B-cell lymphoma into germinal center B-cell and non-germinal center B-cell subtypes. *Saudi Med J* 2010; 31 (2): 135–41.
329. Castillo JJ, Beltran BE, Song MK, et al. The Hans algorithm is not prognostic in patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with R-CHOP. *Leuk Res* 2012; 36 (4): 413-7.

8. Literatura

330. Popović L. Ekspresija molekulskih markera kao faktor prognoze lečenja difuznog B-krupnoćelijskog limfoma imunohemioterapijom [dissertation]. Medicinski fakultet: Univerzitet u Novom Sadu; 2013.
331. Rosenwald A, Wright G, Chan WC, et al. The use of molecular profiling to predict survival after chemotherapy for diffuse large-B-cell lymphoma. *N Engl J Med* 2002; 346 (25): 1937–47.
332. Falini B, Fizzotti M, Pucciarini A, et al. A monoclonal antibody (MUM1p) detects expression of the MUM1/IRF4 protein in a subset of germinal center B-cells, plasma cells, and activated T cells. *Blood* 2000; 95 (6): 2084-92.
333. Anderson JJ, Fordham S, Overman L, et al. Immunophenotyping of diffuse large B-cell lymphoma DLBCL defines multiple sub-groups of germinal centre-like tumors displaying different survival characteristics. *Int J Oncol* 2009; 35 (5): 961-7.
334. Feugier P, Van Hoof A, Sebban C, et al. Long-term results of the R-CHOP study in the treatment of elderly patients with diffuse large B-cell lymphoma: a study by the Groupe d'Etude des Lymphomes de l'Adulte. *J Clin Oncol* 2005; 23 (18): 117-26.
335. Cunningham D, Smith P, Mouncey P, et al. R-CHOP14 versus R-CHOP21: Result of a randomized phase III trial for the treatment of patients with newly diagnosed diffuse large B-cell non-Hodgkin lymphoma. *J Clin Oncol* 2011; 29: Abstract #8000.
336. Thieblemont C, Gisselbrecht C. Second-line treatment paradigms for diffuse large B-cell lymphomas. *Curr Oncol Rep* 2009; 11 (5): 386-93.
337. Armitage JO. My treatment approach to patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Mayo Clin Proc* 2012; 87 (2): 161-71.
338. de Jong D, Rosenwald A, Chhanabhai M, et al. Immunohistochemical prognostic markers in diffuse large B-cell lymphoma: validation of tissue microarray as a prerequisite for broad clinical applications-a study from the Lunenburg lymphoma biomarker consortium. *J Clin Oncol* 2007; 25 (7): 805-12.
339. Colomo L, Lopez-Guillermo A, Perales M, et al. Clinical impact of the differentiation profile assessed by immunophenotyping in patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Blood* 2003; 101 (1): 78-84.

8. Literatura

340. Fabiani B, Delmer A, Lepage E, et al. CD10 expression in diffuse large B-cell lymphomas does not influence survival. *Virchows Arch* 2004; 445 (6): 545-51.
341. Uherova P, Ross CW, Schnitzer B, et al. The clinical significance of CD10 antigen expression in diffuse large B-cell lymphoma. *Am J Clin Pathol* 2001; 115 (4): 582-8.
342. Berglund M, Thunberg U, Amini RM, et al. Evaluation of immunophenotype in diffuse large B-cell lymphoma and its impact on prognosis. *Modern Pathol* 2005; 18 (8): 1113-20.
343. Amen F, Horncastle D, Elderfield K, et al. Absence of cyclin-D2 and Bcl-2 expression within the germinal centre type of diffuse large B-cell lymphoma identifies a very good prognostic subgroup of patients. *Histopathology* 2007; 51 (1): 70-9.
344. Liu YH, Xu FP, Zhuang HG, et al. Clinicopathologic significance of immunophenotypic profiles related to germinal center and activation B-cell differentiation in diffuse large B-cell lymphoma from Chinese patients. *Hum Pathol* 2008; 39 (6): 875-84.
345. Kojima Y, Tsurumi H, Goto N, et al. Fas and Fas ligand expression on germinal center type-diffuse large B-cell lymphoma is associated with the clinical outcome. *Eur J Haematol* 2006; 76 (6): 465-72.
346. Berglund M, Thunberg U, Amini RM, et al. Evaluation of immunophenotype in diffuse large B-cell lymphoma and its impact on prognosis. *Mod Pathol* 2005; 18 (8): 1113-20.
347. Huang Y, Ye S, Cao Y, et al. Outcome of R-CHOP or CHOP regimen for germinal center and non-germinal center subtypes of diffuse large B-cell lymphoma of Chinese patients. *The Scientific World Journal* 2012; <http://dx.doi.org/10.1100/2012/897178>
348. Gutierrez-Garcia G, Cardesa-Salzmann T, Climent F, et al. Gene-expression profiling and not immunophenotypic algorithms predicts prognosis in patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with immunochemotherapy. *Blood* 2011; 117 (18): 4836-43.
349. Lu XT, Gong XQ, Wang L, et al. Immunohistochemical algorithm alone is not enough for predicting the outcome of patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with R-CHOP. *Int J Clin Exp Pathol* 2015; 8 (1): 275-86.
350. Read JA, Koff JL, Nastoupil LJ, et al. Evaluating cell-of-origin subtype methods for predicting diffuse large B-cell lymphoma survival: a meta-analysis of gene expression profiling and immunohistochemistry algorithms. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk* 2014; 14 (6): 460-7.

8. Literatura

351. Ferraris AM, Giuntini P, Gaetani GF. Serum lactic dehydrogenase as a prognostic tool for non-Hodgkin lymphomas. *Blood* 1979; 54 (4): 928–32.
352. Park JH, Yoon DH, Kim DY, et al. The highest prognostic impact of LDH among International Prognostic Indices (IPIs): an explorative study of five IPI factors among patients with DLBCL in the era of rituximab. *Ann Hematol* 2014; 93 (10): 1755-64.
353. Tomita N, Kodama F, Sakai R, et al. Predictive factors for central nervous system involvement in non-Hodgkin's lymphoma: significance of very high serum LDH concentrations. *Leuk Lymphoma* 2000; 38 (3-4): 335–43.
354. Coiffier B, Lepage E. Prognostic factors in large-cell lymphomas. *Leuk Lymphoma* 1993; Suppl 10: 57-60.
355. Marcheselli L, Bari A, Pozzi S, et al. Prognostic role of serum albumin level in DLBCL before and during the Rituximab era. Retrospective GISL study over 738 cases. *Blood* 2014; 124 (21): 5411.
356. Dalia S, Chavez J, Little B, et al. Serum albumin retains independent prognostic significance in diffuse large B-cell lymphoma in the post-rituximab era. *Ann Hematol* 2014; 93 (8): 1305-12.
357. Kato H, Kinoshita T, Suzuki S, et al. Production and effects of interleukin-6 and other cytokines in patients with non-Hodgkin's lymphoma. *Leuk Lymphoma* 1998; 29 (1-2): 71-9.
358. 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 (9): 1658-67.
359. Xe ZY, Cao YB, Lin TY, Lin HL. Subgrouping and outcome prediction of diffuse large B-cell lymphoma by immunohistochemistry. *Zhonghua Bing Li Xue Za Zhi* 2007; 36 (10): 654-9.
360. Rahimi H, Jafarian A, Samadi A, et al. Evaluation of BCL6 and MUM1 Expression in Patients with Diffuse Large B cell Lymphoma and their Correlations with Staging and Prognosis in Iran. *Asian Pac J Cancer Prev* 2015; 16 (1): 83-6.
361. Winter JN, Weller EA, Horning SJ, et al. Prognostic significance of Bcl-6 protein expression in DLBCL treated with CHOP or R-CHOP: a prospective correlative study. *Blood* 2006; 107 (11): 4207–13.

8. Literatura

362. Culpin RE, Sieniawski M, Angus B, et al. Prognostic significance of immunohistochemistry-based markers and algorithms in immunochemotherapy-treated diffuse large B cell lymphoma patients. *Histopathology* 2013; 63 (6): 788-801.
363. Riihijarvi S, Taskinen M, Jerkeman M, Leppa S. Male gender is an adverse prognostic factor in B-cell lymphoma patients treated with immunochemotherapy. *Eur J Haematol* 2011; 86 (2): 124-8.
364. Carella AM, de Souza CA, Luminari S, et al. Prognostic role of gender in diffuse large B-cell lymphoma treated with rituximab containing regimens: a Fondazione Italiana Linfomi/Grupo de Estudos em Moléstias Onco-Hematológicas retrospective study. *Leuk Lymphoma* 2013; 54 (1): 53-7.
365. Kos Z, Burns BF, Gomes MM, Sekhon HS. A rare case of anaplastic variant of diffuse large B-cell lymphoma presenting as a lung primary. *Int J Surg Pathol* 2014; 22 (2): 167-71.
366. Asano H, Imai Y, Ota S, et al. CD30-positive anaplastic variant diffuse large B cell lymphoma: a rare case presented with cutaneous involvement. *Int J Hematol* 2010; 92 (3): 550-2.
367. Tabata R, Iwama H, Tabata C, et al. CD5- and CD23- splenic diffuse large B-cell lymphoma with very low CD20 expression. *J Clin Exp Hematop* 2014; 54 (2): 155-61.
368. Garg M, Lee BE, McGarry K, et al. CD20-negative diffuse large B-cell lymphoma presenting with lactic acidosis. *Am J Hematol* 2015; 90 (3): E49-50.
369. Li YJ, Li ZM, Rao HL, et al. CD20-negative de novo diffuse large B-cell lymphoma in HIV-negative patients: a matched case-control analysis in a single institution. *J Transl Med* 2012; 10: 84.
370. Tomita N, Kodama F, Motomura S, et al. Prognostic factors in diffuse large B-cell lymphoma treated by risk-adopted therapy. *Intern Med* 2006; 45 (5): 247-52.
371. Teke UH, Gunduz E, Akay OM, et al. Are the high serum interleukin-6 and vascular endothelial growth factor useful prognostic markers in aggressive Non-Hodgkin lymphoma patients? *Turk J Haematol* 2015; 32 (1): 21-8.
372. Suzuki K, Terui Y, Nishimura N, et al. Prognostic value of C-reactive protein, lactate dehydrogenase and anemia in recurrent or refractory aggressive lymphoma. *Jpn J Clin Oncol* 2013; 43 (1): 37-44.

8. Literatura

373. Hong J, Woo SH, Kim H, et al. Anemia as a useful biomarker in patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with R-CHOP immunochemotherapy. *Cancer Sci* 2014; 105 (12): 1569-75.
374. Li ZM, Huang JJ, Xia Y, et al. High Ki-67 expression in diffuse large B-cell lymphoma patients with non-germinal center subtype indicates limited survival benefit from R-CHOP therapy. *Eur J Haematol* 2012; 88 (6): 510-7.
375. Broyde A, Boycov O, Strenov Y, et al. Role and prognostic significance of the Ki-67 index in non-Hodgkin's lymphoma. *Am J Hematol* 2009; 84 (6): 338-43.
376. Li J, Hu R, Liao AJ, et al. Ki-67 proliferative index in non-Hodgkin's lymphoma and its clinical significance. *Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi* 2011; 19 (4): 935-9.
377. Peruničić M, Jaković L, Bogdanović A, et al. Poor outcome in patients with diffuse large B-cell lymphoma is associated with high percentage of bcl-2 and Ki 67-positive tumor cells. *Vojnosanit Pregl* 2009; 66 (9): 738-43.
378. He X, Chen Z, Fu T, et al. Ki-67 is a valuable prognostic predictor of lymphoma but its utility varies in lymphoma subtypes: evidence from a systemic meta-analysis. *BMC Cancer* 2014; 14: 153.
379. Mian M, Marcheselli L, Rossi A, et al. A diachronic-comparative analysis for the identification of the most powerful prognostic index for localized diffuse large B-cell lymphoma. *Ann Oncol* 2014; 25 (12): 2397-404.
380. Barrans SL, Carter I, Owen RG, et al. Germinal center phenotype and bcl-2 expression combined with the International Prognostic Index improves patient risk stratification in diffuse large B cell lymphoma. *Blood* 2002; 99 (4): 1136-43.
381. Hermine O, Haioun C, Lepage E, et al. Prognostic significance of bcl-2 protein expression in aggressive non-Hodgkin's lymphoma. *Groupe d'Etude des Lymphomes de l'Adulte (GELA)*. *Blood* 1996; 87 (1): 265-72.
382. Kramer MH, Hermans J, Parker J, et al. Clinical significance of Bcl-2 and p53 protein expression in diffuse large B cell lymphoma: a population-based study. *J Clin Oncol* 1996; 14 (7): 2131-8.

8. Literatura

383. Maeshima AM, Taniguchi H, Fukuhara S, et al. Bcl-2, Bcl-6 and the International Prognostic Index are prognostic indicator in patients with diffuse large B-cell lymphoma tretated with rituximab-containing chemotherapy. *Cancer Sci* 2012; 103 (10): 1898-904.
384. Iqbal J, Meyer PN, Smith LM, et al. BCL2 predicts survival in germinal center B-cell-like diffuse large B-cell lymphoma tretated with CHOP-like therapy and rituximab. *Clin Cancer Res* 2011; 17 (24): 7785-95.
385. Veelken H, Vik Dannheim S, Schulte Moenting J, et al. Immunophenotype as a prognostic factor for diffuse large B-cell lymphoma patients undergoing clinical risk-adapted therapy. *Ann Oncol* 2007; 18 (5): 931-9.
386. Mounier N, Briere J, Gisselbrecht C, et al. Rituximab plus CHOP (R-CHOP) overcomes bcl-2--associated resistance to chemotherapy in elderly patients with diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL). *Blood* 2003; 101 (1): 4279-84.
387. Dunleavy K, Wilson HW. The differential role of BCL-2 within molecular subtypes of DLBCL. *Clin Cancer Res* 2011; 17 (24): 7505-7.
388. Zheng LP, Wen YL, Ma Y, et al. Mechanism and clinical significance of anti-apoptotic gene bcl-2 expression in diffuse large B-cell lymphoma. *Zhonghua Bing Li Xue Za Zhi* 2011; 40 (6): 377-81.
389. Jablonska J, Jesionek-Kupnicka D, Potemski P, et al. Comparison of two different immunohistchemical algorithms identifying prognostic subgroups of DLBCL. *Pol J Pathol* 2010; 61 (3): 124-32.
390. Seo S, Yoon HD, Yoo C, et al. 2982 Prognostic significance of Beta-2 microglobulin in patients with diffuse large B cell lymphoma in rituximab era [poster abstract]. *ASH Meeting* 2014. URL: <https://ash.confex.com/ash/2014/webprogram/Paper70272.html>
391. Miyashita K, Tomita N, Taguri M, et al. 3079 Beta-2 microglobulin as a strong prognostic factor in patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with rituximab, cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisolone [poster abstract]. *ASH Meeting* 2014. URL: <https://ash.confex.com/ash/2014/webprogram/Paper70272.html>

Dr Ivan Petković rođen je 30. 12. 1976. god. u Knjaževcu, gde je završio osnovnu školu i gimnaziju. Medicinski fakultet u Nišu upisao je 1995. god., a diplomirao 2003. god. sa srednjom ocenom 9,70 i ocenom 10 na diplomskom ispitu (Onkologija). Upisao je doktorske akademske studije (DAS) 2009. god. Autor je 12 naučnih radova (7 autorskih, od kojih su 3 na Sci listi, a 4 na listi nacionalnih časopisa sa recenzijom), koautor u 5 radova (4 na Sci listi i 1 na listi nacionalnih časopisa sa recenzijom), kao i koautor u 3 apstrakta (2 apstrakta u prestižnom časopisu *Annals of Oncology* na listi M 21). Od novembra 2006. god. stalno je zaposlen na Klinici za onkologiju Kliničkog centra u Nišu. Specijalizaciju iz interne medicine započeo 2009. god., a završio 2013. god., sa odličnom ocenom. Deo specijalističkog staža obavio u Kliničkom centru Srbije na Klinici za hematologiju i Klinici za hematologiju Vojnomedicinske akademije. Aktivno se interesuje za oblasti hematoonkologije (akutne leukemije, limfomi, multipli mijelom). Bavi se i citomorfološkom dijagnostikom. Završio je kurs hematološke citologije na Medicinskom fakultetu u Beogradu. Član je Srpske limfomske grupe, Srpske mijelomske grupe i hematološke sekcije SLD. Živi u Nišu i Knjaževcu, a radi u Nišu. Oženjen je i otac jednog deteta.



Универзитет у Нишу

Прилог 4: Изјаве аутора докторских дисертација

Изјава 1.

ИЗЈАВА О АУТОРСТВУ

Изјављујем да је докторска дисертација, под насловом

Prediktivni značaj biomarkera bcl2, bcl6, CD10 i MUM1

kod difuznih B krupnoćelijskih limfoma

која је одбрањена на Медицинском факултету Универзитета у Нишу:

- резултат сопственог истраживачког рада;
- да ову дисертацију, ни у целини, нити у деловима, нисам пријављивао/ла на другим факултетима, нити универзитетима;
- да нисам повредио/ла ауторска права, нити злоупотребио/ла интелектуалну својину других лица.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци, који су у вези са ауторством и добијањем академског звања доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада, и то у каталогу Библиотеке, Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Нишу, као и у публикацијама Универзитета у Нишу.

У Нишу, _____

Аутор дисертације: Ivan Petković

Потпис аутора дисертације:



Универзитет у Нишу

Изјава 2.

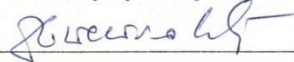
**ИЗЈАВА О ИСТОВЕТНОСТИ ШТАМПАНОГ И ЕЛЕКТРОНСКОГ ОБЛИКА
ДОКТОРСKE ДИСЕРТАЦИЈЕ**

Име и презиме аутора: Ivan Petković
Наслов дисертације: Prediktivni značaj biomarkera bcl2, bcl6, CD10
i MUM1 kod difuznih B krupnoćelijskih limfoma
Ментор: Prof. dr Svetislav Vrbić

Изјављујем да је штампани облик моје докторске дисертације истоветан
електронском облику, који сам предао/ла за уношење у **Дигитални репозиторијум
Универзитета у Нишу**.

У Нишу, _____

Потпис аутора дисертације:



УПУТСТВО ЗА ОБЛИКОВАЊЕ, ОБЈАВЉИВАЊЕ И ДОСТАВЉАЊЕ ДОКТОРСКИХ ДИСЕРТАЦИЈА ЗА ДИГИТАЛНИ
РЕПОЗИТОРИЈУМ УНИВЕРЗИТЕТА У НИШУ.

Стр. 12



Универзитет у Нишу

Изјава 3:

ИЗЈАВА О КОРИШЋЕЊУ

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Никола Тесла“ да, у Дигитални репозиторијум Универзитета у Нишу, унесе моју докторску дисертацију, под насловом:

Prediktivni značaj biomarkera bcl2, bcl6, CD10 i MUM1
kod difuznih B krupoćelijskih limfoma

Дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском облику, погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију, унету у Дигитални репозиторијум Универзитета у Нишу, могу користити сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons), за коју сам се одлучио/ла.

1. Ауторство (CC BY)
2. Ауторство – некомерцијално (CC BY-NC)
3. Ауторство – некомерцијално – без прераде (CC BY-NC-ND)
4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима (CC BY-NC-SA)
5. Ауторство – без прераде (CC BY-ND)
6. Ауторство – делити под истим условима (CC BY-SA)

(Молимо да подвучете само једну од шест понуђених лиценци; опис лиценци дат је у наставку текста).

У Нишу, _____

Аутор дисертације: Ivan Petković

Потпис аутора дисертације:

Ivan Petković