



УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА

Анђелина П. Живановић

**АНАЛИЗА ПОВЕЗАНОСТИ ПОЛИМОРФИЗАМА ГЕНА ЗА
BCL2, *TP53*, *FCGR3A*, *FCGR2A* И *ATG16L1* СА
КЛИНИЧКИМ КАРАКТЕРИСТИКАМА, ТОКОМ И ИСХОДОМ
ЛЕЧЕЊА БОЛЕСНИКА СА ДИФУЗНИМ Б ЛИМФОМОМ
ВЕЛИКИХ ЋЕЛИЈА**

ДОКТОРСКА ДИСЕРТАЦИЈА

Крагујевац, 2023.



UNIVERSITY OF KRAGUJEVAC
FACULTY OF MEDICAL SCIENCES

Andjelina P. Zivanovic

**ANALYSIS OF ASSOCIATION BETWEEN *BCL2*, *TP53*,
FCGR3A, *FCGR2A* AND *ATG16L1* GENE POLYMORPHISMS
AND CLINICAL CHARACTERISTICS, COURSE AND
OUTCOME IN PATIENTS WITH DIFFUSE LARGE B-CELL
LYMPHOMA**

PhD THESIS

Kragujevac, 2023.

Аутор
Име и презиме: Анђелина Живановић
Датум и место рођења: 05.09.1973, Пожаревац, Република Србија
Садашње запослење: Интерно одељење опште болнице Medigroup; Београд; *Клиника за хематологију, Војномедицинска Академија.
Докторска дисертација
Наслов: Анализа повезаности полиморфизама гена за BCL2, TP53, FCGR3A, FCGR2A и ATG16L1 са клиничким карактеристикама, током и исходом лечења болесника са дифузним Б лимфомом великих ћелија
Број страница: 99
Број слика: 3
Број библиографских података: 548
Установа и место где је рад израђен: Војномедицинска Академија у Београду и обухватило је: Институт за медицинска истраживања, Институт за патологију и судску медицину, Централну клиничку лабораторију и Институт за радиологију, док су терапијске процедуре и праћење болесника спроведене у Клиници за хематологију ВМА.
Научна област (УДК): медицина
Коментор: др сци. биол. Бојана Цикота-Алексић, виши научни сарадник на Медицинском факултету ВМА Универзитета одбране у Београду за ужу научну област Биологија (хумана генетика). Коментор: др сци.мед. Светлана Ђукић, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Интерна медицина.
Оцена и одбрана
Датум пријаве теме: 24.10.2018.
Број одлуке и датум прихватања докторске дисертације: IV-03-894/28 од 12.12.2018. године
Комисија за оцену научне заснованости теме и испуњеност услова кандидата: 1. Проф. др Наташа Ђорђевић , ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Фармакологија и токсикологија, председник 2. Проф. др Драгана Стаматовић , редовни професор Медицинског факултета Војномедицинске академије Универзитета одбране у Београду за ужу научну област Интерна медицина, члан 3. Проф. др Небојша Анђелковић , ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Интерна медицина, члан
Комисија за оцену и одбране докторске дисертације: 1. Проф. др Небојша Анђелковић , редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Интерна медицина, председник 2. Проф. др Биљана Љујић , ванредни професор за ужу научну област генетика, Факултет медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, члан 3. Доц. др Данијела Лековић , доцент за ужу научну област интерна медицина, Медицински факултет Универзитета у Београду, члан
Датум одбране дисертације:

Author
Name and surname: Adjelina Zivanovic
Date and place of birth: 05.09.1973, Pozarevac, Serbia
Current employment: Department of internal medicine, General hospital Medigroup, Belgrade; *Clinic of hematology, Military Medical Academy, Belgrade
Doctoral Dissertation
Title: Analysis of association between <i>BCL2</i> , <i>TP53</i> , <i>FCGR3A</i> , <i>FCGR2A</i> and <i>ATG16L1</i> gene polymorphisms and clinical characteristics, course and outcome in patients with diffuse large B-cell lymphoma
No. of pages: 99
No. of images: 3
No. of bibliographic data: 548
Institution and place of work: Military Medical Academy: Institute of medical research, Institute of pathology and forensic medicine, Central clinical laboratory and Institute of radiology; all therapeutic procedures and follow-up were conducted at Clinic of hematology
Scientific area (UDK): medicine
Comentor: Bojana Cikota-Aleksic, PhD, senior research associate, Medical Faculty of the Military Medical Academy, University of Defense in Belgrade (Biology-human genetics) Comentor: Svetlana Djukic, MD, PhD, associate professor, Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac (Internal medicine)
Grade and Dissertation Defense
Topic application date: 24.10.2018.
Decision number and date of acceptance of the doctoral thesis: IV-03-894/28 (12.12.2018.)
Commission for evaluation of the scientific merit of the topic and the eligibility of the candidate: 1. Natasa Djodjevic , MD, PhD, associate professor, Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac (Pharmacology and toxicology), chairman 2. Dragana Stamatovic , MD, PhD, full professor, Medical Faculty of the Military Medical Academy, University of Defense in Belgrade (Internal medicine), member 3. Nebojsa Andjelkovic , MD, PhD, associate professor, Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac (Internal medicine), member
Commission for evaluation and defense of PhD thesis: 1. Nebojša Anđelković , MD, PhD, full professor of the Faculty of Medical Sciences of the University of Kragujevac (Internal Medicine), chairman 2. Biljana Ljujić , MD, PhD, associate professor (Genetics), Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac, member 3. Danijela Leković , MD, PhD, assistant professor (Internal medicine), Faculty of Medicine, University of Belgrade, member
Date of dissertation defense:

ЗАХВАЛНИЦА

Неизмерну захвалност дугујем мом ментору, ВНС Бојани Цикоти-Алексић, са којом сам храбро заповила са пучине мора „егзотичних“ идеја докторског рада и успешно допловиле до обале мора, до реализације докторског рада. Моја драга Бојана, велико хвала за стручну и пријатељску помоћ и техничку подршку.

У тој успешној пловидби по мирном мору али и таласима, неочекивано упознаш пријатеље који својим сугестијама мотивишу да истрајеш. Искрену захвалност дугујем мојој коменторки проф. др Светлани Ђукић, на стручној и пријатељској помоћи. Неизмерно хвала проф. др Александру Ђукићу на колегијалној и моралној подршци.

Ове „научне“ пловидбе не би било, да уз себе нисам имала моје професоре. Прве кораке као млад лекар направила сам у мени драгој установи ВМА и са пуно ентузијазма и емоција корачала хематологијом. Неизмерно хвала, својим учитељима проф др Љиљани Тукић, проф. др Драгани Стаматовић, доц.др Оливери Тарабар и проф. др Слободану Марјановићу на пруженој шанси, стрпљењу, заједничком раду и стручној и моралној подршци.

Велику захвалност дугујем особљу Клинике за хематологију за искрену подршку и сарадњу. Велико хвала мојим колегама са других клиника и института ВМА јер хематолошки болесник захтева мултидисциплинарни приступ у дијагнози и лечењу.

Овог рада не би било, да није било „ главних путника“, мојих болесника или срдачније речено пријатеља којима сам прилазила прво као мајка, пријатељ, сестра, често смо заједно плакали и као лекар успевала да им вратим осмех на лице. Баш као што сенка Месеца додирује сенку хоризонта плаветнила мора или попут кише која љуби Сунце.

Неизмерно хвала мојим најдражим родитељима, Бранки и Петру на вечитој подршци и на топлини родитељског дома у добру и злу.

Огромну захвалност за разумевање и љубав дугујем мојим Звездама водиљама, мојим синовима Страхињи и Лазару, непресушним изворима моје снаге, љубави, мотивације и среће.

*„Ако желите да будете поносни на себе,
чините ствари којима се можете поносити!
Вредност траје, док је трајност илузија.“*

САЖЕТАК

Увод: Нови генетички маркери у DLBCL су значајни за унапређење прогностичко/предиктивних маркера и обезбеђивање нових терапијских приступа. Процењивали смо повезаност *ATG16L1* rs2241880, *TP53* rs1042522, *BCL2* rs2279115, *FCGR2A* rs180274 и *FCGR3A* rs396991 са клиничким карактеристикама, током и исходом DLBCL.

Методе: Студија обухвата 130 болесника са DLBCL који су третирани R-CHOP протоколом (од тога, 44 болесника су подвргнути трансплантацији матичних ћелија а 55 радиотерапији). Генотипизација је изведена помоћу ТаqМан есеја за алелску дискриминацију Real time PCR методом.

Резултати: Генотипови су повезани са клиничким стадијумом (*TP53* CG+CC vs GG $p=0,06$), екстранодалном болешћу [(*ATG16L1* AG vs AA $p=0,07$; AG vs GG $p=0,04$); (*BCL2* CC+CA vs AA, $p=0,02$; CC vs CA+AA, $p=0,17$); *FCGR3A* VV vs FF, $p=0,004$; FF vs FV+VV, $p=0,04$; FF+FV vs VV, $p=0,02$)], прогностичким скоровима (NCCN IPI: HH vs HR+RR, $p = 0,004$; aaIPI: HH vs HR+RR, $p = 0,04$), LMR (*ATG16L1* AA vs AG+GG, $p=0,004$; AA vs GG, $p=0,023$) и NLR (*ATG16L1* AA vs AG+GG, $p=0,05$; AA vs GG, $p=0,004$). Анализирани генотипови нису утицали на одговор на терапију, релапс, компликације повезане са терапијом, OS и PFS. Болесници са *ATG16L1* AA имали су већу стопу преживљавања од носилаца GG генотипа ($p=0,04$). Када су били подвргнути радиотерапији, болесници са *ATG16L1* алелом А ($p=0,05$) или AA генотипом ($p=0,03$) имали су боље OS.

Закључак: Резултати показују повезаност *TP53* rs1042522 са клиничким стадијумом, *ATG16L1* rs2241880 са екстранодалном болешћу, LMR и NLR, *BCL2* rs2279115 и *FCGR3A* rs396991 са екстранодалном болешћу и *FCGR2A* rs180274 са прогностичким скоровима. Утицај генотипова *ATG16L1* на OS код болесника који су подвргнути радиотерапији, указује на значај појединачних SNP-а у појединим подгрупама DLBCL.

Кључне речи: дифузни Б-крупноћелијски лимфом, *ATG16L1*, *TP53*, *BCL2*, *FCGR2A*, *FCGR3A*, полиморфизам гена, клиничке карактеристике, исход/преживљавање

ABSTRACT

Background: Novel genetic markers in DLBCL are important for improving prognostic/predictive markers and providing new therapeutic approaches. We evaluated the association of *ATG16L1* rs2241880, *TP53* rs1042522, *BCL2* rs2279115, *FCGR2A* rs180274 and *FCGR3A* rs396991 with clinical characteristics, and course of DLBCL.

Methods: The study included 130 DLBCL patients treated with the R-CHOP (Of these, 44 patients were subjected to stem cell transplantation and 55 to radiotherapy). Genotyping was performed by TaqMan genotyping assays for Real time PCR.

Results: Genotypes were associated with clinical stage (*TP53* CG+CC vs GG $p = 0.06$), extranodal disease [(*ATG16L1* AG vs AA $p=0.07$; AG vs GG $p = 0.04$); (*BCL2* CC+CA vs AA, $p=0,02$; CC vs CA+AA, $p=0,17$); (*FCGR3A* VV vs FF, $p=0,004$; FF vs FV+VV, $p=0,04$; FF+FV vs VV, $p=0,02$)], prognostic scores (NCCN IPI: *FCGR2A* HH vs HR+RR, $p = 0,004$; aalPI: *FCGR2A* HH vs HR+RR, $p = 0,04$), LMR (*ATG16L1* AA vs AG+GG, $p = 0.052$; AA vs GG, $p = 0.054$) and NLR (*ATG16L1* AA vs AG+GG, $p = 0.033$; AA vs GG, $p = 0.003$). Analyzed genotypes didn't impact response to therapy, relapse, therapy-related complications, OS and RFS. Patients with *ATG16L1* AA had higher survival rate than GG carriers ($p = 0.04$). When subjected to radiotherapy, patients with *ATG16L1* A allele ($p = 0.05$) or AA genotype ($p = 0.03$) had superior OS.

Conclusion: Results demonstrated the association of *TP53* rs1042522 with clinical stage, *ATG16L1* rs2241880 with extranodal disease, LMR and NLR, *BCL2* rs2279115 and *FCGR3A* rs396991 with extranodal disease and *FCGR2A* rs180274 with prognostic scores. The impact of *ATG16L1* genotypes on OS in patients subjected to radiotherapy, indicates significance of individual single nucleotide polymorphisms (SNPs) in particular subgroups of DLBCL.

Keywords: Diffuse large B-cell lymphoma, *ATG16L1*, *TP53*, *BCL2*, *FCGR2A*, *FCGR3A*, gene polymorphism, clinical characteristics, outcome

САДРЖАЈ

	Страна
I УВОД	1
1.1 Епидемиологија дифузног В-крупноћелијског лимфома	5
1.2 Етиологија дифузног В-крупноћелијског лимфома	5
1.3 Патогенеза дифузног В-крупноћелијског лимфома	6
1.4 Улога аутофагије, <i>TP53</i> и <i>BCL2</i> у патогенези дифузног В-крупноћелијског лимфома	8
1.5 Морфолошке особине и ћелијски имунофенотип дифузног В-крупноћелијског лимфома	10
1.6 Клиничке карактеристике дифузног В-крупноћелијског лимфома	11
1.7 Класификација дифузног В-крупноћелијског лимфома	11
1.8 Дијагноза дифузног В-крупноћелијског лимфома	12
1.9 Прогностички параметри	14
1.10 Процена терапијског одговора	16
1.11 Терапија дифузног В-крупноћелијског лимфома	16
1.12 Полиморфизам <i>BCL2</i> , <i>TP53</i> , <i>FCGR3A</i> , <i>FCGR2A</i> и <i>ATG16L1</i> гена	28
II ДЕФИНИЦИЈА ПРОБЛЕМА И ЦИЉ ИСТРАЖИВАЊА	33
2.1 Дефиниција проблема истраживања	33
2.2 Хипотеза	34
2.3 Циљеви истраживања	34
III МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ	35
3.1. Испитаници	35
3.2. Методологија	36
3.2.1 Изолација ДНК	36
3.2.2 Генотипизација	37
3.3. Статистичка обрада података	37
IV РЕЗУЛТАТИ ИСТРАЖИВАЊА	38
4.1. Демографске и клиничке карактеристике болесника са <i>DLBCL</i>	38
4.2. Учесталост <i>rs2241880</i> , <i>rs1042522</i> , <i>rs2279115</i> , <i>rs1801274</i> и <i>rs396991</i> генотипова	39
4.3. Повезаност генотипова са демографским и клиничким карактеристикама	41
4.4. Повезаност генотипова са терапијским одговором и током болести	50
4.5. Повезаност генотипова са преживљавањем и исходом	50
V ДИСКУСИЈА	54
VI ЗАКЉУЧЦИ	65
VII ЛИТЕРАТУРА	66
VIII БИОГРАФИЈА КАНДИДАТА	I
IX БИБЛИОГРАФИЈА КАНДИДАТА	II
X ПРИЛОЗИ	III

I УВОД

Дифузни Б-крупноћелијски лимфом (енгл. Diffuse large B-cell lymphoma-DLBCL) чини око 30-40 % свих неходжинских лимфома и најчешћи је агресивни лимфом код одраслих који. (Swerdlow и сар.,2017; Tilly и сар.,2015). DLBCL је неоплазма која настаје клоналном пролиферацијом крупних Б-ћелија (Dzierzak и сар.,2018; Rothenberg EV,2014; Dong-Yan Tsai и сар.,2019; Mauri С и сар.,2017; Khalsa JK и сар.,2019). Ове лимфоме одликују различите морфолошке, генетичке и имунофенотипске карактеристике. (Sehn и сар.,2015; Chen и сар.,2019; Kumar и сар., 2018).

Узроци настанка DLBCL нису јасно дефинисани (Gandhi,2021; American Cancer Society,2022) и вишефакторни су (Kumar и сар.,2018). Може бити узрокован многобројним факторима као што су абнормалност имуног система, имунодефицијенција или аутоимуност, изложеност одређеним хемикалијама, инфективним агенсима или зрачењу, употреби неких лекова, начин исхране и др.

Према новој класификацијом тумора хематопоетског и лимфног ткива Светске здравствене организације (SZO) из 2022.године, која се заснива на патохистолошким, имунофенотипским и генетичким истраживањима дефинисана је нова подела DLBCL у подгрупе и различити нови клинички ентитети (Swerdlow SH и сар.,2016; Alaggio и сар.,2022; Swerdlow SH и сар.,2017).

Образац експресије гена (проучавање ћелијског порекла) класификује DLBCL у два главна подтипа који имају различиту прогнозу: подтип са имунофенотипом који одговара фенотипу ћелија герминативног центра (енгл. germinal center B-cell-GCB) и подтип са фенотипом активираних Б ћелија (енгл. activated B-cell -ABC). Болесници који имају GCB подтип имају бољу стопу преживљавања у односу на болеснике са ABC подтипом (Susanibar-Adaniya i сар.,2021; Cho и сар.,2018). Болесници са GCB лимфомом могу се излечити R-CHOP (енгл. rituximab- cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine and prednisone) протоколом, док већина болесника са ABC лимфомом релапсира и умире. (Alizadeh и сар.,2000; Gutierrez-Garcia и сар.,2011; Scott и сар.,2015). У процени прогнозе болести поред дефинисања ћелијског порекла у обзир се узимају како клиничке тако и молекуларне карактеристике DLBCL. (Ruppert и сар.,2020).

У циљу боље стратификације болесника, боље терапијске стратегије и дугорочног преживљавања болесника, настали су међународни прогностички индекси (Ruppert и сар.,2020; Zhou и сар.,2014; Freedman и сар.,2022; NCCN Guidelines Version 1.2023). Најистакнутији клинички и лабораторијски параметри који предвиђају преживљавање без прогресије болести (енгл. progression-free survival- PFS) и укупно преживљавање (енгл. overall survival- OS) укључени су у скор међународног прогностичког индекса (енгл. International Prognostic Index- IPI). За бољу стратификацију ризика у ери лечења ритуксимабом, развијени су ревидирани IPI (енгл. Revised International Prognostic Index- R-IPI), NCCN-IPI (енгл. National Comprehensive Cancer Network (NCCN-IPI) и IPI прилагођен узрасту (енгл. Age-adjusted International Prognostic Index- aaIPI). Како се унутар исте подгрупе болесника стопа OS значајно разликовала, наметнула се потреба за откривањем нових прогностичка стратегија, а у циљу персонализације терапијског режима. Предложени су потенцијални прогностички биомаркери и то однос лимфоцити/моноцити (енгл. lymphocyte/monocyte ratio-LMR), однос неутрофили/лимфоцити (енгл. neutrophil/lymphocyte ratio-NLR) и однос тромбоцити/лимфоцити (енгл. platelet/lymphocyte ratio-PLR) који одражавају међусобну повезаност између имунолошког одговора домаћина и микроокружења тумора што може указати на способност антитуморске и протуморске активности ћелија болесника. Бројне студије су показале да висока вредност NLR корелира са краћим OS (Mu и сар.,

2018; Nakaya и сар.,2018; Wang и сар., 2017; Annibali и сар., 2019), док је снижен LMR повезан са лошом прогнозом. (Kavya и сар.,2022; Li и сар.,2014; Watanabe и сар.,2014; Yamazaki и сар., 2014; Feiqiong и сар.,2021; Xia и сар.,2016). Један део студија је доказао да висок PLR корелира са краћим OS (Chen и сар., 2019; Zhao и сар., 2018; Wang и сар.,2021; Lin и сар.,2019), док неке студије нису показале прогностичку вредност PLR (Melchardt и сар.,2015; Periša и сар.,2016; Нао и сар.,2017). Наведени потенцијални прогностички биомаркери могу помоћи у стратификацији болесника пре одлуке о терапији.

Клиничке манифестације код оболелих од DLBCL зависе од локализације болести. Најчешће се манифестује безболним увећањем лимфних чворова предела врата, пазуха или препона. Може захватити и лимфне чворове Waldeyer-овог прстена, медијастинума, ретроперитонеума, мезентеријума, Payer-ове плоче и регије мале карлице (Freedman и сар.,2022; Tilly и сар., 2015). Екстранодална локализација се јавља у 40% болесника и презентује се захватањем костне сржи, тонзила, гастроинтестиналног тракта, централног нервног система, плућа, дојки, тестиса, коже и других органа.

Евалуација одговора на примењену имунохемотерапију је стандардизована у Lugano класификацији (NCCN Guidelines Version 1.2023) која укључује позитронску емисиону томографију (енгл. positron emission tomography - PET) у постојеће критеријуме одговора (Cheson и сар.,2007; Cheson и сар.,2014). Процентом одговора коришћењем PET/CT (енгл. positron emission tomography /computerized tomography) може ефикасно да се предвиди прогноза DLBCL (Van Heertum и сар.,2017; Kwai и сар.,2022). Уколико се што раније открије субоптимални одговор, терапија може бити раније промењена што резултује већом могућношћу излечења и нижом токсичношћу терапије. Посебно би оболели са неадекватним одговором који је верификован PET/CT-ом требало да буду фокус будућих истраживања (Eertink и сар.,2021; Kostakoglu и сар.,2021). Лечење болесника са DLBCL је значајно унапређено применом ритуксимаба (моноклонско анти-CD20 антитело) и хемотерапије по CHOP протоколу. Међутим, овим протоколом се дуготрајно преживљавање без болести и могуће излечење остварује у око 90% болесника са раним стадијумом и код око 60% болесника са унапредовалим стадијумом DLBCL. Након прве терапијске линије, код 45%-50% болесника болест се поново јавља или испољава резистентност на стандардну имунохемотерапију (R-CHOP), што је генерално повезано са лошом прогнозом и смртним исходом (Susanibar-Adaniya и сар.,2021; Kumar и сар.,2018). На одлуку о избору терапијског модалитета утиче процена агресивности болести која се врши на основу клиничких карактеристика, стања оболелог и биологије тумора. До сада дефинисани параметри прогнозе болести у потпуности не корелирају са преживљавањем оболелих од DLBCL. Ови резултати намећу потребу за развојем нових протокола и стратегија лечења (Wang и сар.,2020; Susanibar-Adaniya и сар.,2021). Улога зрачне терапије у ери имунотерапије се још увек испитује (Waldstein, 2022). Прецизно дефинисање улоге консолидационе зрачне терапије у DLBCL зависи од усавршавања параметара процене терапијског одговора применом PET/CT-а и коришћења нових радиотерапијских технологија. Што се тиче технолошког напретка, све више се говори о протонској терапији, нарочито код захваћености медијастинума (Dabaja и сар., 2018). Деескалација дозе зрачне терапије има за циљ смањење могућих акутних и дугорочних нежељених ефеката али без угрожавања исхода лечења. Рандомизована студија фазе 2 је процењивала ефикасност примењене дозе од 20 Gy уместо 30 Gy и уочена је стабилна контрола болести применом ниже дозе. (Kelsey и сар., 2019).

Разлике у клиничком испољавању, постизању терапијског одговора и дужини OS код оболелих од DLBCL су последица патофизиолошке хетерогености овог лимфома.

(Sehn и сар.,2015; Mauri и сар.,2017). Управо због комплексне биологије тумора, постоји потреба за новим генетичким маркерима који ће проширити разумевање DLBCL, побољшати прогностичке/предиктивне скорове и обезбедити нове терапијске циљеве (Wang и сар.,2020). Испитивања профила експресије гена су значајно унапредила разумевање комплексне биологије овог лимфома (Falduto и сар.,2017 ;Robert и сар.,2014). Такође, боље познавање варијабилности гена DLBCL као и гена који кодирају имунорегулаторне молекуле ће даље допринети унапређењу лечења, односно развоју персонализоване терапије.

Савремена истраживања су усмерена на изучавање везе аутофагије и канцерогенезе, указујући да овај процес може супримирати настанак и развој тумора, али и супротно, може промовисати његов раст (Yang и сар., 2020). Указује се на могућу корист од расветљавања механизма аутофагије због стратегије лечења, посебно код релапсирајуће или рефракторне болести (Djavaheri-Mergny и сар.,2019; Mulcahy Levy и сар.,2020;Lim и сар.,2021; Martins и сар.,2021). Аутофагија је један од најпроучаванијих ћелијских процеса који омогућава деградацију и елиминацију нежељених или нефункционалних интрацелуларних компоненти. Међутим, рециклирање неких рецептора аутофагијом може смањити ефикасност циљне терапије. (Das и сар.,2018; Zhou и сар.,2022). Процес аутофагије се одвија у три фазе: иницијација, сазревање и деградација (García Ruiz и сар.,2022; Mrakovcic и сар.,2018). У регулацији аутофагије учествује неколико гена који су повезани са аутофагијом (енгл. Autophagy related genes-ATG) (Parzych и сар.,2014; Tasdemir и сар.,2008; Nakatogawa,2013; Klionsky и сар.,2014; Grimm и сар.,2016). Једну од кључних улога има протеин аутофагије ATG16L1 који је продукт *ATG16L1* гена. (Lassen и сар.,2014; Abdolkarim и сар.,2019) Полиморфизам једног нуклеотида (енгл. single nucleotide polymorphism-SNP) на позицији 898 [с.898 A>G (p.Thr300Ala); rs2241880] је повезан са дефектном аутофагијом, повећаном секрецијом TNF- α , IL1- β , и појачаним инфламаторним одговором. (Murthy и сар., 2014; Li и сар.,2017). Аутофагија се може модулирати P53 протеином (тумор протеин-TP53) и он игра двоструку улогу у овом процесу. Нуклеарни TP53 индукује аутофагију, док цитоплазматски TP53 делује као његов репресор. (Mrakovcic и сар.,2018; Lacroix и сар.,2020) Механизми аутофагије посредоване TP53 нису у потпуности разјашњени. Сматра се да TP53 доводи до мутације ATG или активације mTOR комплекса (Denisenko и сар.,2018; Uddin и сар.,2020; Rahman и сар.,2021). Обзиром да аутофагија и TP53 представљају мач са две оштрице у развоју и прогресији тумора у зависности од онкогене активности мутанта TP53, врсте тумора, генетичке позадине ћелија и путева сигнализације микросредине тумора (Eriksson и сар.,2017; Gao и сар.,2020), у будућности проучавање регулације аутофагије посредоване TP53 могло би допринети развоју нових терапијских модалитета лечења (Rahman и сар.,2022).

TP53/P53 је један од најчешће изучаваних гена у хуманим малигнитетима и назива се „чувар генома“. TP53 испољава тумор супресорску активност путем транскрипционо-зависног деловања у једру (регулише транскрипцију гена укључених у регулацију ћелијског циклуса, репарацију DNK, апоптозу и метаболизам ћелије) или независно од транскрипције (индукција апоптозе и аутофагије) (Xiu-Monette и сар., 2012; Subburayan и сар.,2018; Mijit и сар.,2020). Бројне студије су известиле да 20%-25% случајева DLBCL носи *TP53* мутације, при чему је учесталост слична између GCB и ABC подтипа и обично корелира са лошом прогнозом (Zenz и сар.,2017). Поред тога, полиморфна природа *TP53* је често била проучавана у контексту повезаности с канцером. Један од најпроучаванијих SNP је rs1042522 [с 0.251C>G(p.Pro72Arg)], који кодира два алела са различитим капацитетима да индукују транскрипцију и модулирају апоптозу (Dahabreh и сар.,2013; Pillai и сар.,2016; Lacroix и сар.,2020; Mijit и сар.,2020). Познато је да *TP53* Pro72 варијанта има већу транскрипциону активност и већу

стабилност него Arg72. Међутим, варијанта Arg72 има већу способност да индукује апоптозу (Liu и сар.,2017). Више студија открива повезаност полиморфизма Arg72Pro и ризика од канцера у зависности од дистрибуције кодона полиморфизма 72 овог полиморфизма различитим популацијама која је показала етничке разлике (Zoric и сар.,2012; Yalu и сар.,2017).

BCL2 ген кодира анти-апоптотички протеин са важном улогом у развоју и диференцијацији Б-ћелија (Adams и сар.,2018; Klanova и сар.,2020; Montero и сар.,2018). Повећана експресија *BCL2* протеина услед транслокације t(14;18) се среће код 20% до 30% свих DLBCL (Tang и сар.,2017; Opferman и сар.,2018). Код болесника који су лечени СНОР или СНОР-сличним режимима, прекомерна експресија *BCL2* се сматра фактором резистенције на лекове и краћег преживљавања (Horn и сар.,2013; Tang и сар.,2017; Miao и сар.,2019). Новија истраживања указују да ритуксимаб има способност модулације сигналних путева у ћелији који регулишу експресију *BCL2*, посебно у *BCL2* позитивних DLBCL (Park и сар.,2009; Wang и сар.,2020). Практично се сугерише да би клинички утицај *BCL2* у пост-ритуксимаб ери требало проценити у контексту молекуларних подтипова и различитих механизма његове прекомерне експресије (Bashash и сар.,2017). Уобичајени механизми повећања нивоа *BCL2* укључују транслокацију (GCB лимфом), активацију НК-КВ сигналног пута или амплификацију гена (ABC лимфом) (Testoni и сар.,2015; Adams и сар.,2019). Поред тога, на експресију *BCL2* може утицати хипометилација промотера, присуство мутација или полиморфизми појединачних нуклеотида (SNP) (Adams и сар.,2019; Ghani и сар.,2021). Полиморфизам SNP rs2279115 (с.-938C>A) у P2 промотору показује утицај на експресију *BCL2*. Алел -938C је повезан са повећаном активношћу P2 промотера, а самим тиме и смањеном транскрипционом активношћу *BCL2* гена и експресијом протеина (Reham и сар.,2022; Zawam и сар.,2021).

Увођење ритуксимаба, моноклонског антиCD20 антитела је била револуционарна стратегија лечења DLBCL што је довело до дугорочније контроле болести. Ритуксимаб је химерно моноклонско IgG1 антитело против CD20 антигена (Dong и сар.,2006). Могући механизми деловања подразумевају цитотоксичност зависну од комплемента, ћелијску цитотоксичност зависну од антитела (енгл. antibody-dependent cellular cytotoxicity-ADCC) и директни проапоптотички ефекат. (Cartron и сар., 2011). Ово антитело састоји се из FАВ домена који се веже за CD20 антиген Б лимфоцита, док се други домен Fс веже за имуно ефекторске ћелије, најчешће макрофаге, НК ћелије, неутрофиле, моноците и дендритичне ћелије. Активирањем FсγR система, најчешће ADCC механизмом, долази до покретања различитих путева сигнализације са антипролиферативним или про-апоптотичким ефектом (Falduto и сар.,2017). Како је ADCC један од главних механизма деловања ритуксимаба, његови ефекти се могу модулисати уколико постоје функционални полиморфизми у генима који кодирају FсγR рецепторе и то *FCGR3A* rs396991 и *FCGR2A* rs180274. (Nagelkerke и сар.,2019; Falduto и сар.,2017). SNP rs180274 резултује хистидином (H) или аргинином (A) на аминокиселинској позицији 166 (p.His166Arg; раније познат као p.His131Arg) кодиран од стране A519C у *FCGR2A*. Алел А кодира варијанту хистидина са високим степеном везивања (H), док алел С кодира изоформу аргинина (R) ниског везивања (Nagelkerke и сар.,2019 ;Falduto и сар.,2017). SNP rs396991 је присуство валина (V) или фенилаланина (F) на аминокиселинској позицији 176 (p.Val176APhe; раније познат као p.Val158APhe) кодиран од стране A559C у *FCGR3A*. Изоформа валина (V) повезана је са високим степеном везивања за разлику од варијанте фенилаланина (F) (Nagelkerke и сар.,2019; Falduto и сар.,2017). Резултати више студија о терапијском утицају полиморфизма *FCGR2A* и *FCGR3A* гена су контрадикторни и нејасни, али у будућности

се могу потенцијално укључити за стратификацију терапијског режима (Nagelkerke и сар.,2019; Hervé и сар.,2017). Такође алели *FCGR2A* и *FCGR3A* могу модулирати инфламаторни одговор посредовањем у активацији патогених механизма повезаних са упалом јер имају различите афинитете за IgG1, IgG2 и IgG3 и ступају у интеракцију са С-реактивним протеином (CRP). Алел R rs1801274 има мањи афинитет за IgG2 и фагоцитоза у полиморфонуклеарима је неефикасна у односу на алел H, што има значајну улогу у имуносупресији (Rosales, 2017). Алел F (VF/FF генотиови) има смањен афинитет за IgG1 и IgG3 који имају протективну улогу од инфекција. Генотип rs1801274 RR има већи афинитет за CRP од генотипа HH што резултује повећавањем проинфламаторног одговора (Bouglé и сар.,2012). Поред могуће улоге у патогенези лимфома, потребно је истражити и утицај на ток и компликације лечења (Hosgood и сар.,2011).

И поред тога што су ефекти полиморфизама *TP53* rs1042522, *BCL2* rs2279115, *ATG16L* rs2241880, *FCGR2A* rs180274 и *FCGR3A* rs396991 на експресију гена добро проучени, њихова повезаност са карактеристикама, клиничким током и исходом лечења DLBCL још увек није довољно истражена. Од посебног значаја би била њихова детекција због примене у развоју нових терапијских протокола.

1.1 ЕПИДЕМИОЛОГИЈА ДИФУЗНОГ Б-КРУПНОЋЕЛИЈСКОГ ЛИМФОМА

DLBC је најчешћи лимфом и чини 30-40% свих нехочкинских лимфома у свету (Swerdlow и сар.,2016; Swerdlow и сар.,2017). Инциденца варира од 4,92 до 7 случајева на 100.000 становника годишње. Инциденца је већа у Сједињеним Америчким државама и у Енглеској него у Европи (Sant и сар.,2010; Shirley и сар., 2013). Такође, инциденца варира у зависности од етничке припадности. Американци беле расе имају већу стопу обољевања од Афроамериканаца и Азијата (Smith и сар., 2011; Laurini и сар., 2012). Овај облик лимфома се чешће јавља код средовечних и старијих људи, нешто чешће код мушкараца (55%) него код жена. Просечна старост оболелих особа у време постављања дијагнозе је 64 године (Tilly и сар., 2015).

1.2 ЕТИОЛОГИЈА ДИФУЗНОГ Б-КРУПНОЋЕЛИЈСКОГ ЛИМФОМА

Узроци настанка DLBCL још увек нису јасно дефинисани (Gandhi,2021; American Cancer Society,2022). Етиологија је вишефакторна и сложена (Kumar и сар.,2018). Обично настаје *de novo* као примарни лимфом а може настати и секундарно као резултат трансформације ниско агресивних нехочкинских лимфома као што су хронична лимфоцитна леукемија, фоликуларни лимфом, лимфом маргиналне зоне или нодуларно лимфоцитни предоминирајући хочкинов лимфом.

Присуство абнормалности имуног система, имунодефицијенције или аутоимуности представљају факторе повећаног ризика за настанак DLBCL. Такође може бити узрокован многобројним факторима као што су: излагање одређеним хемикалијама, инфективни агенси, зрачење, употреба неких лекова, начин исхране. Дакле, стална антигена стимулација има важну улогу у настанку лимфома, посебно код лимфома екстранодадне локализације.

Имунодефицијенција било примарна или секундарна је значајан фактор ризика за развој DLBCL. Може да се развије код неких наследних синдрома, као што је Viskott-Aldrich синдром и атаксија теленгиектазија (Senapati и сар.,2014; Bakhtiar и

сар.,2021; Tomioka и сар.,2015). Посттрансплантациони лимфоми су повезани са имуносупресијом и најчешће су екстранодалне локализације (Abbas и сар.,2020).

Код аутоимуних болести повећан ризик настаје због поремећаја имуног система, саме природе болести или је последица примене имуносупресивне терапије (Kleinstern и сар.,2018). DLBCL се доводи у везу са са реуматоидним артритисом (Klein и сар.,2018; Kedra и сар.,2021), системским еритематозним лупусом (Tessier-Cloutier и сар.,2019), Сјогреновим синдромом (Alunna и сар., 2018; Romanovich Gorodetskiy и сар.,2020; Horvath и сар., 2009), целијакијом и другим аутоимуним болестима (Abbas и сар.,2020; Mörth и сар.,2019; Kuksin и сар.,2015; Kleinstern и сар.,2017).

Употреба одређених лекова у лечењу аутоимуних болести или код трансплантираних особа (нпр. метротрексат, инхибитори фактора туморске некрозе) може повећати ризик од DLBCL (Abbas и сар.,2020), као и изложеност радијацији (Gluzman и сар.,2015). Професионална изложеност фунгицидима, инсектицидима или хербицидима повезана је са повишеним ризиком појаве лимфома (Poh и сар.,2022; Altahan и сар.,2020; Lamure и сар.,2019).

Хроничне инфекције узроковане бактеријама или вирусима резултирају сталном стимулацијом имуног система што може да допринесе развоју лимфома и то код HIV (Noy,2019; Jiazhu Wu и сар.,2021;), HCV (Yu-Fen Tsai и сар.,2021), EBV и HHV8 вирусних инфекција (Murthy и сар.,2017; Castillo и сар.,2018; National Library of Medicine;2022) или код инфекција бактеријама као што су: *Helicobacter pylori*, *Chlamydomphila psittaci*, *Campylobacter jejuni* (Biernatt и сар.,2021).

Генерално DLBCL није наследна болест. Међутим ризик за обољевање се благо повећава уколико је оболео члан породице у првом степену сродства (Goldin и сар.,2005).

Врло битну улогу у превенцији настанка и у прогнози лимфома има начин живота (Rock и сар., 2020; Minoia и сар.,2021). Показано је да конзумирање поврћа и цитруса смањује, а алкохола и црвеног меса у већим количинама (Bagnardi и сар.,2015) повећава ризик од појаве DLBCL (Solimini и сар.,2016; Fallahzadeh и сар.,2014). Такође, повећан ризик за одређене подтипове лимфома је регистрован код особа које конзумирају одређене врсте поврћа и воћа (Sergentanis и сар.,2018; Nan и сар. 2010).

1.3 ПАТОГЕНЕЗА ДИФУЗНОГ Б-КРУПНОЋЕЛИЈСКОГ ЛИМФОМА

Малигна трансформација Б ћелија за време њихове диференцијације у прегерминативним, герминативним или постгерминативним центрима секундарних лимфних органа је значајна за развој DLBCL (Dzierzak E и сар.,2018; Rothenberg EV,2014). Стварање Б ћелија започиње у костној сржи као примарном лимфном органу и завршава у секундарним лимфним органима који обухватају лимфне чворове, слезину, крајнике и лимфно ткиво у гастроинтестиналном и респираторном тракту. Потребне су једна до две недеље да се развије зрела Б ћелија из одређене незреле лимфодне прекурсорске ћелије хематопоезе (Jon C Aster и сар.,2022). Диференцијација Б ћелија се одвија у пет фаза: рана про-Б ћелија, касна про-Б ћелија, пре-Б ћелија, незрела Б ћелија и зрела Б ћелија. Током диференцијације про-Б ћелије у пре-Б ћелију долази до преуређења у локусу тешког ланца имуноглобулина путем соматске рекомбинације VDJ генских сегмената. Након успешног реаранжирања тешког ланца, започиње транскрипција и прозводи се iRNK која кодира стварање тешког ланца који карактерише пре-Б ћелију. Спајањем тешког μ ланца са лаким ланцима се ствара мембрански IgM рецептор који одликује незрелу Б ћелију. У завршној фази се ствара зрела, наивна Б ћелија која испољава површинске IgM и IgD имуноглобулине и која

напушта костну срж. У овој првој фази тј. антиген независној фази сазревања Б ћелија, први ниво могуће погрешне диференцијације је током соматске рекомбинације VDJ гена, када може доћи до прекида DNK. Свој програм сазревања Б ћелије наставља и завршава у секундарним лимфним органима, претежно у лимфним чворовима и у слезини. Стимулацијом лимфоцита антигеном у герминативном центру лимфног чвора настају центробласти који пролиферишу и сазревају у центроците. Да би дошло до диференцијације антигеном активираних Б ћелија у ефекторске плазма ћелије или меморијске Б ћелије, потребно је преуређивање DNK путем два молекуларна процеса (Mauri C и сар.,2017;Kurosaki T и сар.,2015; Khalsa JK и сар.,2019). Један је промена класе тешког ланца (енгл.class switch recombination-CSR) и други се односи на процес соматских хипермутација (SHM). У овим процесима кључну улогу имају ензими цитозин деаминаза (AID) и урацил нуклеозид гликозилаза (UNG) У овој другој фази тј.антиген зависној фази сазревања Б ћелија, поремећаји током рекомбинације (CSR, SHM) доприносе малигној алтерацији и развоју лимфома. (Rodda LB и сар.,2018; Dong-Yan Tsai и сар.,2019).

DLBCL настаје од нормалних Б лимфоцита који су изложени антигенима који су мигрирали у герминативне центре или преко герминативних центара у секундарне лимфоидне органе. Ћелије DLBCL су претрпеле соматске хипермутације гена за тешки ланац имуноглобулина. Код DLBCL се детектују генетичке промене које су повезане са нормалном функцијом ћелија герминативног центра (клонална експанзија, реаранжмани гена за имуноглобулине у процесу који захтева прекиде DNK) а део DLBCL има аберантне соматске хипермутације гена који нису укључени у реаранжмане у нормалним ћелијама герминативног центра. Код једног броја оболелих недостају генетске абнормалности.

У DLBCL се детектују вишеструке комплексне хромозомске и генетске абнормалности које доводе до поремећаја функције гена за контролу ћелијског циклуса, апоптозу, раст ћелије, обнову DNK, деградацију убиквитина Код око половине оболелих од DLBCL се срећу примарне рекурентне хромозомске аберације: $t(8;14)(q24;q32), t(3;14)(q27;q32)$ и $t(14;18)(q32;q21)$. $T(14;18)(q32;q21)/BCL2$ реаранжман се региструје код око 15-20% оболелих. $T(8;14)(q24;q32)/MYC$ се детектује код 7-10% болесника, а налазе се и $17p13/P53, t(3;v)(q27;v)/BCL6$. Секундарне хромозомске аберације обухватају тризомију 3, 5, 7, 11, 12, 18 и X, монозомију хромозома 12, 13, 14 и 15, делеције хромозома $1q,6q,7q32,8p,9p,11q,17p$ и детектују се код преко 10% оболелих (Rao и сар., 1998). Показатељи лоше прогнозе су прекиди у нивоу $1q21-23,6q21-25$, затим делеција $11q22-23$ и $1q23-32$ дупликација, као и комплетне кариотипске аберације. У следећим регионима се најчешће детектују прекиди: $1cen-p13;1q34-36;3q21-22;3q27-29;6q12-16;6q21/25;7q32,9cen-p21;17cen-p12$. Честе су и мутације или алелски губитак $p53$ тумор супресорног гена (Rao и сар.,1998).

У савременој медицини, интезивна истраживања у области молекуларне генетике и имунохистохемије допринела су субкласификацији DLBCL у клинички релевантне групе: тип порекла герминативног центра (GC) и non GC тип или тип активираних Б ћелија (ABC) (Alizadeh и сар.,2000; Rosenwald и сар.,2002). Истраживања показују да подела DLBCL на групу тумора који имају профил В ћелија порекла герминативног центра (GCB) и на групу тумора који имају профил активираних В ћелија (ABC односно "non GCB") има клинички значај, односно да болесници из GCB групе имају значајно боље преживљавање и прогнозу независно од IPI скорa (Noman и сар.,2007; Nabara и сар.,2012). С обзиром да овакве анализе нису лако применљиве у свакодневној пракси зато што зависе од доступности софистицираних лабораторијских метода, Hans и сарадници су предложили алгоритам (енгл. „Hans Classifier”), који је базиран на имунохистохемијској експресији следећих

маркера: CD10, bcl-6 и MUM-1/IRF4 (Hans и сар., 2004). Комбинована анализа експресије ових антитела у складу са предложеним алгоритмом може бити адекватна замена за генетички потпис прогностички различитих типова (Swerdlow и сар.,2008).

1.4 УЛОГА АУТОФАГИЈЕ, TP53 И BCL2 У ПАТОГЕНЕЗИ ДИФУЗНОГ Б-КРУПНОЋЕЛИЈСКОГ ЛИМФОМА

Молекуларна патогенеза DLBCL је сложен процес који обухвата више механизма малигне трансформације путем којих долази до настанка и експанзије малигног клона герминативних или постгерминативних Б ћелија. Значајне су абнормалности *BCL6* гена, *BCL2* гена, *MYC* гена, *TP53* гена уз улогу цитокина и вируса у настанку лимфома

Аутофагија, као ћелијски процес који омогућава деградацију и елиминацију нежељених или нефункционалних интрацелуларних компоненти се све више испитује у контексту патогенезе многих обољења, укључујући и лимфопрлиферативне неоплазме (Das и сар.,2018; Zhou и сар.,2022). Постоје три типа аутофагије: микроаутофагија, аутофагија посредована шапероном и макроаутофагија (у даљем тексту аутофагија) (Parzych и сар., 2014). Микроаутофагија подразумева да се нефункционална интрацелуларна компонента директно захвати инвагинацијом лизозома, док аутофагија посредована шапероном користи шаперон и лизозомални трансмембрански протеин за директни пренос у лумен лизозома. Макроаутофагија је специјализовани везикуларни транспорт интрацелуларне компоненте до лизозома где се разграђује (Yu et al.,2018).

Због повезаности са другим ћелијским процесима као што су апоптоза, и метаболичко репрограмирање, аутофагија може имати двоструку улогу у канцерогенези (Chavez-Dominguez и сар.,2020; Riffelmacher и сар.,2017; Yang и сар., 2020). У раној фази развоја тумора аутофагија испољава антитуморски (Panda и сар.,2015; Li и сар.,2012), док у унапредовалој фази може имати протуморски ефекат (Goldsmith и сар.,2014; Dong и сар.,2016).

Процес аутофагије се одвија у три фазе: иницијација, сазревање и деградација (García Ruiz и сар.,2022; Mраковсић и сар.,2018). Током иницијације се ствара фагофор. У фази сазревања као резултат нуклеације и елонгације долази до спајања крајева фагофора и формирања двомембранске везикуле - аутофагозома који се спаја са ендозомима и настаје амфизом. У последњој фази спајањем амфизома и лизозима настаје аутофаголизозом који се разграђује и ослобађа се интравезикуларни садржај у цитоплазму који се користи за стварање енергије и покретање различитих биолошких процеса. У контроли аутофагије учествују специфични протеини аутофагије (ATG) (Parzych и сар.,2014; Tasdemir и сар.,2008; Nakatogawa,2013; Klionsky и сар.,2014; Grimm и сар.,2016). Постоји више од 30 специфичних протеина аутофагије.

Систем коњугације ATG12-ATG5-ATG16L1 и LC3 протеина значајан је за стварање аутофагозома. ATG16L1 игра кључну улогу у формирању наведеног комплекса и у регулацији фазе сазревања аутофагије (Lassen и сар.,2014; Abdolkarim и сар.,2019). Након завршетка фазе сазревања, ATG протеини се ослобађају назад у цитосол, а следећи корак аутофагије започиње фузијом аутофагозома и лизозома.

За покретање аутофагије укључени су различити путеви сигнализације. Комплекс серин/треонин киназа (mTORC) је потребан за активацију прве фазе аутофагије. Постоје два функционално различита mTORC комплекса: комплекс који је

зависан од рапамицина (mTORC1) и комплекс који не зависи од рапамицина (mTORC2) (Costas и сар.,2017). mTORC1 се налази у лизозому и инхибира аутофагију у условима нормалне количине енергије и хранљивих материја (Mizushima, 2007; Ravanan и сар.,2017). Рапамин блокирањем mTORC1 индукује аутофагију (Noda,2017). У нормалним условима, у реакцији mTORC1 и комплекса ULK1 који се састоји из ULK1, ATG13, ATG101, FIP200, фосфорилише се ULK1 и ATG13 што доводи до инактивације овог комплекса и инхибирања аутофагије. У условима недостатка хранљивих материја, АМПК киназа инхибира mTORC1 и активира ULK1 што резултује формирањем фагофора (Costas и сар.,2017; Noda и сар.,2017 ; Wang и сар.,2018; Chen и сар.,2020). У фази нуклеације ULK1 фосфорилише Vesiclin-1 (ATG6) у оквиру комплекса PI3K кога чине Vesiclin-1 (ATG6), VPS34, ATG14L и p150 (VPS15) (Ravanan и сар.,2017). У фази елонгације, ATG14- активирани PI3K комплекс, покреће друге протеине аутофагије: комплекс ATG12-ATG5-ATG16L и LC3-II (ATG8) што резултује стварањем аутофагозома. Аутофагозом се везује са ендозомима формирајући амфизом. Активирањем протеина Rab7 GTP-азе, амфизом се спаја са лизозомима стварајући аутофаголизом (McEwan и сар.,2015). У регулацији аутофагије учествују тумор супресорски и онкогени протеини (Choi и сар.,2013; Lorin и сар.,2013; Maiuri и сар.,2009; Antonioli и сар.,2017; Руо и сар.,2012).

Антитуморска активност TP53 се испољава у виду регулације апоптозе или аутофагије или поправком оштећења ДНК (Xiu-Monette и сар., 2012; Subburayan и сар.,2018; Mijit и сар.,2020). Главна биолошка функција TP53 је да сачува ДНК ћелија. У почетној фази оштећења ДНК, TP53 зауставља ћелијски циклус у G1 фази у циљу поправке оштећења путем транскрипције (He и сар.,2020). Након поправке, ћелије могу да наставе свој ћелијски циклус (Саfаgо и сар.,2020).

Тачан механизам аутофагије посредоване TP53 још увек није у потпуности разјашњен. Сматра се да измењени TP53 „олакшава“ мутације ATG гена или активације mTOR комплекса (Denisenko и сар.,2018; Uddin и сар.,2020; Rahman и сар.,2021). Познато је да се аутофагија може модулирати путем TP53 на два начина. Нуклеарни TP53 индукује аутофагију, док цитоплазматски TP53 делује као њен репресор (Mrakovcic и сар.,2018; Lascoix и сар.,2020).

Апоптоза у герминативном центру регулисана је од стране неколико про- и анти-апоптотичких протеина, делујући на унутрашњи и спољашњи пут апоптозе (Leveille и сар.,2021). Оба пута активирају ефекторске каспазе (Czabotar и сар.,2014). Унутрашњи апоптотички пут или митохондријски пут је регулисан протеинима из породице BCL2 (Klanova и сар.,2020). BCL2 протеини су класификовани на основу броја BCL2 хомологих, (BH) региона које садрже, као и на основу њиховог утицаја на апоптозу. Анти-апоптотички протеини садрже четири BH домена (BH1–4), везују и разграђују проапоптотичке протеине. У ову групу спадају: BCL2, MCL1, BCL-KSL и BCLV. Проапоптотички протеини састоје се из BH3 домена. Обухватају: апоптотичке сензибилаторе (BAD, NOKSA и HRK) који везују и инхибирају анти-апоптотичке протеине те апоптотичке активаторе (BID, BIM и PUMA) који директно активирају BH1–3 домене ефектора BAKS и BAK. BAKS и BAK, потом активирају и пермеализују спољашњу мембрану митохондрија што доводи до ослобађања цитохрома c у цитоплазму што је кључно дешавање за активацију апоптозе. Цитохром c активира каспазу 9 која активира каспазе 3, 6 и 7 што резултује протеолизом и завршетком апоптозе. Спољашњи пут или ћелијска смрт посредована рецептором, стварањем парова рецептор-лиганд: FAS (CD95, APO-1) и FAS лиганд (FasL), TRAIL (APO2-L) и рецептор (R) (Safa и сар.,2012).

TP53 доводи до апоптозе модулацијом транскрипције више протеина што резултује повећањем про-апоптотичких BCL2 протеина, повећаном експресијом протеина спољашњег пута и регулацијом каспаза 6 и 9 (Fridman и сар.,2003).

BCL2 је најзначајнији анти-апоптотички протеин који инхибира апоптозу. BCL2 је нормално неактиван у Б ћелијама герминативног центра (GC) како би Б ћелије са соматским хипермутацијама (SHM) биле захваћене апотозом. Овај протеин се састоји из четири ВН домена и домена флексибилне петље која учествује у интерреакцији са TP53. Анти-апоптотични ефекат BCL2 протеина је појачано регулисан BCR и NF-κB сигнализацијом (Schuetz и сар.,2012). Промена у домену флексибилне петље спречава везивање TP53 што резултује инхибицијом апоптозе (Deng и сар.,2006). Промене у домену ВН4 смањује апоптозу посредовану калцијумом (Monaco и сар.,2012). Прекомерна експресија BCL2 протеина доводи до блокаде апоптозе нарочито митохондријалне, која има улогу у патогенези лимфома (Kaloni и сар.,2023; Adams и сар.,2018; Klanova и сар.,2020). Индиректно инхибира аутофагију инхибирањем Вах/Vас посредовану апоптозом и регулисањем гена аутофагије, укључујући *ATG16L* и многе друге позитивне и негативне регулаторне гене аутофагије (Lindqvist и сар.,2014; Chavez-Dominguez и сар.,2020).

1.5 МОРФОЛОШКЕ ОСОБИНЕ И ЋЕЛИЈСКИ ИМУНОФЕНОТИП ДИФУЗНОГ Б-КРУПНОЋЕЛИЈСКОГ ЛИМФОМА

Дифузна пролиферација крупних и средње великих туморских Б ћелија, два или више пута већих од малих лимфоцита, крупних једара, које потпуно или делимично нарушавају архитектуру лимфног чвора је основна карактеристика DLBCL. Најчешћи морфолошки типови DLBC су центробластни, имунобластни и анапластични тип. Центробластни тип је најчешћа морфолошка варијанта и састоји се доминантно од ћелија типа центробласта, који су средње величине и крупне, са овалним или округлим, везикуларним једрима, са два до четири нуклеолуса који се налазе уз једрову мембрану уз оскудну цитоплазму. Имунобластни тип је релативно ретка морфолошка варијанта и карактерише се крупним светлим једром, са једним, централно локализованим нуклеолусом и оскудном, базофилном цитоплазмом. Анапластични тип је ретка варијанта која се карактерише крупним, плеоморфним ћелијама које се претежно налазе унутар синуса и показују кохезивни начин раста (Swerdlow и сар.,2008).

Имунохистохемијски туморске ћелије експримирају Б ћелијске антигене (CD19, CD20, PAX , CD79α). CD20 је протеин који учествује у активацији и пролиферацији Б лимфоцита и експримира се на њиховој мембрани. Не експримира се на хематопоетским ћелијама, про-Б ћелијама и плазмоцитима (Swerdlow и сар.,2008; Garcia и сар.,2009). CD79α је протеин који се одсутан на другим здравим хуманим ћелијама и може да се користи као високо специфичан маркер Б ћелија. Налази се на површини Б лимфоцита и то од незрелих пре-Б до зрелих Б ћелија и плазмоцита (Swerdlow и сар.,2008). Маркери од значаја за субтипизацију су Bcl-6, Bcl-2, CD10, IRF4/MUM 1, CD138, MYC, CD30, Cyclin D1, EBV, Ki67. Код појединих пацијената може да дође до губитка једног или више Б фенотипских маркера.

BCL6 је прото-онкоген који се експримира у нормалним Б ћелијама герминативног центра и одговоран је за диференцирање нормалне Б ћелије герминативног центра у меморијске Б ћелије или плазмоците. Експримира се у око 30% DLBCL и прогностички значај његове експресије је контроверзан, али највећи број истраживања указује да је експресија BCL6 удружена са бољом прогнозом (Winter и сар.,2006; Cattoretti и сар.,2006). CD10 протеин је металопроотеиназа на површини

ћелије. (Menon и сар.,2012). Први се појављује на про-Б ћелијама током диференцијације лимфоцита, први се губи током сазревања Б ћелије и поново се појављује на површини ћелије током антиген-зависног сазревања у герминативном центру. Маркер је ћелије које су порекла герминативног центра. CD10 се експримира у незрелим Б и Т ћелијама, Б ћелијама герминативног центра, гранулоцитима и различитим лимфоидним малигнитетима (Lennert,2006). Анализа експресије CD10 као прогностичког фактора код DLBCL дала је конфликтне резултате (van Imhoff и сар., 2006). MUM1/IRF4 је онкоген који се активира као резултат транслокације t(6;14)(p25,q32) Припада фамилији интерферон регулаторних фактора који су укључени у важне ћелијске процесе као што су одговор на патогене чиниоце, цитокине и апоптозу. MUM 1 је маркер терминалне диференцијације Б ћелија (Swerdlow и сар.,2008; Lossos и сар.,2006). CD138 је трансмембрански протеогликан који учествује у интерреакцијама између ћелије и екстрацелуларног матрикса. CD138 протеин се експримира у плазмочитима и Б прекурсорима из костне сржи, на површини туморских ћелија у мултиплом мијелому, неким лимфомима који су удружени са ХИВ инфекцијом, хочкиновом лимфому а ретко код DLBCL (Oh и сар.,2006; Vodoog и сар.,2012).

1.6 КЛИНИЧКЕ КАРАКТЕРИСТИКЕ ДИФУЗНОГ Б-КРУПНОЋЕЛИЈСКОГ ЛИМФОМА

DLBCL се карактерише различитим клиничким манифестацијама а њихово испољавање зависи од локализације болести. Лимфомско ткиво расте брзо, инфилтришуће ткива уз могућност да се развије поремећај функције органа. Компресијом тумора на крвне судове може да се развије синдром горње шупље вене, а уколико захвати дисајне путеве може да настане трахеобронхијална компресија и ова стања захтевају хитно лечење. Учестала манифестација DLBCL је безболно увећање лимфног чвора предела врата, пазуха или препона. Може захватити и лимфне чворове Waldeyer-овог прстена, медијастинума, ретроперитонеума, мезентеријума, Рауер-ове плоче и регије мале карлице (Freedman и сар.,2022; Tilly и сар., 2015). Код око 40% оболелих се примарно јавља екстранодална болест уз инфилтрацију централног нервног система, плућа, гастроинтестиналног тракта, урогениталног тракта, кости, тестиса, штитасте жлезде, пљувачних жлезда, коже, јетре, дојки, назалних шупљина. Код 30% болесника су присутни „Б“ симптоми и то повишена телесна температура ($t > 38^{\circ}\text{C}$), губитак у телесној маси више од 10% за последњих шест месеци, свраб по кожи и ноћно презнојавање. Такође, могу бити присутни конституционални симптоми као последица захваћених органа и њихове компресије на суседне органе. У случају веома брзог пораста лимфомске масе може се јавити бол у лимфним чворовима а могу и да се развију неуобичајени симптоми и знаци као што су фебрилност код интраваскуларног DLBCL или рецидивантни плеурални изливи код DLBCL плеуре. Дисеминована болест се јавља код око 60% пацијената док око 40% њих има локализовану болест, а захваћеност костне сржи се детектује код око 10-20% оболелих (Swerdlow и сар., 2008).

1.7 КЛАСИФИКАЦИЈА ДИФУЗНОГ Б-КРУПНОЋЕЛИЈСКОГ ЛИМФОМА

Прве класификације лимфома су биле засноване на архитектури ткива и хистолошком изгледу. Према REAL класификацији из 1994. се по први пут уводи група

лимфома под називом DLBCL (Harris NL и сар.,1994). Усавршавање дијагностичких метода је резултирало интеграцијом имунофенотипских, цитогенетских и молекуларних карактеристика лимфома у класификационе шеме (Reddy и сар.,2017; Chen и сар.,2019). Године 2022. је објављена нова класификациона шема Светске здравствене организације (WHO), поред објављене ревидиране класификације тумора лимфоног ткива Светске здравствене организације (WHO) из 2016. и 2017 (Swerdlow SH и сар.,2016; Alaggio и сар.,2022; Swerdlow SH и сар.,2017).

Класификација DLBCL према WHO класификацији из 2022:

I. DLBCL, NOS

II. Лимфом великих Б ћелија богат Т-ћелијама/хистиоцитима

III. Примарни DLBCL медијастинума

IV. Интраваскуларни DLBCL

V. Лимфоматоидна грануломатоза

VI. DLBCL удружен са EBV

VII. DLBCL удружен са хроничном упалом

VIII. DLBCL коже доњих екстремитета

IX. Примарни DLBCL централног нервног система

X. Плазмабластични

XI. DLBCL старије животне доби

XII. DLBCL са MYC и BCL2 преуређењем

XIII. Примарни DLBCL имуно-привилегованих места

COO класификација:

1) GCB DLBCL

2) ABC DLBCL

3) “велики Б ћелијски лимфом са преуређивањем IRF4”

Морфолошки типови:

1. Центробластни

2. Имунобластни

3. Анапластични

1.8 ДИЈАГНОЗА ДИФУЗНОГ Б-КРУПНОЋЕЛИЈСКОГ ЛИМФОМА

Дијагноза DLBCL се поставља на основу патохистолошке анализе биоптираног ткива (најчешће је то лимфни чвор) са имунофенотипизацијом. Типични Б ћелијски антигени које испољавају туморске ћелије DLBCL су: CD19, CD20, CD22, CD79a и PAX5. BCL6, BCL2, CD10, CD30, CD43, CD5, MYC, IRF4/MUM1, CD138, Cyclin D1, EBV, Ki-67 индекс су маркери који се такође користе за субтипизацију болести и утврђивање дијагнозе. Мембрански имуноглобулини могу се испољити у 50-75% болесника (најчешће IgM). Ki-67 индекс пролиферације је обично висок, најчешће изнад 40%, а повремено може бити виши од 90% (Chen и сар.,2019; Kumar и сар.,2018). CD5 је позитиван у око 5-10% случајева, повезан је са лошом прогнозом и чешће се испољава код жена. Јавља се код трансформације нискоагресивних лимфома у DLBCL,

код рецидива лимфома централног нервног система, лимфома који захватају костну срж, код подтипа ABC и прекомерне експресије *BCL2*, *STAT3* и активације *NF-kB* (Xu-Monette и сар.,2015; Kumar и сар.,2018). *Cyclin D1* је позитиван у 1,5 до 15% DLBCL а у 10% је повезан са повећаним бројем копија *CCND1* али не и транслокацијом *t(11;14)*. *Cyclin D1+ DLBCL* за разлику од мантл ћелијских лимфома (*MCL*) немају експресију *CD5* и *SOX11*, нити *t(11;14)*. *CD30* је присутан 25 % случајева који се јављају у анапластичној варијанти DLBCL. Такође је повезан са лимфомима „сиве зоне“ (Freedman и сар.,2022; Chen и сар.,2019). *BCL2* се јавља у 25 до 85% DLBCL, док *BCL6* у 70%. *CD10* се испољава у 30 до 60% случајева, док је *MUM1/IRF4* у 35 до 60% случајева (Xu-Monette и сар.,2015; Thakral и сар.,2017).

Према молекуларној подели, DLBCL се дели на GCB и ABC (non-GCB) подтип. Без обзира што је подела према GEP-у (енгл. „gene expression profiling“) најбоља, не користи се из техничког и економског разлога. У употреби је Ханс-ов алгоритам који је базиран на имунохистохемијској експресији три маркера: *CD10*, *BCL6* и *MUM/IRF4*. Подтип GCB се карактерише присуством *CD10* и *BCL6* уз одсутност *MUM/IRF4*. Док код подтипа ABC постоји позитивност *MUM/IRF4* и негативан *BCL6*. DLBCL подтипа GCB има бољу прогнозу (Sehn и сар.,2015; Kumar и сар.,2018)

Потребно је урадити FISH (Fluorescence in situ hybridization) анализу за експресију *MYC*, *BCL2* и *BCL6* гегена код оба подтипа DLBCL. Уочена је експресија наведених гена у распону од 64-99% код болесника са DLBCL GCB морфологије. Уколико би се наведено испитивање спроводило само код GCB подтипа, FISH анализом би се пропустила детекција експресије *MYC* у 5%, а *BCL2* или *BCL6* гена у 1,7% DLBCL ABC подтипа (Stephens и сар.,2018; Scott и сар.,2018). Генетичким анализама је утврђен реаранжман *MYC* гена у 5-15% случајева при дијагнози и у око 20% првом релапсу DLBCL (Freedman и сар.,2022). Реаранжман *BCL2* се уочава у 20% и реаранжман *BCL6* у 30% случајева. Двоструко експресијски лимфоми чине 30% DLBCL. Подтип ABC повезан је са лошијом прогнозом, али има бољу прогнозу у односу на „double hit“ (DH) и „triple hit“ (TH) DLBCL (NCCN Guidelines Version 5.2022; Ott и сар.,2013).

У циљу постављања дијагнозе новодијагностикованог DLBCL, поред патохистолошке потврде, потребно је спровести иницијални преглед који обихвата: физички преглед, процену општег стања (енгл. status performans-PS), присуство симптома, лабораторијске анализе и различите морфолошке претраге.

Као што је већ наведено DLBCL се манифестује безболним увећањем лимфног чвора због чега је потребно током физичког прегледа обратити пажњу на подручја видљиво увећаних лимфних чворова и увећаних паренхимског органа. Код 30% болесника су присутни „Б“ симптоми који подразумевају: повишена телесна температура ($t > 38^{\circ}\text{C}$), губитак у телесној маси више од 10% за последњих шест месеци, свраб по кожи и ноћно презнојавање. Такође могу бити присутни конституционални симптоми као последица захваћених органа и њихове компресије на суседне органе. Требало би обратити посебну пажњу на болеснике са „великом туморском масом“ код којих може доћи до развоја тешких компликација опасних по живот у време дијагнозе или да се развијају током лечења. То су тзв. онколошки хитни случајеви који се могу јавити код присутва компресије кичмене мождине, опструкције дисајних путева, синдрома горње шупље вене, перикардне тампонаде, гастроинтестинале опструкције, хидронефрозе, поремећаја функције јетре и бубрега, синдрома тумор лизе, хиперкалцемије, дубоког венског тромбоемболизма (Freedman и сар.,2022; Tilly и сар., 2015; NCCN Guidelines Version 5.2022; Kumar и сар.,2018).

У склопу лабораторијских анализа потребно је урадити: хематолошка (периферна крвна слика са размазом периферне крви), биохемијска [(лактат

дехидрогеназа (LDH) која је повишена у 50% болесника, параметри неспецифичне упале, параметри бубрежне и јетрине функције)], имунолошка (електрофореза протеина, имуноглобулин, Coombsov тест) и вирусолошка испитивања (HBV, HCV, HIV, EBV, CMV, VZV, HSV).

За утврђивање проширености болести потребно је од морфолошких претрага урадити: радиографију срца и плућа, ултразвук абдомена, СТ са контрастом грудног коша, абдомена и мале карлице. PET/CT је тачнији и сензитивнији од СТ-а са контрастом за нодалне и екстранодалне DLBCL. Предност СТ-а са контрастом у односу на PET/CT је у дијагностици лимфома црева, тромбозе крвних судова и за обележавање регије зрачења (Tilly и сар., 2015; NCCN Guidelines Version 5.2022). Потребно је урадити СТ са контрастом у комбинацији са PET/CT или након PET/CT. Такође је PET/CT комплементаран биопсији костне сржи за откривање захваћености костне сржи. Може се закључити да ће се биопсија костне сржи урадити уколико је PET/CT негативан. У мање од 10% случајева уочава се позитивна биопсија костне сржи уз негативан PET/CT (Kwai Han Yoo и сар., 2022; Barrington и сар., 2016; Adams и сар., 2014; Khan и сар., 2013; Pelosi и сар., 2011).

У циљу дијагностике екстранодалног DLBCL могу се урадити и друге морфолошке претраге у зависности од симптома и знакова манифестације болести: гастроинтестиналне ендоскопије, бронхоскопија и VATC (видеоасистирана торакоскопска хирургија) са биопсијом туморског ткива. У склопу сумње на лимфом централног нервног система урадити СТ ендокранијума односно сензитивније снимање магнетну резонанцу ендокранијума. Дијагностичка лумбална пункција се спроводи код сумње на лимфом централног нервног система или код DLBCL високог ризика са захватањем тестиса, дојки, надбубрега и бубрега, код DLBCL („double hit“ (DH) и „triple hit“ (TH)) и код DLBCL лимфома вируса хумане имунодефицијенције (HIV) (Shah и сар., 2017). Може се урадити и пункција плеуралног, перикардног и абдоминалног излива. Ехокардиографија се спроводи у циљу процене ејекционе фракције срчаног мишића јер је већина хемотерапијских протокола кардиотоксична (Enns и сар., 2018). Прецизнија метода је „strain“ ехокардиографија којом се може предвидети развој срчане слабости односно двогодишње смањење ејекционе фракције за више од 5% након завршеног лечења (Suerken и сар., 2020).

Болесници се након завршене дијагностике стратификују у клиничке стадијуме болести (CS I-IV) према AnnArbor класификацији (Lister и сар., 1989).

Многе болести које одликује лимфаденопатија могу се разматрати у диференцијалној дијагнози са DLBCL, као што су инфективна моноклеоза, карцином, лимфом сиве зоне, анапластични лимфом великих ћелија, Burtkitt-ов лимфом (Kumar И сар., 2018; Freedman и сар., 2022).

1.9 ПРОГНОСТИЧКИ ПАРАМЕТРИ

Интернационални прогностички индекси

Одлука о терапији се доноси на основу процене агресивности DLBCL која се заснива на клиничким особинама болести, стању пацијента и биологији тумора. У циљу боље стратификације болесника, боље терапијске стратегије и дугорочног преживљавања болесника, настали су међународни прогностички индекси (Ruppert и сар., 2020; Zhou и сар., 2014; Freedman и сар., 2022; NCCN Guidelines Version 1.2023). Најистакнутији клинички и лабораторијски параметри који предвиђају преживљавање без прогресије болести (PFS) и укупно преживљавање (OS) укључени су у скор

Међународног прогностичког индекса (IPI). За бољу стратификацију ризика у ери Rituximab-а развијени су Ревидирани IPI (R-IPI), NCCN-IPI и IPI прилагођен узрасту (aaIPI).

Интернационални прогностички индекс IPI (The International Non-Hodgkin's Lymphoma Prognostic Factors Project,1993) одређује се на основу пет параметара: животна доб (>60 година), Ann Arbor клинички стадијум (III/IV CS), ниво лактат дехидрогеназе у крви, ECOG (Eastern Cooperative Oncology Group) статус и више од једног захваћеног екстралимфатичног органа (Shipp и сар.,1993). У овом систему се даје по један бод за сваку од наведених карактеристика које су присутне код болесника који се стратификују у четири ризичне групе (низак ризик: 0 или 1; низак средњи:2; висок средњи: 3; висок: 4 или 5).

Како прогноза зависи од старости оболелих развијен је Интернационални прогностички индекс за болеснике млађе од 60 година, aaIPI који укључује Ann Arbor клинички стадијум (III/IV CS), ниво лактат дехидрогеназе у крви, ECOG (Eastern Cooperative Oncology Group) статус. Свака карактеристика оболелих добија један бод. Болесници су стратификовани у четири групе (низак ризик: 0; низак средњи: 1; висок средњи: 2; висок: 3).

Интернационални прогностички индекс (NCCN-IPI) је базиран на истим особитостима пацијената које се употребљавају у стандардном IPI, са разликом да не обухвата број захваћених екстралимфатичних органа већ локацију екстранодалне болести. Сматра се да је захваћеност костне сржи, централног нервног система, јетре/гастроинтестинални тракт или плућа предиктор лошије прогнозе. Оболели се стратификују у четири групе (низак ризик:0-1; низак средњи:2-3; висок средњи:4-5; висок:≥6).

Ревидирани IPI (R-IPI) је настао као модел предикције исхода код пацијената који су третирани имунохемотерапијом која ја базирана на ритуксимабу са хемотерапијом. Укључује све параметре као стандардни IPI, али су болесници подељени у три прогностичке групе (врло добар: 0; добар: 1-2; лош: 3-5).

Према класификацији COO (енгл. cell of origin classification system) дефинисани су субтипови DLBCL, GCB DLBCL и ABC DLBCL.Овај систем поделе има значајну прогностичку вредност у процени тока болести. Показано је да субтип GCB DLBCL има повољнију прогнозу уз петогодишње преживљавање од 76%, у односу на ABC DLBCL субтип (Susanibar-Adaniya и сар.,2021; Cho и сар.,2018. Bohers и сар. ,2014; Gutierrez-Garcia и сар.,2011).

Потребни су стални напори да се унапређује прогностичко бодовање ради боље стратификације ризика болести у циљу избора најбоље терапије. Тренутно се препоручује коришћење NCCN-IPI скорa за прогнозу тока лечења DLBCL. Оболели са ниским ризиком наведеног скорa који су лечени имунохемотерапијом (R-CHOP) постижу боље укупно петогодишње преживљавање у односу на оболеле високог ризика (96% vs 33%) (NCCN Guidelines Version 1.2023).

Потенцијални прогностички маркери: LMR,NLR,PLR

Данас се све више пажње поклања утицају туморског окружења како на имунолошки и терапијски одговор, тако и на клинички исход хематолошких малигнитета (Wang и сар., 2017; Naydaroglu, 2019). Неутрофили су промотори туморогенезе јер луче цитокине и ангиогене хемокине (Fridlender и сар., 2012; Nakaya и сар.,2018). Повишен број неутрофила може инхибирати цитотоксичну активност лимфоцита. Са друге стране лимфоцити имају улогу у антитуморском имуном одговору (Rusakiewicz и сар., 2013). Лимфоцитопенија корелира са прогресијом тумора и лошом прогнозом (Kawai и сар., 2008; Oki и сар., 2008). Моноцити се у периферном ткиву

диференцирају у макрофаге. Посебан значај имају макрофази повезани са тумором (енгл. tumor-associated macrophages-TAM) који стимулишу пролиферацију туморских ћелија, индукују ангиогенезу и лимфоангиогенезу што резултује лошим укупним преживљавањем код болесника са моноцитозом (Petty и сар., 2019; Al-Hamadani и сар., 2015; Habermann и сар., 2012). Тромбоцити имају антитуморску (Palumbo и сар.,2007) и протуморску активност. Тромбоцити стимулишу пролиферацију туморске ћелије (Buergy и сар.,2012 ;Wojtukiewicz и сар.,2017) и утичу на настанак метастаза (Labelle и сар., 2011; Walsh и сар.,2015) лучењем цитокина.

Проналажење нових, јефтиних и лако доступних прогностичких маркера је од значаја за стратификацију болесника и лечење DLBCL. У том контексту су предложени биомаркери који представљају комбинацију имунолошке хомеостазе домаћина и микроокружења тумора а то су: LMR (лимфоцитно-моноцитни однос), NLR (неутрофилно-лимфоцитни однос), PLR (тромбоцитно-лимфоцитни однос) који могу показивати протуморску и антитуморску способност домаћина (Stefaniuk и сар.,2020; Kavuya и сар.,2022; Chen и сар., 2019).

Бројне студије су показале прогностички значај наведених биомаркера у DLBCL. Висока вредност NLR корелира са краћим укупним преживљавањем (Mu и сар., 2018; Nakaya и сар.,2018; Wang и сар., 2017; Annibali и сар., 2019; Porrata и сар.,2010; Melchardt и сар., 2015; Beltrán и сар.,2018) и са брзом прогресијом болести, (Wang и сар.,2017) док друге студије нису показале прогностички значај NLR (Azuma и сар.,2019). Болесници са нижим LMR имају лошију прогнозу. (Kavuya и сар.,2022; Li и сар.,2014; Watanabe и сар.,2014; Yamazaki и сар., 2014; Feiqiong и сар.,2021; Xia и сар.,2016). Висок PLR корелира са краћим укупним преживљавањем (Chen и сар., 2019; Zhao и сар., 2018; Wang и сар.,2021; Lin и сар.,2019; Ni и сар.,2016 ;Han и сар.,2018), а према другим ауторима PLR није значајан за прогнозу DLBCL (Melchardt и сар.,2015; Periša и сар.,2016; Hao и сар.,2017).

1.10 ПРОЦЕНА ТЕРАПИЈСКОГ ОДГОВОРА

Евалуација одговора на примењену имунохемотерапију је стандардизована у Lugano класификацији (NCCN Guidelines Version 1.2023) која укључује позитронску емисиону томографију (PET) у постојеће критеријуме одговора (Cheson и сар.,2007; Cheson и сар.,2014). Поред молекуларних карактеристика лимфома, у процени терапијског одговора данас се примењује и PET/CT (Kwai, 2022; Sally и сар.,2016). Формирана је PETRA база у циљу одређивања оптималног времена да се уради PET/CT и PET критеријуми за одговор (I-PET) у DLBCL. Многе студије су користиле PET/CT: привремени ("interim"), на крају лечења и пре „високо дозне“ хемотерапије са потпором матичним ћелијама хематопоезе. Бољу предиктивну вредност има DSUVmax (енгл. maximum standardized uptake value) у односу на DS (енгл. Deauville score) 4-5 (Kurch и сар.,2021; Eertink и сар.,2021). Оптимално време за идентификацију добрих одговора је након другог (I-PET2, енгл. Interim positron emission tomography) и након четвртог циклуса терапије (I-PET4). Уколико се добије добар одговор I-PET2 може се размишљати о деескалацији терапије. Уколико се добије лош одговор I-PET4 требало би променити терапијски модалитет. (Eertink и сар.,2021; Kurch и сар.,2021). Студија GOYA фаза 3 (Kostakoglu и сар.,2021) је показала да PET/CT након лечења првом терапијском линијом има високу предиктивну вредност за OS и PFS која је процењена коришћењем Cheson и стандардних Лугано критеријума независно од IPI и броја планираних СНОР циклуса. Међутим показало се да су оболели са високом вредностима NCCN-IPI скорa имали лошу прогнозу упркос постизању клиничке

ремисије према PET-у што се може објаснити бољом идентификацијом екстранодалног DLBCL посебно са захватањем костне сржи, гинеколошких органа и плеуре (.El-Galaly и сар.,2015; Kurch и сар.,2021). Болесници који су постигли клиничку ремисију према DSUVmax вредности и код којих је DS од 1 до 3 имали су бенефита од „високо дозне“ хемотерапије са потпором матичним ћелијама хематопоезе (Sally и сар.,2016).

1.11 ТЕРАПИЈА ДИФУЗНОГ Б-КРУПНОЋЕЛИЈСКОГ ЛИМФОМА

DLBCL је агресиван лимфом који је излечив за већину болесника. Уколико се не лечи, медијана преживљавања је мања од годину дана. Стандардна прва линија терапије у лечењу DLBCL је имунохемотерапија која је базирана на примени моноклонског антиCD20 антитела ритуксимаба (R) са хемотерапијом CHOP (циклофосфамид, доксорубин, винкрестин, преднизон) са или без зрачења у складу са стадијумом болести и клиничким факторима ризика (Susanibar-Adaniya и сар.,2021; Rojek и сар.,2022).

Терапија раног или ограниченог стадијума дифузног Б-крупноћелијског лимфома

DLBCL раног или ограниченог стадијума чини 30% свих DLBCL. Применом R-CHOP постиже се дугорочна контрола болести у 90% болесника. У ери пре ритуксимаба, рандомизиована студија фазе 2 SWOG S8736 је испитивала ефикасност комбинованог модалитета скраћене хемотерапије CHOPx3 + консолидациона зрачна терапија (RT) vs CHOP протокола (Miller и сар.,1998). Показала је да нема разлике у времену до прогресије болести и укупног преживљавања (PFS 12 година vs 11,1 година; OS 13 година vs 13,7 година). Сличне резултате су добиле и друге студије (Horning и сар.,2004; Reyes и сар.,2005; Bonnet и сар.,2007; Zelenetz и сар.,2010). Међутим, додавање ритуксимаба (SWOG S0014) доводи до побољшања двогодишњег PFS од 92% и четворогодишњег OS на 92% (Persky и сар.,2008). Рандомизиована студија (MINT) је утврдила да је примена имунохемотерапије супериорнија (шестогодишњи PFS 84,3% и OS 94,9%) у односу на саму хемотерапију код млађих болесника (Pfreundschuh и сар., 2006; Pfreundschuh и сар., 2011). И даље се поставља питање примене броја циклуса имунохемотерапије (R-CHOP) (Stephens и сар.,2016; Rojek и сар.,2022).

Рандомизиована студија фазе 3 (FLYER) је процењивала ефикасност имунохемотерапије, R-CHOPx6 vs R-CHOPx4 + консолидациона терапија ритуксимаб (Rx2) без консолидационе зрачне терапије (Poeschel и сар.,2019), којом је доказана да не постоји статистичка значајност у брзини релапса болести и укупном преживљавању током петогодишњег праћења (PFS: 94% vs 94%; OS:97% vs 98%), док је рандомизиована студија фазе 2 (S1001) испитивала ефикасност лечења скраћене имунохемотерапије (R-CHOPx3 vs R-CHOPx4), а клинички одговор процењиван на основу iPET налаза (Persky и сар.,2020). Резултати су показали да је стандард лечења раног DLBC примена четири циклуса наведене имунохемотерапије током петогодишњег праћења (PFS: 79% vs 92%; OS: 82% vs 94%).

У ритуксимаб ери лечења, контроверзна је примена зрачне терапије након имунохемотерапије у раном стадијуму DLBCL (Yahalom и сар.,2010; Vargo и сар.,2015; Longo и сар.,2015; Persky и сар.,2009; Phan и сар.,2010; Ng и сар.,2016). Сматра се да није потребна консолидациона зрачна терапија уколико је након три или четири циклуса имунотерапије постигнута клиничка ремисија (Sehn и сар.,2012 и 2015). Рандомизиована студија LISA/GOELAMS испитивала је ефикасност лечења раног DLBC, R-CHOPx4 + консолидациона зрачна терапија (RT) vs R-CHOPx4 на основу

постигнутог клиничког одговора PET скен-ом нивоа клиничке ремисије. Ова студија је показала да не постоји разлика у петогодишњем укупном преживљавању и времену до прогресије болести (OS 92% vs 96%; PFS 92% vs 89%) што указује да није потребна консолидациона зрачна терапија (Lamу и сар.,2018).

Требало би размотрити примену консолидационе зрачне терапије у раном стадијуму DLBCL уколико је присутна масивна болест, екстранодална захваћеност и код старијих болесника (Waldstein 2022). Познато је да је приближно 50% пацијената у раној фази болести има екстранодалну локализацију која је повезана са лошим исходом (Møller и сар., 2004). Једна ретроспективна студија која је испитивала ефекат зрачне терапије након имунохемотерапије је показала да консолидациона зрачна терапија побољшава OS и PFS (Bobillo и сар., 2021). У PET ери процене одговора на терапију, примећено је да болесници са негативном налазом PET скена на крају лечења нису имали користи од зрачне терапије. Такође је запажено је да се само 30% релапса болести јавља у зрачном пољу (Bobillo и сар., 2021). Може се закључити да је потребно спровести зрачну терапију код болесника са раним стадијумом екстранодалног DLBCL или уколико је присутна „велика туморска маса“ (> 7,5 цм) (Rojek и сар., 2022). Примена консолидационе зрачне терапије код старијих болесника са масивном болешћу доводи да каснијег релапса и дужег укупног преживљавања (Held и сар.,2014) што је потврђено у једној проспективној студији (RECOVER-60) (Pfreundschuh и сар., 2008). Сличне резултате код млађих болесника је потврдила рандомизована студија (UNFOLDER) (Pfreundschuh и сар.,2018). Старији болесници са већим ризиком неподношљивости или кардиотоксичности хемотерапије могу имати користи од консолидационе зрачне терапије (Parikh и сар., 2017).

Терапија узнапредовалог стадијума дифузног Б-крупноћелијског лимфома

DLBCL узнапредовалог стадијума чини 70% свих DLBCL. Применом R-CHOP протокола постиже се дугорочна контрола болести у 60% болесника (Coiffier и сар.,2010). Да би се побољшали ефекти R-CHOP протокола, а у циљу бољег укупног преживљавања и развоја каснијег релапса покушавало се са интензивирањем дозе (нпр. R-CHOP14 vs R-CHOP21) (Cunningham и сар.,2013; Schmitz и сар.,2012), учесталијим дозама („dose-dense“) ритуксимаба (давање 8 доза ритуксимаба у недељним интервалима у комбинацији са CHOP-21) (Ohmachi и сар.,2021), али без статистички значајног утицаја на брзину релапса болести и на укупно преживљавање. Један од начина је био покушај примене другог моноклонског CD20 антитела (Rituximab vs Obinutuzumab).

Рандомизована студија фаза 3 (GOYA) је упоређивала ефикасност комбинације обнитузумаба (G), G-CHOP vs R-CHOP и није показала статистичку значајност у петогодишњем укупном преживљавању (OS:77% vs 77%) и појави релапса (PFS: 63,8% vs 62,6%) (Sehn и сар.,2020).

Рандомизована студија фаза 3 (GAINED) је упоређивала ефикасност обинутузумаба и ритуксимаба у комбинацији са хемотерапијским протоколима (доксорубицин, циклофосфамид, преднизон, виндесин, блеомицин (ACVBP енгл. doxorubicin, cyclophosphamide, vindesine, bleomycin, prednisone) или CHOP, одговор је био процењиван на основу налаза PET-а после другог и четвртог циклуса (PET2,PET4). Није доказана разлика у времену до прогресије и укупном преживљавању током двогодишњег праћења (након PET2: PFS:89.9% vs 83.9%; OS:94,8% vs 92,8%; након PET4: у обе групе PFS 62%; OS:83,1%). Уочена је већа учесталост инфекција у групи са обинутузумабом (21% vs 12%) (Steven Le Gouill и сар.,2021).

Рандомизована студија фаза 2 (NCT01626352) је испитивала ефикасност комбинованог режима офатумумаба и бендамустина код старијих болесника и болесника који нису

кандидати за R-СНОР и показана је висока стопа постигнутог одговара (ORR 90,5%) и CR од 33,3% са подношљивом токсичношћу (Flinn и сар., 2019).

Код болесника старије животне доби применом комбинације офатумубаба и miniСНОР протокола (Peugade и сар.,2017) постиже се двогодишње укупно преживљавање (OS 64,7%) код старијих од 80 година што је показала мултицентрична студија фаза 2 (СТ01195714).

DLBCL високог ризика према хистолошкој класификацији (COO) је тип non-GCB/ABC који се одликује неуспешним лечењем применом имунохемотерапије (R-СНОР) код већине болесника. Овај тип DLBCL се карактерише активацијом NF-κB и хроничном BCR сигнализацијом. Тип non-GCB/ABC има лошије петогодишње укупно преживљавање (OS) и време до прогресије болести (PFS) у односу на GCB (OS 45% vs 80%; PFS 48% vs 56%)(Gutierrez-Garcia и сар.,2011) што је идентично потврђено у другој студији (Scott и сар.,2015). С обзиром на патогенезу, R-СНОР се комбинује са ибрутинибом, бортезомибом и леналидомидом у циљу бољег преживљавања. Упркос раним обећавајућим резултатима до сада нису довеле до бољег исхода.

Рандомизована студија фаза 3 (PHOENIX) испитује ефикасност комбинације R-СНОР+ Ibrutinib. Сматра се да млађи болесници, прекомерна експресија *BCL2* и *MYC* може имати боље резултате на лечење уз додатак ибрутиниба, док је код старијих испољена већа токсичност терапије што је компромитовало примену R-СНОР и лошијих исхода (Younes и сар.,2019).

Рандомизована студија фаза 2 (LYM-2034) је процењивала ефекат бортезомиба уместо винкристина у првој линији терапије, VR-САР (ритуксимаб,циклофосфамид, доксорубицин, преднизон, бортезомиб) vs R-СНОР. Није доказана статистички значајност у укупном преживљавању (OS 80,1% vs 79%) и у времену до прогресије болести (PFS 76,2% vs 77,1%) и без разлике у нежељеним ефектима терапије током двогодишњег праћења (Offner и сар.,2015).

Рандомизована студија инхибиција протеозома фазе 2 упоређивала ефекат бортезомиба додат стандардном протоколу (R-СНОР) у односу на стандардни протокол, VR-СНОР vs R-СНОР, у првој линији терапије non-GCB/ABC типа. Студија није показала да има разлике у двогодишњем укупном преживљавању (OS 93% vs 88,4%) и у брзини релапса болести (PFS 82% vs 77,6%) додавањем бортезомиба (Leonard и сар.,2017) .Код старијих болесника није доказан бенефит додавања ибрутиниба и бортезомиба стандардном протоколу на почетку лечења (Denker и сар.,2022).

Рандомизована студија фаза 3 (ROBUST) испитује ефикасност комбинације R-СНОР+Lenalidomid (R2СНОР) vs R-СНОР. Болесници са високим IPI скор-ом могу постићи бољи одговор уз додатак леналидомида (Nowakowski и сар.,2021). У двогодишњем праћењу није постигнута медијана PFS (62% vs 64%) док ће се укупно преживљавање (OS 79% vs 80%) потврдити у наредном периоду. Рандомизована студија фаза 2 (ECOG ACRIN E1412) је показала да примена R2СНОР смањује ризик за прогресију код оба типа DLBCL, са трогодишњим укупним преживљавањем (OS 83% vs 75%) и временом прогресије болести (PFS 73% vs 61%) (Nowakowski и сар.,2021). Могућа објашњења за различите исходе ове две студије су различите дозе леналидомида, критеријуми подобности и време до почетка лечења.

Рандомизована студија фаза 2 (SMART-START) је прва студија која третира новодијагностикован DLBCL комбинацијом циљане терапије (RLI) пре хемотерапије. Подразумева давање два циклуса RLI (енгл. rituximab, lenalidomid, ibrutinib) са двогодишњим PFS 91,3% и OS 96,6 %, уз токсичност (један болесник је имао аспергилозу CNS-а) (Jason Westin и сар.,2023).

DLBCL високог ризика са прекомерном експресијом *BCL2* треба лечити додавањем Venetoclax-а у R-CHOP, што је показала рандомизована студија фаза 2 (CAVALLI) са значајним двогодишњим повећањем PFS (78% vs 62%) (Morschhauser и сар.,2021; Zelenetz и сар.,2019).

Зрачна терапија може бити користна за болеснике у узнапредовалом стадијуму и са масивном нодалном болешћу што је показано у једној рестроспективној студији (Aviles и сар., 2019) са петогодишњим праћењем (PFS: 87 vs 45%; OS:91% vs 59%). Али бенефите од зрачне терапије могу имати и болесници без велике туморске масе (Rajasooriyar и сар.,2019; Syed и сар., 2021). Потребно је спровести зрачну терапију после уводног лечења код екстранодалног DLBCL, нарочито код изолованих коштанних метастаза или параспиналне болести.

Одржавајућа терапија дифузног Б-крупноћелијског лимфома

Одржавајућа терапија DLBCL се не препоручује након уводног лечења јер може само побољшати PFS код болесника који су постигли клиничку ремисију, а не утиче на укупно преживљавање (OS). У бројним радовима је објављено да одржавајућа терапија са ритуксимабом не пружа бенефите преживљавања (Lunning и сар.,2015; Alon и сар.,2019) што указује и резултат рандомизоване студије фаза 3 (HOVON-Nordic Lymphoma Group) са петогодишњим OS:85% vs 83% (Elly и сар.,2019). У једном раду је објављено да болесници мушког пола могу имати боље преживљавање (Zhou и сар.,2017). Одржавајућа терапија леналидомидом након уводног лечења код старијих доводи до каснијег релапса без утицаја на преживљавање уз повишен ризик нежељених ефеката (неутропенија) (Thieblemont и сар.,2020) што је показала рандомизована студија фаза 3 (REMARC). Одржавајућа терапија леналидомидом не смањује ризик релапса у централни нервни систем (Bernard и сар.,2021).

Терапија релапса/рефракторне болести (R/R)

Релапсни или рефракторни (R/R) DLBCL јавља се у 45% до 50% болесника који не одговоре на стандардну имунохемотерапију (R-CHOP) односно на терапију спасавања („salvage“ therapy) и ASCT. Повезан је генерално са лошом прогнозом

Релапс DLBCL – појава болести након завршеног лечења применом најмање једне терапијске линије уз искључење примарно рефрактарног DLBCL. Рани релапс је уколико се јави до 12 месеци, а касни релапс уколико се јави након 12 месеци од завршеног лечења.

Рефракторни DLBCL – је рефракторна болест у болесника који нису постигли клинички одговор нивоа клиничке ремисије или парцијалног одговора према Лугано критеријумима одговора на терапију.

Избор терапије зависи од животног доба, општег стања, коморбидитета, ефекта и нежељених ефеката претходне терапије, броја терапијских линија, типа релапса, дужине трајања ремисије.

Терапија спасавања („salvage“ therapy):

Примењују се два до три циклуса терапије спасавања („salvage“ therapy) (NCCN Guidelines Version 1.2023; Freedman и сар., UpToDate Version 2022).

Најчешће примењивани протоколи су:

- R-ICE (енгл. rituximab, ifosfamide, carboplatin and etoposide)
- R-DHAP (енгл. rituximab dexamethasone cytarabine cisplatin)
- R-GDP (енгл. rituximab gemcitabine dexamethasone cisplatin)
- R-GEMOX (енгл. rituximab gemcitabine oxaliplatin)

Мултицентрична студија фаза 3 (CORAL) је испитивала ефикасност терапија, R-ICE vs R-DHAP, која није доказала супериорност оба протокола (Gisselbrecht и сар., 2010) са трогодишњим праћењем (PFS: 31% vs 42%; OS: 47% vs 51%). Прогностички утицај хистопатолошких подтипова DLBCL према COO остаје мање јасан. Додатна студија, као подскуп података CORAL студије (Bio-CORAL) је показала да је примена протокола R-DHAP боља у лечењу GCB типа DLBCL (Thieblemont и сар., 2011) са двогодишњим PFS (72% vs 51%) и OS (83% vs 62%), док многе друге студије нису то показале (Costa и сар., 2017; Gu и сар., 2012).

Аутолога трансплантација матичним ћелијама хематопоезе (ASCT):

Неопходни вид лечења болесника са R/R DLBCL је примена „високо дозне“ хемотерапије са потпором аутологим матичним ћелијама хематопоезе (енгл. autologous stem cell transplant- ASCT) након два до три циклуса хемотерапије спасавања у болесника који испуњавају критеријуме за трансплантацију и који испољавају сензитивност на хемотерапију спасавања (Lekakis и сар., 2019; Zahid и сар., 2017; Nirav и сар., 2021). Укупна стопа излечења је 25 - 35% након ASCT.

Мобилизациони протокол се спроводи применом G-CSF (10 mcg/kg/d s.c.) и један од циклуса хемотерапије спасавања. Извор матичних ћелија хематопоезе је периферна је крв. Оптимална број ћелија је 3×10^6 CD34+/kg. Најчешћи кондициони режими који се користе су BEAM (енгл. BCNU, etoposide, cytarabine and melphalan) и CVB (енгл. cyclophosphamide, vincristine and prednisone) (Chen и сар., 2015).

Сprovedено је више студија за кондиционирање, али су стандард претходно наведена два кондициона режима. Једна студија је показала да додаток ритуксимаба режиму кондиционирања (BEAM vs R-BEAM) није имао утицај на исход (Jagadeesh и сар., 2020). Рандомизована студија фаза 3 (BMT CTN 0410) је упоређивала ефикасност кондиционих режима R-BEAM vs B-BEAM (Јод-131 тоситумомаб- BEAM), доказала је да су сличне двогодишње стопе PFS (48,6% vs 47,9%) и OS (65,6% vs 61%) за болеснике са релапсом DLBCL осетљивог на хемотерапију. Нису забележене разлике у токсичности осим мукозитиса који је израженији у групи са B-BEAM (Vose и сар., 2013). Терапија одржавања ритуксимабом након ASCT се не препоручује (Gisselbrecht и сар., 2012). Мултицентрична студија фаза 2 је испитивала ефекат примене консолидационе терапије пембролузимабом након ASCT, која није доказала побољшање стопе PFS (59%) током 18 месеци (Frigault и сар., 2020).

Алогена трансплантација матичним ћелијама хематопоезе

Алогена трансплантација матичним ћелијама хематопоезе је индикована код млађих болесника са релапсом након аутологе трансплантације матичним ћелијама хематопоезе (Lekakis и сар., 2019; Fenske и сар., 2016) и код који се не могу применити терапије: терапија Т-ћелијским рецептором химерних антигена (CAR-T), биспецифична терапија укључивања Т-ћелија (BiTE) или коњугати антителио-лек (ADC). Генерално трећина болесника са релапсом DLBCL након ASCT има шансу за трогодишњи релапс болести. Исход након алогене трансплантације (alo-HCT) је лошији уколико је у време алогене трансплантације, болест била хеморефракторна, болесник лошег општег стања

(PS /performans status/ < 80%) и ако је релапс болести био унутар годину дана иза аутологе трансплантације.

Зрачна терапија (RT) релапса/рефракторни (R/R)

Након трансплантације (ASCT), релапс болести се јавља код 76% болесника на првобитној локализацији болести. Проспективна и рандомизована студија (PARMA) је испитивала улогу консолидативне зрачне терапије у предео „велике туморске масе“ (>5 цм) и уочено је да болесници код којих је спроведена зрачна терапија ређе релапсирају (36% vs 55%) (Thierry и сар., 1995). Током протекле две деценије, извештаји указују на чест локални релапс или рефракторну болест и поред постигнутог системског одговора. У извештају са Универзитета у Рочестеру наводи се да 40% болесника у раној фази и 76% у узнапредовалој фази DLBCL је развило релапс болести на местима почетне локализације (Dhakar и сар., 2016). У склопу лечења R/R DLBCL потребно је применити зрачну терапију и код болесника који су кандидати за ASCT и код болесника који не испуњавају критеријуме за ASCT (Ng и сар., 2018). Посебно је индикована код релапса скелета или уколико туморска маса врши компресију кичмене мождине, код синдрома горње шупље вене или код опструкције гастроинтестиналног или уролошког тракта. Поставља се питање које је најбоље време да се спроведе зрачна терапија код кандидата за ASCT. Примена RT пре или после ASCT има своје предности и недостатке (Carreras и сар., 1998; Fox и сар., 2012; Pinnix и сар., 2015). До сада није утврђена тачна стопа поређења у времену спровођења RT (Wirth и сар., 2005).

Терапија Т-ћелијским рецептором химерних антигена (CAR-T)

Терапија Т-ћелијским рецептором химерних антигена (енгл. Chimeric antigen receptor T-cell therapy-CAR-T) је облик у којој се геном који кодира CAR (CAR ген) уводи коришћењем вирусног вектора у болесникове Т лимфоците у циљу њиховог усмеравања против лимфома (June и сар.,2018). Од стране FDA (Америчка администрација за храну и лекове) су одобрена три аутологна производа CAR-T ћелија за лечење R/R DLBCL након примене две терапијске линије: lisocabtagene maraleucel (liso-cel), axicabtagene ciloleucel (axi-cel) и tisagenlecleucel (tisa-cel) (Wang и сар.,2020;Susanibar-Adaniya и сар.,2021;Freedman и сар., UpToDate Version 2022). Препорука је да се за лечење раног релапса или примарно рефракторног DLBCL користи CAR-T терапија док се за лечење касног релапса терапија спасавања и ASCT. Од нежељених ефеката наводи се фаталан синдром ослобађања цитокина (енгл. Cytokine release syndrome-CRS) и неуротоксичност.Студије су показале супериорност liso-cel и axi-cel над аутологом трансплантацијом док није доказана за tisa-cel.

Lisocabtagene maraleucel (liso-cel) је одобрен на основу испитивања мултицентричне студије фазе 1 (TRANSCEND NHL 001) која је показала постизање високе стопе терапијског одговора (ORR 73%) и клиничке ремисије (CR 53%) у једноипогодишњем праћењу болесника (Abramson и сар.,2020).

Рандомизована студија фаза 3 (TRANSFORM) је испитивала ефикасност liso-cel vs ASCT. Доказала је да болесници који су третирани са liso-cel касније релапсирају (PFS:15 месеци vs 6 месеци), постижу већу стопу терапијског одговора (ORR: 86% vs 48%) и клиничке ремисије (CR: 61% vs 36%), док укупно преживљавање (OS) није постигнуто у односу на шеснаест месеци са средњим праћењем од шест месеци (Kamdar и сар.,2021). Такође је примена liso-cel била повезана са побољшаним квалитетом живота (Abramson и сар.,2021).

Axicabtagene ciloleucel (axi-cel) је одобрен на основу испитивања мултицентричне студије фазе 1 (ZUMA-1) која је показала постизање високе стопе терапијског одговора (ORR 83%) и клиничке ремисије (CR 54%) (Neelapu и сар.,2017). У двогодишњој анализи ZUMA-1, применом axi-cel у лечењу R/R DLBCL закључено је да се постижу брзи одговори и дуготрајна контрола болести уз обнављање поликлоналних Б ћелија и без последичних секундарних малигнитета (Locke и сар.,2019). Међутим, терапија axi-cel је била праћена озбиљним нежељеним догађајима степана три, укључујући неуротоксичност и CRS. У четворогодишњој анализи ZUMA-1, axi-cel је показао дуже укупно преживљавање код болесника без EFS догађаја у 12. и 24. месецу у односу на болеснике са догађајима у овим временским тачкама (Jacobson и сар.,2021). Axi-cel терапија је довела до значајних побољшања, бољем укупном преживљавању са очекиваном токсичношћу високог степена у поређењу са стандардним лечењем (Locke и сар.,2022) што је доказано у рандомизованој студији фазе 3 (ZUMA-7) са ORR (83% vs 50%), CR (65% vs 32%), двогодишњи OS (61% vs 52%) и PFS (14,7 месеца vs 3,7 месеца).

Рандомизована студија фазе 2 (ZUMA-12) је показала да је axi-cel ефикасна као прва линија терапије високоризичних DLBCL са токсичношћу која се може купирати терапијом (Neelapu и сар.,2022).

Tisagenlecleucel (tisa-cel) је одобрен на основу испитивања мултицентричне студије фазе 2 (JULIET) која је показала (Schuster и сар.,2021; Schuster и сар.,2019) постизање високе стопе терапијског одговора (ORR 52%) и клиничке ремисије (CR 40%). Рандомизована студија фаза 3 (BELINDA) је испитивала ефикасност tisa-cel vs ASCT (или само терапија спасавања), којом није доказана супериорност tisa-cel (Bishop и сар.,2022). Обзиром да је уочена стопа преживљавања без релапса болести око 65% у првој години праћења, сматра се да примена tisa-cel може изазвати трајни одговор лечења, када се примени код болесника са прогресијом болести након ASCT или код болесника који нису били подобни за ASCT (Schuster и сар.,2019).

Упркос значајним клиничким одговорима који се постижу применом CAR-T терапије, токсичност терапије, трајност одговора су главни недостаци који ограничавају клиничку употребу CAR-T терапије (Wang и сар.,2020). Једна ретроспективна студија је спровела испитивање узрока и фактора ризика релапса болести након CAR-T који се јавља у 49% болесника, најчешће у току првог месеца. Фактори ризика су били повишена вредност CRP, LDH, више од две екстранодалне локализације и висок волумен метаболичког тумора у време лечења (Vercellino и сар., 2020). Релапс је повезан са губитком CD19 (Bukhari и сар., 2019) или са повећаном регулацијом PD-1 на CAR-T ћелијама или PD-L1 на туморским ћелијама (Neelapu и сар.,2017).У циљу смањења појаве релапса, настале су више студија чији је циљ да се испита комбинација CAR-T терапије и PD-1/ или PD-L1 инхибитора или примена двоструких („dual“) CAR-T ћелија.

Рандомизована студија фаза 1 (ZUMA-6) испитује ефикасност и безбедност комбинације axi-cel и атезолизумаба као инхибитора PD-L1 (Jacobson и сар., 2018). У току је фаза 2 исте студије, када ће се приказати резултати.

Рандомизована студија фаза 1b (PORTIA ((NCT03630159)) испитује ефикасност примене инхибитора PD-1 (пембролизумаб) у комбинацији са tisa-cel, показала је да је tisa-cel ефикаснији уколико се пембролизумаб да дан раније. За сада нису објављени коначни закључци због ограниченог узорка и кратког временског периода праћења (Jaeger и сар.,2019).

Рандомизована студија фаза 1/2 (NCT02650999) испитује ефикасност примене инхибитора PD-1 (пембролизумаб) након CAR-T терапије која је била ефикасна и безбедна код 25% болесника (Chong и сар.,2017).

Двоструке („dual“) CAR-T ћелије циљају на CD19 и CD20 или CD22. Рандомизована студија фаза 2 (NCT03207178) испитује ефекат комбинације анти-CD19 и анти-CD20 CAR-T ћелија, која је показала високу стопу постизања одговора (ORR: 81%) и клиничке ремисије (CR: 52,4%), са просечним релапсом за 5 месеци и просечним укупним преживљавањем од 8,1 месец код 21 болесника (Sang и сар.,2019). Док је рандомизована студија фаза 1 испитује ефекат комбинације комбинације анти-CD19 и анти-CD22 CAR-T ћелија, која је показала постизање одговора (ORR: 60%) код пет болесника (Hossain и сар.,2018). Ефекат комбинације првог бицистронске анти-CD19/CD22 CAR-T ћелије (AUTO3) уз пембролизумаб је у испитивању, у склопу рандомизоване студије фаза 1 са прелиминарним резултатима, стопом ORR око 75% и CR око 63% (Ardehna и сар.,2019; Osborne и сар.,2020).

Један од могућих разлога релапса болести након CAR-T терапије може бити и стимулација колоније гранулоцита-макрофага (GM-CSF) од стране CAR-T ћелија (Giavridis и сар.,2018) што доводи до производње цитокина и развоје нежељених ефеката CAR-T терапије (Spath и сар.,2017). У циљу смањења GM-CSF у терапији се може применити хумано моноклонско антитело лензилумаб. У току је мултицентрична студија фазе 1/2 (2103 ZUMA-19) која испитује ефикасност комбинације лензилумаба и ахи-сел у спречавању нежељених ефеката у виду неуротоксичност и CRS (Kenderian и сар.,2020), док ће се први резултати објавити након укључења 30 болесника и након праћења од најмање шест месеци.

Биспецифична терапија укључивања Т-ћелија (BiTE)

Биспецифична терапија укључивања Т-ћелија (енгл. Bispecific T cell engagers -BiTE) су антитела формирана од два једноланчана варијабилна фрагмента и која имају специфичност везивања за два различита антигена. Различити BiTE циљају на CD20 на Б ћелијама и ангажују Т ћелије путем CD3 у 1:1 или 2:1 CD20:CD3 Fab формату што доводи до „убијања“ туморских ћелија посредованих Т ћелијама. BiTE ћелије могу стимулирати лучење цитокина, да промене микросредину тумора што резултира бујању тумора (Ross и сар.,2017; Spear и сар.,2012; Slaney и сар.,2018). Запажено је да BiTE ређе изазивају неуротоксичност и CRS у односу на терапију са анти- CD19 антителом. Праћењем ефекта ове терапије је кратко и остаје да се утврди трајност одговора.

Мосунетузумаб (Mosunetuzumab) је хуманизовано IgG1 CD20/CD3 биспецифично антитело.

Рандомизоване студије фаза 1/16 (GO29781; NCT02500407) су испитивале ефикасност мосунетузумаба у лечењу R/R DLBCL као друге линијске терапије и лечење релапса болести након CART-T терапије. Доказале су стопу ORR од 42,2% и CR од 18,6%, док је у групи болесника који се претходно лечени CART-T терапијом постигнут је ORR у 39% и CR у 22%. Нежељени ефекти су уочени у 44% болесника у виду CRS и неуролошких испада (Schuster и сар.,2019). Иста студија процењује ефекат субкутаног мосунетузумаба у ескалационим дозама којим се постиже ORR у 60% и CR у 20% код 15 болесника са R/R агресивним DLBCL. Такође је примећено да субкутано давање лека је повезано са смањењем појавом CRS у односу на интравенозно давање (Matasar и сар., 2020).

Глофитамаб (Glofitamab) је биспецифично антитело са структуром 2:1 са бивалентношћу за CD20 Б ћелија и моновалентношћу за CD3 на Т ћелијама.

Рандомизована студија фаза 1 (NP30179) испитује ефекат ескалационих доза глофитамаба у лечењу R/R DLBCL нивоа друге линијске терапије која показује честе и трајне клиничке ремисије (84,1% болесника има континуирану у периоду праћења од 27,4 месеца) и предвидљив безбедносни профил (Hutchings и сар.,2021). Рандомизована студија фаза 1b (NCT03075696) испитује ефикасност ескалационих доза глофитамаба са обнитузумабом пре лечења са стопом одговора (ORR 60,7%), уз нежељене ефекте степена 2. Закључено је да ескалација дозе глофитамаба може да буде стратегија за ублажавање CRS-а (Hutchings и сар.,2020).

Епкоритамаб (Epcoritamab) је поткожно CD20/CD3 биспецифично антитело.

Рандомизована студија фазе 1/2 је испитивала ефекат примене епкоритамаба у болесника са R/R DLBCL, показала је да се применом дозе од ≥ 12 mg постиже стопа одговора (ORR 66,7%) и клиничка ремисија (CR 33,3%), док у дози од ≥ 48 mg бележи се већа стопа одговора (ORR 100%) уз CR 28,6% (Hutchings и сар.,2020)

Коњугати антитело-лек (ADC)

Коњугати антитело-лек (енгл. Antibody-drug conjugate - ADC) су сложени молекули који селективно испоручују цитотоксичне агенсе у ћелије тумора коњугацијом моноклонског антитела које је усмерено ка циљном антигену на површини туморске ћелије.

Брентуксимаб ведотоин (Brentuximab vedotoin-BV) је коњугат анти-CD30 антитело-лек. CD30 је експримиран на 20% и више туморских ћелија у око 15% новодијагностикованих DLBCL. Повезаност између стопе одговора и експресије CD30 у DLBCL није јасно дефинисана (Hu и сар.,2013; Kim и сар.,2019). Рандомизована студија фаза 2 (NCT01421667) је показала да применом брентуксимаб ведотоина у лечењу R/R DLBCL се постиже стопа одговора, ORR 44% (Jacobsen и сар.,2015). Потребан је минималан праг експресије CD30 од 1% за антитуморско дејство брентуксимаб ведотоина у DLBCL (Bartlett и сар.,2017). Мултицентрична студија фаза 1/2 (NCT01994850) је прва студија која је испитивала ефикасност комбинације BV-R-CHP (брентуксимаб ведотоин, ритуксимаб, циклофосфамид, доксорубицин, преднизон) у лечењу R/R DLBCL, која је показала да се постиже висока стопа одговора (ORR 100%) и клиничке ремисије (CR 85%) (Svoboda и сар.,2021).

Полатузумаб ведотоин (Polatuzumab vedotoin-PoV) је коњугат антитело-лек усмерен на CD79b. Рандомизована студија фаза 2 је упоређивала ефикасност PoV-BR (полатузумаб ведотоин, ритуксимаб, бендамустин) vs BR, показала је да током двогодишњег праћења постиже статистички значајна стопа одговора (ORR 45% vs 17,5%) и клиничка ремисија (CR 40% vs 15%). Протокол PoV-BR је одобрила FDA као трећу линију терапије R/R DLBCL (Sehn и сар.,2020). Мултицентрична студија фаза 1b/2 је тестирала ефикасност комбинације анти-CD20 антитела са PoV уместо винкрестина R- PoVCHP vs G-PoVCHP, која показала добру ефикасност (ORR 89%; CR 77%) уз блажи степен периферне неуропатије као нежељеног ефекта (Tilly и сар.,2019). Рандомизована студија фаза 3 (POLARIX) је упоређивала ефикасност PoV-R-CHP vs R-CHOP као прве линије терапије, која је показала бољи одговор, каснији релапс у групи болесника који су лечени полатузумаб-ведотоином у комбинацији са R-CHP (Tilly и сар.,2019). Рандомизована студија фаза 3 (POLARGO) је испитивала ефикасност полатузумаб-ведотоина у комбинацији са R-GemOx (ритуксимаб, гемцитабин, оксалиплатина) у лечењу R/R DLBCL као друге линије терапије (McMillan и сар.,2019).

Лонкастуксимаб (Loncastuximab tesirine-ADCT-402) је коњугат антителино-лек усмерен на CD19. Мултицентрична студија фаза 2 (LOTIS-2) је испитивала ефикасност лонкастуксимаба у лечењу R/R DLBCL, показала је добар безбедности профил и да је потенцијално нова терапијска опција за лечење R/R DLBCL код којих је претходно примењено више терапијских линија (Caimi и сар.,2021). Постиге се ORR 45,6% и CR 26,7% (Hamadani и сар.,2021).

Анти CD20 антитела

Офатумубаб (Ofatumumab) је друга генерација анти- CD20 антитела.

Рандомизована студија фаза 2 (ORCHARDD) је упоредила ефикасност офатумубаба (О) и ритуксимаба (R) у комбинацији са протоколом спасавања DHAP (дексаметазон, високе дозе цитарабин, цисплатина), O-DHAP vs R-DHAP, која није показала разлику у ефикасности ова два комбинована режима (CR:38% vs 42%) са двогодишњим PFS (24% vs 26%) и двогодишњим укупним преживљавањем (OS:41% vs 38%) (van Imhoff и сар., 2017).

Рандомизована студија фаза 2 (PLRG-8) испитује ефикасност комбинације офатумубаба и протокола IVAC (O-IVAC) (офатумубаб –ифосфамид, етопосид, цитарабин) у лечењу болесника са R/R DLBCL који нису кандидати за ASCT, која је доказала ORR 51% и петогодишњи OS од 30% (Paszkievicz-Kozik и сар., 2017).

Обинутузумаб (Obinutuzumab) је трећа генерација анти- CD20 антитела.

Рандомизована студија фаза 2 (GALEN) је испитивала ефикасност комбинације G(обинутузумаб) и леналидомида у лечењу R/R DLBCL, која је показала постизање стопе одговора (ORR 36,5%), након шест циклуса хемотерапије (ORR 95%) и бољу ефикасност код non-GCB/ABC типа (Houot и сар., 2019).

Анти CD19 антитело

Тафаситамаб (Tafasitamab, Tafa –MONJUVI, MOR208) је хуманизовано Fc модификовано анти-CD19 моноклонско антитело које појачава ћелијску цитотоксичност и фагоцитозу зависну од антитела.

Рандомизована студија фаза 2 (L-MIND) је испитивала ефикасност комбинације тафаситамаба и леналидомида у лечењу R/R DLBCL, доказавши високу стопу одговора (ORR 60%), CR 43%, медијана PFS је била 12,1 месец уз просечно праћење од 17,3 месеца. Након ове студије је одобрена ова комбинација од стране FDA за лечење болесника са R/R DLBCL који нису кандидати за ASCT (Salles и сар.,2020). У току је регрутовање болесника са R/R DLBCL за студију фаза 3 (NCT02763319) која ће упоредити ефикасност и безбедност комбиноване терапије Tafa+R vs Tafa+B (бендамустин) (Wang и сар.,2020).

Инхибитори контролне тачке:

Од инхибитора контролне тачке највише је проучаван ефекат инхибитора PD-1 и PD-L1. Уочено је да је експресија PD-1 и PD-L1 на туморским ћелијама износи 1,63% и 43,48%, односно њихова експресија на ћелијама микросредине је 11,41% и 26,09% (Haining и сар.,2019). Од инхибитора PD-1 испитивана је ефикасност пембролизумаба и ниволумаба, а од инхибитора PD-L1 атезолизумаб, дурвалумаб, авелумаб (Sheikh и сар.,2019).

Инхибитори PD-1 су тестирани у R/R DLBCL, као консолидација после ASCT и као опција прве линије терапије, у виду монотерапије или у комбинованом режиму.

Ниволумаб (Nivolumab) је инхибитор PD-1. У првој рандомизованој студији фаза 1b (NCT01592370) је испитиван ефекат монотерапије ниволумаба у лечењу R/R DLBCL,

која је показала стопу одговора (ORR 36%) и добру толеранцију лека (Lesokhin и сар.,2016). Рандомизована студија фаза 2 (NCT02038933) је тестирала ефекат примене монотерапије ниволумаба у лечењу болесника са R/R DLBCL који нису кандидати за ASCT и болесника који су обновили болест након ASCT. Показала је добар безбедносни профил, али је стопа одговора била ниска у обе групе (ORR 3% vs 10%), медијана PFS (1,4 месеци vs 1,9 месеци) и медијана OS (5,8 месеци vs 12,2 месеци) (Ansell и сар.,2019).

Пембролизумаб (Pembrolizumab) је инхибитор PD-1.

Мултицентрична студија фаза 2 је испитивала ефекат примене консолидационе терапије пембролизумабом након ASCT, која није доказала побољшање стопе PFS (59%) током 18 месеци (Frigault и сар., 2020).

У једној студији је објављено да примена комбинованог режима пембролизумаб и R-CHOP (PRCHOP) у склопу лечења R/R DLBCL доводи до високе стопе одговора (ORR 90%), клиничке ремисије (CR 77%) и двогодишњег PFS у 83% (Smith и сар. 2020).

Атезолизумаб (Atezolizumab) је инхибитор PD-L1.

Примена инхибитора PD-1 (пембролизумаб) и примена инхибитора PD-L1 (атезолизумаб) може да премости резистенција CAR-T ћелија због чега се спроводи истраживање у оквиру студија ZUMA-6 (Jacobson и сар., 2018) и PORTIA (Jaeger и сар.,2019).

Авелумаб (Avelumab) је инхибитор PD-L1.

Резултати завршене студије фазе 3 (NCT 02951156) која је испитивала ефекат примене комбинованог режима са авелумабом нису још објављени. (Wang и сар.,2020).

Селективни инхибитори нуклеарног транспорта

Селинексор (Selinexor) је орални селективни инхибитор експортина 1 (KSP01) који индукује језгро акумулације и активира туморске супресорске протеине и смањује нивое онкопротеина.

Мултицентрична студија фаза 2b (SADAL) је испитивала ефикасност примене селинексора, доказала је стопу одговора, ORR 28% (CR 15%; PR 21%), уз хематолошке нежељене ефекте високог степена, током праћења од 27 месеци. Употреба овог лека је одобрена од стране FDA за лечење болесника са R/R DLBCL након примене најмање две терапијске линије, код болесника са прогресијом болести након ASCT и CAR-T терапије (Kalakonda и сар.,2020).

Имуномодулатори

Од имуномодулатора највише је проучаван ефекат леналидомида који инхибицијом нисходне NF-κB сигнализације доводи до директне цитотоксичности тумора.

Леналидомид (Lenalidomid): показало се да је ефикасан у лечењу R/R DLBCL у виду монотерапије или у виду комбинованог режима. Мета анализа је показала да примена монотерапије леналидомида у склопу лечења R/R DLBCL је подношљива и да је бољи одговор на терапију су имали болесници са non-GCB/ABC типом DLBCL (Li и сар., 2021). Слично је показано и у другој студији (Hernandez-Ilizaliturri и сар.,2011). Спроведена су истраживања у склопу лечења R/R DLBCL, уколико се леналидомид комбинује са различитим протоколима хемотерапије спасавања: леналидомид дода протоколу R-ICE (RICER-ритуксимаб, ифосфамид, карбоплатина, етопосид, леналидомид) (Feldman и сар.,2014), потом леналидомид у комбинацији са R-ESHAP

(ритуксимаб, цисплатина, етопозид, цитарабин, метилпреднизолон) у оквиру студије фаза 1b (GELTAMO) (Martin и сар.,2016), којима је доказана лака изводљивост и охрабрујући резултати. Код старијих болесника са R/R DLBCL примена леналидомида и ритуксимаба даје обећавајуће стопе одговора (Zinzan и сар.,2016).

Мултицентрична, нерандомизована студија фаза 2 је испитивала ефикасност комбинованог режима IR2 (ибрутиниб, леналидомид, ритуксимаб), која је показала постизање трајних одговора уз нежељене ефекте (неуtropенија, анемија, умор, кашаљ, дијареја, периферни отоци) у складу са безбедносним профилем (Ramchandren и сар.,2023).

Инхибитори брутон тирозин киназе (ВТК)

Инхибитори брутон тирозин киназе (енгл.Bruton protein-tyrosine kinase -ВТК)

испољавају своју цитотоксичност тумора тако што блокирају хроничну активацију BCR сигнализације. Тренутно постоји релативно мали број клиничких истраживања ових лекова у лечењу R/R DLBCL.

Ибрутиниб (Ibrutinib) је ковалентни инхибитор Брутон тирозин киназе.

Једна ретроспективна студија је испитивала ефикасност монотерапије ибрутинибом и комбинованих режима (Ибрутиниб + Ритуксимаб, Ибрутиниб + Леналидомид + Ритуксимаб). Комбинована терапија је била ефикаснија од монотерапије. Триплет комбинација је показала најбољу ефикасност (Rep и сар., 2022). Рандомизована студија фаза 1 (NCT02219737) је испитивала ефикасност комбинације ибрутиниба са R-ICE у лечењу R/R DLBCL, показала је добру подношљивост и ефикасност посебно у групи са non-GCB/ABC типом DLBCL (Sauter и сар.,2018).

Инхибитори BCL2

Примена инхибитора BCL2 највероватније биће ефикасна у групи болесника са non-GCB/ABC типом DLBCL са екстранодалном болешћу и у групи са GCB типа кластера 3 (Charu и сар., 2018).

Венетоклакс (Venetoclax) је орални Bcl-2 инхибитор. Ефекат Bcl-2 инхибиције се огледа у блокади антиапоптогичког ефекта Bcl-2 (Vaux и сар.,1988).

Рандомизована студија фаза 1 која испитује ефикасност ескалационих доза монотерапије венетоклаксом у лечењу R/R DLBCL је показује стопу одговора (ORR 18%) са медијаном PFS од једног месеца, уз добру подношљивост и препоручену дозу венетоклакса од 1200 мг (Davids и сар., 2017).Ретроспективна кохортна студија фаза 1/2 процењивала употребу лека за спасавање венетоклакса истовремено са терапијом код 34 болесника са R/R DLBCL.Уочен је ORR 26%, CR 3%, средњи PFS од два месеца са препорученом дозом од 400 мг (Hughes и сар.,2019).

1.12 ПОЛИМОРФИЗАМ *BCL2*, *TP53*, *FCGR3A*, *FCGR2A* И *ATG16L1* ГЕНА

Полиморфизми гена чине више до 90% свих варијација у геному. У оквиру хаплотипова или самостално, полиморфизми гена могу утицати на фенотипске одлике болести, могу да мењају генску експресију и функцију кодирајућег протеина што доприноси патогенези лимфома. Такође, могу утицати на модулацију ефеката антинеопластичне терапије у лимфопрлиферативним болестима. Ипак, највећи број до

сада откривених полиморфизама гена, на основу својих биолошких карактеристика не припадају функционално важним алтерацијама.

Полиморфизам једног нуклеотида (енгл. single nucleotide polymorphism-SNP) претставља варијацију у једном нуклеотиду ДНК секвенце која се испољава код најмање 1% опште популације. У геному је детектовано више од 60 милиона SNP при чему се више од 50% њих налази у кодирајућем региону (Halushka и сар.,1999). Уколико су SNP локализовани у промотер регионима, утичу на везивање фактора транскрипције и доводе до промена у генској експресији. Ефекти SNP кодирајућих региона гена могу да мењају структуру и функцију кодирајућих протеина. Уколико се налазе у некодирајућим секвенцама, SNP могу да утичу на спајање гена. Такође, значајни су и за епигенетичке феномене уколико интерферирају са дугим некодирајућим местима везивања РНК (Huang и сар.,2015).

У нашем истраживању анализирани су полиморфизми гена за *BCL2*, *TP53*, *FCGR3A*, *FCGR2A* и *ATG16L1* код дифузног Б крупноћелијског лимфома.

***BCL2* ген, *BCL2* протеин, полиморфизми *BCL2* гена**

Протеини из породице BCL-2 (B-cell lymphoma 2) претстављају кључне регулаторе апоптозе који делују преко унутрашњих или екстринзичких путева на спољашњој митохондријалној мембрани. У здравим ћелијама, ови регулатори, који могу деловати проапоптотски или антиапоптотски, се држе у финој, деликатној равнотежи. Уствари, они могу утицати да ћелије неповратно крену ка ћелијској смрти или, са друге стране могу дозволити да ћелије трајно избегну апоптозу и од себе направе малигни клон.(Carneiro и сар.,2020). Током протекле две деценије, чланови породице BCL2 су идентификовани и класификовани према њиховим доменима и функцијама. Претставници антиапоптотичних протеина су сам Bcl-2и Bcl-2-XL, а главни проапоптотични протеини ове породице су BAX и Bak (Luna-Vargas и сар.,2016).

BCL2, протеин од 26 кДа је најпознатији антиапоптотички протеин из породице протеина BCL2. Налази на спољној мембрани митохондрија а може да се види и у нуклеарном омотачу (Coqu и сар.,2002). Може да инхибира апоптозу формирањем хетеродимера са BAX (енгл. BCL2-associated X protein -BAX) и обезбеди опстанак ћелије регулацијом концентрације калцијума и антиоксидативног ефекта. (Park и сар.,2021).

Ипак, BCL2 није иницијално препознат као регулатор процеса апоптозе већ као протоонкоген у Б-ћелијском лимфому. (Hockenbery и сар.,1990). Инхибира активности каспаза-9, 3, 6 и 7 (Arbab и сар.,2012), чиме инхибира апоптозу и продужава време преживљавања туморских ћелија и изазива малигну трансформацију ћелија (Siddiqui и сар.,2015). Такође, доприноси репарацији оштећене ДНК и ћелијског циклуса (Adams и сар.,2018). Канцерогенеза је обично повезана са абнормалном експресијом протеина из породице BCL2. Многа истраживања су се бавила испитивањем експресије BCL2 протеина код различитих малигнитета укључујући карцином дојке, желуца, простате, хепатоцелуларни карцином. Ниво експресије BCL2 протеина у многим ћелијама карцинома се значајно повећао, чинећи туморске ћелије неосетљивим на апоптотичке сигнале што доприноси развоју малигног клона (Klanova и сар.,2020; Sia и сар.,2017).

У патогенези лимфома, Б ћелије су подвргнуте широком спектру стресних стимулуса (de Charette и сар.,2018), укључујући активацију онкогена, оштећење ДНК и недостатак кисеоника и цитокина, што доприноси избегавању апоптозе. BCL2 протеин има значајну улогу у развоју и диференцијацији Б-ћелија (Adams и сар.,2018; Klanova и сар.,2020; Montero и сар.,2018). Повећана експресија BCL2 протеина услед транслокације t(14;18) се среће код око 30% пацијената са DLBCL (Tang и

сар.,2017;Opferman и сар.,2018). Резултати савремених истраживања која се баве испитивањем високе експресије *BCL2* у Б-ћелијском лимфому значајно доприносе развоју нових терапијских модалитета који се заснивају на инхибицији антиапоптогског *BCL2* (Adams и сар.,2019). Код болесника са DLBCL који су лечени СНОР или СНОР сличним режимима, прекомерна експресија *BCL2* се сматрала фактором резистенције на лекове што доприноси лошем преживљавању (Horn и сар.,2013;Tang и сар.,2017; Miao и сар.,2019). Новија истраживања указују да ритуксимаб има способност модулације сигналних путева у ћелији који регулишу експресију *BCL2*, посебно у *BCL2* позитивних DLBCL (Park и сар.,2009;Wang и сар.,2020). Практично се сугерише да би клинички утицај *BCL2* у пост-ритуксимаб ери требало проценити у контексту молекуларних подтипова и различитих механизма његове прекомерне експресије (Bashash и сар.,2017).

Лоциран на хромозому 18q21.33, ген *BCL2* је први пут откривен клонирањем региона тачке прекида t (14;18) транслокације. Као резултат ове транслокације, ген *BCL2* на 18q21 је постављен у јукстапозицију са локусним регионом тешког ланца имуноглобулина на 14q32 (Tsujimoto и сар.,1985). *BCL2* ген има шест ексона и два различита функционална промотера, промотер 1 (P1) и промотер 2 (P2), а на први промотер утиче негативна регулација другог промотера (Tsujimoto и сар.,1985). Више од 95% транскрипције *BCL2* је покренут од стране P1. P2 је углавном индуцибилни промотер и покреће мали део *BCL2* транскрипције (Young и сар.,1993).

На експресију *BCL2* може утицати хипометилација промотера, хипермутација или полиморфизми једног нуклеотида. (Adams и сар.,2019; Ghani и сар.,2021). Постоји све више доказа да полиморфизми гена *BCL2* могу да се доведу у везу са склоношћу за настанак малигног процеса као и са његовом прогнозом (Yao и сар.,2017). Парк и сарадници (2004) су били први који су открили полиморфизам *BCL2* (-938C>A), који касније постаје један од најпроученијих полиморфизама гена у разним хематолошким и нехематолошким малигнитетима . Алел -938C је повезан са повећаном активношћу P2 промотера, а самим тиме и смањеном транскрипционом активношћу *BCL2* гена и експресијом протеина (Reham и сар.,2022; Zawam i sar.,2021).

***P53* ген, *P53* протеин (тумор протеин-TP53), полиморфизми *P53*гена**

P53 ген, познат и као ген тумор протеина (*TP53*) је један од најчешће изучаваних гена у хуманим малигнитетима и назива се „чувар генома“. Има кључну улогу у сложеној мрежи сигналних путева одговорних за регулацију ћелијског циклуса и апоптозе. Налази се на кратком краку хромозома 17 (Martin и сар.,2002). TP53, његов продукт, је по својој структури једарни фосфопротеин који контролише ћелијски циклус (у G1 и G2 фази) и апоптозу ћелија одговарајући на ненормалне пролиферационе сигнале и стрес, укључујући и оштећење DNK (Vogelstein и сар.,1992). У физиолошким условима код здравих ћелија које нису изложене стресу протеин P53 се везује за MDM-2, JNK или Pirh који преко пута убиквитин протеозома промовишу његову деградацију (Palmero и сар.,1996). Код оштећења DNK различитим механизмима или након излагања ћелије стресу, долази до активације гена *TP53*, који учествује у отклањању насталог оштећења. Може се рећи да је главна биолошка функција TP53 да сачува нормалну DNK ћелија. У почетној фази оштећења DNK, TP53 зауставља ћелијски циклус у G1 фази у циљу поправке оштећења путем транскрипције (He и сар.,2020). Након поправке, ћелије могу да наставе свој ћелијски циклус (Safaro и сар.,2020). TP53 испољава тумор супресорску активност путем транскрипционо-зависног деловања у једру (регулише транскрипцију гена укључених у регулацију ћелијског циклуса, репарацију DNK, апоптозу и метаболизам ћелије) или независно од

транскрипције (индукција апоптозе и аутофагије) (Xiu-Monette и сар., 2012; Subburayan и сар.,2018; Mijit и сар.,2020).

Многа истраживања су усмерена на значајну улогу *TP53* а то је спречавање малигне алтерације, с обзиром да је ген који је најчешће мутиран у различитим малигнитетима. Мутације гена (до сада је описано око 21.000 различитих мутација гена *P53* код различитих малигнитета) или губитак алела механизмом инсерције и делеције доводе до инактивације *TP53* или до делимичног или потпуног губитка његове функције. Мутације гена *P53* утичу на експресију измењеног протеина или протеина с различитим степеном губитка активности, што доприноси различитим клиничким манифестацијама малигног процеса (Soussi и сар.,2005). Инактивација гена *P53* може да настане због повећања експресије инхибитора *TP53* и инхибиције промотера гена *P53* (Hamroun и сар.,2006). Нагомилавањем онкопротеина *MDM-2*, настаје комплекс са *TP53* и долази до губитка активационе способности протеина а са друге стране, везивање за вирусне протеине може да доведе до губитака његове активности.

Код више од 50% солидних тумора се региструју мутације *TP53* и могу да буду показатељи лоше прогнозе болести (Zhu и сар.,2020). Код хематолошких малигнитета такође, мутације гена *TP53* могу да буду показатељ лоше прогнозе. Детектовање ових мутација може да укаже на погоршање или рецидив болести и чешће се срећу код агресивнијих форми болести. Бројне студије су показале да 20%-25% оболелих од *DLBCL* носи *TP53* мутације, а њихова учесталост је слична код *GCB* и *ABC* подтипа. Присуство ових мутација обично корелира са лошом прогнозом *DLBCL* (Zenz и сар.,2017). Код болесника са *DLBCL* који су на терапијском режиму *CHOP* или *RCHOP*, мутација *P53* је идентификована као неповољан прогностички фактор. (Xiu-Monette и сар.,2012; Zenz и сар.,2017; Jiang и сар.,2020). Корелација мутација *P53* и прогнозе болести код *DLBCL* је потврђена и *RICOVER 60* трајалом уз сугестију да је детектовање мутација *P53* значајно за стратификацију болесника у смислу прогнозе болести и одабира терапијских модалитета. (Zenz и сар.,2017).

Полиморфизам *TP53* rs1042522 се доводи у везу са већом способношћу индукције апоптозе и повећаном склоношћу за настанак малигнитета (Thomas и сар.,1999). До данас је детектовано 85 валидираних полиморфизама *TP53* гена и за већину њих, функционалне последице још увек нису разјашњене. Утврђено је да само неколико полиморфизама *P53* гена утиче на биохемијску и/или биолошку функцију *TP53* (Whibley и сар.,2009). Од свих познатих полиморфизма *P53* гена најопширније је испитиван *Arg72Pro* rs1042522 који припада групи *SNP* полиморфизама. *Arg72Pro* се налази унутар домена који је богат пролином у егзону 4 гена *P53* који је задужен за нормалну функцију *P53* гена (Toledo и сар.,2007). Истраживања показују да је варијанта са аргинином (*Arg*) способна да индукује апоптозу брже и ефикасније од пролина (*Pro*), док је *Pro* варијанта супериорнија у изазивању ареста ћелијског циклуса (Liu и сар.,2017; Thomas и сар.,1999). Такође је показано да *Pro72Arg* *SNP* варијанта повећава склоност за настанак малигнитета.

Fc γ -receptor IIIa ген (*FCGR3A*), *FCGR3A* протеин, полиморфизми *FCGR3A*; Fc γ -receptor IIa ген (*FCGR2A*), *FCGR2A* протеин, полиморфизми *FCGR2A*

FCGR3A ген кодира протеин, Fc γ -receptor IIIa (*Fc γ RIIIa*) који је важан за одвијање процеса ћелијске цитотоксичности зависне од антитела (енгл. antibody-dependent cellular cytotoxicity-ADCC). Познат је и као *CD16a* зато што је део кластера диференцијације ћелија. Током *ADCC* антитела се везују за Fc рецепторе (*FcR*) који се налазе на површини макрофага и неутрофила (*Fc γ RI*) као и на површини *NK* ћелија (*Fc γ RIII*) и доводе до фагоцитозе односно лизе циљне ћелије која је обложена антителима *IgG* класе. *Fc γ RIIIa* који је кодиран *FCGR3A* геном експримије се на *NK*

ћелијама као интегрални мембрански гликопротеин усидрен преко трансмембранског пептида. NK ћелије су кључни играчи у одбрани од малигних или вирусно инфицираних ћелија. Изоформа FcγRIIIa се састоји се од малог интрацелуларног домена и екстримирају је, поред NK ћелија и макрофаги и дендритичне ћелије (Nagelkerke и сар.,2019). FcγRIIIa везује комплекс антиген-IgG настао након инфекције и покреће производњу и дегранулацију цитокина која је зависна од NK ћелија како би ограничио размножавање вируса (Lee и сар.,2015). Мутације *FCGR3A* гена су повезане са имунодефицијенцијом, осетљивошћу на рекурентне вирусне инфекције, системским еритемским лупусом и др.

Јачина ADCC одговора зависи од генотипске варијације самог FcγRIIIa (Wang и сар.,2015). Како је ADCC, један од механизма терапијског дејства моноклонских антитела као што су ритуксимаб, цетуксимаб и трастузумаб, претпоставља се да на ефикасност моноклонских антитела утичу полиморфизми у *FCGR* генима кроз утицај на њихов афинитет везивања за Fc рецепторе на ефекторским ћелијама.

Супституција једног нуклеотида (SNP) од G до T на DNK нуклеотидној позицији 559 гена *FCGR3A* генерише два различита алотипа FcγRIIIa: један са валином (V) и један са фенилаланином (F) на аминокиселинској позицији 176, познат као полиморфизам FcγRIIIa (*FCGR3A*)-V176F (rs396991); раније познат као FcγRIIIa (*FCGR3A*)-V158F). Показано је да присуство валина (V/V или V/F) повећава афинитет везивања NK ћелија за IgG антитела најмање два пута у поређењу са варијантом хомозиготног фенилаланинског генотипа (F/F). (Congy-Jolivet и сар.,2008; Nagelkerke и сар.,2019; Falduto и сар.,2017). Резултати студије која је испитивала утицај ритуксимаба и ADCC на клинички исход сугеришу да би експресија најмање једног валина на FcγRIIIa-176 могла да објасни побољшани клинички исход (Natjiharissi и сар.,2012; Lin и сар., 2005). Са друге стране у неким студијама није потврђена корелација између полиморфизма V176F и клиничког исхода, вероватно због ограничене величине узорка у истраживању (Hurvitz и сар.,2012; Kjersem и сар.,2014).

FCGR2A ген се налази на локусу 1q23 и кодира протеин Fc γ-receptor IIa (FcγRIIa) површински ћелијски рецептор фагоцитних ћелија. Познат је и као CD32 зато што је део кластера диференцијације ћелија. *FCGR2A* протеин се експримира на моноцитима, макрофагима, дендритичким ћелијама, неутрофилима и тромбоцитима и изазива имунолошке реакције као што је фагоцитоза опсонизованих IgG, ADCC, продукција цитокина. (Antonatos и сар., 2021). *FCGR2A* SNP rs180274 резултује хистидином (H) или аргинином (A) на аминокиселинској позицији 166 (p.His166Arg; раније познат као p.His131Arg) кодиран од стране A159C у *FCGR2A*. Алел A кодира варијанту хистидина са високим степеном везивања (H), док алел C кодира изоформу аргинина (R) ниског везивања за IgG1 (Nagelkerke и сар.,2019 ; Falduto и сар.,2017).

Познато је да се ADCC, као један од главних механизма деловања моноклонских антитела, најпре ритуксимаба, може модулисати функционалним полиморфизмима у генима који кодирају FcγR рецепторе. Резултати више студија о терапијском утицају полиморфизма *FCGR2A* и *FCGR3A* гена су контрадикторни и нејасни, али потенцијално могу да се укључе у стратификацију будућих терапијских режима.(Nagelkerke и сар.,2019; Hervé и сар.,2017).

Autophagy related 16 like 1 ген (*ATG16L1*), ATG16L1 протеин, полиморфизми *ATG16L1*

Аутофагија је ћелијски процес којим се ћелијске органеле и макромолекули уклањају и разграђују уз настајање везикула и тако се рециклира цитоплазматски садржај. Аутофагија има значајну улогу у одржавању хомеостазе ћелије, стимулише процес биолошког старења ћелије, презентацију антигена, штити од геномске

нестабилности, превенира некрозу, што је кључно у превенцији аутоимуних болести, инфекција и малигнитета. Са друге стране, у одређеним условима, тзв. “стањима стреса“, када је потребно да се произведе енергија неопходна за преживљавање ћелије, активира се аутофагија. То су стања са недостатком хранљивих материја и хипоксијом али и она која настају због спољашњих утицаја који нарушавају ћелијску хомеостазу, као што су инфекција, излагање токсичним материјама и зрачењу (Mizushima и сар.,2011;Choi и сар.,2013; Proikas-Cezanne и сар.). У канцерогенези, аутофагија има опречне улоге, може да супримира настанак и развој тумора, али и супротно, може промовисати његов раст путем различитих механизма, укључујући апоптотичку ћелијску смрт, хеморезистенцију, туморогенезу и развој метастаза (Yang и сар., 2020; Jiang и сар.,2015).

У регулацији аутофагије учествује неколико гена који су повезани са аутофагијом (енгл. Autophagy related genes-ATG). ATG16L1 ген се налази на дугом краку хромозома 2 (2к37.1) (Zheng и сар.,2004). Игра суштинску улогу у регулацији липидације LC3 и формирању и уметању липидованог LC3 у аутофагозому са двоструком мембраном. (Fletcher и сар.,2018). ATG16L1 кодира ATG16L1 протеин, који је компонента великог протеинског комплекса ATG12-ATG5/ATG16 неопходног за аутофагију. Комплекс је локализован на мембрани и ослобађа се непосредно пре или након формирања аутофагозома (Mizushima и сар.,2011).ATG16L1 протеин има и друге функције независне од аутофагије као што су регулација инфламације и промета кроз ћелијску мембрану. (Hamaoui,2021).

ATG16L1 полиморфизам [с.898 A>G(р.Thr300Ala); rs2241880] је један од најиспитиваних полиморфизама ATG16L1. Налази се у егзону 9 ATG16L1 гена и спада у групу SNP полиморфизама. Доводи се у везу са дефектном аутофагијом и појачаним инфламаторним одговором. (Murthy и сар., 2014; Li и сар.,2017). Улога *ATG16L1* rs2241880 у патогенези малигнитета још увек није у потпуности разјашњена. Студије су показале супротне резултате повезаности rs2241880 и ризика за развој карцином (Al-Ali и сар., 2017; Diler и сар.,2018; Burada и сар., 2016; Cao и сар.,2016; Wisetsathorn и сар.,2017).

II ДЕФИНИЦИЈА ПРОБЛЕМА И ЦИЉ ИСТРАЖИВАЊА

2.1 ДЕФИНИЦИЈА ПРОБЛЕМА ИСТРАЖИВАЊА

Дифузни Б крупноћелијски лимфом (DLBCL), представља најчешћи хистолошки ентитет нехочкиних лимфома (NHL) са учесталошћу од 30-40%. Реч је о агресивном типу лимфома кога карактерише изузетна хетерогеност биологије тумора, патолошких (морфолошких/имунохистохемијских) особина, клиничке слике и одговора на терапију. „Златни стандард“ у лечењу DLBCL је имунохемотерапија по протоколу R-CHOP којом се постиже дугорочна контрола болести у 90% болесника ограниченог и код 60% болесника са узнатредовалим стадијумом.Релапс болести развиће 45-50% болесника. Трећина болесника са релапсом не постиже одговор применом друге терапијске линије, укључујући и аутологу трансплантацију матичних ћелија хематопоезе (Susanibar-Adaniya и сар.,2021). Упркос присуству бројних хематолошких прогностичких параметара, преживљавање је било варирајуће унутар исте подгрупе болесника због чега је потребна нова прогностичка стратегија у циљу персонализације терапијског режима. Прогностички биомаркери су важни за избор модалитета лечења и предвиђања преживљавања и прогресије болести. Циљ нових прогностичких маркера је да се идентификују високоризични болесници са истим IPI. Веома је важно разликовати

болеснике са лошом прогнозом у раној фази и сходно томе одабрати ефикасан терапијски модалитет лечења. У склопу побољшања прогностичке ефикасности, траже се исплативи и лако доступни прогностички маркери. Биомаркери LMR, NLR и PLR одражавају међусобну повезаност између имунолошког одговора домаћина и микроокружења тумора, која показује способност антитуморске и протуморске активности ћелија болесника. Ови прогностички биомаркери су користни у раној дијагнози и лечењу у ритуксимаб ери. Самостално или у комбинацији са другим параметрима могу помоћи у стратификацији болесника пре одлуке о терапији. Туморогенеза DLBCL је резултат различитих генетских и епигентских мутација ћелија изазвана различитим стимулансима. Испитивања профила експресије гена су значајно унапредила разумевање комплексне биологије овог лимфома (Sehn и сар.,2015). Такође, боље познавање варијабилности гена DLBCL као и гена који кодирају имунорегулаторне молекуле ће даље допринети унапређењу лечења, односно развоју персонализоване терапије. Полиморфизми гена се састоје од варијације у секвенци ДНК која се појављује са учесталошћу $\geq 1\%$ у општој популацији што доводи до измена у структури, експресији и активности протеина који производи ген (Robert и сар.,2014;Falduto и сар.,2017). Испитивања повезаности полиморфизма *ATG16L1* гена и прогнозе DLBCL су у повоју и указују да доводи до дефектне аутофагије што резултује резистенцијом на терапију. Више студија је утврдило да полиморфизам гена *TP53* је повезан са лошом прогнозом DLBCL. Повишена експресија *BCL2* је одговорна за резистенцију на лекове и лоше преживљавање болесника са DLBCL, док ће присуство полиморфизма *Bcl-2* гена имати супротан ефекат (Tang и сар.,2017; Miao и сар.,2019). Резултати више студија о терапијском утицају полиморфизма гена за *FCGR2A* и *FCGR3A* су контрадикторни и нејасни (Nagelkerke и сар.,2019; Hervé и сар.,2017). У будућности могу се наведени полиморфизми гена потенцијално укључити за стратификацију терапијског режима.

Релапс DLBCL и резистенција на примењену хемотерапију представља велики клинички проблем.Једна од привлачних мета за терапију је аутофагија коришћењем модулятора аутофагије као помоћне терапије у комбинацији са циљаном специфичном терапијом. За лечење тумора завистних од аутофагије користили би се инхибитори аутофагије, док за лечење тумора са недостатком аутофагије, могућа корист од индуктора аутофагије. У току је расветљавање нових улога *TP53* који са једне стране има двоструку улогу у регулацији аутофагије (Shim и сар.,2021), а са друге стране регулише апоптозу и експресију *BCL2* што може допринети бољем сагледавању биологије лимфома и развоју нових терапијских приступа. Каскадни сигнални путеви регулације аутофагије и апоптозе су међусобно испреплетани што резултира инверзним међусобним односом тј. индукција аутофагије спречава апоптозу и обрнуто (Xi и сар.,2022).

Обзиром на мултифакторијалну патогенезу DLBCL, сазнања о значају варијација у тумор-супресорским генима, онкогенима као и генима чији продукти учествују у регулацији имунског одговора (њихов утицај на ток и исход лечења) би допринеле бољем разумевању патогенезе болести и проналажењу нових фармакогенетичких маркера што би утицало на увођење нових генетичких и молекуларних дијагностичких тестова као и примену нових терапијских протокола са/или без комбинације са стандардним протоколима лечења.

2.2 ХИПОТЕЗЕ

У складу са литературним подацима који указују да повезаност rs1042522, rs2279115, rs2241880, rs1801274 и rs396991 полиморфизма са клиничким карактеристикама и прогнозом оболелих од DLBCL није јасно дефинисана, утврђена је хипотеза истраживања:

Присуство одређених генетичких варијанти за rs1042522, rs2279115, rs2241880, rs1801274 и rs396991 код оболелих од DLBCL је повезано са клиничким карактеристикама, терапијским ефектима и прогнозом болести.

2.3 ЦИЉЕВИ ИСТРАЖИВАЊА

1. Испитивање учесталости rs1042522, rs2279115, rs2241880, rs1801274 и rs396991 полиморфизма код оболелих од DLBCL.
2. Испитивање повезаности између rs1042522, rs2279115, rs2241880, rs1801274 и rs396991 полиморфизма и клиничких карактеристика оболелих .
3. Испитивање удружености rs1042522, rs2279115, rs2241880, rs1801274 и rs396991 полиморфизма у генима са тераписким одговором, током и исходом лечења код оболелих од DLBCL.

III МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ

3.1 ИСПИТАНИЦИ

Истраживање претставља клиничку неинтервентну ретроспективно-проспективну студију спроведену од маја 2005.године до децембра 2021. године у Клиници за хематологију, Институту за медицинска истраживања, Институту за патологију и судску медицину, Централној клиничкој лабораторији и Институту за радиологију Војномедицинске академије (ВМА). Истраживањем је обухваћено 130 болесника са утврђеном дијагнозом DLBCL који су лечени и систематско праћени у наведеној установи. Дизајн студије је одобрила Етичка комисија ВМА, Београд, Србија, у складу са принципима наведеним у Хелсиншкој декларацији. Дијагноза је била заснована на хистопатологији и имунохистохемији према класификацији Светске здравствене организације (WHO) из 2008. године (Camro и сар.,2011). Код оболелих код којих је дијагноза DLBCL утврђена пре 2008. године, учињена је хистопатолошка ревизија

тумора са додатном имунохистохемијом. Истраживање није обухватало болеснике са иницијално нискоагресивним лимфомом и трансформацијом у DLBCL, болеснике код којих је DLBCL био удружен са вирусом имунодефицијенције (HIV), болеснике код којих је DLBCL био удружен са системским болестима везивног ткива као и болеснике са „high grade“ DLBCL [HGBL: „double hit“ (DH); „triple hit“ (TH)]. Искључујући критеријум за учешће у студији била је и претходна историја малигне болести или DLBCL повезан са имуносупресијом.

Клинички преглед, лабораторијска испитивања, биопсија костне сржи и стандардна радиолошка испитивања су спроведени код свих болесника.

Анамнеза је обухватала присуство општих тегоба: фебрилност, губитак у телесној маси за више од 10% последњих шест месеци, свраб по кожи, ноћно презнојавање, као и податак о присутним коморбидитетима, породичној анамнези са акцентом на присуство малигну болести лимфног ткива код најближих рођака. Клинички су праћене величина периферних лимфних жлезда, величина слезине и јетре, промене коже и поткожног ткива, неуролошки статус.

У склопу лабораторијских анализа урађене су хематолошке (периферна крвна слика са размазом периферне крви), биохемијске (параметри неспецифичне упале, параметри бубрежне и јетрине функције), имунолошке (електрофореза протеина, имуноглобулин, Coombs-ов тест) и вирусолошке претраге (HCV, HBV, HIV, CMV, EBV). Радиографско испитивање- радиографија срца и плућа, ултразвук абдомена, СТ са контрастом грудног коша, абдомена и мале карлице је спроведено због процене проширености болести. У циљу дијагностике екстранодалног DLBCL урађене су: биопсија костне сржи, гастроинтестиналне ендоскопије, бронхоскопија, ВАТС (видеоасистирана торакоскопска хирургија), СТ или MR ендокранијума, лумбална пункција, пункција плеуралног, перикардног и абдоминалног излива.

Болесници су након завршене дијагностике стратификовани у клиничке стадијуме болести (CS I-IV) према AnnArbor класификацији (Lister и сар.,1989). Присуство фебрилности, губитка у телесној маси за више од 10% последњих шест месеци, ноћног презнојавања и свраба по кожи представљали су опште тегобе, тзв. Б симптоме. Туморски облик болести одређен је према уздужном промеру патолошке промене (лимфни чвор и/или екстралимфатична промена) која је већа од 7 цм и /или према попречном промеру средогруђа који је био већи од трећине укупног попречног промера грудног коша.

Од прогностичких маркера DLBCL коришћени су: Интернационални прогностички индекс IPI (The International Non-Hodgkin's Lymphoma Prognostic Factors Project,1993) који је одређиван на основу пет параметара: животна доб (>60 година), Ann Arbor клинички стадијум (III/IV CS),ниво лактатне дехидрогеназе у крви, ECOG (Eastern Cooperative Oncology Group) статус и више од једног захваћеног екстралимфатичног органа (Shipp и сар.,1993); Интернационални прогностички индекс (NCCN-IPI) је базиран на истим особинама оболелих које се користе у стандардном IPI, са разликом да не обухвата број захваћених екстралимфатичних органа већ локацију екстранодалне болести (захваћеност костне сржи, централног нервног система, јетре/гастроинтестинални тракт или плућа је предиктор лошије прогнозе); Интернационални прогностички индекс за пацијенте млађе од 60 година тзв. aaIPI (age adjusted IPI) који укључује Ann Arbor клинички стадијум (III/IV CS),ниво лактатне дехидрогеназе у крви, ECOG (Eastern Cooperative Oncology Group) статус.

Према напред дефинисаним прогностичким параметрима болесници су били подељени у две прогностичке групе: 1. група болесника са параметрима лоше прогнозе: животна доб преко 60 година, Ann Arbor CS III-IV, IPI скор 3-5, aaIPI 2-3, NCCN-IPI скор 4-6, туморски облик болести дефинисан величином патолошког периферног лимфног чвора

већег од 7 cm или туморским обликом болести медијастинума дефинисаног као попречни промер медијастиналне туморске масе већи од 1/3 промера грудног коша, присуство општих тегоба при дијагнози болести (губитак у телесној маси, фебрилност, свраб по кожи, презнојавање), перформанс ECOG статус ≥ 2 , присуство екстранодалне болести у > 1 локализације, повишена серумска вредност LDH; 2. групу су чинили болесници без параметара лоше прогнозе.

У процени терапијског одговора коришћени су критеријуми одговора Cheson-и сарадника (Cheson и сар.,2007; Cheson и сар.,2014).

Сви болесници су примили 6-8 циклуса протокола R-CHOP (ритуксимаб-циклофосфамид, доксорубин, винкрестин, преднизон). Трансплантацији матичних ћелија хематопоезе (ASCT) подвргнуто је 44 болесника. Радиотерапија у дози од 30-36 Gy је примењена код 55 болесника са туморским обликом болести или код резидуалне болести након уводне имунохемотерапије. Период праћења кретао се од једног до 219 (медијана 92,5) месеци. Болесници који су постигли потпуну клиничку ремисија (CR) били су праћени најмање три године.

3.2 МЕТОДОЛОГИЈА

3.2.1 Изолација DNK

У епрувете са EDTA узимани су узорци периферне крви болесника са DLBCL и чувани су на -40°C до изоловања DNK. Помоћу комерцијалног кита - PureLink™ Genomic DNA MiniKit (Invitrogen,Carlsbad, САД) а према упутству произвођача изолована је DNK. Електрофорезом на 1% агарозном гелу је провераван квалитет изоловане геномске DNK. Све до кључања, агароза у праху је растварана у 0,5 x TBE пуферу (4.5 mM Tris-база, 10 mM EDTA, 87 mM борна киселина; pH=8). Раствор је охлађен до 70°C и додаван је етидијум-бромид у финалној концентрацији од $5\mu\text{g/ml}$. Гел ($t \approx 60^{\circ}\text{C}$) је изливан у кадицу за електрофорезу и остављен да полимеризује. (Sambrook, 1989). По 7 μl геномске DNK и 2 μl боје (6 x loading buffer: 0,25% бром-фенол плаво, 0,25% ксиленицијанол, 20% фикол 400) је стављано у бунариће гела. При напону од 80 V и струји од 35- 40 mA у 0,5 x TBE пуферу се одвијала електрофореза око 40 минута (Pharmacia LKB, Шведска). Под краткоталасном UV светлошћу трансилуминатора је анализиран гел (Pharmacia LKB, Шведска). Уколико је на гелу након електрофорезе била видљива јасна трака близу бунарића, геномска DNK је била одговарајућег квалитета.

3.2.2 Генотипизација

Генотипизација је изведена на апарату 7500 Real-Time PCR System (Applied Biosystems™, САД) помоћу следећих TaqMan Genotyping есеја (Applied Biosystems, САД): TP53 rs1042522 (C__2403545_10), BCL2 rs2279115 (C__3044428_30), ATG16L1 rs2241880 (C__9095577_20), FCGR2A rs1801274 (C__9077561_20) и FCGR3A rs396991 (C__25815666_10).

3.3 СТАТИСТИЧКА ОБРАДА ПОДАТАКА

Помоћу статистичког програма R Commander version R.2-0 (R Core Team,2022) а на основу учесталости варијантних TP53rs 1042522, BCL2 rs2279115, ATG16L1 rs2241880,FCGR2A rs1801274 иFCGR3A rs396991 алела у европским популацијама (просечна учесталост варијантног алела је 20- 30%, а wild type алела 70-80%)

израчуната снага студије је била 80% за ниво поверења од 95%. Подаци о учесталости алела су доступни у бази на сајту www.ncba.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp-summary.agi. Повезаност између генотипова и клиничких карактеристика, одговора на терапију, инциденце релапса и присуства компликација анализирани су стандардним параметријским и непараметријским тестовима (χ^2 или Fisher-ов тест, односно т тест или Mann-Whitney тест). Рачунањем OR (odds ratio) и RR (risk ratio) вредности за интервал поузданости од 95% (95% CI) је био одређен ризик да болесници са појединим полиморфизмима имају неку клиничку карактеристику.

Интервал између датума дијагнозе и смрти или датума последње контроле је дефинисан као укупно преживљавање (OS). Преживљавање без болести (DFS) је израчунато као интервал од тренутка постизања комплетног одговора до релапса, смртог исхода или датума последње контроле. Период од датума започињања лечења до датума релапса, прогресије болести или смрти од било ког узрока је претстављао време до неповољног догађаја током лечења (EFS). Криве преживљавања су одређене према Kaplan-Meier – овој методи. Тест log-rank био је коришћен за упоређивање крива преживљавања између група од интереса. Мултиваријантна и униваријантна Cox регресиона анализа коришћене су за процену повезаности прогностичких параметара са резултатима лечења (Валдов тест).

Формирана је електронска база података у програму SPSS software for Windows, верзија 15 (SPSS, Inc., САД). Исти програм је даље коришћен за статистичку анализу података. Резултати су приказивани табеларно и графички. Вредност $p < 0,05$ се сматрала статистички значајном.

IV РЕЗУЛТАТИ

4.1. Демографске и клиничке карактеристике болесника са *DLBCL*

Карактеристике 130 болесника са *DLBCL* при дијагнози су приказане у табели 1.

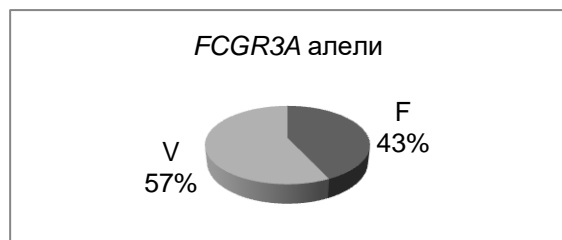
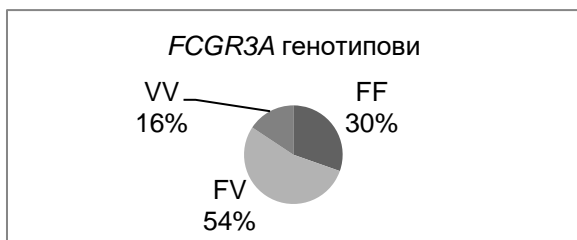
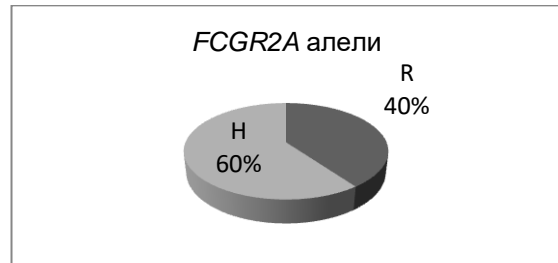
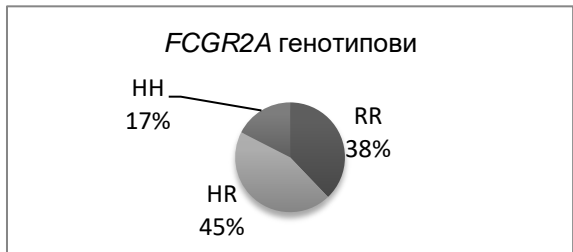
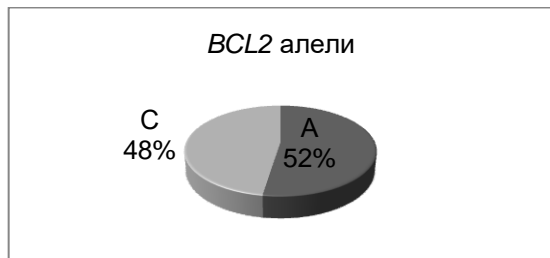
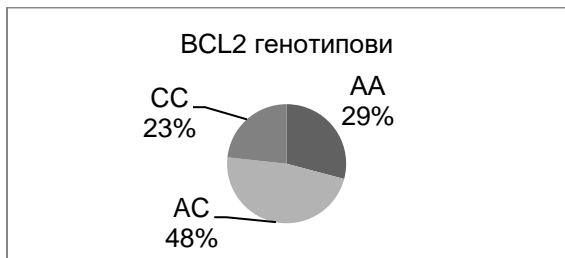
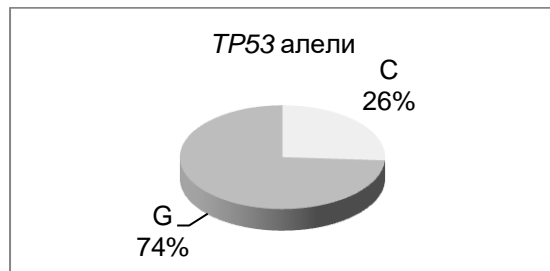
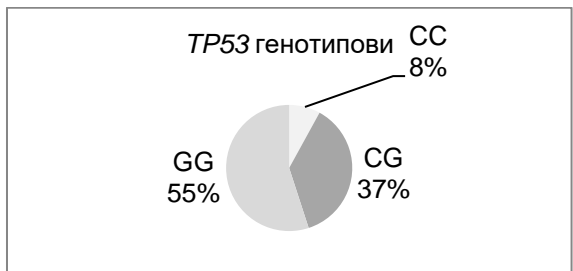
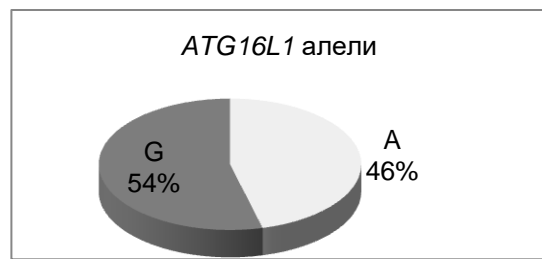
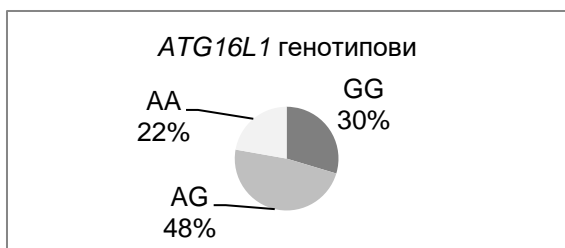
Табела 1. Демографске и клиничке карактеристике болесника са *DLBCL*

Карактеристика	n (%)
Старост (године)	
<60	90 (69,2)
≥60	40 (30,8)
Пол	
мушки	72 (55,4)
женски	58 (44,6)
Клинички стадијум	
I, II	42 (32,3)
III, IV	88 (67,7)
Екстранодална болест	
присутна	30 (23,1)

није присутна	100 (76,9)
Број екстранодалних места	
0,1	89 (68,5)
>1	41 (31,5)
Б симптоми	
присутни	53 (40,8)
нису присутни	77 (59,2)
Туморски облик болести	
присутан	74 (56,9)
није присутан	56 (43,1)
IPI	
низак, средње-низак	82 (63,1)
висок, средње-висок	48 (36,9)
NCCN-IPI	
низак, средње-низак	50 (38,5)
висок, средње-висок	80 (61,5)
aaIPI	
низак, средње-низак	46 (51,1)
висок, средње-висок	44 (48,9)
LDH	
повишен	80 (61,5)
унутар референтних вредности	50 (48,9)
Апсолутни број неутрофила/лимфоцита (средња вредност, медијана)	4,59 (3,76)
Апсолутни број лимфоцита/ моноцита (средња вредност, медијана)	2,94 (2,6)
Апсолутни број тромбоцита/ лимфоцита (средња вредност, медијана)	2,76 (2,27)
Терапијски одговор	
комплетна клиничка ремисија	72 (55,4)
парцијална ремисија	48 (36,9)
резистентна болест, прогресија под терапијом	10 (7,7)
Компликације током лечења	
да	23 (17,7)
не	107 (82,3)
Релапс	
да	99 (76,2)
не	31 (23,8)

4.2. Учесталост *rs2241880*, *rs1042522*, *rs2279115*, *rs1801274* и *rs396991* генотипова

Анализе генотипова су извођене за 108 болесника са *DLBCL*, а биле су успешне (резултати амплификације су се поклапали у дупликатима) код 108 болесника за *ATG16L1 rs2241880*, 100 болесника за *TP53 rs1042522*, 103 болесника за *BCL2 rs2279115*, 102 болесника за *FCGR3A rs396991*, односно 105 болесника за *FCGR2A rs1801274*. Добијене учесталости генотипова и алела су приказане на слици 1. За све анализиране полиморфизме, учесталости генотипова и алела су биле у *Hardy-Weinberg*-овој равнотежи ($p > 0,05$; χ^2 тест).



Слика 1. Учесталсти *ATG16L1* rs2241880, *TP53* rs1042522, *BCL2* rs2279115, *FCGR3A* rs396991 и *FCGR2A* rs1801274 генотипова и алела код болесника с *DLBCL*.

4.3. Повезаност генотипова са демографским и клиничким карактеристикама

Дистрибуција *rs2241880*, *rs1042522*, *rs2279115*, *rs1801274* и *rs396991* генотипова приказана је у табелама 2-6.

Табела 2. Дистрибуција *ATG16L1 rs2241880* генотипова код болесника са различитим клиничким карактеристикама

Карактеристика	Генотип, n (%)		
	GG	GA	AA
Старост (године)			
<60	21 (28)	36 (48)	18 (24)
≥60	11 (33,3)	16 (48,5)	6 (18,2)
Пол			
женски	14 (29,8)	23 (48,9)	10 (21,3)
мушки	18 (29,5)	29 (47,5)	14 (23)
Клинички стадијум			

I, II	17 (32,7)	25 (48,1)	10 (19,2)
III, IV	15 (26,8)	27 (48,2)	14 (25)
Екстранодална болест			
није присутна	11 (40,7)	8 (29,6)	8 (29,6)
присутна	21 (25,9)	44 (54,3)	16 (19,8)
Број екстранодалних места			
0,1	25 (33,3)	31 (41,3)	19 (25,3)
>1	7 (21,2)	21 (63,6)	5 (15,2)
Б симптоми			
нису присутни	15 (32,6)	20 (43,5)	11 (23,9)
присутни	17 (27,4)	32 (51,6)	13 (21)
Туморски облик болести			
није присутан	17 (27,4)	31 (50)	14 (22,6)
присутан	15 (32,6)	21 (45,7)	10 (21,7)
IPI			
низак, средње-низак	23 (31,9)	31 (43,1)	18 (25)
висок, средње-висок	9 (25)	21 (58,3)	6 (16,7)
NCCN-IPI			
низак, средње-низак	12 (26,7)	23 (51,1)	10 (22,2)
висок, средње-висок	20 (31,8)	29 (46)	14 (22,2)
aaIPI			
низак, средње-низак	9 (22,5)	22 (55)	9 (22,5)
висок, средње-висок	12 (34,3)	14 (40)	9 (25,7)
LDH			
унутар референтних вредности	17 (37,8)	20 (44,4)	8 (17,8)
повишен	15 (23,8)	32 (50,8)	16 (25,4)
Апсолутни број неутрофила/апсолутни број лимфоцита*			
≥3,67	11 (42,3)	14 (53,8)	1 (3,9)
<3,67	13 (20)	31 (47,7)	21 (32,3)
Апсолутни број лимфоцита/апсолутни број моноцита*			
<1,54	7 (53,8)	4 (30,8)	2 (15,4)
≥1,54	17 (21,8)	41 (52,6)	20 (25,6)
Апсолутни број тромбоцита/апсолутни број лимфоцита*			
<1,28	5 (29,4)	9 (52,9)	3 (17,7)
≥1,28	19 (25,7)	36 (48,6)	19 (25,7)

*Подаци доступни за 91 болесника

Табела 3. Дистрибуција *TP53 rs1042522* генотипова код болесника са различитим клиничким карактеристикама

Карактеристика	Генотип, n (%)		
	GG	GC	CC
Старост (године)			
<60	39 (54,9)	27 (38)	5 (7)
≥60	16 (55,2)	10 (34,5)	3 (10,3)
Пол			
женски	22 (53,7)	15 (36,6)	4 (9,7)
мушки	33 (55,9)	22 (37,3)	4 (6,8)
Клинички стадијум			
I, II	31 (64,6)	14 (29,2)	3 (6,2)
III, IV	24 (46,2)	23 (44,2)	5 (9,6)
Екстранодална болест			

није присутна	16 (69,6)	6 (26,1)	1 (4,3)
присутна	39 (50,6)	31 (40,3)	7 (9,1)
Број екстранодалних места			
0,1	40 (58)	22 (31,9)	7 (10,1)
>1	15 (48,4)	15 (48,4)	1 (3,2)
Б симптоми			
нису присутни	25 (59,5)	14 (33,3)	3 (7,1)
присутни	30 (51,7)	23 (39,7)	5 (8,6)
Туморски облик болести			
није присутан	34 (59,6)	18 (31,6)	5 (8,8)
присутан	21 (48,8)	19 (44,2)	3 (7)
<i>IPI</i>			
низак, средње-низак	38 (55,9)	23 (33,8)	7 (10,3)
висок, средње-висок	17 (53,1)	14 (43,8)	1 (3,1)
<i>NCCN-IPI</i>			
низак, средње-низак	26 (61,9)	12 (28,6)	4 (9,5)
висок, средње-висок	29 (50)	25 (43,1)	4 (6,9)
<i>aaIPI</i>			
низак, средње-низак	24 (63,1)	12 (31,6)	2 (5,3)
висок, средње-висок	14 (43,7)	15 (46,9)	3 (9,4)
<i>LDH</i>			
унутар референтних вредности	24 (63,1)	12 (31,6)	2 (5,3)
повишен	14 (43,7)	15 (46,9)	3 (9,4)
Апсолутни број неутрофила/апсолутни број лимфоцита			
≥3,67	17 (65,4)	8 (30,8)	1 (3,8)
<3,67	30 (51,7)	23 (39,7)	5 (8,6)
Апсолутни број лимфоцита/апсолутни број моноцита			
<1,54	9 (69,2)	3 (23,1)	1 (7,7)
≥1,54	38 (53,5)	28 (39,4)	5 (7)
Апсолутни број тромбоцита/апсолутни број лимфоцита			
<1,28	10 (58,8)	6 (35,3)	1 (5,9)
≥1,28	37 (55,2)	25 (37,3)	5 (7,5)

*Подаци доступни за 84 болесника

Табела 4. Дистрибуција *BCL2 rs2279115* генотипова код болесника са различитим клиничким карактеристикама

Карактеристика	Генотип, n (%)		
	AA	AC	CC
Старост (године)			
<60	19 (26,4)	37 (51,4)	16 (22,2)
≥60	11 (35,5)	12 (38,7)	8 (25,8)
Пол			
женски	13 (30,2)	19 (44,2)	11 (25,6)
мушки	17 (28,3)	30 (50)	13 (21,7)
Клинички стадијум			
I, II	13 (38,2)	16 (47,1)	5 (14,7)
III, IV	17 (24,6)	33 (47,8)	19 (27,5)
Екстранодална болест			
није присутна	8 (33,3)	12 (50)	4 (16,7)

присутна	22 (27,8)	37 (46,8)	20 (25,3)
Број екстранодалних места			
0,1	26 (36,1)	34 (47,2)	12 (16,7)
>1	4 (12,9)	15 (48,4)	12 (38,7)
Б симптоми			
нису присутни	13 (29,5)	22(50)	9 (20,5)
присутни	17 (28,8)	27 (45,8)	15 (25,4)
Туморски облик болести			
није присутан	17 (29,3)	27 (46,6)	14 (24,1)
присутан	13 (28,9)	22 (48,9)	10 (22,2)
IP1			
низак, средње-низак	23 (33,3)	33 (47,8)	13 (18,8)
висок, средње-висок	7 (20,6)	16 (47,1)	11 (32,3)
NCCN-IP1			
низак, средње-низак	13 (30,2)	21 (48,8)	9 (20,9)
висок, средње-висок	17 (28,3)	28 (46,7)	15 (25)
aaIP1			
низак, средње-низак	11 (27,5)	19 (47,5)	10 (25)
висок, средње-висок	9 (27,3)	8 (54,5)	6 (18,2)
LDH			
унутар референтних вредности	10 (24,4)	23 (56,1)	8 (19,5)
повишен	20 (32,3)	26 (41,9)	16 (25,8)
Апсолутни број неутрофила/апсолутни број лимфоцита*			
≥3,67	10 (25,6)	19 (48,7)	10 (25,6)
<3,67	13 (31)	19 (45,2)	10 (23,8)
Апсолутни број лимфоцита/апсолутни број моноцита*			
<1,54	16 (59,3)	8 (29,6)	3 (11,1)
≥1,54	7 (13)	30 (55,6)	17 (31,5)
Апсолутни број тромбоцита/апсолутни број лимфоцита*			
<1,28	4 (22,2)	10 (55,6)	4 (22,2)
≥1,28	20 (29,9)	29 (43,3)	18 (26,9)

*Подаци доступни за 84, односно 81 болесника

Табела 5. Дистрибуција *FCGR2A* rs1801274 генотипова код болесника са различитим клиничким карактеристикама

Карактеристика	Генотип, n (%)		
	НН	НР	RR
Старост (године)			
<60	26 (36,1)	34 (47,2)	12 (16,7)
≥60	13 (41,9)	12 (38,7)	6 (19,4)
Пол			
женски	13 (30,2)	24 (55,8)	6 (14)
мушки	26 (43,3)	22 (36,7)	12 (20)
Клинички стадијум			
I, II	11 (31,4)	18 (51,4)	6 (17,1)
III, IV	28 (41,2)	28(41,2)	12 (17,6)
Екстранодална болест			
није присутна	3 (12,5)	17 (70,8)	4 (16,7)

присутна	36 (45,6)	29 (36,7)	14 (17,7)
Број екстранодалних места			
0,1	26 (36,1)	33 (45,8)	13 (18,1)
>1	13 (41,9)	13 (41,9)	5 (16,1)
Б симптоми			
нису присутни	21 (47,7)	16 (36,4)	7 (15,9)
присутни	18 (30,5)	30 (50,8)	11 (18,6)
Туморски облик болести			
није присутан	26 (44,1)	23 (39)	10 (16,9)
присутан	13 (29,5)	23 (52,3)	8 (18,2)
<i>IPI</i>			
низак, средње-низак	22 (32,3)	32 (47,1)	14 (20,6)
висок, средње-висок	17 (48,6)	14 (40)	4 (11,4)
<i>NCCN-IPI</i>			
низак, средње-низак	9 (21,4)	25 (59,5)	8 (19,1)
висок, средње-висок	30 (49,2)	21 (34,4)	10 (16,4)
<i>aaIPI</i>			
низак, средње-низак	10 (25,6)	21 (53,8)	8 (20,5)
висок, средње-висок	16 (48,5)	13 (39,4)	4 (12,1)
<i>LDH</i>			
унутар референтних вредности	17 (41,5)	15 (36,6)	9 (22)
повишен	22 (35,5)	31 (50)	9 (14,5)
Апсолутни број неутрофила/апсолутни број лимфоцита*			
$\geq 3,67$	19 (46,3)	12 (29,3)	10 (24,4)
$< 3,67$	16 (40)	18 (45)	6 (15)
Апсолутни број лимфоцита/апсолутни број моноцита*			
$< 1,54$	4 (25)	9 (56,3)	3 (18,7)
$\geq 1,54$	31 (47,7)	21 (32,3)	13 (20)
Апсолутни број тромбоцита/апсолутни број лимфоцита*			
$< 1,28$	9 (47,4)	7 (36,8)	3 (15,8)
$\geq 1,28$	26 (41,9)	23 (37,1)	13 (21)

*Подаци доступни за 81 болесника

Табела 6. Дистрибуција *FCGR3A rs396991* генотипова код болесника са различитим клиничким карактеристикама

Карактеристика	Генотип, n (%)		
	FF	FV	VV
Старост (године)			
<60	23 (31,9)	39 (54,2)	10 (13,9)
≥ 60	8 (26,7)	16 (53,3)	6 (20)
Пол			
женски	13 (30,2)	23 (53,5)	7 (16,3)
мушки	18 (30,5)	32 (54,2)	9 (15,3)
Клинички стадијум			
I, II	15 (42,9)	17 (48,6)	3 (8,6)
III, IV	16 (23,9)	38 (56,7)	13 (19,4)
Екстранодална болест			
није присутна	16 (50)	15 (46,9)	1 (3,1)

присутна	15 (21,4)	40 (57,1)	15 (21,4)
Број екстранодалних места			
0,1	23 (32,4)	39 (54,9)	9 (12,7)
>1	8 (25,8)	16 (51,6)	7 (22,6)
Б симптоми			
нису присутни	16 (36,4)	21 (47,7)	7 (15,9)
присутни	15 (25,9)	34 (58,6)	9 (15,5)
Туморски облик болести			
није присутан	19 (32,8)	29 (50)	10 (17,2)
присутан	12 (27,3)	26 (59,1)	6 (13,6)
<i>IPI</i>			
низак, средње-низак	22 (31,9)	38 (55,1)	9 (13)
висок, средње-висок	9 (27,3)	17 (51,5)	7 (21,2)
<i>NCCN-IPI</i>			
низак, средње-низак	16 (36,4)	23 (52,3)	5 (11,4)
висок, средње-висок	15 (25,9)	32 (55,2)	11 (20)
<i>aaIPI</i>			
низак, средње-низак	14 (35)	23 (57,5)	3(7,5)
висок, средње-висок	9 (28,1)	16 (50)	7 (21,9)
<i>LDH</i>			
унутар референтних вредности	12 (29,3)	24 (58,5)	5 (12,2)
повишен	19 (31,1)	31 (50,8)	11 (18)
Апсолутни број неутрофила/апсолутни број лимфоцита*			
$\geq 3,67$	11 (29,7)	21 (56,8)	5 (13,5)
$< 3,67$	15 (31,3)	23 (47,9)	10 (20,8)
Апсолутни број лимфоцита/апсолутни број моноцита*			
$< 1,54$	8 (57,1)	5 (35,7)	1 (7,1)
$\geq 1,54$	18 (25,4)	39 (54,9)	14 (19,7)
Апсолутни број тромбоцита/апсолутни број лимфоцита*			
$< 1,28$	3 (17,6)	10 (58,8)	4 (23,5)
$\geq 1,28$	23 (33,8)	34 (50)	11 (16,2)

*Подаци доступни за 85 болесника

Повезаност генотипова и клиничких карактеристика (пол, старост, Б-симптоми, клинички стадијум, присуство екстранодална болести, број екстранодалних места, присуство туморског облика болести) и прогностичких скорова (*IPI*, *NCCN IPI* и *aaIPI*) анализирана је у кодоминантном, доминантном и рецесивном генетичком моделу. Статистички значајне повезаности генотипова и клиничких карактеристика су приказане у табелама 7-11, као и на слици 2, остале асоцијације нису биле статистички значајне.

Присуство екстранодалне болести је било значајно чешће код болесника са *ATG16L1 AG* генотипом у поређењу са носиоцима *AA* ($p = 0,07$) и *GG* генотипа ($p = 0,04$; OR 2,88, 95%CI 1–8,22). Поред тога, већина болесника са више од једне екстранодалне локације је имала *AG* генотип (63,6 %), али су добијене p вредности биле маргиналне статистичке значајности (*AA vs AG* $p = 0,09$; *GG vs AG* $p = 0,08$) (табела 7). Болесници са *ATG16L1 AA* генотипом имали су нижи *LMR* од носилаца *G* алела (*AA vs AG+GG*, $p = 0,052$;) и *GG* генотипа (*AA vs GG*, $p = 0,054$). Вредности *NLR* су биле

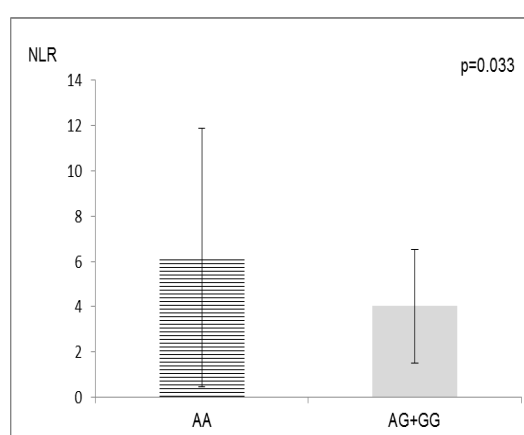
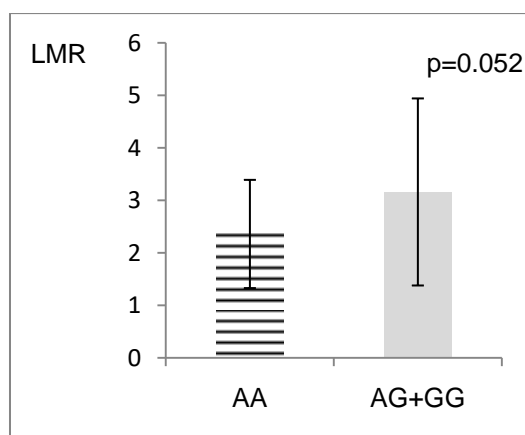
значајно веће код носилаца *ATG16L1* A алела (*AA+AG* vs *GG*, $p = 0,004$) и *AA* генотипа (*AA* vs *AG+GG*, $p = 0,033$; *AA* vs *GG*, $p = 0,003$) (слика 2). *ATG16L1* генотипови нису били значајно повезани са *TLR* вредностима. Анализом *ROC* криве установљене су следеће граничне вредности за преживљавање: 3,67 (AUC 0,67, 95 % CI, 0,46–0,75) за LMR, 1,54 (AUC 0,57, 95 % CI, 0,44–0,7) за NLR, и 1,28 (AUC 0,56, 95 % CI, 0,42–0,71) за TLR. Број болесника са вредношћу LMR испод граничне вредности (*cut-off*) била је значајно већа међу носиоцима алела А (*AA+AG* vs *GG*, $p = 0,03$; OR 2,93, 95 % CI 1,09–7,87) и *AA* генотипа (*AA* vs *AG+GG*, $p = 0,005$; OR 11,93, 95 % CI 1,51–94,12 и *AA* vs *GG*, $p = 0,002$, OR 17,77, 95 % CI 2.05–154.21). Вредности NLR изнад *cut-off*-а биле су чешће код болесника са *ATG16L1* А алелом (*AA+AG* vs *GG*, $p = 0,02$; OR 4,19, 95 % CI 1.24–14.12). Број болесника са *TLR* вредностима испод/изнад *cut-off*-а је био сличан код носилаца различитих *ATG16L1* генотипова.

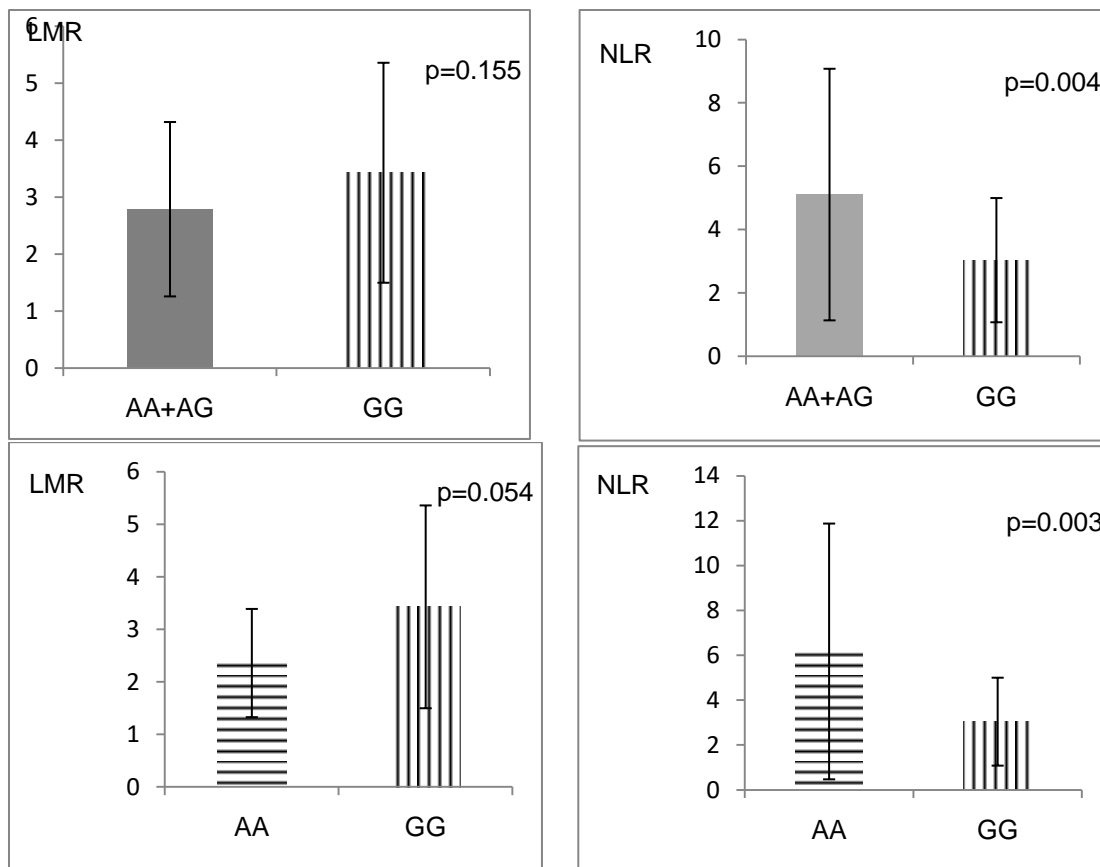
Табела 7. Учесталост *ATG16L1* генотипова код болесника са и без присуства екстранодалне болести

ГЕНЕТИЧКИ МОДЕЛ	ATG16L1 ГЕНОТИП	ЕКСТРАНОДАЛНА БОЛЕСТ n (%)		OR (95%CI); p^1
		присутна	није присутна	
Кодоминантни p^2	AA	16 (19.8)	8 (29.6)	1 (референтна вредност) 0.36 (0.12-1.13); 0.07 1.05 (0.34-3.21); 0.92 0.08
	AG	44 (54.3)	8 (29.6)	
	GG	21 (25.9)	11 (40.7)	
Доминантни	AA	16 (19.8)	8 (29.6)	1 (референтна вредност)
	AG+GG	65 (80.2)	19 (70.4)	0.58 (0.22-1.57); 0.29
Рецесивни	AA+AG	60 (74.1)	16 (59.3)	1 (референтна вредност)
	GG	21 (25.9)	11 (40.7)	1.96 (0.79-4.9); 0.14

1p вредност добијена *Pearson* χ^2 тестом; 2p вредност добијена χ^2 тестом, $df=2$

Генотипизација *TP53*, је показала да су носиоци *C* алела (*CG/CC* генотипови) чешће имали *DLBCL* неповољног клиничког стадијума III/IV него болесници са *GG* генотипом ($p = 0,06$) (табела 8).





Слика 2. Однос лимфоцита и моноцита (*LMR*) и однос неутрофила и лимфоцита (*NLR*) код болесника са *DLBCL* са различитим *ATG16L1* генотиповима.

Болесници са *ATG16L1* *AA* генотипом су имали нижи *LMR* од носилаца *AG/GG* генотипа ($2,36 \pm 1,03$ vs $3,16 \pm 1,78$, $p = 0,052$;) и *GG* генотипа ($2,36 \pm 1,03$ vs $3,43 \pm 1,93$ $p = 0,054$). *LMR* вредности се нису значајно разликовале између носилаца *AA/AG* и *GG* генотипа ($2,79 \pm 1,53$ vs $3,43 \pm 1,93$, $p = 0,155$). *NLR* вредности су биле значајно веће код болесника са *ATG16L1* *AA* генотипом него код *AG/GG* ($6,17 \pm 5,7$ vs $4,02 \pm 2,51$, $p = 0,033$) и *GG* носилаца ($6,17 \pm 5,7$ vs $3,04 \pm 1,96$, $p = 0,004$). Вредности *NLR* су се такође значајно разликовале између носилаца генотипова *AA/AG* и *GG* ($5,11 \pm 3,97$ vs $3,04 \pm 1,96$, $p = 0,003$).

Табела 8. Учесталост *TP53* генотипова код болесника са *DLBCL* у различитом клиничком стадијуму

ГЕНЕТИЧКИ МОДЕЛ	<i>TP53</i> ГЕНОТИП	КЛИНИЧКИ СТАДИЈУМ, n (%)		OR (95%CI); p ¹
		III/IV	I/II	
Кодоминантни	GG	24 (46.2)	31 (64.6)	1 (референтна вредност) 0.47 (0.2-1.1); 0.08 0.46 (0.1-2.14); 0.45 0.18
	CG		14 (29.2)	
	CC	23 (44.2)	3 (6.2)	
p ²		5 (9.6)		
Доминантни	GG	24 (46.2)	31 (64.6)	1 (референтна вредност) 0.47 (0.21-1.05); 0.06
	GC+CC	28 (53.8)	17 (35.4)	
Рецесивни	GG+GC	47 (90.4)	45 (93.8)	1 (референтна вредност) 0.63 (0.14-2.68); 0.72

	CC	5 (9.6)	3 (6.2)	
--	----	---------	---------	--

¹p вредност добијена *Pearson* χ^2 тестом; ²p вредност добијена χ^2 тестом, df=2

Значајна повезаност између *BCL2* генотипова и клиничких карактеристика показана је само за број екстранодалних места (табела 9). Присуство најмање два екстранодална места било је чешће код носилаца алела *C* (*CC+CA* vs *AA*, $p=0,02$) и *CC* генотипа (*CC* vs *CA+AA*, $p=0,17$).

Табела 9. Учесталост *BCL2* генотипова код болесника са различитим бројем екстранодалних места

ГЕНЕТИЧКИ МОДЕЛ	<i>BCL2</i> ГЕНОТИП	БРОЈ ЕКСТРАНОДАЛНИХ МЕСТА, n (%)		OR (95%CI); p ¹
		0,1	2,3	
Кодоминантни p ²	CC	12 (50)	12 (50)	1 (референтна вредност) 0,44 (0,16-1,2); 0,11 0,15 (0,041-0,58); 0.003 0.01
	CA	34 (69,4)	15 (30,6)	
	AA	26 (86,7)	4 (13,3)	
Доминантни	CC	12 (50)	12 (50)	1 (референтна вредност) 0,32 (0,12-0,82); 0.02
	CA+AA	60 (75,9)	19 (24,1)	
Рецесивни	CC+CA	46 (61,3)	27 (38,7)	1 (референтна вредност) 0,26 (0,08-0,83); 0.02
	AA	26 (86,7)	4 (13,3)	

¹p вредност добијена *Pearson* χ^2 тестом; ²p вредност добијена χ^2 тестом, df=2

Даље, учесталости *FCGR2A* rs1801274 генотипова су биле статистички значајно различите између пацијената са различитим *NCCN IPI* ($p = 0,01$) прогностичким скором. Носиоци *HH* генотипа чешће су имали неповољну прогнозу према *NCCN IPI* (*HH* vs *HR+RR*, $p = 0,004$) и *aaIPI* (*HH* vs *HR+RR*, $p = 0,04$) (табела 10). Статистички значајна повезаност између *FCGR2A* rs1801274 и *IPI* није пронађена.

ГЕНЕТИЧКИ МОДЕЛ	<i>FCGR2A</i> ГЕНОТИП	<i>NCCN IPI</i> , n (%)		OR (95%CI); p ¹
		низак, средње-низак	висок, средње-висок	
Кодоминантни p ²	HH	9 (23,1)	30 (76,9)	1 (reference) 0,25 (0,1-0,65); 0.003 0,38 (0,11-1,23); 0.1 0.01
	HR	25 (54,3)	21 (45,7)	
	RR	8 (44,4)	10 (55,6)	
Доминантни	HH	9 (23,1)	30 (76,9)	1 (reference) 0,28 (0,12-0,69); 0.004
	HR+RR	33 (51,6)	31 (48,4)	
Рецесивни	HH+HR	34 (40)	51 (60)	1 (reference) 0,83 (0,3-2,32); 0,73
	RR	8 (44,4)	10 (55,6)	
ГЕНЕТИЧКИ	<i>FCGR2A</i>	<i>aa IPI</i> , n (%)		OR (95%CI); p ¹

	VV	3 (18,8)	13 (81,2)	2,57 (0,68-9,7); 0,15
ГЕНЕТИЧКИ МОДЕЛ	FCGR3A ГЕНОТИП	ЕКСТРАНОДАЛНА БОЛЕСТ, n (%)		OR (95%CI); p ¹
		Није присутна	присутна	
Кодоминантни p ²	FF	16 (51,6)	15 (48,4)	1 (reference)
	FV	15 (27,3)	40 (72,7)	2,84 (1,13-7,15); 0,02
	VV	1 (6,3)	15 (93,7)	16 (1,88-136,4); 0,002
Доминантни	FF	16 (51,6)	15 (48,4)	1 (reference)
	FV+VV	16 (22,5)	55 (77,5)	3,67 (1,49-9); 0,004
Рецесивни	FF+FV	31 (36)	55 (64)	1 (reference)
	VV	1 (6,3)	15 (93,7)	8,45 (1,07-67,11); 0,02

Табела 11. Учесталост *FCGR3A* генотипова код болесника са различитим клиничким стадијумом

и присуством екстранодалних места

¹p вредност добијена *Pearson* χ^2 тестом; ²p вредност добијена χ^2 тестом, df=2

4.4. Повезаност генотипова са терапијским одговором и током болести

У анализираној групи од 130 оболелих укупна стопа одговора (ORR) након R-CHOP терапије је била 92,3 %. Комплетна клиничка ремисија (CCR) је постигнута код 72 болесника (55,4%), док је парцијални одговор (PR) забележен код 48 болесника (36,9 %). Иницијално резистентна болест (IRD) била је присутна код 10 болесника (7,7%).

Компликације у раној и касној терапији уочене су у 23/130 болесника (17,7 %). Инфекције током терапије биле су присутне код 20 болесника (15,4 %), док је 10 болесника (7,7%) је искусило токсичност повезану са терапијом. У анализираној групи болесника код 31/130 (23,8 %) је дошло до релапса.

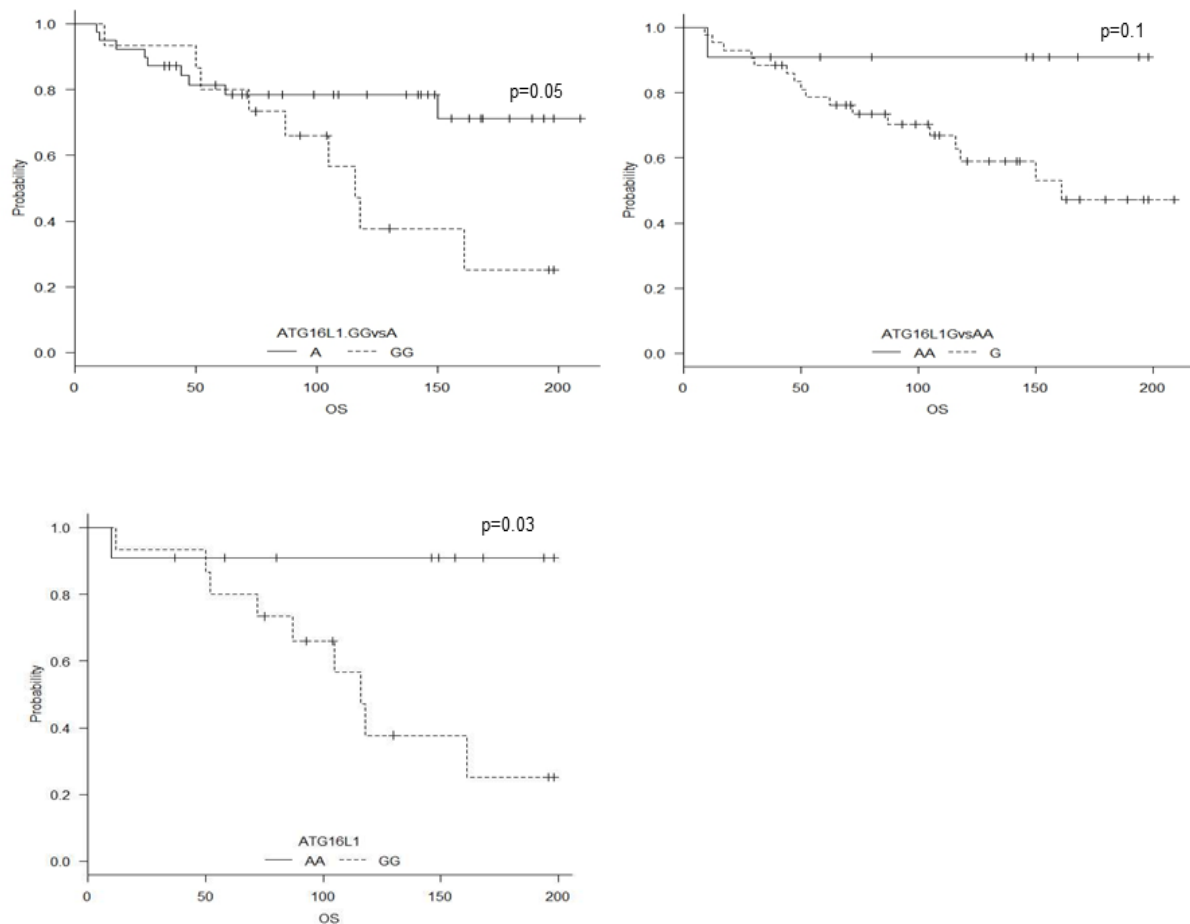
Међутим, анализирани генотипови нису утицали на одговор на терапију, појаву релапса, као и на појаву нежељених догађаја током лечења.

4.5. Повезаност генотипова са преживљавањем и исходом

Током праћења, умрло је 38, болесника. У групи болесника којима је анализиран *ATG16L1 rs2241880* генотип смртни исход је забележен код 38 болесника, од тога 5/38 (13,2%) је имало *ATG16L1 AA* и 15/38 (39,5%) имало је *GG* генотип (*AA vs GG*, $p = 0,04$; OR 0,3, 95 %CI 0,09–0,99). Да би идентификовали најзначајније факторе за преживљавање коришћена је логистичка регресија која је као неповољне факторе укључила висока или висок/средњи IPI, висок или висок/средњи NCCN IPI, присуство Б-симптома и туморског облика болести, мушки пол, LMR испод cut-off вредности, NLR и PLR изнад cut-off-а и *ATG16L1 GG* генотип. Анализа је показала да је само висок или висок/средњи NCCN IPI био повезан са лошим исходом; OR 4,34, 95 % CI 1.24–15.1; $p = 0,02$.

Такође, *log rank* тестом је показано да генотипови нису утицали на *OS* и *RFS* (рецесивни, доминантни и ко-доминантни генетички модел). Анализа *OS* и *RFS* код болесника са различитим прогностичким карактеристикама (клинички стадијум, IPI, NCCN IPI) и терапијским приступом (трансплантација матичних ћелија или

радиотерапија), показала је да су носиоци алела *ATG16L1* A (AA+AG vs GG) имали супериорнији OS када су лечени са R-CHOP и радиотерапијом ($p = 0,05$); поред тога, болесници са *ATG16L1* AA су имали бољи OS од носиоца GG генотипова ($p = 0,03$) (слика 3). Сох-ова регресиона анализа (висок или висок/средњи IPI, висок или висок/средњи NCCN IPI, присуство Б-симптома, туморски облик болести, мушки пол, LMR испод граничне вредности, NLR и PLR изнад граничне вредности вредност и *ATG16L1* GG генотипови као неповољни прогностички фактори) идентификовала је само висок или висок/средњи NCCN IPI [однос опасности (HR) 3,35, 95 %CI 1,24–9,06; $p = 0,02$] и висок PLR (HR 0,29, 95 %CI 0,09–0,95; $p = 0,04$) као независне факторе за лоше укупно преживљавање (OS). Када је Сох регресија укључивала само болеснике са *ATG16L1* AA и GG генотиповима, високи или високи/средњи NCCN IPI и високи PLR остају значајно повезани са OS, док је утицај *ATG16L1* GG генотипа забележен као тренд ($p = 0,06$) (Табела 12).



Слика 3. Дуже укупно преживљавање (месеци) примећено је код носилаца алела *ATG16L1* A (AA/Ag наспрам GG, $p=0,05$; AG/GG наспрам AA, $p=0,102$). Поређење само носилаца AA и GG генотипова показало је боље укупно преживљавање код болесника са *ATG16L1* AA генотипом ($p=0,03$). Криве преживљавања су генерисане применом методе Каплана и Мејера и упоређене *log rank* тестом.

ФАКТОР	HAZARD RATIO	95% CI	p (Wald test)
<i>ATG16L1 GG</i>	3.75	0.93-15.06	0.06
<i>Б-СИМПТОМИ</i>	0.62	0.18-2.17	0.46
<i>ТУМОРСКИ ОБЛИК БОЛЕСТИ</i>	0.68	0.17-2.68	0.58
<i>МУШКИ ПОЛ</i>	0.62	0.17-2.23	0.46
<i>IPI висок/средњи-висок</i>	1.4	0.33-5.9	0.65
<i>NCCN IPI висок/средњи-висок</i>	8	1.59-40.15	0.01
<i>LMR испод cut-of вредности</i>	0.57	0.1-3.29	0.53
<i>NLR изнад cut-of вредности</i>	2.99	0.5-17.96	0.23
<i>PLR испод cut-of вредности</i>	0.06	0.01-0.68	0.02

Табела 12. Сох-ова регресиона анализа за идентификацију најзначајнијих прогностичких фактора за укупно преживљавање код носиоца *ATG16L1* AA и GG генотипова који су лечени R-CHOP-ом и радиотерапијом

V ДИСКУСИЈА

Дифузни Б крупноћелијски лимфом представља најчешћи хистолошки ентитет нехочкиних лимфома (NHL) са учесталошћу од 30-40%. Реч је о агресивном типу лимфома којег карактерише хетерогеност патогенезе, клиничке слике и одговора на терапију. Многи фактори утичу на развој DLBCL, међу којима је и генетичка варијабилност, на пример полиморфизми једног нуклеотида (SNP).

Ова студија је анализирао учесталост *ATG16L* rs2241880, *TP53* rs1042522, *BCL2* rs2279115, *FCGR2A* rs1801274 и *FCGR3A* rs396991 алела и генотипова као и њихову повезаност са клиничким карактеристикама, током болести и исходом лечења болесника са DLBCL.

Учесталост анализираних алела

Упоређујући учесталост SNP rs1042522, rs2241880, rs1042522, rs2279115, rs1801274 и rs396991 генотипа/алела у свету, различите етничке групе показују различиту учесталост генотипова/алела. Према подацима из базе података Националног центра за биотехнолошке информације (*National Center for Biotechnology Information db SNP*) учесталост наведених SNP-ова у општој популацији је следећа: *TP53* rs1042522: алел С у односу на алел Г је најзаступљенији код Европљана (72%), Американаца (68%), Јапанаца (65%) и код источноазијских народа (59%). Алел Г учесталије се јавља код Африканаца (67%), док је подједнака учесталост оба алела код јужноазијских народа. *ATG16L1* rs2241880 алел Г је најфреквентнији код Европљана (54%), док је алел А заступљенији у америчкој (68%), афричкој (69%) и азијској популацији (68%). *BCL2* rs2279115 алел Т се учесталије јавља у односу на алел Г код Европљана (56%) и Американаца (59%); алел Г се чешће јавља у афричкој (83%) и азијској популацији (69%). *FCGR2A* rs1801274 оба алела, Н и R се налазе у сличним учесталостима код Европљана и Американаца. Алел Н је заступљенији у азијској (61%), док је алел R заступљенији у афричкој популацији (55%). *FCGR3A* rs396991 F алел се чешће јавља у свим популацијама [европска (65%), америчка (74%), афричка (66%), азијска (66%)] (Zoric и сар.,2012; Yalu и сар.,2017).

Учесталост и клинички значај *TP53* rs1042522

TP53 је један од највише изучаваних гена у малигним болестима, а његов прогностички значај се и даље интензивно истражује. Неколико студија је указало на повезаност *TP53* rs1042522 полиморфизма (Arg72Pro) и ризика од нехематолошких малигнитета укључујући карциноме плућа, костију, јајника, дебелог црева, дојке, штитне жлезде, коже, желуца, мозга као и карциноме урогениталног тракта (Pillai i

sar.,2016). Такође, описана је и повезаност *TP53* rs1042522 полиморфизма и ризика од различитих немалигних болести (Dastjerdi и сар., 2013 Słomiński и сар.,2021; Guo и сар.,2021). Повезаност *TP53* rs1042522 полиморфизма са DLBCL и његов прогностички значај показани су у студији кинеских аутора (Liu и сар.,2017). Мета анализа значаја полиморфизма *TP53* rs1042522 у хематолошким малигнитетима није показала статистички значајану повезаност са обољевањем од леукемије, али је показано да болесници са GC генотипом чешће обољевају од нехочкинских лимфома (Weng и сар.,2012), што је претходно показано и у другим студијама (Navranek и сар., 2011; Kim и сар., 2010; Voropaeva и сар., 2009).

Значајан број истраживања је анализирао повезаност rs1042522 полиморфизма и карцинома простате, а публиковани резултати су неконзистентни чак и у оквиру исте популације (Han и сар.,2019; Xu и сар.,2010). Такође, студија спроведена у Индији је показала да мушкарци са GC генотипом чешће обољевају од карцинома простате (Mittal и сар.,2011) док, на пример, у иранској популацији варијантни C алел није значајно повећавао ризик за овај малигнитет (Babaei и сар.,2014) као ни за карцином желуца (Hedayatizadeh-Omran и сар.,2018). Полиморфизам *TP53* је повезан са ризиком обољевања од карцинома штитне жлезде (Wu и сар.,2014) и карцинома мокраћне бешике (Zhang и сар.,2018). Није доказана повезаност rs1042522 са ризиком за обољевање од сквамозног карцинома усне дупље (Sun и сар.,2018). Међутим, публиковани подаци о повезаности rs1042522 и карцинома грлића материце су контрадикторни. Тако мета анализа Yu-а и сарадника није успела да утврди да ли је алел G или C фактор ризика (Yu и сар.,2022). Сугерисано је да жене са доминантним генотипом (CC+CG vs GG; OR=1,759, 95% CI: 1,186-2,611, p=0,005) чешће обољевају од рака грлића материце, парадоксално као и жене са генотипом GG (GG vs CC; OR=2,452, 95% CI:1,347-4,464, p=0,003). Овакви резултати се могу објаснити тиме да Arg72 облик TP-53 не делује на заустављање хелијског циклуса што повећава ризик од рака међу носиоцима овог алела (Pim и сар.,2004), а са друге стране постоји подложности деградацији убиквитин-зависне протеолизе раног онкопротеина HPV (Storey и сар.,1998). Контрадикторни резултати су публиковани и о повезаности rs1042522 и ризика за обољевање од карцинома дојке. Код највећег броја жена иранске популације је детектован генотип GC који је био повезан са већом склоношћу за обољевање од карцинома дојке (Anoushirvani и сар.,2021). Код жена Литваније оболелих од карцинома дојке најзаступљенији генотип је GG rs1042522 (око 60%) и није утврђена позитивна корелација између rs1042522 и обољевања (Bekampytė и сар.,2021). Око 22% болесница мароканске популације носи rs1042522 CC генотип који је био повезан са повећаним ризиком обољевања од карцинома дојке (Ayoubi и сар.,2018). Исте резултате је показала студија која спроведена код жена турске популације где се генотип CC детектује у 44% испитаница (Icen-Taskin и сар.,2020). Исте студије истичу да хомозиготни генотип GG који је уочен у 44% жена Марока и хетерозиготни генотип CG у жена Турске имају заштитни ефекат против карцинома дојке (Ayoubi и сар.,2018; Icen-Taskin и сар.,2020). Када је анализирана повезаност rs1042522 полиморфизма и акутне мијелоидне леукемије, уочена је позитивна корелација али код болесника са вискоризичном цитогенетиком и *NPM1* мутацијом (нуклеофозмин мутација1) (Tripo и сар.,2020). Анализа повзаности *TP53* rs1042522 и колоректалног карцинома је такође спровођена у различитим популацијама. Студија Tian-а и сарадника је показала да су у азијској популацији носиоци rs1042522 CC генотипа склонији обољевању од колоректалног карцинома (Tian и сар; 2017). Међутим, мета анализом је показано да су носиоци алела G и хомозиготног генотипа GG у афричкој и азијској популацији склонији обољевању од колоректалног карцинома (Elshazli и сар.,2020). Удруженост rs1042522 са колоректалним карциномом није

доказана код Европљана, Турака, Американаца и Латино Американаца (Elshazli и сар.,2020), али ни у неким азијским популацијама (Dong и сар.,2018; Zhang и сар.,2018). Према публикованим резултатима, rs1042522 хомозиготни генотип CC корелира са лошом прогнозом унапредовалог стадијума карцинома желуца (Zha и сар.,2016), а присуство rs1042522 полиморфизма је удружено са повећаним ризиком обољевања од карцинома мокраћне бешике у азијској популацији док овакви резултати нису потврђени код Европљана . Додатно је запажено да се ризик обољевања увећава код пушача (Zhang и сар.,2018). Досадашњи резултати о повезаности rs1042522 и обољевања од карцинома плућа су опречни. Код Европљана оболелих од карцинома плућа најзаступљенији је генотип CC (око 50%), док је у азијским популацијама најзаступљенији генотип GC (48%). Мета анализа је показала да белци са алелеом C и хомозиготним генотипом CC, односно носиоци алела C у азијској популацији чешће обољевају од карцинома плућа (Bulgakova и сар.,2020; Papadakis и сар., 2002). Према неким ауторима, повећан ризик обољевања од карцинома плућа је уочен код носиоца генотипа CC и GC (Mostaid и сар.,2014; Chowdhury и сар.,2015; Bulgakova и сар.,2019) Такође је показана повезаност rs1042522 и рака грлића материце (Yu и сар.,2022; Glade, 1999). Како је објављено, варијантни rs1042522 алел значајно повећава ризик од ендометриозе (Dastjerdi и сар., 2013) док болесници са генотипом GG чешће развијају аутоимуни тиреоидитис и целијакију (Słomiński и сар.,2021).

У нашој студији, генотипизација *TP53* је показала да су носиоци C алела (CG/CC генотипови) чешће имали DLBCL неповољног клиничког стадијума III/IV него болесници са GG генотипом. Није утврђена удруженост са другим клиничким карактеристикама. Мета анализа повезаности полиморфизма *TP53* и хематолошких малигнитета у различитим етничким групама није показала статистички значајну повезаност (Weng и сар.,2012. Међутим, студија у кинеској популацији је показала да болесници са алелеом G чешће испољавају Б симптоме (Liu и сар.,2017). Када су анализирани други малигнитети, на пример карцином дојке, у више студија није показана повезаност rs1042522 и клиничких карактеристика (Bekampytė и сар.,2021; Apoushivani и сар.,2018; Ayoubi и сар.,2018), док је неколико студија показало повезаност са животном доби, менархом и дојењем (Al-Eitan и сар. 2019) или са млађом животном доби и позитивним хормонским статусом (Icen-Taskin и сар.,2020), повећаним бодимас индексом и позитивним хормонским статусом (Apoushivani и сар.,2021). Студија која је испитивала повезаност rs1042522 са компликацијама у болесника са дијабетесом типа 2 није утврдила повезаност генотипа (CC/GG) са клиничким карактеристикама болесника, односно развојем компликација, и посебно дијабетичне неуропатије и ретинопатије, што се приписује стабилнијем митохондријалном геному (Guo и сар.,2021).

Губитак функције *TP53* је чест у малигнитетима, укључујући DLBCL. Међутим, одређене мутације и полиморфизми *TP53* немају исти значај међу туморима. Узимајући у обзир претходне извештаје, поремећај регулације *TP53* доприноси хеморезистентности и повезан је са лошим исходом код болесника са DLBCL који су лечени R-CHOP протоколом (Miao и сар.,2019). Полиморфизам rs1042522 резултује променом Pro у Arg на кодону 72 ексона 4, при чему је Arg варијанта снажнији индуктор апоптозе. У српској популацији, Pro варијанта (алел C) је описана као фактор ризика за рак дојке (Krivokusa и сар.,2014), док Arg варијанта (алел G) вероватно има заштитну улогу против аденокарцинома плућа (Cavic и сар.,2019). У нашој студији, као што је напред наведено, носиоци C алела (CG/CC генотипови) чешће су имали DLBCL неповољног клиничког стадијума III/IV, на основу чега можемо претпоставити да унапредовали DLBCL код носиоца алела C може бити повезан са смањеном способношћу варијанте *TP53* Pro да индукује апоптозу лимфомских ћелија. Међутим, у

нашој студији *TP53* rs1042522 генотипови нису утицали на одговор на терапију и на ток DLBCL. Насупрот овом налазу, у кинеској студији (Liu и сар.,2017) болесници са DLBCL који су били носиоци G алела (GG/ GC генотипови) чешће су постизали клиничку ремисију за разлику од болесника са генотипом CC. Упоредјујући ефекат пуних и редукованих доза имунохемиотерапије (R-CHOP vs R-CHOP-like) није доказана разлика у клиничком одговору између различитих генотипова.

Полиморфизми *TP53* су значајно повезани са појавом и прогресијом CLL (Zhang и сар.,2020). Код болесника са MDS који се карактерише del(5q) лечених леналидомидом, постојао је тренд дужег трајања одговора код болесника са алелом C (McGraw и сар.,2015). Код жена код којих је примењена терапија са антрациклинима у склопу лечења карцинома дојке, показано је да је rs1042522 GG генотип био повезан са већом кардиотоксичношћу; испитанице су негирале претходне кардиолошке болести, а запажено је да чешће развијају срчану слабост током праћења по завршеном лечењу (Корева и сар.,2022). Код жена оболелих од карцинома дојке такође је уочена корелација rs1042522 генотипа CG са лошим одговором на хемиотерапију и чешће присуство метастаза (Anoushirvani и сар.,2021).

У истраживању Liu и сарадника носиоци алела G (GG/GC генотипови) су дуже живели и касније обнављали DLBCL (Liu и сар.,2017). Варијантни rs1042522 алел је био повезан са бољом прогнозом код болесника са карциномом плућа лечених хемотерапијом на бази платине (Kumari и сар.,2016), док је код унапредовалог карцинома желуца леченог паклитакселом и капецитабином био у корелацији са лошом прогнозом (Zha и сар.,2016). Запажена је и корелација rs1042522 генотипа CG са лошом прогнозом у жена оболелих од рака дојке (Anoushirvani и сар.,2021; Rodrigues и сар.,2013).

Наша студија није показала статистички значајну повезаност rs1042522 генотипова са преживљавањем и исходом,

Учесталост и клинички значај *ATG16L1* rs2241880

Аутофагија је ћелијски процес који омогућава деградацију и елиминацију нежељених или нефункционалних интрацелуларних компоненти. Све већи број студија изучава везу аутофагије и канцерогенезе, указујући да овај процес може супримирати настанак и развој тумора, али и супротно, може промовисати његов раст (Yang и сар., 2020). Аутофагију регулише неколико гена (*ATG*), а полиморфизам *ATG16L1* rs2241880 је можда најпроучаванији SNP у вези са аутофагијом и повезује се са развојем карцинома, инфламаторних болести црева, аутоимунских болести, неуролошких поремећаја и инфекцијом бактеријом *H. pylori* (Tamargo-Gomez и сар.,2020). Значај полиморфизма *ATG16L1* rs2241880 у патогенези канцера није у потпуности изучен (Abdolkarim и сар.,2019).

У нашој студији учесталост алела G износи 54% што је слично као и у другим европским популацијама. Најучесталији генотип код наших испитаника је био AG (48%).

Према нашим сазнањима до сада није објављен рад повезаности rs2241880 и ризика за развој DLBCL. Већина претходних извештаја анализирао је његову повезаност са Кроновом болешћу, али су бројне студије показале и везу са различитим типовима карцинома (колоректални карцином, карцином желуца, штитне жлезде, плућа и простате, меланом, карцином сквамозних ћелија главе и врата) (Tamargo-Gomez и сар.,2020). У болесника са меланомом, показана је повезаност rs2241880 GG генотипа и мање дебљине по Бреслову, док је AG генотип био повезан са млађом доби при дијагнози (White и сар.,2016). Аутори из Ирана су показали кроз анализу у рецесивном

и доминантном генетичком моделу да је rs2241880 AA генотип повезан са повећаним ризиком обољевања од колоректалног карцинома (CRC) (Jamali i sar.,2022). Nicoli и сарадници (2014) су уочили да носиоци GG генотипа у румунској популацији чешће обољевају од CRC у поређењу са носиоцима AA генотипа који је чешће заступљен (Nicoli и сар., 2014). Такође, уочена је повезаност GG генотипа и ризика за развој сквамозног карцинома усне дупље (Fernández-Mateos и сар.,2019). Болесници тајванске популације са rs2241880 A алелом чешће обољевају од хепатоцелуларног карцинома (Wisetsathorn и сар, 2017). Супротно томе, повезаност између полиморфизма rs2241880 и колоректалног карцинома није потврђена у кинеској популацији (Сао и сар., 2016) као и ни повезаност са ризиком за развој карцином мокраћне бешике и простате у турској популацији (Diler и сар.,2018). Аутофагију као механизам деградације ћелије може покренути и бактерија *H. pylori*. Сматра се да се ризик за развој аденокарцинома желуца повећава уз присуство *H. pylori* инфекције. Показано је да су аустралијски белци чешће обољевали од аденокарцинома желуца уколико су били носиоци rs2241880 G алела и GG генотипа. Уочен је синергистички ефекат између *H. pylori* инфекције и аденокарцинома јер је већина носиоца алела G имала *H. pylori* инфекцију (Mommersteega и сар., 2022). Слични резултати су нађени у немачкој и шкотској популацији (Raju и сар.,2012) док је у кинеској популацији уочено супротно, односно да носиоци генотипа GG ређе обољевају од карцинома желуца удруженог са *H. pylori* инфекцијом у односу на носиоце AG генотипа (Tanaka и сар.,2017). *ATG16L1* rs2241880 алел A и генотип AA/AG су повезани са развојем премалигних лезија у желуцу у холандској популацији. Занимљиво је да је утврђена значајност за ризик обољевања од блажег степена премалигних лезија желуца што се може објаснити различитим утицајем *ATG16L1* rs2241880 на стадијуме болести и различитом вирулентношћу *H. pylori* (Mommersteega и сар., 2022). Студија је показала да болесници са rs2241880 генотипом AA у односу на генотипове AG и GG у румунској популацији имају повећан ризик за развој карцинома желуца, на основу чега се може закључити да алел G има протективну улогу (Burada и сар.,2016). Такође, друге студије су показале да *ATG16L1* rs2241880 алел G има протективну улогу у настанку карцинома штитне жлезде (Huijbers и сар.,2012) и карцинома плућа (Al-Ali и сар.,2017). Када је реч о немалигним болестима, уочена је повезаност између *ATG16L1* rs2241880 и повећаног ризика за развој реуматоидног артритиса (RA) у кинеској популацији (Мо и сар.,2021). Студије су показале и повезаност rs2241880 алела G са повећаним склоношћу за развој Кронове инфламаторне болести црева (Henderson и сар.,2012;Кее и сар.,2020).

У нашој студији, болесници са rs2241880 AG генотипом чешће су имали екстранодалну болест. Такође, rs2241880 A алел/AA генотип је био повезан са нижим LMR и већим NLR. Већи број новијих студија је показао да се однос различитих популација ћелија у периферној крви, као што су LMR, NLR или PLR, може користити као прогностички маркер код лимфома и других малигнитета (Ми и сар.,2018; Stefaniuk и сар.,2020). Претпоставља се да апсолутни број неутрофила, лимфоцита и моноцита одражава системски инфламаторни одговор на малигнитет, односно имунитет домаћина на тумор/лимфоците који инфилтрирају тумор као и макрофаге повезане са тумором (Marcheselli и сар.,2020). Као што је раније објављено, низак LMR при дијагнози корелира са лошим OS и PFS, док је пораст LMR повезан са повољнијим клиничким исходима (Zhou и сар.,2017). За разлику од LMR, код болесника са DLBCL који су имали повишене вредности NLR пре терапије је описано лошије преживљавање (Wang и сар.,2017; Gao и сар.,2021). У нашој студији NLR је био значајно виши код носиоца rs2241880 A алела/AA генотипа него код носиоца G алела. LMR вредности су биле значајно ниже код носиоца AA генотипа него код болесника са GG генотипом. Претходна истраживања су указала да мушкарци носиоци rs2241880 GG генотипа

чешће оболевају од колоректалног карцинома (Nicolì и сар.,2014) као и да је овај генотип повезан са присуством слабодиферентованог CRC. Код носиоца генотипа GG у млађој кинеској популацији показан је тренд чешћег обољевања од CRC, док није утврђена повезаност са осталим клиничким карактеристикама болесника/болести (Сао и сар.,2016). У студији везаној за карцином штитне жлезде није уочена корелација између *ATG16L1* генотипова и клиничких параметара (Huijbers и сар.,2012).

Новија истраживања указују да би аутофагија могла бити потенцијални таргет у новим стратегијама лечења, посебно код релапсирајуће или рефракторне болести (Djavaheri-Mergny и сар.,2019; Mulcahy Levy и сар.,2020;Lim и сар.,2021; Martins и сар.,2021). У нашој студији анализирани rs2241880 генотипови нису утицали на одговор на терапију и на појаву нежељених догађаја током лечења.

Акумулирано знање о аутофагији указује на важну улогу овог механизма како у урођеном тако и у адаптивном имунском одговору. На пример, аутофагија неутрофила, испољава протуморогене или антитуморогене активности у зависности од типа тумора и туморске микросредине. Као што је раније објављено, усходна регулација аутофагије промовише напредовање хепатоцелуларног карцинома и неких других солидних тумора (Abdolkarim и сар.,2019;Tamargo-Gomez и сар.,2020). Код хематолошких малигнитета (нарочито код акутне мијелоидне леукемије), може бити од суштинског значаја за спречавање развоја и прогресије болести (Jiang и сар.,2019; Yu и сар.,2020). Узимајући у обзир објављене студије, индукција/супресија аутофагије неутрофила изгледа привлачно као терапијска стратегија. Међутим, треба имати на уму да сви механизми аутофагије, укључујући функцију ATG протеина, нису у потпуности истражени. Поред тога, у претходним истраживањима туморске микросредине аутофагија је означена као важан регулатор хомеостазе, активације и биолошких функција имунског система ћелије (Jiang и сар.,2019). Улога аутофагије у имунолошком надзору малигнитета је контраверзна; она може побољшати презентацију антигена, активирати цитотоксичну активност CD8+ Т ћелија и последично допринети мањем расту тумора. Напротив, може повећати експресију PD-1 и CTLA-4 или деградацију гранзим Б молекула и тако заштитити малигне ћелије (de Souza и сар.,2020). Добијени резултати разликују се зависно од експерименталног контекста/модела (Duan и сар.,2021). У нашој студији LMR вредности (одражавају имунитет домаћина на тумор/лимфоците који инфилтрирају тумор) били су нижи код болесника са rs2241880 AA генотипом, односно код оних са функционалним ATG16L1. О значају овог налаза можемо само правити паралеле са претходним извештајима о значају аутофагије код болесника са унапредовалим карциномом плућа и оскудним Т-ћелијама које инфилтрирају тумор (Zarogoulidis и сар.,2016). Студија спроведена у немачкој популацији оболелих од карцинома штитне жлезде је показала да носиоци генотипа GG или AG имају бољи клинички одговор на примену радиоактивне аблације након тиреоидектомије као и потребу за лечењем нижом кумулативном дозом (Huijbers и сар.,2012).

Упркос повезаности са екстранодалном болешћу, NLR и LMR, генотипови rs2241880 нису утицали на одговор на терапију, учесталост рецидива, исход, као и PFS и OS наших болесника. Једини изузетак је пронађен код болесника који су били подвргнути радиотерапији. У овој групи носиоци ATG16L1 rs2241880 А алела/AA генотипа су имали дуже преживљавање (OS) од носилаца GG генотипа. Веза између аутофагије и радиотерапије је опширно проучавана, али доступни подаци су контрадикторни. Неки аутори су истицали радиопротективну улогу аутофагије и сугерисали да се радиосензитивност туморске ћелије може повећати након инхибиције аутофагије. Са друге тачке гледишта, индукција аутофагије може ограничити пролиферацију туморских ћелија и допринети преко различитих механизма

радиосензибилизацији, што доводи до ћелијске смрти (Ondrej и сар.,2016; Xin и сар.,2017). Додатно, показано је да различити АТГ (посебно АТГ10 и АТГ16Л2) утичу на ефикасност и токсичност радиотерапије (Yang и сар.,2019). Упркос значајној акумулацији знања у овој области, обимнија истраживања су потребна за превођење варијација АТГ у рутинске фармако/радиогенетичка тестирања и побољшање протокола лечења које би обухватало и модификацију аутофагије. Претходна истраживања су указала на повезаност између rs2241880 алела G и смањеног ризика од метастаза у мозгу код болесника са ситноћелијским карциномом плућа (Li и сар.,2017), као и дуже OS и мањи ризик за појаву метастаза код болесника са колоректалним карциномом (Grimm и сар.,2016). Насупрот томе, резултати кинеске студије сугеришу да је присуство rs2241880 GG генотипа повезано са неповољним исходом лечења болесника са колоректалним карциномом (Сао и сар.,2016). Истраживања везана за карцином желуца су показала да је *ATG16L1* rs2241880 G алел повезан са прогресијом премалигних лезија и аденокарцинома желуца јер у ћелијама са G алелом, *H. pylori* доводи до повећане продукције IL-8, односно смањене продукције TNF- α (Mommersteega и сар.,2022). Требало би напоменути да *ATG16L1* rs2241880 полиморфизам може имати прогностички или предиктивни значај када се посматра у контексту молекуларних карактеристика тумора. Тако носиоци полиморфног rs2241880 алела са узнапредовалим аденокарциномом плућа и мутираним *EGFR* геном имају краће преживљавање и краћи период до релапса (Yuan и сар.,2017).

Учесталост и клинички значај *BCL2* rs2279115

BCL2 ген је један од најзначајнијих регулатора апоптозе при чему је његова експресија измењена у великом броју тумора. *BCL2* може утицати на равнотежу између апоптозе и преживљавања ћелија, укључујући и малигне лимфоидне ћелија. Пре готово две деценије Парк и сарадници су били први који су описали *BCL2* rs2279115 (-938C>A) полиморфизам који је до данас један од најпроучаванијих полиморфизама гена у разним хематолошким и нехематолошким малигнитетима (Park и сар., 2004). У нашој студији учесталост rs2279115 алела A је износила 52%, што је слично учесталости у другим европским популацијама као и у Америци. Најучесталији генотип у нашој студији је био AC (48%). Слична студија египатских аутора је показала већу учесталост AA (13%) и AC (35%) генотипова. Иста студија је показала да носиоци хомозиготног генотипа AA и хетерозиготног генотипа AC чешће обољевају од DLBCL (Reham и сар., 2022). Сматра се да носиоци A алела испољавају повећану експресију *BCL2* што води до антиапоптотичког ефекта и даље резултује клоналном селекцијом и развојем лимфома. У претходним студијама је rs2279115 генотип AA био повезан са повећаним ризиком за развој Б нехочкинских лимфома (Cingeetham и сар.,2015) као и карцинома дојке (Zhang и сар.,2011). Мета анализа је показала повезаност овог полиморфизма са повећаним ризиком за развој карцинома у сва четири генетичка модела (алел модел, хомозиготни модел, доминантни модел и рецесивни модел) (Yao и сар.,2017). У студији о CLL није доказана повезаност rs2279115 полиморфизма/генотипова са обољевањем (Nüchel и сар.,2007). Друга мета анализа корелације rs2279115 и ризика за карцином је показала да носиоци варијантног алела у азијској популацији чешће обољевају од малигних болести за разлику од белаца; запажена је значајна корелација са карциномима ендокриног и гастроинтестиналног система, док није уочена повезаности обољевања од карцинома плућа, дојке и хематолошких малигних болести (Yao и сар.,2017). Студија је показала да болесници иранске популације са rs2279115 AA генотипом имају повећан ризик за развој акутне леукемије (Dhafer и сар.,2018). Показана је и повезаност алела A и хомозиготног генотипа AA када је удружен са HCV хепатитисом, са већим ризиком за обољевање од

хепатоцелуларног карцинома (Ahmed и сар.,2020). Резултати о повезаности rs2279115 и карцинома једњака су контрадикторни (Young и сар.,1993; Liu и сар.,2012) док је утврђена повезаност генотипова AA и AC са повишеним ризиком за развој карцинома усне дупље (Fernández-Mateos и сар.,2019). У области гинекологије спроведена су истраживања о повезаности rs2279115 са ризиком за стерилитет. Познато је да су спонтани побачаји мултифакторијални репродуктивни поремећаји где постоји поремећај апоптозе. У трудноћи је повишена експресија проапоптотских протеина у хорионским ресицама (Shang и сар.,2013), што сугерише да неравнотежа између проапоптотичких и антиапоптотичких протеина из породице BCL протеина има улогу у патогенези спонтаних побачаја. Показано је да су rs2279115 алел С и хомозиготни генотип СС повезани са рекурентним спонтаним побачајима (Michita и сар.,2019). Једна студија је показала да полиморфизми *BCL2* гена нису повезани са ризиком од развоја прееклампсије (Mohammadpour-Gharehbagh и сар., 2019). У будућности, гени чији продукти учествују у регулацији апоптозе могу бити потенцијалне мете за студије о здравим трудноћама и спектру поремећаја трудноће.

Наша студија је показала значајну повезаност између *BCL2* генотипова и броја екстранодалних места, али за друге клиничке карактеристике није утврђена статистички значајна повезаност. Уочено је да су носиоци алела С и СС генотипа имали најмање два екстранодална места испољавања болести. Алел С је повезан са смањеном експресијом *BCL-2* и може имати двоструку улогу у патогенези, зависно од типа и стадијума карцинома (Searle и сар., 2012). Reham и сарадници нису утврдили повезаност rs2279115 са клиничким карактеристикама болесника DLBCL (Reham и сар., 2022) док су Nizar и сарадници показали да је присуство полиморфизма *BCL2* гена удружено са унапредовалим стадијумом колоректалног карцинома (Nizar и сар.,2021).

Код болесника са DLBCL који су лечени CHOP или CHOP-сличним протоколима, прекомерна експресија *BCL-2* се сматра фактором резистенције и лошег преживљавања. До прекомерне експресије *BCL-2* долази због транслокације *BCL2* гена у 30% DLBCL типа GCB (Volen и сар., 2020) и због амплификације *BCL2* гена у 20% DLBCL типа ABC (Iqbal и сар.,2006). Међутим, објављени подаци сугеришу да би клинички значај *BCL-2* у пост-ритуксимаб ери требало проценити у контексту молекуларних подтипова и различитих механизма његове прекомерне експресије (Kaloni и сар.,2023 ;Elhendawy и сар.,2020). У нашој студији, анализирани rs2279115 генотипови нису утицали на одговор на терапију, појаву релапса, као и на појаву нежељених догађаја током лечења. Кинески аутори су показали да болесници са DLBCL са доминантним генотипом (AA+AC) немају бенефите од имунохемотерапије (R-CHOP) (Liu и сар.,2017), док су Park и сарадници објавили супротне резултате (Park и сар., 2009).

Познато је да се прекомерна експресија *BCL-2* сматра фактором лошег преживљавања. Претходне студије су публиковале недоследне резултате о повезаности *BCL2* генотипова и ризика/прогнозе за различите малигне болести. Наша студија није показала повезаност rs2279115 са укупним преживљавањем и релапсом. Сличне резултате су публиковале и друге групе за болеснике са DLBCL (Reham и сар.,2022), AML (Cingeetham и сар., 2015), карцином дојке (Searle и сар.,2012; Zhang и сар., 2011), ALL (Künkele и сар.,2013) и карцином простате (Bachmann и сар.,2011). Негативна корелација rs2279115 и прогнозе је уочена и у другим студијама: у В-NHL (Wang и сар., 2014), CLL (Nüchel и сар.,2007), карциному плућа (Masago и сар., 2013), карциному назофаринкса (Chatterjee и сар.,2021) и карциному бубрега (Hirata и сар.,2009). Разноликост резултата о повезаности rs2279115 са прогностичким параметрима је последица специфичне експресије *BCL-2* у различитим ткивима и присуства других полиморфизама који могу утицати на прогнозу и преживљавање. Тако су Nizar и

сарадници показали да је присуство полиморфног алела *BCL2* гена удружено са релапсом и метастазама колоректалног карцинома (Nizar и сар.,2021) док болесници са карциномом мокраћне бешике који су носиоци rs2279115 генотипа CC брже релапсирају за разлику од носиоца алела А (Hess и сар., 2017).

Учесталост и клинички значај FCGR2A rs1801274 и FCGR3A rs396991

FCGR гени су важан део система који регулише ћелијску цитотоксичност зависну од антитела. Подаци из литературе показују да полиморфизми једног нуклеотида *FCGR* гена могу утицати на афинитет Fc рецептора ефекторских ћелија за моноклонска антитела (Falduto и сар.,2017). У нашој студији учесталост *FCGR2A* rs1801274 алела Н износи 60%. У европским земаља су подједнако заступљена оба алела, док је код америчке и афричке популације најучесталији алел R. У нашој студији доминатна је учесталост rs1801274 HR генотипа (45%). Анализа *FCGR3A* код наших испитаника је показала да је rs396991 алел V заступљен са 57%; најучесталији генотип је био FV.

Претходна истраживања су показала да носиоци rs1801274 RR генотипа чешће обољевају од карцинома плућа (Jinxi и сар.,2022) и карцинома желуца (Xia и сар.,2012). Није уочена повезаност rs1801274 и ризика за развој карцинома дојке код жена (Jabir и сар.,2018).

FCGR2A генотип HH је описан као независтан прогностички фактор за развој рецидивантних кардиоваскуларних догађаја након акутног коронарног синдрома (Paul и сар.,2022). Анализирана је и корелација *FCGR2A* и *FCGR3A* SNP-ова са склоношћу обољевања од различитих аутоимунских болести. Објављено је да Европљани са генотипом VV *FCGR3A* чешће обољевају од реуматоидног артритиса него носиоци истог генотипа у азијској популацији (Lee и сар.,2008). Уочена је повезаност rs396991 F алела и rs1801274 R алела са ризиком за развој системског лупус еритематосуса (*SLE-Systemic Lupus Erythematosus*) (Zhu и сар.,2016; Vigato-Ferreira и сар.,2014). Носиоци генотипа rs396991 FF и rs1801274 R алела чешће развијају лупусни нефритис (Vigato-Ferreira и сар.,2014), али то није потврђено у мета анализи (Karassa и сар.,2003). Болесници са rs396991 алелом V и rs1801274 алелом H чешће обољевају од улцерозног колитиса (Asano и сар.,2009; Castro-Dopico и сар.,2019). Носиоци генотипа VV *FCGR3A* носе повећан ризик за развој примарне имунолошке тромбоцитопеније (Pavkovic и сар.,2018; Li и сар.,2019), док носиоци алела R *FCGR2A* чешће обољевају од имунолошке тромбоцитопеније у детињству него у одраслом добу. Болесници са rs1801274 алелом H (HH/HR генотип) имају повећан ризик обољевања од Кавасакијеве болести (*Kawasaki Disease*) (Ferdosian и сар.,2021). Показано је да rs1801274 алел H у повезан са ризиком за развој аутоимунских болести штитне жлезде (Mestiri и сар., 2020).

Наша студија је показала да су носиоци *FCGR2A* rs1801274 HH генотипа чешће имали неповољну прогнозу према NCCN IPI и aaIPI скоровима док су болесници са *FCGR3A* rs396991 V алелом (VV/FV генотипови) значајно чешће испољавали екстранодалну болест него болесници са FF генотипом, што је потврђено у доминантном и у рецесивном генетичком моделу. Такође, rs396991 V алела је био повезан са унапредовалим стадијумом болести. Претходно, у прелиминарним истраживањима смо уочили удруженост rs1801274 HR генотипа са унапредовалим стадијумом DLBCL, као и већу учесталост rs396991 F алела код болесника старијих од 60 година (Trimsev и сар.,2013). Међутим, у већој групи болесника ове асоцијације нису потврђене. Повезаност *FCGR2A* генотипова са карактеристикама DLBCL је показана и у претходним истраживањима других група. Fabisiewicz и сарадници су показали корелацију *FCGR2A* HH генотипа са екстранодалном локализацијом (Fabisiewicz и сар., 2011), а Ahlgrimm и сарадници повезаност генотипа HR и велике

туморске масе (Ahlgrimm и сар.,2011). Када је реч о немалигним болестима, студије нису показале повезаност rs1801274 и rs396991 са клиничким карактеристикама болесника који су лечени трансплантацијом солидних органа (Kawawake и сар.,2021; Das и сар.,2017; Shimizu и сар.,2016) као и код болесника са аутоимуним болестима (Morales и сар.,2019; Mestiri и сар., 2020).

Поред молекуларних карактеристика тумора, анализиран је велики број SNP-ова у герминативним ћелијама како би се објаснила варијабилност терапијског одговора у ери ритуксимаба. Ћелијска цитотоксичност зависна од антитела, један је од главних механизма деловања ритуксимаба и других моноклонских антитела, а претпостављено је да на њу могу утицати функционалн полиморфизми у генима који кодирају FCγ рецепторе: rs180274 (с.519A>C) у *FCGR2A* и rs396991 (с.559A>C) у *FCGR3A* гену.

У нашој студији, анализирани rs180274 и rs396991 генотипови нису утицали на одговор на терапију, појаву релапса, као и на појаву нежељених догађаја током лечења. Наши резултати су у складу са резултатима већине студија које нису могле доказати повезаност *FCGR2A* и *FCGR3A* полиморфизма са одговором на примењену имунохемотерапију код болесника са DLBCL (Liu и сар.,2014; Váróczy и сар.,2012; Fabisiewicz и сар.,2011; Mitrović и сар.,2007). Међутим, носиоци rs396991 V алела у корејској популацији чешће постижу клиничку ремисију у односу на носиоце алела F али без утицаја на преживљавање (Kim и сар.,2006). Велики број студија је анализирао однос између полиморфизма *FCGR2A* и *FCGR3A* гена и одговора на терапију моноклонским антителима код различитих карцинома, на пример у DLBCL, CLL и фоликуларном лимфому (ритуксимаб), CLL (алемтузумаб) или HER2-позитивном карциному дојке (трастузумаб), при чему није уочен предиктивни значај rs180274 и rs396991 (Hurvitz и сар.,2012). Међутим, показано је да цетуксимаб код колоректалног карцинома у носиоца генотипа HH rs180274 доводи до бољег одговора, док није уочена корелација са rs396991 (Kjersem и сар.,2014). Такође је објављено да болесници са DLBCL који су носиоци rs396991 VV генотипа чешће развијају нежељене реакције на терапију, најчешће неутропенију градуса 3-4 (Ghesquières и сар.,2017; Keane и сар.,2012; Li и сар.,2010), док је анемија степена 3-4 учесталија код болесника са rs180274 RR генотипом (Ahlgrimm и сар.,2011). Удруженост полиморфизма *FCGR2A* и *FCGR3A* са нежељеним ефектима терапије може да утиче на исход болести (Falduto и сар.,2017). Могућа је корелација удружености полиморфизма *FCGR3A* са неутропенијом и ефикасношћу терапијског режима. Касна неутропенија (*late-onset neutropenia* - LON) је ретка касна компликација након лечења ритуксимабом (Nitta и сар.,2007) која одражава већу ефикасност ритуксимаба чиме се може предвидети добар исход (Hincks и сар.,2011).

На ефикасност лечења аутоимуних болести утичу клинички облици болести и полиморфизми (SNP) *FCGR2A* и *FCGR3A* гена који могу утицати на фармакокинетику лекова. Студија је показала да су болесници са реуматоидним артритисом (RA) који су носиоци *FCGR2A* rs180274 HH и *FCGR3A* rs396991 FF генотипа боље одговорили на имуносупресив Абатацепт (ABA) и имали су ниску активност болести током лечења (Pete и сар.,2021). На примену моноклонског антитела ритуксимаба, бољи одговор су имали носиоци rs180274 HH генотипа и rs396991 V алела, док је тоцилузумаб био ефикаснији код болесника са rs396991 FF генотипом (Morales и сар.,2019).

Алели *FCGR2A* и *FCGR3A* могу модулирати инфламаторни одговор посредовањем у активацији патогених механизма повезаних са упалом јер имају различите афинитете за IgG1, IgG2 и IgG3 и ступају у интеракцију са C-реактивним протеином (CRP). Алел R rs1801274 има мањи афинитет за IgG2 па је фагоцитоза у полиморфонуклеарима неефикасна у односу на алел H, што има значајну улогу у имуносупресији (Rosales,

2017). Алел F (VF/FF) има смањен афинитет за IgG1 и IgG3 који имају протективну улогу од инфекција. Генотип RR rs1801274 има већи афинитет за CRP од генотипа HH што резултује повећавањем проинфламаторног одговора (Bouglé и сар.,2012). Поред могуће улоге у патогенези лимфома, потребно је истражити и утицај на ток и компликације лечења (Hosgood и сар.,2011).

Више студија је анализирано утицаје rs1801274 и rs396991 полиморфизма на постоперативне исходе након трансплантације солидних органа. Објављено је да болесници јапанске популације са rs1801274 RR генотипом чешће развијају упале плућа, цитомегаловирусну и гљивичну инфекцију након трасплантације плућа од живог донора док није уочена значајност код кадаверичне трансплантације (Kawawake и сар.,2021). Може се објаснити да посттрансплантациони ток зависи од карактеристика траснсплантираног болесника док код кадаверичне трансплантације плућа улогу има оштећење трансплантата које може утицати на исход. Полиморфизми *FCGR3A* су утицали на развој инфекције након трансплантације јетре и бубрега. Наиме, носиоци генотипова VF и FF су чешће развијали бактеријску инфекцију док није било утицаја на развој гљивичне и цитомегаловирусне инфекције након трансплантације јетре (Shimizu и сар.,2016), а чешће су развијали уринарну инфекцију након трансплантације бубрега (Das и сар.,2017).

Подаци о повезаности различитих алелских варијанти *FCGR2A* и *FCGR3A* са укупним преживљавањем нису конзистентни. У болесника са DLBCL који су имали rs180274 RR генотип и лечени су имунохемотерапијом примећено је дуже преживљавање (Ghesquières и сар.,2017) и поред сниженог афинитета везивања за Fc део моноклонског антитела. Може се хипотетички објаснити да носиоци овог генотипа имају смањен клиренс ритуксимаба што повећава дуже задржавање ритуксимаба у циркулацији (Müller и сар.,2012). Евентуална испитивања о улози *FCGR2A* SNP-а у модулацији клиренса ритуксимаба могла би се искористити за лечење резидуалне болести. Овај тренд је уочен код болесника са фоликуларним лимфомом (Ghesquières и сар.,2012). Насупрот томе, већина студија није доказала прогностички ефекат rs180274 у болесника DLBCL (Ahlgrimm и сар.,2011; Kim и сар.,2006; Levy и сар.,2011; Fabisiewicz и сар.,2011; Mitrović и сар.,2007) и код болесника са фоликуларним лимфомом (Kenkre и сар.,2016) лечених имунохемотерапијом. Међутим, код болесника са DLBCL који су били носиоци *FCGR2A* RR генотипа и имали повишене вредности апсолутног броја лимфоцита (ALC) уочено је боље преживљавање (Ghesquières и сар., 2017).

Већи број студија није показао повезаност полиморфизма *FCGR3A* са преживљавањем и релапсом у болесника са DLBCL који су лечени имунохемотерапијом (Ghesquières и сар., 2017; Ahlgrimm и сар.,2011; Kim и сар.,2006; Levy и сар.,2011; Fabisiewicz и сар.,2011; Mitrović и сар.,2007; Keane и сар.,2012). Наведени резултати су у складу са резултатима прогностичког значаја *FCGR3A* SNP у болесника са хроничном лимфоцитном леукемијом (Dornan и сар.,2010) и са фоликуларним лимфомом (Ghesquières и сар.,2012; Kenkre и сар.,2016) лечених имунохемотерапијом. Насупрот наведеним резултатима, кинески аутори су уочили да болесници са DLBCL који су носиоци генотипа VV и VF rs396991 имају дуже укупно преживљавање након лечења имунохемотерапијом (Zhang и сар.,2010); у турској студији боље преживљавање је детектовано код носиоца rs396991 FF генотипа (Büyükkurt и сар.,2015). Клиничка студија која је анализирано корелацију између генотипова и ефекта имуносупресивне терапије (АВА) је показала да носиоци rs180274 HH и rs396991 FF генотипова постижу бољи одговор; то је показано код млађих болесника, код дуже примене АВА, уколико се не примењују други антуреуматски лекови, глукортикоиди, када је претходна биолошка терапија краће трајала и код монотерапије АВА (Pete и сар.,2021). Студије

нису показале повезаност rs1801274 и rs396991 са прогнозом код болесника са трансплантираним солидним органима (Kayawake и сар.,2021; Das и сар.,2017; Shimizu и сар.,2016).

VI ЗАКЉУЧЦИ

1. Учесталост алела/генотипова *ATG16L* (rs2241880), *TP53* (rs1042522), *BCL2* (rs2279115), *FCGR2A* (rs180274) и *FCGR3A* (rs396991) код наших болесника са DLBCL је била слична учесталости у групи оболелих од лимфопрлиферативних болести и здраве популације у Европи
2. Болесници са *ATG16L1* AG генотипом имали су значајно чешће испољавање екстранодалне локализације болести у односу на болеснике са AA и GG генотипом
3. Болесници са *BCL2* алела C и CC генотипа су имали чешће присуство болести у најмање две екстранодалне локализације у односу на болеснике са A алелом и AA генотипом
4. Болесници са *FCGR3A* V алелом и VV и FV генотиповма значајно су чешће имали екстранодалну болест у односу на болесника са FF генотипом
5. Болесници са *ATG16L1* A алела и AA генотипом имали су нижи LMR и повишен NLR у односу на болеснике са G алелом и GG генотипом
6. Болесници са *TP53* C алелом и CG/CC генотипом су чешће имали DLBCL неповољног клиничког стадијума III/IV него болесници са GG генотипом
7. Болесници са *FCGR2A* HH генотипа чешће су имали неповољну прогнозу према NCCN IPI и aaIPI прогностичким маркерима
8. Полиморфизми у генима за *TP53*, *BCL2*, *FCGR2A* и *FCGR3A* нису утицали на одговор на терапију, појаву релапса, као и на појаву нежељених догађаја током лечења
9. Болесници са *ATG16L1* A алела лечени са R-CHOP и радиотерапијом су имали дуже укупно преживљавање
10. Болесници са *ATG16L1* AA и GG генотиповима удружени са високим или високо/средњим NCCN IPI и високим PLR су значајно краће живели

VII ЛИТЕРАТУРА

1. Abbas F, El Kossi M, Shaheen IS et al. Post-transplantation lymphoproliferative disorders: Current concepts and future therapeutic approaches. *World J Transplant.* 2020;10(2):29-46.
2. Abdolkarim MR, Farhad T, Saeid G and Mohammed H. Investigation of ATG16L1 rs 2241880 Polymorphism with Cancer Risk: A Meta-Analysis. *Medicina.* 2019;55:425.
3. Abramson JS, Palomba ML, Gordon LI et al. Lisocabtagene maraleucel for patients with relapsed or refractory large B-cell lymphomas (TRANSCEND NHL 001): a multicentre seamless design study. *Lancet.* 2020;396(10254):839.
4. Abramson JS, Solomon SR, Arnason JE et al. Improved Quality of Life (QOL) with Lisocabtagene Maraleucel (liso-cel), a CD19-Directed Chimeric Antigen Receptor (CAR) T Cell Therapy, Compared with Standard of Care (SOC) As Second-Line (2L) Treatment in Patients (Pts) with Relapsed or Refractory (R/R) Large B-Cell Lymphoma (LBCL): Results from the Phase 3 Transform Study [#3845]. *Blood.* 2021; (ASH Annual Meeting Abstracts).
5. Adams JM and Cory S. The BCL-2 arbiters of apoptosis and their growing role as cancer targets. *Cell Death Differ.* 2018;25(1):27-36.
6. Adams CM, Clark-Garvey S, Porcu P and Eischen CM. Targeting the Bcl-2 Family in B Cell Lymphoma. *Front Oncol.* 2019;8:636.
7. Adams HJ, Kwee TC, de Keizer B et al. FDG PET/CT for the detection of bone marrow involvement in diffuse large B-cell lymphoma: Systematic review and meta-analysis. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging.* 2014; 41(3):565-574.
8. Ahlgrim M, Pfreundschuh M, Kreuz M et al. The impact of Fc- γ receptor polymorphisms in elderly patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with CHOP with or without rituximab. *Blood.* 2011; 118:4657–62.

9. Ahmed HS, Wahab EA, Elhady HA and Elgerby MM. Association of genetic polymorphism of BCL-2 (rs2279115) with susceptibility to HCV-related hepatocellular carcinoma. *Immunol Res.* 2020;68(4):189-197.
10. Al-Ali R, Fernández-Mateos J and González-Sarmient R. Association of autophagy gene polymorphisms with lung cancer. *Gene Rep.* 2017; 7: 74–77.
11. Al-Eitan LN, Rababa'h DM, Alghamdi MA and Khasawneh RH. Correlation between candidate single nucleotide variants and several Clinicopathological risk factors related to breast Cancer in Jordanian women: A genotype-phenotype study. *J. Cancer.* 2019;10:4647–4654.
12. Al-Hamadani M, Habermann TM, Cerhan JR et al. Non-Hodgkin lymphoma subtype distribution, geodemographic patterns, and survival in the US: A longitudinal analysis of the National Cancer Data Base from 1998 to 2011. *American Journal of Hematology.* 2015; 90(9):790-795.
13. Alaggio R, Amador C, Anagnostopoulos I et al. The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: Lymphoid Neoplasms. *Leukemia* 2022; 36:1720.
14. 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.
15. Altahan A, Harri LJ, Porta J et al. Association Between Pesticide Use and Incidence of Diffuse Large B-Cell Lymphoma. *Anticancer research.* 2020; 40:5423-5426.
16. Alunna A, Leone MC, Giacomelli R et al. Lymphoma and Lymphomagenesis in Primary Sjögren's Syndrome. *Front. Med.* 2018;5:102.
17. Anoushirvani AA, Aghabozorgi R, Ahmadi A et al. Association of rs1042522 SNP with clinicopathologic factors of breast cancer patients in the Markazi province of Iran. *Open Access Maced. J. Med. Sci.* 2018;6:2277–2282.
18. Annibali O, Hohaus S, Marchesi F et al. The neutrophil/lymphocyte ratio ≥ 3.5 is a prognostic marker in diffuse large B-cell lymphoma: a retrospective analysis from the database of the Italian regional network 'Rete Ematologica del Lazio per i Linfomi' (RELLI). *Leuk Lymphoma.* 2019;60(14):3386-3394.
19. Ansell SM, Minnema MC, Johnson P et al. Nivolumab for relapsed/refractory diffuse large B-cell lymphoma in patients ineligible for or having failed autologous transplantation: a single-arm, Phase II Study. *J Clin Oncol.* 2019;37(6):481–489.
20. Antonatos C, Stavrou EF, Evangelou E and Vasilopoulos Y. Exploring pharmacogenetic variants for predicting response to anti-TNF therapy in autoimmune diseases: A meta-analysis. *Pharmacogenomics.* 2021;22: 435–445.
21. Antonioli M, Di Renzo M, Piacentini M and Fimia G. Emerging mechanism in initiating and terminating autophagy. *Trends Biochem. Sci.* 2017;42:28-41.
22. Arbab IA, Looi CY, Abdul AB et al. Dentatin induces apoptosis in prostate cancer cells via BCL-2, bcl-xL, survivin downregulation, caspase-9,-3/7 activation, and NF- κ B inhibition. *Evidence-Based Complementary Altern Med.* 2012; 2012:856029.
23. Ardeshtna KM, Marzolini MAV, Norman J et al. Phase 1/2 study of AUTO3 the first bicistronic chimeric antigen receptor (CAR) targeting CD19 and CD22 followed by an anti-PD1 in patients with relapsed/refractory (r/r) diffuse large B cell lymphoma (DLBCL): results of cohort 1 and 2 of the Alexander study. *Blood.* 2019;134:246.

24. Asano K, Matsushita T, Umeno J et al. A genome-wide association study identifies three new susceptibility loci for ulcerative colitis in the Japanese population. *Nat Genet.* 2009;41:1325–9.
25. Aviles A, Calva A, Neri N et al. Role of radiotherapy in diffuse large B-cell lymphoma in advanced stages on complete response after administration of cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, prednisone, and rituximab. *Prec Radiat Oncol.* 2019;3:100–104.
26. Azuma Y, Nakaya A, Fujita S et al. Neutrophil-to-lymphocyte ratio (NLR) fails to predict outcome of diffuse large B cell lymphoma. *Leuk Res Rep.* 2019;12:100173.
27. Ayoubi SE, Elkarroumi M, El Khachibi M et al. The 72Pro variant of the tumor protein 53 is associated with an increased breast Cancer risk in the Moroccan population. *Pathobiology.* 2018;85:247–253.
28. Babaei F, Ahmadi SA, Abiri R et al. The TP53 Codon 72 Polymorphism and Risk of Sporadic Prostate Cancer among Iranian Patients. *Iranian J Publ Health.* 2014;43: 453-459.
29. Bachmann HS, Heukamp LC, Schmitz KJ et al. Regulatory BCL2 promoter polymorphism (– 938C>A) is associated with adverse outcome in patients with prostate carcinoma. *Int J Cancer.* 2011; 129:2390–2399.
30. Bagnardi V, Rota M, Botteri E et al. Alcohol consumption and site-specific cancer risk: a comprehensive dose-response meta-analysis. *Br J Cancer.* 2015;112:580–593.
31. Bakhtiar S, Salzmänn- Manrique E, Donath H et al. The incidence and type of cancer in patients with ataxia-telangiectasia via a retrospective single-centre study. *British Journal of Haematology.* 2021;194 (5): 797-934.
32. Barrington SF and Mikhael NG. PET Scans for Staging and Restaging in Diffuse Large B-Cell and Follicular Lymphomas. *Curr Hematol Malig Rep.* 2016;11(3):185-195.
33. Bartlett NL, Wilson WH, Jung SH et al. Dose-adjusted EPOCH-R compared with R-CHOP as frontline therapy for diffuse large B-cell lymphoma: clinical outcomes of the phase III intergroup trial Alliance/CALGB 50303. *J Clin Oncol.* 2019;37(21):1790–1799.
34. Bartlett NL, Smith MR, Siddiqi T et al. Brentuximab vedotin activity in diffuse large B-cell lymphoma with CD30 undetectable by visual assessment of conventional immunohistochemistry. *Leukemia Lymphoma.* 2017; 58(7):1607–16.
35. Bashash M, Connors JM, Gascoyne RD et al. Genetic polymorphism at BCL2 as a predictor for rituximab, cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine and prednisone efficacy in patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Haematologica.* 2017;102(5):e199-e202.
36. Bekampytė J, Bartnykaitė A, Savukaitytė A et al. The Investigation of Associations between TP53 rs1042522, BBC3 rs2032809, CCND1 rs9344, EGFR rs2227983 Polymorphisms and Breast Cancer Phenotype and Prognosis. *Diagnostics (Basel).* 2021;11(8):1419.
37. Belada D, Kopeckova K, Bergua MJ et al. First-MIND: A phase Ib, open-label, randomized study to assess safety of tafasitamab (tafa) or tafa + lenalidomide (LEN) in addition to R-CHOP in patients with newly diagnosed DLBCL. *Journal of Clinical Oncology.* 2021; 39 (15):7540-7540.

38. Beltrán BE, Paredes S, Cotrina E et al. The impact of the neutrophil:lymphocyte ratio in response and survival of patients with de novo diffuse large B-cell lymphoma. *Leuk. Res.* 2018;67:82–85.
39. Berger MD, Trelle S, Büchi AE et al. Impact on survival through consolidation radiotherapy for diffuse large B-cell lymphoma: a comprehensive meta-analysis. *Haematologica.* 2021;106(7):1923–31.
40. Bernard S, Ghesquieres H, Casanovas RO et al. Incidence of central nervous system relapses in patients with DLBCL treated with lenalidomide as maintenance after R-CHOP. *Blood Adv.* 2021; 5:2965.
41. Biernat MM and Wróbel T. Bacterial Infection and Non-Hodgkin B-Cell Lymphoma: Interactions between Pathogen, Host and the Tumor Environment. *Int J Mol Sci.* 2021;22(14):7372.
42. Bishop MR, Dickinson M, Purtil D et al. Second-Line Tisagenlecleucel or Standard Care in Aggressive B-Cell Lymphoma. *N Engl J Med.* 2022;386(7):629.
43. Bobillo S, Joffe E, Lavery JA et al. Clinical characteristics and outcomes of extranodal stage I diffuse large B cell lymphoma in the rituximab-era. *Blood.* 2021;137(1): 39–48.
44. Bohers E, Mareschal S, Bouzelfen A et al. Targetable activating mutations are very frequent in GCB and ABC diffuse large B-cell lymphoma. *Genes Chromosomes Cancer.* 2014;53(2):144–53.
45. Bodoor K, Matalka I, Hayajneh R et al. Evaluation of BCL6, CD10, CD138 and MUM-1 expression in diffuse large B-cell lymphoma patients: CD138 is a marker of poor prognosis. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2012;13(7):3037–46.
46. Bolen CR, Klanova M, Trneny M et al. Prognostic impact of somatic mutations in diffuse large B-cell lymphoma and relationship to cell-of-origin: Data from the phase III GOYA study. *Haematologica.* 2020;105(9):2298–2307.
47. 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 de Lymphomes de l'Adulte. *Journal of Clinical Oncology.* 2007; 25(7):787–792.
48. Bouglé A, Max A, Mongardon N et al. Protective effects of FCGR2A polymorphism in invasive pneumococcal diseases. *Chest.* 2012; 142:1474–81.
49. Buergy D, Wenz F, Groden C and Brockmann MA. Tumor-Platelet Interaction in Solid Tumors. *Int J Cancer.* 2012;130:2747–60.
50. Bukhari A, Chaer FE, Koka R et al. Rapid relapse of large B-cell lymphoma after CD19 directed CAR-T-cell therapy due to CD-19 antigen loss. *Am J Hematol.* 2019;94(10):E273–5.
51. Bulgakova O, Kussainova A and Bersimbaev R. The cell cycle regulatory gene polymorphisms TP53 (rs1042522) and MDM2 (rs2279744) in lung cancer: a meta-analysis. *Vavilovskii Zhurnal Genet Selektcii.* 2020;24(7):777–784.
52. Bulgakova O, Kussainova A, Kakabayev A et al. Association of polymorphism TP53 Arg72Pro with radon-induced lung cancer in the Kazakh population. *Vavilovskii Zhurnal Genet Selektcii.* 2019;23(5):594–599.
53. Burada F, Ciurea ME, Nicoli R et al. ATG16L1 T300A Polymorphism is Correlated with Gastric Cancer Susceptibility. *Pathol. Oncol. Res.* 2016; 22:317–322.
54. Büyükkurt N, Özcan MA, Ergene Ü et al. The effect of FcγRIIIA gene polymorphism on the treatment of diffuse large B-cell non-Hodgkin

- lymphoma: a multicenter prospective observational study. *Turk J Hematol.* 2015;32(2):152–7.
55. Cafaro T, Carnicelli V, Caprioli G et al. Anti-apoptotic and Anti-inflammatory Activity of Gentiana Lutea Root Extract. *Adv. Tradit Med. (Adtm).* 2020; 20: 619–630.
 56. Caimi PF, Ai W, Alderuccio JP et al. Loncastuximab tesirine in relapsed or refractory diffuse large B-cell lymphoma (LOTIS-2): a multicentre, open-label, single-arm, phase 2 trial. *Lancet Oncol.* 2021;22:790-800.
 57. Campo E, Swerdlow SH, Harris NL et al. The 2008 WHO classification of lymphoid neoplasms and beyond: evolving concepts and practical applications. *Blood.* 2011;117(19):5019-5032.
 58. Cao H, Li Z, Zhou D et al. ATG16L1 rs2241880 polymorphism predicts unfavorable clinical outcomes for colorectal cancer patients in the Chinese population. *Int J Clin Exp Pathol.* 2016;9(8):8586-8595.
 59. Carneiro BA and El-Deiry WS. Targeting apoptosis in cancer therapy. *Nat Rev Clin Oncol.* 2020;17(7):395–417.
 60. Carreras E, Bertz H, Arcese W et al. Incidence and outcome of hepatic veno-occlusive disease after blood or marrow transplantation: A prospective cohort study of the European group for blood and marrow transplantation. European group for blood and marrow Transplantation chronic leukemia working party. *Blood* 1998;92: 3599-3604.
 61. Cartron G, Trappe RU, Solal-Céligny P and Hallek M. Interindividual Variability of Response to Rituximab: From Biological Origins to Individualized Therapies. *Clin Cancer Res.* 2011;17(1):19-30.
 62. Castro-Dopico T, Dennison TW, Ferdinand JR et al. Anti-commensal IgG drives intestinal inflammation and type 17 immunity in ulcerative colitis. *Immunity.* 2019; 50:1099–114.
 63. Castillo JJ, Beltran BE, Miranda RN et al. EBV-positive diffuse large B-cell lymphoma, not otherwise specified: 2018 update on diagnosis, risk-stratification and management. *Am J Hematol.* 2018;93:953–962.
 64. Cattoretti G, Shaknovich R, Smith MP et al. Stages of Germinal Center Transit Are Defined by B Cell Transcription Factor Coexpression and Relative Abundance. *J Immunol.* 2006;177(10):6930-9.
 65. Cavic M, Spasic J, Krivokuca A et al. TP53 and DNA-repair gene polymorphisms genotyping as a low-cost lung adenocarcinoma screening tool. *J. Clin. Pathol.* 2019;72:75–80.
 66. Chapuy B, Stewart C, Dunford AJ et al. Molecular subtypes of diffuse large B cell lymphoma are associated with distinct pathogenic mechanisms and outcomes. *Nat Med.* 2018;24(5):679–90.
 67. Chatterjee K, De S, Deb Roy S et al. BAX-248 G>A and BCL2-938 C>A variant lowers the survival in patients with nasopharyngeal carcinoma and could be associated with tissue-specific malignancies: a multi-method approach. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2021; 22:1171.
 68. Chavez-Dominguez R, Perez-Medina M, Lopez-Gonzalez JS et al. The Double-Edge Sword of Autophagy in Cancer: From Tumor Suppression to Pro-tumor Activity. *Front Oncol.* 2020;10:578418.
 69. Chen BJ, Falko F, Campo E and Quintanilla-Martinez L. Aggressive B-cell lymphomas—from morphology to molecular pathogenesis. *Ann Lymphoma.* 2019;3:1

70. Chen H, Pan T, He Y et al. Primary mediastinal B-cell lymphoma: novel precision therapies and future directions. *Front Oncol.* 2021;11:654854.
71. Chen YB, Lane AA, Logan B et al. Impact of conditioning regimen on outcomes for patients with lymphoma undergoing high-dose therapy with autologous hematopoietic cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2015;21(6):1046-53.
72. Chen WR, Yang JQ, Liu F et al. Melatonin attenuates vascular calcification by activating autophagy via an AMPK/mTOR/ULK1 signaling pathway. *Exp Cell Res.* 2020; 389:111883.
73. Chen Y, Zhang Z, Fang Q and Jian H. Prognostic Impact of Platelet-toLymphocyte Ratio on Diffuse Large B-cell Lymphoma: A Meta-Analysis. *Cancer Cell Int.* 2019;19:245.
74. Cheson BD, Fisher RI, Barrington SF et al. Recommendations for initial evaluation, staging, and response assessment of Hodgkin and non-Hodgkin lymphoma: the Lugano classification. *J Clin Oncol.* 2014;32(27):3059-3068.
75. Cheson BD, Pfistner B, Juweid ME et al. Revised Response Criteria for Malignant Lymphoma. *J Clin Oncol.* 2007;25:579-586.
76. Cho MC, Chung Y, Jang S et al. Prognostic impact of germinal center B-cell-like and non-germinal center B-cell-like subtypes of bone marrow involvement in patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with R-CHOP. *Medicine (Baltimore).* 2018;97(45):e13046.
77. Choi AM, Ryter SW and Levine B. Mechanisms of disease; autophagy in human health and disease. *The New England Journal of Medicine.* 2013;vol 368(7):651-662.
78. Chong EA, Melenhorst JJ, Svoboda J et al. Phase I/II study of pembrolizumab for progressive diffuse large B cell lymphoma after anti-CD19 directed chimeric antigen receptor modified T cell therapy. *Blood.* 2017;130(1):4121.
79. Chowdhury MK, Moniruzzaman M, Emran AA et al. TP53 codon 72 polymorphisms and lung cancer risk in the Bangladeshi population. *Asian Pac. J. Cancer Prev.* 2015;16(8):3493-3498.
80. Cingeetham A, Vuree S, Dunna NR et al. Influence of BCL2-938C>A and BAX-248G>A promoter polymorphisms in the development of AML: case-control study from South India. *Tumor Biol.* 2015; 36:7967-7976.
81. Coiffier B, Thieblemont C, van den Neste E et al. Long-term outcome of patients in the LNH-98.5 trial, the first randomized study comparing rituximab-CHOP to standard CHOP chemotherapy in DLBCL patients: a study by the Groupe d'Etudes des Lymphomes de l'Adulte. *Blood.* 2010;116(12):2040-2045.
82. Congy-Jolivet N, Bolzec A, Ternant D et al. Fc gamma RIIIa expression is not increased on natural killer cells expressing the Fc gamma RIIIa-158V allotype. *Cancer Res.* 2008;68:976-80.
83. Cory S and Adams JM. The Bcl2 family: regulators of the cellular life-or-death switch. *Nat Rev Cancer.* 2002;2(9):647-56.
84. Costa LJ, Maddocks K, Epperla N et al. Diffuse large B-cell lymphoma with primary treatment failure: ultra-high risk features and benchmarking for experimental therapies. *Am J Hematol.* 2017;92(2):161-170.
85. Costas MA and Rubio MF. Autophagy. A strategy for cell survival. *Medicina.* 2017; 77: 314-320.

86. Crump M, Neelapu SS, Farooq U et al. Outcomes in refractory diffuse large B-cell lymphoma: results from the international SCHOLAR-1 study. *Blood*. 2018;131(5):587-588.
87. 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):1817–1826.
88. Czabotar PE, Lessene G, Strasser A and Adams JM. Control of apoptosis by the BCL-2 protein family: Implications for physiology and therapy. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2014;15:49–63.
89. Czuczman MS, Trněný M, Davies A et al. A Phase 2/3 Multicenter, Randomized, Open-Label Study to Compare the Efficacy and Safety of Lenalidomide Versus Investigator's Choice in Patients with Relapsed or Refractory Diffuse Large B-Cell Lymphoma. *Clin Cancer Res.* 2017;23(15):4127-4137.
90. Dabaja BS, Hoppe BS, Plastaras JP et al. Proton therapy for adults with mediastinal lymphomas: the International Lymphoma Radiation Oncology Group guidelines. *Blood*. 2018;132(16):1635–46.
91. Dahabreh IJ, Schmid CH, Lau J et al. Genotype misclassification in genetic association studies of the rs1042522 TP53(Arg72Pro) polymorphism: a systematic review of studies of breast, lung, colorectal, ovarian, and endometrial cancer, *Am. J. Epidemiol.* 2013;177:1317-1325.
92. Das LK, Ide K, Tanaka A et al. Fc- gamma receptor 3A polymorphisms predicts the incidence of urinary tract infection in kidney-transplant recipients. *Hum Immunol.* 2017;78:357.
93. Das CK, Mandal M and Kögel D. Pro-survival autophagy and cancer cell resistance to therapy. *Cancer Metastas. Rev.* 2018;37:749–766.
94. Dastjerdi NM, Aboutorabi R and Farsani BE. Association of TP53 gene codon 72 polymorphism with endometriosis risk in Isfahan. *Iran J Reprod Med.* 2013;11(6): 473-478.
95. Davids MS, Roberts AW, Seymour JF et al. Phase I first-in-human study of venetoclax in patients with relapsed or refractory non-hodgkin lymphoma. *J Clin Oncol.* 2017;35(8):826–33.
96. de Charette M and Houot R. Hide or defend, the two strategies of lymphoma immune evasion: potential implications for immunotherapy. *Haematologica.* 2018;103(8):1256.
97. de Souza ASC, Gonçalves LB, Lepique AP and de Araujo-Souza PS. The role of autophagy in tumor immunology-complex mechanisms that may be explored therapeutically *Front. Oncol.* 2020;10:603661.
98. Deborah SM and Sonali SM. Diffuse large B-cell lymphoma—who should we FISH? *Ann Lymphoma.* 2018;2:8.
99. Deng X, Gao F, Flagg T et al. Bcl2's flexible loop domain regulates p53 binding and survival. *Mol. Cell Biol.* 2006; 26: 4421–4434.
100. Denisenko TV, Pivnyuk AD and Zivotovsky B. p53-Autophagy-Metastasis Link. *Cancers (Basel).* 2018;10(5):148.
101. Denker S, Bittner A, Frick M et al. Ibrutinib- and bortezomib-extended R-CHOP induction in elderly higher-risk patients newly diagnosed with diffuse large B-cell lymphoma - first analysis of toxicity and efficacy signals *Leuk Lymphoma.* 2022;63(1):84-92.

102. Diler SB and Aybuğa F. Association of Autophagy Gene ATG16L1 Polymorphism with Human Prostate Cancer and Bladder Cancer in Turkish Population. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2018; 19(9): 2625–2630.
103. Dhafer Abdulmahdi Faisal Al-Koofee and Jawad Mohammed Ismael. Genotyping of the BCL2 Gene Polymorphism rs2279115 Shows Associations with Eukemia Tendencies in the Iraqi Population. *J Pure Appl Microbiol.* 2018; 12(4):1899-1904.
104. Dhakal S, Bates JE, Casulo C et al. Patterns and timing of failure for diffuse large B-cell lymphoma after initial therapy in a cohort who underwent autologous bone marrow transplantation for relapse. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2016;96:372-378.
105. Djavaheri-Mergny M, Giuriato S, Tschan MP and Humbert M. Therapeutic modulation of autophagy in leukaemia and lymphoma. *Cells.* 2019;8:103.
106. Dong HK, Hee DJ, Jong GK et al. FCGR3A gene polymorphisms may correlate with response to frontline R-CHOP therapy for diffuse large B-cell lymphoma. *Blood.* 2006; 108:2720-2725.
107. Dong Z, Liang S, Hu J et al. Autophagy as a target for hematological malignancy therapy. *Blood Rev.* 2016; 30: 369–380.
108. Dong Z, Zheng L, Liu W and Wang C. Association of mRNA expression of TP53 and the TP53 codon 72 Arg/Pro gene polymorphism with colorectal cancer risk in Asian population: a bioinformatics analysis and meta-analysis. *Cancer Manag Res.* 2018; 25:10:1341-1349.
109. Dong-Yan T, Kuo-Hsuan H, Chia-Wei C and Kuo-I Lin. Regulatory mechanisms of B cell responses and the implication in B cell-related diseases. *J Biomed Sci.* 2019;26(1):64.
110. Dornan D, Spleiss O, Yeh RF et al. Effect of FCGR2A and FCGR3A variants on CLL outcome. *Blood.* 2010; 116:4212–22.
111. Duan Y, Tian X, Liu Q et al. Role of autophagy on cancer immune escape. *Cell Commun. Signal.* 2021;19: 91.
112. Dzierzak E and Bigas A. *Cell Stem Cell.* 2018;22(5):639. Blood Development: Hematopoietic Stem Cell Dependence and Independence. *Cell Stem Cell.* 2018;22(5):639.
113. Eertink JJ, Burggraaff CN, Heymans MW et al. Optimal timing and criteria of interim PET in DLBCL: a comparative study of 1692 patients. *Blood advances.* 2021;5(9):2375-2384.
114. El-Galaly T, Cheah CY, Hutchings M et al. Female patients with DLBCL and involvement of the reproductive organs have poor outcomes and markedly increased risk of CNS relapse with RCHOP (–like) therapy. *Hematol Oncol.* 2015;33:181–243.
115. Elhendawy HA, Ibrahiem AT, Elmahdi HS and Omar AM. Prognostic Significance of BCL2 Protein in Diffuse Large Cell Lymphoma of Head and Neck; Relation to Response to Chemotherapy. *Open Journal of Pathology.* 2020; 10:76-92.
116. Elshazli RM, Toraih EA, Elgaml A et al. Genetic polymorphisms of TP53 (rs1042522) and MDM2 (rs2279744) and colorectal cancer risk: An updated meta-analysis based on 59 case-control studies. *Gene.* 2020;734:144391.
117. Enns DL, Mandelson MT and Aboulafia DM. Utility of Left Ventricular Ejection Fraction Measurements Before the Administration of Doxorubicin-Based Chemotherapy in Patients With Diffuse Large B-Cell Lymphoma. *Mayo Clin Proc Innov Qual Outcomes.* 2018;2(3):277-285.

118. Eriksson M, Ambroise G, Ouchida AT et al. Effect of Mutant p53 Proteins on Glycolysis and Mitochondrial Metabolism. *Mol Cell Biol.* 2017;37(24):e00328-17.
119. Fabisiewicz A, Paszkiewicz-Kozik E, Osowiecki M et al. FcγRIIA and FcγRIIIA polymorphisms do not influence survival and response to rituximab, cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone immunochemotherapy in patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Leuk Lymphoma.* 2011; 52:1604–6.
120. Falduto A, Cimino F, Speciale A et al. How gene polymorphisms can influence clinical response and toxicity following R-CHOP therapy in patients with diffuse large B cell lymphoma. *Blood Rev.*2017;31(4):235-249.
121. Fallahzadeh H, Cheraghi M, Amoori N and Alaf M. Red Meat Intake and Risk of Non-Hodgkin Lymphoma: A Meta-Analysis. *Asian Pac J Cancer Prev.*2014;15 (23):10421-10425.
122. Feiqiong G, Jianlai H, Jiawei Z and Yang X. Prognostic Value of Peripheral Blood Lymphocyte/ monocyte Ratio in Lymphoma. *Journal of Cancer.* 2021; 12(12): 3407-3417.
123. Feldman T, Mato AR, Chow KF et al. Addition of lenalidomide to rituximab, ifosfamide, carboplatin, etoposide (RICER) in first-relapse/primary refractory diffuse large B-cell lymphoma. *Br J Haematol.* 2014;166(1):77–83.
124. Fenske TS, Ahn KW, Graff TM et al. Allogeneic transplantation provides durable remission in a subset of DLBCL patients relapsing after autologous transplantation. *Br J Haematol.* 2016;174:235–248.
125. Fernández-Mateos J, Seijas-Tamayo R, Adansa Klain JC et al. Genetic Susceptibility in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma in a Spanish Population. *Cancers.* 2019; 11: 493.
126. Ferdosian F, Dastgheib SA, Hosseini-Jangjou SH et al. Association of TNF-α rs1800629, CASP3 rs72689236 and FCGR2A rs1801274 Polymorphisms with Susceptibility to Kawasaki Disease: A Comprehensive Meta-Analysis. *Fetal and Pediatric Pathology.* 2021;40 (4): 1-17.
127. Fletcher K, Ulferts R, Jacquin E, et al. The WD40 domain of ATG16L1 is required for its non-canonical role in lipidation of LC3 at single membranes. *EMBO J.* 2018;37: e97840.
128. Flinn IW, Erter J, Daniel DB et al. Phase II study of bendamustine and ofatumumab in elderly patients with newly diagnosed diffuse large B-cell lymphoma who are poor candidates for R-CHOP chemotherapy. *Oncologist.* 2019;24(8):1035-e623.
129. Fox AM, Dosoretz AP, Mauch PM et al. Predictive factors for radiation pneumonitis in Hodgkin lymphoma patients receiving combined-modality therapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2012;83: 277-283.
130. Freedman SA and Aster CJ. Epidemiology, clinical manifestations, pathologic features and diagnosis of diffuse large B cell lymphoma. *UpToDate* Version 2022.
131. Freedman SA and Jonathan WF. Diffuse large B cell lymphoma (DLBCL): Suspected first relapse or refractory disease in medically-fit patients. *UpToDate* Version 2022.
132. Freedman SA, Friedberg WJ and Aster CJ. Clinical presentation and initial evaluation of nonHodgkin lymphoma. *UpToDate* Version 2022.

133. Freeman CL, Savage KJ, Villa DR et al. Longterm results of PET-guided radiation in patients with advanced-stage diffuse large B-cell lymphoma treated with R-CHOP. *Blood*.2021;137(7):929-938.
134. Fridman JS and Lowe SW.Control of apoptosis by p53 *Oncogene*.2003;22:9030–9040.
135. Frigault MJ, Armand P, Redd RA et al. PD-1 blockade for difuse large B-cell lymphoma after autologous stem cell transplantation. *Blood Adv*.2020;4(1):122–6.
136. Fridlender ZG and Albelda SM. Tumor-Associated Neutrophils: Friend or Foe?*Carcinogenesis*. 2012;33:949–55.
137. Gao L, Ge C, Wang S et al. The Role of p53-Mediated Signaling in the Therapeutic Response of Colorectal Cancer to 9F, a Spermine-Modified Naphthalene Diimide Derivative. *Cancers (Basel)*. 2020;12(3):528.
138. Gao F, Hu J, Zhang J and Xu Y. Prognostic Value of Peripheral Blood Lymphocyte/monocyte Ratio in Lymphoma. *J Cancer*. 2021;12(12):3407-3417.
139. Garcia FC and Swerdlow H.S. Best practices in Contemporary Diagnostic immunohistochemistry. Panel Approach to Hematolymphoid Proliferations. *Arch Pathol Lab Med*.2009;133:756-765.
140. García Ruiz O, Sánchez-Maldonado JM, López-Nevot MÁ et al. Autophagy in Hematological Malignancies. *Cancers (Basel)*. 2022;14(20):5072.
141. Ghani U, Ali Y, Gul K et al.In-silico analysis of BCL2 gene using multiple bioinformatics tools to identify the most lethal mutations that are crucial for its structural and functional integrity. *Research Square*.2021.
142. 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):4184-4190.
143. Gisselbrecht C, Schmitz N, Mounier N et al. Rituximab maintenance therapy after autologous stem-cell transplantation in patients with relapsed CD20(+) diffuse large B-cell lymphoma: final analysis of the collaborative trial in relapsed aggressive lymphoma. *J Clin Oncol*. 2012;30:4462–4469.
144. Glade MJ. Food, nutrition, and the prevention of cancer: A global perspective. American institute for cancer Research/World cancer research fund, American institute for cancer research, 1997. *Nutr (Burbank Los Angeles County Calif)*. 1999;15(6):523–6.
145. Gluzman DF, Sklyarenko LM, Zavelevich MP et al.Overview on association of different types of leukemias with radiation exposure. *Exp Oncol*. 2015;37:89–93.
146. Goldin LR, Landgren O, McMaster ML et al. Familial aggregation and heterogeneity of non-Hodgkin lymphoma in population-based samples.*Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2005; 14(10):2402.
147. Goldsmith J, Levine B and Debnath J. Autophagy and cancer metabolism. *Methods Enzymol*. 2014;542:25–57.
148. Gorodetskiy VR, Probatova NA and Vasilyev VI.Characteristics of diffuse large B-cell lymphoma in patients with primary Sjögren's syndrome. *Int J Rheum Dis*.2020;23(4):540-548.
149. Grimm WA, Messer JS, Murphy SF et al.The Thr300Ala variant in ATG16L1 is associated with improved survival in human colorectal cancer and enhanced production of type I interferon.*Gut*.2016;65:456-464.

150. Gu K, Weisenburger DD, Fu K et al. Cell of origin fails to predict survival in patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with autologous hematopoietic stem cell transplantation. *Hematol Oncol.* 2012;30(3):143–149.
151. Guo D, Fang L, Yu X et al. Different Roles of TP53 Codon 72 Polymorphism in Type 2 Diabetes and Its Complications: Evidence from a Case-Control Study on a Chinese Han Population. *Int J Gen Med.* 2021;14:4259-4268.
152. Gutiérrez-García G, Cardesa-Salzman 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):4836–4843.
153. Habara T, Sato Y, Takata K et al. Germinal center B-cell-like versus nongerminal center B-cell-like as important prognostic factor for localized nodal DLBCL. *J Clin Exp Hematop.* 2012;52(2):91-9.
154. Habermann TM. New developments in the management of diffuse large B-cell lymphoma. *Hematology (Amsterdam, Netherlands).* 2012;17(1):S93-97.
155. Hai-bing Y, Ya-xun W, Nan-nan C et al. Expression of PD-1 and PD-L1 in difuse large B-cell lymphoma. *Chin J Clin Exp Pathol.* 2019;35(4):379–82.
156. Halushka MK, Fan J-B, Bentley K et al. Patterns of single-nucleotide polymorphisms in candidate genes for blood-pressure homeostasis. *Nat Genet.* 1999;22(3):239–47.
157. Hamadani M, Radford J, Carlo-Stella C et al. Final results of a phase 1 study of loncastuximab tesirine in relapsed/refractory B-cell non-Hodgkin lymphoma. *Blood.* 2021;137(19):2634-2645.
158. Hamaoui D. ATG16L1 functions in cell homeostasis beyond autophagy. *The FEBS Journal.* 2021;289 (7): 1779–1800.
159. Hamroun D, Kato S, Ishioca C et al. The UMD TP53 database and website: update and revisions. *Hum Mutat.* 2006; 27(1):14-20.
160. Han PZ, Cao DH, Zhang XL et al. Association between TP53 gene codon72 polymorphism and prostate cancer risk.A systematic review and meta-analysis. *Medicine.* 2019; 98:25.
161. Han X, Zheng T, Foss F et al. Vegetable and fruit intake and non-Hodgkin lymphoma survival in Connecticut women. *Leuk Lymphoma.* 2010;51(6):1047–1054.
162. Han Y, Qin Y, He X et al. Prognostic signifcance of infammatory indicators for advanced-stage difuse large B-cell lymphoma. *Natl Med J China.* 2018;98(16):1250–5.
163. 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.
164. Hao X, Wei Y, Wei X et al. Glasgow prognostic score is superior to other infammation-based scores in predicting survival of difuse large B-cell lymphoma. *Oncotarget.* 2017;8(44):76740–8.
165. Harris NL, Jaffe ES, Stein H et al. A revised European-American classification of lymphoid neoplasms: a proposal from the International Lymphoma Study Group. *Blood* 1994; 84:1361.
166. Harris LJ, Patel K and Martin M. Novel therapies for relapsed or refractory diffuse large B-cell lymphoma. *Int J Mol Sci.* 2020;21(22):8553.
167. Hatjiharissi E, Xu L, Santos DD et al. Increased natural killer cell expression of CD16, augmented binding and ADCC activity to rituximab among

- individuals expressing the Fc γ Brief report Increased natural killer cell expression of CD16, augmented binding and ADCC activity to rituximab amon. *Blood J.* 2012;110:2561–2564.
168. Havranek O, Spacek M, Hubacek P et al.No association between the TP53 codon 72 polymorphism and risk or prognosis of Hodgkin and non-Hodgkin lymphoma. *Leukemia Research.*2011; 35(8):1117-1119.
 169. Haydaroglu SH. Can the prognosis of mantle cell lymphoma be predicted by simple CBC counts? *Medicine (Baltimore).* 2019;98 (30):e16180.
 170. He P, Li Z, Xu F et al. AMPK Activity Contributes to G2 Arrest and DNA Damage Decrease via P53/p21 Pathways in Oxidatively Damaged Mouse Zygotes. *Front. Cel Dev Biol.*2020; 8: 539485.
 171. Hedayatizadeh-Omran A, Alizadeh-Navaei R, Janbabaei G et al.Association of P53 gene polymorphism with gastric cancer in Northern Iran as a high-risk region. *Biomedical Reports.* 2018; 8: 433-438.
 172. Held G, Murawski N, Ziepert M et al. Role of radiotherapy to bulky disease in elderly patients with aggressive B-cell lymphoma. *J Clin Oncol.* 2014;32(11):1112–8.
 173. Henderson P and Stevenson C. The Role of Autophagy in Crohn’s Disease. *Cells.* 2012; 1(3): 492-519.
 174. Hernandez-Ilizaliturri FJ, Deeb G, Zinzani PL et al. Higher response to lenalidomide in relapsed/refractory diffuse large B-cell lymphoma in nongerminal center B-cell-like than in germinal center B-cell-like phenotype.*Cancer.* 2011;117(22):5058–66.
 175. Hervé G, Beth RL, Corinne H et al. FCGR3A/2A polymorphisms and Diffuse Large B-cell Lymphoma outcome treated with immunochemotherapy: a meta-analysis on 1,134 patients from two prospective cohorts.*Hematol Oncol.*2017;35(4): 447–455.
 176. Hervé G, Guillaume C, Seymour JF et al. Clinical outcome of patients with follicular lymphoma receiving chemoimmunotherapy in the PRIMA study is not affected by FCGR3A and FCGR2A polymorphisms. *Blood.* 2012; 120:2650–7.
 177. Hincks I, Woodcock BE and Thachil J. Is rituximab-induced late-onset neutropenia a good prognostic indicator in lymphoproliferative disorders? *Br J Haematol.* 2011;153:411–3.
 178. Hirata H, Hinoda Y, Nakajima K et al. The bcl2 – 938CC genotype has poor prognosis and lower survival in renal cancer. *J Urol.* 2009; 182:721–727.
 179. Hess J, Stelmach P, Eisenhardt A et al. Impact of BCL2 polymorphisms on survival in transitional cell carcinoma of the bladder. *J Cancer Res Clin Oncol.* 2017;143(9):1659-1670.
 180. Hockenbery D, Nuñez G, Milliman C et al. Bcl-2 is an inner mitochondrial membrane protein that blocks programmed cell death.*Nature.*1990;22:348(6299).
 181. Horn H, Ziepert M, Becher C et al. MYC status in concert with BCL2 and BCL6 expression predicts outcome in diffuse large B-cell lymphoma. *Blood* 2013;121(12):2253-63.
 182. Horning SJ, Weller E, Kim K et al. Chemotherapy with or without radiotherapy in limited-stage diffuse aggressive non-Hodgkin’s lymphoma: Eastern Cooperative Oncology Group study 484. *Journal of Clinical Oncology.* 2004; 22(15):3032-3038.

183. Horvath IF, Szodoray P and Zeher M. Diffuse Large B-Cell Lymphoma as a Sequela of Sjögren's Syndrome: A Case Report. *The Open Autoimmunity Journal*. 2009;1:45-49.
184. Hosgood HD, Purdue MP, Wang SS et al. A pooled analysis of three studies evaluating genetic variation in innate immunity genes and non-Hodgkin lymphoma risk. *Br J Haematol*. 2011; 152:721–6.
185. Hossain N, Sahaf B, Abramian M et al. Phase I experience with a bi-specific CAR targeting CD19 and CD22 in adults with B-cell malignancies. *Blood*. 2018; 132(1):490.
186. Houot R, Cartron G, Bijou F et al. Obinutuzumab plus lenalidomide (GALEN) for the treatment of relapse/refractory aggressive lymphoma: a phase II LYSA study. *Leukemia*. 2019; 33(3): 776–780.
187. 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.
188. Huang T, Shu Y and Cai YD. Genetic differences among ethnic groups. *BMC Genom*. 2015; 16:1093.
189. Hughes ME, Landsburg DJ, Rubin DJ et al. Treatment of patients with relapsed/refractory non-hodgkin lymphoma with venetoclax: a single-center evaluation of off-label use. *Clin Lymphoma Myeloma Leukemia*. 2019;19(12):791–8.
190. Huijbers A, Plantinga TS, Joosten LA et al. The effect of the ATG16L1 Thr300Ala polymorphism on susceptibility and outcome of patients with epithelial cell-derived thyroid carcinoma. *Endocr.Relat.Cancer*. 2012; 19: L15-L18.
191. Hurvitz SA, Betting DJ, Stern HM et al. Analysis of Fcγ receptor IIIa and IIa polymorphisms: lack of correlation with outcome in trastuzumab-treated breast cancer patients. *Clin Cancer Res*. 2012; 18: 3478-86.
192. Hutchings M, Carlo-Stella C, Bachy E, et al. Glofitamab step-up dosing induces high response rates in patients with hard-to-treat refractory or relapsed non-Hodgkin lymphoma. *Blood*. 2020;136(1):46–48.
193. Hutchings M, Morschhauser F, Iacoboni G et al. Glofitamab, a Novel, Bivalent CD20-Targeting T-Cell-Engaging Bispecific Antibody, Induces Durable Complete Remissions in Relapsed or Refractory B-Cell Lymphoma: A Phase I Trial. *J Clin Oncol*. 2021;39:1959-1970.
194. Hutchings M, Mous R, Clausen MR et al. Subcutaneous Epcoritamab induces complete responses with an encouraging safety profile across relapsed/refractory B-cell non-Hodgkin lymphoma subtypes, including patients with prior CAR-T therapy: updated dose escalation data. *Blood*. 2020;136(Suppl. 1):45–46.
195. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs2241880#frequency_tab (accessed 2021/12/29).
196. Icen-Taskin I, Irtegun-Kandemir S and Munzuroglu O. TP53 rs1042522 polymorphism and early-onset breast cancer. *J. Res. Med Sci. Off. J. Isfahan Univ. Med. Sci*. 2020; 25: 25.
197. Iqbal J, Neppalli VT, Wright G et al. BCL2 expression is a prognostic marker for the activated B-cell-like type of diffuse large B-cell lymphoma. *J. Clin. Oncol*. 2006; 24:961–968.

198. Jabir FA and Hoidy WH. Pharmacogenetics as Personalized Medicine: Association Investigation of SOD2 rs4880, CYP2C19 rs4244285, and FCGR2A rs1801274 Polymorphisms in a Breast Cancer Population in Iraqi Women. *Clin Breast Cancer*. 2018;18(5):e863-e868.
199. Jacobsen ED, Sharman JP, Oki Y et al. Brentuximab vedotin demonstrates objective responses in a phase 2 study of relapsed/refractory DLBCL with variable CD30 expression. *Blood*. 2015;125(9):1394–402.
200. Jacobson CA, Locke FL, Ghobadi A et al. Long-term (4- and 5-year) overall survival in ZUMA-1, the pivotal study of axicabtagene ciloleucel in patients with refractory large B-cell lymphoma. Presented at the 63rd American Society of Hematology Annual Meeting and Exposition. 2021;1764: poster.
201. Jacobson CA, Locke FL, Miklos DB et al. End of phase 1 results from zuma-6: axicabtagene ciloleucel (Axi-Cel) in combination with atezolizumab for the treatment of patients with refractory diffuse large B cell lymphoma. *Blood*. 2018; 132 (1):4192.
202. Jaeger U, Worel N, McGuirk JP et al. Portia: a phase 1b study evaluating safety and efficacy of Tisagenlecleucel and Pembrolizumab in patients with relapsed/refractory diffuse large B-cell lymphoma. *Blood*. 2019;134(1):5325–5325.
203. Jagadeesh D, Majhail NS, He Y et al. Outcomes of rituximab-BEAM versus BEAM conditioning regimen in patients with diffuse large B cell lymphoma undergoing autologous transplantation. *Cancer*. 2020;126(10):2279.
204. Jamali L, Sadeghi H, Ghasemi MR et al. Autophagy ATG16L1 rs2241880 impacts the colorectal cancer risk: A case-control study. *J Clin Lab Anal*. 2022;36(1):e24169.
205. Jason W, Davis RE, Lei F et al. Smart Start: Rituximab, Lenalidomide, and Ibrutinib in Patients With Newly Diagnosed Large B-Cell Lymphoma. *J Clin Oncol*. 2023; 41(4):745-755.
206. Jiang S, Qin Y, Jiang H et al. Molecular profiling of Chinese R-CHOP treated DLBCL patients: identifying a high-risk subgroup. *Int J Cancer*. 2020;147(9):2611–2620.
207. Jiang GM, Tan Y, Wang H et al. The relationship between autophagy and the immune system and its applications for tumor immunotherapy. *Mol Cancer*. 2019;18(1):17.
208. Jiang X, Overholtzer M and Thompson CB. Autophagy in cellular metabolism and cancer. *J. Clin. Investig*. 2015;125: 47–54.
209. Jinxi He, Liang H, Zhixiong Q et al. Genetic polymorphisms of FCGR2A, ORAI1 and CD40 are associated with risk of lung cancer. *Eur J Cancer Prev*. 2022;31(1):7-13.
210. June CH and Sadelain M. Chimeric antigen receptor therapy. *N Engl J Med*. 2018; 379(1):64–73.
211. Kalakonda N, Maerevoet M, Cavallo F et al. Selinexor in patients with relapsed or refractory diffuse large B-cell lymphoma (SADAL): a single-arm, multinational, multicentre, open-label, phase 2 trial. *Lancet Haematol*. 2020;7(7):e511–e522.
212. Kaloni D, Diepstraten ST, Strasser AL and Kelly GT. BCL-2 protein family: attractive targets for cancer therapy. *Apoptosis*. 2023;28:20–38.
213. Kamdar M, Solomon SR, Arnason JE et al. Lisocabtagene Maraleucel (liso-cel), a CD19-Directed Chimeric Antigen Receptor (CAR) T Cell Therapy, Versus Standard of Care (SOC) with Salvage Chemotherapy (CT) Followed

- By Autologous Stem Cell Transplantation (ASCT) As Second-Line (2L) Treatment in Patients (Pts) with Relapsed or Refractory (R/R) Large B-Cell Lymphoma (LBCL): Results from the Randomized Phase 3 Transform Study [#91]. *Blood*.2021;(ASH Annual Meeting Abstracts).
214. Karassa FB, Trikalinos TA and Ioannidis JP. The Fc gamma RIIIA-F158 allele is a risk factor for the development of lupus nephritis: a meta-analysis. *Kidney Int*.2003; 63:1475–82.
215. Kavya AK, Nair CK, Padmanabhan M et al. Evaluation of Haematological Parameters and Lymphocyte Monocyte Ratio as a Prognostic. *Asian Pac J Cancer Care*.2022; 7 (4):607-613.
216. Kawai O, Ishii G, Kubota K et al. Predominant infiltration of macrophages and CD8(+) T cells in cancer nests is a significant predictor of survival in stage IV nonsmall cell lung cancer. *Cancer*.2008;113(6):1387–95.
217. Kayawake H, Chen-Yoshikawa TF, Tanaka S et al. Impacts of single nucleotide polymorphisms in Fc gamma receptor IIA (rs1801274) on lung transplant outcomes among Japanese lung transplant recipients. *Transpl Int*.2021;34(11):2192-2204.
218. Keane C, Nourse JP, Crooks P et al. Homozygous FCGR3A-158V alleles predispose to late onset neutropenia after CHOP-R for diffuse large B-cell lymphoma. *Intern Med J*. 2012; 42:1113–9.
219. Kedra J, Seror R, Dieudé P et al. Lymphoma complicating rheumatoid arthritis: results from a French case–control study. *RMD Open*.2021;7:e001698.
220. Kee BP, Ng JG, Ng CC et al. Genetic polymorphisms of ATG16L1 and IRGM genes in Malaysian patients with Crohn's disease. *J Dig Dis*. 2020;21(1):29-37.
221. Kelsey CR, Broadwater G, James O et al. Phase 2 study of dose-reduced consolidation radiation therapy in diffuselarge B-cell lymphoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2019;105(1):96–101.
222. Kenkre VP, Hong F, Cerhan JR et al. Fc gamma receptor 3A and 2A polymorphisms do not predict response to rituximab in follicular lymphoma. *Clin Cancer Res*. 2016; 22(4): 821–826.
223. Khalsa JK, Chawla AS, Prabhu SB et al. Functionally significant metabolic differences between B and T lymphocyte lineages. *Immunology*.2019;158(2):104-120.
224. Khan AB, Barrington SF, Mikhaeel NG et al. PET-CT staging of DLBCL accurately identifies and provides new insight into the clinical significance of bone marrow involvement. *Blood* 2013; 122: 61–67.
225. Kim HN, Yu L, Kim NY et al. Association with TP53 codon 72 polymorphism and the risk of non-Hodgkin lymphoma. *Am J Hematol*. 2010;85(10):822-4.
226. Kim SJ, Yoon DH, Kim JS et al. Efficacy of brentuximab vedotin in relapsed or refractory high-CD30-expressing non-hodgkin lymphomas: results of a multicenter, open-labeled phase II trial. *Cancer Res Treat*. 2019;52(2):374–87.
227. Kjersem JB, Skovlund E, Ikdahl T et al. FCGR2A and FCGR3A polymorphisms and clinical outcome in metastatic colorectal cancer patients treated with firstline 5-fluorouracil/folinic acid and oxaliplatin ± cetuximab. *BMC Cancer*.2014;14:340.

228. Klanova M and Klener P. BCL-2 Proteins in Pathogenesis and Therapy of B-Cell Non-Hodgkin Lymphomas. *Cancers (Basel)*. 2020;12(4):938.
229. Klein A, Polliack A and Gafter-Gvili A. Rheumatoid arthritis and lymphoma: Incidence, pathogenesis, biology, and outcome. *Hematol Oncol*. 2018; 36(5):733-739.
230. Kleinstern G, Maurer MJ, Liebow M et al. Autoimmune Diseases and Prognosis across Lymphoma Subtypes. *Blood*. 2017; 130 (1): 2159.
231. Kleinstern G, Maurer MJ, Liebow M et al. History of autoimmune conditions and lymphoma prognosis. *Blood Cancer J*. 2018;8(8):73.
232. Kostakoglu L, Martelli M, Sehn LH et al. End-of-treatment PET/CT predicts PFS and OS in DLBCL after first-line treatment: results from GOYA. *Blood advances*. 2021;5(5):1283-1290.
233. Klionsky DJ and Schulman BA. Dynamic regulation of macroautophagy by distinctive ubiquitin-like proteins. *Nature Structural and Molecular Biology*. 2014;21(4):336-45.
234. Kopeva KV, Grakova EV, Shilov SN et al. Anthracycline-induced cardiotoxicity in women without cardiovascular diseases: molecular and genetic predictors. *Acta Cardiol*. 2022;77(9):805-814.
235. Krivokuca AM, Malisic EJ, Dobricic JD et al. RAD51 135G>C and TP53 Arg72Pro polymorphisms and susceptibility to breast cancer in Serbian women. *Fam. Cancer*. 2014; 13:173–180.
236. Kuksin CA and Minter LM. The link between autoimmunity and lymphoma: does NOTCH signaling play a contributing role? *Front. Oncol*. 2015; 5:51.
237. Kumar V, Shrivastava SM, Meghal T and Chandra BA. Recent Advances in Diffuse Large B Cell Lymphoma. *Hematology - Latest Research and Clinical Advances*. 2018:Chapter 3.
238. Kumari A, Bahl C, Singh N et al. Association of p53 codon 72 polymorphism and survival of North Indian lung cancer patients treated with platinum-based chemotherapy. *Molecular Biology Reports*. 2016; 43:1383–1394.
239. Künkele A, Grosse-Lordemann A, Schramm A et al. The BCL2-938 C>A promoter polymorphism is associated with risk group classification in children with acute lymphoblastic leukemia. *BMC Cancer*. 2013; 13:1–6.
240. Kurch L, Hüttmann A, Georgi TW et al. Interim PET in Diffuse Large B-Cell Lymphoma. *J Nucl Med* 2021; 62:1068–1074.
241. Kurosaki T, Kometani K and Ise W. Memory B cells. *Nat Rev Immunol*. 2015;15(3):149-59.
242. Kwai Han Yoo. Staging and response assessment of lymphoma: a brief review of the Lugano classification and the role of FDG-PET/CT. *Blood Res*. 2022;57:S75-S78.
243. Labelle M, Begum S and Hynes RO. Direct signaling between platelets and cancer cells induces an epithelial–mesenchymal-like transition and promotes metastasis. *Cancer Cell*. 2011; 20(5):576–90.
244. Lacroix M, Riscal R, Arena G et al. Metabolic Functions of the Tumor Suppressor P53: Implications in normal Physiology, Metabolic Disorders and Cancer. *Mol. Metab*. 2020; 33: 2–22.
245. Lamure S, Carles C, Aquereburu Q et al. Association of Occupational Pesticide Exposure With Immunochemotherapy Response and Survival Among Patients With Diffuse Large B-Cell Lymphoma. *JAMA Network Open*. 2019;2(4):e192093.

246. Lamy T, Damaj G, Soubeyran P et al. R-CHOP 14 with or without radiotherapy in nonbulky limited-stage diffuse large B-cell lymphoma. *Blood*. 2018;131(2):174–181.
247. Lassen KG, Kuballa P, Conway KL et al. Atg16L1 T300A variant decreases selective autophagy resulting in altered cytokine signaling and decreased antibacterial defense. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2014; 111:7741–7746.
248. Lee J, Zhang T, Hwang I et al. Epigenetic modification and antibody-dependent expansion of memory-like NK cells in human cytomegalovirus-infected individuals. *Immunity*. 2015;42(3):431–42.
249. Lee YH, Ji JD and Song GG. Associations between FCGR3A polymorphisms and susceptibility to rheumatoid arthritis: a metaanalysis. *J Rheumatol*. 2008; 35:2129–35.
250. Lekakis LJ and Moskowitz CH. The Role of Autologous Stem Cell Transplantation in the Treatment of Diffuse Large B-cell Lymphoma in the Era of CAR-T Cell Therapy. *Hemasphere*. 2019;3(6):e295.
251. Lennert Karl. History of the European Association for haematopathology. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. 2006.
252. Leonard JP, Kolibaba KS, Reeves JA et al. Randomized Phase II Study of R-CHOP With or Without Bortezomib in Previously Untreated Patients With Non-Germinal Center B-Cell-Like Diffuse Large B-Cell Lymphoma. *J Clin Oncol*. 2017;35:3538–3546.
253. Lesokhin AM, Ansell SM, Armand P et al. Nivolumab in patients with relapsed or refractory hematologic malignancy: preliminary results of a phase Ib study. *J Clin Oncol*. 2016;34(23):2698–704.
254. Leveille E and Johnson NA. Genetic Events Inhibiting Apoptosis in Diffuse Large B Cell Lymphoma. *Cancers (Basel)*. 2021;13(9):2167.
255. Levy D, Bellesso M, Oliveira-Souza P et al. The H/R FcγRIIA-131 polymorphism and survival in patients with diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) treated with R-CHOP: a study in a genetically mixed population. *Clinics (Sao Paulo)*. 2011; 66:919–22.
256. Levy JMM and Thorburn A. Autophagy in cancer: moving from understanding mechanism to improving therapy responses in patients. *Cell Death Differ*. 2020;27:843–857.
257. Li G, Gao L, Ma R et al. Associations between FCGR polymorphisms and immune thrombocytopenia: a meta-analysis. *Scand J Immunol*. 2019; 89:e12758.
258. Li H, Jin Z, Li X et al. Associations between single-nucleotide polymorphisms and inflammatory bowel disease-associated colorectal cancers in inflammatory bowel disease patients: a meta-analysis. *Clin Transl Oncol*. 2017;19(8):1018–1027.
259. Li J, Zhou J, Guo W et al. Efficacy and Safety of Lenalidomide Monotherapy for Relapsed/Refractory Diffuse Large B Cell Lymphoma: Systematic Review and Meta-Analysis. *Front Oncol*. 2021;11:756728.
260. Li S, Young KH and Medeiros LJ. Diffuse large B-cell lymphoma. *Pathology*. 2018; 50(1):74–87.
261. Li SC, Chen YC, Evens AM et al. Rituximab-induced late-onset neutropenia in newly diagnosed B-cell lymphoma correlates with Fc receptor FcγRIIIa 158(V/F) polymorphism. *Am J Hematol*. 2010; 85:810–2.
262. Li Y, Hahn T, Garrison K et al. Stimulates Tumor Autophagy and Enhances Antigen Cross-Presentation. *Cancer Res*. 2012; 72: 3535–3545.

263. Li QX, Zhou X, Huang TT et al. The Thr300Ala variant of ATG16L1 is associated with decreased risk of brain metastasis in patients with non-small cell lung cancer. *Autophagy*. 2017;13(6):1053-63.
264. Lim SM, Mohamad Hanif EA and Chin SF. Is targeting autophagy mechanism in cancer a good approach? The possible double-edge sword effect. *Cell Biosci*.2021;11:56.
265. Lin H, Xu Y and Chen F. Relationship between RDW, PLR and clinical features in patients with DLBCL and its impact on survival prognosis. *J Clin Hematol*. 2019;32(02):205–9.
266. Lin TS, Flinn IW, Modali R et al. FCGR3A and FCGR2A polymorphisms may not correlate with response to alemtuzumab in chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 2005; 105: 289-91.
267. Liu B, Bhatt D, Oltvai ZN et al. Significance of p53 dynamics in regulating apoptosis in response to ionizing radiation and polypfarmacological strategies. *Scientific reports*. 2014;4:6245.
268. Liu D, Wang Y, Dong M et al. Polymorphisms in cytokine genes as prognostic markers in diffuse large B cell lymphoma patients treated with (R)-CHOP. *Ann Hematol*.2017;96(2):227-235.
269. Liu F, Ding H, Jin X et al. FCGR3A 158V/F polymorphism and response to frontline R-CHOP therapy in diffuse large B-cell lymphoma. *DNA Cell Biol* 2014;33(9):616–23.
270. Liu Y, Wang X, Ding N et al. TP53 Arg72 as a favorable prognostic factor for Chinese diffuse large B-cell lymphoma patients treated with CHOP.*BMC Cancer*. 2017;17(1):743.
271. Liu Z, Sun R, Lu W et al. The -938A/a genotype of BCL2 gene is associated with esophageal cancer. *Med Oncol*. 2012;29:2677–83.
272. Lindqvist LM, Heinlein M, Huang DC and Vaux DL. Prosurvival Bcl-2 family members affect autophagy only indirectly, by inhibiting Bax and Bak. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2014; 111(23):8512-8517.
273. Lister T, Crowther D, Sutcliffe S et al. Report of a committee convened to discuss the evaluation and staging of patients with Hodgkin's disease: Cotswolds meeting. *Journal of Clinical Oncology*. 1989;7(11):1630-1636.
274. Locke FL, Miklos DB, Jacobson CA et al. Axicabtagene Ciloleucel as Second-Line Therapy for Large B-Cell Lymphoma.*N Engl J Med*. 2022;386(7):640.
275. Locke FL, Ghobadi A, Jacobson CA et al. Long-term safety and activity of axicabtagene ciloleucel in refractory large B-cell lymphoma (ZUMA-1): a single-arm, multicentre, phase 1-2 trial.*Lancet Oncol*. 2019;20(1):31-42.
276. Longo DL. Combined-modality therapy for early-stage diffuse large B-cell lymphoma: Knowing when to quit. *Journal of Clinical Oncology*. 2015;33(32):3684-3685.
277. Lugtenburg EJ, Brown P, van der Holt B et al.Rituximab maintenance for patients with diffuse large B-cell lymphoma in first complete remission: Results from a randomized HOVON-Nordic Lymphoma Group phase III study.*Journal of Clinical Oncology*.2019;37(15):7507.
278. Lorin S, Hamai A,Mehrpour M and Codogno P. Autophagy regulation and its role in cancer. *Semin.Cancer Biol*.2013;23:361-79.
279. Lossos IS and Morgensztern D. Prognostic biomarkers in diffuse large B-cell lymphoma. *J Clin Oncol*. 2006; 24: 995-1007.

280. Luna-Vargas MPA and Chipuk JE. The deadly landscape of pro-apoptotic BCL-2 proteins in the outer mitochondrial membrane. *FEBS J.* 2016; 283(14):2676–89.
281. Lunning MA and Armitage JO. Rituximab maintenance therapy in diffuse large B-cell lymphoma: is XY the most important variable?. *Haematologica.* 2015;100(7):853-855.
282. Maiuri MC, Tasdemir E, Criollo A et al. Control of autophagy by oncogenes and tumor suppressor genes. *Cell Death Differ.* 2009;16:87-93.
283. Marcheselli R, Bari A, Tadmor T et al. Improving the international prognostic index score using peripheral blood counts: results of a large multicenter study involving 520 patients with diffuse large B cell lymphoma. *Hematol. Oncol.* 2020;38:439–445.
284. Martin A, Redondo AM, Dlouhy I et al. Lenalidomide in combination with R-ESHAP in patients with relapsed or refractory difuse large B-cell lymphoma: a phase 1b study from GELTAMO group. *Br J Haematol.* 2016;173(2):245–52.
285. Martin ACR, Facchiano AM, Cuff AL et al. Integrating mutation data and structural analysis of the p53 tumour-suppressor protein. *Human Mutation.* 2002; 19:149-64.
286. Martins WK, Silva MDND, Pandey K et al. Autophagy-targeted therapy to modulate age-related diseases: Success, pitfalls, and new directions. *Curr Res Pharmacol Drug Discov.* 2021;2:100033.
287. Masago K, Togashi Y, Fujita S et al. Effect of the BCL2 gene polymorphism on survival in advanced-stage non-small cell lung cancer patients who received chemotherapy. *Oncology.* 2013; 84:214–218.
288. Matasar MJ, Cheah CY, Yoon DH et al. Subcutaneous Mosunetuzumab in relapsed or refractory B-cell lymphoma: promising safety and encouraging efficacy in dose escalation cohorts. *Blood.* 2020;136(1):45–46.
289. Mauri C and Menon M. Human regulatory B cells in health and disease: therapeutic potential. *J Clin Invest.* 2017;127(3):772.
290. McEwan DG, Popovic D, Gubas A et al. PLEKHM1 Regulates Autophagosome-Lysosome Fusion through HOPS Complex and LC3/GABARAP Proteins. *Mol. Cell.* 2015;57: 39–54.
291. McGraw KL, Zhang LM, Rollison DE et al. The relationship of TP53 R72P polymorphism to disease outcome and TP53 mutation in myelodysplastic syndromes. *Blood Cancer Journal.* 2015; 5: e291.
292. McMillan AK, Matasar MJ, Sancho JM et al. POLARGO: a randomized phase III study evaluating polatuzumab vedotin plus rituximab, gemcitabine, and oxaliplatin in patients with relapsed/refractory difuse large B-cell lymphoma who had received one or more previous therapies. *Blood.* 2019;134(1):5317.
293. Melchardt T, Troppan K, Weiss L et al. Independent prognostic value of serum markers in diffuse large B-cell lymphoma in the era of the NCCN-IPI. *J. Natl. Compr. Canc. Netw.* 2015;13: 1501–1508.
294. Menon MP, Pittaluga S and Jaffe ES. The Histological and Biological Spectrum of Diffuse Large B-cell Lymphoma in the WHO Classification. *Cancer J.* 2012;18(5):411-20.
295. Mestiri S, Zaaber I, Nasr I and Marmouch H. Implication of VDR Rs7975232 and FCGR2A Rs1801274 Gene Polymorphisms in the Risk and the Prognosis

- of autoimmune Thyroid Diseases in the Tunisian Population. *Balkan J Med Genet.* 2020;23(1):69-76.
296. Mhaidat NM, Amawi H and Alzoubi KH. Correlation Between BCL2 and Mc11 Single Nucleotide Polymorphisms and Chemotherapy Response in Jordanian Patients with Colorectal Cancer. *Curr Pharm Biotechnol.* 2021;22(5):646-653.
297. Miao Y, Medeiros LJ, Xu-Monette ZY et al. Dysregulation of Cell Survival in Diffuse Large B Cell Lymphoma: Mechanisms and Therapeutic Targets. *Front Oncol.* 2019;9:107.
298. Michita RT, Zambra FMB, Fraga LR et al. The role of FAS, FAS-L, BAX, and BCL-2 gene polymorphisms in determining susceptibility to unexplained recurrent pregnancy loss. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics.* 2019;36:995–1002.
299. Mijit M, Caracciolo V, Melillo A et al. Role of P53 in the Regulation of Cellular Senescence. *Biomolecules.* 2020;10:420.
300. Miller TP, Dahlberg S, Cassady JR et al. Chemotherapy alone compared with chemotherapy plus radiotherapy for localized intermediate- and high-grade non-Hodgkin's lymphoma. *N Engl J Med.* 1998;339(1):21–26.
301. Miller TP. The Limits of Limited Stage Lymphoma. *Journal of Clinical Oncology.* 2004; 22(15):2982-2984.
302. Minoia C, Gerardi C, Allocati E et al. The Impact of Healthy Lifestyles on Late Sequelae in Classical Hodgkin Lymphoma and Diffuse Large B-Cell Lymphoma Survivors. A Systematic Review by the Fondazione Italiana Linfomi. *Cancers.* 2021;13:3135.
303. Mitrović Z, Aurer I, Radman I et al. FCgammaRIIIA and FCgammaRIIA polymorphisms are not associated with response to rituximab and CHOP in patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Haematologica.* 2007; 92:998–9.
304. Mittal RD, George GP, Mishra J et al. Role of functional polymorphisms of P53 and P73 genes with the risk of prostate cancer in a case-control study from Northern India. *Arch Med Res.* 2011;42:122–7.
305. Mizushima N, Yoshimori T and Ohsumi Y. The role of Atg proteins in autophagosome formation. *Annu Rev Cell Dev Biol.* 2011;27:107-32.
306. Mizushima N. Autophagy: Process and function. *Genes Dev.* 2007; 21: 2861–2873.
307. Mo JJ, Zhang W, Wen QW et al. Genetic association analysis of ATG16L1 rs2241880, rs6758317 and ATG16L2 rs11235604 polymorphisms with rheumatoid arthritis in a Chinese population. *International Immunopharmacology.* 2021; 93:107378.
308. Mohammadpour-Gharehbagh A, Jahantigh D, Eskandari M et al. Genetic and epigenetic analysis of the BAX and BCL2 in the placenta of pregnant women complicated by preeclampsia. *Apoptosis.* 2019;24(3-4):301-311.
309. Møller MB, Pedersen NT and Christensen BE. Diffuse large B-cell lymphoma: clinical implications of extranodal versus nodal presentation—a population-based study of 1575 cases. *Br J Haematol.* 2004;124:151–9.
310. Mommersteega MC, Simovic I, Yua B et al. Autophagy mediates ER stress and inflammation in Helicobacter pylori-related gastric cancer. *GUT MICROBES.* 2022; 14(1): e2015238.

311. Monaco G, Decrock E, Akl H et al. Selective regulation of IP3-receptor-mediated Ca²⁺ signaling and apoptosis by the BH4 domain of Bcl-2 versus Bcl-Xl. *Cell Death Differ.* 2012; 19: 295–309.
312. Montero J and Letai A. Why do BCL-2 inhibitors work and where should we use them in the clinic? *Cell Death and Differentiation.* 2018;25:56–64.
313. Morales AJ, Maldonado-Montoro M, Martínez de la Plata JE et al. FCGR2A/FCGR3A Gene Polymorphisms and Clinical Variables as Predictors of Response to Tocilizumab and Rituximab in Patients With Rheumatoid Arthritis. *J Clin Pharmacol.* 2019;59(4):517-531.
314. Morschhauser F, Feugier P, Flinn IW et al. A phase 2 study of venetoclax plus R-CHOP as firstline treatment for patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Blood.* 2021;137(5):600–609.
315. Mörth C, Valachis A, Sabaa AA et al. Autoimmune disease in patients with diffuse large B-cell lymphoma: occurrence and impact on outcome. *Acta Oncol.* 2019;58(8):1170-1177.
316. Mostaid MS, Ahmed MU, Islam MS et al. Lung cancer risk in relation to TP53 codon 47 and codon 72 polymorphism in Bangladeshi population. *Tumour Biol.* 2014;35(10):10309-10317.
317. Mrakovcic M and Frohlich LF. p53-mediated molecular control of autophagy in tumor cells. *Biomolecules.* 2018;8:14.
318. Mu S, Ai L, Fan F, Qin Y, Sun C and Hu Y. Prognostic role of neutrophil-to-lymphocyte ratio in diffuse large B cell lymphoma patients: an updated dose-response meta-analysis. *Cancer Cell Int.* 2018;18:119.
319. 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; 119:3276–84.
320. Murthy SL, Hitchcock MA, Endicott-Yazdani TR et al. Epstein-Barr virus-positive diffuse large B-cell lymphoma. *Proc (Bayl Univ Med Cent).* 2017;30(4):443-444.
321. Murthy A, Li Y, Peng I et al. A Crohn's disease variant in Atg1611 enhances its degradation by caspase 3. *Nature.* 2014;506:456–462.
322. Nagelkerke SQ, Schmidt DE, de Haas M and Kuijpers TW. Low-To-Medium-Affinity Fcγ Receptors: Functional Consequences, Disease Associations, and Opportunities for Personalized Medicine. *Medicine. Front. Immunol.* 2019;10:2237.
323. Nakatogawa H. Two ubiquitin-like conjugation systems that mediate membrane formation during autophagy. *Essays in Biochemistr.* 2013;55(1):39-50.
324. Nakaya A, Fujita S, Satake A et al. Does Neutrophil to Lymphocyte Ratio (NLR) Predict the Prognosis of Diffuse Large B-Cell Lymphoma? *Blood.* 2018;132 (1): 5402.
325. NCCN Guidelines Version 1.2023.
326. NCCN Guidelines Version 5.2022.
327. Neelapu SS, Locke FL, Bartlett NL et al. Axicabtagene Ciloleucel CAR T-Cell Therapy in Refractory Large B-Cell Lymphoma. *N Engl J Med.* 2017;377(26):2531.
328. Neelapu SS, Locke FL, Bartlett NL et al. Long-term follow-up ZUMA-1: a pivotal trial of axicabtagene ciloleucel (Axi-Cel; KTE-C19) in patients with refractory aggressive nonhodgkin lymphoma (NHL). *Blood.* 2017;130(1):578.

329. Neelapu SS, Dickinson M, Munoz J et al. Axicabtagene ciloleucel as first-line therapy in high-risk large B-cell lymphoma: the phase 2 ZUMA-12 trial. *Nature Medicine*.2022; 28:735–742.
330. Ng AK, Dabaja BS, Hoppe RT, Illidge T and Yahalom J. Re-Examining the Role of Radiation Therapy for Diffuse Large B-Cell Lymphoma in the Modern Era. *Journal of Clinical Oncology*.2016;34(13):1443-1447.
331. Ng AK, Yahalom J, Goda JS et al. Role of Radiation Therapy in Patients With Relapsed/Refractory Diffuse Large B-Cell Lymphoma: Guidelines from the International Lymphoma Radiation Oncology Group. *Int J Radiation Oncol Biol Phys*.2018;3(100): 652-669.
332. Ni J, Wang YQ, Zhang YP et al. Value of neutrophil/lymphocyte ratio and platelet/lymphocyte ratio for prognostic evaluation of difuse large B-cell lymphoma. *J Exp Hematol*. 2016;24(2):427–32.
333. Nicoli ER, Dumitrescu T, Uscatu CD et al. Determination of autophagy gene ATG16L1 polymorphism in human colorectal cancer. *Rom J Morphol Embryo*.2014;55(1):57-62.
334. Nirav N Shah, Kwang W Ahn, Carlos Litovich et al. Is autologous transplant in relapsed DLBCL patients achieving only a PET1 PR appropriate in the CAR T-cell era? *Blood*. 2021;137(10):1416-1423.
335. Nitta E, Izutsu K, Sato T et al. A high incidence of lateonset neutropenia following rituximab-containing chemotherapy as a primary treatment of CD20-positive B-cell lymphoma: a single-institution study. *Ann Oncol*. 2007;18:364–9.
336. Noda T. Regulation of Autophagy through TORC1 and mTORC1. *Biomolecules*.2017;7:52.
337. Nowakowski GS, Hong F, Scott DW et al. Addition of Lenalidomide to R-CHOP Improves Outcomes in Newly Diagnosed Diffuse Large B-Cell Lymphoma in a Randomized Phase II US Intergroup Study ECOG-ACRIN E1412. *J Clin Oncol*. 2021;39(12):1329-1338.
338. Nowakowski GS, Chiappella A, Gascoyne RD et al. ROBUST: A Phase III Study of Lenalidomide Plus R-CHOP Versus Placebo Plus R-CHOP in Previously Untreated Patients With ABC-Type Diffuse Large B-Cell Lymphoma. *J Clin Oncol*. 2021;39(12):1317-1328.
339. Noy Ariela. Optimizing treatment of HIV-associated lymphoma *Blood*. 2019;134 (17): 1385–1394.
340. Nüchel H , Frey UH, Bau M et al. Association of a novel regulatory polymorphism (– 938C>A) in the BCL2 gene promoter with disease progression and survival in chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 2007; 109:290–297.
341. Nyman H, Adde M, Karjalainen-Lindsberg ML et al. Prognostic impact of immunohistochemically defined germinal center phenotype in diffuse large B-cell lymphoma patients treated with immunochemotherapy. *Blood*. 2007;109(11):4930-5.
342. Offner F, Samoilova O, Osmanov E et al. Frontline rituximab, cyclophosphamide, doxorubicin, and prednisone with bortezomib (VR-CAP) or vincristine (R-CHOP) for non-GCB DLBCL. *Blood*. 2015;126(16):1893-1901.
343. Oh YH and Park CK. Prognostic evaluation of nodal diffuse large B cell lymphoma by immunohistochemical profiles with emphasis on CD138 expression as a poor prognostic factor. *J Korean Med Sci*. 2006;21(3):397-405.

344. Ohmachi K, Kinoshita T, Tobinai K et al. A randomized phase 2/3 study of R-CHOP vs CHOP combined with dose-dense rituximab for DLBCL: the JCOG0601 trial. *Blood Adv.*2021;5(4):984–993.
345. 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 patients' survival benefit from rituximab. *Eur J Haematol.* 2008; 81: 448-53.
346. Ollila TA and Olszewski AJ. Extranodal diffuse large B cell lymphoma: molecular features, prognosis, and risk of central nervous system recurrence. *Curr Treat Options Oncol.* 2018;19(8):38.
347. Ondrej M, Cechakova L, Durisova K et al. To live or let die: Unclear task of autophagy in the radiosensitization battle. *Radiother. Oncol.*2016;119:265–275.
348. Opferman JT and Kothari A. Anti-apoptotic BCL-2 family members in development. *Cell Death Differ.* 2018;25(1):37-45.
349. Ott G, Rosenwald A and Campo E. Understanding MYC-driven aggressive B-cell lymphomas: Pathogenesis and classification. *Blood.* 2013;122(24):3884-389.
350. Palmero I and Peters G. Perturbation of cell cycle regulators in human cancer. *Cancer Surv.*1996; 27:351-67.
351. Palumbo JS, Talmage KE, Massari JV et al. Tumor Cell-Associated Tissue Factor and Circulating Hemostatic Factors Cooperate to Increase Metastatic Potential Through Natural Killer Cell-Dependent and-Independent Mechanisms. *Blood.*2007;110:133–41.
352. Panda PK, Mukhopadhyay S, Das DN et al. Mechanism of autophagic regulation in carcinogenesis and cancer therapeutics. *Semin Cell Dev Biol.* 2015; 39:43–55.
353. Papadakis ED, Soultzis N and Spandidos DA. Association of p53 codon 72 polymorphism with advanced lung cancer: the Arg allele is preferentially retained in tumours arising in Arg/Pro germline heterozygotes. *Br. J. Cancer.* 2002;87(9):1013-1018.
354. Park B, Kim LH, Cheong HS et al. Identification of variants in cyclin D1 (CCND1) and B-Cell CLL/lymphoma 2 (BCL2). *J Hum Genet.* 2004; 49:449–454.
355. Park HA, Broman K and Jonas EA. Oxidative stress battles neuronal bcl-xL in a fight to the death. *Neural Regeneration Res.* 2021; 16(1):12.
356. Park YH, Sohn SH, Kim JG et al. Interaction between BCL2 and Interleukin-10 Gene Polymorphisms Alter Outcomes of Diffuse Large B-Cell Lymphoma following Rituximab Plus CHOP Chemotherapy. *Clin Cancer Res* 2009; 15:2107-15.
357. Parikh RR and Yahalom J. Older patients with early-stage diffuse large B-cell lymphoma: the role of consolidation radiotherapy after chemoimmunotherapy. *Leuk Lymphoma.*2017;58(3):614–22.
358. Paszkiewicz-Kozik E, Michalski W, Taszner M et al. Ofatumumab with IVAC for dlbcl patients who failed R-CHOP and were not candidates for high-dose therapy and ASCT-phase 2 trial of the Polish lymphoma research group (PLRG-8). *Blood.*2017;130: 1800.
359. Parzych KR and Klionsky DJ. An overview of autophagy: morphology, mechanism and regulation. *Antioxidants and Redox Signaling.*2014;20(3):460-73.

360. Paul P, Picard C, Lyonnet L et al. FCGR2A-HH Gene Variants Encoding the Fc Gamma Receptor for the C-Reactive Protein Are Associated with Enhanced Monocyte CD32 Expression and Cardiovascular Events' Recurrence after Primary Acute Coronary Syndrome. *Biomedicines*.2022;10(2):495.
361. Pavkovic M, Petlichkovski A, Karanfilski O et al. FC gamma receptor polymorphisms in patients with immune thrombocytopenia.*Hematology*. 2018; 23:163–8.
362. Pelosi E, Penna D, Douroukas A et al. Bone marrow disease detection with FDGPET/CT and bone marrow biopsy during the staging of malignant lymphoma: result from a large multicentre study. *Q J Nucl Med Mol Imaging*.2011; 55: 469–475.
363. Perisa V, Knezovic A, Zibar L et al. Comparison of the prognostic impact of neutrophil/lymphocyte ratio, platelet/lymphocyte ratio, and glasgow prognostic score in difuse large B-cell lymphoma. *Shiraz E Med J*. 2016;17(7–8):e38209.
364. Persky DO, Unger JM, Spier CM et al. Phase II study of rituximab plus three cycles of CHOP and involved-field radiotherapy for patients with limited-stage aggressive B-cell lymphoma: south-west oncology group study 0014.*J Clin Oncol*. 2008;26(14):2258–2263.
365. Persky DO and Miller TP. Localized large cell lymphoma: is there any need for radiation therapy?*Current Opinion in Oncology*.2009;21(5):401–406.
366. Persky DO, Li H, Stephens DM et al. Positron emission tomography-directed therapy for patients with limited-stage diffuse large B-cell lymphoma: results of intergroup national clinical trials network study S1001. *J Clin Oncol*.2020;38(26):3003–3011.
367. Pete NM, Montoro MM, Ramírez CP et al.Influence of the FCGR2A rs1801274 and FCGR3A rs396991 Polymorphisms on Response to Abatacept in Patients with Rheumatoid Arthritis. *J Pers Med*. 2021;11(6):573.
368. Petty AJ and Yang Y. Tumor-Associated Macrophages in Hematologic Malignancies: New Insights and Targeted Therapies. *Cells*.2019;8:1526.
369. Peyrade F,Bologna S,Delwail V et al.Combination of ofatumumab and reduced-dose CHOP for difuse large B-cell lymphomas in patients aged 80 years or older: an open-label, multi-centre, single-arm, phase 2 trial from the LYSA group. *Lancet Haematol*.2017;4(1):e46–55.
370. Pfreundschuh M, Murawski N et al. Radiotherapy (RT) to bulky (B) and extralymphatic (E) disease in combination with 6xR-CHOP-14 or R-CHOP-21 in young good-prognosis DLBCL patients: results of the 2x2 randomized UNFOLDER trial of the DSHNHL/GLA.*J Clin Oncol*. 2018;36(15):7574-7574.
371. Pfreundschuh M, Kuhnt E, Trümper L et al. CHOP-like chemotherapy with or without rituximab in young patients with goodprognosis diffuse large-B-cell lymphoma: 6-year results of an open-label randomised study of the MabThera International Trial (MInT) Group. *Lancet Oncol*. 2011;12:1013–22.
372. 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;7:379–91.
373. Pfreundschuh M, Schubert J, Ziepert M et al. Six versus eight cycles of bi-weekly CHOP-14 with or without rituximab in elderly patients with aggressive

- CD20+ B-cell lymphomas: a randomised controlled trial (RICOVER-60). *Lancet Oncol.* 2008;9(2):105–16.
374. Phan J, Mazloom A, Medeiros LJ et al: Benefit of consolidative radiation therapy in patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with R-CHOP chemotherapy. *Journal of Clinical Oncology.*2010;28(27):4170-4176.
375. Pillai Radhakrishna Madhavan and Nair S. Asha. Polymorphism of p53 in cancer prognosis *Indian J Med Res.* 2016; 144(3): 314–316.
376. Pim D and Banks L. p53 polymorphic variants at codon 72 exert different effects on cell cycle progression. *Int J Cancer.* 2004;108(2):196–9.
377. Pinnix CC, Smith GL, Milgrom S et al. Predictors of radiation pneumonitis in patients receiving intensity modulated radiation therapy for Hodgkin and non-Hodgkin lymphoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2015;92:175-182.
378. Poeschel V, Held G, Ziepert M et al. Four versus six cycles of CHOP chemotherapy in combination with six applications of rituximab in patients with aggressive B-cell lymphoma with favourable prognosis (FLYER): a randomised, phase 3, non-inferiority trial. *Lancet.* 2019;394(10216):2271–2281.
379. Poh C, McPherson JD, Tuscano J et al. Environmental pesticide exposure and non-Hodgkin lymphoma survival: a population-based study. *BMC Medicine.*2022;20:165.
380. Porrata LF, Ristow K, Habermann T et al. Predicting survival for diffuse large B-cell lymphoma patients using baseline neutrophil/lymphocyte ratio. *Am. J. Hematol.* 2010; 85:896–899.
381. Proikas-Cezanne T, Takacs Z, Dönnés P and Kohlbacher O. WIPI proteins: essential PtdIns3P effectors at the nascent autophagosome. *J Cell Sci.* 2015;128(2):207-17.
382. Pyo JO, Nah J and Jung YK. Molecules and their functions in autophagy. *Exp.Mol.Med.*2012; 44:73-80.
383. R Core Team (2022). R: A language and environment for statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>
384. Rahman M A, Hannan MA, Dash R et al. Phytochemicals as a Complement to Cancer Chemotherapy: Pharmacological Modulation of the Autophagy-Apoptosis Pathway. *Front. Pharmacol.* 2021;12: 639628.
385. Rahman MA, Park MN, Rahman MH et al. p53 Modulation of Autophagy Signaling in Cancer Therapies: Perspectives Mechanism and Therapeutic Targets. *Front Cell Dev Biol.* 2022;10:761080.
386. Rajasooriyar C, Tey J, Wong LC et al. A multi-institutional analysis of diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) treated with consolidative radiotherapy and the impact of cell-of-origin on outcomes. *Radiol Oncol.* 2019;53(4):473-479.
387. Raju D, Hussey S, Ang M et al. Vacuolating Cytotoxin and Variants in Atg16L1 That Disrupt Autophagy Promote Helicobacter pylori Infection in Humans. *Gastroenterology.*2012;142:1160–1171.
388. Ramchandren R, Johnson P, Ghosh N, et al. The iR2 regimen (ibrutinib plus lenalidomide and rituximab) for relapsed/refractory DLBCL: A multicentre, non-randomised, open-label phase 2 study. *eClinicalMedicine.*2023;56: 101779.
389. Rao PH, Houldsworth J. Dyomina K et al. Chromosomal and gene amplification diffuse large B cell lymphoma. *Blood.* 1998;92:2234-40.

390. Ravanan P, Srikumar IF and Talwar P. Autophagy: The spotlight for cellular stress responses. *Life Sci.* 2017;188:53–67.
391. Reddy A, Zhang J, Davis NS et al. Genetic and Functional Drivers of Diffuse Large B Cell Lymphoma. *Cell.* 2017; 171:481.
392. Reham S. El Zaiata, Enas S. Essaa, Hagar Abd El.Magid Al Agizy et al. BCL2 (-938C>A) single nucleotide variant and susceptibility to diffuse large B cell lymphoma. *Menoufia Medical Journal.*2022; 35:999–1006.
393. Ren L, Li L, Zhang L et al. Ibrutinib in Patients with Relapsed or Refractory Diffuse Large B-Cell Lymphoma: A Retrospective Study. *Indian J Hematol Blood Transfus.* 2022;38(1):42-50.
394. Renner W and Langsenlehner U. BCL2 genotypes and prostate cancer survival. *Strahlenther Onkol.*2017;193(6):466-471.
395. Reyes F, Lepage E, Ganem G et al: ACVBP versus CHOP plus radiotherapy for localized aggressive lymphoma. *New England Journal of Medicine.* 2005; 352(12): 1197-1205.
396. Riffelmacher T and Simon AK. Mechanistic roles of autophagy in hematopoietic differentiation. *FEBS J.* 2017; 284:1008–1020.
397. Robert J, Le Morvan V, Giovannetti E and Peters GJ. On the use of pharmacogenetics in cancer treatment and clinical trials. *European Journal of Cancer.*2014;50(15): 2532-2543.
398. Rock CL,Thomson C,Gansler T et al. American Cancer Society Guideline for Diet and Physical Activity for Cancer Prevention. *CA CANCER J CLIN.* 2020;70:245–271.
399. Rodda LB, Lu E, Bennett ML et al. Single-Cell RNA Sequencing of Lymph Node Stromal Cells Reveals Niche-Associated Heterogeneity.*Immunity.*2018;48(5): 1014.
400. Rodrigues P, Furriol J, Tormo E et al. Epistatic interaction of Arg72Pro TP53 and -710 C/T VEGFR1 polymorphisms in breast cancer: Predisposition and survival. *Mol. Cell. Biochem.* 2013;379: 181–190.
401. Rojek E. Alexandra and Smith M. Sonali. Evolution of therapy for limited stage diffuse large B-cell lymphoma. *Blood Cancer Journal.* 2022;12:33-
402. Rosales C. Fcγ receptor heterogeneity in leucocyte functional responses. *Front immunol.*2017;8:280.
403. Rosenwald A, Wright G, Chan CW 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
404. Ross SL, Sherman M, McElroy PL et al. Bispecific T cell engager (BiTE[R]) antibody constructs can mediate bystander tumor cell killing. *PLoS One.*2017;12(8):e0183390.
405. Rothenberg EV. Transcriptional control of early T and B cell developmental choices. *Annu Rev Immunol.*2014;32:283-321.
406. Rozental A, Gafter-Gvili A, Vidal L et al. The role of maintenance therapy in patients with diffuse large B cell lymphoma: A systematic review and meta-analysis. *Hematol Oncol.*2019;37(1):27-34.
407. Ruppert AS, Dixon JG, Salles G et al. International prognostic indices in diffuse large B-cell lymphoma: a comparison of IPI, R-IPI, and NCCN-IPI. *Blood.* 2020; 135(23): 2041-2048.

408. Rusakiewicz S, Semeraro M, Sarabi M et al. Immune infiltrates are prognostic factors in localized gastrointestinal stromal tumors. *Cancer Res.* 2013;73(12):3499–510.
409. Safa AR. c-FLIP, a master anti-apoptotic regulator. *Exp. Oncol.* 2012; 34: 176–184.
410. Salles G, Duell J, González Barca E et al. Tafasitamab plus lenalidomide in relapsed or refractory diffuse large B-cell lymphoma (L-MIND): a multicentre, prospective, single-arm, phase 2 study. *Lancet Oncol.* 2020;21(7):978–988.
411. Sang W, Shi M, Yang J et al. Combination of antiCD19 and anti-CD20 chimeric antigen receptor T cells for relapsed and refractory difuse larger B cell lymphoma: an open-label, single-arm, Phase I/II Trial. *Blood.* 2019;134(1):1590.
412. Sauter CS, Matasar MJ, Schoder H et al. A phase 1 study of ibrutinib in combination with R-ICE in patients with relapsed or primary refractory DLBCL. *Blood.* 2018;131(16):1805–8.
413. Schmitz N, Nickelsen M, Ziepert M et al. Conventional chemotherapy (CHOEP-14) with rituximab or high-dose chemotherapy (MegaCHOEP) with rituximab for young, high-risk patients with aggressive B-cell lymphoma: an open-label, randomised, phase 3 trial (DSHNHL 2002–1). *Lancet Oncol.* 2012;13(12):1250–1259.
414. Schuetz JM, Johnson NA, Morin RD et al. BCL2 mutations in diffuse large B-cell lymphoma. *Leukemia.* 2012; 26: 1383–1390.
415. Schuster SJ, Tam CS, Borchmann P et al. Long-term clinical outcomes of tisagenlecleucel in patients with relapsed orrefractory aggressive B-cell lymphomas(JULIET): a multicentre, open-label, singlearm, phase 2 study. *Lancet Oncol* 2021;22:1403-15.
416. Schuster SJ, Bartlett NL, Assouline S et al. Mosunetuzumab induces complete remissions in poor prognosis non-Hodgkin lymphoma patients, including those who are resistant to or relapsing after chimeric antigen receptor T-cell (CAR-T) therapies, and is active in treatment through multiple lines. *Blood.* 2019;134 (1):6–6.
417. Schuster SJ, Bishop MR, Tam CS et al. Tisagenlecleucel in adult relapsed or refractory diffuse large B-cell lymphoma. *N Engl J Med.* 2019;380(1):45–56.
418. Scott DW, King RL, Staiger AM et al. High-grade B-cell lymphoma with. *Blood* 2018;131:2060-4.
419. Scott DW, Mottok A, Ennishi D et al. Prognostic significance of diffuse large B-cell lymphoma cell of origin determined by digital gene expression in formalin-fixed paraffin-embedded tissue biopsies.*J Clin Oncol.* 2015;33(26):2848–2856.
420. Searle CJ, Brock IW, Cross SS et al. A BCL2 promoter polymorphism rs2279115 is not associated with BCL2 protein expression or patient survival in breast cancer patients.*Springerplus.*2012;1:1–8.
421. Sehn LH and Gascoyne RD.Diffuse large B-cell lymphoma:optimizing outcome in the context of clinical and biologic heterogeneity.*Blood.*2015;125(1):22-32.
422. Sehn LH. Chemotherapy alone for localized diffuse large B-cell lymphoma.*Cancer Journal.* 2012;18(5):421-426.
423. Sehn LH, Martelli M, Trněný M et al. A randomized, open-label, phase III study of obinutuzumab or rituximab plus CHOP in patients with previously

- untreated diffuse large B-cell lymphoma: final analysis of GOYA. *J Hematol Oncol.* 2020;13(1):71.
424. Sehn LH, Herrera AF, Flowers CR et al. Polatuzumab Vedotin in relapsed or refractory diffuse large B-cell lymphoma. *J Clin Oncol.* 2020;38(2):155–165.
425. Senapati J, Devasia AJ, David S et al. Diffuse large B cell lymphoma in wiskott-Aldrich syndrome: a case report and review of literature. *Indian J Hematol Blood Transfus.* 2014;30 (1):309-313.
426. Sergentanis TS, Psaltopoulou T, Ntanasis-Stathopoulos I et al. Consumption of fruits, vegetables, and risk of hematological malignancies: a systematic review and meta-analysis of prospective studies. *Leuk Lymphoma.*2018;59(2):434-447.
427. Shah HJ, Keraliya AR, Jagannathan JP et al. Diffuse large Bcell lymphoma in the era of precision oncology: How imaging is helpful. *Korean Journal of Radiology.*2017;18(1):54-70.
428. Shang W, Shu MM, Liu M et al. Elevated expressions of p53, CDKNA1, and Bax in placental villi from patients with recurrent spontaneous abortion. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2013; 17:3376–80.
429. Sheikh S and Kuruvilla J. Pembrolizumab for the treatment of difuse large B-cell lymphoma. *Expert Opin Biol Therapy.* 2019;19(11):1119–26.
430. Shim D, Duan L and Maki CG. P53-regulated Autophagy and its Impact on Drug Resistance and Cell Fate. *Cdr.* 2021; 4:85–95.
431. Shimizu S, Tanaka Y, Tazawa H et al. Fc- gamma receptor polymorphisms predispose patients to infectious complications after liver transplantation. *Am J Transplant.*2016;16:625.
432. Shipp A. Predictive Model for Aggressive Non-Hodgkin's Lymphoma. *N Engl J Med.* 1993; 329:987-994.
433. Sia D, Villanueva A, Friedman SL et al. Liver cancer cell of origin, molecular class, and effects on patient prognosis. *Gastroenterology.*2017;152(4):745.
434. Siddiqui WA, Ahad A and Ahsan H. The mystery of BCL-2 family: BCL-2 proteins and apoptosis: an update. *Arch Toxicol.*2015; 89(3):289–317.
435. Slaney CY, Wang P, Darcy PK and Kershaw MH. CARs versus BiTEs: a comparison between T cellredirection strategies for cancer treatment. *Cancer Discov.* 2018;8(8):924–934.
436. Smith SD, Till BG, Shadman MS et al. Pembrolizumab with R-CHOP in previously untreated difuse large B-cell lymphoma: potential for biomarker driven therapy. *Br J Haematol.*2020; 189(6):1119–26.
437. Słomiński B, Skrzypkowska M, Ryba-Stanisławowska M et al. Associations of TP53 codon 72 polymorphism with complications and comorbidities in patients with type 1 diabetes. *Journal of Molecular Medicine.* 2021; 99:675–683.
438. Solimini AG, Lombardi AM, Palazzo C et al. Meat intake and non-Hodgkin lymphoma: a meta-analysis of observational studies. *Cancer Causes Control.*2016;27(5):595-606.
439. Soussi T, Kato S, Levy P and Ishioka C. Reassessment of the TP53 mutation database in human disease by data mining with a library of TP53 missense mutations. *Hum Mutat.*2005;25:6-17.
440. Spear P, Barber A, Rynda-Apple A and Sentman CL. Chimeric antigen receptor T cells shape myeloid cell function within the tumor microenvironment through IFN-gamma and GM-CSF. *J Immunol.* 2012;188(12):6389–6398.

441. Stefaniuk P, Szymczyk A and Podhorecka M. The Neutrophil to Lymphocyte and Lymphocyte to Monocyte Ratios as New Prognostic Factors in Hematological Malignancies - A Narrative Review. *Cancer Manag Res.* 2020;12:2961-2977.
442. Stephens DM, Li H, LeBlanc ML et al. Continued Risk of Relapse Independent of Treatment Modality in Limited-Stage Diffuse Large B-Cell Lymphoma: Final and Long-Term Analysis of Southwest Oncology Group Study S8736. *Journal of Clinical Oncology.* 2016; 34(25): 2997-3004.
443. Steven Le Gouill, Herve Ghesquieres, Lucie Oberic et al. Obinutuzumab vs rituximab for advanced DLBCL: a PET-guided and randomized phase 3 study by LYSA. *Blood.* 2021; 137(17):2307-2320.
444. Storey A, Thomas M, Kalita A et al. Role of a p53 polymorphism in the development of human papillomavirus-associated cancer. *Nature.* 1998;393(6682):229–34.
445. Suerken CK, D'Agostino RB Jr, Jordan JH et al. Simultaneous Left Ventricular Volume and Strain Changes During Chemotherapy Associate With 2-Year Postchemotherapy Measures of Left Ventricular Ejection Fraction. *J Am Heart Assoc.* 2020;9:e015400.
446. Subburayan K, Thayyullathil F, Pallichankandy S et al. Par-4-dependent P53 Up-Regulation Plays a Critical Role in Thymoquinone-Induced Cellular Senescence in Human Malignant Glioma Cells. *Cancer Lett.* 2018; 426: 80–97.
447. Sukswai N, Lyapichev K, Khoury JD and Medeiros LJ. Diffuse large B-cell lymphoma variants: an update. *Pathology.* 2020;52(1):53-67.
448. Sun Zh, Gao W and Cui GT. Effect of TP53 rs1042522 on the susceptibility of patients to oral squamous cell carcinoma and oral leukoplakia: a meta-analysis. *BMC Oral Health.* 2018; 18(1):143.
449. Susanibar-Adaniya S and Barta SK. 2021 Update on Diffuse large B cell lymphoma: A review of current data and potential applications on risk stratification and management. *Am J Hematol.* 2021;96(5):617-629.
450. Svoboda J, Bair SM, Landsburg DJ et al. Brentuximab vedotin in combination with rituximab, cyclophosphamide, doxorubicin, and prednisone as frontline treatment for patients with CD30-positive B-cell lymphomas. *Haematologica.* 2021;106(6):1705-1713.
451. Swerdlow SH, Campo E, Pileri SA et al. The 2016 revision of the World Health Organization classification of lymphoid neoplasms. *Blood.* 2016;127(20):2375-2390.
452. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL et al (Eds): WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and lymphoid Tissues. IARC: Lyon 2008.
453. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL et al WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues, revised 4th edition. International Agency for Research on Cancer (IARC). 2017.
454. Syed YA, Jiang C, Switchenko J et al. Improved Progression-Free Survival for Bulky and Non-Bulky Advanced Stage Diffuse Large B-Cell Lymphoma With Consolidative Radiation Therapy: A Bi-Institutional Analysis. *Cureus.* 2021;13(8):e17107.
455. Tamargo-Gómez I, Fernández ÁF, Mariño G et al. Pathogenic single nucleotide polymorphisms on autophagy-related genes. *Int. J. Mol. Sci.* 2020;21: 8196.
456. Tanaka S, Nagashima H, Uotani T et al. Autophagy-related genes in *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter.* 2017; 22: 1–10.

457. Tang YL, Zhou Y, Cheng LL et al. BCL2/Ki-67 index predict survival in germinal center B-cell-like diffuse large B-cell lymphoma. *Oncology letters*. 2017; 14:3767-73.
458. Tasdemir E, Galluzzi L, Maiuri MC et al. Methods for assessing autophagy and autophagic cell death. *Methods in Molecular Biology*. 2008; 445:29-76.
459. Tessier-Cloutier B, Twa DD, Baecklund E et al. Cell of origin in diffuse large B-cell lymphoma in systemic lupus erythematosus: molecular and clinical factors associated with survival. *Lupus Sci Med*. 2019;6(1):e000324.
460. Testoni M, Zucca E, Young KH and Bertoni F. Genetic lesions in diffuse large B-cell lymphomas. *Ann Oncol*. 2015;26(6):1069-1080.
461. Thakral B, Medeiros LJ, Desai P et al. Prognostic impact of CD5 expression in diffuse large B-cell lymphoma in patients treated with rituximab-EPOCH. *Eur J Haematol*. 2017;98:415-21.
462. Thieblemont C, Howlett S, Casasnovas RO et al. Lenalidomide maintenance for diffuse large B-cell lymphoma patients responding to R-CHOP: quality of life, dosing, and safety results from the randomised controlled REMARC study. *Br J Haem*. 2020;189(1):84-96.
463. Thieblemont C, Briere J, Mounier N et al. The Germinal Center/Activated B-Cell Subclassification Has a Prognostic Impact for Response to Salvage Therapy in Relapsed/Refractory Diffuse Large B-Cell Lymphoma: A BIO-CORAL Study. *J Clin Oncol*. 2011;29:4079-4087.
464. Thierry P, Cesare G, Anton H et al. Autologous bone marrow transplantation as compared with salvage chemotherapy in relapses of chemotherapy-sensitive non-Hodgkin's lymphoma. *N Engl J Med*. 1995;333:1540-1545.
465. Tian X, Dai S, Sun J et al. The association between the TP53 Arg72Pro polymorphism and colorectal cancer: An updated meta-analysis based on 32 studies. *Oncotarget*. 2017; 8(1): 1156–1165.
466. Tilly H, Gomes da Silva M, Vitolo U et al. ESMO Guidelines Committee. Diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL): ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol*. 2015;26(5):v116.
467. Tilly H, Morschhauser F, Bartlett NL et al. Polatuzumab vedotin in combination with immunochemotherapy in patients with previously untreated diffuse large B-cell lymphoma: an open-label, non-randomised, phase 1b–2 study. *Lancet Oncol*. 2019;20(7):998–1010.
468. Tilly H, Flowers C, Friedberg JW et al. POLARIX: a phase 3 study of polatuzumab vedotin (pola) plus R-CHP versus R-CHOP in patients (pts) with untreated DLBCL. *J Clin Oncol*. 2019;37(15):7571.
469. Thomas M, Kalita A, Labrecque S et al. Two polymorphic variants of wild-type p53 differ biochemically and biologically. *MMol Cell Biol*. 1999;19:1092–100.
470. Toledo F, Lee CJ, Krummel KA et al. Mouse Mutants Reveal that Putative Protein Interaction Sites in the p53 Proline-Rich Domain Are Dispensable for Tumor Suppression. *Mol. Cell. Biol*. 2007; 27(4): 1425–1432.
471. Tomioka H, Kaneoya A, Mochizuki Y and Harada H. Primary Diffuse Large B-cell Lymphoma Arising in the Tongue Accompanied by Ataxia-telangiectasia: A Case Report. *J Clin Diagn Res*. 2015;9(6):25-27.
472. Trimcev J, Cikota-Aleksic, Tukic Lj et al. Association of FCGR2A and FCGR3A gene polymorphisms with clinical characteristics and course of diffuse large B-cell lymphoma. *EUR. J. ONCOL*. 2013;18 (3): 121-128.

473. Tripon F, Iancu M, Trifa A et al. Association Analysis of TP53 rs1042522, MDM2 rs2279744, rs3730485, MDM4 rs4245739 Variants and Acute Myeloid Leukemia Susceptibility, Risk Stratification Scores, and Clinical Features: An Exploratory Study. *J Clin Med*. 2020; 9(6): 1672.
474. Tsujimoto Y, Gorham J, Cossman J et al. The t(14;18) chromosome translocations involved in B-cell neoplasms result from mistakes in VDJ joining. *Science*.1985;229(4720):1390–3.
475. Uddin MS, Rahman MA, Kabir MT et al. Multifarious Roles of mTOR signaling in Cognitive Aging and Cerebrovascular Dysfunction of Alzheimer's Disease. *J Alz Dis*.2020;72 (9):1843–1855.
476. Van Heertum RL, Scarimbolo R, Wolodzko JG et al. Lugano 2014 criteria for assessing FDG-PET/CT in lymphoma: an operational approach for clinical trials. *Drug Des Devel Ther*. 2017;11:1719-1728.
477. van Imhoff GW, McMillan A, Matasar J et al. Ofatumumab Versus Rituximab Salvage Chemoimmunotherapy in Relapsed or Refractory Diffuse Large B-Cell Lymphoma: The ORCHARRD Study. *J Clin Oncol*.2017; 35(5):544-551.
478. van Imhoff GW, Boerma EJ, van der Holt B et al. Prognostic Impact of Germinal Center-Associated Proteins and Chromosomal Breakpoints in poor-Risk Diffuse Large B-Cell Lymphoma. *J Clin Oncol*.2006;24(25):4135-42.
479. Vargo JA, Gill BS, Balasubramani GK et al: Treatment selection and survival outcomes in early stage diffuse large B-cell lymphoma: Do we still need consolidative radiotherapy? *Journal of Clinical Oncology*. 2015;33(32):3710-371.
480. Váróczy L, Zilahi E, Gyetvai A et al. Fc-gamma-receptor IIIa polymorphism and gene expression profile do not predict the prognosis in diffuse large B-cell lymphoma treated with R-CHOP protocol. *Pathol Oncol Res*. 2012;18(1):43–8.
481. Vaux DL, Cory S and Adams JM. Bcl-2 gene promotes haemopoietic cell survival and cooperates with c-myc to immortalize pre-B cells. *Nature*.1988;335:440.
482. Vercellino L, di Blasi R, Kanoun S et al. Predictive factors of early progression after CAR T-cell therapy in relapsed/refractory diffuse large B-cell lymphoma. *Blood Adv*. 2020; 4(22): 5607–5615.
483. Vigato-Ferreira IC, Toller-Kawahisa JE, Pancoto JA et al. FcγRIIa and FcγRIIIb polymorphisms and associations with clinical manifestations in systemic lupus erythematosus patients. *Autoimmunity*.2014; 47:451–8.
484. Vogelstein B and Kinzler KW. p53 function and dysfunction. *Cell* 1992; 70:523-5.
485. Voropaeva EN, Pospelova TI, Voevoda MI and Beresina OV. The role of p53 polymorphisms in non-Hodgkin's lymphomas' susceptibility and prognosis. *Cellular Therapy and Transplantation (CTT)*. 2009; 2(5): e66.
486. Vose JM, Carter S, Burns LJ et al. Phase III randomized study of rituximab/carmustine, etoposide, cytarabine, and melphalan (BEAM) compared with iodine-131 tositumomab/BEAM with autologous hematopoietic cell transplantation for relapsed diffuse large B-cell lymphoma: results from the BMT CTN 0401 trial. *J Clin Oncol*. 2013;31(13):1662-1668.
487. Walsh TG, Metharom P and Berndt MC. The functional role of platelets in the regulation of angiogenesis. *Platelets*. 2015;26(3):199–211.
488. Wang JF, Mei ZG, Fu Y et al. Puerarin protects rat brain against ischemia/reperfusion injury by suppressing autophagy via the

- AMPK-mTOR-ULK1 signaling pathway. *Neural Regen Res.*2018; 13:989-998.
489. Wang J, Zhou X, Liu Y et al. Prognostic significance of neutrophil-to-lymphocyte ratio in diffuse large B-cell lymphoma: a meta-analysis. *PLoS One.* 2017;12(4):e0176008.
490. Wang L and Li LR. R-CHOP resistance in diffuse large B-cell lymphoma: biological and molecular mechanisms. *Chin Med J (Engl).* 2020;134(3):253-260.
491. Wang L, Li LR and Young KH. New agents and regimens for diffuse large B cell lymphoma. *J Hematol Oncol.* 2020;13(1):175.
492. Wang M, Zhao J, Zhang L et al. Role of tumor microenvironment in tumorigenesis. *J Cancer.* 2017;8(5):761–773.
493. Wang S, Ma Y, Sun L et al. Prognostic significance of pretreatment neutrophil/lymphocyte ratio and platelet/lymphocyte ratio in patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Biomed Res Int.* 2018;2018:9651254.
494. Wang W, Erbe AK, Hank JA et al. NK Cell-Mediated Antibody-Dependent Cellular Cytotoxicity in Cancer Immunotherapy. *Front. Immunol.* 2015;6:368.
495. Wang WL, Tao YP, Han XL et al. Role of polymorphisms in BCL-2 and BAX genes in modulating the risk of developing non-Hodgkin lymphoma. *Leuk Lymph.*2014;55:1602–1608.
496. Wang Z, Zhang J, Luo S and Zhao X. Prognostic Significance of Systemic Immune-Inflammation Index in Patients With Diffuse Large B-Cell Lymphoma. *Front. Oncol.*2021;11:655259.
497. Watanabe R, Tomita N, Itabashi M et al. Peripheral blood absolute lymphocyte/ monocyte ratio as a useful prognostic factor in diffuse large B-cell lymphoma in the rituximab era. *European Journal of Haematology.* 2014;92(3):204-210.
498. Weng Y, Lu L, Yuan G et al. p53 codon 72 polymorphism and Hematological Cancer Risk: An Update Meta-Analysis. *PloS ONE.*2012;7(9):e45820.
499. Whibley C, Pharoah PD and Hollstein M. p53 polymorphisms: cancer implications. *Nat Rev Cancer.*2009;9(2):95-107.
500. White KA, Luo L, Thompson TA et al. GEM Study Group, Variants in autophagy-related genes and clinical characteristics in melanoma: a population-based study. *Cancer Med.*2016;5:3336–3345.
501. 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.
502. Wirth A, Prince HM, Wolf M et al. Optimal scheduling to reduce morbidity of involved field radiotherapy with transplantation for lymphomas: A prospective Australasian Leukaemia and lymphoma group study. *Bone Marrow Transplant.* 2005;35:291-298.
503. Wisetsathorn S, Tantithavorn V, Hirankarn N et al. Gene polymorphisms of autophagy machinery and the risk of hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma in a Thai population. *Scienceasia.* 2017;43:362–368.
504. Wojtukiewicz MZ, Sierko E, Hempel D et al. Platelets and cancer angiogenesis nexus. *Cancer Metastasis Rev.*2017;36(2):249–62.
505. Wu B, Guo D and Guo Y. Association between p53 Arg72Pro polymorphism and thyroid cancer risk: a meta-analysis. *Tumor Biol.* 2014; 35:561–565.

506. Wu J, Miao Y, Qian C et al. Clinical characteristics and outcomes in HIV-associated diffuse large B-cell lymphoma in China: A retrospective single-center study. *J Cancer*.2021; 12(10):2903-2911.
507. Xi H, Wang S, Wang B et al. The role of interaction between autophagy and apoptosis in tumorigenesis (Review). *Oncol Rep*.2022;48(6):208.
508. Xia HZ, Du WD, Wu Q et al. E-selectin rs5361 and FCGR2A rs1801274 variants were associated with increased risk of gastric cancer in a Chinese population. *Mol Carcinog*. 2012;51:597–607.
509. Xia WK, Lin QF, Shen D et al. Prognostic significance of lymphocyte-to-monocyte ratio in diffuse large B-cell lymphoma: a systematic review and meta-analysis. *FEBS Open Bio*. 2016; 6: 558-65.
510. Xin Y, Jiang F, Yang C et al. Role of autophagy in regulating the radiosensitivity of tumor cells. *J. Cancer Res. Clin. Oncol*. 2017;143:2147–2157.
511. Xiu-Monette ZY, Medeiros LJ, Li Y et al. Dysfunction of the TP53 tumor suppressor gene in lymphoid malignancies. *Blood* 2012; 119(16):3668-83.
512. Xu B, Xu Z, Cheng G et al. Association between polymorphisms of TP53 and MDM2 and prostate cancer risk in southern Chinese. *Cancer Genet Cytogenet*.2010;202:76–81.
513. Xu-Monette ZY, Tu M, Jabbar KJ et al. Clinical and biological significance of de novo CD5+diffuse large B-cell lymphoma in Western countries. *Oncotarget*.2015;6:5615-33.
514. Yahalom J. Radiation Therapy after R-CHOP for Diffuse Large B-Cell Lymphoma: The Gain Remains. *Journal of Clinical Oncology*.2010;28(27):4105-4107.
515. Yang Y and Klionsky DJ. Autophagy and disease: unanswered questions. *Cell Death Differ*. 2020;27(3):858-871.
516. Yang Z and Liu Z. Potentially functional variants of autophagy-related genes are associated with the efficacy and toxicity of radiotherapy in patients with nasopharyngeal carcinoma. *Mol. Genet. Genom. Med*. 2019;7: e1030.
517. Yao Z, Yang B, Liu Z et al. Genetic polymorphisms of Bcl-2 promoter in cancer susceptibility and prognosis: a meta-analysis. *Oncotarget*. 2017;8(15):25270-25278.
518. Younes A, Sehn LH, Johnson P et al. Randomized phase III trial of Ibrutinib and rituximab plus cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone in non-germinal center B-cell diffuse large B-cell lymphoma. *J Clin Oncol*. 2019;37(15):1285–1295.
519. Young RL and Korsmeyer SJ. A negative regulatory element in the bcl-2 5'-untranslated region inhibits expression from an upstream promoter. *Mol Cell Biol*. 1993;13:3686-97.
520. Yu L, Chen Y and Tooze SA. Autophagy pathway: Cellular and molecular mechanisms. *Molecular Cell Biology of Autophagy*.2018;14: 207–215.
521. Yu M, Zhang Q and Zhao X. Associations of MDM2 rs2279744 and TP53 rs1042522 polymorphisms with cervical cancer risk: A meta-analysis and systematic review. *Front Oncol*. 2022;12:973077.
522. Yu Y and Sun B. Autophagy-mediated regulation of neutrophils and clinical applications. *Burns Trauma*.2020;8:tkz001.

523. Yuan J, Zhang N, Yin L et al. Clinical Implications of the Autophagy Core Gene Variations in Advanced Lung Adenocarcinoma Treated with Gefitinib. *Sci. Rep.* 2017;7: 1–10.
524. Yu-Fen T, Yi-Chang L, Ching-I Y et al. Poor Prognosis of Diffuse Large B-Cell Lymphoma with Hepatitis C Infection. *J. Pers. Med.* 2021; 11(9): 844.
525. Zahid U, Akbar F, Amaraneni A et al. A Review of Autologous Stem Cell Transplantation in Lymphoma. *Curr Hematol Malig Rep.* 2017;12(3):217-226.
526. Zarogoulidis P, Petanidis S, Domvri K et al. Autophagy inhibition upregulates CD4+ tumor infiltrating lymphocyte expression via miR-155 regulation and TRAIL activation. *Mol. Oncol.* 2016;10:1516–1531.
527. Zawam H, Ibrahim NE, Salam R et al. Impact of Genetic Polymorphism of MYD88, EZH2, and BCL2L11 in Patients with DLBCL Treated with R-CHOP Regimen. *Open Access Maced J Med Sci.* 2021; 9(A):98-105.
528. Zenz T, Kreuz M, Fuge M et al. German highgrade non-hodgkin lymphoma study group (DSHNHL), TP53 mutation and survival in aggressive B cell lymphoma. *Int. J. Cancer.* 2017;141:1381–1388.
529. Zelenetz AD, Abramson JS, Advani RH et al: NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology: NonHodgkin's lymphomas. *Journal National Comprehensive Cancer Network.* 2010; 8(3):288-334.
530. Zelenetz AD, Salles G, Mason KD et al. Venetoclax plus R- or G-CHOP in non-Hodgkin lymphoma: results from the CAVALLI phase 1b trial. *Blood.* 2019;133(18):1964–76.
531. Zenz T, Kreuz M, Fuge M et al. TP53 mutation and survival in aggressive B cell lymphoma. *Int J Cancer.* 2017;141(7):1381–1388.
532. Zha Y, Gan P, Liu Q and Yao Q. T53 codon 72 Polymorphism Predicts Efficacy of Paclitaxel Plus Capecitabine Chemotherapy in Advanced Gastric Cancer Patients. *Arch Med Res.* 2016;47:13-8.
533. Zhang L, Wang Y, Qin Z et al. TP53 codon 72 Polymorphism and bladder cancer risk: a meta-analysis and emphasis on the role of tumor or smoking status. *Journal of Cancer.* 2018;9 (19): 3522-3531.
534. Zhang N, Li X, Tao K et al. BCL-2 (-938C>A) polymorphism is associated with breast cancer susceptibility. *BMC Med Genet.* 2011; 12:1–7.
535. Zhang W, Wang X, Li J et al. Fcγ receptor IIIA polymorphisms and efficacy of rituximab therapy on Chinese diffuse large B-cell lymphoma. *Chin Med J (Engl).* 2010; 123(2):198–202.
536. Zhang WJ, Guo SL, Yin G et al. Association between TP53 polymorphisms and chronic lymphocytic leukemia. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2020; 24(23):12073-12079.
537. Zhang X, Weng W, Xu W et al. Role of Bcl-2 -938 C > A polymorphism in susceptibility and prognosis of cancer: a meta-analysis. *SCIENTIFIC REPORTS.* 2014; 4:7241.
538. Zhang Y, Zhang D, Zhao L et al. Association between p53 Arg72Pro polymorphism and colorectal cancer risk in Asian population: a meta-analysis. *Curr.Probl.Cancer.* 2018;42:582-592.
539. Zhao P, Zang L, Zhang X et al. Novel prognostic scoring system for diffuse large B-cell lymphoma. *Oncol Lett.* 2018;15(4):5325-5332.
540. Zheng H, Ji C, Li J et al. Cloning and analysis of human Apg16L. *DNA Seq.* 2004; 15:303–305.
541. Zhou S, Xu L, Ma Y et al. Peripheral blood lymphocyte to monocyte ratio recovery from low levels at diagnosis after completion of first line therapy

- predicts good clinical outcomes in patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Oncotarget*.2017;8:19556–19565.
542. Zhou X, He YZ, Liu D et al. An Autophagy-Related Gene Signature can Better Predict Prognosis and Resistance in Diffuse Large B-Cell Lymphoma. *Front Genet*. 2022;13:862179.
543. 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):837-842.
544. Zhou X, Ma T, Zhang Y et al. Rituximab maintenance therapy for patients with diffuse large B-cell lymphoma:A meta-analysis.*PloS ONE*.2017;12(3):e0174648.
545. Zhu G, Pan C, Bei JX et al. Mutant p53 in Cancer Progression and Targeted Therapies. *Front. Oncol*.2020;10:2020
546. Zhu XW, Wang Y, Wei YH et al. Comprehensive assessment of the association between FCGRs polymorphisms and the risk of systemic lupus erythematosus: evidence from a meta-analysis. *Sci Rep*.2016; 6:31617.
547. Zinzani PL, Pellegrini C, Argnani L and Broccoli A. Prolonged diseasefree survival in elderly relapsed difuse large B-cell lymphoma patients treated with lenalidomide plus rituximab. *Haematologica*. 2016;101(9):e385–6.
548. Zoric A, Horvat A, Balija M and Slade N. The Arg72Pro Polymorphism of TP53 in Croatia Population. *Croatica Chemica Acta*.2012; 86(2): 239-243.

VIII БИОГРАФИЈА КАНДИДАТА

Др Анђелина Живановић рођена је 05.09.1973. године у Пожаревцу. Основну школу завршила је у Жагубици и гимназију у Пожаревцу са одличним успехом. На Медицинском факултету Универзитета у Београду дипломирала је 1999. године са просечном оценом 8,74 и стекла звање доктора медицине. Након завршених студија обавила је обавезан приправнички стаж у КБЦ „Бежанијска коса“ у Београду. Положила стручни испит 2001. године. Радила је као лекар опште праксе у ДЗ у Земуну током шест месеци, 2001. године. Специјалистичке академске студије из области Интерна медицина је завршила на Медицинском факултету Војномедицинске академије Универзитета одбране у Београду, 2007. године са одличним успехом. Од 2008. до 2021. године радила је у Клиници за хематологију Војномедицинске академије у Београду као специјалиста Интерне медицине. Субспецијалистичке студије из хематологије је завршила 2018. са одличним успехом на Медицинском факултету Војномедицинске академије Универзитета одбране у Београду. Академске докторске студије из клиничке и експерименталне интерне медицине, смер хематологија, уписала је на Факултету медицинских наука Универзитета у Крагујевцу 2012. године. Положила је усмени докторски испит 2016. године са оценом 8. Од 2021. стално је запослена на Интерном одељењу опште болнице Medigroup. Мајка двојице синова.

IX БИБЛИОГРАФИЈА

1. **Živanović A**, Stamatović D, Strelčić N, Magić Z, Tarabar O, Miljanović O, Mišović M, Đukić S, Cikota-Aleksić B. Association of ATG16L1 rs2241880 and TP53 rs1042522 with characteristics and course of diffuse large B-cell lymphoma. Pathology - Research and Practice.2022;237:154033.
2. **Živanović-Ivić A**, Atanasković L, Elez M, Radić-Tasić O, Balint B, Stamatović D. Uticaj faktora prognoze na ukupno preživljavanje bolesnika sa Bense Jones multiplim mijelomom-naše iskustvo. Medicinski pregled 2017; supplement 1: S51-61.
3. Atanasković L, Tarabar O, Magić Z, Stamatović D, **Živanović A**, Marjanović S, Cikota-Aleksić B. Association of CD14 -159 Gene Polymorphism with Characteristics and Outcome of Diffuse Large B-cell Lymphomas.International Journal of Hematology and Oncology 2018;28: 1-7.
4. Atanasković L, Cikota-Aleksić B, Tarabar O, Trimčev J, **Živanović-Ivić A**, Marjanović S, Magić Z. Clinical implications of glutathione S-transferase genotyping in patients with diffuse large B-cell lymphoma. J BUON 2016; 21(6):1459-1465.

ПРИЛОЗИ

Образац 1

ИЗЈАВА АУТОРА О ОРИГИНАЛНОСТИ ДОКТОРСKE ДИСЕРТАЦИЈЕ

Изјављујем да докторска дисертација под насловом:

АНАЛИЗА ПОВЕЗАНОСТИ ПОЛИМОРФИЗАМА ГЕНА ЗА BCL2, TP53, FCGR3A, FCGR2A И ATG16L1 СА КЛИНИЧКИМ КАРАКТЕРИСТИКАМА, ТОКОМ И ИСХОДОМ ЛЕЧЕЊА БОЛЕСНИКА СА ДИФУЗНИМ Б ЛИМФОМОМ ВЕЛИКИХ ЋЕЛИЈА

представља *оригинално ауторско дело* настало као резултат *сопственог истраживачког рада*.

Овом Изјавом такође потврђујем:

- да сам *једини аутор* наведене докторске дисертације,
- да у наведеној докторској дисертацији *нисам извршио/ла повреду* ауторског нити другог права интелектуалне својине других лица,

У Крагујевцу, април 2023. године,


потпис аутора

Образац 2

**ИЗЈАВА АУТОРА О ИСТОВЕТНОСТИ ШТАМПАНЕ И ЕЛЕКТРОНСКЕ ВЕРЗИЈЕ
ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ**

Изјављујем да су штампана и електронска верзија докторске дисертације под насловом:

АНАЛИЗА ПОВЕЗАНОСТИ ПОЛИМОРФИЗАМА ГЕНА ЗА BCL2, TP53, FCGR3A,
FCGR2A И ATG16L1 СА КЛИНИЧКИМ КАРАКТЕРИСТИКАМА, ТОКОМ И
ИСХОДОМ ЛЕЧЕЊА БОЛЕСНИКА СА ДИФУЗНИМ Б ЛИМФОМОМ ВЕЛИКИХ

ЋЕЛИЈА

истоветне.

У Крагујевцу, април 2023. године,



потпис аутора

ИЗЈАВА АУТОРА О ИСКОРИШЋАВАЊУ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Ја, АНЂЕЛИНА ЖИВАНОВИЋ

дозвољавам

не дозвољавам

Универзитетској библиотеци у Крагујевцу да начини два трајна умножена примерка у електронској форми докторске дисертације под насловом:

АНАЛИЗА ПОВЕЗАНОСТИ ПОЛИМОРФИЗАМА ГЕНА ЗА BCL2, TP53, FCGR3A, FCGR2A И ATG16L1 СА КЛИНИЧКИМ КАРАКТЕРИСТИКАМА, ТОКОМ И ИСХОДОМ ЛЕЧЕЊА БОЛЕСНИКА СА ДИФУЗНИМ Б ЛИМФОМОМ ВЕЛИКИХ

ЋЕЛИЈА

и то у целини, као и да по један примерак тако умножене докторске дисертације учини трајно доступним јавности путем дигиталног репозиторијума Универзитета у Крагујевцу и централног репозиторијума надлежног министарства, тако да припадници јавности могу начинити трајне умножене примерке у електронској форми наведене докторске дисертације путем *преузимања*.

Овом Изјавом такође

дозвољавам

не дозвољавам¹

¹ Уколико аутор изабере да не дозволи припадницима јавности да тако доступну докторску дисертацију користе под условима утврђеним једном од *Creative Commons* лиценци, то не искључује право припадника јавности да наведену докторску дисертацију користе у складу са одредбама Закона о ауторском и сродним правима.

припадницима јавности да тако доступну докторску дисертацију користе под условима утврђеним једном од следећих *Creative Commons* лиценци:

- 1) Ауторство
- 2) Ауторство - делити под истим условима
- 3) Ауторство - без прерада
- 4) Ауторство - некомерцијално
- 5) Ауторство - некомерцијално - делити под истим условима
- 6) Ауторство - некомерцијално - без прерада²

У Крагујевцу, април 2023. године,



потпис аутора

² Молимо ауторе који су изабрали да дозволе припадницима јавности да тако доступну докторску дисертацију користе под условима утврђеним једном од *Creative Commons* лиценци да заокруже једну од понуђених лиценци. Детаљан садржај наведених лиценци доступан је на: [http://creativecommons.org/rs/](http://creativecommons.org.rs/)