

Onkogenne zaburzenia molekularne w podtypach chłoniaków rozlanych z dużych komórek B

Molecular oncogenic defects in subtypes of diffuse large B-cell lymphoma

Marta Bielska¹, Ewa Lech-Marańda^{2, 3}, Agata Pastorczak¹, Wojciech Młynarski¹

¹Klinika Pediatrii, Onkologii, Hematologii i Diabetologii, Uniwersytet Medyczny, Łódź

²Klinika Hematologii, Instytut Hematologii i Transfuzjologii, Warszawa

³Klinika Hematologii i Transfuzjologii, Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego, Warszawa

Streszczenie

Chłoniaki rozlane z dużych komórek B (DLBCL), charakteryzujące się niekontrolowanym wzrostem dojrzałych, obwodowych limfocytów B, to grupa chorób heterogennych, zarówno pod względem morfologicznym, biologicznym, jak i klinicznym. Podstawę podziału DLBCL na poszczególne podgrupy stanowi lokalizacja nowotworu, jego histopatologia, immunofenotyp, etiologia oraz podobieństwo do innych chorób układu chłonnego. W niniejszej pracy zaprezentowano najnowsze doniesienia dotyczące zaburzeń molekularnych identyfikowanych w poszczególnych podtypach choroby; w postaciach DLBCL wywodzących się z ośrodków rozmnażania oraz DLBCL z aktywowanych komórek B, ze szczególnym uwzględnieniem znaczenia prognostycznego tych defektów.

Słowa kluczowe: chłoniaki rozlane z dużych komórek B, zaburzenia molekularne, czynniki rokownicze

Hematologia 2013; 4, 4: 333–338

Abstract

Diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL), which is characterized by the uncontrolled growth of mature, peripheral B-cells, constitutes a group of heterogeneous diseases in terms of morphological, biological and clinical features. The classification of DLBCL based on the location of the tumor, histopathology, immunophenotype, etiology, and similarity to other diseases of the B lymphocytes. This review presents an update on the molecular abnormalities identified in the major subtypes of the disease, e.g. germinal center B-cell and activated B-cell, and their importance in context of the clinical course of disease.

Key words: diffuse large B-cell lymphoma, molecular abnormalities, prognostic factors

Hematologia 2013; 4, 4: 333–338

Wprowadzenie

Chłoniaki rozlane z dużych komórek B (DLBCL, *diffuse large B-cell lymphoma*) są jednymi z najczęstszych i najbardziej agresywnych chłonia-

ków nie-Hodgkina (NHL, *non-Hodgkin lymphoma*), związanych z niekontrolowanym podziałem zmieniowanych nowotworowo dojrzałych, obwodowych limfocytów B. Ogółem stanowią 30–40% NHL, zaś współczynnik zachorowalności na te nowo-

Adres do korespondencji: Wojciech Młynarski, Klinika Pediatrii, Onkologii, Hematologii i Diabetologii, Uniwersytet Medyczny, ul. Sporna 36/50, 91–738 Łódź, tel.: 42 617 77 69, faks: 42 617 77 72, e-mail: wojciech.mlynarski@umed.lodz.pl

twory z wiekiem się zwiększa i wynosi 2/100 000, 45/100 000 oraz 112/100 000 odpowiednio w grupach wiekowych 20–24 lata, 60–64 lata oraz 80–84 lata [1, 2]. Chłoniaki rozlane z dużych komórek B charakteryzują się heterogennością, zarówno pod względem morfologicznym, biologicznym, jak i klinicznym [3, 4]. Etiologii choroby, jak dotąd, nie wyjaśniono, wiadomo jednak, że składają się na nią czynniki infekcyjne, środowiskowe, immunologiczne, a nawet jatrogenne, często występując jednocześnie [5].

W celu prawidłowej stratyfikacji do grup ryzyka niepowodzenia terapeutycznego i optymalizacji chemioterapii opracowano skalę uwzględniającą niekorzystne czynniki rokownicze u pacjentów leczonych z powodu DLBCL, tworząc Międzynarodowy Wskaźnik Prognostyczny (IPI, *International Prognostic Index*). Do czynników tych zalicza się: wiek, aktywność dehydrogenazy mleczanowej (LDH, *lactate dehydrogenase*), stadium zaawansowania według klasyfikacji *Ann Arbor*, liczbę pozawęzłowych lokalizacji chłoniaka oraz stan ogólny chorego według skali ECOG (*Eastern Cooperative Oncology Group*). Wskaźnik ten nie uwzględnia jednak zaburzeń genetycznych — jednego z podstawowych mechanizmów patogenezy DLBCL [6].

W obecnie obowiązującej klasyfikacji DLBCL według Światowej Organizacji Zdrowia (WHO, *World Health Organization*) wyodrębniono główne jednostki histokliniczne, takie jak: chłoniak z dużych komórek B bogaty w komórki T/histiocyty (THRLCBL, *T-cell/histiocyte rich large B-cell lymphoma*), pierwotny DLBCL ośrodkowego układu nerwowego (*primary DLBCL, CNS*; *primary DLBCL central nervous system*), pierwotny skórny DLBCL typu kończynowego (PCDLBCL, *leg type*; *primary cutaneous DLBCL, leg type*), EBV-pozytywny DLBCL wieku podeszłego (*EBV + DLBCL of the elderly*), DLBCL związany z przewlekłym zapaleniem (*DLBCL associated with chronic inflammation*) oraz tak zwany DLBCL bliżej nieokreślony (NOS, *not otherwise specified*). Dodatkowo wyróżnia się odrębne warianty morfologiczne, w tym centroblastyczny, immunoblastyczny i anaplastyczny, oraz stwierdzone za pomocą badań metodami biologii molekularnej, przede wszystkim techniki mikromacierzy ekspresyjnych, dwie główne podgrupy molekularne różniące się odpowiedzią na stosowane leczenie oraz przebiegiem choroby. Są to DLBCL z komórek B ośrodków rozmnażania (GCB, *germinal center B-cell*), wywodzące się z centroblastów i wykazujące nadekspresję genu *BCL6* (*B-cell lymphoma 6*) kodującego represor

transkrypcyjny oraz DLBCL z aktywowanych komórek B (ABC, *activated B-cell*), pochodzące z plazmoblastów, wykazujące nadekspresję genów regulowanych przez czynnik jądrowy κ B (NF κ B, *nuclear factor κ B*) [6–10].

Objawy typowe dla DLBCL, takie jak limfadenopatia czy powiększenie śledziony i wątroby, mogą towarzyszyć innym chorobom lub zakażeniom, w związku z czym podstawą rozpoznania chłoniaka jest badanie histopatologiczne i jego analiza przez doświadczonego patologa. Najczęściej stosowane leczenie w chłoniakach DLBCL to chemioterapia według schematu CHOP (cyklofosfamid, doksorubicyna, winkrystyna i prednizon) w połączeniu z rytuksymabem — chimerycznym, monoklonalnym przeciwciałem IgG1 skierowanym przeciwko antygenowi CD20 [11]. Zaobserwowano, że chłoniaki GCB charakteryzują się lepszą odpowiedzią na zastosowane leczenie niż chłoniaki ABC (5-letnie przeżycie wynosi odpowiednio 62% i 26%), przy czym różnice w odpowiedzi występują zarówno u chorych leczonych immunochemioterapią, jak i samą chemioterapią [6, 8]. Włączenie rytuksymabu do leczenia DLBCL spowodowało w dużej mierze utratę właściwości prognostycznych niektórych zaburzeń genetycznych identyfikowanych w tym nowotworze. Odnosi się to szczególnie do nadekspresji genu *BCL2*, którą do momentu modyfikacji terapii uznawano za niekorzystny marker prognostyczny w chłoniakach ABC [12, 13]. Po wprowadzeniu do protokołu leczniczego rytuksymabu wartość prognostyczna tego zaburzenia okazała się istotna tylko w podtypie GCB, nie zaś w chłoniakach ABC. Uważa się, że znaczenie prognostyczne poznanych, ale rzadkich defektów genetycznych, jak również nowo poznanych zaburzeń molekularnych również będzie wymagało potwierdzenia w grupach chorych poddanych immunochemioterapii [12–14].

Dzięki rozwojowi technik biologii molekularnej, głównie technik mikromacierzy, wyodrębniono grupę genów, których somatyczne zaburzenia funkcji są związane z rokowaniem u pacjentów leczonych z powodu DLBCL. Są to głównie geny zaangażowane we wzrost, rozwój, proliferację i różnicowanie się limfocytów, geny odpowiedzialne za procesy angiogenezy i apoptozy, czynniki transkrypcyjne oraz geny wchodzące w skład szlaków sygnałowych w komórkach [15, 16]. W tabeli 1 wyszczególniono najczęściej występujące zaburzenia genetyczne w DLBCL z uwzględnieniem ich podziału na podgrupy molekularne.

Tabela 1. Zaburzenia molekularne w chłoniakach rozlanych z dużych komórek B (DLBCL)

Table 1. Molecular abnormalities in diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL)

Procesy zachodzące w komórkach DLBCL	GCB		ABC	
	Gen	Mechanizm zaburzający	Gen	Mechanizm zaburzający
Cykl komórkowy	<i>BCL6</i>	t(3;...), SHM	<i>MYC</i> <i>INK4a/ARF</i>	t(8;...), SHM Delecje
Proliferacja	<i>PTEN</i>	Mutacje	<i>FOXP1</i>	Trisomia 3, translokacje Amplifikacje
	<i>mir-17-92</i>	Amplifikacje	<i>MYC</i>	t(8;...), SHM
Różnicowanie	<i>BCL6</i> <i>cREL</i> <i>mir-17-92</i>	t(3;...), SHM Amplifikacje Amplifikacje	<i>MYC</i> <i>SPIB</i> <i>PRDM1</i>	t(8;...), SHM Translokacje, amplifikacje Delecje
Naprawa uszkodzeń	<i>BCL6</i>	t(3;...), SHM	<i>TP53</i>	Delecje
Apoptoza	<i>BCL6</i> <i>BCL2</i> <i>TP73</i>	t(3;...), SHM t(14;18) Delecje	<i>BCL2</i> <i>MYC</i> <i>INK4a/ARF</i>	Amplifikacja 18q21 t(8;...), SHM Delecje

GCB (*germinal center B-cell*) — komórka B ośrodka rozmnażania; ABC (*activated B-cell*) — aktywowana komórka B; SHM (*somatic hypermutations*) — hipermutacje somatyczne; t — translokacja

Zaburzenia genetyczne w podtypie GCB

W przypadku chłoniaków z grupy GCB najczęstszym defektem molekularnym obserwowanym u 23–37% pacjentów jest nadekspresja genu *BCL6* (*B-cell CLL/lymphoma 6*), kodującego represor transkrypcyjny hamujący ekspresję genów biorących udział w apoptozie, regulacji cyklu komórkowego oraz odpowiedzi komórki na uszkodzenia DNA [17]. W 20–40% przypadków nadekspresja jest efektem translokacji *BCL6*, zwykle do *loci* genów kodujących łańcuchy ciężkie immunoglobulin (*IGH*, *immunoglobulin heavy chain*) — t(3;14)(q27;q32), rzadziej do *loci* genów kodujących łańcuchy lekkie immunoglobulin λ — t(3;22)(q27;q11) lub κ — t(2;3)(p12;q27). Za pomocą reakcji 5'RACE PCR (*5'rapid amplification cDNA ends*) oraz LA-PCR (*long and accurate polymerase chain reaction*) wykazano, że partnerami dla translokacji *BCL6* mogą być także geny, które nie kodują immunoglobulin (np. *MBNL1*, *TFRC*, *PIM1*, *LPC1*, *CIITA*, *IKZF1*) [18, 19].

Prawidłowo funkcjonujące białko kodowane przez gen *BCL6* jest kluczowe dla właściwego formowania centrów rozmnażania (GC, *germinal center*) oraz regulacji procesów w nich zachodzących, głównie kontroli cyklu komórkowego oraz różnicowania limfocytów [9, 20, 21]. Czynnikiem transkrypcyjnym *BCL6* reguluje działanie inhibitorów cyklu komórkowego p21 (*CDKN1A*) oraz p27 (*CDKN1B*), powodując aktywację cyklu podziałowego. Ponadto chroni komórkę przed wejściem na drogę apoptozy indukowanej uszkodzeniami DNA poprzez hamowanie ekspresji genów *TP53* (*tumor protein*

p53), *ATR* (*ataxia telangiectasia and Rad3 related*) oraz *CHEK1* (*checkpoint kinase 1*) [9, 22]. Blokując ekspresję genu *PRDM1* (*PR domain containing 1, with ZNF domain*), hamuje także różnicowanie się limfocytów [21]. Innym mechanizmem prowadzącym do zaburzeń w funkcjonowaniu genu *BCL6* jest obecność niezależnych od translokacji genu hipermutacji somatycznych w jego 5' regionie niekodującym (70% przypadków) [17, 23].

Kolejnym defektem molekularnym występującym u 30–46% pacjentów z podtypem GCB chłoniaka są translokacje genu *BCL2* (*B-cell leukemia/lymphoma 2*), kodującego antyapoptotyczne białko BCL2 [24]. Gen *BCL2* ulega translokacji do *loci* genów kodujących *IGH* — t(14;18)(q32;q21), co skutkuje nadekspresją *BCL2*, a tym samym zahamowaniem procesu apoptozy komórek [25, 26]. Zaburzeniom tym towarzyszą translokacje genu *LMO2* (*LIM domain only 2*) kodującego czynnik transkrypcyjny biorący udział w procesie angiogenezy oraz erytropoezy [26]. U około 11% chorych na DLBCL typu GCB dochodzi do delekcji w genie supresorowym *PTEN* (*phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome 10*), którego produkt białkowy reguluje szlak PI3K/AKT, odpowiedzialny za regulację wzrostu, proliferacji oraz przeżywalności komórek. Inaktywacja genu *PTEN* w wyniku mutacji powoduje stałą aktywność tego szlaku metabolicznego i tym samym stymuluje proliferację komórek. W nielicznych przypadkach dochodzi do nadekspresji genu *MDM2* (*transformed mouse 3T3 cell double minute, p53 binding protein*) — represora ekspresji genu *TP53*, będącego najbardziej znanym supresorem nowotworowym,

którego produkt jest odpowiedzialny za naprawę uszkodzonego DNA lub, jeśli naprawa nie jest możliwa, za skierowanie komórki na drogę apoptozy [9, 25, 27].

Zaburzenia genetyczne w podtypie ABC

W chłoniakach typu ABC ekspresji ulegają przede wszystkim geny charakterystyczne dla komórek plazmatycznych, nie dochodzi jednak do pełnego przekształcenia limfocytów B w komórki plazmatyczne wskutek blokady spowodowanej zaburzeniami w funkcjonowaniu genu *Blimp-1* (*B lymphocyte induced maturation protein 1*) [28, 29]. Innym mechanizmem warunkującym zablokowanie różnicowania się komórek na etapie limfocytu postgerminalnego jest delecja genów *IRF4* (*interferon regulatory factor 4*) i *PRDM1* [10]. W tej grupie chłoniaków dochodzi również do konstytutywnej aktywacji kompleksu CBM (*CARD11-BCL12-MALT1*), odpowiedzialnego za aktywację szlaku NF- κ B. Efektem konstytutywnej aktywacji szlaku jest między innymi nadekspresja genów antyapoptotycznych, w tym *BCL2* [9, 27, 30, 31]. Innym mechanizmem aktywującym ten szlak są zaburzenia w cząsteczkach sygnałowych CD79A oraz CD79B. Natomiast za bezpośrednią aktywację szlaku NF- κ B odpowiadają delecje w genie *A20*, będącym negatywnym regulatorem szlaku, obecne u 30% pacjentów [9, 27, 31]. U pacjentów z podtypem ABC dochodzi także do translokacji genu *MYC* (15%) (*v-myc myelocytomatosis viral oncogene homolog (avian)*) [25, 32]. Białko *MYC* jest czynnikiem transkrypcyjnym zaangażowanym w regulację cyklu komórkowego i apoptozy [9]. W większości przypadków *MYC* ulega translokacji do *loci* genów kodujących *IGH* (t(8;14)(q24;q32), rzadziej do *loci* genów kodujących łańcuchy lekkie — t(2;8)(p12;q24) lub t(8;22)(q24;q11). Efektem translokacji jest nadekspresja genu, która z kolei skutkuje indukcją ekspresji genów zaangażowanych we wzrost i proliferację komórek [33].

Pozostałe zaburzenia genetyczne

W rozwoju DLBCL istotną rolę odgrywają także inaktywujące mutacje genów kodujących acetylotransferazy *CREBBP* (*CREB binding protein*) oraz *EP300* (*E1A binding protein p300*). Białka kodowane przez te geny to aktywatory transkrypcyjne biorące udział w przekazywaniu

sygnałów w komórce. Podstawą ich działania jest przede wszystkim ukierunkowana acetylacja chromatyny, inaktywacja represorów transkrypcyjnych (np. *BCL6*) lub acetylacja transkrypcyjnych aktywatorów (np. *TP53*). Mutacje w *CREBBP* zaobserwowano u około 50% pacjentów. Do najczęstszych należą delecje genu, insercje, mutacje nonsensowe oraz przesunięcia ramki odczytu. Z kolei mutacje w genie *EP300* pojawiają się u około 10% chorych. Zaburzenia te skutkują całkowitą inaktywacją genu lub utratą jego kluczowych domen, czego efektem jest rozpoczęcie procesu nowotworzenia [34].

Jednymi z podstawowych i naturalnych reakcji zachodzących w GC są hipermutacje somatyczne (SHM, *somatic hypermutations*), których deregulacje przyczyniają się do powstania i kumulowania mutacji w onkogenach i genach supresorowych. Geny te wyodrębniono dzięki badaniom związanym z sekwencjonowaniem całego eksomu (*whole-exome sequencing*). Obok genów powszechnie znanych w patogenezie DLBCL, takich jak *TP53*, *CARD11*, *MYD88*, *CD79B*, *EZH2*, znalazły się również takie, których do tej pory nie uważano za uczestniczące w procesach onkogenezy. Obecność mutacji zaobserwowano między innymi w genie *ACTB* (β *actin*), a także w genach *P2RY8* (*purinergic receptor P2Y, G-protein coupled, 8*), do tej pory zaangażowanym przede wszystkim w translokację z genem *CRLF2* (*cytokine receptor-like factor 2*) u pacjentów z ostrą białaczką limfoblastyczną (ALL, *acute lymphoblastic leukemia*), *PCLO* (*piccolo presynaptic cytomatrix protein*) regulującym uwalnianie neurotransmiterów w synapsach oraz w genach kodujących białka histonu 1. W badaniach potwierdzono także obecność mutacji w genach, których udział w patogenezie DLBCL został odkryty niedawno, tj. potencjalnych supresorach nowotworowych *MLL2* (*myeloid/lymphoid or mixed-lineage leukemia 2*) i *TNFRSF14* (*tumor necrosis factor receptor superfamily, member 14*), regulatorze cyklu komórkowego *BTG1* (*B-cell translocation gene 1, anti-proliferative*) oraz czynnika transkrypcyjnym *MEF2B* (*myocyte enhancer factor 2B*) zaangażowanym w proces modyfikacji histonów. Sekwencjonowanie całego eksomu pozwoliło także na zidentyfikowanie stosunkowo rzadkich, lecz istotnych w patogenezie DLBCL mutacji, głównie w genach *NOTCH1*, *KRAS* (*v-Ki-ras2 Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog*) oraz *BRAF* (*v-raf murine sarcoma viral oncogene homolog B1*) [35].

Znaczenie rokownicze zaburzeń genetycznych DLBCL

Wykazano, że proces transformacji nowotworowej, którego efektem jest powstanie DLBCL, jest uwarunkowany nie pojedynczym defektem molekularnym, ale grupą skumulowanych zaburzeń genetycznych, prowadzących do wystąpienia genetycznej niestabilności. Jednak nie wszystkie spośród opisanych wyżej zaburzeń genetycznych mają istotne znaczenie prognostyczne u chorych na DLBCL. Jeden z biomarkerów prognostycznych to BCL2. W DLBCL gen *BCL2* ulega nadekspresji za pośrednictwem dwóch odrębnych mechanizmów, w zależności od podtypu, w GCB — w wyniku translokacji t(14;18)(q32;q31), w ABC — jako skutek konstytutywnej aktywacji NF- κ B, z amplifikacją 18q21 lub bez niej. Wśród pacjentów leczonych standardową chemioterapią według schematu CHOP niekorzystne znaczenie prognostyczne opisywanego biomarkera odnotowano u chorych z podtypem ABC. Włączenie rytuksymabu do terapii zwiększyło szanse pacjentów na wyleczenie, jak również zmodyfikowało wartość prognostyczną *BCL2*, wskazując na jego negatywne znaczenie jedynie w podtypach GCB. W badaniach *in vitro* udowodniono hamujące działanie rytuksymabu na czynnik NF- κ B, co może się wiązać z lepszą odpowiedzią na leczenie u chorych na DLBCL o podtypie ABC [12, 13].

Najczęstszym zaburzeniem genetycznym w DLBCL są translokacje genu *BCL6*. Mimo że istnieją badania, w których wykazano negatywny wpływ rearanżacji *BCL6* na przeżycie i odpowiedź na leczenie u pacjentów z DLBCL, to większość danych dowodzi ich korzystnego wpływu rokowniczego, co prawdopodobnie wiąże się z faktem, że większa część tych zaburzeń występuje u pacjentów z podtypem GCB DLBCL [6, 36, 37]. Zaobserwowano, że 3-letni czas wolny od progresji choroby (PFS, *progression free survival*) u tych chorych wynosi 82%, natomiast 3-letni PFS u pacjentów z ABC DLBCL — 56% [6, 38]. Ocena zaburzeń *BCL6* może być w przyszłości interesująca z klinicznego punktu widzenia, zwłaszcza w odniesieniu do towarzyszących zaburzeń molekularnych.

Kolejnym biomarkerem wykazującym niekorzystne właściwości prognostyczne jest nadekspresja genu *MYC* (5-letni PFS \leq 35%), szczególnie w przypadkach tak zwanych chłoniaków *double-hit* (DH) lub *triple-hit* (TH) [33, 39]. Są to chłoniaki, w których pojawiają się rearanżacje aktywujące kilka onkogenów jednocześnie. Chłoniaki DH występują stosunkowo rzadko, tj. w 8% przypadków,

natomiast chłoniaki TH są wykrywane u 16% pacjentów z DLBCL i charakteryzują się bardzo intensywną proliferacją limfoblastów [40]. Większe w tych przypadkach jest również prawdopodobieństwo zajęcia szpiku kostnego i ośrodkowego układu nerwowego [41]. Pacjenci nie reagują na konwencjonalne leczenie i zwykle wymagają przeszczepienia krwiotwórczych komórek macierzystych. W większości przypadków jednym z genów ulegających modyfikacji jest *MYC*, natomiast jego partnerem — *BCL2* lub *BCL6* [40, 41].

Do innych zaburzeń genetycznych o znaczeniu rokowniczym u chorych na DLBCL należą nadekspresja *LMO2*, korzystnie wpływająca na odpowiedź na leczenie, a także związane ze zwiększoną opornością na terapię translokacje i amplifikacje *FOXP1* (*forkhead box P1*) oraz zaburzenia molekularne *TP53* [9, 27, 42].

Podsumowanie

Chłoniaki rozlane z dużych komórek B stanowią grupę chorób o złożonej i heterogennej biologii. Dzięki rozwojowi technik biologii molekularnej możliwe są identyfikacja podtypów tej choroby o swoistym podłożu molekularnym oraz identyfikacja dysfunkcji genów bezpośrednio zaangażowanych w nowotworzenie, zarówno o znaczeniu rokowniczym, jak i będących potencjalnym celem terapii przeciwnowotworowej. Ze względu na niekorzystny przebieg nowotworu u znacznego odsetka pacjentów leczenie celowane na poszczególne zaburzenia genetyczne i/lub ich produkty białkowe może w przyszłości poprawić przeżycie w tej grupie chorych.

Piśmiennictwo

1. Tibiletti M.G., Martin V., Bernasconi B. i wsp. BCL2, BCL6, MYC, MALT 1, and BCL10 rearrangements in nodal diffuse large B-cell lymphomas: a multicenter evaluation of a new set of fluorescent in situ hybridization probes and correlation with clinical outcome. *Hum. Pathol.* 2008; 40: 645–652.
2. Zelenetz A.D., Abramson J.S., Advani R.H. i wsp. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology: non-Hodgkin's lymphomas. *J. Natl. Compr. Canc. Netw.* 2010; 8: 288–334.
3. Hallack N.E.H., Siqueira S.A.C., Dullely F.L. i wsp. Bcl-2 protein frequency in patients with high-risk diffuse large B-cell lymphoma. *Sao Paulo Med. J.* 2010; 128: 14–17.
4. Akyurek N., Uner A., Benekli M., Barista I. Prognostic significance of MYC, BCL2, and BCL6 rearrangements in patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone plus rituximab. *Cancer* 2012; 118: 4173–4183.
5. Nogai H., Dörken B., Lenz G. Pathogenesis of non-Hodgkin's lymphoma. *J. Clin. Oncol.* 2011; 29: 1803–1811.

6. Warzocha K. Chłoniak rozlany z dużych komórek B — zasady postępowania w Instytucie Hematologii i Transfuzjologii. *Hematologia* 2013; 4: 123–136.
7. Swerdlow S., Campo E., Harris N. i wsp. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. IARC Press, Lyon 2008: 233–237.
8. Warzocha K. Zalecenia postępowania diagnostyczno-terapeutycznego w nowotworach złośliwych — 2013. *Via Medica*, Warszawa 2013: 897–915.
9. Frick M., Dörken B., Lenz G. New insights into the biology of molecular subtypes of diffuse large B-cell lymphoma and Burkitt lymphoma. *Best Pract. Res. Clin. Haematol.* 2012; 25: 3–12.
10. Juszczyński P. Struktura genetyczna chłoniaków rozlanych z dużych komórek B: od mikromacierzy DNA do celowanej terapii. *Hematologia* 2010; 1: 15–28.
11. Jang G., Yoon D.H., Kim S. i wsp. Addition of rituximab to the CHOP regimen has no benefit in patients with primary extranodal diffuse large B-cell lymphoma. *Korean J. Hematol.* 2011; 46: 103–110.
12. Iqbal J., Meyer P.N., Smith L.M. i wsp. BCL2 predicts survival in germinal center B-cell-like diffuse large B-cell lymphoma treated with CHOP-like therapy and rituximab. *Clin. Cancer Res.* 2011; 14: 7785–7795.
13. Dunleavy K., Wilson W.H. Differential role of BCL2 in molecular subtypes of diffuse large B-cell lymphoma. *Clin. Cancer Res.* 2011; 17: 7505–7507.
14. Gutierrez-García G., Cardesa-Salzmann T., Climent F. i wsp. Gene-expression profiling and not immunophenotypic algorithms predicts prognosis in patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with immunochemotherapy. *Blood* 2011; 117: 4836–5843.
15. Găman A., Bold A., Găman G. The unexpected evolution of a case of diffuse large B-cell non-Hodgkin lymphoma. *Rom. J. Morphol. Embryol.* 2011; 52: 719–722.
16. Tirado C.A., Chen W., García R., Kohlman K.A., Rao N. Genomic profiling using array comparative genomic hybridization define distinct subtypes of diffuse large b-cell lymphoma: a review of the literature. *J. Hematol. Oncol.* 2012; 5: 54.
17. Gouveia G.R., Siqueira S.A., Pereira J. Pathophysiology and molecular aspects of diffuse large B-cell lymphoma. *Rev. Bras. Hematol. Hemoter.* 2012; 34: 447–451.
18. Ohno H. Pathogenetic role of BCL6 translocation in B-cell non-Hodgkin's lymphoma. *Histol. Histopathol.* 2004; 19: 637–650.
19. Yoshida S., Kaneita Y., Aoki Y. i wsp. Identification of heterologous translocation partner genes fused to the BCL6 gene in diffuse large B-cell lymphomas: 5'-RACE and LA-PCR analyses of biopsy samples. *Oncogene* 1999; 18: 7994–7999.
20. Prusisz W., Sewastianik T., Juszczyński T. Molekularne mechanizmy działania i patogenetyczna rola deregulacji BCL6 w chłoniaku rozlanym z dużych komórek B — implikacje kliniczne i terapeutyczne. *Hematologia* 2012; 3: 302–312.
21. Wagner S.D., Ahearne M., Ferrigno P.K. The role of BCL6 in lymphomas and routes to therapy. *Br. J. Haematol.* 2010; 152: 3–12.
22. Cerchietti L.C., Ghetu A.F., Zhu X. i wsp. A small molecule inhibitor of BCL6 kills DLBCL cells in vitro and in vivo. *Cancer Cell.* 2010; 17: 400–411.
23. Malpeli G., Barbi S., Moore P.S. i wsp. Primary mediastinal B-cell lymphoma: hypermutation of the BCL6 gene targets motifs different from those in diffuse large B-cell and follicular lymphomas. *Haematologica* 2004; 89: 1091–1099.
24. Madrigal-Velázquez M., Avilés A., Neri N. i wsp. Expression of *ice*, *bcl-2*, *c-myc* and *p53* in different bone marrow cell populations from patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Leuk. Lymphoma* 2006; 47: 665–673.
25. Nedomova R., Papajik T., Prochazka V., Indrak K., Jarosova M. Cytogenetics and molecular cytogenetics in Diffuse Large B-cell Lymphoma (DLBCL). *Biomed. Pap. Med. Fac. Univ. Palacky Olomouc Czech Repub.* 2013; 157: 239–247.
26. Durnick D.K., Law M.E., Maurer M.J. i wsp. Expression of LMO2 is associated with t(14;18)IGH-BCL2 fusion but not BCL6 translocations in diffuse large B-cell lymphoma. *Am. J. Clin. Pathol.* 2010; 134: 278–281.
27. Lenz G., Wright G.W., Emre N.C.T. i wsp. Molecular subtypes of diffuse large B-cell lymphoma arise by distinct genetic pathways. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2008; 105: 13520–13525.
28. John S.A., Garrett-Sinha L.A. Blimp1: a conserved transcriptional repressor critical for differentiation of many tissues. *Exp. Cell Res.* 2009; 315: 1077–1084.
29. Mandelbaum J., Bhagat G., Tang H. i wsp. BLIMP1 is a tumor suppressor gene frequently disrupted in activated B cell like diffuse large B cell lymphoma. *Cancer Cell.* 2010; 18: 568–579.
30. Hara H., Iizasa E., Nakaya M., Yoshida H. L-CBM signaling in lymphocyte development and function. *J. Blood Med.* 2010; 1: 93–104.
31. Compagno M., Lim W.K., Grunn A. i wsp. Mutations of multiple genes cause deregulation of NF- κ B in diffuse large B-cell lymphoma. *Nature* 2009; 459: 717–722.
32. Kluk M.J., Chapuy B., Sinha P. i wsp. Immunohistochemical detection of MYC-driven diffuse large B-cell lymphomas. *PLoS One* 2012; 7: 1–9.
33. Niitsu N., Okamoto M., Miura I., Hirano M. Clinical significance of 8q24/c-MYC translocation in diffuse large B-cell lymphoma. *Cancer Sci.* 2009; 100: 233–237.
34. Pasqualucci L., Dominguez-Sola D., Chiarenza A. i wsp. Inactivating mutations of acetyltransferase genes in B-cell lymphoma. *Nature* 2011; 471: 189–195.
35. Lohr J.G., Stojanov P., Lawrence M.S. i wsp. Discovery and prioritization of somatic mutations in diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) by whole-exome sequencing. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2012; 109: 3879–3884.
36. Hans C.P., Weisenburger D.D., Greiner T.C. i wsp. Confirmation of the molecular classification of diffuse large B-cell lymphoma by immunohistochemistry using a tissue microarray. *Blood* 2004; 103: 275–282.
37. Chen Y., Hu X., Liang A.C. i wsp. High BCL6 expression predicts better prognosis, independent of BCL6 translocation status, translocation partner, or BCL6-deregulating mutations, in gastric lymphoma. *Blood* 2006; 108: 2373–2383.
38. Salles G., de Jong D., Xie W. i wsp. Prognostic significance of immunohistochemical biomarkers in diffuse large B-cell lymphoma: a study from the Lunenburg Lymphoma Biomarker Consortium. *Blood* 2011; 117: 7070–7078.
39. Barrans S., Crouch S., Smith A. i wsp. Rearrangement of MYC is associated with poor prognosis in patients with diffuse large B-cell lymphoma treated in the era of rituximab. *J. Clin. Oncol.* 2010; 28: 3360–3365.
40. Motllo C., Grau J., Junca J. i wsp. Translocation (3;8)(q27;q24) in two cases of triple hit lymphoma. *Cancer Gen. Cytogenet.* 2010; 203: 328–332.
41. Aukema S.M., Siebert R., Schuurings E. i wsp. Double-hit B-cell lymphomas. *Blood* 2010; 117: 2319–2331.
42. Banham A.H., Connors J.M., Brown P.J. i wsp. Expression of the FOXP1 transcription factor is strongly associated with inferior survival in patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Clin. Cancer Res.* 2005; 11: 1065–1072.