

SKRIPSI

HUBUNGAN SUBTIPE MOLEKULER PADA *DIFFUSE LARGE B CELL LYMPHOMA* DENGAN *MICROVESSEL DENSITY*

**Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar Sarjana
Kedokteran di Universitas Sriwijaya**



OLEH

WISNU MURTI SURADILAYA

04011281823168

PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS SRIWIJAYA

2021

HALAMAN PENGESAHAN

HUBUNGAN SUBTIPE MOLEKULER PADA *DIFFUSE LARGE B CELL LYMPHOMA* DENGAN *MICROVESSEL DENSITY*

LAPORAN AKHIR SKRIPSI

Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar Sarjana
Kedokteran di Universitas Sriwijaya

Oleh:
WISNU MURTI SURADILAYA
04011281823168

Palembang, 26 November 2021

Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya

Pembimbing I

dr. Krisna Murti, Sp.PA(K), M.Biotech.Stud., Ph.D.
NIP 196312101991032002



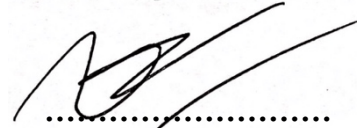
Pembimbing II

dr. Ziske Maritska, M.Si.Med.
NIP 198403262010122004



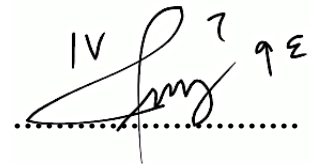
Penguji I

dr. Wresnindyatsih, Sp.PA(K), M.Kes.
NIP 197108022002122001



Penguji II

Masayu Farah Diba, S.Si., M.Biomed.
NIP 199406172019032020



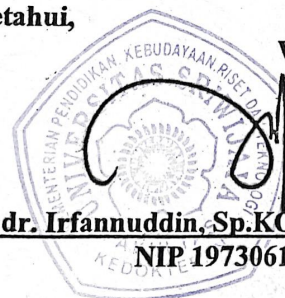
Koordinator Program Studi
Pendidikan Dokter



dr. Susilawati, M.Kes.
NIP 197802272010122001

Mengetahui,

Wakil Dekan I



Dr. dr. Irfannuddin, Sp.KO., M.Pd.Ked.
NIP 197306131999031001

HALAMAN PERSETUJUAN

Karya tulis ilmiah berupa laporan akhir skripsi dengan judul “Hubungan Subtipe Molekuler pada *Diffuse Large B Cell Lymphoma* dengan *Microvessel Density*” telah dipertahankan di hadapan Tim Penguji Karya Tulis Ilmiah Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya pada tanggal 19 November 2021.

Palembang, 26 November 2021

Tim Penguji Karya Ilmiah berupa laporan akhir skripsi

Pembimbing I

dr. Krisna Murti, Sp.PA(K), M.Biotech.Stud., Ph.D.
NIP 196312101991032002



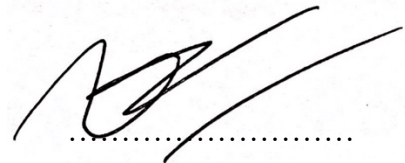
Pembimbing II

dr. Ziske Maritska, M.Si.Med.
NIP 198403262010122004



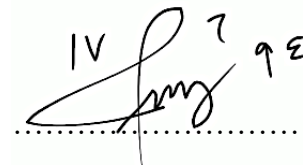
Penguji I

dr. Wresnindyatih, Sp.PA(K), M.Kes.
NIP 197108022002122001



Penguji II

Masayu Farah Diba, S.Si., M.Biomed.
NIP 199406172019032020




Wakil Dekan I



Dr. dr. Irfannuddin, Sp.KO., M.Pd.Ked.
NIP 197306131999031001

Mengetahui,
Koordinator Program Studi
Pendidikan Dokter



dr. Susilawati, M.Kes.
NIP 197802272010122001

HALAMAN PERNYATAAN INTEGRITAS

Yang bertanda tangan di bawah ini,

Nama : Wisnu Murti Suradilaya

NIM : 04011281823168

Judul : Hubungan Subtipe Molekuler pada *Diffuse Large B Cell Lymphoma* dengan *Microvessel Density*

Menyatakan bahwa skripsi saya merupakan hasil karya sendiri didampingi tim pembimbing dan bukan hasil penjiplakan/plagiat. Apabila ditemukan unsur penjiplakan/plagiat dalam skripsi ini, maka saya bersedia menerima sanksi akademik dari Universitas Sriwijaya sesuai aturan yang berlaku.

Demikian pernyataan ini saya buat dalam keadaan sadar dan tanpa ada paksaan dari siapapun.



Palembang, 10 November 2021



Wisnu Murti Suradilaya

HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI

Yang bertanda tangan di bawah ini,

Nama : Wisnu Murti Suradilaya

NIM : 04011281823168

Judul : Hubungan Subtipe Molekuler pada *Diffuse Large B Cell Lymphoma* dengan *Microvessel Density*

Memberikan izin kepada pembimbing dan Universitas Sriwijaya untuk mempublikasikan hasil penelitian saya untuk kepentingan akademik apabila dalam waktu 1 (satu) tahun tidak mempublikasikan karya penelitian saya. Dalam kasus ini saya setuju untuk menempatkan pembimbing sebagai penulis korespondensi (*corresponding author*).

Demikian pernyataan ini saya buat dalam keadaan sadar dan tanpa ada paksaan dari siapapun.

Palembang, 10 November 2021



Wisnu Murti Suradilaya

04011281823168

ABSTRAK

Hubungan Subtipe Molekuler pada *Diffuse Large B Cell Lymphoma* dengan *Microvessel Density*

(Wisnu Murti Suradilaya, November 2021, 127 halaman)

Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya

Latar Belakang: *Diffuse large B cell lymphoma* (DLBCL) merupakan jenis limfoma non-Hodgkin (LNH) yang paling banyak ditemukan. *Tumor microenvironment* (TME) berperan penting dalam menstimulasi angiogenesis dan dapat dinilai dengan perhitungan *microvessel density* (MVD). Selain itu, MVD merupakan salah satu penanda prognostik paling berguna untuk memantau progresivitas dan kelangsungan hidup pada pasien berbagai jenis keganasan. Tujuan dari penelitian ini yaitu mengetahui hubungan antara subtipe molekuler pada DLBCL dan MVD.

Metode: Penelitian analitik observasional dengan desain *cross-sectional* dilakukan di Bagian Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya/RSUP Dr. Mohammad Hoesin Palembang. Diperoleh 30 sampel blok parafin pasien yang terdiagnosis DLBCL periode 2017 – 2021 dan memiliki data klinikohistopatologi lengkap. Purposive sampling dilakukan untuk mendapatkan proporsi yang sama banuak antara subtipe molekuler GCB dan non-GCB. Preparat dipulas secara imunohistokimia (IHK) dengan marker anti-CD34, dilanjutkan pengindetifikasian MVD dengan mengamati morfologi sel endotel yang terpulas, lalu difoto, dianalisis, dan dihitung dengan *software Image J*. Selanjutnya, data dianalisis secara statistik dengan SPSS versi 26 dan Microsoft Excel.

Hasil: DLBCL lebih banyak terdiagnosis pada kategori usia <60 tahun (66,7%), jenis kelamin laki-laki (60%), berlokasi nodal (53,3%), kategori sentroblastik sebagai varian morfologis terbanyak (93,3). Sebaran MVD tinggi cenderung dimiliki oleh sampel berkategori: usia <60 tahun, berjenis kelamin laki-laki, pada lokasi nodal, dengan varian morfologis sentroblastik. Meskipun MVD pada kedua subtipe molekuler DLBCL tidak berbeda secara signifikan, diperoleh tendensi MVD lebih tinggi ditemukan pada subtipe non-GCB.

Kesimpulan: *Microvessel density* lebih tinggi ditemukan pada subtipe molekuler non-GCB.

Kata Kunci: DLBCL, Angiogenesis, MVD, CD34, Subtipe Molekuler, Karakteristik Klinikohistopatologi

ABSTRACT

Corrrelation Between Molecular Subtype of *Diffuse Large B Cell Lymphoma* with *Microvessel Density*

(Wisnu Murti Suradilaya, November 2021, 127 pages)
Faculty of Medicine, Universitas Sriwijaya

Background: Diffuse large B cell lymphoma (DLBCL) is the most common type of non-Hodgkin's lymphoma (NHL). Tumor microenvironment (TME) plays an important role in stimulating angiogenesis and can be assessed by calculating microvessel density (MVD). In addition, MVD is one of the most useful prognostic markers for monitoring progression and survival in patients with various types of malignancy. The purpose of this study was to determine the correlation between molecular subtypes of DLBCL with MVD.

Methods: An observational analytic study with a cross-sectional design was conducted at the Anatomical Pathology Department, Faculty of Medicine, Sriwijaya University/Dr. Mohammad Hoesin Palembang. 30 paraffin block samples were obtained from patients diagnosed with DLBCL for the period 2017 – 2021 and had complete clinicohistopathological data. Purposive sampling was conducted to obtain the same proportion of GCB and non-GCB molecular subtypes. The preparations were stained immunohistochemically (IHC) with an anti-CD34 marker, followed by the identification of MVD by observing the morphology of stained endothelial cells, then photographed, analyzed, and counted with Image J software. Furthermore, the data were analyzed statistically with SPSS version 26 and Microsoft Excel.

Results: DLBCL was diagnosed more in the age category <60 years (66.7%), male sex (60%), nodal location (53,3%), centroblastic category as the most morphological variant (93,3%). The distribution of high MVD tends to be owned by samples with categories: age <60 years, male, at nodal location, with centroblastic morphological variants. Although the MVDs of the two molecular subtypes of DLBCL were not significantly different, a higher trend of MVD was found in the non-GCB subtypes.

Conclusion: Higher microvessel density was found in the non-GCB molecular subtype.

Key Words: DLBCL, Angiogenesis, MVD, CD34, Molecular Subtype, Clinicohistopathological Characteristics

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur dihaturkan kepada Tuhan Yang Maha Esa karena atas berkat, rahmat, dan anugerah-Nya, saya dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Hubungan Subtipe Molekuler pada *Diffuse Large B Cell Lymphoma* dengan *Microvessel Density*” dengan tepat waktu. Skripsi ini disusun dan diajukan untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar Sarjana Kedokteran di Universitas Sriwijaya.

Terima kasih tak terhingga saya sampaikan kepada:

dr. Krisna Murti, Sp.PA(K), M.Biotech.Stud., Ph.D. sebagai Pembimbing I yang telah meluangkan banyak waktu, gagasan pemikiran, arahan, bimbingan, dan dukungan dengan penuh perhatian dan kesabaran kepada saya sehingga skripsi ini dapat saya selesaikan.

dr. Ziske Maritska, M.Si.Med. sebagai Pembimbing II yang telah meluangkan banyak waktu, arahan dan bimbingan, serta dengan penuh kesabaran dan perhatian telah membimbing saya selama penyusunan skripsi ini. Beliau juga selalu memberi semangat kepada saya sehingga skripsi ini dapat saya selesaikan.

Penguji skripsi saya, **dr. Wresnindyatsih, Sp.PA(K), M.Kes.** dan **Masayu Farah Diba, S.Si., M.Biomed.** atas segala saran, koreksi, dan arahan sehingga penulisan skripsi ini dapat menjadi lebih baik lagi.

dr. Neti, dokter residen PPDS Sp-1 Patologi Anatomi yang telah meluangkan banyak waktu dan tidak kenal lelah membantu saya dalam melakukan penelitian. Beliau juga selalu memerhatikan saya selama penelitian berlangsung sehingga skripsi ini dapat saya selesaikan.

Kedua orang tua saya, Papa **Tatam Suradilaya (alm)** dan Mama **Lena Herlina** atas segala doa, dukungan, pengorbanan dan kasih sayangnya yang tulus dan tak terhingga dalam mengasuh, mendidik dan membesarkan saya yang menjadi penyemangat saya untuk menyelesaikan pendidikan.

Sahabat SMA saya, **Amalia Kusuma, Amanda Vania, S.T., Amira Azzahra, Brigitta Adinda, S.T., Dhika Saskia, Dhyrana Shaila, Diajeng Elsa, A.P.B.C., Farah Salsabila, S.I.A., Khansa Humaira, S.Psi., Leon Aruan, S.Sos., Maudy Stevania, Olivia Putri, Raissa Samara, S.T., dan Tulus Luther, S.T.** yang tiada hentinya memberikan semangat dan dukungan kepada saya.

Kakak tingkat, **Afiya Nabila, S.Ked. dan Nyimas Chodijah, S.Ked.**, serta teman-teman, **Azis M. Putera, S.Ked., Maria Hotmaida Carolina, S.Ked., Anjeli Primeisa, M. Bima Zulfikar, dan Lusiana Wilianti** yang telah membantu dalam memberikan masukan, ide, arahan, dan sumber referensi, sehingga skripsi ini dapat saya selesaikan.

Teman-teman yang sangat berjasa dalam hal akademik selama menjalani pendidikan, **Aiga Hafiz, Annes Claudia, Kharin Rafika, M. Ivan Pratama, Ni Made Dyah, Shafa Larasaty, dan Surya Bagaskara** yang membantu saya selama masa preklinik, berbagi catatan kuliah sehingga saya merasa terbantu dalam persiapan ujian blok.

Teman-teman sejawat seperjuangan, **Debi Robiah, Dwi Ermawan, Elsy Mulyani, Faiza Shafa, Ghina Reza, Ivana Maggia, Kusuma Wardhani, Ririn Nopitasari** dan **teman-teman Gastro 2018** yang selalu ada menemani dan membantu saya selama di daerah perantauan.

Akhir kata, penulis berharap agar hasil dari penelitian ini dapat digunakan dan bermanfaat bagi banyak orang.

Palembang, 10 November 2021



Wisnu Murti Suradilaya

04011281823168

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERSETUJUAN	iii
HALAMAN PERNYATAAN INTEGRITAS	iv
HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI	v
ABSTRAK	vi
<i>ABSTRACT</i>	vii
RINGKASAN	viii
<i>SUMMARY</i>	ix
KATA PENGANTAR	x
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
DAFTAR SINGKATAN	xviii
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.2.1 Rumusan Masalah Umum	3
1.2.2 Rumusan Masalah Khusus	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.3.1 Tujuan Umum	4
1.3.2 Tujuan Khusus	4
1.4 Hipotesis	5
1.5 Manfaat Penelitian	5
1.5.1 Manfaat Teoretis	5
1.5.2 Manfaat Praktis	6
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Sistem Limfatik	6
2.1.1 Anatomi Sistem Limfatik	7
2.1.1.1 Limfe dan Pembuluh Limfatik	7
2.1.1.2 Organ Limfoid	8
2.1.1.3 Fisiologi Sistem Limfatik	10

2.2	Sel Limfosit B.....	11
2.2.1	Pematangan, Diferensiasi, dan Aktivasi Sel Limfosit B.....	11
2.2.2	Limfomagenesis Terkait Perkembangan Sel B.....	14
2.3	Limfoma Non-Hodgkin	14
2.3.1	Etiologi dan Faktor Risiko.....	15
2.3.2	Diagnosis	15
2.3.3	Prognosis.....	16
2.4	<i>Diffuse Large B Cell Lymphoma</i>	18
2.4.1	Definisi	18
2.4.2	Epidemiologi.....	18
2.4.3	Etiologi dan Faktor Risiko.....	19
2.4.4	Manifestasi Klinis.....	19
2.4.5	Morfologi.....	20
2.4.5.1	Varian Sentroblastik	21
2.4.5.2	Varian Immunoblastik	22
2.4.5.3	Varian Anaplastik	23
2.4.6	Patogenesis	23
2.4.6.1	Mekanisme Perubahan Genetik pada DLBCL.....	27
2.4.6.2	Lesi Genetik yang Terjadi pada GCB-DLBCL	28
2.4.6.3	Lesi Genetik yang Terjadi pada ABC-DLBCL	29
2.4.7	Subtipe Molekuler DLBCL	30
2.4.8	Prognosis.....	31
2.5	<i>Tumor Microenvironment</i>	32
2.5.1	Komposisi <i>Tumor Microenvironment</i>	34
2.5.2	Angiogenesis.....	36
2.6	<i>Microvessel Density</i>	38
2.7	Imunohistokimia	40
2.8	Kerangka Teori	43
2.9	Kerangka Konsep.....	44
BAB 3 METODE PENELITIAN		45
3.1	Jenis Penelitian	45
3.2	Waktu dan Tempat Penelitian.....	45
3.3	Populasi dan Sampel Penelitian.....	45
3.3.1	Populasi Penelitian.....	45
3.3.1.1	Populasi Target	45
3.3.1.2	Populasi Terjangkau	45
3.3.2	Sampel Penelitian	45
3.3.3	Kriteria Inklusi.....	46
3.3.4	Kriteria Eksklusi	46
3.4	Cara Pengambilan Sampel.....	46
3.5	Variabel Penelitian.....	47
3.5.1	Variabel Dependen	47
3.5.2	Variabel Independen.....	47

3.6	Definisi Operasional	48
3.7	Proses Pulasan Imunohistokimia dengan Antibodi Anti-CD34	49
3.8	Pembacaan Hasil Interpretasi.....	50
3.9	Cara Pengolahan dan Analisis Data.....	51
3.9.1	Analisis Univariat	51
3.9.2	Analisis Bivariat	52
3.9.3	Analisis ROC	52
3.10	Kerangka Operasional.....	53
BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN.....		55
4.1	Hasil Penelitian	55
4.1.1	Analisis Univariat	55
4.1.1.1	Sebaran Karakteristik Klinikohistopatologi DLBCL	55
4.1.2	Identifikasi MVD.....	55
4.1.2.1	Sebaran MVD pada DLBCL.....	57
4.1.3	Analisis Bivariat	58
4.1.3.1	Hubungan Usia dengan MVD	58
4.1.3.2	Hubungan Jenis Kelamin dengan MVD	58
4.1.3.3	Hubungan Lokasi Tumor dengan MVD	59
4.1.3.4	Hubungan Varian Morfologis dengan MVD	59
4.1.3.5	Hubungan Subtipe Molekuler dengan MVD	60
4.2	Pembahasan	60
4.2.1	Sebaran Karakteristik Klinikohistopatologi DLBCL	60
4.2.2	Sebaran MVD pada DLBCL.....	63
4.2.3	Hubungan Subtipe Molekuler dan Karakteristik Klinikohistopatologi DLBCL Lainnya dengan MVD	64
4.3	Keterbatasan Penelitian.....	66
BAB 5 KESIMPULAN DAN SARAN.....		68
5.1	Kesimpulan	68
5.2	Saran	68
DAFTAR PUSTAKA.....		69
LAMPIRAN		78
BIODATA.....		107

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1. Sistem Penentuan Stadium Limfoma oleh Ann-Arbor	16
Tabel 2.2. <i>International Prognostic Index</i>	17
Tabel 2.3. Distribusi Stadium dan Persentase Kelangsungan Hidup Relatif 5 Tahun saat Diagnosis LNH Dilakukan	18
Tabel 2.4. Distribusi Stadium dan Persentase Kelangsungan Hidup Relatif 5 Tahun saat Diagnosis DLBCL Dilakukan	32
Tabel 2.5. Protokol Dasar Secara Umum Dilakukannya Prosedur Imunohistokimia	41
Tabel 2.6. Kemungkinan Penyebab Kekeliruan dalam Prosedur IHK dan Solusinya	42
Tabel 4.1. Sebaran Karakteristik Klinikohistopatologi DLBCL.....	55
Tabel 4.2. Sebaran MVD pada DLBCL.....	57
Tabel 4.3. Hasil Analisis Bivariat Usia dengan MVD.....	58
Tabel 4.4. Hasil Analisis Bivariat Jenis Kelamin dengan MVD.....	59
Tabel 4.5. Hasil Analisis Bivariat Lokasi Tumor dengan MVD.....	59
Tabel 4.6. Hasil Analisis Bivariat Varian Morfologis dengan MVD	60
Tabel 4.7. Hasil Analisis Bivariat Subtipe Molekuler dengan MVD	60

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1. Sistem limfatik tubuh manusia.....	6
Gambar 2.2. Limfonodus	9
Gambar 2.3. Jaringan pulpa rubra dan pulpa alba pada lien	10
Gambar 2.4. Tahapan diferensiasi sel B.....	13
Gambar 2.5. Gambaran sel DLBCL.....	20
Gambar 2.6. Berbagai variasi sitomorfologi DLBCL	21
Gambar 2.7. Gambaran morfologi DLBCL varian imunoblastik	22
Gambar 2.8. Diagram diferensiasi dan pematangan sel B normal.....	23
Gambar 2.9. Rangkaian proses yang terjadi pada pusat germinal	24
Gambar 2.10. <i>Down regulation</i> aktivitas BCL6 akibat lesi genetik pada DLBCL	26
Gambar 2.11. Jalur pensinyalan yang terganggu pada GCB-DLBCL	28
Gambar 2.12. Jalur pensinyalan yang terganggu pada ABC-DLBCL	29
Gambar 2.13. Algoritma Hans	30
Gambar 2.14. Algoritma Tally dan Choi	31
Gambar 2.15. <i>Tumor microenvironment</i> dan sepuluh karakteristik utama kanker	33
Gambar 2.16. Pengaruh hubungan sel imun dengan TME	34
Gambar 2.17. Peranan sel-sel stroma dalam meningkatkan progresivitas kanker.	35
Gambar 2.18. Pensinyalan dari VEGFR2	37
Gambar 2.19. Vaskularisasi pada DLBCL.....	39
Gambar 4.1. <i>Microvessel</i> pada jaringan DLBCL dengan pulasan marker antibodi anti-CD34 (x400).....	56
Gambar 4.2. Kurva <i>cut off point</i> berdasarkan analisis ROC.....	57

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Sebaran Karakteristik Klinikohistopatologi pada DLBCL.....	78
Lampiran 2. <i>Cut Off Point</i> MVD Berdasarkan Subtipe Molekuler DLBCL	79
Lampiran 3. Hasil Analisis Bivariat dengan Menggunakan SPSS	81
Lampiran 4. Data Sampel Karakteristik Klinikohistopatologi DLBCL dan MVD	86
Lampiran 5. Hasil Perhitungan MVD	87
Lampiran 6. Sertifikat Etik Penelitian	89
Lampiran 7. Surat Izin Penelitian	90
Lampiran 8. Surat Selesai Penelitian	91
Lampiran 9. Hasil Pemeriksaan Plagiasi dengan Turnitin.....	92
Lampiran 10. Artikel Penelitian.....	93

DAFTAR SINGKATAN

LNH	: Limfoma non-Hodgkin
LH	: Limfoma Hodgkin
NK	: Sel <i>natural killer</i>
WHO	: <i>World Health Organization</i>
DLBCL	: <i>Diffuse large B cell lymphoma</i>
COO	: <i>Cell of origin</i>
GCB	: <i>Germinal center B-cell-like</i>
ABC	: <i>Activated B-cell-like</i>
TME	: <i>Tumor microenvironment</i>
MVD	: <i>Microvessel density</i>
IHK	: <i>Imunohistokimia</i>
CD	: <i>Cluster of differentiation</i>
APC	: <i>Antigen presenting cell</i>
pro-B	: sel progenitor B
HSCs	: <i>Hematopoietic stem cells</i>
CXCL12	: C-X-C motif <i>chemokine 12</i>
IL-7	: <i>Interleukin 7</i>
CLPs	: <i>Common lymphoid progenitor cells</i>
EBF	: <i>Early B-cell factor</i>
Ig	: <i>Imunoglobulin</i>
BCRs	: <i>Antigen-coupled B cell receptors</i>
TD	: <i>T cell-dependent</i>
TI	: <i>T cell-independent</i>
LPS	: <i>Lipopolisakarida</i>
Tfh	: <i>Follicular helper T cells</i>
GC	: <i>Germinal center</i>
SMH	: <i>Somatic hypermutation</i>
FDCs	: <i>Follicular dendritic cells</i>
CSR	: <i>Class-switch recombination</i>

IPI	: <i>International prognostic index</i>
SEER	: <i>Surveillance, Epidemiology, and End Results Program</i>
CBs	: <i>Centroblasts</i>
DZ	: <i>Dark zone</i>
LZ	: <i>Light zone</i>
BCL6	: <i>5' untranslated region of B-cell lymphoma 6</i>
DNA	: <i>Deoxyribonucleic acid</i>
AID	: <i>Activation induced cytidine deaminase</i>
TNF	: <i>Tumor necrosis factor</i>
TLR	: <i>Toll-like receptor</i>
IRF	: <i>Interferon regulatory factor</i>
NF- κ B	: <i>Nuclear factor kappa B</i>
PRDM1	: <i>Positive regulatory domain containing 1</i>
ASHM	: <i>Aberrated somatic hypermutation</i>
GEP	: <i>Gene expression profiling</i>
MUM1	: <i>Protein multiple myeloma 1</i>
GCET1	: <i>Germinal center B-cell expressed transcript 1</i>
ECM	: <i>Extracellular matrix</i>
VEGF	: <i>Vascular endothelial growth factor</i>
HIF-1	: <i>Hypoxia-inducible factor 1</i>
uPA	: <i>Urokinase-type plasminogen activator</i>
MMP	: <i>Matrix metalloproteinase</i>
TGF	: <i>Tumor growth factor</i>
ROC	: <i>Receiver operating characteristic</i>
LDH	: <i>Lactate dehydrogenase</i>

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Limfoma merupakan kelompok neoplasma (keganasan) heterogen yang disebabkan oleh karena adanya abnormalitas saat tahapan proliferasi berbagai sel limfoid matur. Abnormalitas ini terjadi pada berbagai organ limfoid di sistem imunitas dan organ nonlimfoid yang dapat menyebabkan berbagai macam temuan klinis dan morfologi.¹ Terdapat tiga jenis sel limfoid matur yang berperan dalam menyebabkan terjadinya limfoma: sel *natural killer* (NK), sel limfosit B, dan sel limfosit T.²

Secara umum, limfoma dapat digolongkan menjadi dua kelompok besar, yaitu limfoma non-Hodgkin (LNH) dengan angka kejadian sebesar 90% dari seluruh kasus limfoma dan limfoma Hodgkin (LH) dengan angka kejadian sebesar 10% dari seluruh kasus limfoma.³ Secara epidemiologi global, berdasarkan pengumpulan data yang dilakukan oleh GLOBOCAN 2018, data mengenai subtype LNH terbatas. Hal ini disebabkan karena data yang dilaporkan tidak secara spesifik membagi subtype LNH tersebut berdasarkan klasifikasi yang telah ditentukan oleh WHO. Namun, di negara-negara barat berdasarkan klasifikasi yang dibuat WHO, kejadian LNH terbanyak yang ditemukan adalah subtype DLBCL dengan persentase mencapai 31%.⁴

Diffuse large B cell lymphoma (DLBCL) merupakan jenis LNH yang paling banyak ditemukan di dunia dengan angka kejadian sebesar 40% dari seluruh kasus LNH dan di Amerika Serikat, dengan angka insidensi pada tahun 2011 – 2012 sebesar 6,3% dan diperkirakan terdapat 25.380 kasus baru di Amerika Serikat pada tahun 2016.^{5,6} Penelitian pada tahun 2001 – 2006 di Jepang dari 2.260 pasien limfoma, didapatkan bahwa 33% dari seluruh kasus, pasien menderita DLBCL. Sedangkan, penelitian yang diikuti 4.638 pasien limfoma di Republik Rakyat Tiongkok pada tahun 2004 – 2008, didapatkan bahwa 36% kasus disebabkan oleh DLBCL. Kemudian, dari 5.318 pasien limfoma yang diteliti di Korea Selatan tahun 1989 – 2008, didapatkan 31% dari seluruh kasus merupakan kejadian DLBCL.⁷

Berdasarkan *cell of origin* (COO) dan secara molekuler, DLBCL dapat dibagi menjadi dua subtipe: *germinal center B-cell-like* (GCB) dan *activated B-cell-like* (ABC atau non-GCB). Pembagian subtipe DLBCL ini dapat berpengaruh dalam hal prognosis dan inisiasi tata laksana pada pasien.⁸⁻¹⁰ Berdasarkan morfologi nya, DLBCL dapat dibagi menjadi tiga varian: sentroblastik, anaplastik, dan imunoblastik. DLBCL dengan varian sentroblastik memiliki prognosis yang lebih baik jika dibandingkan varian anaplastik dan imunoblastik.¹¹

Saat ini, peranan penting *tumor microenvironment* (TME) dalam patogenesis DLBCL fokus dibahas dalam beberapa penelitian. Diperkirakan TME berperan dalam terjadinya interaksi antara sel tumor dengan elemen stroma (fibroblas, darah, dan pembuluh limfatik), matriks ekstraseluler, sel inflamasi, dan sel imun antara lain sel mast, makrofag, dan limfosit T atau B.¹² Salah satu dari sepuluh kemampuan yang dimiliki TME untuk bertahan hidup yaitu menstimulasi terjadinya angiogenesis.¹³ Angiogenesis pada tumor merupakan pertumbuhan pembuluh darah baru dari jaringan sehat ke dalam jaringan tumor.¹⁴ Secara histologis, salah satu cara yang paling sering untuk mengamati angiogenesis pada tumor adalah pengukuran semikuantitatif kepadatan mikrovaskular atau *microvessel density* (MVD). Imunohistokimia (IHK) merupakan salah satu cara yang lebih akurat dalam hal mengamati angiogenesis pada TME yaitu dengan menggunakan *marker anti cluster of differentiation* (CD)34.^{15,16} CD34 adalah suatu glikoprotein transmembran yang terekspresi pada sel progenitor hematopoetik dan sel endotel.¹⁷

Microvessel density telah banyak digunakan dalam mengevaluasi angiogenesis dan merupakan salah satu penanda prognostik yang paling berguna untuk memantau progresivitas dan kelangsungan hidup pada pasien berbagai jenis kanker.¹⁵ Peningkatan MVD telah menunjukkan korelasi dengan prognosis yang lebih buruk pada berbagai jenis kanker.¹⁸ Alasan mengapa parameter ini penting untuk diketahui lebih lanjut adalah untuk mencari informasi penting hubungannya dengan karakteristik klinikohistopatologi tumor dan membantu dalam hal pengujian terapi antiangiogenik.¹⁹

Penelitian terkait hubungan sub tipe molekuler pada *diffuse large B cell lymphoma* dengan *microvessel density* di Bagian Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya/RSUP Dr. Mohammad Hoesin Palembang hingga saat ini belum pernah dilakukan sehingga peneliti tertarik untuk melakukan penelitian tersebut. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui hubungan sub tipe molekuler dan karakteristik klinikohistopatologi lainnya pada jaringan tumor DLBCL dengan *microvessel density* yang berkemungkinan dapat dijadikan sebagai referensi dalam penanda prognostik pada masa depan, membantu para klinisi dalam menjadikan MVD sebagai terget terapi, dan membantu kepentingan terapi yang berguna untuk pasien DLBCL di RSUP Dr. Mohammad Hoesin Palembang. Penelitian ini juga diharapkan dapat bermanfaat dan menjadi dasar bagi berbagai penelitian pada masa mendatang.

1.2 Rumusan Masalah

1.2.1 Rumusan Masalah Umum

Angiogenesis pada *tumor microenvironment* (TME) berbagai jenis kanker, termasuk DLBCL, berperan dalam progresivitas dan kelangsungan hidup pasien dan dapat diamati dan diukur secara semikuantitatif melalui *microvessel density* (MVD). Pada berbagai jenis kanker, peningkatan MVD menunjukkan korelasi dengan prognosis yang buruk. Pemeriksaan imunohistokimia (IHK) menggunakan *marker* anti-CD34 merupakan salah satu cara yang lebih akurat dalam mengamati angiogenesis pada TME. Belum adanya penelitian mengenai hubungan karakteristik klinikohistopatologi DLBCL dengan MVD merupakan dasar dilakukannya penelitian ini.

Rumusan masalah penelitian ini adalah bagaimana hubungan sub tipe molekuler dan karakteristik klinikohistopatologi lainnya pada pasien DLBCL dengan MVD di Bagian Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya/RSUP Dr. Mohammad Hoesin Palembang periode 2017 – 2021?

1.2.2 Rumusan Masalah Khusus

1. Bagaimana pola atau karakteristik *microvessel density* yang dianalisis secara imunohistokimia dengan menggunakan *marker* anti-CD34 pada jaringan DLBCL di Bagian Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya/RSUP Dr. Mohammad Hoesin Palembang periode 2017 – 2021?
2. Bagaimana distribusi karakteristik klinikohistopatologi pada pasien DLBCL yang meliputi usia, jenis kelamin, lokasi tumor, varian morfologis, dan sub tipe molekuler di Bagian Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya/RSUP Dr. Mohammad Hoesin Palembang periode 2017 – 2021?
3. Bagaimana analisis terhadap hubungan sub tipe molekuler dan karakteristik klinikohistopatologi lainnya pada pasien DLBCL yang meliputi usia, jenis kelamin, lokasi tumor, dan varian morfologis dengan *microvessel density* di Bagian Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya/RSUP Dr. Mohammad Hoesin Palembang periode 2017 – 2021?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Mengetahui hubungan antara sub tipe molekuler dan karakteristik klinikohistopatologi lainnya pada pasien DLBCL dengan *microvessel density* di Bagian Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya/RSUP Dr. Mohammad Hoesin Palembang periode 2017 – 2021.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Mengetahui pola atau karakteristik *microvessel density* yang dianalisis secara imunohistokimia dengan menggunakan *marker* anti-CD34 pada jaringan DLBCL di Bagian Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya/RSUP Dr. Mohammad Hoesin Palembang periode 2017 – 2021.

2. Mengetahui distribusi karakteristik klinikohistopatologi pada pasien DLBCL yang meliputi usia, jenis kelamin, lokasi tumor, varian morfologis, dan sub tipe molekuler di Bagian Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya/RSUP Dr. Mohammad Hoesin Palembang periode 2017 – 2021.
3. Menganalisis dan mengetahui hubungan sub tipe molekuler dan karakteristik klinikohistopatologi lainnya pada pasien DLBCL yang meliputi usia, jenis kelamin, lokasi tumor, varian morfologis dengan *microvessel density* di Bagian Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya/RSUP Dr. Mohammad Hoesin Palembang periode 2017 – 2021.

1.4 Hipotesis

Hipotesis dalam penelitian ini adalah terdapat hubungan yang bermakna atau signifikan antara sub tipe molekuler dan karakteristik klinikohistopatologi lainnya pada pasien DLBCL dengan *microvessel density*.

1.5 Manfaat Penelitian

1.5.1 Manfaat Teoretis

1. Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai referensi mengenai penelitian hubungan sub tipe molekuler dan karakteristik klinikohistopatologi lain pada pasien DLBCL dengan *microvessel density* di bagian patologi anatomi seluruh institusi kedokteran di Indonesia.
2. Hasil penelitian ini diharapkan dapat dikembangkan di masa mendatang dalam penelitian hubungan karakteristik klinikohistopatologi pada pasien DLBCL dengan *microvessel density* khususnya di Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya/RSUP Dr. Mohammad Hoesin Palembang.

1.5.2 Manfaat Praktis

Hasil penelitian ini diharapkan dapat dijadikan sebagai sumber informasi tambahan bagi klinisi dalam hal memprediksi prognosis dan dasar pemberian terapi bagi pasien DLBCL.

DAFTAR PUSTAKA

1. Zain J, Kwak LW. Management of Lymphomas: A Case-Based Approach. Zain J, Kwak LW, editors. Cham: Springer Nature; 2017. undefined.
2. Owens C, Younes A. Handbook of Lymphoma. Younes A, editor. Switzerland: Springer International Publishing; 2016. undefined.
3. Mugnaini EN, Ghosh N. Lymphoma. Primary Care - Clinics in Office Practice. 2016 Dec 1;43(4):661–75.
4. Thandra KC, Barsouk A, Saginala K, Padala SA, Barsouk A, Rawla P. Epidemiology of non-Hodgkin's lymphomas. Medical Sciences. 2021;9(5):267–75.
5. Li S, Young KH, Medeiros LJ. Diffuse large B-cell lymphoma. Pathology. 2018 Jan 1;50(1):74–87.
6. Solimando AG, Annese T, Tamma R, Ingravallo G, Maiorano E, Vacca A, et al. New insights into diffuse large b-cell lymphoma pathobiology. Vol. 12, Cancers. MDPI AG; 2020. p. 1–22.
7. Suzumiya J. Current status and progress of lymphoma research in East Asian countries: Introduction and planning. International Journal of Hematology. 2018 Apr 1;107(4):392–4.
8. Boltežar L, Prevodnik VK, Perme MP, Gašljević G, Novaković BJ. Comparison of the algorithms classifying the ABC and GCB subtypes in diffuse large B-cell lymphoma. Oncology Letters. 2018 May 1;15(5):6903–12.
9. Hunter E, McCord R, Ramadass AS, Green J, Westra JW, Mundt K, et al. Comparative molecular cell-of-origin classification of diffuse large B-cell lymphoma based on liquid and tissue biopsies. Translational Medicine Communications. 2020 Dec;5(1).
10. Miao Y, Medeiros LJ, Li J, Young KH. Diffuse large B-cell lymphoma with molecular variations more than ABC and GCB classification. Precision Cancer Medicine. 2018;1:4–4.
11. Nayak P, Desai D, Pandit S, Rai N. Centroblastic variant of diffuse large B-cell lymphoma: Case report and review of literature. Journal of Oral and Maxillofacial Pathology. 2013 May;17(2):261–5.
12. Cioroianu AI, Stinga PI, Sticlaru L, Cioplea MD, Nichita L, Popp C, et al. Tumor Microenvironment in Diffuse Large B-Cell Lymphoma: Role and Prognosis. Analytical Cellular Pathology. 2019;2019.
13. Wang M, Zhao J, Zhang L, Wei F, Lian Y, Wu Y, et al. Role of tumor microenvironment in tumorigenesis. Journal of Cancer. 2017;8(5):761.
14. Passos Paschoal J, Bernardo V, Henriques Silva Canedo N, Damasceno Ribeiro O, Caroli-Bottino A, Lucia Pannain V. Microvascular density of regenerative nodule to small hepatocellular carcinoma by automated analysis using CD105 and CD34 immunoexpression. BMC Cancer. 2014;14(72).
15. Miyata Y, Mitsunari K, Asai A, Takehara K, Mochizuki Y, Sakai H. Pathological Significance and prognostic role of microvessel density, evaluated Using CD31, CD34, and CD105 in prostate cancer patients after

- radical prostatectomy with neoadjuvant therapy. *The Prostate*. 2015 Jan 1;75(1):84–91.
16. Yulianti H, Hernowo BS. Hubungan Imunoekspresi CD34 dengan Gradasi dan Stadium (Duke) pada Adenokarsinoma Kolorektal. *Majalah Kedokteran Bandung* . 2013;45(4):240–4.
 17. Naeim F, Nagesh Rao P, Song SX, Phan RT. Principles of Immunophenotyping. In: *Atlas of Hematopathology*. Elsevier; 2018. p. 29–56.
 18. Radzikowska J, Krzeski A, Czarnecka AM, Klepacka T, Rychlowska-Pruszyńska M, Raciborska A, et al. Endoglin Expression and Microvessel Density as Prognostic Factors in Pediatric Rhabdomyosarcoma. *Journal of Clinical Medicine*. 2021 Feb 1; 10(3):512.
 19. Sucheta, Kataria SP, Malik S, Yadav R, Kapil R, Sen R. Histomorphological and Morphometric Evaluation of Microvessel Density in Nodal Non-Hodgkin Lymphoma Using CD34 and CD105. *Journal of Laboratory Physicians*. 2021 Mar 22;13(01):022–8.
 20. Saladin. *Saladin: Anatomy & Front Matter Physiology: The Unity of Form and Function, Fifth Edition*. In: 5th ed. United States of America: McGraw-Hill; 2010. p. 817–28.
 21. Tortora GJ, Derrickson B. *Principles of Anatomy and Physiology 14th Edition*. In: 14th ed. United States of America: John Wiley & Sons Inc.; 2014. p. 800–10.
 22. Tate P. Seeley's *Principles of Anatomy and Physiology Second Edition*. In: 2nd ed. New York: McGraw-Hill; 2012. p. 570–9.
 23. Snell R. *Anatomi Klinis Berdasarkan Sistem*. Jakarta: EGC; 2008. 264–273.
 24. Gartner L, Hiatt J. *Color Textbook of Histology Third Edition*. 3rd ed. Philadelphia: Saunders Elsevier; 2007. 287–301.
 25. Mescher A. *Junqueira's Basic Histology Text & Atlas 13th Edition*. 13th ed. New York: McGraw-Hill Education; 2013. 251–254.
 26. Drake R, Vogl W, Mitchell A. *Gray's Basic Anatomy*. Philadelphia: Elsevier Churchill Livingstone; 2012. 115–172.
 27. Sherwood L. *Introduction to Human Physiology 8th Edition*. In: 8th ed. China: Brooks/Cole, Cengage Learning; 2013. p. 437–8.
 28. Hall JE. *Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology Twelfth Edition*. In: 12th ed. Philadelphia: Saunders Elsevier; 2011. p. 186–7.
 29. Keohane EM, Otto CN, Walenga JM. *Rodak's Hematology : Clinical Principles and Applications, Sixth Edition*. In: 6th ed. Missouri: Elsevier; 2020. p. 129–31.
 30. Turgeon ML. *Clinical Hematology Theory and Procedures Fifth Edition*. In: Sabatini P, editor. 5th ed. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins; 2012. p. 270–4.
 31. Bhattacharya M. *Understanding B Lymphocyte Development: A Long Way to Go*. In: *Lymphocytes*. IntechOpen; 2019. p. 41–4.
 32. Greer JP, Rodgers GM, Glader B, Arber DA, Means Jr. RT, List AF, et al. *Wintrobe's Clinical Hematology 14th Edition*. 14th ed. Philadelphia: Wolters Kluwer; 2019.

33. Tsai DY, Hung KH, Chang CW, Lin KI. Regulatory Mechanisms of B Cell Responses and The Implication in B Cell-related Diseases. *Journal of Biomedical Science*. 2019 Sep 1;26(1).
34. Krangel M. Gene segment selection in V(D)J recombination: accessibility and beyond. *Nature immunology*. 2003 Jul 1;4(7):624–30.
35. Chung J, Silverman M, Monroe J. Transitional B cells: step by step towards immune competence. *Trends in immunology*. 2003 Jun 1;24(6):342–8.
36. Phan TG, Paus D, Chan TD, Turner ML, Nutt SL, Basten A, et al. High affinity germinal center B cells are actively selected into the plasma cell compartment. *Journal of Experimental Medicine*. 2006 Oct;203(11):2419–24.
37. Nutt S, Hodgkin P, Tarlinton D, Corcoran L. The generation of antibody-secreting plasma cells. *Nature reviews Immunology*. 2015 Feb 20;15(3):160–71.
38. Kurosaki T, Kometani K, Ise W. Memory B cells. *Nature Reviews Immunology* 2015 15:3. 2015 Feb 13;15(3):149–59.
39. Nogai H, Dörken B, Lenz G. Pathogenesis of non-Hodgkin's lymphoma. *Journal of Clinical Oncology*. 2011 May 10;29(14):1803–11.
40. Raghavan SC, Swanson PC, Wu X, Hsieh CL, Lieber ML. A non-B-DNA structure at the Bcl-2 major breakpoint region is cleaved by the RAG complex. *Nature*. 2004 Mar 4;428(6978):88–93.
41. Nardini E, Aiello A, Giardini R, Colnaghi MI, Ménard S, Balsari A. Detection of aberrant isotype switch recombination in low-grade and high-grade gastric MALT lymphomas. *Blood*. 2000 Feb 1;95(3):1032–8.
42. Setiati S, Alwi I, Sudoyo AW, Simadibrata K. M, Setiyohadi B, Syam AF. *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam Edisi Keenam Jilid III*. In: 6th ed. Jakarta: InternaPublishing; 2014. p. 2583–986.
43. Singh R, Shaik S, Negi B, Rajguru J, Patil P, Parihar A, et al. Non-Hodgkin's lymphoma: A review. *Journal of Family Medicine and Primary Care*. 2020;9(4):1834.
44. Ansell SM. Non-Hodgkin Lymphoma: Diagnosis and Treatment. In: *Mayo Clinic Proceedings*. Elsevier Ltd; 2015. p. 1152–63.
45. Rajendran R, Sivapathasundharam B. Benign and Malignant Tumors of Cavity. In: *Shafer's Textbook of Oral Pathology 6th Edition*. 6th ed. Elsevier India; 2009. p. 173-undefined.
46. National Cancer Institute. Cancer Stat Facts: Non-Hodgkin Lymphoma. 2021 [cited 2021 Jul 13]. Available from: <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/nhl.html>
47. Kumar V, Shrivastava SM, Meghal T, Chandra BA. Recent Advances in Diffuse Large B Cell Lymphoma. In: *Hematology - Latest Research and Clinical Advances*. InTech; 2018. p. 39–62.
48. Maria PA, Rotaru I, Surlin V, Patrascu S. Diffuse Large B-Cell Lymphoma. In 2019. p. 1–9. Available from: www.intechopen.com
49. Kumar V, Abbas AK, Aster JC. *Robbins Basic Pathology Ninth Edition*. In: 9th ed. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2013. p. 436-undefined.
50. Gouveia GR, Siqueira SAC, Pereira J. Pathophysiology and molecular aspects of diffuse large B-cell lymphoma. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*. 2012;34(6):447–51.

51. Chen B-J, Fend F, Campo E, Quintanilla-Martinez L. Aggressive B-cell lymphomas—from morphology to molecular pathogenesis. *Annals of Lymphoma*. 2019 Jan;3:1–1.
52. Lenz G, Salles G. Hematologic Malignancies Series: Aggressive Lymphomas. In Cham: The Springer; 2019. p. 42–54.
53. Schneider C, Pasqualucci L, Dalla-Favera R. Molecular pathogenesis of diffuse large B-cell lymphoma. *Seminars in Diagnostic Pathology*. 2011 May;28(2):167–77.
54. Pasqualucci L, Dalla-Favera R. The Genetic Landscape of Diffuse Large B-Cell Lymphoma. In: *Seminars in Hematology*. W.B. Saunders; 2015. p. 67–76.
55. Klein U, Dalla-Favera R. Germinal centres: Role in B-cell physiology and malignancy. *Nature Reviews Immunology*. 2008 Jan;8(1):22–33.
56. Kuppers R, Dalla-Favera R. Mechanisms of chromosomal translocations in B cell lymphomas. *Oncogene*. 2001;20:5580–94.
57. Lenz G, Nagel I, Siebert R, Roschke A v., Sanger W, Wright GW, et al. Aberrant immunoglobulin class switch recombination and switch translocations in activated B cell-like diffuse large B cell lymphoma. *Journal of Experimental Medicine*. 2007 Mar 19;204(3):633–43.
58. Pasqualucci L, Bhagat G, Jankovic M, Compagno M, Smith P, Muramatsu M, et al. AID is required for germinal center-derived lymphomagenesis. *Nature Genetics*. 2008 Jan;40(1):108–12.
59. Ramiro AR, Jankovic M, Eisenreich T, Difilippantonio S, Chen-Kiang S, Muramatsu M, et al. AID Is Required for c-myc/IgH Chromosome Translocations In Vivo. *Cell*. 2004;118:431–8.
60. Pasqualucci L, Neumeister P, Goossens T, Nanjangud G, Chaganti RS, Küppers R, et al. Hypermutation of multiple proto-oncogenes in B-cell diffuse large-cell lymphomas. *Nature*. 2001 Jul 19;412(6844):341–6.
61. Pasqualucci L, Migliazza A, Basso K, Houldsworth J, Chaganti RS, Dalla-Favera R. Mutations of the BCL6 proto-oncogene disrupt its negative autoregulation in diffuse large B-cell lymphoma. *Blood*. 2003 Apr 15;101(8):2914–23.
62. Wang X, Li Z, Naganuma A, Ye BH. Negative autoregulation of BCL-6 is bypassed by genetic alterations in diffuse large B cell lymphomas. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2002 Nov 12;99(23):15018–23.
63. Montesinos-Rongen M, van Roost D, Schaller C, Wiestler OD, Deckert M. Primary diffuse large B-cell lymphomas of the central nervous system are targeted by aberrant somatic hypermutation. *Blood*. 2004 Mar 1;103(5):1869–75.
64. Pasqualucci L, Dominguez-Sola D, Chiarenza A, Fabbri G, Grunn A, Trifonov V, et al. Inactivating mutations of acetyltransferase genes in B-cell lymphoma. *Nature*. 2011 Mar 10;471(7337):189–96.
65. Koya J, Kataoka K. More accurate prognostic prediction in diffuse large B-cell lymphoma: beyond cell-of-origin. Vol. 29, *Annals of Oncology*. Oxford University Press; 2018. p. 2282–4.

66. Martelli M, Ferreri AJM, Agostinelli C, di Rocco A, Pfreundschuh M, Pileri SA. Diffuse large B-cell lymphoma. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*. 2013 Aug;87(2):146–71.
67. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of Cancer: The Next Generation. *Cell*. 2011 Mar 4;144(5):646–74.
68. Fowler NH, Cheah CY, Gascoyne RD, Gribben J, Neelapu SS, Ghia P, et al. Role of the tumor microenvironment in mature B-cell lymphoid malignancies. *Haematologica*. 2016 Apr 30;101(5):531–40.
69. Truffi M, Sorrentino L, Corsi F. Fibroblasts in the Tumor Microenvironment. *Advances in experimental medicine and biology*. 2020;1234:15–29.
70. Anderson NM, Simon MC. The tumor microenvironment. Vol. 30, *Current Biology*. 2020.
71. O’Sullivan T, Saddawi-Konefka R, Vermi W, Koebel CM, Arthur C, White JM, et al. Cancer immunoediting by the innate immune system in the absence of adaptive immunity. *The Journal of Experimental Medicine*. 2012 Sep;209(10):1869.
72. Aggarwal D, Srivastava G, Gupta R, Pant L, Krishan G, Singh S. Angiogenesis in Non-Hodgkin’s Lymphoma: An Intercategory Comparison of Microvessel Density. *ISRN Hematology*. 2012 Mar 27;2012:1–5.
73. Jørgensen JM, Sørensen FB, Bendix K, Nielsen JL, Olsen ML, Funder AMD, et al. Angiogenesis in non-Hodgkin’s lymphoma: Clinicopathological correlations and prognostic significance in specific subtypes. *Leukemia and Lymphoma*. 2007 Mar;48(3):584–95.
74. Carmeliet P. VEGF as a key mediator of angiogenesis in cancer. *Oncology*. 2005 Nov;69(SUPPL. 3):4–10.
75. Brahimi-Horn C, Pouyssegur J. The role of the hypoxia-inducible factor in tumor metabolism growth and invasion. *Bulletin du Cancer*. 2006;93(8):73–80.
76. Takahashi H, Shibuya M. The vascular endothelial growth factor (VEGF)/VEGF receptor system and its role under physiological and pathological conditions. *Clinical Science*. 2005 Sep 1;109(3):227–41.
77. Olsson AK, Dimberg A, Kreuger J, Claesson-Welsh L. VEGF receptor signalling - in control of vascular function. *Nature reviews Molecular cell biology*. 2006 May;7(5):359–71.
78. Frentzas S, Lum C, Chen T-Y. Angiogenesis and Its Role in the Tumour Microenvironment: A Target for Cancer Therapy. In 2020. p. 1–3.
79. Nelson AR, Fingleton B, Rothenberg ML, Matrisian LM. Matrix metalloproteinases: biologic activity and clinical implications. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 2000;18(5):1135–49.
80. Abramsson A, Lindblom P, Betsholtz C. Endothelial and nonendothelial sources of PDGF-B regulate pericyte recruitment and influence vascular pattern formation in tumors. *Journal of Clinical Investigation*. 2003 Oct 15;112(8):1142.
81. Gratzinger D, Zhao S, Marinelli RJ, Kapp A v., Tibshirani RJ, Hammer AS, et al. Microvessel density and expression of vascular endothelial growth factor and its receptors in diffuse large B-cell lymphoma subtypes. *American Journal of Pathology*. 2007;170(4):1362–9.

82. Szafarowski T, Sierdzinski J, Szczepanski MJ, Whiteside TL, Ludwig N, Krzeski A. Microvessel density in head and neck squamous cell carcinoma. *European Archives of Oto-Rhino-Laryngology*. 2018 Jul 1;275(7):1845–51.
83. Septiawati T, Bagus I, Wibawa Manuaba T, Anda P, Adiputra T. Hubungan antara Microvessel Density dan Lymphovascular Invasion dengan metastasis jauh pada pasien kanker payudara di RSUP Sanglah, Bali, Indonesia. *DiscoverSys | Intisari Sains Medis*. 2020;11(3):1436–42.
84. Chand R, Chandra H, Chandra S, Verma SK. Role of Microvessel Density and Vascular Endothelial Growth Factor in Angiogenesis of Hematological Malignancies. *Bone Marrow Research*. 2016 Feb 22;2016:1–4.
85. Wu Y, Du K, Guan W, Wu D, Tang H, Wang N, et al. A novel definition of microvessel density in renal cell carcinoma: Angiogenesis plus vasculogenic mimicry. *Oncology Letters*. 2020 Nov 1;20(5).
86. Kim SW, Roh J, Park CS. Immunohistochemistry for pathologists: Protocols, pitfalls, and tips. *Journal of Pathology and Translational Medicine*. 2016;50(6):411–8.
87. Magaki S, Hojat SA, Wei B, So A, Yong WH. An introduction to the performance of immunohistochemistry. *Methods in Molecular Biology*. 2019;1897:289–98.
88. Kabiraj A, Gupta J, Khaitan T, Bhattacharya P. PRINCIPLE AND TECHNIQUES OF IMMUNOHISTOCHEMISTRY – A REVIEW. *International Journal of Biological & Medical Research*. 2015;6(3):5204–10.
89. Schacht V, Kern JS. Basics of immunohistochemistry. *Journal of Investigative Dermatology*. 2015 Mar 12;135(3):e30.
90. O’Hurley G, Sjöstedt E, Rahman A, Li B, Kampf C, Pontén F, et al. Garbage in, garbage out: A critical evaluation of strategies used for validation of immunohistochemical biomarkers. Vol. 8, *Molecular Oncology*. John Wiley and Sons Ltd; 2014. p. 783–98.
91. Dabbs D. *Diagnostic Immunohistochemistry: Theranostic and Genomic Application*. 4th ed. St. Louis: Saunders Elsevier; 2014.
92. Pereira T, Dodal S, Tamgadge A, Bhalariao S, Tamgadge S. Quantitative evaluation of microvessel density using CD34 in clinical variants of ameloblastoma: An immunohistochemical study. *Journal of Oral and Maxillofacial Pathology*. 2016 Jan 1;20(1):51–8.
93. Agnani B, Solanki R, Ansari M, Agnani S. Prognostic Significance of Microvessel Density as Assessed by anti CD34 Monoclonal Antibody in Invasive Ductal Carcinoma of Breast. *Asian Pacific Journal of Cancer Biology*. 2020;5(3):75–9.
94. Marsela Tarius J, Istiadi H, Pawitra Miranti I, Rahmania Eka Dini I. THE CORRELATION BETWEEN CELL OF ORIGIN SUBTYPE WITH OVERALL SURVIVAL OF DIFFUSE LARGE B-CELL LYMPHOMA PATIENTS IN KARIADI GENERAL HOSPITAL SEMARANG. *Diponegoro Medical Journal*. 2020;9(3):252–8.
95. Smith A, Roman E, Howell D, Jones R, Patmore R, Jack A. The haematological malignancy research network (HMRN): A new information strategy for population based epidemiology and health service research. *British Journal of Haematology*. 2010 Mar;148(5):739–53.

96. Mozaheb Z. Epidemiology of Lymphoid Malignancy in Asia. In: *Epidemiology Insights*. InTech; 2012. p. 325–54.
97. Intragumtornchai T, Bunworasate U, Wudhikarn K, Lekhakula A, Julamanee J, Chansung K, et al. Non-Hodgkin lymphoma in South East Asia: An analysis of the histopathology, clinical features, and survival from Thailand. *Hematological Oncology*. 2018 Feb 1;36(1):28–36.
98. Gao Y, Cao Y, Tan A, Liao C, Mo Z, Gao F. Glutathione S-Transferase M1 Polymorphism and Sporadic Colorectal Cancer Risk: An Updating Meta-Analysis and HuGE Review of 36 Case-Control Studies. *Annals of Epidemiology*. 2010 Feb;20(2):108–21.
99. Cocco P, Zucca M, Sanna S, Satta G, Nonne T, Angelucci E, et al. N-acetyltransferase polymorphisms are associated with risk of lymphoma subtypes. *Hematological Oncology*. 2016 Jun 1;34(2):79–83.
100. Ambinder RF, Browning PJ, Lorenzana L, Leventhal BG, Cosenza H, Mann RB, et al. Epstein-Barr Virus and Childhood Hodgkin's Disease in Honduras and the United States. *Blood*. 1993;81(2):462–7.
101. Abid MB, Nasim F, Anwar K, Pervez S. Diffuse Large B Cell Lymphoma (DLBCL) in Pakistan: An Emerging Epidemic? *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*. 2005;6:531–4.
102. Sarkozy C, Salles G, Falandry C. The Biology of Aging and Lymphoma: a Complex Interplay. Vol. 17, *Current Oncology Reports*. Current Medicine Group LLC 1; 2015 Jul.
103. Hedström G, Peterson S, Berglund M, Jerkeman M, Enblad G. Male gender is an adverse risk factor only in young patients with diffuse large B-cell lymphoma—a Swedish population-based study. *Acta Oncologica*. 2015 Jun 1;54(6):924–32.
104. Kim H, Lim H, Moon A. Sex Difference in Cancer: Epidemiology, Genetics, and Therapy. *Biomolecules and Therapeutics*. 2018;26(4):335–42.
105. Do TN, Ucisik-Akkaya E, Davis CF, Morrison BA, Dorak MT. An intronic polymorphism of IRF4 gene influences gene transcription in vitro and shows a risk association with childhood acute lymphoblastic leukemia in males. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease*. 2010 Feb;1802(2):292–300.
106. Shi Y, Han Y, Yang J, Liu P, He X, Zhang C, et al. Clinical features and outcomes of diffuse large B-cell lymphoma based on nodal or extranodal primary sites of origin: Analysis of 1,085 WHO classified cases in a single institution in China. *Chinese Journal of Cancer Research*. 2019;31(1):152–61.
107. Cardesa-Salzmann TM, Colomo L, Gutierrez G, Chan WC, Weisenburger D, Climent F, et al. High microvessel density determines a poor outcome in patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with rituximab plus chemotherapy. *Haematologica*. 2011 Jul;96(7):996–1001.
108. Guttman D, Stern Y, Shpitzer T, Ulanovski D, Druzd T, Feinmesser R. Expression of MMP-9, TIMP-1, CD-34 and factor-8 as prognostic markers for squamous cell carcinoma of the tongue. *Oral Oncology*. 2004 Sep;40(8):798–803.
109. Ascani G, Balercia P, Messi M, Lupi L, Goteri G, Filosa A, et al. Angiogenesis in oral squamous cell carcinoma Angiogenesi nel carcinoma

- squamocellulare della cavità orale. Vol. 25, ACTA OTORHINOLARYNGOL ITAL. 2005.
110. Sugita Y, Takase Y, Mori D, Tokunaga O, Nakashima A, Shigemori M. Endoglin (CD 105) is expressed on endothelial cells in the primary central nervous system lymphomas and correlates with survival. *Journal of Neuro-Oncology*. 2007 May;82(3):249–56.
 111. Akagi K, Ikeda Y, Sumiyoshi Y, Kimura Y, Kinoshita J, Miyazaki M, et al. Estimation of angiogenesis with anti-CD 105 immunostaining in the process of colorectal cancer development. *Surgery*. 2002;131(1 SUPPL.).
 112. Tanaka F, Otake Y, Yanagihara K, Kawano Y, Miyahara R, Li M, et al. Evaluation of Angiogenesis in Non-small Cell Lung Cancer: Comparison between Anti-CD34 Antibody and Anti-CD105 Antibody 1. 2001.
 113. Yao Y, Pan Y, Chen J, Sun X, Qiu Y, Ding Y. Endoglin (CD105) Expression in Angiogenesis of Primary Hepatocellular Carcinomas: Analysis using Tissue Microarrays and Comparisons with CD34 and VEGF. 2007.
 114. Kumar S, Ghellal A, Li C, Byrne G, Haboubi N, Wang JM, et al. Breast Carcinoma: Vascular Density Determined Using CD105 Antibody Correlates with Tumor Prognosis 1. Vol. 59, *CANCER RESEARCH*. 1999.
 115. Abdou AG, Asaad N, Kandil M, Shabaan M, Shams A. Significance of stromal-1 and stromal-2 signatures and biologic prognostic model in diffuse large B-cell lymphoma. *Cancer Biology & Medicine*. 2017;14(2):151–61.
 116. Wulandari G, Paramita D, Hutajulu S. CORRELATION BETWEEN MICROVESSEL DENSITY WITH CLINICOPATHOLOGY PROFILE IN PATIENTS WITH COLORECTAL CANCER. 2016.
 117. Jureidini R, da Cunha JEM, Takeda F, Namur GN, Ribeiro TC, Patzina R, et al. Evaluation of microvessel density and p53 expression in pancreatic adenocarcinoma. *Clinics*. 2016 Jun 1;71(6):315–9.
 118. Moriya J, Minamino T. Angiogenesis, Cancer, and Vascular Aging. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*. 2017 Oct 24;4.
 119. Ferrara N, Gerber H, LeCouter J. The biology of VEGF and its receptors. *Nature Medicine*. 2003;9(6):669–76.
 120. Eichmann A, Simons M. VEGF signaling inside vascular endothelial cells and beyond. *Current Opinion in Cell Biology*. 2012 Apr;24(2):188–93.
 121. Ferrara N. VEGF-A: A critical regulator of blood vessel growth. *European Cytokine Network*. 2009 Dec;20(4):158–63.
 122. Wagatsuma A. Effect of aging on expression of angiogenesis-related factors in mouse skeletal muscle. *Experimental Gerontology*. 2006 Jan;41(1):49–54.
 123. Ryan NA, Zwetsloot KA, Westerkamp LM, Hickner RC, Pofahl WE, Gavin TP. Lower skeletal muscle capillarization and VEGF expression in aged vs. young men. *J Appl Physiol*. 2006;100:178–85.
 124. Croley AN, Zwetsloot KA, Westerkamp LM, Ryan NA, Pendergast AM, Hickner RC, et al. Lower capillarization, VEGF protein, and VEGF mRNA response to acute exercise in the vastus lateralis muscle of aged vs. young women. *J Appl Physiol*. 2005;99:1872–9.
 125. Rivard A, Berthou-Soulie L, Principe N, Kearney M, Curry C, Branellec D, et al. Age-dependent defect in vascular endothelial growth factor expression is associated with reduced hypoxia-inducible factor 1 activity. *Journal of Biological Chemistry*. 2000 Sep 22;275(38):29643–7.

126. Ahluwalia A, Narula J, Jones M, Deng X, Tarnawski A. IMPAIRED ANGIOGENESIS IN AGING MYOCARDIAL MICROVASCULAR ENDOTHELIAL CELLS IS ASSOCIATED WITH REDUCED IMPORTIN α AND DECREASED NUCLEAR TRANSPORT OF HIF1 α : MECHANISTIC IMPLICATIONS. *Journal of Physiology and Pharmacology*. 2010;61(2):133–9.
127. Sieveking DP, Lim P, Chow RWY, Dunn LL, Bao S, McGrath KCY, et al. A sex-specific role for androgens in angiogenesis. *Journal of Experimental Medicine*. 2010 Feb 15;207(2):345–52.
128. Rubin JB, Lagas JS, Broestl L, Sponagel J, Rockwell N, Rhee G, et al. Sex differences in cancer mechanisms. *Biology of Sex Differences*. 2020 Apr 15;11(1).
129. Veselá P, Tonar Z, Šálek D, Vokurka S, Trněný M, Kodet R, et al. Microvessel density of mantle cell lymphoma. A retrospective study of its prognostic role and the correlation with the Ki-67 and the mantle cell lymphoma international prognostic index in 177 cases. *Virchows Archiv*. 2014 Nov 1;465(5):587–97.