

**T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**DEÜTF HASTANESİ HEMATOLOJİ BİLİM DALI'NDA 2005-2015
YILLARI ARASINDA KLL TANISI ALMIŞ HASTALARIN
SİTOGENETİK / FISH VE KLİNİK VERİLERİNİN RETROSPEKTİF
DEĞERLENDİRİLMESİ**

**DR. SÜHEYLA ARSLAN
İÇ HASTALIKLARI UZMANLIK TEZİ**

İZMİR 2016

**T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**DEÜTF HASTANESİ HEMATOLOJİ BİLİM DALI'NDA 2005-2015
YILLARI ARASINDA KLL TANISI ALMIŞ HASTALARIN
SİTOGENETİK / FISH VE KLİNİK VERİLERİNİN RETROSPEKTİF
DEĞERLENDİRİLMESİ**

**DR. SÜHEYLA ARSLAN
İÇ HASTALIKLARI UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. İNCİ ALACACIOĞLU**

İZMİR 2016

İÇİNDEKİLER

Önsöz ve Teşekkür	ii
Tablolar Listesi	iii
Resim Listesi	iv
Şekiller Listesi.....	v
Simgeler/Kısaltmalar Listesi	vi
Özet.....	1
Summary	2
1. GİRİŞ VE AMAÇ	3
2. GENEL BİLGİLER.....	5
2.1. Kronik Lenfositik Lösemi (KLL).....	5
2.1.1.B Hücrelerinin Gelişimi	5
2.1.2. Tanım.....	5
2.1.3 Epidemiyoloji	6
2.1.4. Etiyoloji	6
2.1.5. KLL Biyolojisi Ve Genetiği.....	7
2.1.6 Klinik.....	8
2.1.7 Laboratuvar	9
2.1.8.Tanı.....	13
2.1.9. Ayırıcı Tanı	14
2.1.10 Evreleme.....	16
2.1.11 Prognoz.....	17
2.1.12 KLL’de Kromozom Anormallikleri Ve Prognositik Önemleri.....	21
2.1.13 Tedavi	24
3. GEREÇ VE YÖNTEM	33
4. İSTATİKSEL ANALİZ	34
5. BULGULAR	35
6. TARTISMA.....	47
7. SONUÇ VE ÖNERİLER	51
8. KAYNAKLAR	52

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın planlanması ve yürütülmesi aşamasında yardım ve katkılarından dolayı tez danışmanım Prof. Dr. İnci ALACACIOĞLU'na, verilere ulaşılması ve bilgi desteği nedeniyle Prof. Dr. Oğuz ALTUNGÖZ'e (DEÜTF Tıp Bilimleri Bölümü, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı), tezin oluşum aşamasından sonlanmasına dek tecrübe ve bilgilerini paylaşan Uzm. Dr. Doğuş TÜRKYILMAZ'a, Uzm.Dr. Celal ACAR'a desteklerinden dolayı aileme, dostlarıma ve her zaman yanımda olan hayat arkadaşım Dr.Seda SAFA'ya teşekkür ederim....

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1. KLL tanı kriterleri((NCIWG)	13
Tablo 2. KLL tanı kriterleri(IWCLL)	13
Tablo 3. CD19+ lenfositöz ayırıcı tanısı	15
Tablo 4. KLL'nin ayırıcı tanısında immünofenotip profil	15
Tablo 5. RAI Evreleme Sistemi	16
Tablo 6. Binet Evreleme Sistemi	17
Tablo 7. KLL' de Prognostik Faktörler	18
Tablo 8. Kronik lenfositik lösemide görülen kromozomal anormallikler	22
Tablo 9. KLL' de tedavi endikasyonları.....	25
Tablo 10. Hastaların Klinik ve Demografik Özellikleri	35
Tablo 11. Hastaların Laboratuvar Özellikleri.....	36
Tablo 12. Tanı anındaki hepatit serolojileri.....	37
Tablo 13. Hastaların Sitogenetik özellikleri	37
Tablo 14. KLL olgularının FISH bulguları	38
Tablo 15. Tedavi Endikasyonları.....	46

RESİMLER LİSTESİ

Resim 1: Periferik yaymada KLL hücreleri 11



ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1: KLL olgularının genel sağkalım analizi	39
Şekil 2: KLL hastalarının yaş gruplarına göre genel sağkalımları.....	40
Şekil 3: 65 yaş altı-65 yaş üstü sağkalım	41
Şekil 4: KLL olgularının evrelere göre sağkalımı.....	42
Şekil 5: FISH verilerine göre sağkalım.....	43
Şekil 6: B2 Mikroglobulin düzeyine göre sağkalım	44
Şekil 7: LDH düzeylerine göre sağkalım.....	45

SİMGELER / KISALTMALAR LİSTESİ

ALT	: Alanin Aminotransferaz
AST	: Aspartat Aminotransferaz
BHR	: B hücre reseptörü
CAP	: Siklofosfamid-Adriamisin-Prednizolon
CHOP	: Siklofosfamid-Adriamisin-Vinkristin-Prednizolon
Del	: Delesyon
DBBHL:	: Diffüz Büyük B hücreli Lenfoma
DEÜTF	: Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi
EBF	: Erken B Hücre Faktörü
EMA	: European Medicines Agency
FAB	: Fransız, Amerikan, İngiliz Sınıflandırma Sistemi
FC	: Fludarabin-siklofosfamid
FCR	: Fludarabin-siklofosfamid-rituksimab
FDA	: U.S. Food and Drug Administration
FISH	: Floresan In Situ Hybridizasyon
IGHV	: Immunglobulin ağır zincir değişken bölge
KLL	: Kronik Lenfositik Lösemi
LDH	: Laktat Dehidrojenaz
LDT	: Lenfosit Doubling Time
OS	: Tüm Sağkalım
MKH	: Minimal Kalıcı Hastalık
NK	: Natural Killer (Doğal Katil)
PLT	: Platelet
PTK	: Protein tirozin kinaz
SLL	: Küçük Lenfositik Lenfoma

WBC : Beyaz Kan Hücresi, Lökosit
ZAP-70 : Zeta-chain- associated protein 70



ÖZET

Amaç: Kronik lenfositik lösemi (KLL) erişkinlerde en sık görülen kronik lösemi tipidir. Farklı sitogenetik ve moleküler özellikler risk sınıflamasında ve hastalığın prognozu üzerinde önemli etkiye sahiptir. Ancak halen pekçok merkezde yeterli sitogenetik değerlendirme yapılamamaktadır. Çalışmamızda DEÜTF’de KLL tanısı almış olguların sitogenetik , FISH ve klinik özelliklerinin demografik verileri ile birlikte geriye dönük incelenmesi, sağkalım üzerine etkilerinin ve sağkalım verilerinin değerlendirilmesi amaçlandı.

Gereç ve Yöntem: 2005-2015 yılları arasında merkezimizde KLL tanısı almış ve izlemde olan 125 olgunun klinik ve demografik verileri retrospektif olarak gözden geçirildi.

Bulgular: E/K oranı 1.4/1 idi. Tanı anındaki ortalama yaş 64 (min 38- max 85) olarak saptandı. Tanı anında 84 hasta evre A (%67,2), 22 hasta evre B (%17,6), 19 hasta ise evre C (%15,2) idi. Sağkalım verileri Haziran 2016 tarihinde güncellenen hastaların medyan 40 aylık (1-137 ay) izlem sonunda 95’inin (%76) halen yaşadığı, 30’unun (%24) ise öldüğü saptandı. Seksenaltı (%68,8) hastada sitogenetik inceleme yapılamadığı, 24 hastada (%19,2) yetersiz metafaz nedeniyle sonuç alınamadığı, 10 (%8) hastanın normal sitogenetik özelliklere sahip olduğu belirlendi. 1 hastada (%0,8) , 41-46,XY,-5,-13,del(13) sitogenetik anomali saptandı. 1 hastada hiperdiploidi (%0,8), 3(%2,4) hastada da Y kromozom kaybı izlendi. Kırk aylık median izlem süresi sonunda median sağkalım süresine ulaşamadığı, ortalama sağkalım sürelerinin 103,5 ay (± 5) olduğu görüldü. 17p delesyonu bakılanlar içinde, pozitif hastalarda median sağkalım 92 ay (± 24), 17p del negatif hastalarda ise median sağkalım 108(± 24) ay olarak izlendi. 13q delesyonu olanlarda median sağkalım 96(± 22) ay, trizomi 12 pozitif hastalarda 108 ay olarak saptandı. Trizomi 12, 13q del, 17p del ve 11q del negatif olgularda (10 hasta) median sağkalıma ulaşamamış olup ortalama sağkalım 108 (± 10) aydı.

Sonuç: KLL hastalarında, tedavi aşamasında yapılan sitogenetik/FISH analizleri hastaların prognoz tayininde önemli olup, tedavi ve takibin daha iyi yapılabilmesini ve uygun tedavi seçimleri ile hastaların sağkalımı üzerine olumlu katkıda bulunulmasını sağlamaktadır. Bu nedenle tanı anında sitogenetik/FISH yapılmasına özen gösterilmelidir.

Anahtar Kelimeler: KLL, sitogenetik ve moleküler özellikler, risk sınıflaması ve prognoz

SUMMARY

Aim: Chronic lymphocytic leukemia (CLL) is the most common type of chronic leukemia in adults. Various cytogenetic and molecular features of disease has a significant impact on the prognosis and risk stratification. But still enough cytogenetic evaluation could not be performed at many centers. In this study, we aimed to evaluate cytogenetics, FISH, clinical characteristics and demographic data of our CLL cases and their effect on survival.

Material-Method: The clinical and demographic data of 125 CLL patients diagnosed between 2005-2015 were reviewed retrospectively.

Results: M / F ratio of was 1.4 / 1. The median age at time of diagnosis was 64 (min 38 max 85) . 84 patients (67.2 %) were stage A, 22 patients (17.6 %) were stage B and 19 patients (15.2%) were grade C. The survival data was updated at June 2016. Ninety-five patients (76%) were still lived, 30 (24%) were dead at the end of median 40 months (1-137 months) follow-up period. When cytogenetic examinations were reviewed, they could not be done in 86 (68.8 %) patients, sufficient metaphase can not be obtained in 24 patients (19.2 %) and normal cytogenetic features were assigned in 10 (8%) patients. One patient (0.8 %) had cytogenetic abnormality as 41- 46,XY, -5, -13 , del (13). Hyperdiploidy in 1 (0.8 %) patient , loss of the Y chromosome in 3 (2.4%) patients were observed. At the end of median 40 months follow-up time, median survival time was not reached but mean survival time was 103.5 ($\pm$ 5) months. Median survival time was 92 ($\pm$ 24) months in 17p del positive patients but 108 ($\pm$ 24) months in 17p del negative patients. Median survival times of patients with 13q deletion was 96 ($\pm$ 22) months, 108 months in patients with trisomy 12 positive. Median survival has not reached but mean survival time was 108 ($\pm$ 10) months in 10 patients with all negative (trisomy 12, 13q del, 17p del, 11q del).

Conclusion: Cytogenetic characteristics in CLL are guiding for choice of treatment and prognosis. Treatment according to cytogenetic characteristics will enable extension of their survival. So cytogenetic/FISH evaluation should be made at the beginning of treatment.

Key Words: KLL, cytogenetic and molecular features, risk stratification and prognosis

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Hematopoez birçok hematopoetik büyüme faktörü, reseptörler ve kemik iliği mikro çevresi arasındaki interaktif ilişki ve fonksiyonlar ile düzenlenmektedir(1).Myeloid ve lenfoid gruplar farklılaşırken,bu süreçte olabilen hatalar sonucunda klon olarak çoğalan hücre gruplarına bağlı olarak hastalıklar meydana gelebilmektedir.

Kronik lenfositler lösemi (KLL) daha çok B (% 95), nadiren T hücre lenfositlerin monoklonal birikimi ile karakterize bir lösemidir. Yetişkinlerde en sık görülen lösemidir. Batı toplumlarında yıllık görülme sıklığı 4/100.000' dir (1). Tanı anındaki ortalama yaş 65 olmakla birlikte sıklığı yaşla artar, 70 yaş üstü nüfus grubunda 50/100.000' e ulaşmaktadır. (21) Hastaların %15'i 50 yaşın altındadır. (23) KLL'li hastalarda erkek kadın oranı 2/1'dir. (23) Klinik gidiş ve yaşam süresi çok değişkendir. KLL tanısı alan bir hastada evresine göre tanıdan itibaren ortalama 2 ile 10 yıllık bir yaşam süresi söz konusudur. (21)

KLL'nin etyolojisi henüz aydınlatılamamıştır. Radyasyon, viral enfeksiyonlar, kimyasal ajanlar ve otoimmün hastalıkların KLL ile olan ilişkisi kanıtlanmamıştır. Birinci veya ikinci derece akrabalarda KLL öyküsü, KLL'ye yakalanma olasılığını %10'a kadar arttırmaktadır. Bu durum KLL etiyojisinde genetik faktörlerin önemli olduğunu göstermektedir (24).

KLL'de kromozomal değişikliklerin prognostik önemi bilinmesine rağmen, konvansiyonel sitogenetik çalışmalarda başarı oranı düşüktür. Çünkü KLL hücrelerinin in vitro proliferasyon yeteneği düşüktür (25). Metafaz analizlerindeki ve mikrolelesyonların tespitindeki zorluklar, farklı teknikleri gündeme getirmiştir.

KLL'de en sık görülen kromozomal anormallikler, moleküler sitogenetik olarak da adlandırılan “ Fluorescence İn Situ Hybridization (FISH)” tekniği ile yüksek oranlarda saptanabilmektedir. FISH, B-KLL hücrelerinin in vitro proliferasyon yeteneğinin düşük olması nedeniyle, kromozomal anormalliklerin sadece metafaz evresinde değil interfaz evresinde de tespit edilmesine imkan sağlamaktadır.

KLL'de tanımlanan sitogenetik anormaller oldukça fazladır.13q14 delesyonu, trizomi 12,11q22 delesyonu,17p13 delesyonu, KLL'de en sık görülen kromozomal anomalilerdir (6). Bunlar sadece tek bir tipe veya subtipi özgün sitogenetik anomaliler değildir. Bu nedenle ayırıcı tanıda sitogenetik anomalinin diğer klinik ve laboratuvar sonuçları ile birlikte değerlendirilmesi gerekir. Her olguda rutin sitogenetik analiz yapılmalı, elde edilen bulgulara göre moleküler analizler sürdürülmelidir.

Çalışmamızda sitogenetik, moleküler çalışmaların, klinik verilerin KLL'deki önemini vurgulamak için merkezimizde KLL tanısı ile izlenen hastaların sitogenetik, moleküler, klinik verilerini, sağkalım verilerini inceledik. Sitogenetik ve klinik özelliklerin sağkalım üzerine etkilerini ortaya koymayı amaçladık. Ayrıca kendi verilerimizin geriye dönük incelenmesi yoluyla literatüre ek katkı sağlanmasını hedefledik.



2.GENEL BİLGİLER

2.1. KRONİK LENFOSİTER LÖSEMİ

2.1.1. B HÜCRELERİNİN GELİŞİMİ

B lenfositler birçok kan hücre serisini canlının hayatı boyunca üretme kapasitesinde olan hematopoietik kök hücrelerden köken alırlar. İnterlökin 7 reseptörüne sahip ortak lenfoid öncüller olarak bilinen multipotent kök hücre grubu; lenfoid, miyeloid/megakaryosit/eritroid ayırımından sonraki lenfoid seri gelişimde ilk basamak olarak kabul edilmektedir (11). Lenfoid öncüller daha sonra T veya B lenfositlere dönüşürler. Lenfoid öncüllerin oluşmasından sonra B hücrelerin özelleşmesi için EBF (erken B hücre faktörü), E2A ve PAX 5 transkripsiyon faktörleri işlev görür (12).

B hücre olgunlaşması erken (antijen bağımsız) ve geç (antijen bağımlı) evrelerden oluşur. Pre B hücresinde Ig ağır zincir düzenlenmesinin ardından hafif zincir oluşumu gerçekleşir. Böylelikle yüzeyinde tam bir Ig molekülü ifadelenen olgun B hücresi oluşur ve erken-antijen bağımsız evre tamamlanmış olur. Olgun ancak antijenle karşılaşmamış naif B hücresi kemik iliğinden ayrılarak periferik lenfoid dokulara gider. Geç ya da antijen bağımlı evrede, antijenle karşılaşan B hücreleri lenf nodlarının germinal merkezlerinde toplanıp antikor sentezleyebilen B hücreleri veya bellek hücrelerine dönüşürler (10). Burada sentroblast adını alırlar, hızla bölünürler ve değişken gen bölgelerinde somatik hipermutasyon meydana gelir. Sentroblastlardan köken alan sentrositlerin artmış antijen bağlama ve yüksek afinite ile antikor üretme kapasiteleri vardır. Antijen varlığında çoğalırlar. Sentrositler plazmablastlara ya da bellek B hücrelerine (antijenle karşılaşmış B hücreleri) dönüşürler. Yeniden antijenle uyarıldıklarında, uyarıya çoğalma ya da immunoglobulin sentezi ile cevap verirler.(13)

2.1.2 TANIM

Kronik lenfositik lösemi (KLL), B veya T lenfositlerin nispeten olgun hücre döneminden köken alan, olgun görünümlü küçük lenfositlerin kan, kemik iliği, lenf bezi ve dalağı infiltre etmesi ve lenfositlerin fonksiyon bozukluğu göstermesi ile karakterize kemik iliğinin malign bir hastalığıdır (14). KLL olgularının %95'i B lenfosit kökenlidir (15).

Kronik lenfositik lösemi 1900'lü yılların başında tanınmaya başlanmış bir antite olup;

1970’lerde klinikopatolojik sınıflamalarda diffüz, düşük dereceli, B hücreli non-Hodgkin lenfomalar içinde kategorize edilmiştir. KLL ve Küçük lenfositik lenfoma (Small Lymphocytic Lymphoma-SLL) klinikopatolojik özelliklerinin benzerliği nedeniyle, 2001 WHO sınıflamasında tek bir kategori (KLL/SLL) altında toplanmıştır (16). KLL/SLL tipik olarak CD5 ve CD23 yüzey antijeni eksprese eden küçük B lenfositlerle karakterize bir malignitedir. KLL lösemik faz, SLL ise nodal veya solid faz olarak değerlendirilebilir (16,17,18). SLL ve KLL’nin aynı yaklaşımla tedavi edilmesi önerilmektedir (19).

2.1.3 EPİDEMİYOLOJİ

KLL yetişkinlerde en sık görülen lösemidir. Batı toplumlarında yıllık görülme sıklığı 4/100.000’ dir (1). Batı toplumlarının; Çin, Hindistan, Japonya gibi toplumlara göre, 20-30 kat daha fazla yakalandığı bildirilmiştir (20). A.B.D’ de her yıl yeni KLL vakasının ortaya çıkma oranı ortalama 100,000 kişide 3,5 (erkekler de 5, kadınlarda 3,5) iken, İngiltere’de bu oran her 100,000 kişide 6,15 kadardır. A.B.D’de, beyaz ırkta hastalığın görülme sıklığı siyah ırktan biraz daha yüksek iken, Asya kökenlilerden ise yaklaşık 4–5 kat daha yüksektir (26,27).

Tanı anındaki ortalama yaş 65 olmakla birlikte sıklığı yaşla artar, 70 yaş üstü nüfus grubunda 50/100.000’ e ulaşmaktadır (21). Hastaların %15’i 50 yaşın altındadır (22). KLL’li hastalarda erkek kadın oranı 2/1’dir (23). Klinik gidiş ve yaşam süresi çok değişkendir. KLL tanısı alan bir hastada evresine göre tanıdan itibaren ortalama 2 ile 10 yıllık bir yaşam süresi söz konusudur (21).

2.1.4 ETYOLOJİ

KLL’nin etyolojisi henüz aydınlatılamamıştır. Radyasyon, viral enfeksiyonlar, kimyasal ajanlar ve otoimmün hastalıkların KLL ile olan ilişkisi kanıtlanmamıştır (23). Çiftçilerde KLL insidansının diğer mesleklere göre fazla olması bitki ve böcek öldürücülerinin olası etyolojik rolünün sorgulanmasına yol açmıştır (31).

KLL çoğunlukla sporadiktir. Ancak ailesel yatkınlık belirgindir. KLL ailesel lösemiler içinde en sık rastlanan lösemi türüdür. KLL hastalarının birinci derece yakınlarında sağlıklı kontrollerin birinci dereceden yakınlarına göre herhangi bir lenfoproliferatif hastalık görülme sıklığının 2,6 kat, KLL görülme sıklığının 8,5 kat arttığı gösterilmiştir (28,29,30).

2.1.5 KLL BİYOLOJİSİ VE GENETİĞİ

KLL hücresinin normal B lenfosit gelişim sürecindeki karşılığının antijenle karşılaşmış B lenfositleri (bellek B hücreleri) olduğu öngörülmektedir. KLL kök hücresi ile ilgili kesin bir bilgi yoktur. Şu ana kadar Japonya’da yapılan bir çalışma haricinde xenogenik transplantasyonla hayvan modellerinde KLL oluşturulamamıştır (32).

Hastaların %60’ında IGHV mutasyonu mevcuttur. Hem mutasyona uğramış olanların hem de uğramayanların bellek B hücrelerinden geliştiği kabul edilmektedir. KLL patolojisinde B hücre reseptör aktivasyonu temel rol oynamaktadır. Mutasyon olmayan olgularda yüzey immunoglobülin M’e bağlanma sonrası B hücre reseptör (BHR) zincir reaksiyonları görülmekte olup, bu reaksiyonlar hücre siklusu, sitoskeletal yapılanma, ve çoğalma gibi fonksiyonları yönetmektedir. Mutasyonlu olgularda bu reaksiyon olmamakta veya daha zayıf ve geçici olarak yüzey immunoglobulin D gibi diğer B hücre reseptörlerinden reaksiyon devam etmektedir. CD38 ve ZAP-70 BHR’in uyarılmasıyla aktifleşen sinyal yolağında etkili moleküller olup, mutasyonsuz hücrelerde mutasyonlu olanlara göre anlamlı düzeyde yüksek bulunur (33,34).

KLL hastalarının %20’sinde, klonal B hücre reseptörleri belli kalıplar içinde dar bir dağılım göstermektedir. Sıklıkla immunoglobulin ağır zincir mutasyonu olmayan vakalarda bu özelliğe rastlanmaktadır (35). IGHV mutasyonlu ve mutasyonsuz olguların yaklaşık %1’inde de BHR hemen hemen aynıdır (36). Milyonlarca ihtimal olmasına rağmen, farklı hastalarda benzer BHR oluşmuş olması, otoantijen ya da etyolojide rol alan enfeksiyon etkenleriyle ilişkili antijenlerin olduğunu düşündürmüştür (37,38). KLL etyolojisinde kanıtlanmış bir enfeksiyon etkenine ait antijen gösterilememiştir (39,40). KLL hastalarında BHR’nin antijenden bağımsız, ağır zincir tamamlayıcılık belirleyici bölgesi (HCDR3) ilişkili olarak otonom bir şekilde sinyal gönderdiğini gösteren çalışmalar da mevcuttur (41).

BHR’nin uyarılmasıyla aktive olan syk ve lyn gibi protein tirozin kinazların (PTK) aşırı üretimi antiapoptotik etki göstermektedir. Bak ve Bax gibi apoptotik proteinlerin üretimi azalmış ve Bcl-2 ve Bcl-XL gibi antiapoptotik proteinler artmıştır (42). Bu KLL patolojisinde apoptoz bozukluğunun önemini vurgulamaktadır. Bununla beraber bozulmuş apoptozun yanında hücre çoğalmasının da devam ettiği bilinmektedir. Döteryumun yeni çoğalan hücrelerin DNA’sına bağlanması ölçülerek KLL hücrelerinin düşük ama ölçülebilir bir çoğalma hızı olduğu gösterilmiştir (43).

KLL hücrelerinin alışılmış mitojenlerle çoğalma hızının düşük olması nedeniyle sitogenetik çalışmalar temel olarak FISH tekniği ile yapılmaktadır. En sık rastlanan anormallik 13q14 delesyonu olup, bu bölgede Bcl-2 üzerinden etki gösteren iki microRNA (miR-15a ve miR-16) bulunmaktadır. Bunu sıklık sırasına göre 11q22-23 delesyonu (tümör supresor ATM geni ile ilişkili), trizomi 12 ve 17p13.1 delesyonları (tümör supresor TP 53 geni ile ilişkili) izler (44,45). Diğer lösemilerin aksine dengeli translokasyonlar KLL’de sık görülmez. Yaşla birlikte kromozom anormalliği görülme sıklığı artar. Söz konusu anormalliklerden 13q delesyonu iyi prognoz göstergesi olup, 11q ve 17 p delesyonu kötü prognoz ile ilişkilidir (46). Son yıllarda CpG oligodeoksinucleotid ile uyarılmış hücrelerde anormal klonların daha iyi tespit edilebildiğini gösteren çalışmalar yapılmıştır (47,48,49).

2.1.6 KLİNİK

KLL hastalarının çoğu tanı anında asemptomatiktir ve genellikle rutin kan sayımları ile karşımıza çıkar(50,51). Buna karşılık bazı olgularda, hücre topluluğunun kemik iliği ve periferik kanda birikmesinin neden olduğu etkiler sonucu birtakım belirtiler ortaya çıkar. Lenfadenopati, kilo kaybı, gece terlemesi, ateş yüksekliği gibi yakınmalar olabilir.

Kronik lenfositik lösemi’nin hematolojik anormallikleri periferik kan ve kemik iliği lenfositozisi ile karakterizedir(52). Hastalar, aneminin neden olduğu yorgunluk ve fiziksel aktivitelerinin kısıtlanmasından yakınabilirler (51). Anemi meydana geldiğinde genellikle normokromik ve normositiktir (52). Lenf nodu, karaciğer ve dalak diğer tipik tutulum alanlarıdır. Dalak tutulduğunda boyutu büyümüş, genişlemiş ve ağırlığı artmış olabilir. Bunların dışında deri, akciğer, meme ve oküler adneks gibi ektranodal tutulum alanları olabilir (53).

Hastaların büyük kısmında izah edilemeyen persistan lenfositozis, servikal, supraklavikular ve/veya aksillar nodlarda hafif lenfadenopati ve splenomegali KLL’nin erken bulguları olarak görülür. Hafif anemi ve trombositopeni hastalığın daha erken evrelerinde yaygındır(52) Hastaların %5’inde nodüler ve diffüz deri infiltrasyonları, eritroderma, ekzfoliatif dermatit ve sekonder deri enfeksiyonlarının formları halinde kutanöz invazyon bulguları görülür (52,54).

Hastalık ilerledikçe splenomegali, hipersplenizm ve bunu takiben periferik sitopenilerle giden masif adenopatiye yol açan organ infiltrasyonları meydana gelir. Bu hastalarda ateş, kilo kaybı ve gece terlemelerini içeren B semptomları bulunur. Hastalığın devamında kemik iliği neoplastik hücrelerle büyük ölçüde infiltre hale gelir ve tümör hücrelerinin ilik elemanları ile yer değiştirmesine bağlı olarak daha ciddi anemi, trombositopeni ve nötropeni meydana gelir(52).

Kronik lenfositik lösemi’li hastalarda immünolojik aktivite önemli ölçüde bozulur. Hipogammaglobulinemi KLL’li hastaların yaklaşık %50’sinde görülür. Ig yetersizliği çeşitli enfeksiyonların gelişiminde artışa sebep olur. Özellikle respiratuar sistem, üriner sistem ve deride görülen bakteriyel enfeksiyonlar, Herpes simpleks ve Herpes zoster gibi viral enfeksiyonlar yaygındır ve dramatik olarak hastanın morbidite ve mortalitesine katkıda bulunur (52). Enfeksiyon en önemli komplikasyonlardan olup; en sık ölüm nedenlerinden biridir (17).

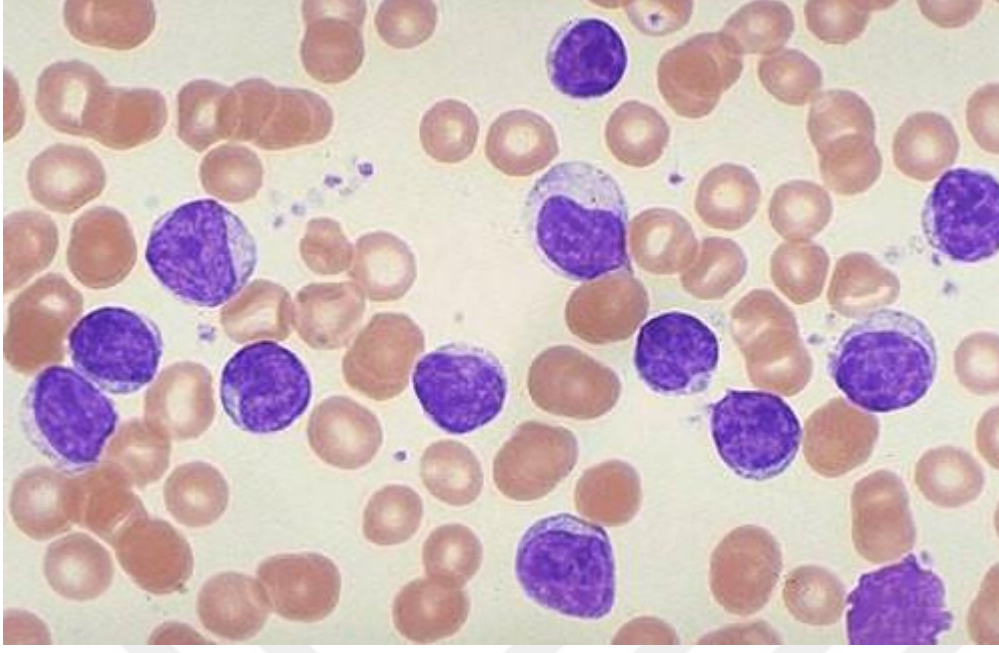
Otoimmünite KLL’de sıklıkla görülür. Hastalığın seyri boyunca Coombs pozitif otoimmün hemolitik anemi gelişen hastaların oranı %25’tir. Kırmızı kan hücrelerine karşı üretilen ve direkt antiglobulin (Coombs) testi ile saptanan antikorlar önce görülebilir, simültane olarak ya da KLL’nin takibinde meydana gelebilir (52). Kırmızı hücre aplazisi nadiren meydana gelir (52,54). Trombosit ve nötrofillere karşı antikorlar gelişebilir ve immün trombositopenik purpura ve nötropeniye yol açabilir. Bence Jones paraproteinemisi KLL’li hastaların % 65’inde rapor edilmiştir. Ağır zincir paraproteinler IgM ya da IgG saptanabilir(52).

Kronik lenfositik lösemi’de tedaviden bağımsız olarak ikinci bir kanser sıklığında artış mevcuttur (55). Erken evre hastaların tedavi edilmesinin sağkalım üzerine etkisinin olmadığı gösterilmiştir. Bu nedenle genel görüş ileri evre ve semptomatik hastalığın tedavi edilmesi yönündedir (56). KLL’nin klinik seyri çok değişkendir ve bireysel prognoz değerlendirmesi bu nedenle önem taşımaktadır (57).

2.1.7 LABORATUAR

Periferik Kan Bulguları: KLL tanısı için, periferik kanda $5 \times 10^3/\text{ml}$, tipik immünofenotip özellikler gösteren lenfosit popülasyonunun varlığı gerekmektedir (58). Genellikle tanı esnasında medyan lenfosit sayısı $30 \times 10^3/\text{ml}$ ’ dir ve bu sayı zamanla giderek

artmaktadır (59,60). Lökosit sayısı 500.000/mL üstünde değilse hipervizkozite semptomları görülmez. Hastaların yarısında lenfosit sayısının ikiye katlanması 12 aydan uzun sürmektedir. Bazı hastalarda dönemsel dalgalanmalar içinde lenfosit sayısı $50 \times 10^3/\text{ml}$ 'i aşmaktadır, diğerlerinde ise bu sayı yıllarca sabit kalabilir. Hastaların çoğunda, lenfositler olgun, küçük, kompakt kromatinli ve dar sitoplazmalıdır. Nadiren sitoplazmik inklüzyonlar da görülebilir. Periferik yaymada sıklıkla parçalanmış lenfositler gözlenir (*basket cells*, *smudge cells*, *smear cells*) ve bunların yoğunluğu lenfosit sayısının artması ile çoğalır. Lenfositlerin bir kısmı farklı morfolojide olabilir, bazıları prolenfosit, diğerleri de geniş sitoplazmalı plazmositoid veya çentikli çekirdekli şeklinde görülebilir. Eğer lenfosit sayısı 5000-15000/ μL arasında ise tanı konulması için klonalite (kappa ve lambda hafif zincir fazlalığı veya immunglobulin gen yeniden düzenlenmesi) bulgusu olması gerekir. Bazı hekimler kemik iliğindeki lenfositozu (lenfositler > % 30) da dökümente eder ve kemik iliği biyopsisi yapar. Teşhis esnasında hastaların % 15-20'sinde anemi ($\text{Hb} < 11 \text{ gr/dl}$) ve % 10'nunda trombositopeni (trombosit sayısı < 100000/ μL) vardır. Olguların çoğunda anemi ve trombositopeniye kemik iliği infiltrasyonu ve hipersplenizm bir arada katkıda bulunur. Hastada sıcak IgG antikorlarının gelişmesine bağlı otoimmün hemolitik anemi yoksa retikülosit sayısı normaldir. Olguların % 8-10'unda görülen otoimmün hemolitik anemi tanısı pozitif direk coombs testi (olguların % 80-90'ı) retikülositoz, düşük serum haptoglobini ve artmış serum indirek bilirubin düzeyi ile gösterilir. Bu hastalarda kemik iliğinde hemolize cevap olarak gelişen reaktif eritrositer hiperplazi belirgin trombositik infiltrasyona bağlı olarak maskelenebilir. KLL'de soğuk aglutinin hemolizi nadiren olur. Eritrosit ve trombositleri yıkan antikorlar KLL hücreleri tarafından oluşturulmaz ve otoimmün hastalıkların mekanizması bilinmemektedir. Nutrisyonel beslenme bozukluğuna bağlı B12, folik asit, demir eksikliğine bağlı anemi de gelişebilir. T supresör hücre aktivitesi ile ilişkili saf eritrosit aplazisi KLL'de gözardı edilen diğer bir anemi sebebidir.



Şekil 1: Periferik yaymada KLL hücreleri

Kemik İliği ve Lenf Nodu Bulguları: KLL'deki lenfositler ışık ve elektron mikroskopisinde normal küçük B lenfositlerden ayırt edilemez. Kemik iliği aspirasyonunda lenfositlerin oranı % 30'dan fazladır ve yeni tanı konan hastalarda % 100'lere kadar çıkabilir. Geri kalan hücreler normal myeloid ve eritroid hücrelerdir. KLL'de kemik iliği diffüz, interstisyel, noduler ve karışık (noduler+interstisyel) olmak üzere dört şekilde infiltrate olabilir. Bunlardan en sık karışık tutulumla rastlanırken en az noduler tutulum görülmektedir. Diffüz tutulumda yağ hücreleri tamamen silinmiştir ve prognoz en kötüdür (61). Lenf nodu yapısı periferik kandaki lösemik hücrelerin lenf nodunu diffüz infiltrate etmesi şeklinde görülür. Lenf nodunun histolojisi küçük lenfositik lenfoma ile aynıdır.

İmmunfenotipik Bulgular: Genel kanıya göre, KLL, tek B lenfositin habis dönüşümü ve ardından da klonal çoğalması sonucunda geliştiği düşünülür. Vakaların çok küçük bir kısmı (<%1), T lenfositlerden köken alır (62). Ancak bu vakalar ayrıntılı bir şekilde incelendiğinde, T hücreli prolenfositik löseminin bir türü oldukları anlaşılır (63). Elektron mikroskopisi ile incelendiklerinde, bu hücrelerin nükleoller içerdiği gözlenir. Aynı T hücreli prolenfositik lösemi hücreleri gibi, 14 ve 8 kromozom anomalileri içerirler ve kuvvetli bir şekilde CD7 eksprese ederler (62,63). Bunun dışında, bunlar sıklıkla cildi tutar, kötü seyirlidir ve kemoterapilere sıklıkla direnç gösterirler (63).

KLL’de immunfenotipleme ile hastalığa özgü belirteçler saptanarak diğer lenfoproliferatif hastalıklardan ayrımı kolayca yapılabilir. Lösemik hücreler yüzeylerinde B hücre belirteçleri olan CD19, CD20 (düşük), CD43, CD79b (düşük) ve bir T hücre belirteci olan CD5 bulundurlar. Ek olarak genellikle klonal hafif zincir kısıtlamalıdır, zayıf yüzey IgM ve yüzey IgD ekspresyonu vardır, CD23 pozitif ve CD10 negatiftirler. Aynı zamanda bellek B lenfositlerinden köken aldıklarını destekler şekilde CD27 pozitiflikleri vardır. CD27’nin CD23 ve CD5 ile birlikte eksprese olması hücrelerin aktive olduklarını göstermektedir (64,65,66).

Damle ve ark. yaptığı çalışmada hastaların yaklaşık yarısında CD38 seviyeleri >%30 bulunmuştur. Bu hastaların IGVH gen mutasyonu olmadığı ve takipte sağkalımların daha kısa olduğu saptanmıştır (67). Ancak diğer çalışmalarda IGVH gen mutasyonu ve CD38 arasında ilişki saptanamamıştır (68,69,70).

KLL’nin diğer özelliklerinden birisi de bir aktivasyon belirteci olan ve apoptozisin baskılanmasında rol alan CD23’ün fazla eksprese edilmesidir (71). Ayrıca CD23; CD5 pozitif olan diğer lenfoproliferatif hastalıklardan (mantle hücreli lenfoma) KLL ayrımının yapılmasında önemlidir. Normalde hücre yüzeyinde bulunan CD23 spontan proteolize uğrayarak serumda serbest halde saptanabilir. Hastalığın ilerlemesiyle serumda ölçülen CD23 düzeyleri de artar (71,72). B lenfositlerin immün uyarılar sonucu çoğalmasında en önemli reseptör B hücre antijen reseptör kompleksidir. Bu kompleks yüzey Ig ve Igα/Igβ (CD79a/CD79b)’dan oluşur. KLL lenfositlerinde normal B lenfositlerden farklı olarak CD79b bulunmaz çünkü gendeki alternatif bölünme nedeniyle CD79a aşırı eksprese olur (73).

FMC7 genellikle prolenfositik lösemi ve saçlı hücreli lösemide aşırı eksprese olan bir yüzey belirteçidir. KLL hastalarının yaklaşık %16’sında FMC7 pozitifdir. Bu hastalarda genellikle sIgM belirgin olup CD23 negatiftir ve prognoz oldukça kötüdür (74).

CD11b ve CD13 gibi myelomonositik belirteçler küçük bir hasta grubunda saptanabilir. Bunların varlığı diffüz kemik iliği tutulumu ve kötü prognozla ilişkilidir (75).

KLL hastalarının yaklaşık %5’inde CD5 negatiftir. Bu hastalarda genelde FMC7(+), CD23(-), CD11b(+) ve CD13(+)'tir ve prognoz kötüdür(74,76).

2.1.8 TANI

KLL tanı kriterlerini tanımlayan ve yaygın kullanılan iki adet rehber mevcuttur. Bunlardan ilki Amerika Ulusal Kanser Enstitüsü Sponsorluğundaki Çalışma Grubu (NCI-WG), diğeri ise Uluslar arası Kronik Lenfositik Lösemi Çalışma Grubu” (IWCLL)’dur.KLL tanısında en kabul gören NCI-WG tanı kriterleridir (Tablo 1) (77).

TABLO 1: NCI-WG KLL Tanı Kriterleri

1.Periferik kanda lenfositoz: 5.000/mm ³ (En az 3 ay)
2.İmmunfenotipleme: En az 1 adet B hücre işareti (CD19, CD20, CD23) + CD5
3.Kemik iliğinde lenfositoz: ≥ %30
4.Atipik hücre oranı :< %50

Tanı:1 no’lu kriter ile birlikte 2 veya 3 no’lu kriter; ya da lenfosit sayısı 5.000/mm³’ten düşükse, 2 ve 3 no’lu kriter birlikte bulunmalıdır.

TABLO 2: IWCLL KLL Tanı Kriterleri

≥10.000 lenfositoz + B fenotipi veya kemik iliği tutulumu
<10.000 lenfositoz+ B fenotipi + kemik iliği tutulumu
>%30 kemik iliği lenfosit oranı

Tipik olarak KLL hücreleri küçük, dar sitoplazmalı, çekirdekçiğin ayırt edilemediği yoğun çekirdek yapısına sahip olgun lenfositlerdir. Birlikte daha büyük, atipik görünümlü, çentikli çekirdekli hücreler ya da prolenfositler görülebilir. Atipik hücrelerin sayısı %55’i geçerse bu hastalar promyelositik lösemi olarak adlandırılır. Bu hastalık KLL’den ayrı olarak değerlendirilir. İmmunofenotipik olarak KLL hücreleri CD5, CD19, CD23 pozitif olup, yüzey immunoglobulinleri, CD20 ve CD79b ifadelenmeleri normal B hücrelerine göre düşüktür; kappa ya da lambda hafif zincir kısıtlanması gösterirler. Moreau ve arkadaşlarının geliştirdiği skarlama sisteminde CD5, CD23 ve zayıf yüzey immunoglobulin ifadelenmesi birer puan ve CD79b ve FMC7’nin zayıf ifadelenmesi ya da yokluğu birer puan olarak hesaplanmaktadır. KLL vakalarının %92’sinde skor 4-5’dir (78,79).

Kanda 5x10⁹ /L’den daha az lenfosit bulunup lenfadenopatisi ve/veya olan ve lenf nodu biyopsisinde KLL immunofenotipi gösterilen olgular küçük lenfositik lenfoma tanısını alırlar.

Kanda $5 \times 10^9 /L$ 'den daha az klonal B lenfosit bulunan, hastalık ilişkili belirti, lenfadenopati, organomegali ya da sitopenisi olmayan hastalar monoklonal B lenfositoz olarak tanımlanır. Monoklonal B lenfositozlu olguların yıllık %1-2 oranında tedavi gerektiren KLL'ye dönüşüm olasılığı bulunmaktadır(80).

Kesin tanı için kemik iliğinde lenfosit infiltrasyonunun gösterilmesi (bütün nükleuslu hücrelerin %30'undan fazlasının lenfosit olması) veya lenf nodu biyopsisi alınması şart değildir. KLL ile açıklanamayacak sitopenilerde kemik iliği biyopsisi, hızlı tümör büyümesi ve klinik ağırlaşma olması durumunda Richter transformasyonu açısından lenf bezi biyopsisi yapılabilir. Diffüz büyük B hücreli lenfomaya (DBBHL) dönüşüm Richter transformasyonu olarak adlandırılır ve genellikle kötü prognoz gösterir (84). Kemik iliğinin incelenmesi evrelemede ve vakaların tedaviye cevabının takibinde gereklidir. Kemik iliği biyopsisi tanı için gerekli olmamasına karşılık, infiltrasyonun diffüz ya da non-diffüz paternde olmasının bilinmesi prognostik belirleme için değerlidir. Çeşitli çalışmalar KLL'de kemik iliği infiltrasyon paterninin prognostik önemini ve diffüz tutulumun kısa sağkalım ve kötü prognoz ile ilişkili olduğunu göstermiştir (81).

Bunun dışında tanı sırasında retikülosit sayısı, coombs testi, böbrek ve karaciğer fonksiyon testleri, LDH düzeyi, serum protein elektroforezi, serum immünifikasyonu ve immünglobulin düzeyleri bakılmalıdır. $\beta 2$ mikroglobulin düzeyi prognoz açısından ve tedaviye yanıt takibinde basit ve önemli bir belirteçtir (82,83). Bunun yanında genetik anomalilerin saptanması için sitogenetik analiz yapılması da önerilmektedir.

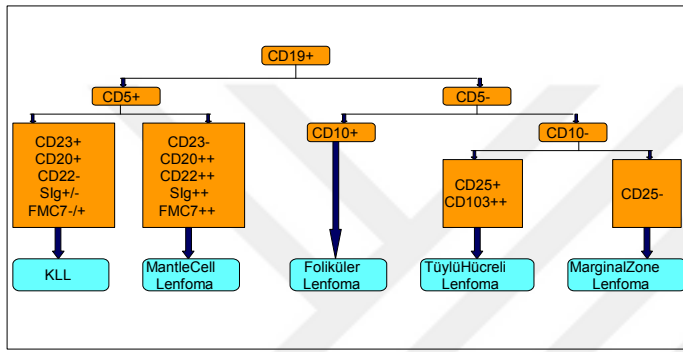
2.1.9 AYIRICI TANI

Kronik KLL, diğer lenfoproliferatif hastalıklardan ayırt edilmelidir. Bu ayırmada immünofenotiplemenin önemi büyüktür. KLL morfolojik, genotipik ve fenotipik olarak küçük hücreli lenfositik lenfoma'dan ayrılamaz. Bu iki hastalık arasındaki ayırım periferik kandaki lenfosit sayısı ile yapılır. Lenfosit sayısı $\geq 5.000/mm^3$ ise KLL, daha az ise küçük hücreli lenfositik lenfoma olarak kabul edilir. Küçük hücreli lenfositik lenfoma belirgin lenfadenopati ile karakterize iken, KLL lenfositoz ile karakterizedir. KLL hücreleri bir T hücre antijeni olan CD5 ile birlikte B hücre reseptörleri (CD19, CD23) taşırlar. CD20, CD79b ve FMC 7 antijenlerini çok az taşır ya da hiç taşımazlar (85,86). CD19 pozitif olabilecek hastalıklardan olan folliküler lenfoma, tüylü hücreli lenfoma ve marginal zon lenfomadan CD5 pozitifliği ile ayrılabilir. CD19 ve CD5 birlikte taşıyan mantle cell lenfoma ise KLL'nin aksine çoğunlukla

CD23 taşımaz. Diğer yandan B hücreli prolenfositik lösemi olgularının yarısında CD5 bulunmaz ancak yüksek CD20 ve yüzey Ig taşırlar (86). KLL lenfositleri normal B hücrelerine göre daha az yüzey immunoglobulinleri, CD20 ve CD79b eksprese ederler (85). Her klon kappa ya da lambda hafif zincirlerinden birini üretir (85).

KLL'nin diğer hematolojik hastalıklardan immünofenotipik olarak farkı Tablo 3 ve Tablo 4'de gösterilmiştir.

TABLO 3: CD19+ lenfositöz ayırıcı tanısı



TABLO 4: KLL'nin ayırıcı tanısında immünofenotip profil

Hastalık	Smlg	CD5	CD43	CD22	CD23	CD25	FMC7	CD103	CD11c	CD10
B-KLL	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-
	-			-		-	-		-	
Prolenfositik L	++	+	+	+	+	-	+	-	+	+
		-			-				-	-
Waldenström M	++	+	+	+	-	+	+	-	+	-
		-	-			-			-	
Tüylü Hücreli L	++	-	+	+	-	+	+	+	+	-
Villöz lenfositli splenik lenfoma	++	+	+	+	+	+	+	+	+	+
		-			-	-	-	-	-	-
Marginal zone lenfoma	++	-	+	+	+	-	+	-	+	-
			-	-	-				-	
Mantle cell lenfoma	++	+	+	+	-	+	-	-	+	+
				-		-			-	-
Foliküler lenfoma	++	+	-	+	+	-	+	-	+	+
		-		-	-					

2.1.10 EVRELEME

KLL için temel olarak iki evreleme sistemi kullanılabilir. Rai sistemi ve Binet sistemi. Her iki sistem de, aralarında küçük farklar olmakla birlikte lenf nodu tutulumu, hepatomegali, splenomegali ve hastanın kan parametreleri üzerinde şekillenmektedir.

Rai evrelemesi, KLL hastaları için ilk kez 1975 yılında Rai ve arkadaşları tarafından önerilmiştir (87).

Tablo 5. RAI Evreleme Sistemi

Evre	Laboratuvar ve/veya fizik muayene bulguları
0	Absolü lenfositoz ($>5.000/\text{mm}^3$) ve/veya kemik iliğinde $>30\%$ lenfoid hücre. Lenfadenopati, hepatomegali, splenomegali, anemi veya trombositopeni yok.
1	Absolü lenfositoz ve lenfadenopati mevcut. Hepatomegali, splenomegali, anemi veya trombositopeni yok.
2	Absolü lenfositoz ve hepatomegali ya da splenomegali mevcut. Anemi ya da trombositopeni yok.
3	Absolü lenfositoz ve anemi (hemoglobin $<11 \text{ g/dL}$) mevcut.
4	Absolü lenfositoz ve trombositopeni (trombosit $100.000 / \text{mm}^3$) mevcut.

Orijinal Rai sistemi 5 prognostik gruptan oluşurken modifiye Rai sistemi ile 3 prognostik gruba indirilmiştir. Modifiye Rai evrelemesinde hastaların düşük risk (evre 0), orta derecede risk (evre 1 ve 2) ve yüksek risk (evre 3 ve 4) olarak düşünülebileceği söylenmektedir. (88) Rai evrelemesi hastalığın prognozunu belirlemede en önemli kriterlerden biri olma özelliğini günümüzde de sürdürmektedir.

Binet evrelemesi Rai evrelemesine benzemekle birlikte küçük bazı farklar içermektedir. İlk kez Binet ve arkadaşları tarafından 1981 yılında önerilen bu sisteme göre A, B ve C olmak üzere üç farklı risk grubu tanımlanmıştır (89).

Tablo 6. Binet Evreleme Sistemi (90)

Binet Evreleme Sistemi	
A	Hb $\geq$ 10g/dL PLT $\geq$ 100x10 ⁹ /L, en fazla 2 bölge tutulumu
B	Hb $\geq$ 10g/dL, PLT $\geq$ 100x10 ⁹ /L, $\geq$ 3 bölge tutulumu
C	Hb<10g/dL, PLT<100x10 ⁹ /L
Binet sınıflamasında kullanılan bölgeler: 1 Baş ve boyun (Waldeyer halkası dahil) bir bölge 2 Aksilla (bilateral tutulum dahil) bir bölge 3 İnguinal bölge (yüzeyel femoral lenf nodları ve bilateral tutulum dahil) bir bölge 4 Palpe edilebilen dalak 5 Palpe edilebilen karaciğer	

Binet evreleme sistemi tıpkı Rai sistemi gibi klinik verilere dayanmakta olup hastalığın seyrini belirlemede büyük öneme sahiptir. Binet sistemi Avrupa’da yaygın olarak kullanılmakta ve kabul görmekte olup dünyanın diğer bölgelerinde genellikle RAI evreleme sistemi kullanılmaktadır.

2.1.11 PROGNOZ

KLL prognositik açıdan son derece değişken bir hastalıktır. Toplam sağkalım aylar ile sınırlı olabileceği gibi dekadlar ile ifade edilebilecek kadar uzun olabilir (91). KLL’de ortalama sağkalım yaklaşık olarak 7,5-10 yıldır (92,93). Rai ve Binet evreleme sistemleri, KLL hastalarının klinik seyrinin, sağkalım süresinin ve tedavi gereksiniminin belirlenmesinde klinisyenin başvurduğu kaynaklardır (94,95). 1981’de NCIWG KLL’de her iki sistemin birlikte kullanılmasını önermiştir (96). Fakat bu evreleme sistemleri, özellikle erken evre hastalarda tedavi gereksinimi olan hastaların belirlenmesinde yetersiz kalmaktadır (91). Binet A ve Rai 0 veya 1 evresinde, tedaviye başlamak için hastalığın progressif olduğunun bilinmesi gerekir. Erken evrede tespit edilen KLL’li hastaların %40-%50’si progressif olup, tedavi gereksinimi mevcutken, hastaların %50-60’ında tedavi gereksinimi yoktur (97,98). Rai ve Binet evreleme sistemlerinin bu ayrımı yapmada yetersiz kalması nedeniyle, prognozu belirlemeye katkı sağlayabilecek farklı faktörler üzerinde çalışmalar

yapılmaktadır (99). Bunlardan başlıcaları; cinsiyet, kemik iliği tutulum şekli, kromozomal değişiklikler, kemik iliğinde lenfosit oranı, lenfosit morfolojisi, $\beta 2$ mikroglobulin düzeyi, immunglobulin ağır zincir mutasyonu, timidin kinaz, ZAP70 ekspresyonu, CD38 pozitiflik oranı ve p53 mutasyonu sayılabilir (Tablo 7).

TABLO 7: KLL’de Prognostik Faktörler

Parametre	Düşük Risk	Yüksek Risk
Binet evre	A	B ve C
Rai evre	0-I	II-III-IV
Kİ tutulum şekli	Non-diffuz	Diffuz
Kİ lenfosit oranı	≤ 80 lenfosit	> 80 lenfosit
Lenfosit morfolojisi	Tipik	Atipik
Kromozomal Anomaliler	Normal-Trizomi12-13q14 delesyonu	Del17p-del11q
Kanda lökosit sayısı	$\leq 30-50 \times 10^9 /L$	$> 30-50 \times 10^9 /L$
Timidin Kinaz	Normal	Artmış
Zap70	Negatif	Pozitif
CD38	Negatif	Pozitif
IgVH mutasyonu	Mutant	Non-mutant
$\beta 2$ Mikroglobulin düzeyi	Normal	Artış
Lenfosit Katlanma Zamanı	< 12 ay	> 12 ay
Periferik kanda prolenfosit	< 10	> 10
P53 mutasyon durumu	Non-mutant	Mutant

IgVH Mutasyonu

B lenfositleri, antijeni tanıyabilme ve antikor sentezleyebilme özelliğine sahiptir. IgHV mutasyonu sayesinde B-lenfositler antijene tam uyumlu antikorları sentezleyebilmektedir. KLL olgularının yaklaşık %50'sinde IgVH mutasyonu bildirilmiştir(108). IgVH mutasyonu tespit edilen olgularda, yaşam süresi ve tedavisiz geçen sürenin daha uzun ve prognozun daha iyi olduğu bildirilmiştir (106,107). Bu nedenle IgVH mutasyonu KLL'de iyi prognoz göstergesi olarak kabul edilmektedir.

ZAP-70 Proteini

ZAP-70,T-hücre aktivasyonunun erken aşamasında görev alan, sitoplazmik bir protein tirozin kinazdır. Erken evre KLL'de ZAP-70 protein pozitifliği, tedavi ihtiyacının daha kısa sürede ortaya çıkacağı yönünde yorumlanmaktadır. Çok parametrelili akım sitometresi ve Revers Transkriptaz-Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RT-PCR) ile ZAP-70 mRNA saptanabilmektedir. KLL hücrelerinde ZAP-70 protein pozitifliği ve IgVH mutasyonu arasında yakın bir ilişki bildirilmiştir (109-110).

CD38

B hücre yüzeyinde, monositlerde ve natural killer hücrelerinde bulunan, siklaz ve hidrolaz aktivitesi bulunan bir ektoenzimdir. CD38, KLL için bağımsız bir prognoz göstergesidir. Yüksek CD38 ekspresyonu, kısa bir sürede tedaviye başlama ve kısa yaşam süresi ile ilişkilendirilmiştir (112,113). IgVH mutasyonu saptanmayan durumlarda CD38 ekspresyonu bildirilmiştir (111). 13q delesyon ile CD38 negatifliği ve 17p ve 11q delesyonu ile CD38 pozitifliğinin korele olduğu iddia edilmektedir (114).

Lenfosit Katlanma Süresi

Mutlak lenfosit sayısının ikiye katlanma zamanının ay olarak hesaplanmasına 'lenfosit katlanma süresi' denir. (115). NCIWG klavuzunda bu sürenin 6 aydan daha kısa olması tedavi endikasyonu olarak bildirilmiştir (116). Enfeksiyonlar başta olmak üzere kortikosteroid alımı, lenfosit sayısını etkileyerek, lenfosit katlanma süresinin kullanımını zorlaştırmaktadır.

Kemik İliği İnfiltrasyon Tipi

KLL’de 4 farklı kemik iliği infiltrasyon tipi tanımlanmıştır:

- 1.Nodüler Tip
- 2.İnterstisyel Tip
- 3.Karışık Tip (Nodüler+İnterstisyel)
- 4.Yaygın Tip

Nodüler, interstisyel ve karışık tip sınırlı tutulum olarak da bilinmektedir ve sağ kalım daha uzundur (117,118). Yaygın infiltrasyon tipi ise, kötü prognoz göstergesidir (119).

β 2 Mikroglobulin Düzeyi

Hastalık evresi ve tümör kitlesi ile ilişkili bir serum belirtecidir. Serum β 2MG düzeylerinin toplam sağkalım ve kemoterapi yanıtı ile ters orantılı olduğu bildirilmiştir (119).

Timidin Kinaz Aktivitesi

Timidin kinaz DNA sentezinde rol alan bir enzimdir. Neoplastik hücrelerin bölünme sayısının, serum timidin kinaz aktivitesinin belirlenmesinde rol oynadığı düşünülmektedir (120). Serum timidin kinaz aktivitesinin, sağ kalım ile ters ilişkili olduğu bildirilmiştir (119).

LDH Düzeyi

5 Farklı tetramerik izoenzimden oluşur. Yüksek tümör yükünün tespitinde kullanılır. Rambotti ve ark. nın yaptığı çalışmada, normal B hücrelerinde tespit edilen LDH aktivitesinin, B-KLL hücrelerine göre daha yüksek olduğu bildirilmiştir (121).

Serum CD23 Düzeyi

CD23 B-KLL hücrelerinin yüzeyinde bulunmaktadır. Yüksek serum CD23 düzeyleri, kötü prognozla ilişkilendirilmiştir (122).

p53 Ekspresyonu

p53 ekspresyonu prolenfositik transformasyon ile korelidir (100,101). p53 mutasyonları KLL'li hastaların yaklaşık %10-15'inde görülür (102). p53 mutasyonlarının kazanılması KLL'de geç bir olaydır. Richter transformasyonlu KLL hastalarının %30'undan fazlasında görülür (102,103). KLL'de p53 anormallikleri tanı anında ileri evre, fludarabin ve alkilleyici ajanlara direnç, yüksek insidanslı transformasyon, 1-2 yıl içinde hastalık progresyonu ve kötü klinik gidişat ile ilişkilidir (104,105).

2.1.12 KLL'DE KROMOZOM ANOMALİLERİ VE PROGNOZİTİK ÖNEMLERİ **Kll'de Konvansiyonel Sitogenetik ve FISH Yöntemi**

KLL'de kromozomal değişikliklerin prognostik önemi bilinmesine rağmen, konvansiyonel sitogenetik çalışmalarda başarı oranı düşüktür. Çünkü KLL hücrelerinin in vitro proliferasyon yeteneği düşüktür. Bu nedenle bu hücrelerdeki mitotik indeksi arttırmak için çeşitli stimulanlar tercih edilebilmektedir. En sık kullanılanlar ise, interlökin 4 (IL-4), lipopolisakkarit (LPS), 12-O-tetradekanolforbol 13-asetat (TPA), CpG-oligonükleotid DSP 30 + İnterlökin 2 (IL-2) 'dir. Biz bu çalışmada, Dicker ve ark. nın 2006 yılında kültürde yakaladıkları yüksek başarı oranı nedeniyle, DSP30+IL-2 kombinasyonunu tercih ettik (185). CpG-ODN'nin normal ve B-KLL hücrelerde proliferasyonu ve sitokin üretimini arttırdığı ve yüzey molekül regülasyonunu sağladığı gösterilmiştir (186). Siklin D3, normal B hücrelerin hücre siklusunun G1 evresine girmesini sağlayan D tip siklidir; fakat B-KLL hücrelerinde siklin D2 ve siklin D3 birlikte güçlü bir stimülasyon oluştururlar. Siklin D2 ve D3 cdk4 ile ilişkilidir ve normal B hücrelerde D tip siklinleri katalize ederler. İn vitro ortamda siklin D2 ve cdk4 veya siklin D3 ve cdk4, Rb proteininin fosforilasyonunu ve fonksiyon görmesini sağlarlar. B lenfositlerde, hücre siklusu inhibitörü olarak p27'nin önemli bir yeri vardır. B-KLL hücrelerinde p27'nin overekspresyonu gösterilmiştir. B-KLL hücrelerinde, RB protein fosforilasyonu ve indüklenmesi, DSP30 ve IL-2 ile birlikte sağlandığı bildirilmiştir (187). CpG-ODN DSP 30, malign B hücrelerde normal B hücrelere oranla IL-2 reseptör α zincirini etkili bir şekilde indüklediği bildirilmiştir (186). Dolayısıyla KLL'de konvansiyonel sitogenetik çalışmalarda, DSP30 ve IL-2 birlikte kullanımı önerilmektedir.

KLL sitogenetiğinde kullanılan bu stimulanlara rağmen, metafaz analizlerindeki ve mikrolezyonların tespitindeki zorluklar, farklı teknikleri gündeme getirmiştir.

KLL’de en sık görülen kromozomal anormallikler, moleküler sitogenetik olarak da adlandırılan “ Fluorescence İn Situ Hybridization (FISH)” tekniği ile yüksek oranlarda saptanabilmektedir. FISH, B-KLL hücrelerinin in vitro proliferasyon yeteneğinin düşük olması nedeniyle, kromozomal anormalliklerin sadece metafaz evresinde değil interfaz evresinde de tespit edilmesine imkan sağlamaktadır. Fabris S. ve ark. I-FISH ile sentromerik 12, 17p13.1, 11q22.3 ve 13q14.3 lokus problemleriyle, olguların % 81’inde kromozomal anormalliklerin tespit edildiğini bildirmişlerdir (6).

Döhner ve arkadaşlarının çalışmasında KLL’li hastaların %85’inde kromozomal anomali bildirilmiştir (123). KLL’de konvansiyonel bantlama teknikleri, neoplastik hücrelerde düşük mitotik indeks olması ve metafaz kalitesinin suboptimal olmasından dolayı zordur (124,125). FISH, metafaz ve interfaz hücrelerinin her ikisinde de özgün kromozomal anormallikleri saptamaya olanak sağlar (126). Konvansiyonel sitogenetik çalışmalar ile KLL hastalarının % 30-40’ında sitogenetik anormallikler gösterilirken FISH’da çoklu prob kullanılarak bu oran % 85’e ulaşmaktadır (126). En sık görülen kromozomal anormallikler 13q14 delesyonu (>%60), 11q22.23 delesyonu (%20), trizomi 12 (%20), 6q21 delesyonu (%3-6) ve 17p13 delesyonudur (<%10). (127) (Tablo 8). KLL olgularının %20-40’ında, gelişmiş sitogenetik teknolojiler kullanılmasına rağmen genetik bozukluk gösterilemez. Kromozomal anomali olmaması iyi prognoz göstergesidir. Konvansiyonel sitogenetik yöntemlerle en sık trizomi 12 ve 13q14 ve 14q32 kromozomal anormallikleri saptanır. FISH ile en sık 13q delesyonu saptanmaktadır (125). 17p13 ve 11q22 delesyonları prognozu en olumsuz etkileyen kromozomal değişiklikler iken, 13q14 delesyonu en iyi prognoz göstergesidir. Trizomi 12 ve normal karyotipe sahip bireylerde ise, prognoz değişken olmakla birlikte, orta-ılımlı düzeydedir.

Tablo 8: Kronik lenfositik lösemide görülen kromozomal anormallikler

Kromozomal anormallik	Görülme sıklığı	Prognoz
13q14 delesyonu	>%60	İyi
11q22.23 delesyonu	%20	Kötü
Trizomi 12	%20	İyi
6q21 delesyonu	%3-6	Tartışmalı
17p13 delesyonu	<%10	Kötü
14q32 translokasyonu	%4-9	Kötü

13q14 Delesyonu

KLL’de 13q14 delesyonu çok sıktır.13q delesyonu olasılıkla tek bölge(q14) ile sınırlıdır ya da kromozom 13’ün uzun kolundaki büyük interstisiyel bölgenin kaybı buna eslik eder. Olguların yaklaşık olarak üçte birinde her iki allel delesyonu birden görülür (128). Sadece 13q delesyonu varsa prognoz iyidir (129,130). 13q delesyonunda ortanca sağkalım ortalama 133 aydır (125). Takipte başka kromozomal anormallikler oluşursa 13q14 delesyonunun olumlu etkisi ortadan kalkar (128).

11q22.23 Delesyonu

Kromozom 11’in uzun kolunda bulunan q22-23 bölgesinin delesyonunda, prognoz kötüdür. Delesyon ATM bölgesini içermektedir. Bu genin nörolojik rahatsızlık ve tümör oluşum riskinin artması ile karakterli herediter bir sendrom olan ataksi telanjektaziden sorumlu olduğu bilinmektedir. ATM’nin apoptozis yolunda önemli sinerjistik etkisi bilinmektedir ve yetmezliği durumunda KLL dışı lenfoproliferatif rahatsızlıkları da içeren bazı malignitelerin sıklığının arttığı görülmüştür (128). Normal ATM, p53 ile ilişkili apoptotik yolun aktivasyonunda baskın rol oynar (131) ve kaybında p53 eksikliğine benzer sonuçlar görülür (128). 11q delesyonu daha çok genç olgularda görülür. Bu delesyonun büyük lenf bezleri ilişkili olduğu gösterilmiştir. 11q delesyonunun olduğu hastalarda ortanca sağkalım süresi 79 aydır (125).

Trizomi 12

Yetersiz kalitedeki karyogramlarda bile kolaylıkla tanınır (128). Trizomi 12 sıklıkla diğer karyotip anormallikleri ile birlikte (128). Trizomi 12, lösemik hücrelerde atipik morfolojiyle ilişkili olup hastalarda 6q delesyonu daha sıklıkla gözlenir ve lenfositleri plazmasitoid özellik sergiler. Trizomi 12’nin de prognozu iyidir ve sağkalım süresi ortanca 114 aydır (125).

17p Delesyonu

17p13 bölgesinde bulunan p53 tümör baskılayıcı gen programlı hücre ölümünün düzenlenmesinde anahtar moleküldür (128,131). Yapılan bir çalışmada 17p delesyonunun yas ile ilişkili olduğu ve yaşlı KLL hastalarında daha sıklıkla görüldüğü rapor edilmiştir (57). KLL’de, 17p13 kromozom bölgesinin delesyonunda prognoz kötüdür. Hastalık ilerlemesinin 1-2 yıl içerisinde olacağını gösterir ve göreceli olarak kemoterapi direnci söz konusudur (129). 17p delesyonu, hastalıkla ilişkili ölümün güçlü bağımsız bir belirleyicisidir ve bu hastalarda ortalama sağkalım 32 aydır (125). Aynı zamanda 17p delesyonu kısa tedavisiz izlem süresiyle de ilişkilidir (126).

Daha az sıklıkla görülen kromozomal anomaliler

KLL olgularının %3-6’sında görülen (128) 6q delesyonu diğer lenfatik malignitelerde de görülebilir (132). 6q delesyonu olan olgularda, prognoz ortadır (132). Trizomi 8, 14q32 translokasyonu ve trizomi 3 anomalileri de tanımlanmıştır (125,128). Bu anomalilerde sağkalım daha iyidir (125).

KLL’de normal karyotip

KLL olgularının %20-40’nda, gelişmiş sitogenetik teknolojilerin kullanılmasına rağmen genetik bozukluk gösterilemez. Döhner ve arkadaşlarının çalışmasında, olguların % 18’inde FISH’le sitogenetik anormallik gösterilememiştir (125). Sitogenetik bozukluğun olmaması iyi klinik prognozla kendini gösterir (125,128). Bu hastalarda sağkalım süresi 111 aydır (125).

2.1.13 TEDAVİ

KLL hematolojik maligniteler içerisinde tedavisiz izlenilebilen bir hastalıktır. KLL tanısı konulan hastaların yaklaşık 1/3 lük kısmı tedavisiz izlenir, 1/3 lük kısmına ise tanı anında tedavi uygulanırken kalan diğer kısma ise hastalıkta progresyon olduğunda tedavi uygulanmaktadır. Smoldering KLL olarak nitelenen Rai evre 0-1 veya Binet evre A, kemik iliği diffüz tutulmayan, anemi, trombositopenisi olmayan, lenfosit sayısı $<30000/\text{mm}^3$ olan ve LDT ≥ 12 ay olan hastalarda progresyon gözlenene kadar tedavisiz izlenir. Bu hastalarda 3-12

ay aralıklarla kan hücre sayımlarının ve fizik bakının yapılması önerilmektedir. Erken evre hastalarda tedavi verilmesinin sağkalımı uzatmadığı belirtilmektedir (134). Hatta bir çalışmaya göre erken evre hastalarda tedavi verildiğinde ölümcül epitelyal kanser sıklığında artış saptanmıştır (135). KLL hastalarında tedavi endikasyonu ile ilgili çeşitli rehberler mevcuttur. Bulardan en sık kullanılanı olan NCIWG tarafından tanımlanmıştır (Tablo 9). Bu rehberde tedavi başlanması için aktif hastalık bulgularının dökümente edilmesi gerekmektedir (133).

Tedavi kararını vermeden önce lenfositozu tetikleyebilecek enfeksiyon gibi faktörlerin dışlanması gerekir. KLL hastalarında lökosit birikimi ve çökelti oluşturmaya bağlı komplikasyonlar nadirdir. Bu nedenle tek başına lenfosit sayısının yüksekliği tedaviye başlama endikasyonu oluşturmaz (136).

Tablo 9. KLL’ de tedavi endikasyonları (NCIWG) (133)

1. Aşağıdaki hastalık semptomlarından en az birisinin varlığı
 - %10 kilo kaybı (6 ayda)
 - Günlük, olağan aktiviteyi engelleyecek düzeyde halsizlik (ECOG II veya daha kötü)
 - İki hafta veya daha fazla süren, enfeksiyonla ilişkisi gösterilemeyen ateş (>2 hf), enfeksiyonla ilişkisiz gece terlemesi (>1 ay)
2. Anemi / trombositopeni oluşması veya derinleşmesi şeklinde ilerleyici kemik iliği yetersizliği bulgusu
3. Kortikosteroid tedaviye yanıtı iyi olmayan otoimmün hemolitik anemi ve/veya trombositopeni
4. Kosta kenarını >6 cm geçen, masif veya ilerleyici splenomegali
5. En uzun çapı >11 cm olan masif veya gruplar oluşturan veya ilerleyici LAP
6. İki ay içinde %50 artan ilerleyici lenfositoz veya tahmini LDT < 6 ay
7. Yukarıdaki kriterler mevcut değilse belirgin hipogamaglobulinemi veya monoklonal protein oluşumu protokol tedavileri için yeterli değildir

Not: Lenfosit sayısı tek başına tedavi gereksesi olarak alınmamalı genel klinik tablo içinde değerlendirilmelidir.

Uluslararası KLL çalışma grubu tarafından 2008 yılında tedavi cevaplarının sınıflandırılması için bazı tanımlamalar belirtilmiştir (137).

Tam remisyon: Tedavi bitiminden en az 2 ay sonra hasta değerlendirilmeli ve aşağıdaki ölçütlerin tümü karşılanmalıdır.

- Kandaki lenfosit sayısı <4000 ve kemik iliğinde lenfoid hücreler $\leq 30\%$
- Palpe edilen lenf nodu olmamalı (1.5 cm ve altında olmalı)
- Splenomegali ya da hepatomegali olmamalı
- Konstitüsyonel semptomlar olmamalı (kilo kaybı, ateş, gece terlemesi, anlamlı halsizlik)
- Kan sayımında büyüme faktörü kullanılmaksızın nötrofil $>1.5 \times 10^9$, Hb $>11 \text{ g/dL}$, trombosit $>100 \times 10^9 / \text{L}$
- Klinik çalışmada yer alanların son tedaviden sonra 2. ayda kemik iliği aspirasyon ve biyopsisinin yapılması gerekir.

Kısmi remisyon: Aşağıdakiler en az ikisi olmalı ve en az 2 ay sürmeli ayrıca konstitüsyonel semptomların 1 veya daha uzun sürmesi kayıt edilmelidir.

- Çevresel kan lenfosit sayısının başlangıç değere göre %50 veya daha fazla azalması
- Etkilenen lenfadenomegalilerin boyutunun toplamının %50 ve üzerinde gerilemesi
- Etkilenen hepatomegali veya splenomegali boyutunun %50 ve üzerinde gerilemesi
- Kan sayımında büyüme faktörü kullanılmaksızın nötrofil $>1.5 \times 10^9 / \text{L}$, transfüzyon veya büyüme faktörü ihtiyacı duyulmadan Hb $>10 \text{ g/dL}$ veya bazal düzeye göre %50 artış olması, büyüme faktörü kullanılmaksızın trombosit $>100 \times 10^9 / \text{L}$ veya bazal düzeye göre %50 artış olması

İlerleyici hastalık: Aşağıdakilerin herhangi birinin varlığı yeterlidir.

- Lenfosit sayısının başlangıca göre %50 ve üzerinde artması
- Lenf düğümü boyutlarının başlangıç değere göre %50 ve üzerinde artması
- Hepatomegali veya splenomegalinin yeni ortaya çıkması ya da boyutlarının %50 ve üzerinde artması
- Yeni lezyon varlığı
- Daha agresif histolojiye dönüşüm (Richter transformasyonu)
- KLL'ye atfedilen sitopeni ortaya çıkması
- Tedaviden 3 ay sonrası kemik iliği biyopsisi KLL infiltrasyonunu görülmesi ve sitopeninin ortaya çıkması

Stabil hastalık: Tam ya da kısmi remisyona girmeyen ve ilerleyici özellikte de olmayan hastalar bu gruba alınır ve yanıtız olarak değerdendirilirler

İlerlemesiz sağkalım: Çalışmaya girme ile hastalığın progresyonu veya ölüme kadar olan süredir.

Genel sağkalım: Çalışmaya girme ile herhangi bir sebepten olan ölüme kadar geçen süredir.

Relaps: Tam ya da kısmi yanıt gösteren ancak aradan 6 ayı geçen süre sonrasında hastalığın ilerlediğı durumdur.

Refrakter hastalık: Tedavi başarısızlığı veya 6 aydan kısa sürede hastalığın ilerlemesidir

Minimal kalıcı hastalık(MKH): Günlük uygulamada MKH bakılması önerilmezken son yıllarda tedavi çalışmalarına alınan hastalarda önemli duruma gelmiştir. Son yıllarda dört renk akım sitometri ya da allele özel oligonükleotid polimeraz zincir reaksiyonu ile klinik araştırmalarda MKH ölçülmesi önerilmektedir (138). MKH relaps ve kısa progresyonsuz sağ kalımla ilgili bulunmuştur (139,140).

KLL’de tedavi seçenekleri

ek ajan olarak verilebilen sitotoksik ajanlar:

Yıllardır klorambusil kullanımı KLL tedavisinde ilk sıra verilecek altın standart ilaç olarak kabul edilmişti. Günümüzde hala yaşlı ve düşkün hastalarda önerilmektedir. Anti CD20 antikorları ile kombine edildiğinde daha etkin olması nedeni ile güncel yaklaşımda tek başına klorambusil nadiren kullanılır. Düşük toksik etkisi, ucuz olması ve oral kullanılabilir olması nedeni ile tercih sebebidir. Ancak tam remisyon oranının düşük olması, uzun süreli kullanımlarda uzamış sitopeni, miyelodisplazi, sekonder akut lösemi gibi yan etkiler nedeni ile yaygın kullanılmaz.

Fludarabin, pentostatin, ve kladribin KLL tedavisinde kullanılabilen pürin analoglarıdır. Fludarabin konvansiyonel alkilleyici ve steroid içeren tedavilere (CHOP, CAP veya klorambusil) göre daha fazla remisyon sağlamış ancak tek ajan olarak kullanıldığında genel sağkalımı artırmamıştır (141,142).

Kladribin monoterapisi ile klorambusil ve prednizon birlikte verilen hastalar kıyaslandığında artmış tam remisyon görülmüş ancak genel sağkalım etkilenmemiştir (143).

Son yıllarda yapılan bir çalışmada klorambusil ile bendamustin karşılaştırılmış ve bendamustin grubunda daha iyi cevaba rağmen daha fazla toksisite görülmüştür. Genel sağkalıma etkisiz olduğu saptanmıştır (144).

Monoklonal antikorlar:

Glikozile aktive fosforlanmış bir protein olan CD20 görevi net olarak aydınlatılamamış hücre yüzeyinde bulunan bir B lenfosit işaretidir. 1998 yılında anti CD20 antikoru rituksimab gündeme geldikten sonra KLL de dahil olmak üzere pek çok B hücreli malignite tedavisinde iyileşme ve ilerleme sağlanmıştır (145). Tek başına kullanımdan ziyade KLL’de kombinasyon tedavilerinde daha başarılı olunmuştur.

Ofatumumab CD20’nin özel bir epitopuna bağlanan humanize edilmiş(insansılaştırılmış) antikordur. Yapılan bir çalışmada fludarabin ve alemtuzumab refrakter KLL hastalarında etkin bulunması üzerine FDA ve EMA tarafından kullanım onayı almıştır (146).

Obinutuzumab(GA101) CD20'nin tip 2 epitopuna bağlanan monoklonal antikordur. Rituksimab ile karşılaştırıldığında B hücrelerinde in vitro apoptozu artırdığı gösterilmiştir (147). KLL tedavisinde klorambusil ve obinutuzumab kullanımı ile ilgili klinik çalışmalar sürmektedir.

Alemtuzumab CD52 antijenini hedefleyen rekombinan bir monoklonal antikordur. Yüksek riskli olan KLL hastalarında (del17p, del11q ve TP53 mutasyonu olanlar) etkinliği kanıtlanmıştır (148,149). Yapılan randomize kontrollü bir çalışmada klorambusil ile alemtuzumab karşılaştırılmış ve alemtuzumab tam yanıt ve genel yanıt bakımından daha iyi bulunmuştur. Ayrıca hastalığın ilerlemesi veya ölüm riskleri açısından istatistiksel açıdan anlamlı olarak daha faydalı bulunmuştur (148).

Onaylanmış tedaviler dışında çalışmaları süren çok sayıda ilaç bulunmaktadır. B hücre reseptörü KLL hücrelerinin yaşaması için oldukça önemlidir. BHR sinyal yolunun sürekli ve tekrarlayan şekilde uyarılması KLL hücrelerinin yaşam süresini uzatmaktadır (150). Bu sinyal yolağını etkileme potansiyeli olan tedaviler araştırılmaktadır. Bruton tirozin kinaz(BTK) BHR sinyal yolağında rol oynar. İbrutinib BTK'yi inhibe eden oral bir ilaçtır. Relaps/refrakter B hücreli lenfoma ya da KLL hastalarını araştırmaya alan bir çalışmada %16 hastada tam yanıt alınmış, bir başka çalışmada yüksek riskli, relaps/refrakter hastaların çoğunlukta olduğu grupta genel cevap %71 bulunmuştur (151,152).

Syk (spleen tirozine kinase) ekspresyonu KLL'de artmıştır ve tedavi açısından hedeflenen bölgelerden biridir (153) Fostamatinib ağızdan verilen bir Syk inhibitörüdür. Çalışmaları sürmektedir (154).

Malign lenfositlerde Fosfotidil İnositol 3 Kinaz yolağı aktivitesi artmış olup bu konuda da çalışmalar yapılmaktadır (155). İdelalisib (CAL-101, GS-1101) bu yolak üzerinden etkili ağızdan verilen bir tedavidir. KLL ile yapılan çalışmada genel yanıt %72 bulunmuştur (156).

Dasatinib Src- ve Abl-kinaz inhibitörü olup primer KLL'de apoptozu artırır. Yapılan Faz 2 çalışmada umut verici yanıt oranları görülmüştür (157).

Bcl-2 ailesi KLL'de apoptoz ve yaşam dengesinde önemli rol oynayan proteinlerden oluşur. Bcl-2 inhibitörlerinin KLL'de kullanımı ile ilgili çalışmalar sürmektedir. AT101 ve ABT-199 çalışmaları süren oral kullanılan bu yolağa etki eden ilaçlardır (158,159).

İmmünmodölatörler:

Lanelidomide ikinci kuşak thalidomide analogu olup anti anjiojenik özellikleri olan bir immünmodölatördür. Miyelodisplastik sendromda, multiple myelomda kullanılmakta olan bu ilaç KLL tedavisinde de umut vermektedir. Lanelidomide monoterapisine yanıt oranları %32%54 arasında gösterilmiştir (160,161,162). Rituksimab ile kombine kullanımında artmış cevap alınmış ve toksik etkiye belirgin artış olmamıştır (163). Diğer yandan rituksimab lanelidomide ve fludarabine kombinasyonu kullanılan çalışma ciddi yan etkiler nedeni ile sonlandırılmıştır (164).

Everolimus tedavisi KLL’de denenmiş ancak düşük yanıt oranları ve toksisite nedeni ile tercih edilmemiştir (165).

Kombinasyon tedavileri:

Tedavi etkinliğini artırmak ve daha az toksik yollar bulmak amacı ile kombinasyon tedavileri denenmektedir. Fludarabin pek çok diğer ajanla birlikte kullanılmıştır.

Fludarabin ve siklofosfamid kombinasyonu(FC) en çok kullanılan kombinasyondur. Relaps/refrakter KLL hastalarında bu tedaviye mitoxantrone eklenmesi ile %50 tam remisyon sağlanmıştır (166). Yüksek riskli olmayan KLL hastalarında da FC kombinasyonun sadece fludarabine göre ilk sıra tedavide başarı şansını artırdığı görülmüştür (167). Kladribin kombinasyonları ek avantaj sağlamamıştır (168).

Kemoimmunoterapi

Rituksimab kullanılan kombinasyonlar:

Yapılan çalışmalarda fludarabin ile rituksimabın beraber kullanılması ile daha önceden kemoterapi almamış hastalarda toplam cevap oranının ve genel sağkalımın arttığı gösterilmiştir (169). Benzer şekilde FC alan hastalar ile FC’ye ek olarak rituksimab(FCR) alan hastalarının tedavi yanıtlarının karşılaştırıldığı çalışmalar yapılmış; FCR tedavisi ile toplam cevap oranı daha yüksek bulunmuştur. Hastalıksız sağkalım FCR alan grupta anlamlı olarak daha uzun bulunmuştur. Tüm prognostik gruplarda daha iyi bulunan bu tedavi yöntemi del17p için hayatta kalma süresini etkilememiştir (170). Benzer bulgular başka çalışmalarla da desteklenmiştir.

FCR tedavisine alemtuzumab eklenmesi ile %70 tam remisyon sağlanmış kısmi yanıt %18, toplam cevap %92 bulunmuştur (171).

Başka bir çalışmada FCR tedavisine mitoxantrone eklenmiş ancak ciddi nötropeni riski (%13) olması nedeni ile klinik araştırmalardan öteye geçmemiş, yaygın kullanıma girememiştir (172).

Farklı bir tedavi şekli olarak FCR yerine pentostatin siklofosfamid rituksimab(PCR) verilmiş ve benzer sonuçlar elde edilmiştir (173).

İlk sıra tedavi olarak bendamustin ile rituksimab(BR) verilen KLL hastalarında toplam cevap %88, tam remisyon %23,1 bulunmuştur (174). Relaps KLL’de rituksimab ile bendamustin kombine edilmiş fludarabine dirençli hastalarda toplam yanıt %45,5, fludarabine yanıtı hastalarda %60,5 bulunmuştur (175). Ancak bu hastaların %12,8 inde Grade 3- 4 nötropeni, trombositopeni ve anemi gibi ciddi yan etkiler olmuştur. Yapılan geniş bir çalışmada FCR ile BR karşılaştırılmış ve FCR daha yüksek tam yanıt, daha az minimal kalıcı hastalık ve daha uzun ilerlemesiz sağkalım ile üstün bulunmuştur (176).

Obinutuzumab ile kombinasyonlar:

Fiziksel olarak yandaş hastalıkları olan KLL hastalarından tedavi almamış olanlarda yapılan karşılaştırmalı bir çalışmada obinutuzumab ve klorambusil kombinasyonu, rituksimab ve klorambusil kombinasyonundan daha üstün bulunmuştur (177).

Ofatumumab ile kombinasyon:

Klorambusil ile ofatumumab kombinasyonu fludarabin temelli tedavi alamayan yandaş hastalığı olan ve yaşlı hastalarda kullanılmış ve klinik açıdan önemli katkılar bulunmuştur (178).

Alemtuzumablı kombinasyonlar:

Alemtuzumab ile fludarabin kombinasyonu relaps KLL hastalarında Faz 2 bir çalışmada araştırılmıştır (179). FC’ye ek olarak alemtuzumab(FCA) kombinasyonu ile FCR karşılaştırılmış FCA kolunda toksisite fazlalığı nedeni ile erken bitirilmiş bu çalışmada FCR belirgin olarak daha üstün bulunmuştur (180).

Relaps veya refrakter hastalarda yapılan randomize kontrollü çalışmada fludarabin monoterapisi ile fludarabin ile alemtuzumab kombinasyonunun (FA) etkinliği karşılaştırılmış ve genel sağkalım ve hastalıksız sağkalım süresi FA alan grupta daha uzun bulunmuştur. Ancak diğer yandan kombinasyon grubunda ciddi yan etkiler daha fazla bulunmuştur. Toplam tedavi ilişkili mortalite benzer saptanmıştır (181).

Bir çeşit Bcl-2 antagonisti olan oblimersen ile ilgili yapılan çalışmada, FC ile oblimersen-FC kombinasyonu karşılaştırılmış genel sağkalıma olumlu katkı sağladığı bulunmuş ve tedavi açısından umut verici bulunmuştur (182).

Semptomatik olan ve TP53 veya del17p mutasyonu bulunan hastalara ilk sıra tedavide idelalisib veya ibrutinib tedavilerinden biri mutlaka önerilir. Bu tedavilere rituksimab eklenebilir. Yüksek riski olan bu hastalara ilk veya ikinci relapsta allojenik kemik iliği nakli önerilebilir (183).

İkinci sıra tedavi verilmesi gündeme geldiğinde hastalığın remisyon süresi göz önüne alınmaktadır. Relaps olmuş ancak asemptomatik hastalar tedavisiz izlenebilir. TP53 mutasyonu olmayan ve tedaviden 24-36 ay sonra relaps yada progresyonu olan hastalarda ilk sıra tedavi tekrarlanabilir. Daha kısa sürede relaps olanlarda yada ilk sıra tedaviye cevap vermeyen hastalarda tedavi değişikliği yapılır.

İkinci sıra tedavi seçenekleri şunlardır:

Kinaz inhibitörleri (idelalisib, ibrutinib)

Tek başına ya da herhangi bir klinik araştırma ilacı ile kombine Bcl-2 antagonistleri

Allojenik kök hücre nakli

Tek veya kombinasyon olarak alemtuzumab

Hastaların fiziksel durumları, ilaca ulaşabilme durumları ve moleküler sitogenetik bulguları bu tedavi seçeneklerinde önceliğin belirleyicisi olacaktır. Avrupa konsensus grubu önerilerine göre bir kinaz inhibitörüne rağmen relaps olan fiziksel olarak iyi olan refrakter KLL hastalarında kök hücre nakli öncelikli olarak önerilir (183). Ancak kinaz inhibitörlerine cevapsız ya da progrese olan hastalarda farklı bir kinaz inhibitörüne ya da Bcl-2 antagonistine geçilebileceği ve ikinci kez remisyon sağlanan hastalara allojenik nakil önerilebileceği görüşü de bulunmaktadır (184).

3.GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma için yerel etik kurul onayı alınarak 2005-2015 yılları arasında Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Hematoloji Bilim Dalı'nda KLL tanısı almış 125 hasta verileri retrospektif olarak tarandı. Sitogenetik verilerin taranması için Tıbbi Biyoloji Bilim Dalı'ndan izin alındı.

Hastaların verilerine DEÜTF Hematoloji Bilim Dalı dosyaları ve hastane veri tabanından ulaşılarak, ek tetkik yapılmadı. Ek inceleme yapılmaması nedeniyle olgulardan tekrar onam formu alınmadı.

Çalışmaya 18 yaş üzerindeki KLL tanısı almış 125 hasta dahil edilmiş, tanı anında ek malignitesi bulunan olgular, bifenotipik lösemi olanlar ve medikal kayıtları yetersiz olanlar çalışma dışı bırakılmıştır.

Hastaların tanı tarihleri, tanı anındaki yaş, hemoglobin (Hgb), trombosit (PLT), beyaz küre (WBC), laktat dehidrogenaz (LDH), albumin, globulin, aspartat aminotransferaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT), kreatinin, c-reaktif protein(crp), sedimentasyon, immünglobulin A, immünglobulin G,immünglobulin M, B2mikroglobulin, hbsag, antihbs, antihbc, sitogenetik, moleküler ve FISH sonuçları, tanı anında evresi, tedavi başlama nedeni, verilen tedavi, tedaviye yanıt, sağkalım verileri tarandı. Sağkalım verileri Haziran 2016 tarihi itibari ile güncellendi. Tüm laboratuvar verileri, SPSS Versiyon 22.0 programına kaydedildi.

Konvansiyonel sitogenetik kemik iliği aspirasyon yapılan olgulardan aspirasyon materyalinden gönderilmişti. Konvansiyonel sitogenetik inceleme yapılanlar için 20 metafaz eldesi esas olarak alındı. 20 metafazın altında saptananlar yetersiz olarak belirtildi. FISH örnekleri için hastaların periferik kan ve/veya kemik iliği aspirasyon materyalleri kullanılmıştı.. FISH ile sitogenetik incelemesi yapılan hastalarda rutinde bakılan (2013 itibari ile gönderilmeye başlanan) trizomi 12, 11q delesyonu, 17p delesyonu, 13q delesyonu sonuçları kaydedildi.

4.İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Çalışmanın veri analizinde “Statistical Package for Social Sciences” (SPSS) Versiyon 22.0 kullanıldı. Kategorik ölçümler sayı ve yüzde olarak, sürekli ölçümler ise ortalama ve standart sapma (gerekli yerlerde ortanca ve minimum - maksimum) olarak özetlendi. Yaşam karakteristiklerini tahmin etmek ve yorumlamak için Kaplan Meier yöntemi ve grafikleri, medyan tahmini ve güven aralıkları kullanıldı. Prognostik faktörlerin çoklu değişken analizlerinde Cox regresyon yönteminden yararlanıldı. Pearson korelasyon analizi değerlendirilmiş olup istatistiksel anlamlılık düzeyi $p < 0.05$ olarak kabul edilmiştir.



5.BULGULAR

Çalışmaya dahil edilen 125 hastanın 73'ü (%58,4) erkek, 52'si (%41,6) kadın olup E/K oranı 1.4/1'di. Tanı anındaki ortalama yaş 64 (min 38- max 85) olarak saptandı. Hastaların yaş ve evre dağılımları tablo 10'da verildi.

Hastaların tanı anındaki laboratuvar bulguları tablo 11'de verildi. Ortanca LDH düzeyi 204 U/L(min:115—max:798) olan hastalar LDH üst sınırı 250u/L'ye göre gruplandırıldıklarında 29 hastanın (%23,2) LDH düzeyi 250 u/L ve üzerindeyken, 96 hastanın (%76,8) LDH düzeyi normaldi (LDH<250u/L).

Seksensekiz (%71) hastada sedimentasyon <30mm/h, 18(%14,5) hastada 30-50mm/h arası, 13(%10,5), hastada 50-100 mm/h arası, 5(%4) hastada 100 mm/h üstünde idi.

Yedi hastanın (% 6,4) Ig G düzeyleri <500 mg/dL idi. Elliyebebe hastada (%45.6) β 2 mikroglobulin çalışıldığı görüldü. Laboratuvarımızda B2 Mikroglobulinin üst sınırı 2,5 mg/L dir. B2 Mikroglobulin 16(%28) hastada <2,5mg/L, 28(%49,1) hastada 2,5-5 mg/L arası, 9 hastada (%15,78) 5-10 mg/L arası, 4 hastada da >10 mg/L den büyük görülmüştür.

	N (%)
Erkek	73 (58,4)
Kadın	52 (41,6)
Tanı yaşı	
55 $\geq$	28 (22,4)
56-65	48 (38,4)
66-75	33 (26,4)
76-85	16 (12,8)
EX	30 (24)
SAĞ	95 (76)

Tablo 10: Hastaların Klinik ve Demografik Özellikleri

LAB	Ortanca değer	Min-Max
Hg g/dL	13	6,6-17,8
PLT / μ L	186.000	28.000-715.000
WBC / μ L	24.000	5.100-392.000
LDH U/L	204	115-798
AST U/L	21	10-146
ALT U/L	17	4-134
CRP mg/L	3	0,2-365
CR mg/dL	0,91	0,58-4,8
Alb g/dL	4,4	2,9-5,2
Glb g/dL	2,5	1,5-8
Sedim mm/h	15,5	1-110
IGA mg/dl	134	22-810
IGM mg/dl	42,5	7-685
IGG mg/dl	997	8,5-6602
B2 Mik mg/L	3,1	1,38-18,9

Tablo 11:Hastaların Laboratuar Özellikleri

Hastaların tanı anındaki hepatit B serolojileri tablo 12’de verildi.

	HBsAg N (%)	Anti-HBs N (%)	Anti-HBc total N (%)
Pozitif	1 (0.8)	31 (24.8)	27 (21.6)
Negatif	94 (75.2)	63 (50.4)	67 (53.6)
Bakılmamış	30 (24)	31 (24.8)	31 (24.8)
Total	125 (100)	125 (100)	125 (100)

Tablo 12: Tanı anındaki hepatit B serolojileri

Sağkalım verileri Haziran 2016 tarihinde güncellenen hastaların medyan 40 ay (1-137 ay) izlem sonunda 95’inin (%76) halen yaşadığı, 30’unun (%24) ise öldüğü saptandı (Tablo 10).

Hastaların tedavi sırasındaki sitogenetik özellikleri ele alındığında 86 (%68,8) hastada kemik iliği aspirasyon yapılmadığı için sitogenetik inceleme gönderilmediği, kemik iliği aspirasyonu yapılan olguların gönderilen konvansiyonel sitogenetik incelemelerinden 24 hastada (%19,2) yetersiz metafaz nedeniyle sonuç alınamadığı, 10 (%8) hastanın normal sitogenetik özelliklere sahip olduğu belirlendi. 1 hastada (%0,8) : 41-46,XY,-5,-13,del(13) sitogenetik anomali saptandı. 1 hastada hiperdiploidi (%0,8), 3(%2,4) hastada da Y kromozom kaybı izlendi (Tablo 13).

SİTOGENETİK	N (%)
NORMAL	10 (8)
41-46,XY,-5,-13,del(13)	1 (0,8)
HİPERDİPLOİDİ	1 (0,8)
Y KROMOZOM KAYBI	3 (2,4)
YETERSİZ	24 (19,2)
BAKILMAMIŞ	86 (68,8)

Tablo:13:Hastaların Sitogenetik Özellikleri

Yetersiz sitogenetik örneklemler nedeni ile hastalarda 2013 yılı sonrasında periferik kan ve/veya kemik iliği aspirasyon materyalinden FISH ile 13qdel, 17 p del, 11q del ve trizomi 12 bakılmaya başlandı. Hastaların FISH özellikleri tablo 14’te verildi.

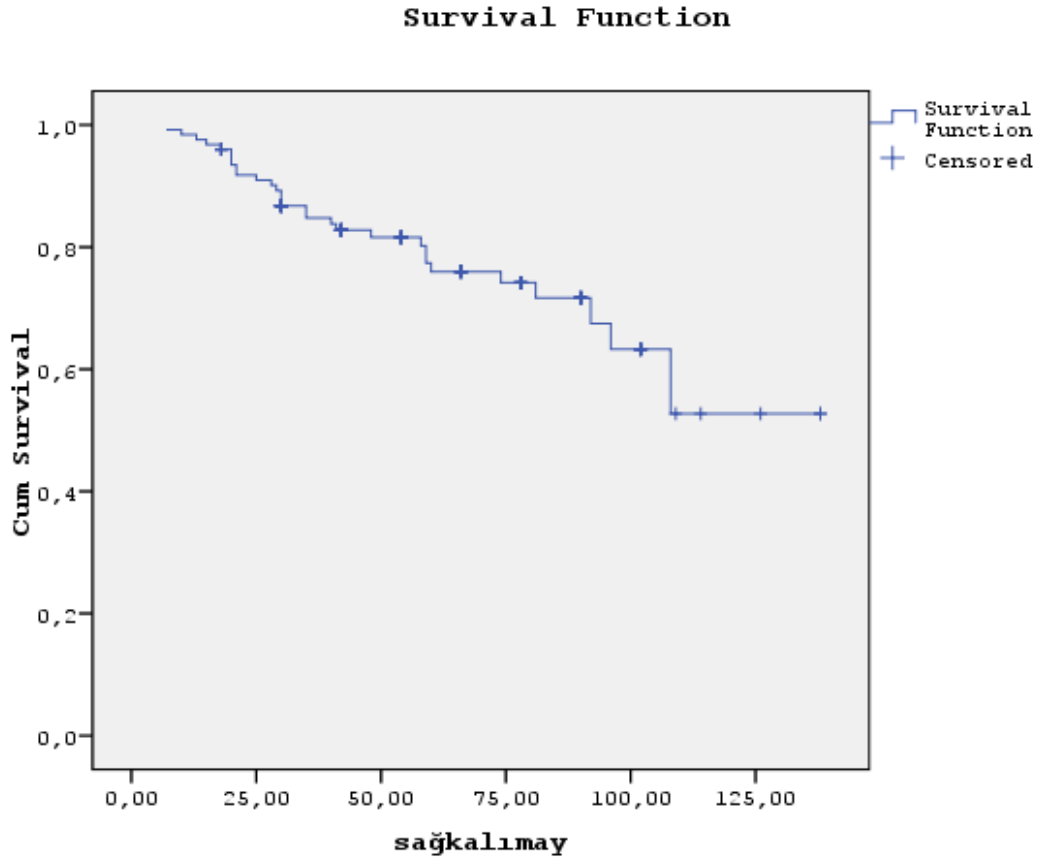
FISH ÖZELLİK	POZİTİF N- (%)	NEGATİF N-(%)	BAKILMAMIŞ N-(%)	TOPLAM
TRİZOMİ 12	6(4,8)	17(13,6)	102(81,6)	125
13q DELESYONU	20(16)	24(19,2)	81(64,8)	125
17p DELESYONU	13(10,4)	54(43,2)	58(46,4)	125
11q DELESYONU	0(0)	52(41,6)	73(58,4)	125

Tablo 14: KLL olgularının FISH bulguları

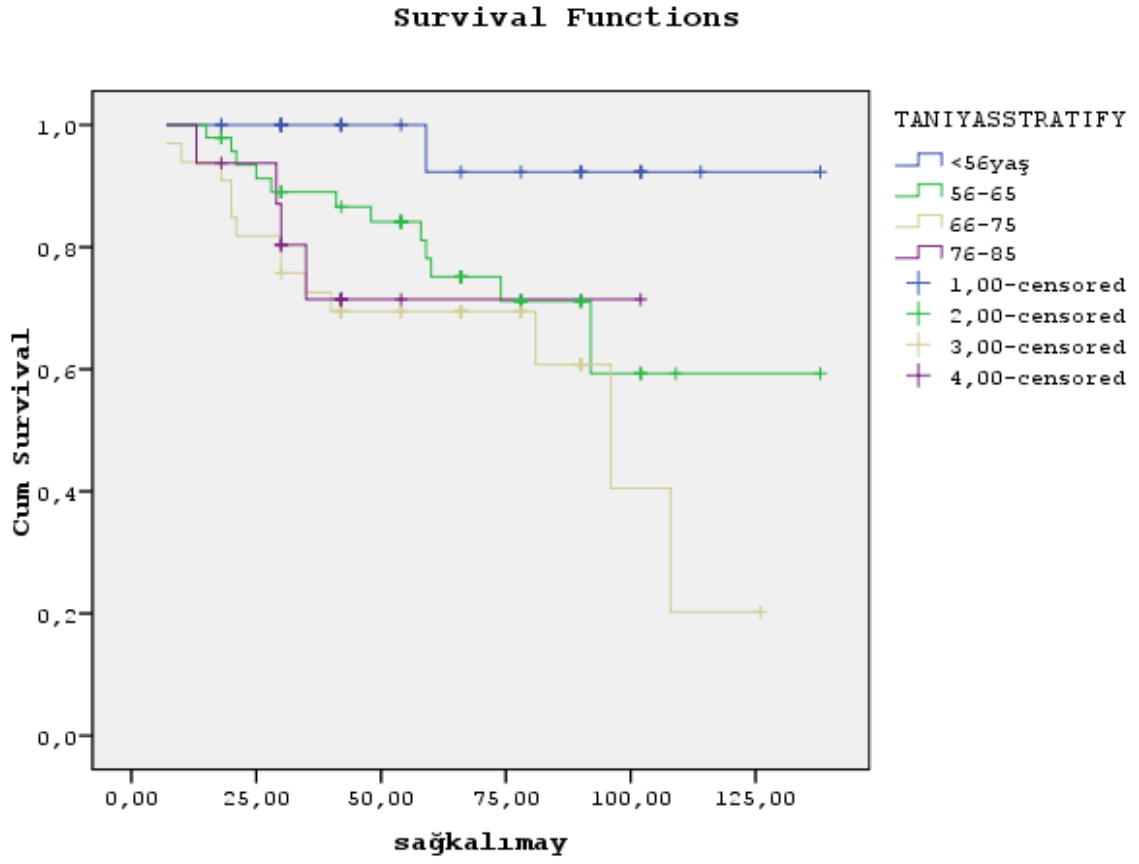
Tüm KLL hastalarında 40 aylık medyan izlem süresi sonunda medyan sağkalıma ulaşamadığı, ortalama OS’lerinin 103,5 ay ($\pm 5,5$ ay) olduğu görüldü (şekil 1). 5 yıllık sağkalımı %76 olarak belirlendi.

Hastalar yaş aralıklarına göre gruplandırıldıklarında medyan sağkalıma ulaşamadı. Ortalama sağkalımları sırası ile: <56 yaş: 131,92 $\pm 5,8$ ay, 56-65 yaş: 105,77 $\pm 8,1$ ay, 66-75 yaş: 80,96 $\pm 8,36$ ay, 76-85 yaş: 80,7 $\pm 9,1$ ay olarak izlendi ($p=0,019$) (şekil 2). Yaş arttıkça sağkalımın istatistiksel olarak anlamlı ölçüde kısaldığı görüldü.

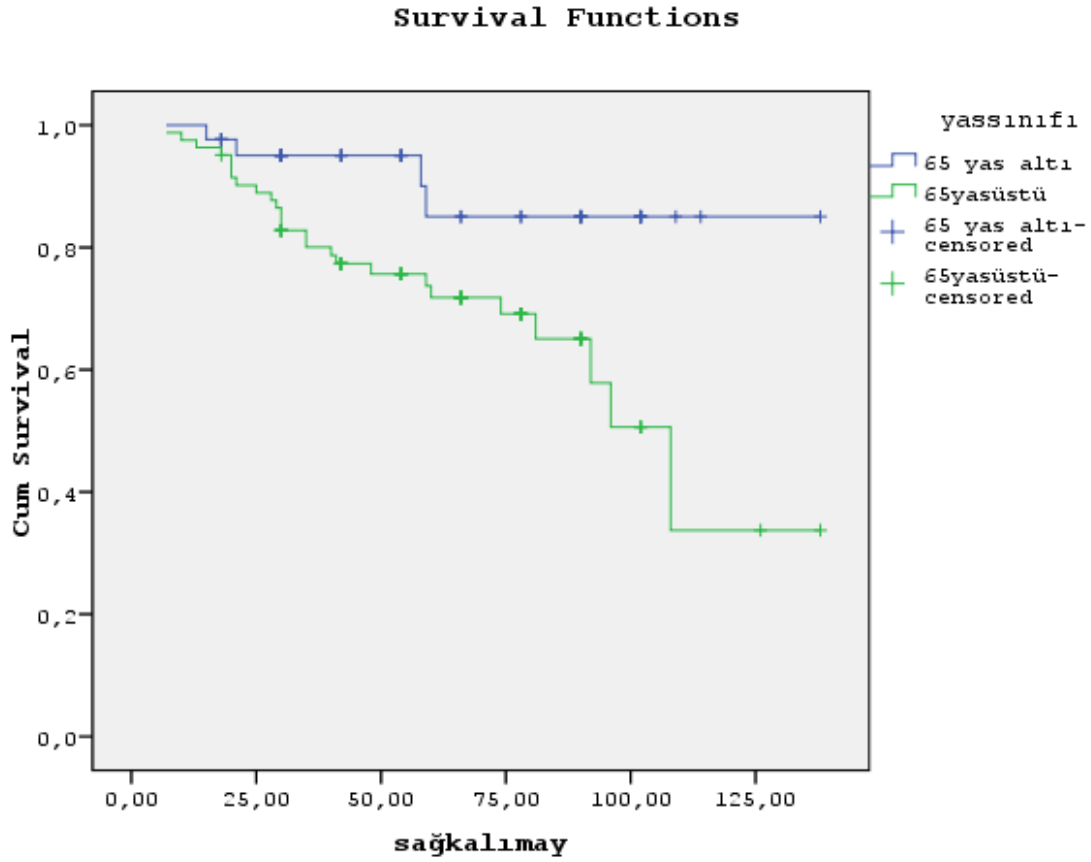
65 yaş altı hastaların median sağkalıma ulaşamamakla birlikte ortalama sağkalımı 124(± 6) ay olup, 65 yaş üstü hastalardan uzundu (median sağkalım süresi 108 ($\pm 10,2$), $P=0,012$) (şekil 3).



Şekil 1: KLL olgularının Genel Sağkalım Analizi

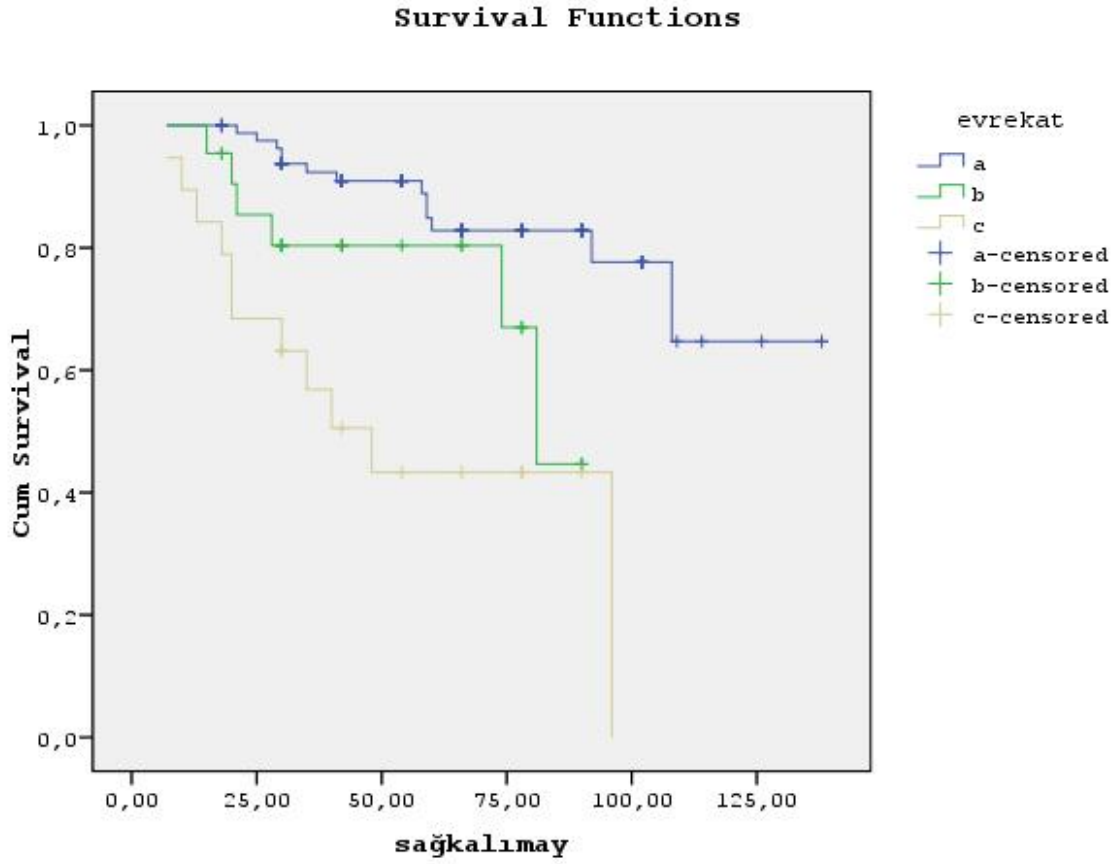


Şekil 2: KLL hastalarının yaş gruplarına göre Genel Sağkalımları



Şekil 3: 65 yaş altı ve üstü KLL olgularının tüm sağkalımı

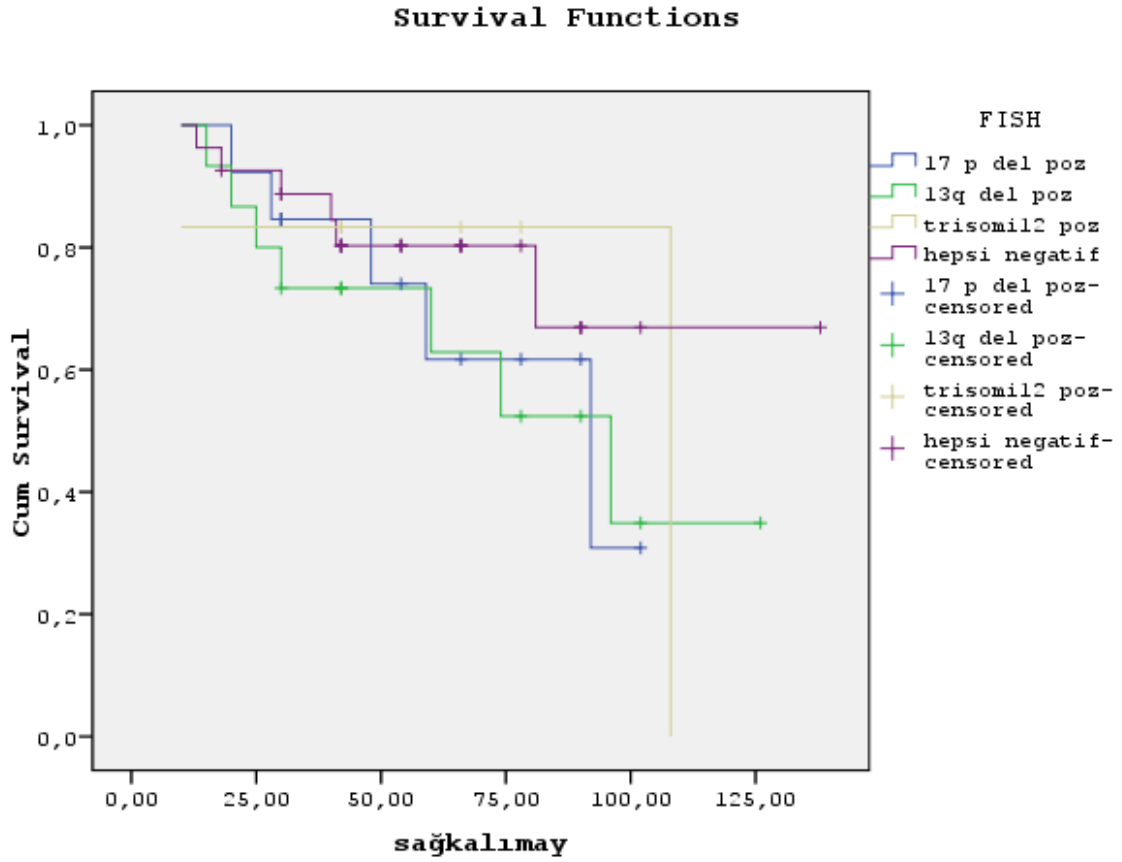
Evrelere göre sağkalıma bakıldığı zaman evre A'da median sağkalım süresine ulaşamamış olup ortalama sağkalım süresi $115,5(\pm 5)$ ay, evre B'de median sağkalım süresi $81(\pm 6,4)$ ay, evre C'de median sağkalım süresi $48(\pm 11,7)$ ay olarak izlendi. Evrelere göre sağkalıma bakıldığında ileri evre olguların yaşam sürelerinin kısa olduğu görüldü ($p=0,0001$) (şekil 4).



Şekil 4: KLL olgularının Evrelere Göre Tüm Sağkalımı

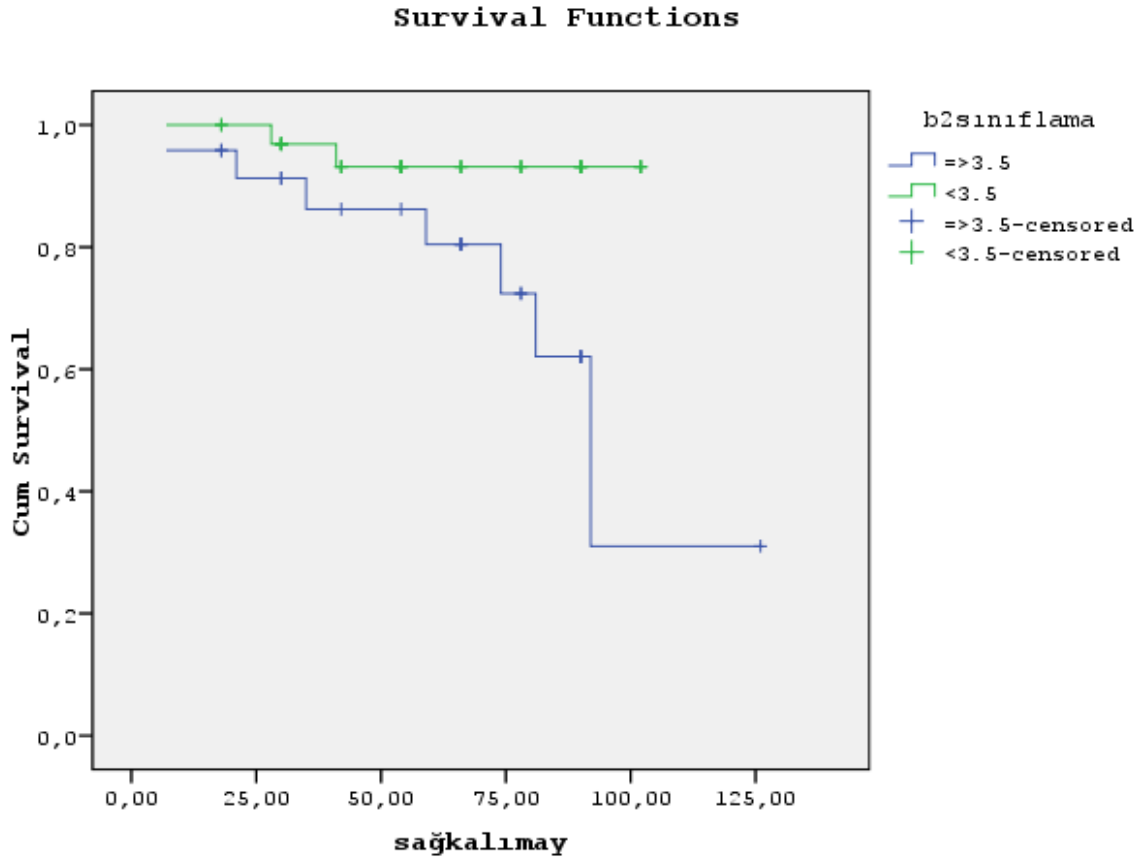
17p delesyonu bakılanlar içinde (67 olgu) sağkalım incelendiğinde 17p pozitif hastalarda median sağkalım 92 ay ($\pm 24,8$), 17p negatif hastalarda ise median sağkalıma ulaşılammış olup ortalama sağkalım 101,9 ($\pm 8,5$) ay olarak izlendi. 17 p del pozitif olguların sağkalımlarının daha kısa olduğu görülmekle birlikte istatistiksel anlamalılık saptanamadı ($p=0,33$). 5 yıllık sağkalımları değerlendirildiğinde, 17 p del pozitif olgularda OS %61, negatif olgularda ise %79 idi.

Dörtlü FISH grubu çalışılmış 61 olgu ele alındığında hastaların medyan sağkalımı: 17 p del pozitif olgularda 92 ($\pm 24,8$) ay, 13 q del pozitif olgularda 96 ($\pm 22,5$) ay, trizomi 12 pozitif olgularda 108 ay, hepsinin negatif olduğu grupta medyan sağkalıma ulaşılammadı. Ortalama sağkalım 108,8($\pm 10,5$) ay olarak izlendi. Dört grup arasında sağkalım açısından istatistiksel fark gözlenmedi ($p=0,7$) (şekil5).



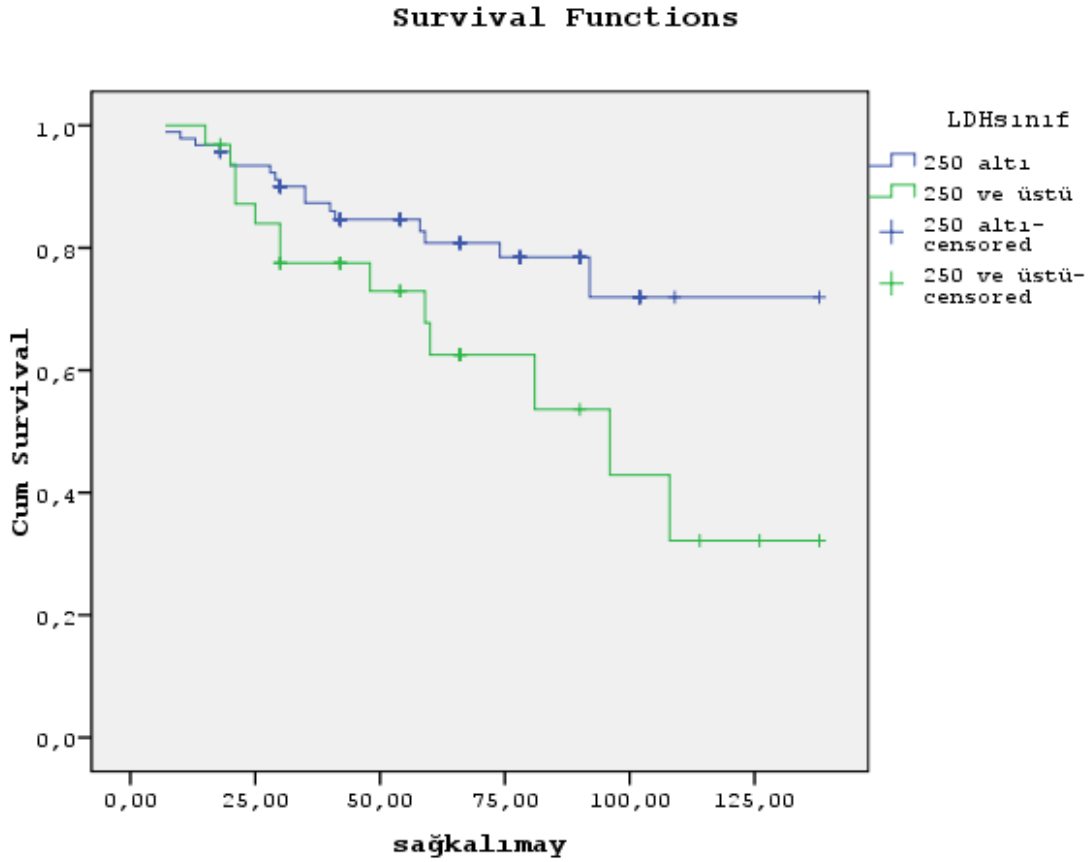
Şekil 5: FISH Verilerine Göre Tüm Sağkalım

B2 mikroglobulin düzeylerine göre sağkalım verileri incelendiğinde; B2 mikroglobulin düzeyi $<3,5$ mg/L olan hastalarda median sağkalıma ulaşılamamış olup ortalama sağkalım $97,4(\pm 3,1)$ ay olarak izlendi. B2 mikroglobulin düzeyleri $\geq 3,5$ mg/L olan hastalarda median sağkalım süresi $92(\pm 8,1)$ ay olarak izlendi (şekil 6). B2 mikroglobulin düzeyi yüksek grubun sağkalımı kısaydı ($p=0,023$).



Şekil 6:KLL olgularının B2 Mikroglobulin Düzeyine Göre Sağkalım Analizleri

LDH düzeyine göre sağkalım verileri incelendiğinde ise; $LDH < 250 \text{ u/L}$ hastalarda median sağkalım süresine ulaşılammış olup ortalama sağkalım süresi $113,2(\pm 5,5)$ ay olarak görülmüştür. $LDH \geq 250 \text{ u/L}$ olan hastalarda ise median sağkalım süresi $96(\pm 24,6)$ ay olarak görülmüştür ($p=0,03$)(Figür 6).



Şekil 7: LDH Düzeyine Göre Sağkalım

Tüm veriler multivariate Cox Regression’a tabi tutulunca sadece evrenin prognostik öneminin olduğu görüldü. Diğer verilerin prognostik önemini yitirmesi hasta sayısının yeterli olmamasına bağlandı.

Yüzyirmibeş hastanın 54’ünde (% 43,2) tedavi endikasyonu olup, kemoterapi uygulanmıştı. Hastaların tedavi endikasyonları tablo 15’te verildi. Tedavi uygulanan hastaların 26’sı (%20.8) tek sıra, 20’si (%16) iki sıra, 8 hasta (%6,4) üç sıra tedavi almıştı. İlk sırada en sık klorambusil (%44,6), sonrasında sırasıyla fludarabin+endoksan (%16,6), rituximab+klorambusil (%9,2) ve rituximab+fludarabin+endoksan (%7,4) tercih edilmişti. Obinituzumab, ibrutinib’li az sayıda kombinasyon tedavisi çalışma kapsamında kullanılmıştı. R-FE dışında rituksimabın kombinasyon tedavileri için Sağlık Bakanlığı’ndan onam alınmıştı.

TEDAVİ ENDİKASYONU	N-(%)
ANEMİ	5(9,2)
TROMBOSİTOPENİ	9(16,6)
SEMPATOMATİK LAP PROGRESYONU	5(9,2)
B SEMPTOMLARI	9(16,6)
LENFOSİT İKİLENME ZAMANI (<6 ay)	26(48,1)

Tablo 15: KLL hastalarının tedavi endikasyonları

6. TARTIŞMA

KLL ülkemizde de batı ülkelerindeki gibi sık görülen bir hastalıktır. Genellikle yavaş seyreden bir hastalık olmasına rağmen, tedavi ihtiyacı olan hastalarda, kemoterapinin yan etkileri, hastalığın otoimmün bulguları ve enfeksiyon ile ilgili komplikasyonları önemli morbidite ve mortalite sebepleridir.

Sık görülen bir hastalık olması nedeniyle, dünyada, bu hastalığın tanısı, prognozu ve tedavisini aydınlatmak amacıyla birçok çalışma yapılmaktadır. Tanı ile birlikte, hastalığın gelecekteki seyrini daha net belirlemek için, çeşitli prognositik faktörlerin tanımlanması (evre, sitogenetik ve immünofenotipik özellikler vb.) son derece değerlidir.

Tanı anındaki ortalama yaş 65 olmakla birlikte sıklığı yaşla artar (21). Çalışmamızda da KLL olgularının yaş ortalamaları 64 olarak saptanmış olup, literatür ile benzer olduğu görülmüştür. Çalışmalarda erkeklerde kadınlara oranla yaklaşık 2 kat daha sık görüldüğü vurgulanırken (189,190), bizim hasta popülasyonumuzda erkek/kadın oranı 1,4/1 olarak bulunmuştur. Yaş KLL olguları için önemli bir faktördür. Pek çok çalışmada KLL hastalarında ileri yaştan komorbid hastalıktan bağımsız olarak mortalite ile ilişkili olduğu saptanmıştır. Diehl LF ve arkadaşları KLL'de 5 yıllık beklenen yaşam süresini 40 yaş altında % 69,5; 40-59 yaş arasında % 72,2; 60-79 yaş arasında % 63,1 ve 80 yaş üzerinde % 41,7 saptamışlardır (192). Bizim çalışmamızda da 5 yıllık sağkalım 65 yaş altı olgularda %85, 65 yaş üstü olgularda ise %71 olup yaşla birlikte sağkalım süresi kısalmaktadır.

Rai ve Binet evreleme sistemleri, KLL hastalarının klinik seyrinin, sağkalım süresinin ve tedavi gereksiniminin belirlenmesinde klinisyenin başvurduğu kaynaklardır (94,95). Binet ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada evre A %55, evre B %30, evre C %15 olarak saptanmıştır (191). Bizim olgularımızın da en fazla evre A'da tanı aldığı görülmüş olup literatürü desteklemektedir (evre A (%67,2), evre B (%17,6), evre C (%15,2)). Düşük riskli RAI 0 ve binet A hastaların yaşam süreleri 10 yılı aşarken orta riskli hastalarda (rai 1-2, binet B) 5-7 yıl yüksek riskli hastalarda 3-4 yıldan kısadır (191). Bizim çalışmamızda da evre A'da ortalama sağkalım süresi 115,5(±5) ay, evre B'de median sağkalım süresi 81(±6) ay, evre C'de median sağkalım süresi 48(±11) ay olarak izlenmiş olup literatür ile benzerlik göstermektedir.

Prognostik skorlamada kullanılan LDH ile ilgili çalışmalarda farklı veriler mevcuttur. Bazı çalışmalarda univariate analizlerde sağkalım ilişkisi vurgulanırken, çoklu analizlerde önemini yitirmiştir. Weinberg ve arkadaşlarının yapmış olduğu 190 vakalık çalışmada

hastaların 107'sinde LDH düzeyi çalışılmış. Çalışma yapılan 107 hastanın 35'inde (%33) LDH düzeyi yüksek saptanmış. Çalışmada LDH yüksekliğiyle ortalama yaşam süresi arasında ters orantılı olarak anlamlı bir ilişki bulunmuştur (193). Bizim çalışmamızda da yüksek LDH seviyesi ile (>250 u/L) sağkalım ters orantılı bulunmakla birlikte, multivariate analizde prognostik önemini yitirmiştir. LDH'nin prognostik belirteç olarak yerinin netleşebilmesi için hala bu konuda geniş sayıda hasta grubunu içeren ek çalışmalara ihtiyaç vardır.

B₂ mikroglobulin, *class I- major histocompatibility complex* ile ilişkili, hücre dışında, zara bağlı olarak bulunan bir proteindir. β 2 mikroglobulin artışı KLL hastalarında kötü prognoz kriteri olarak kabul edilmektedir (194,195). Shanafelt ve arkadaşları tarafından yayınlanan makalede 302 hastanın geriye dönük incelemesinde β 2 mikroglobulin artışının tümör yükü ile istatistiksel olarak anlamlı ilişki olduğu belirtilmiştir (195). Bizim çalışmamızda da benzer şekilde β 2 mikroglobulin düzeyi $\geq 3,5$ mg/L olan hastaların sağkalımının anlamlı ölçüde düşük olduğu gösterilmiştir.

KLL'de kromozomal değişikliklerin prognostik önemi bilinmesine rağmen, konvansiyonel sitogenetik çalışmalarda başarı oranı düşüktür. Çünkü KLL hücrelerinin in vitro proliferasyon yeteneği düşüktür. Tanı için kemik iliği örneklemesine de gerek olmaması nedeni ile sitogenetik veriler bu konuda yetersizdir. Çalışmamızda da sadece %30 olguda sitogenetik değerlendirme yapılmış, değerlendirme yapılan olguların ise %62'sinde yetersiz metafaz elde edilmiştir. Yeterli metafaz elde edilenlerin %66'sında normal sitogenetik tesbit edilirken, %34'ünde en az bir sitogenetik anomali elde edilmiştir. 3 hastada Y kromozom kaybı, 1 hastada hiperdiploidi, 1 hastada ise 41-46, XY,-5,-13, del (13) anomali saptanmıştır. Sitogenetik inceleme yapılan hastaların sayılarının çok az olması ve heterojen dağılmış olmaları nedeniyle, bu hastalar üzerinde istatistiksel analiz yapılamamıştır. Y kromozom kaybının KLL'deki sıklığı kaynaklarda %2,3 olarak belirtilmiştir (196). Bizim çalışmamızda daha yüksek yüzde ile görülmesi yeterli sayıda hastada sitogenetik çalışma yapılamamasına ve Y kromozom kaybının yaşla birlikte artmasına bağlanabilir. Y kromozom kaybı izlenen hastalarımızın yaşları 72,74 ve 83 olarak izlenmiştir. Hiperdiploidi KLL'de nadir görülür ve kötü prognoz ile ilişkili bulunmuştur. Çalışmamızda hiperdiploidi saptanan hastamız 4 yıldır tedavisiz izlenmektedir. Ancak diğer prognostik değerlendirmeleri olumlu olan hastada tek başına hiperdiploidinin sağkalımı olumsuz yönde etkilemediği düşünülmüştür.

Glassman ve arkadaşları sitogenetik anomalileri saptamada FISH yönteminin konvansiyonel sitogenetik yöntemlere göre daha sensitif olduğunu saptamış ve bu durumun

konvansiyonel sitogenetik anomalinin metafaz plaklarında sınırlaması bununla beraber FISH yönteminin hücrelerin hem metafaz hem de interfaz döngüsünde çalışılabilir olmasına bağlamışlardır (198). Glassman ve arkadaşlarının FISH yönteminin KLL’de duyarlılığını ve kullanılabilirliğini göstermek için 100 KLL hastasında FISH yöntemi ile konvansiyonel sitogenetik anomali yöntemini kıyaslamışlar. Konvansiyonel sitogenetik yöntemi ile hastaların % 28’inde kromozomal anomali saptanırken FISH yöntemi ile bu oran % 64’e çıkmış (198). Bizim çalışmamızda da 125 hastanın 70’inde FISH çalışılmıştır. Sitogenetik ile %34’ünde anomali saptanır iken FISH çalışılan olguların %55,7’sinde en az bir kromozom anomali izlenmiştir. Bu yönü ile FISH KLL hastaları için daha uygun görünmektedir.

KLL’de en sık saptanan sitogenetik anormalliklerin insidansına baktığımızda 13q delesyonu % 14-40, 11q delesyonu % 10-32, Trizomi 12 % 10-30, 17 p delesyonu için ise % 3-27’ dir (199,200). Bizim çalışmamızda ise 13q delesyonu bakılan 44 hastanın 20’sinde (%45) pozitif, 11q delesyonu çalışılan 52 hastanın tamamında negatif, Trizomi 12 çalışılan 23 hastanın 6’sında (%26) pozitif, 17p delesyonu çalışılan 67 hastanın 13’ünde (%19) pozitif olarak saptanmıştır. 11q delesyonu dışındaki verilerimizin literatür verileri ile yakın olduğu izlenmektedir. 11q delesyonu verilerimizin bu şekilde olması hasta sayısının azlığına bağlanabilir. Döhner ve arkadaşlarının Almanya’da yapmış olduğu 325 KLL’li hastada FISH yöntemi ile sitogenetik tarama yapılmış ve hastaların % 82’sinde sitogenetik anomali tespit edilmiştir. Sırasıyla 13q14 % 55; 11q % 18; trizomi 12 % 16; 17p delesyonu % 7 sıklıkta tespit edilmiş (201). Yine Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi’nden Durak ve arkadaşlarının yapmış olduğu 79 vakalık çalışmada 26 (%32,9) vakada 13q14 delesyonu, 12 (%15,2) vakada trizomi 12, 6 (%7,6) vakada 17p13 delesyonu, 4 (%5,1) vakada 11q22.3 delesyonu ve 31 (%39) vakada ise normal karyotip saptanmış (202). 17 p delesyonunun bizim çalışmamızda diğer Türkiye verisine kıyasla yüksek saptanması, KLL referans merkezi olarak çalışmalarda 17 p delesyonu olan olguların merkezimize yönlendirilmiş olmasına bağlandı.

KLL’deki sitogenetik anormaliler ile sağkalım süreleri incelendiğinde; Döhner ve arkadaşlarının 325 KLL’li hastadaki Kaplan Meier yöntemi ile hastaların median yaşam sürelerine bakıldığında 13q delesyonunda 133 ay, 11q delesyonunda 79 ay, Trizomi 12’de 114 ay, 17p delesyonunda 32 ay ve normal karyotipte 111 ay olarak saptanmış (201). Durak ve arkadaşları tarafından 79 KLL tanılı hastada yapılan çalışmada hastalar 3 gruba ayrılarak incelenmiş. Birinci grup rai 0-1 olan düşük lenfosit sayısına sahip ve 13q14 delesyonu olan hastalar iyi prognostik grup olarak alınmış. Kötü prognostik grupta da yüksek lenfosit sayısına

sahip rai 3-4 olan ve 11q ve/veya 17p delesyonu olan hastalar alınmış. Orta risk grubuna ise trizomi12'si olan ve rai 2 evresinde olan hastalar alınmış. 13q14 delesyonu 20 hastada izole olarak tespit edilmiş ve bu hastaların % 55'i ileri evre hastalıklarda görülürken % 45'i erken evre rai 0 evresinde görülmüş. Bu durumu Türk hastaların hastaneye geç gelmelerine bağlamışlar. Trizomi12 10 hastada izole olarak tespit edilmiş bu hastaların % 70'i ileri evre (rai 2-4) hastalarla korele imiş. Toplam 9 hastada 17p ve 11q delesyonu ya izole ya da 13q delesyonu ile birlikte görülmüş. Bu hastaların da % 77,8'i ileri evre hastalıkla korele bulunmuş. Sağkalım süreleri bakımından iyi ve kötü prognostik grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark izlenirken, iyi ve ortanca grup ile kötü ve ortanca grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmemiş (202). Bizim çalışmamızda ise 13q delesyonu pozitif hastalarda median sağkalım 96($\pm$ 22) ay olarak izlendi. Trizomi 12 pozitif hastalarda median sağkalım 108 ay olarak izlendi.17p pozitif hastalarda median sağkalım 92 ay ($\pm$ 24) olarak izlendi. Trizomi 12'nin,13q,17p,11q delesyonlarının negatif olduğu hastalarda median sağkalıma ulaşılammış olup ortalama sağkalım 108($\pm$ 10) ay olarak görüldü. Çalışmamızda 17pdel olguların sağkalım süreleri kısa olmasına rağmen istatistiksel olarak anlam ifade etmemesi hasta sayısının azlığına ve homojen dağılım olmamasına bağlandı.

7. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sonuç olarak çalışmaya aldığımız hasta grubunun yaş, cinsiyet gibi demografik bulgularıyla diğer çalışma grupları arasındaki bulgular benzerdi. Klinik evre açısından değerlendirildiğinde evre A hasta oranının diğer çalışma gruplarına göre biraz yüksek saptandı ancak diğer evreler açısından fark yoktu. Yine yaş-evreye göre sağkalım süreleri bakımından benzer sonuçlar elde edildi. LDH-B2 mikroglobulin düzeyleri ile sağkalım süresi arasında literatürdeki gibi anlamlı veriler elde edildi.

Sitogenetik inceleme yapılan hastaların sayısının çok az olması ve heterojen dağılmış olması nedeniyle, bu hastalar üzerinde istatistiksel analiz yapılamadı. Sitogenetik parametrelerin böyle bir çalışmaya eklenmesi, prognostik öngörü gücünü arttıracaktır.

Yüzyirmibeş KLL'li hasta ile yapılan bu çalışmada FISH yöntemi ile hastaların %55,7'sinde sitogenetik anomali tespit edilmiştir. FISH yöntemi konvansiyonel sitogenetik yöntemlere göre sitogenetik anomali saptamada sensitiv ve hızlı bir yöntemdir. Literatürde olduğu gibi FISH ile saptanan sitogenetik anomali sıklığı açısından 11q delesyonu dışındaki verilerimizin literatür verileri ile yakın olduğu izlendi. Çalışmamızda iyi ve kötü prognostik kromozomal anomaliler açısından anlamlı fark saptanamadı. Bu durum hasta sayısının azlığına ve homojen dağılım olmamasına bağlandı. Bunun için daha geniş kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

Çalışmamızda bazı eksiklikler olmasına karşın, ülkemizde KLL üzerine yapılan az sayıdaki sitogenetik veri ve sağkalım çalışmalarından biridir. Hastalıkları risk gruplarına göre ayırıp tedavi ve takip planı oluşturmak için bu hastalıklarla ilgili prognostik belirteçlerin iyi bilinmesi, prognostik önemi olan sitogenetik/FISH bulgularına önem verilmesi, prognostik belirteçlerin netleştirilmesi için çok merkezli, prospektif çalışmaların planlanması uygun olacaktır. Bu açıdan bakıldığında ülkemizde kayıt veri sistemlerinin geliştirilmesi ile yapılan çalışmaların anlamlılık düzeyinin artacağı görüşündeyiz.

8. KAYNAKLAR

1. Türk Hematoloji Derneği, Kronik Lenfositik Lösemi Tanı ve Tedavi Kılavuzu, 2012.
2. Redaelli A, Laskin BL, Stephens JM, Boteman MF, Pashos CL. The clinical and epidemiological burden of chronic lymphocytic leukemia. *Eur J Cancer Care* 2004; 13;279-287.
3. García-Muñoz R, Galiacho VR, Llorente L. Immunological aspects in chronic lymphocytic leukemia (CLL) development. *Ann Hematol.* 2012 Jul;91(7):981-96.
4. Johnson LE. Chronic lymphocytic leukemia. *Practical Therapeutics* 1988;38(suppl 6):167-76
5. Yuille MR, Matutes E, Marossy A, Hilditch B, Catovsky D, Houlston RS: Familial chronic lymphocytic leukaemia: A survey and review of published studies. *Br J Haematol* 2000; 109:794.
6. Döhner H, Stilgenbauer S, Benner A, Leupolt E, Krober A, Bullinger L, et al. Genomic aberrations and survival in chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med* 2000 343: 1910-1916.
7. Dicker F, Schnittger S, Haferlach T, Kern W, Schoch C. Immunostimulatory oligonucleotide-induced metaphase cytogenetics detect chromosomal aberrations in %80 of CLL patients: a study of 132 CLL cases with correlation to FISH, Ig VH status, and CD38 expression. *Blood* 2006;108:3152-3160.
8. Abbas AK, Lichtman AH. Temel İmmunoloji, İmmun Sistem Fonksiyonları ve Bozuklukları. 1. baskı. İstanbul: İstanbul Medikal Yayıncılık Ltd. Şti, 2007: 95-97
9. Ollila J, Vihinen M. B cells. *Int J Biochem Cell Biol* 2005; 37: 518-23.
10. LeBien TW, Tedder TF. B lymphocytes: how they develop and function. In: American Society of Hematology 50th Anniversary Reviews. Washington: 2008;213– 223.
11. Soneji S, Huang S, Loose M, Donaldson IJ, ve ark. Inference, validation, and dynamic modeling of transcription networks in multipotent hematopoietic cells. *Ann N Y Acad Sci* 2007; 1106: 30-40.
12. Medina K, Singh H. Genetic networks that regulate B lymphopoiesis. *Current Opinion in Hematology.* 2005; 12(3): 203-9.
13. Hoffman R, Benz JE Jr, Shattil SJ, Furie B, Silberstein LE, McGlave P, Heslop H. Hematology. Basic principles and practice. 5th edition. Philadelphia : Churchill

Livingstone, Elsevier; 2009.

14. Cheson B, Bennett JM, Grever M, Kay N, Keating MJ, O'Brien S, et al. National Cancer Institute-sponsored Working Group guidelines for chronic lymphocytic leukemia: revised guidelines for diagnosis and treatment. *Blood*. 1996; 87(12): 4990-4997.
15. Rozman C, Montserrat E. Current concepts: chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med*. 1995; 333(16): 1052-1057.
16. Dores GM, Anderson WF, Curtis RE, Landgren O, Ostroumova E. Chronic lymphocytic leukemia and small lymphocytic lymphoma: overview of the descriptive epidemiology. *Br J Haematol* 2007; 139: 809-19.
17. Ghia P, Ferreri AM, Caligaris-Cappio F. Chronic Lymphocytic Leukemia. *Crit Rev Oncol Hematol* 2007; 64: 234-46.
18. Ben Ezra J. Small Lymphocytic Lymphoma. In: Knowless DM ed. *Neoplastic Hematopathology*. 2nd ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2001; 773-87.
19. Catovsky D, Müller-Hermelink HK, Montserrat E, Harris NL. B-cell prolymphocytic leukaemia. In: Jaffe ES, Harris NL, Stein H, Vardiman JW, editors. *World Health Organization Classification of Tumours: Pathology and Genetics of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues*. Lyon, France: IARC Press; 2001; 131-2.
20. Sgambati, M.T., Linet, M.S. & Devesa, S.S. (2001) Chronic Lymphocytic Leukemia: Epidemiological, Familial, and Genetic Aspects. In: *Chronic Lymphoid Leukemias* (ed. by B.D. Cheson), pp. 33-62. Marcel Dekker, New York.
21. Redaelli A, Laskin BL, Stephens JM, Boteman MF, Pashos CL. The clinical and epidemiological burden of chronic lymphocytic leukemia. *Eur J Cancer Care* 2004, 13;279-287.
22. Johnson LE. Chronic lymphocytic leukemia. *Practical Therapeutics* 1988;38(suppl 6):167-76
23. Yuille MR, Matutes E, Marossy A, Hilditch B, Catovsky D, Houlston RS: Familial chronic lymphocytic leukaemia: A survey and review of published studies. *Br J Haematol* 2000; 109:794.
24. -Steven H. Swerdlow EC, Nancy Lee Harris, Elaine S. Jaffe, Stefano A. Pileri, Harald Stein, Jorgen Thiele, James W. Vardiman. *WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues: International Agency for Research on Cancer (IARC)*; 2008.

25. -Dohner H, Stilgenbauer S, Benner A, et al. Genomic aberrations and survival in chronic lymphocytic leukemia. *The New England journal of medicine* 2000;343:1910-6.
26. Dighiero G, Hamblin T J. Chronic lymphocytic leukaemia. *Lancet* 2008; 371: 1017–1029
27. Köse M. Aktivasyonla indüklenen sitidin deaminazın (AID) ekspresyon düzeyi ile kronik lenfositik löseminin prognozu arasındaki ilişki. İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, İç hastalıkları A.B.D, Uzmanlık Tezi, İstanbul, 2010.
28. Goldin LR, Slager SL, Caporaso NE. Familial chronic lymphocytic leukemia. *Curr Opin Hematol.* 2010; 17(4): 350-5
29. Mauro FR, Giammartini E, Gentile M, Sperduti I, Valle V, Pizzuti A, et al. Clinical features and outcome of chronic lymphocytic leukemia. *Haematologica.* 2006; 91(8): 1117-20.
30. Goldin LR, Björkholm M, Kristinsson SY, Turesson I, Landgren O, et al . Elevated risk of chronic lymphocytic leukemia and other indolent nonHodgkin's lymphomas among relatives of patients with chronic lymphocytic leukemia. *Haematologica* 2009; 94(5): 647-53
31. Dighiero G, Hamblin TJ. Chronic lymphocytic leukaemia.*Lancet.* 2008 Mar 22;371(9617):1017-29.
32. Kikushige Y, Fumihiko Ishikawa F, Miyamoto T, Shima T, Urata S, Yoshimoto G, et al. Self-Renewing Hematopoietic Stem Cell Is the Primary Target in Pathogenesis of Human Chronic Lymphocytic Leukemia. *Cancer cell* 2011; 20(2): 246-59
33. Lanasa MC. Novel insights into the biology of CLL. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program.* 2010:70-6
34. Stevenson FK, Krysov S, Davies AJ, Steele AJ, Packham G. B-cell receptor signaling in chronic lymphocytic leukemia *Blood* 2011; 118(16): 4313-4320
35. Stamatopoulos K, Belessi C, Moreno C, Boudjograh M, Guida G, Smilevska T, et al. Over 20% of patients with chronic lymphocytic leukemia carry stereotyped receptors: pathogenetic implications and clinical correlations. *Blood* 2007; 109(1): 259–270
36. Widhopf GF 2nd, Rassenti LZ, Toy TL, Gribben JG, Wierda WG, Kipps TJ. Chronic lymphocytic leukemia B cells of more than %1 o patients express virtually identical immunoglobulins. *Blood.* 2004; 104(8): 2499-504
37. Borche L, Lim A, Binet JL, Dighiero G Evidence that chronic lymphocytic leukemia

B lymphocytes are frequently committed to production of natural autoantibodies. *Blood* 1990; 76(3): 562-9

38. Chu CC, CATERA R, Zhang L, Didier S, Agagnina BM, Damle RN, et al. Many chronic lymphocytic leukemia antibodies recognize apoptotic cells with exposed nonmuscle myosin heavy chain IIA: implications for patient outcome and cell of origin. *Blood* 2010; 115(19): 3907-15
39. Hermouet S, Sutton CA, Rose TM, Greenblatt RJ, Corre I, Garand R, et al. Qualitative and quantitative analysis of human herpesviruses in chronic and acute B cell lymphocytic leukemia and in multiple myeloma. *Leukemia* 2003; 17(1): 185–195.
40. Rego N, Bianchi S, Moreno P, Persson H, Kvist A, Pena A, et al. Search for an aetiological virus candidate in chronic lymphocytic leukemia by extensive transcriptome analysis. *Br J Haematol.* 2012; 157(6): 709-17.
41. Dühren von Minden M, Übelhart R, Schneider D, Wossning T, Bach MP, Buchner M, et al. Chronic lymphocytic leukaemia is driven by antigen-independent cell-autonomous signalling. *Nature* 2012; 489(7415): 309-12.
42. Wickremasinghe RG, Prentice AG, Steele AJ. Aberrantly activated antiapoptotic signalling mechanisms in chronic lymphocytic leukaemia cells: clues to the identification of novel therapeutic targets. *Br J Haematol.* 2011; 153(5): 545-56.
43. Messmer BT, Messmer D, Allen SL, Kolitz JE, Kudalkar P, Cesar D, Murphy EJ, et al. In vivo measurements document the dynamic cellular kinetics of chronic lymphocytic leukemia B cells. *J Clin Invest* 2005; 115(3): 755-764.
44. Chiorazzi N. Implication of new prognostic markers in chronic lymphocytic leukemia. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program.* 2012: 76-87.
45. Döhner H, Stilgenbauer S, Benner A, Leupolt E, Kröber A, Bullinger L, et al. Genomic aberrations and survival in chronic lymphocytic leukemia. *NEJM* 2000; 343(26): 1910
46. Furman RR. Prognostic markers and stratification of chronic lymphocytic leukemia. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program.* 2010: 77-81.
47. Heerema NA, Byrd JC, Dal Cin PS, Dell' Aquila ML, Koduru PR, Aviram A, et al. Stimulation of chronic lymphocytic leukemia cells with CpG oligodeoxynucleotide gives consistent karyotypic results among laboratories: a CLL Research Consortium (CRC) Study. *Chronic Lymphocytic Leukemia Research Consortium. Cancer Genet Cytogenet.* 2010; 203(2): 134-40.

48. Put N, Konings P, Rack K, Jamar M, Van Roy N, Libouton JM, et al. Belgian Cytogenetic Group for Hemato-Oncology (BCGHO). Improved detection of chromosomal abnormalities in chronic lymphocytic leukemia by conventional cytogenetics using CpG oligonucleotide and interleukin-2 stimulation: A Belgian multicentric study. *Genes Chromosomes Cancer* 2009; 48(10): 843-53.
49. Rigolin GM, Cibien F, Martinelli S, Formigaro L, Rizzotto L, Tammiso E, et al. Chromosome aberrations detected by conventional karyotyping using novel mitogens in chronic lymphocytic leukemia with "normal" FISH: correlations with clinicobiologic parameters. *Blood* 2012; 119(10): 2310-13
50. Byrd JC, Stilgenbauer S, Flinn IW. Chronic Lymphocytic Leukemia. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*; 163-83, 2004.
51. Ghia P, Ferreri AM, Galigaris-Cappio F. Chronic Lymphocytic Leukemia. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2007.
52. Kedar V, Inamdar MD, Carlos E PhD, Bueso-Ramos MD, Pathology of chronic lymphocytic leukemia: an update. *Annals of Diagnostic Pathology* 2007; 11: 363–89.
53. Müller-Hermelink Hk, Montserrat E, Catovsky D, Harris NL. Chronic lymphocytic leukemia/small lymphocytic lymphoma.:Jaffe ES, Harris NL, Stein H, Vardiman JW(eds): World Health Organization Classification of tumours. Pathology & Genetics Tumours of Haemopoietic and Lymphoid Tissues, IARC Press, Lyon 2001; 127-37.
54. Diehl LF, Ketchum LH. Autoimmune disease and chronic lymphocytic leukemia: autoimmune hemolytic anemia, pure red cell aplasia, and autoimmune thrombocytopenia. *Semin Oncol* 1998; 25: 80-97.
55. Montserrat E, Moreno C. Chronic lymphocytic leukaemia: a short review. *Ann Oncol* 2008; 19: 320-25.
56. Zenz T, Döhner H, Stilgenbauer S. Genetics and risk stratified approach to therapy in chronic lymphocytic leukemia. *Best Pract Res Clin Haematol*. 2007; 20: 439-53.
57. Zenz T, Mertens D, Döhner H, Stilgenbauer S. Molecular diagnostics in chronic lymphocytic leukemia-pathogenetic and clinical implications. *Leuk Lymphoma* 2008; 49: 864-73.
58. International Workshop on chronic lymphocytic leukemia. Chronic lymphocytic leukemia: recommendations for diagnosis, staging and response criteria. *Ann Intern Med* 1989;110:236-238.

59. De Lima M, O'Brien S, Lerner S, et al. Chronic lymphocytic leukemia in the young patient. *Semin Oncol* 1998;25:107-116.
60. Mauro FR, Foa R, Giannarelli D, et al. Clinical characteristics and outcome of young chronic lymphocytic leukemia patients: a single institution study of 204 cases. *Blood* 1999;94:448-454.
61. Rozman, C., et al., *Bone marrow histologic pattern--the best single prognostic parameter in chronic lymphocytic leukemia: a multivariate survival analysis of 329 cases*. *Blood*, 1984. **64**(3): p. 642-8.
62. Hoyer ID, Ross CW, Li C-Y, et al. True T-cell chronic lymphocytic leukemia: a morphologic and immunophenotypic study of 25 cases. *Blood* 1995;86:1163-1169.
63. Matutes E, Calovsky D. Similarities between T-cell chronic lymphocytic leukemia and the small-cell variant of T-prolymphocytic leukemia. *Blood* 1996;87:3520.
64. Van Oers, M.H., et al., *Expression and release of CD27 in human B-cell malignancies*. *Blood*, 1993. **82**(11): p. 3430-6.
65. Damle, R.N., et al., *B-cell chronic lymphocytic leukemia cells express a surface membrane phenotype of activated, antigen-experienced B lymphocytes*. *Blood*, 2002. **99**(11): p. 4087-93.
66. Ranheim, E.A., M.J. Cantwell, and T.J. Kipps, *Expression of CD27 and its ligand, CD70, on chronic lymphocytic leukemia B cells*. *Blood*, 1995. **85**(12): p. 3556-65.
67. Damle, R.N., et al., *Ig V gene mutation status and CD38 expression as novel prognostic indicators in chronic lymphocytic leukemia*. *Blood*, 1999. **94**(6): p. 1840-7.
68. Oscier, D.G., et al., *Multivariate analysis of prognostic factors in CLL: clinical stage, IGVH gene mutational status, and loss or mutation of the p53 gene are independent prognostic factors*. *Blood*, 2002. **100**(4): p. 1177-84.
69. Krober, A., et al., *V(H) mutation status, CD38 expression level, genomic aberrations, and survival in chronic lymphocytic leukemia*. *Blood*, 2002. **100**(4): p. 1410-6.
70. Lin, K., et al., *Relationship between p53 dysfunction, CD38 expression, and IgV(H) mutation in chronic lymphocytic leukemia*. *Blood*, 2002. **100**(4): p. 1404-9.
71. DiRaimondo, F., et al., *The clinical and diagnostic relevance of CD23 expression in the chronic lymphoproliferative disease*. *Cancer*, 2002. **94**(6): p. 1721-30.
72. Knauf, W.U., et al., *Serum levels of soluble CD23, but not soluble CD25, predict disease progression in early stage B-cell chronic lymphocytic leukemia*. *Leuk Lymphoma*, 1997. **27**(5-6): p. 523-32.

73. Alfarano, A., et al., *An alternatively spliced form of CD79b gene may account for altered B-cell receptor expression in B-chronic lymphocytic leukemia*. Blood, 1999. **93**(7): p. 2327-35.
74. Geisler, C.H., et al., *Prognostic importance of flow cytometric immunophenotyping of 540 consecutive patients with B-cell chronic lymphocytic leukemia*. Blood, 1991. **78**(7): p. 1795-802.
75. Ikematsu, W., et al., *Surface phenotype and Ig heavy-chain gene usage in chronic B-cell leukemias: expression of myelomonocytic surface markers in CD5- chronic B-cell leukemia*. Blood, 1994. **83**(9): p. 2602-10.
76. Matutes, E. and A. Polliack, *Morphological and immunophenotypic features of chronic lymphocytic leukemia*. Rev Clin Exp Hematol, 2000. **4**(1): p. 22-47.
77. Cheson BD, Bennett JM, Grever M .National Cancer Institute-sponsored Working Group guidelines for chronic lymphocytic leukemia:revised guidelines for diagnosis and treatment. Blood. 1996;**87**:4990-7.
78. Oscier D, Dearden C, Erem E, Fegan C, Follows G, Hillmen Pet al; Writing group: On behalf of the British Committee for Standards in Haematology. Guidelines on the diagnosis, investigation and management of chronic lymphocytic leukemia. Br J Haematol. 2012 Dec;**159**(5): 541-64
79. Moreau EJ, Matutes E, A'Hern RP, Morilla AM, Morilla RM, OwusuAnkomah KA, et al. Improvement of the chronic lymphocytic leukemia scoring system with the monoclonal antibody SN8 (CD79b). American Journal of Clinical Pathology 1997; **108**(4): 378–82.
80. Molica S, Mauro FR, Molica M, Del Giudice I, Foà R. Monoclonal B-cell lymphocytosis: a reappraisal of its clinical implications. Leuk Lymphoma. 2012; **53**(9): 1660-5.
81. Kedar V, Inamdar MD, Carlos E PhD, Bueso-Ramos MD, Pathology of chronic lymphocytic leukemia: an update. Annals of Diagnostic Pathology 2007; **11**: 363–89.
82. Keating, M.J., et al., *Early results of a chemoimmunotherapy regimen of fludarabine, cyclophosphamide, and rituximab as initial therapy for chronic lymphocytic leukemia*. J Clin Oncol, 2005. **23**(18): p. 4079-88.
83. Wierda, W., et al., *Chemoimmunotherapy with fludarabine, cyclophosphamide, and rituximab for relapsed and refractory chronic lymphocytic leukemia*. J Clin Oncol, 2005. **23**(18): p. 4070-8.

84. Eichhorst B, Robak T, Montserrat E, Ghia P, Hillmen P, Hallek M, Buske C; ESMO Guidelines Committee. Chronic lymphocytic leukaemia: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol*. 2015 Sep;26 Suppl 5:v78-84. CLL trialists' collaborative group. Chemotherapeutic options in chronic lymphocytic leukemia. *J Natl Cancer Inst* 1999;91:861–868.
85. Moreau EJ, Matutes E, A'Hern RP, *et al*. Improvement of the chronic lymphocytic leukemia scoring system with the monoclonal antibody SN8 (CD79b). *Am J Clin Pathol* 1997;108:378–382.
86. Ginaldi L, De Martinis M, Matutes E, *et al*. Levels of expression of CD19 and CD20 in chronic B cell leukaemias. *J Clin Pathol* 1998;51:364–369.
87. Rai KR, Sawitsky A, Cronkite EP, Chanana AD, Levy RN, Pasternack BS. Clinical staging of chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 1975;46:219-34.
88. Hallek M, Cheson BD, Catovsky D, *et al*. Guidelines for the diagnosis and treatment of chronic lymphocytic leukemia: a report from the International Workshop on Chronic Lymphocytic Leukemia updating the National Cancer Institute-Working Group 1996 guidelines. *Blood* 2008;111:5446-56.
89. Binet JL, Auquier A, Dighiero G, *et al*. A new prognostic classification of chronic lymphocytic leukemia derived from a multivariate survival analysis. *Cancer* 1981;48:198-206.
90. Binet JL, Lepoprier M, Dighiero G, Charron D, D'Athis P, Vaugier G, *et al*. A clinical staging system for chronic lymphocytic leukemia: prognostic significance. *Cancer* 1977; 40(2): 855–64.
91. Byrd JC, Stilgenbauer S, Flinn IW. Chronic Lymphocytic Leukemia. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*; 163-83, 2004.
92. Ghia P, Ferreri AM, Galigaris-Cappio F. Chronic Lymphocytic Leukemia. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2007.
93. Zent CS, Call TG, Hogan WJ, Shanafelt TD & Kay NE. Update on risk-stratified management for chronic lymphocytic leukemia. *Leuk Lymphoma*; 47(9): 1738-1746, 2006.
94. Rozman C, Montserrat E. Current concepts: chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med*. 1995; 333(16): 1052-1057.
95. Hamblin T. Chronic lymphocytic leukemia: one diseases or two. *Ann Hematol*. 2002; 81:299-303.
96. Rai KR, Sawitsky A, Cronkite EP, Chanana AD, Levy RN, Pasternack

- BS. Clinical staging of chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 1975; 46(2): 219-234.
97. Montserrat E, Vinolas N, Reverter JC, Rozman C. Natural history of chronic lymphocytic leukemia: on the progression and prognosis of early stages. *Nouv Rev Fr Hematol*. 1988; 30(5-6): 359-361.
 98. Dighiero G. CLL biology and prognosis. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2005; 278-84.
 99. Düring J, Nüchel H, Cremer M, Führer A, Halfmeyer K, Fandrey J, et al. ZAP70 expression is a prognostic factor in chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia*. 2003;17: 2426-2434.
 100. Ghia P, Ferreri AM, Caligaris-Cappio F. Chronic Lymphocytic Leukemia. *Crit Rev Oncol Hematol* 2007; 64: 234-46.
 101. Orchard JO, Ibbotson RE, Davis Z, Wiestner A, Rosenwald A, Thomas PW, Hamblin TJ, Stautt LM, Oscier DG. ZAP70 expression and prognosis in chronic lymphocytic leukemia. *The Lancet*. 2004; 10: 105-11.
 102. Fenaux P, Preudhomme C, Lai JL. Mutations of the p53 gene in B-cell chronic lymphocytic leukemia: a report on 39 cases with cytogenetic analysis. *Leukemia* 1992; 6: 246-50.
 103. Kedar V, Inamdar MD, Carlos E PhD, Bueso-Ramos MD, Pathology of chronic lymphocytic leukemia: an update. *Annals of Diagnostic Pathology* 2007; 11: 363–89.
 104. Wattel E, Preudhomme C, Hecquet B. p53 mutations are associated with resistance to chemotherapy and short survival in hematologic malignancies. *Blood* 1994; 84: 3148-57.
 105. Dohner H, Fischer K, Bentz M. p53 gene deletion predicts for poor survival and non-response to therapy with purine analogs in chronic B-cell leukemias. *Blood* 1995; 85: 1580-89.
 106. Düring J, Nüchel H, Cremer M, Führer A, Halfmeyer K, Fandrey J, et al. ZAP70 expression is a prognostic factor in chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia*. 2003;17: 2426-2434.
 107. Hamblin TJ, Davis Z, Garnier A, Oscier DG, Stevenson FK. Unmutated IgV(H) genes are associated with a more aggressive form of chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 1999;94: 1840-1847
 108. Naylor M, Capra D. Mutational status of IgVh genes provides

- clinically valuable information on B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Blood*.1999; 94: 1937-1939.
109. Crespo M, Bosch F, Villamor N, Bellosillo B, Colomer D, Rozman M, et al. Zap70 expression as a surrogate for Immunoglobulin-Variable-Region mutations in chronic lymphocytic leukemia. *N Eng J Med*. 2003; 348(18): 1764-1775.
 110. Wiestner A, Rosenwald A, Barry TS, Wright G, Davis RE, Henrickson SE et al. Zap-70 expression identifies a chronic lymphocytic leukemia subtype with unmutated Immunoglobulin genes, inferior clinical outcome, and distinct gene expression profile. *Blood*. 2003; 101(12): 4944-4951.
 111. Deaglio S, Aydin S, Vaisitti T, Bergui L, Malavasi F. CD38 at the junction between prognostic marker and therapeutic target. *Trends MolMed* 2008; 14 (5):210-18.
 112. Damle RN, Wasil T, Fais F, Ghiotto F, Valetto A, Allen SL, et al: Ig V gene mutation status and CD38 expression as novel prognostic indicators in chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 1999; 94:1840.
 113. Hamblin TJ, Orchard JA, Ibbotson RE, Davis Z, Thomas PW, Stevenson FK, et al: CD38 expression and immunoglobulin variable region mutations are independent prognostic variables in chronic lymphocytic leukemia, but CD38 expression may vary during the course of the disease. *Blood* 2002; 99:1023.
 114. Hayat A, O'Brien D, O'Rourke P, McGuckin S, Fitzgerald T, Conneally E, et al. CD38 expression level and pattern of expression remains a reliable and robust marker of progressive disease in chronic lymphocytic leukemia. *LeukLymphoma* 2006; 47 (11): 2371-2379.
 115. Shanafelt TD, Geyer SM, Kay NE. Prognosis at diagnosis: integrating molecular biologic insights into clinical practice for patient with CLL. *Blood* ; 103 (4), 1202-1210, 2004
 116. Cheson B, Bennett JM, Grever M, Kay N, Keating MJ, O'Brien S, et al. National Cancer Institute-sponsored Working Group guidelines for chronic lymphocytic leukemia: revised guidelines for diagnosis and treatment. *Blood*. 1996; 87(12): 4990-4997.
 117. Rozman C, Hernandez-Nieto L, Montserrat E, Bragues R. Prognostic

- significance of bonemarrowpatterns in chronic lymphocytic leukemia. Br J Haematol; 47(4); 529-537, 1981
118. Rozman C, Montserrat E, Rodriguez-Fernandez JM, Ayats R, Vallespi T, Parody R, et al. Bone Marrow Histologic Pattern- The Best Single Prognostic Parameter in Chronic Lymphocytic Leukemia: A MultivariateSurvival Analysis of 329 Cases. Blood; 64 (3):642-648, 1984.
 119. Ghia P, Ferreri AM, Galigaris-Cappio F. Chronic Lymphocytic Leukemia. Crit Rev OncolHematol, 2007.
 120. Montillo M, Hamblin T, Hallek M, Montserrat E, Morra E. Chronic lymphocytic leukemia: novel prognostic factors and their relevance for risk-adapted therapeutic strategies. Haematologica; 90 (3); 391-399, 2005.
 121. Rambotti P, Davis S. Lactic Dehydrogenase in Normal and Leukemia Lymphocyte Subpopulations: Evidence for the Presence of Abnormal T Cells and B cells in Chronic Lymphocytic Leukemia. Blood; 57 (2), 324-327, 1981.
 122. Sarfati M, Chevret S, Chastang C, Biron G, Stryckmans P, Delespesse G, et al. Prognostic importance of serum soluble CD23 level in chronic lymphocytic leukemia. Blood; 88 (11): 4259-4264, 1996.
 123. Döhner H, Stilgenbauer S, Benner A, Leupolt E, Krober A, Bullinger L, et al. Genomic aberrations and survival in chronic lymphocytic leukemia. N Engl JMed 2000 343: 1910-1916.
 124. Montillo M, Hamblin T, Hallek M, Montserrat E, Morra E. Chronic lymphocytic leukemia:novel prognostic factors and their relevance for risk-adapted therapeutic strategies Haematologica; 90 (3); 391-399, 2005.
 125. Döhner H, Stilgenbauer S, Benner A, Leupolt E, Kröber A, Bullinger L, Döhner K, Bentz M,Lichter P. Genomic aberrations and survival in chronic lymphocytic leukemia. N Engl J Med;343 (26):1910-1916, 2000.
 126. Glassman A, Hayes KJ. The value of fluorescence in situ hybridization in the diagnosis and prognosis of chronic lymphocytic leukemia. Cancer Genet Cytogenet; 158 (1),88-91, 2005.
 127. B. J. Bain, D. M. Clark and B. S. Wilkins. Bone Marrow Pathology, Fourth Edition. Wiley Blackwell 2010; 300-19.

128. Mehes G. Chromosome Abnormalities with Prognostic Impact in B-cell Chronic Lymphocytic Leukemia. *Pathol Oncol Res*; 11 (4):205-210, 2005.
129. Kröber A, Seiler T, Benner A, Bullinger L, Bruckle E, Lichter P, Döhner H, Stilgenbauer S.V(H) mutation status, CD38 expression level, genomic aberrations, and survival in chronic lymphocytic leukemia. *Blood*; 100 (4); 1410-1416, 2002.
130. Karhu R, Tobin G, Thunberg U, Vilpo L, Sundström C, Knuutila S, Rosenquist R, Vilpo J. More extensive genetic alterations in unmutated than in hypermutated cases of chronic lymphocytic leukemia. *Genes Chromosomes Cancer*; 37 (4): 417-420, 2003.
131. Stankovic T, Hubank M, Cronin D, Stewart GS, Fletcher D, Bignell CR, Alvi AJ, Austen B, Weston vJ, Fegan C, Byrd PJ, Moss PA, Taylor AM. Microarray analysis reveals that TP53 and ATM-mutant B-CLLs share a defect in activating proapoptotic responses after DNA damage but are distinguished by major differences in activating prosurvival responses. *Blood*; 103 (1): 291-300, 2004.
132. Cuneo A, Rigolin GM, Bigoni R, De Angeli C, Veronese A, Cavazzini E, Bardi A, Roberti MG, Tammiso E, Agostini P, Ciccone M, Della Porta M, Tieghi a, Cavazzini L, Negrini M, Castoldi G. CLL with 6q-shows distinct hematological features and intermediate prognosis. *Leukemia*; 18 (3): 476-483, 2004.
133. Cheson B, Bennett JM, Grever M, et al. National Cancer Institute-sponsored Working Group guidelines for chronic lymphocytic leukemia: revised guidelines for diagnosis and treatment. *Blood*. 1996; 87(12): 4990-4997.
134. Saka B. Bhucarli Kronik Lenfositik Losemide solubl CD23'un prognostik onemi. İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı, uzmanlık tezi, İstanbul 2002.
135. Dighiero G, Maloum K, Desablens B, et al. Chlorambucil in indolent chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med* 1998;338:1506–1514.
136. Hallek M. Chronic lymphocytic leukemia: 2015 Update on diagnosis, risk stratification, and treatment. *Am J Hematol*. 2015 May;90(5):446-60.
137. Hallek M, Cheson BD, Catovsky D, et al. Guidelines for the diagnosis and treatment of chronic lymphocytic leukemia: A report from the International Workshop on Chronic Lymphocytic Leukemia updating the National Cancer Institute-Working Group 1996 guidelines. *Blood* 2008;111:5446–5456.
138. Rawstron AC, Villamor N, Ritgen M, et al. International standardized approach for flow cytometric residual disease monitoring in chronic lymphocytic leukaemia.

Leukemia 2007;21:956–964.

139. Moreton P, Kennedy B, Lucas G, et al. Eradication of minimal residual disease in Bcell chronic lymphocytic leukemia after alemtuzumab therapy is associated with prolonged survival. *J Clin Oncol* 2005;23:2971–2979.
140. Bottcher S, Ritgen M, Fischer K, et al. Minimal residual disease quantification is an independent predictor of progression-free and overall survival in chronic lymphocytic leukemia: A multivariate analysis from the randomized GCLLSG CLL8 trial. *J Clin Oncol* 2012;30:980–988.
141. Rai KR, Peterson BL, Appelbaum FR, et al. Fludarabine compared with chlorambucil as primary therapy for chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med* 2000;343:1750–1757.
142. Steurer M, Pall G, Richards S, et al. Purine antagonists for chronic lymphocytic leukaemia. *Cochrane Database Syst Rev* 2006;3:CD004270.
143. Robak T, Blonski JZ, Kasznicki M, et al. Cladribine with prednisone versus chlorambucil with prednisone as first-line therapy in chronic lymphocytic leukemia: Report of a prospective, randomized, multicenter trial. *Blood* 2000;96:2723–2729.
144. Knauf WU, Lissichkov T, Aldaoud A, et al. Phase III randomized study of bendamustine compared with chlorambucil in previously untreated patients with chronic lymphocytic leukemia. *J Clin Oncol* 2009; 27:4378–4384.
145. Hagemester F. Rituximab for the treatment of non-Hodgkin's lymphoma and chronic lymphocytic leukaemia. *Drugs* 2010;70:261–272.
146. Wierda WG, Kipps TJ, Mayer J, et al. Ofatumumab as single-agent CD20 immunotherapy in fludarabine-refractory chronic lymphocytic leukemia. *J Clin Oncol* 2010;28:1749–1755.
147. Patz M, Isaeva P, Forcob N, et al. Comparison of the in vitro effects of the anti-CD20 antibodies rituximab and GA101 on chronic lymphocytic leukaemia cells. *Br J Haematol* 2011;152:295–306.
148. Stilgenbauer S, Dohner H. Campath-1H-induced complete remission of chronic lymphocytic leukemia despite p53 gene mutation and resistance to chemotherapy. *N Engl J Med* 2002;347:452–453
149. Lozanski G, Heerema NA, Flinn IW, et al. Alemtuzumab is an effective therapy for chronic lymphocytic leukemia with p53 mutations and deletions. *Blood* 2004;103:3278–328
150. Stevenson FK, Krysov S, Davies AJ, et al. B-cell receptor signaling in chronic

- lymphocytic leukemia. *Blood* 2011;118:4313–4320.
151. Advani RH, Buggy JJ, Sharman JP, Smith SM, et al. Bruton tyrosine kinase inhibitor ibrutinib (PCI-32765) has significant activity in patients with relapsed/refractory Bcell malignancies. *J Clin Oncol*. 2013 Jan 1;31(1):88-94.
 152. Byrd JC, Furman RR, Coutre SE, et al. Targeting BTK with ibrutinib in relapsed chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med* 2013;369:32–42.
 153. Gobessi S, Laurenti L, Longo PG, et al. Inhibition of constitutive and BCR-induced syk activation downregulates Mcl-1 and induces apoptosis in chronic lymphocytic leukemia B cells. *Leukemia* 2009;23:686–697.
 154. Friedberg JW, Sharman J, Sweetenham J, et al. Inhibition of syk with fostamatinib disodium has significant clinical activity in non-hodgkin lymphoma and chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2010;115:2578–2585.
 155. Hoellenriegel J, Meadows SA, Sivina M, et al. The phosphoinositide 3'-kinase delta inhibitor, CAL-101, inhibits B-cell receptor signaling and chemokine networks in chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2011;118:3603–3612.
 156. Hoellenriegel J, Meadows SA, Sivina M, et al. The phosphoinositide 3'-kinase delta inhibitor, CAL-101, inhibits B-cell receptor signaling and chemokine networks in chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2011;118:3603–3612.
 157. Veldurthy A, Patz M, Hagist S, et al. The kinase inhibitor dasatinib induces apoptosis in chronic lymphocytic leukemia cells in vitro with preference for a subgroup of patients with unmutated IgVH genes. *Blood* 2008;112:1443–1452.
 158. Castro JE, Loria OJ, Aguillon RA, et al. A phase II, open label study of at-101 in combination with rituximab in patients with relapsed or refractory chronic lymphocytic leukemia. Evaluation of two dose regimens. *ASH Annual Meeting Abstracts* 2007;110:3119.
 159. Seymour JF, Davids MS, Pagel JM, et al. ABT-199 (GDC-0199) in relapsed/refractory (R/R) chronic lymphocytic leukemia (CLL) and small lymphocytic lymphoma (SLL): High complete- response rate and durable disease control. *J Clin Oncol* 2014;32:abstract 7015
 160. Ferrajoli A, Lee BN, Schlette EJ, et al. Lenalidomide induces complete and partial remissions in patients with relapsed and refractory chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2008;111:5291–5297.
 161. Chanan-Khan A, Miller KC, Musial L, et al. Clinical efficacy of lenalidomide in patients with relapsed or refractory chronic lymphocytic leukemia: Results of a phase

- II study. *J Clin Oncol* 2006;24:5343–5349
162. Chanan-Khan AA, Czuczman MS, Padmanabhan S, et al. Clinical efficacy of lenalidomide in Fludarabine-refractory chronic lymphocytic leukemia patients. *ASH Annual Meeting Abstracts* 2007;110:3108.
163. Badoux XC, Keating MJ, Wen S, et al. Phase II study of lenalidomide and rituximab as salvage therapy for patients with relapsed or refractory chronic lymphocytic leukemia. *J Clin Oncol* 2013;31:584–591.
164. Brown JR, Abramson J, Hochberg E, et al. A phase I study of lenalidomide in combination with fludarabine and rituximab in previously untreated CLL/SLL. *Leukemia* 2010;24:1972–1975
165. Zent CS, LaPlant BR, Johnston PB, et al. The treatment of recurrent/refractory chronic lymphocytic leukemia/small lymphocytic lymphoma (CLL) with everolimus results in clinical responses and mobilization of CLL cells into the circulation. *Cancer* 2010;116:2201–2207.
166. Hallek M, Eichhorst BF. Chemotherapy combination treatment regimens with fludarabine in chronic lymphocytic leukemia. *Hematol J* 2004;5:S20–S30.
167. Catovsky D, Richards S, Matutes E, et al. Assessment of fludarabine plus cyclophosphamide for patients with chronic lymphocytic leukaemia (the LRF CLL4 trial): A randomised controlled trial. *Lancet* 2007;370:230–239.
168. Robak T, Blonski JZ, Gora-Tybor J, et al. Cladribine alone and in combination with cyclophosphamide or cyclophosphamide plus mitoxantrone in the treatment of progressive chronic lymphocytic leukemia: Report of a prospective, multicenter, randomized trial of the polish adult leukemia group (PALG CLL2). *Blood* 2006;108:473–479.
169. Byrd JC, Peterson BL, Morrison VA, et al. Randomized phase 2 study of fludarabine with concurrent versus sequential treatment with rituximab in symptomatic, untreated patients with B-cell chronic lymphocytic leukemia: Results from cancer and leukemia group B 9712 (CALGB 9712). *Blood* 2003;101:6–14.
170. Hallek M, Fischer K, Fingerle-Rowson G, et al. Addition of rituximab to fludarabine and cyclophosphamide in patients with chronic lymphocytic leukaemia: A randomised, open-label, phase 3 trial. *Lancet* 2010;376:1164–1174.
171. Parikh SA, Keating MJ, O'Brien S, et al. Frontline chemoimmunotherapy with fludarabine, cyclophosphamide, alemtuzumab, and rituximab for high-risk chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2011;118:2062–2068.

172. Bosch F, Abrisqueta P, Villamor N, et al. Rituximab, fludarabine, cyclophosphamide, and mitoxantrone: A new, highly active chemoimmunotherapy regimen for chronic lymphocytic leukemia. *J Clin Oncol* 2009;27:4578–4584.
173. Reynolds C, Di Bella N, Lyons RM, et al. A phase III trial of fludarabine, cyclophosphamide, and rituximab vs. Pentostatin, cyclophosphamide, and rituximab in B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Invest New Drugs* 2012;30:1232–1240
174. Fischer K, Cramer P, Busch R, et al. Bendamustine in combination with rituximab for previously untreated patients with chronic lymphocytic leukemia: A multicenter phase II trial of the german chronic lymphocytic leukemia study group. *J Clin Oncol* 2012;30:3209–3216.
175. Fischer K, Cramer P, Busch R, et al. Bendamustine combined with rituximab in patients with relapsed and/or refractory chronic lymphocytic leukemia: A multicenter phase II trial of the german chronic lymphocytic leukemia study group. *J Clin Oncol* 2011;29:3559–3566.
176. Eichhorst B, Fink AM,, Busch R,, et al. Frontline chemoimmunotherapy with fludarabine (F), cyclophosphamide (C), and rituximab (R) (FCR) shows superior efficacy in comparison to bendamustine (B) and rituximab (BR) in previously untreated and physically fit patients (pts) with advanced chronic lymphocytic leukemia (CLL): Final analysis of an international, randomized study of the german CLL study group (GCLLSG) (CLL10 study). *Blood* 2014;124:abstract 19
177. Goede V, Fischer K, Busch R, et al. Obinutuzumab plus chlorambucil in patients with CLL and coexisting conditions. *N Engl J Med* 2014;370:1101–1110
178. Hillmen P, Robak T, Janssens A, et al. Ofatumumab + Chlorambucil Versus Chlorambucil Alone In Patients With Untreated Chronic Lymphocytic Leukemia (CLL): Results Of The Phase III Study Complement 1 (OMB110911). *Blood* 2013;122:528.
179. Elter T, Borchmann P, Schulz H, et al. Fludarabine in combination with alemtuzumab is effective and feasible in patients with relapsed or refractory B-cell chronic lymphocytic leukemia: Results of a phase II trial. *J Clin Oncol* 2005;23:7024–7031.
180. Lepretre S, Aurrant T, Mahe B, et al. Excess mortality after treatment with fludarabine and cyclophosphamide in combination with alemtuzumab in previously untreated patients with chronic lymphocytic leukemia in a randomized phase 3 trial. *Blood* 2012;119:5104–5110.
181. Elter T, Gercheva-Kyuchukova L, Pylylpenko H, et al. Fludarabine plus

- alemtuzumab versus fludarabine alone in patients with previously treated chronic lymphocytic leukaemia: A randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2011;12:1204–1213
182. O'Brien S, Moore JO, Boyd TE, Larratt LM, Skotnicki AB, Koziner B, ChananKhan AA, Seymour JF, Gribben J, Itri LM, Rai KR. 5-year survival in patients with relapsed or refractory chronic lymphocytic leukemia in a randomized, phase III trial of fludarabine plus cyclophosphamide with or without oblimersen. *J Clin Oncol*. 2009 Nov 1;27(31):5208-12.
 183. Dreger P, Schetelig J, Andersen N, et al. Managing high-risk CLL during transition to a new treatment era: Stem cell transplantation or novel agents? *Blood* 2014;124:3841–3849.
 184. Eichhorst B, Robak T, Montserrat E, Ghia P, Hillmen P, Hallek M, Buske C; ESMO Guidelines Committee. Chronic lymphocytic leukaemia: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol*. 2015 Sep;26 Suppl 5:v78-84. CLL trialists' collaborative group. Chemotherapeutic options in chronic lymphocytic leukemia. *J Natl Cancer Inst* 1999;91:861–868.
 185. Dicker F, Schnittger S, Haferlach T, Kern W, Schoch C. Immunostimulatory oligonucleotide-induced metaphase cytogenetics detect chromosomal aberrations in %80 of CLL patients: a study of 132 CLL cases with correlation to FISH, Ig VH status, and CD38 expression. *Blood* 2006;108:3152-3160.
 186. Decker T, Scheneller F, Kronschnabl M, Dechow T, Lipford GB, Wagner H, et al. Immunostimulatory CpG-oligonucleotides induce functional high affinity IL-2 receptors on B-CLL cells: Costimulation with IL-2 results in a highly immunogenic phenotype. *Experimental Hematology* 2000;28:558-568.
 187. Decker T, Scheneller F, Hipp S, Miething C, Jahn T, Duyster J et al. Cell cycle progression of chronic lymphocytic leukemia cells is controlled by cyclin D2, cyclin D3, cyclin-dependent kinase (cdk) 4 and the cdk inhibitor p27. *Leukemia* (2002) 16, 327-334.
 188. Fabris S, Scarciolla O, Morabito F, Cifarelli RA, Dinunno C, Cutrona G, et al. Multiplex Ligation-Dependent Probe Amplification and Fluorescence In Situ Hybridization to Detect Chromosomal Abnormalities in Chronic Lymphocytic Leukemia: A Comparative Study. *G Chromosomes & Cancer* 50:726–734 (2011).
 189. Cartwright, R.A., K.A. Gurney, and A.V. Moorman, *Sex ratios and the risks of haematological malignancies*. *Br J Haematol*, 2002. **118**(4): p. 1071-7.

190. Dores, G.M., et al., *Chronic lymphocytic leukaemia and small lymphocytic lymphoma: overview of the descriptive epidemiology*. Br J Haematol, 2007. **139**(5): p. 809-19.
191. Rai KR, Sawitsky A, Cronkite EP, Chanana AD, Levy RN, Pasternack BS. Clinical staging of chronic lymphocytic leukemia. Blood 1975; 46:219–234.
192. Diehl LF, Karnell LH, Menck HR. The American College of Surgeons Commission on Cancer and the American Cancer Society. The National Cancer Data Base report on age, gender, treatment, and outcomes of patients with chronic lymphocytic leukemia. 1999;86:2684-2692.
193. Weinberg JB, Volkhemier AD, Chen Y, et al. Clinical and molecular predictors of disease severity and survival in chronic lymphocytic leukemia. Am J Hematol; [Epub ahead of print], 2007
194. Ghia P, Ferreri AM, Galigaris-Cappio F. Chronic Lymphocytic Leukemia. Crit Rev Oncol Hematol, 2007
195. Shanafelt TD, Geyer SM, Kay NE. Prognosis at diagnosis: integrating molecular biologic insights into clinical practice for patient with CLL. Blood; 103 (4), 1202-1210, 2004
196. Genes chromosomes cancer 2014 Mar;53(3):240-7. doi: 10.1002/gcc.22134. Epub 2013 Nov 30, Chapiro E¹, Antony-Debre I, Marchay N, Parizot C, Lesty C, Cung HA, Mathis S, Grelrier A, Maloum K, Choquet S, Azgui Z, Uzunov M, Leblond V, Merle-Beral H, Sutton L, Davi F, Nguyen-Khac F.
197. J Assoc Genet Technol. 2014;40(1):22-4. DeNicola M¹, Pullarkat S¹, Yea S¹, Rao N¹, Yang L¹, Tirado CA¹.
198. Glassman AB, Hayes KJ. The value of fluorescence in situ hybridization in the diagnosis and prognosis of chronic lymphocytic leukemia. Cancer Genetics and Cytogenetics **2005**; 158:88-91.
199. Hamblin TJ. Prognostic markers in chronic lymphocytic leukaemia. Best Practice and Research Clinical Haematology **2007**; 3:455–468
200. Bockstaele FV, Verhasselt B, Philippe J. Prognostic markers in chronic lymphocytic leukemia: A comprehensive review. Blood Reviews **2009**;23:25–47.
201. Döhner H, Stilgenbauer S, Benner A, et al. Genomic aberrations and survival in chronic lymphocytic leukemia. N Engl J Med. 2000;343(26):1910-6.
202. Durak B Akay O.M, AslanV, et al. Prognostic impact of chromosome alterations detected by FISH in Turkish patients with B-cell chronic lymphocytic leukemia.

