

T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
CERRAHPAŞA TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

KRONİK LENFOSİTİK LÖSEMİ TANILI HASTALARDA
KILLER IMMUNOGLOBULIN LIKE RECEPTOR GEN
DÜZEYLERİ VE BU DÜZEYLERİN KLL HASTALARINDA
GÖRÜLEN OTOİMMÜN OLAYLARLA İLİŞKİSİ

İÇ HASTALIKLARI
UZMANLIK TEZİ

Dr. M. Murat ÖZBALAK

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Teoman SOYSAL

İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Proje No: 32784

İSTANBUL-2015

TEŞEKKÜR

Öğrenciliğimden beri her zaman bilgisini ve deneyimini benimle paylaşan, benim eğitimime ve gelişimime çok önemli katkıda bulunan, her daim manevi desteğini de arkamda hissettiğim değerli hocam, tez danışmanım, İç Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Teoman Soysal'a,

Tezimin planlanmasında ve örneklerin çalışılmasında desteğinden ötürü değerli hocam Prof. Dr. Ayşe Nur Buyru'ya, değerli asistanları Araştırma Görevlisi Seda Ekizoğlu Eratak'a ve Araştırma Görevlisi Asuman Çelebi'ye,

Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Hematoloji Polikliniği'nde görev yapmakta olan tüm ekibe ve özellikle kanların alınmasında yardımcı olan Hemş. Nazik Sarı'ya,

Tezimi değerlendirip desteklemeye layık gören ve finansmanını sağlayan İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne,

Yine benim gelişimime, yaşamıma olan katkı ve desteklerinden ötürü Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Hematoloji Bilim Dalı öğretim üyeleri Prof. Dr. Yıldız Aydın'a, Prof. Dr. Zafer Başlar'a, Doç. Dr. Şeniz Öngören'e, Doç. Dr. M. Cem Ar'a, Doç. Dr. A. Emre Eşkazan'a, Uzm. Dr. Ayşe Salıhoğlu'na, Uzm. Dr. Tuğrul Elverdi'ye, Uzm. Dr. Fırat Yalnız'a ve bütün hematoloji ekibine,

Benim büyüüp yetiştiren, bugünlere gelmemi sağlayan babam Mustafa Özbalak'a,

Ablam olmasının yanı sıra, benim sırdaşım, arkadaşım olan ve sınırsız desteğini hep bana hissettiren Esra Özbalak'a,

Henüz tıp fakültesi ikinci sınıf öğrencisi iken, ilk olarak annemin doktoru olması vesilesiyle tanıştığım, sonrasında ise beraber çalışma fırsatı bulduğum, benim gelişimime devamlı olarak katkıda bulunan, desteği ve görüşleri ile beni cesaretlendiren değerli hocam Prof. Dr. Burhan Ferhanoğlu'na,

Son olarak hayatımın en zor döneminde yanımda olmaya başlayıp bana hep destek olan, tezimi yaparken de bana katkıda bulunan, yanımda olmasından ötürü kendimi şanslı hissettiğim değerli eşim Ezgi Pınar Özbalak'a

Teşekkürlerimi sunarım.

M. Murat Özbalak

İstanbul 2015

Fiziksel olarak aramızda olamasa da, hep yanımda olduğunu hissettiğim, beni daima motive etmiş, destek olmuş, okuyacağınız bu tezi zaman zaman benden çok düşünmüş, beni çalışmaya sevk etmiş ve bana öğütleri halen kulağымda olan anneme...

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER.....	iii
KISALTMALAR	iv
TABLolar LİSTESİ.....	v
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Kronik Lenfositik Lösemi	3
2.2. Kronik Lenfositik Lösemide otoimmün olaylar	4
2.3. Doğal Öldürücü (NK) Hücreler, Killer Immunoglobulin Like Reseptörler ve genleri... 5	
2.4.Killer Immunoglobulin Like Receptor genlerinin Kronik Lenfositik Lösemi ile ilişkisi . 7	
3. OLGULAR VE YÖNTEM	8
3.1. Olgular.....	8
3.1.2. Hasta grubu	8
3.1.3. Çalışmaya alınma kriterleri:	8
3.1.4. Çalışmadan dışlanma kriterleri:	9
3.2 Yöntem.....	9
3.2.1 DNA Elde Edilmesi.....	9
3.2.2 KIR Genotiplemesi.....	9
3.2.3 Genotipleme PCR döngüleri	9
4. İSTATİSTİKİ ANALİZ	10
5. BULGULAR	11
5.1. Demografik veriler ve hastaların tanı anındaki özellikleri.....	11
5.2. Hastaların otoimmün olay geliştirme risklerinin değerlendirilmesi.....	12
5.3. KIR genlerinin değerlendirilmesi.....	15
6. TARTIŞMA	17
6.1. Kronik lenfositik lösemi ve otoimmünite.....	17
6.2. KIR genlerinin ve ligandları ile ilgili KLL hastalarında yapılmış çalışmalar	18
6.3. Killer Immunoglobulin like Receptor genlerinin otoimmünite ile ilişkisi	19
7. SONUÇ	21
8. ÖZET	22
9. SUMMARY	23
10. KAYNAKLAR.....	24
11. EKLER	27

KISALTMALAR

KLL	Kronik Lenfositik Lösemi
KIR	Killer Immunoglobulin Like Receptor
NK hücre	Doğal Öldürücü (Natural Killer) hücre
PFS	Progresyonsuz sağkalım
OİHA	Otoimmün hemolitik anemi
İTP	İmmün trombositopeni
PRCA	Saf eritroid seri aplazisi
WBC	Lökosit
B2M	Beta-2 Mikroglobulin
FISH	Fluorescent in situ hybridization
LDH	Laktik asid dehidrogenaz
IVIG	İntravenöz immünoglobulin
SLE	Sistemik lupus eritematus
OR	Odds ratio

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1: RAI ve BINET evreleme sistemleri	4
Tablo 2: Killer Immunoglobulin Like Reseptörler ve Ligandları	6
Tablo 3: Hastaların demografik verileri	11
Tablo 4: Hastalarımızda gözlenen otoimmün olaylar	12
Tablo 5: Hastaların otoimmün olay geliştirme risk faktörlerinin değerlendirilmesi.....	13
Tablo 6: Farklı otoimmün olaylarda risk faktörlerinin değerlendirilmesi.....	14
Tablo 7: Hastalarımızda KIR genlerinin değerlendirilmesi	15
Tablo 8: Otoimmün olay gözlenen hastalarımızda KIR genlerinin değerlendirilmesi	16

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kronik lenfositik lösemi (KLL), B hücrelerinden kaynaklanan, bir lenfoproliferatif neoplazidir. Tanı için çevresel kan sayımında en az 5000/ μ l B-lenfosit bulunması ve B hücre klonalitesinin akış sitometrisi ile teyit edilmesi gerekmektedir. Çevresel kandaki lösemik hücreler, karakteristik olarak küçük, dar sitoplazmalı, nukleolusları seçilemeyen yoğun nukleusu olan, kısmi olarak agrege olmuş kromatinin içeren olgun görünümlü lenfositlerdir. Akış sitometrisinde KLL hücreleri hem T-hücre antijeni olan CD5, hem de B-hücre yüzey antijenleri olan CD19, CD20 ve CD23'ü eksprese ederler. CD20 ve CD79b seviyeleri, normal B lenfositlere oranla düşüktür [1]. Tanı için gerekli ve yukarıda sayılan incelemeler dışında , sitogenetik testler (del17p, del11q gibi anomalileri göstermek için FISH), lösemik hücrelerdeki mutasyon düzeyleri (ZAP-70 veya CD38, IgVh gibi), serum markerları (CD23, timidin kinaz, B2M gibi), özellikle eşlik eden sitopeni varlığında kemik iliği incelemesi gibi testler prognozu öngörebilmek ve tedaviyi şekillendirmek üzere istenmektedir [1, 2].

KLL'de otoimmün olaylar, diğer lösemilere göre daha sık görülmektedir. Hamblin'in 2006 yılında yayınlanan derlemesinde, geniş serilerde otoimmün hemolitik anemilerin KLL ile ilişkilendirilme oranının %14 olduğu belirtilmiş, bu oranın ikinci en sık ilişkilendirilen hastalık olan SLE'deki sıklığın iki katı olduğu vurgulanmıştır [3]. Hodgson ve arkadaşlarının 2011 yılında yayınlanan derlemesinde, son dönemlerde yayınlanan çalışmalarda otoimmün sitopenilerin sıklığı %4.3 ile %9.7 arasında değiştiği belirtilmektedir. En sık görülen komplikasyon otoimmün hemolitik anemi (OIHA) iken (%7), otoimmün nötropeni ve saf eritroid aplazi (PRCA) daha nadir görülen komplikasyonlardır. Otoimmün sitopeniler; ileri yaş, erkek cinsiyet, yüksek beyaz küre sayısı, kısa lenfosit ikilenme zamanı gibi klinik; beta 2 mikroglobulin, yüksek CD38 (>%30), yüksek Zap70, mutasyona uğramamış IGVH genleri ve az riskli sitogenetik gibi biyolojik prognostik faktörler ile korrelasyon göstermektedir [2, 4, 5].

KIR genlerinin persistan/kronik ve tekrarlayan immün trombositopeni, latent otoimmün diabetes gibi otoimmün hastalıklar ile ilişkisini gösteren çalışmalar mevcuttur [6, 7]. Altı aktivatör (KIR2DS1, KIR2DS2, KIR2DS3, KIR2DS4, KIR2DS5, KIR3DS1), 5 inhibitör (KIR2DL1, KIR2DL2, KIR2DL3, KIR2DL5, KIR3DL1), 1 hem aktivatör hem inhibitör (KIR2DL4) ve 2 psödogen (KIR2DP1, KIR3DP1) olmak üzere 16 KIR geni tanımlanmıştır [8].

KIR gen düzeylerinin immün sistem, otoimmün olaylar ve tümöre karşı immün cevap üzerinde etkisi olduğu literatürde gösterilmiştir [7, 9]. KIR genlerinin ve hücre yüzeyinde ekspresyonlarının, tümörün progresyonunda etkili immün mekanizmaların aydınlatılmasında rol oynadığı düşünülmektedir. Literatürde, KLL hastalarında KIR gen düzeylerinin, otoimmün olaylar ile ilişkisini inceleyen bir çalışma mevcut değildir.

Amacımız, bu çalışma ile otoimmün olay gözlenen KLL hastalarında, O HA ile ilişkisi olduğu bilinen risk faktörlerinin ilişkisinin araştırılması ve yine otoimmün olaylarının, KIR genotipleri ile ilişkisi hakkında literatüre yeni bir veri sunmaktır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kronik Lenfositik Lösemi

Kronik lenfositik lösemi (KLL), B hücrelerinden kaynaklanan, bir hematopoietik neoplazidir. Tanı için çevresel kan sayımında en az 5000/μl B-lenfosit bulunması ve B hücre klonalitesinin akış sitometrisi ile teyit edilmesi gerekmektedir. Çevresel kandaki lösemik hücreler, karakteristik olarak küçük, dar sitoplazmalı, nukleolusları seçilemeyen yoğun nukleusu olan, kısmi olarak agregre olmuş kromatinin içeren olgun lenfositlerdir. Akış sitometrisinde KLL hücreleri hem T-hücre antijeni olan CD5, hem de B-hücre yüzey antijenleri olan CD19, CD20 ve CD23'ü eksprese ederler. CD20 ve CD79b seviyeleri, normal B lenfositlere oranla düşüktür. Prognozu öngörebilmek ve tedaviyi şekillendirmek üzere sitogenetik testler (del17p, del11q gibi anomalileri göstermek için FISH), lösemik hücrelerdeki mutasyon düzeyleri (ZAP-70 veya CD38, IgVh gibi), serum markerları (CD23, timidin kinaz, B2M, LDH gibi), özellikle eşlik eden sitopeni varlığında kemik iliği incelemesi gibi ilave incelemelerden yararlanılır [1, 2].

KLL hastaları hastalığın seyri, tedavi ihtiyacı ve prognostik özellikler açısından oldukça heterojen özellikler gösterir. KLL hastalarının prognozunu belirlemede Rai-Binnet evrelemesi, laktik asid dehidrogenaz (LDH) düzeyi, Lenfosit ikilenme zamanı, Beta-2 mikroglobulin düzeyi, ZAP-70 proteini, serum timidin kinaz, CD38 ekspresyon seviyesi, sCD23, sitogenetik değişiklikler, IgVH mutasyon durumu kullanılmaktadır. Özellikle tedavi ihtiyacını belirlemek için klinik evreleme, Rai evreleme sistemi [10] ve Binet evreleme sistemine [11] göre yapılmaktadır (Tablo1). Rai evre 0 ve Binet A, erken evre hastalık olarak tanımlanmaktadır. Rai evre I ve II orta riskli olarak değerlendirilirken III ve IV yüksek riskli olarak kabul edilmektedir. Binet evrelemesinde ise B orta riskli, C ise yüksek riskli kabul edilmektedir (Tablo 1).

KLL hastalarında, otoantikör sıklığında artış ve hipogammaglobulinemi gibi humoral immün yanıt bozuklukları olduğu bilinmektedir. Ayrıca hücresel immün yanıt ile ilgili fonksiyon, sitokin üretimi, immüfenotipik profiller ve anti-tümör yanıtla ilişkin değişiklikler de gösterilmiştir. Anormal T hücre fonksiyonunun, hastalığın patogenezinde ve etiyolojisinde rolü olduğu düşünülmektedir [12].

Tablo 1: RAI ve BINET evreleme sistemleri	
RAI evreleme sistemi [10]	BINET evreleme sistemi [11]
0: Çevresel kan ve kemik iliğinde lenfositöz	A: Lenfositöz ve 3'den az lenfatik bölgede tutulum
I: Lenfositöz ve eşlik eden lenfadenopati	
II: Lenfositöz ve eşlik eden splenomegali veya hepatomegali	B: Lenfositöz ve 3 veya daha fazla lenfatik bölgede tutulum
III: Lenfositöz ve anemi (Hgb<11gr/dl)	
IV: Lenfositöz ve eşlik eden trombositopeni (plt<100.000/ µl)	C: Anemi (Hgb<10gr/dl) veya trombositopeni (plt<100.000/µl) varlığı

2.2. Kronik Lenfositik Lösemide otoimmün olaylar

KLL'de otoimmün olaylar, diğer lösemilere göre daha sık görülmektedir. Otoimmün hemolitik anemi (OİHA) sıklığı daha fazladır. Bu nedenle direkt antiglobulin testi rutin olarak uygulanmalıdır. OİHA için rutin testler, KLL hastalarında çok güvenilir sonuçlar vermeyebilir. Kemik iliği sıklıkla lösemik hücreler ile infiltre halde olduğu ve anemiye uygun eritropoietik yanıt verilemeyeceği için retikülosit artışı tespit edilemeyebilir veya LDH düzeyi KLL'ye bağlı başka sebepler ile yükselmiş olabilir. Bu nedenle daha çok yapılması önerilen test serum haptoglobulin seviyesidir. Belirgin hemoliz varlığında da direkt antiglobulin testi negatif olabilir, bu durumda test, daha hassas versiyonu ile tekrar edilmesi önerilir [3]. Ancak her antiglobulin testi pozitifliğinde de hemoliz olmayabilmektedir.

Hamblin'in 2006 yılında yayınlanan derlemesinde, geniş serilerde otoimmün hemolitik anemilerin KLL ile ilişkilendirilme oranının %14 olduğu belirtilmiş, bu oranın ikinci en sık ilişkilendirilen hastalık olan SLE'deki sıklığın iki katı olduğu vurgulanmıştır [3]. Hodgson ve arkadaşlarının 2011 yılında yayınlanan derlemesinde, son dönemlerde yayınlanan çalışmalarda otoimmün sitopenilerin sıklığı %4.3 ile %9.7 arasında değiştiği belirtilmektedir. En sık görülen komplikasyon OİHA anemi iken (%7), otoimmün nötropeni ve saf eritroid aplazi daha nadir görülen komplikasyonlardır. Otoimmün sitopeniler; ileri yaş, erkek cinsiyet, yüksek beyaz küre sayımı, kısa lenfosit ikilenme zamanı gibi klinik; beta 2 mikroglobulin, yüksek CD38 (>%30), yüksek Zap70, mutasyona uğramamış IGVH genleri ve az riskli sitogenetik gibi biyolojik prognostik faktörler ile korrelasyon göstermektedir [2, 4, 5].

Oİ sitopenilerin varlığının evre tanımlarında ayırd edilmediği vs olduğu ama KLL spesifik tedavi için tek başına gerekçe olmadığı, Oİ sitopeni gibi tedavi edilmeleri gerektiğini yazmadıysak ekleyelim oraya.

Otoimmün sitopenilerin varlığının evre belirlenmesinde herhangi bir katkısı yoktur. KLL'ye spesifik tedavi için tek başına gerekçe oluşturmazlar ve otoimmün sitopeni gibi tedavi edilmeleri gerekir. Tedavilerinde kortikosteroidler, rituksimab, sitotoksik ajanlar, splenektomi, IVIG, siklosporin, gibi seçenekler mevcuttur [3, 13].

2.3. Doğal Öldürücü (NK) Hücreler, Killer Immunoglobulin Like Reseptörler ve genleri

NK hücreler, erken doğal bağışıklık yanıtının kilit hücreleridir ve değişikliğe uğramış, virüs ile enfekte olmuş hücelere karşı yanıt oluştururlar. NK hücreler, normal olmayan bir hücre (örneğin tümör hücresi veya virüs ile enfekte hücre) ile karşılaştıklarında ve aktive olduklarında; hedef hücreye yönelik sitotoksik granüller salgılayarak veya reseptörleri aracılığı ile anormal hücrede apoptoz sürecini başlatırlar [14].

Killer Immunoglobulin Like Reseptörleri (KIR) (CD158 olarak da bilinirler) NK hücrelerin ve bir grup T hücrelerin yüzeyinde eksprese olan bir transmembran glikoprotein ailesidir. Genleri ise 19q13.4 kromozomu üzerinde kodlanmıştır [8]. KIR'lerin başlıca ligandı, hemen hemen tüm normal hücrelerde mevcut olan MHC sınıf I (HLA-A, -B, veya -C) molekülleridir. NK hücrelerin normal hücelere toleransı ise KIR, NKG2A/CD94 ve CD85j'yi içeren MHC-I bağlayıcı inhibitör reseptörler ile gelişir. NK hücreler, tercihen MHC-I sınıfı moleküller baskılanmış, yani kendi vücuduna ait olamayan hücelere saldırırlar. KIR aracılıklı NK hücrelerin regülasyonu; viral enfeksiyon, kanser, hemotopoitik kök hücre transplantasyonu ve gebelik gibi durumlara vücudun yanıtında önemli rol üstlenir. Ayrıca NK hücrelerinin olgunlaşmasında da görevleri vardır [14]. KIR'lerin bilinen ligandları Tablo 2'de sunulmuştur [15].

KIR genleri incelendiğinde, altı aktivatör (KIR2DS1, KIR2DS2, KIR2DS3, KIR2DS4, KIR2DS5, KIR3DS1), 5 inhibitör (KIR2DL1, KIR2DL2, KIR2DL3, KIR2DL5, KIR3DL1), 1 hem aktivatör hem inhibitör (KIR2DL4) ve 2 psödojen (KIR2DP1, KIR3DP1) olmak üzere 16 KIR geni tanımlanmıştır [8]. KIR genlerinin isimlendirmesi, ekstraselüler bölgedeki C2-tip immunoglobulin-like bölgelerin sayısına (2 bölge için 2D, 3 bölge için 3D) ve sitoplazmik bölgenin uzunluğuna (long-tailed reseptörler için L; short-tailed reseptörler için S) göre

yapılmıştır. Tüm inhibitör KIR'lerin, "immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motifs (ITIM)" içeren uzun (L) sitoplazmik alanları vardır. Kısa sitoplazmik alanı olan KIR'ler ise antijen reseptör uyarısı ile ilişkilidir; "immunoreceptor tyrosine-based activation motifs (ITAM)"lerin Syk/ZAP-70 tirozin kinazları DAP12-bağımlı aktivasyon ile uyarması sonucu aktive olurlar [14, 16]. Düzenli olarak güncellenen, "The Royal Liverpool and Broadgreen University Hospitals" ve "University of Liverpool" tarafınca yayınlanan veritabanına göre yayınlanan çalışmalarda bugüne kadar 553 genotip bildirilmiştir [17].

Tablo 2: Killer Immunoglobulin Like Reseptörler ve Ligandları [15]			
Gen	Alternatif adı	Ligandı	Ligandın alleli
KIR2DL1	CD158a, nkat1	HLA-C2	C2:Cw2, Cw4, Cw5, Cw6
KIR2DL2	CD158b1, nkat6	HLA-C1>HLA-C2	C1: Cw1, Cw3, Cw7, Cw8
KIR2DL3	CD158b2, nkat2	HLA-C1>HLA-C2	C1: Cw1, Cw3, Cw7, Cw8
KIR2DL5A ^{&}	CD158f	Bilinmiyor	
KIR2DL5B ^{&}	KIR2DL5.2	Bilinmiyor	
KIR3DL1	NKB1, nkat3	HLA-Bw4 ve bazı HLA-A	B08, B27, B57, A24
KIR3DL2	CD158k, nkat4	Bazı HLA-A allotipleri	A3, A11
KIR3DL3	CD158z	Bilinmiyor	
KIR2DL4	CD158d	HLA-G	
KIR2DS1	CD158h	HLA-C2*	C2:Cw2, Cw4, Cw5, Cw6
KIR2DS2	CD158j, nkat5	HLA-C1*	C1: Cw1, Cw3, Cw7, Cw8
KIR2DS3	Nkat7	HLA-C1*	C1: Cw1, Cw3, Cw7, Cw8
KIR2DS4	CD158i, nkat8	Disease peptide?; HLA-C*	Cw3, Cw4 [#]
KIR2DS5	CD158g, nkat9	Bilinmiyor	
KIR3DS1	CD158e2, nkat10	HLA-Bw4?	
*Aktive edici KIR'lar HLA moleküllerine düşük afinite ile bağlanıyorlar			
[#] KIR2DS4'ün bağlandığı ligand HLA-C allelleri ile ilgili çelişkili bilgiler vardır			
^{&} KIR2DL5 geni, LRC gen kümesinde iki ayrı lokusta kodlanmaktadır			

2.4.Killer Immunoglobulin Like Receptor genlerinin Kronik Lenfostik Lösemi ile İlişkisi

KIR genlerinin persistan/kronik ve tekrarlayan immün trombositopeni, latent otoimmün diabetes gibi otoimmün hastalıklar ile ilişkisini gösteren çalışmalar mevcuttur [6, 7].

Karabon ve arkadaşlarının çalışmasında KIR2DS3 ve KIR2DL5 genlerinin, sağlıklı insanlara göre KLL hastalarında daha az sıklıkta gözleendiği, inhibitör genlerin daha fazla olduğu, HLA-Bw4 pozitif hastalarda KIR3DS1 varlığında progresyonsuz sağkalımın daha uzun olduğu gözlenmiştir [18].

HLA-Bw4 allelinin, aynı zamanda NK hücrelerin aktivasyonunda ve dolayısıyla tümör lizisinde rol aldığı bilinmektedir. Junevik ve arkadaşları da, sitotoksik T hücrelerde artmış KIR (KIR2DL1, KIR2DL2, KIR3DL1) ve CD94 ekspresyonunun, bozulmuş anti-tümör immün cevap ile ilişkisini ispat etmiştir [12].

3. OLGULAR VE YÖNTEM

3.1. Olgular

3.1.2. Hasta grubu

Çalışmaya İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Hematoloji Bilim Dalı'nda takip edilen 49 KLL hastası dahil edilmiştir. Daha önce KLL hastaları ile yapılmış tez verileri temin edilmiştir. İnceleme sonucunda otoimmün olay gözlenmiş 49 olgu tespit edilmiştir (26 OİHA, 8 İTP, 8 PRCA, 3 RA, 1 SLE, 1 Skleroderma, 1 Grave's hastalığı). Bu olgulardan 7 OİHA, 2 İTP, 1 PRCA hastamızın vefat ettiği anlaşılmıştır. Ayrıca 3 OİHA, 2 İTP, 1 PRCA, 1 RA hastamıza iletişim bilgileri dahilinde ulaşılamamıştır. 3 OİHA, 1 PRCA olgumuza ulaşılmış, ancak polikliniğimize gelip kan örneği vermeyi reddetmişlerdir. 28 otoimmün olay gözlenen hastamızın kan örnekleri temin edilmiştir. Bir OİHA ve 1 RA hastamızın kan örneğinden yapılan DNA izolasyon işlemi sonucunda ürün elde edilememiştir. 1 PRCA hastamızın KIR PCR sonucu teknik problem nedeniyle değerlendirilemediği için hasta verileri analizde kullanılmamıştır.

Sonuç olarak çalışmamıza otoimmün olay gözlenen 25 (12 OİHA, 4 İTP, 5 PRCA, 1 RA, 1 SLE, 1 Skleroderma, 1 Grave's hastalığı) ve bu olguların özelliklerine paralel, yine polikliniğimizde takip edilen, otoimmün olay gözlenmemiş 24 olgu dahil edilmiştir. Hastaların tüm verilerine, poliklinik takip dosyalarından retrospektif olarak erişilmiştir. Alınan kan örneklerinde, sadece KIR genotiplemesi yapılmıştır.

Direkt antiglobulin pozitifliği tek başına otoimmün olay tanısı için yeterli kabul edilmemiş, OİHA tanısı için serum ve kan hemoliz parametreleri de dikkate alınmıştır. Hastaların tanı sırasındaki evreleri tespit edilirken, eğer KLL ile eş zamanlı OİHA veya İTP tanısı da mevcut ise bu durum dikkatle değerlendirilmiştir. Evreleme diğer kriterler ile yapılmış ve evre bu otoimmün olaylara bağlı olarak bir üst basamağa taşınmamıştır.

3.1.3. Çalışmaya alınma kriterleri:

1. Çalışmaya alındığında 18 veya 18 yaşından büyük olan hastalar.
2. Kan alınmasına izin veren dolayısıyla çalışmaya katılmak için onam formunu imzalayan hastalar.
3. Uluslararası KLL tanı kriterlerini dolduran hastalar.

3.1.4. Çalışmadan dışlanma kriterleri:

1. 18 yaşından küçük hastalar
2. Çalışmaya katılmak için onam vermeyen hastalar
3. Uluslararası KLL tanı kriterlerini doldurmayan hastalar
4. Başta onam verdiği halde çalışma sürecinde çalışmadan ayrılmak isteyen ve/veya bilgilerinin kullanılmasını istemeyen hastalar

3.2 Yöntem

3.2.1 DNA Elde Edilmesi

Hastalardan EDTA'lı tüplere alınan kan örneklerinden manüel DNA izolasyon yöntemi ile DNA elde edilmiştir (detay için ekler bölümüne bakınız).

3.2.2 KIR Genotiplemesi

İnhibitör ve aktivatör KIR allellerinin (2DL1, 2DL2, 2DL3, 2DL4, 2DL5A/2DL5B, 2DS1, 2DS2, 2DS3, 2DS4, 2DS5, 3DL1, 3DL2, 3DL3, 3DS1, 2DP1 ve 3DP1) genotiplemesi Olerup SSP KIR Genotipleme kiti (LOT No: 78R) kullanılarak yapılmıştır [19].

3.2.3 Genotipleme PCR döngüleri

1 döngü 94°C 2 dak denatürleme

10 döngü 94°C 10 san denatürleme

65°C 60 san annealing ve sentez

20 döngü 94°C 10 san denatürleme

61°C 50 san annealing

72°C 30 san sentez

Herbir kuyu için toplam tepkime hacmi 10 µ

PCR tepkimesi sonunda elde edilen ürünler %2 agaroz jelde UV ışık altına değerlendirilecektir.

4. İSTATİSTİKİ ANALİZ

İstatistiki değerlendirme, STATA/SE 11.1 programı ile yapılmıştır. Kategorik değişkenlerin analizinde chi kare (Fischer's exact test) kullanılmıştır.



5. BULGULAR

5.1. Demografik veriler ve hastaların tanı anındaki özellikleri

2003 ile 2014 yılları arasında İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Hematoloji Bilim Dalı polikliniği'nde tanısını almış, 25 otoimmün olay gözlenen ve 24 otoimmün olay gözlenmemiş olan toplam 49 KLL hastası çalışmaya dahil edilmiştir. Hastaların tüm verilerine, poliklinik takip dosyalarından retrospektif olarak erişilmiştir. Hastalarımızın 32'si erkek, 17'si ise kadındır. İki grubun ortanca aşı, ortanca takip süresi, cinsiyet oranları, tanı anındaki serum parametreleri gibi kriterleri birbirine benzerdir. Hastaların demografik verileri ve iki grup arasındaki istatistiki değerlendirme tablo 3'de sunulmuştur.

Tablo 3: Hastaların demografik verileri				
		Otoimmün olay gözlenen KLL hastaları (n=25)	Otoimmün olay olmayan KLL hastaları (n=24)	P değeri
Yaş	Ortanca (aralık)	60 (45-73)	64 (39-77)	0.592
Takip süresi	Ortanca ay (aralık)	59 (7-126)	71 (5-148)	0.428
Cinsiyet	Erkek	17	15	0.686
	Kadın	8	9	
Rai	0	8	5	0.060
	I	3	9	
	II	5	8	
	III	4	0	
	IV	4	2	
Binet	A	10	11	0.156
	B	7	11	
	C	7	2	
Tanı anında	Lenfadenopati Var/Yok	18 / 7	17 / 7	0.928
	Hepatomegali Var/Yok	10 / 12	7 / 17	0.306
	Splenomegali Var/Yok	14 / 8	8 / 16	0.071
	LDH Yüksek/Normal	6 / 17	6 / 18	0.932
	B2M Yüksek/Normal	17 / 4	16 / 5	0.707
	Çevresel kan CD38 >%30 vs <%30	5 / 12	2 / 12	0.316
	Çevresel kan CD23 <%40 vs >%40	5 / 15	3 / 14	0.588
Del17p	Pozitif	2	3	0.117
	Negatif	21	7	

5.2. Hastaların otoimmün olay geliştirme risklerinin değerlendirilmesi

Hastalarımızda gözlenen otoimmün olaylar tablo 4’de sunulmuştur. Hashimoto tiroiditi saptanan hastalarımızda mevcut patoloji sonrası OİHA ve İTP tespit edilmiştir. PRCA tanılı bir hastamıza sarkoidoz, RA tanılı hastamıza ise paraneoplastik pemphigus eşlik etmiştir.

Tablo 4: Hastalarımızda gözlenen otoimmün olaylar	
	N
Otoimmün hemolitik anemi	12
İmmün trombositopeni	4
Saf eritroid aplazi	5
Romatoid artrit	1
Sistemik lupus eritematozus	1
Sarkoidoz	1
Skleroderma	1
Paraneoplastik pemphigus	1
Hashimoto tiroiditi	2
Grave’s hastalığı	1

Hastalarımızın otoimmün olay geliştirme açısından risk faktörleri Tablo 5’de detaylı sunulmuştur. Otoimmün olay gözlenen hastalarda, tanı anında direkt antiglobulin pozitifliğinin daha sık gözlendiği ($p=0.024$) tespit edilmiştir. Ayrıca otoimmün olay gözlenen hastalarımızın %32’si ileri evredeyken tanı almıştır; buna karşın otoimmün olay gözlenmeyen KLL hastalarımızdaki oran %8’dir ($p=0.04$). Tanı anındaki yaş, erkek cinsiyet, serum B2M düzeyi, çevresel kan CD38 düzeyi gibi parametreler birbiriyle benzerlik göstermektedir. Kemik iliği Zap70 pozitifliği de iki grup arasında karşılaştırıldığında, otoimmünite gözlenen grupta oran 5/11 iken otoimmünite olmayan grupta 2/9’dur. Fark, istatistiki olarak anlamlı değildir. Tüm hastalarda bu parametre verisinin elimizde olmayışı ve sayının az olması nedeniyle Zap70 değerlendirmesine şüpheyle yaklaşılmalıdır.

Tablo 5: Hastaların otoimmün olay geliştirme risk faktörlerinin değerlendirilmesi

		Otoimmün olay gözlenen KLL hastaları (n=25)	Otoimmün olay olmayan KLL hastaları (n=24)	P değeri
Fludarabin kullanımı	Var	7 (Otoimmün olay gelişimi öncesinde)	4	0.382
	Yok	18 (Otoimmün olay gelişimi öncesinde)	19	
Alkilleyici ajan kullanımı	Var	11 (Otoimmün olay gelişimi öncesinde)	11	0.790
	Yok	14 (Otoimmün olay gelişimi öncesinde)	12	
Erkek cinsiyet	Var	18	17	0.928
	Yok	7	7	
Yaş >65	Var	8	12	0.2
	Yok	17	12	
Tanı sırasında lenfosit >6000/ μ l	Var	23	20	0.156
	Yok	1	4	
Tanı sırasında yüksek B2M	Var	17	16	0.933
	Yok	5	5	
Tanı sırasında direkt antiglobulin	Pozitif	6	0	0.024
	Negatif	14	14	
Tanı sırasında ileri evre hastalık	Var	8	2	0.04
	Yok	17	22	
Zap70	Pozitif	5	2	0.279
	Negatif	6	7	
Çevresel kanda CD38 pozitif hücre oranı	>%30	5	2	0.316
	<%30	12	12	

Ayrıca otoimmün olayları, risk faktörleri açısından kendi içinde değerlendirmemizi tablo 6’de sunmaktayız. Otoimmünite risk faktörleri incelendiğinde, gruplar arasında belirgin fark, sadece çevresel kanda CD38 pozitif hücre oranında gözlenmiştir. Beş PRCA hastamızın 4’ünün CD38 pozitif hücre oranı kaydı mevcuttur ve bunların üçünde çevresel kandaki CD38 pozitif hücre oranı, tanı anında %30’un üzerindedir. Diğer gruplarda ise bakılan tüm hastalarda oran, %30’un altındadır (p=0.008).

Tablo 6: Farklı otoimmün olaylarda risk faktörlerinin değerlendirilmesi

		Otoimmün hemolitik anemi (n=12)	İmmün trombositopeni (n=4)	Saf eritroid aplazi (n=5)	P değeri
Otoimmün olay gelişimi öncesinde Fludarabin kullanımı	Var	3	0	3	0.129
	Yok	9	4	2	
Otoimmün olay gelişimi öncesinde alkilleyici ajan kullanımı	Var	5	1	4	0.213
	Yok	7	3	1	
KLL ile eş zamanlı tanı alması	Var	3	2	0	0.214
	Yok	9	2	5	
Erkek cinsiyet	Var	10	3	2	0.194
	Yok	2	1	3	
Yaş >65	Var	4	1	2	0.894
	Yok	8	3	3	
Tanı anı lenfo >6000/μl	Var	0	0	0	1
	Yok	12	4	4	
Tanı anı yüksek B2M	Var	7	4	3	0.195
	Yok	4	0	0	
Tanı anı direct antiglobulin	Pozitif	4	2	0	0.259
	Negatif	6	2	4	
Tanı anı ileri evre hastalık	Var	2	3	0	0.022
	Yok	10	1	5	
Zap70	Pozitif	3	1	1	0.638
	Negatif	3	1	0	
Çevresel kan CD38 düzeyi	>%30	0	0	3	0.008
	<%30	8	2	1	

5.3. KIR genlerinin değeriendirilmesi

KIR genlerinin gruplara göre değeriendirilmesi Tablo 7’de sunulmuştur.

Tablo 7: Hastalarımızda KIR genlerinin değeriendirilmesi				
KIR genleri		Otoimmün olay gözlenen KLL hastaları (n=25)	Otoimmün olay olmayan KLL hastaları (n=24)	P değeri
KIR2DL1	Pozitif	23	21	0.301
	Negatif	1	0	
KIR2DL2	Pozitif	17	16	0.373
	Negatif	3	1	
KIR2DL3	Pozitif	16	8	0.484
	Negatif	1	0	
KIR2DL4	Pozitif	25	24	1
	Negatif	0	0	
KIR2DL5A	Pozitif	2	1	0.212
	Negatif	4	0	
KIR2DL5B	Pozitif	2	1	0.255
	Negatif	11	1	
KIR2DS1	Pozitif	19	18	0.336
	Negatif	1	0	
KIR2DS2	Pozitif	16	13	0.841
	Negatif	3	2	
KIR2DS3	Pozitif	14	10	0.955
	Negatif	4	3	
KIR2DS4	Pozitif	23	21	1
	Negatif	0	0	
KIR2DS5	Pozitif	12	8	1
	Negatif	6	4	
KIR3DL1	Pozitif	22	23	1
	Negatif	0	0	
KIR3DL2	Pozitif	24	21	1
	Negatif	0	0	
KIR3DL3	Pozitif	22	24	1
	Negatif	0	0	
KIR3DS1	Pozitif	12	11	0.133
	Negatif	8	2	
KIR2DP1	Pozitif	24	22	0.302
	Negatif	0	1	
KIR3DP1	Pozitif	25	23	1
	Negatif	0	0	

KIR genlerinin, otoimmünite gruplarına göre karşılaştırılması Tablo 8’de sunulmuştur.

Tablo 8: Otoimmün olay gözlenen hastalarımızda KIR genlerinin değerlendirilmesi					
KIR genleri		Otoimmün hemolitik anemi (N=12)	İmmün trombositopeni (N=4)	Saf eritroid aplazi (N=5)	P değeri
KIR2DL1	Pozitif	11	4	4	1
	Negatif	0	0	0	
KIR2DL2	Pozitif	8	3	4	0.546
	Negatif	1	1	0	
KIR2DL3	Pozitif	8	2	4	0.7
	Negatif	1	0	0	
KIR2DL4	Pozitif	12	4	5	1
	Negatif	0	0	0	
KIR2DL5A	Pozitif	1	0	0	0.513
	Negatif	1	1	1	
KIR2DL5B	Pozitif	0	1	1	0.206
	Negatif	6	2	1	
KIR2DS1	Pozitif	8	4	4	0.624
	Negatif	1	0	0	
KIR2DS2	Pozitif	8	2	4	0.274
	Negatif	0	1	1	
KIR2DS3	Pozitif	9	2	3	0.433
	Negatif	1	1	0	
KIR2DS4	Pozitif	12	4	3	1
	Negatif	0	0	0	
KIR2DS5	Pozitif	4	3	3	0.894
	Negatif	2	1	2	
KIR3DL1	Pozitif	11	4	3	1
	Negatif	0	0	0	
KIR3DL2	Pozitif	12	3	5	1
	Negatif	0	0	0	
KIR3DL3	Pozitif	11	3	4	1
	Negatif	0	0	0	
KIR3DS1	Pozitif	5	2	3	0.942
	Negatif	4	1	2	
KIR2DP1	Pozitif	12	4	5	1
	Negatif	0	0	0	
KIR3DP1	Pozitif	12	4	5	1
	Negatif	0	0	0	

PCR yöntemi ile çalışılan hasta kanlarının sonuçlarında, teknik problem nedeniyle değerlendirilememiş genler mevcuttur. Genlerin negatif olduğu hasta sayımız oldukça az olduğu dikkatimizi çekmiş ve bu durumun, bahsettiğimiz teknik probleme bağlı olabileceği düşünülmüştür.

6. TARTIŞMA

6.1. Kronik lenfositik lösemi ve otoimmünite

KLL'nin otoimmün olaylar ile ilişkisi 1960'lı yıllardan itibaren tanımlanmaya başlamıştır. Direkt antiglobulin testi pozitifliğinin, OİHA eşlik etsin veya etmesin, KLL hastalarında görülme sıklığı fazladır. Bunun dışında PRCA ve İTP sıklığı da artmıştır. Literatürde immün sitopeni sıklığı %5 ile %38 arasında değişkenlik göstermektedir. En sık OİHA görülmekteyken İTP, otoimmün nötropeni ve PRCA sıklığı daha azdır. 1990'lerden itibaren, pürin analoglarının, özellikle fludarabinin, otoimmün sitopeniler ile ilişkili olabileceği endişesi uyanmıştır [20-22]. Bu durumun, CD4+ T hücrelerinin, fludarabin ile uzamış baskılanmasının sonucu olabileceği düşünülmüştür. CD4+CD25+FOXP3+ regulatory T hücrelerin (Treg) otoimmün hastalıklarla ilişkili olduğu ve bu hücrelere fludarabinin etkisinin yüksek olduğu gösterilmiştir [23]. Mevcut kanıtlar ise, otoimmün sitopeni gelişiminde pürin analoglarının riskinin, diğer ajanlardan farklı olmadığı gösterilmiştir [24, 25]. Literatürde KLL hastalarında otoimmün sitopeni gelişimi; ileri evre [26-28], ileri yaş [25, 28, 29], erkek cinsiyet [27, 29], yüksek lenfosit sayısı [29-31], kısalmış lenfosit ikilenme zamanı [28, 30] gibi klinik faktörler ve artmış B2M [25, 30], yüksek CD38 ekspresyon düzeyi [30], yüksek ZAP70 düzeyi [27, 31], mutasyona uğramamış IGVH genleri [27, 31], kötü riskli sitogenetik [27] gibi biyolojik faktörler ile ilişkisi gösterilmiştir. Zent ve arkadaşlarının 2008 yılında yayınladıkları 1750 hastalık çalışmalarında, kemik iliği yetmezliğine bağlı sitopeniler kötü prognoz ile ilişkili olmalarına karşın otoimmün olaylarla ilişkili sitopenilerin prognoza bir etkisi olmadığı rapor edilmiştir [27].

Hastalarımızı değerlendirdiğimizde, otoimmünite risk faktörleri olarak literatürde bildirilmiş kriterler açısından fludarabin kullanımı, alkilleyici ajan kullanımı, erkek hasta sayısı, 65 yaş üzeri hasta sayısı, tanı anındaki lenfosit sayısı, çevresel kan CD38, kemik iliği ZAP70, serum B2M seviyelerinde otoimmün olay gözlenen ve gözlenmeyen grup arasında istatistiki fark saptanmamıştır. Otoimmün olay gözlenen KLL hastalarımız arasında da en sık OİHA gözlenmiştir (n=12), onu İTP (n=4) ve PRCA (n=5) takip etmiştir. Ancak tanı anında direkt antiglobulin test pozitifliği, otoimmün olay gözlenen grupta daha fazla olarak tespit edilmiştir (Tablo 5; p=0.024).

Hastalarımızı tanı sırasındaki hastalık evrelerini incelediğimizde, otoimmün olay gözlenen hastalarımızda ileri evrede tanı konmuş hasta sayısı daha fazladır (Tablo 5; p=0.04).

Ayrıca otoimmün hastalık gözlenmiş grupta, tanı esnasında splenomegalisi olan hasta oranı daha fazla olsa dahi (%64 vs %33) bu fark istatistiki olarak anlamlı bulunmamıştır (Tablo 3; $p=0.07$). Daha yakından incelendiğinde, bu oran OİHA hastalarında %40 ve PRCA hastalarında %50 iken, tüm İTP olgularının dördü de tanı sırasında splenomegalisi olduğu gözlenmektedir. KLL hastalarında otoimmünitenin, poliklonal antikorlar tarafından indüklendiği düşünülmektedir. İleri evre, dalağı lösemik hücreler ile infiltre KLL hastalarında OİHA'nın daha sık olduğu bildirilmiştir [29]. KLL hastalarında lösemik hücrelerin antijen sunma özelliği bozulmuş olsa dahi, Rh antijeni sunma özellikleri sürmektedir [32]. KLL hücrelerinin hasarlanmış eritrositlere yoğun maruziyetinin, artmış OİHA sıklığının nedeni olabileceği bildirilmiştir [33]. Bu bağlamda dalakta da CD40 ligand eksprese eden T lenfositlerin bulunması KLL hücrelerinin aktive olmasını ve antijen sunmasını sağlamaktadır [34]. Ayrıca immün ortamda KLL hücrelerinin T hücreleri ile etkileşiminin de otoimmünite gelişmesinde payı olduğu düşünülmektedir. KLL'de T hücrelerin inhibitör sitokinler salgılaması, hücre iskeleti oluşumunda kusur ve vezikül transportasyon kusuru gibi, doğal bağışıklığın bozulmasına neden olacak bozulmalar gözlenmiştir [4].

6.2. KIR genlerinin ve ligandları ile ilgili KLL hastalarında yapılmış çalışmalar

KLL olgularında KIR genleri veya ilişkili yüzey antijenleri ile ilgili az sayıdaki çalışmadan birisi, Karabon ve arkadaşları tarafından yayınlanmıştır. Çalışma 197 KLL hastası ve 200 sağlıklı kontrol grubu örneğinde gerçekleştirilmiştir. Beş inhibitör (2DL2, 2DL2, 2DL3, 2DL5 ve 3DL1) ve 7 aktivatör (2DS1, 2DS2, 2DS3, 2DS4fl, 2DS4del, 2DS5 ve 3DS1) KIR gen düzeyleri incelenmiştir. Ayrıca KIR ligandları olarak HLA-C1, HLA-C2 epitopları, HLA-Bw4(Iso80) ve HLA-Bw4(Thr80) analiz edilmiştir. KIR gen ekspresyonunda, KLL hastaları ve sağlıklı kontrol grubu arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır. İstatistiki olarak anlamlı olmamakla beraber, KLL hastalarında KIR2DS3 ve KIR2DL5 gen düzeylerinin, sağlıklı kontrol grubuna göre daha az tespit edildiği bildirilmiştir (sırası ile %26.9 vs %35.5 $p=0.06$ ve %46.2 vs %55.5 $p=0.06$). Kadın KLL hastalarında KIR2DS3 düzeyinin anlamlı ölçüde düşük olduğu belirtilmiştir (%22.4 vs %36.1 $p=0.05$) [18]. Bizim çalışmamızda ise KIR2DS3 pozitiflik oranı %77'dir (24/31). KIR2DS3 pozitifliğini incelediğimizde ise bu oran, kadın hastalarımızda 9/10 iken erkek hastalarda 15/21'dir. Ancak teknik problem nedeniyle tüm hastalarda genotip sonuçlarını elde edememiş olmamız nedeniyle, bu konuda kesin bir yorumda bulunmamız mümkün değildir.

Junevik ve arkadaşları, 49 KLL hastasının çevresel kanlarını akış sitometrisine tabi tutarak CD3+/CD8+ T hücrelerde CD94/NKG2 ve KIR genleri ile kodlanan CD158a, CD158b ve CD158e/NKB1 moleküllerinin ekspresyonunu analiz etmişlerdir. CD158b ve CD158e ekspresyonunun Binet C hastalarda, Binet A hastalara (sırasıyla $p=0.0076$ ve 0.0018) ve sağlıklı kontrollere (sırasıyla $p=0.0061$ ve 0.0015) göre daha fazla olduğunu göstermişlerdir. Yine Binet C hastalarda CD8+ hücreler, Binet A hastalardakine göre daha yüksek oranda CD158a eksprese etmektedir ($p=0.019$). Binet A hastalar ile sağlıklı kontrol grubu arasında ise anlamlı fark bulunamamıştır. İnhibitör KIR genleri tarafınca kodlanan bu yüzey anijenlerinin Binet C hastalarda daha yüksek oranda eksprese edilmesi, inhibitör KIR genlerinin KLL patogenezinde, immün yanıtın bozulmasında rol oynadığı düşünülmüştür [12]. Biz hasta grubumuzu incelediğimizde, literatürle ilişkili olabileceğini düşünüp Binet evreleme ile inhibitör gen pozitifliği arasındaki ilişkiyi inceledik. Ancak evre grupları arasında herhangi bir fark gözlemleyemedik.

6.3. Killer Immunoglobulin like Receptor genlerinin otoimmünite ile ilişkisi

KIR'lerin otoimmün hastalıklarla ilişkili olduğunu gösteren pek çok çalışma literatürde mevcuttur. Bu hastalıklara örnek olarak psöriatik artrit [35], otoimmün diabetes [7], tip 2 diabetes [36], SLE ve skleroderma [37], primer Sjögren sendromu [38], ankilozan spondilit [39], multipl skleroz [40], romatoid artrit [9], paroksizmal nokturnal hemoglobinüri [41], paraneoplastik pemphigus [42] verilebilir. Bizim çalışmamızdaki amacımız ise, KLL, otoimmün olayların sık görüldüğü bir hastalık olduğu için, KLL tanısı olup otoimmün hastalık gözlenmiş olgularda bir genetik farklılık olup olmadığını tespit etmektir.

Hastalarımızı incelediğimizde, otoimmün hastalık görülen ve görülmeyen KLL grupları arasında, genotiplerde anlamlı bir fark bulamadık.

Literatürü incelediğimizde Nourse ve arkadaşları tarafından 102 persistan, kronik veya nüks eden erişkin İTP hastasının kanları incelenmiş ve 105 kişiden oluşan sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır. İTP grubunda KIR2DS2+/KIR2DL2+ genotipin, KIR2DS2+/KIR2DL2- ve KIR2DS2-/KIR2DL2- genotipe göre daha fazla eksprese olduğu gösterilmiştir (OR 2.51, $p=0.002$). Bu genotipin, T-hücre aracılıklı trombosit toksisitesini veya NK hücre toksisitesini tetikleyebileceği yorumu yapılmıştır [6]. Seymour ve arkadaşlarının 83 hastalık İTP olgu grubunda gerçekleştirdikleri çalışma sonucunda ise

KIR2DS5 genotipinin koruyucu etkisi gösterilmiştir (OR: 0.16 $p<0.001$) [43]. Biz ITP saptanmış olan kendi KLL hastalarımıza baktığımızda, literatürdeki veri ile uyumlu olarak 2 hastamızın KIR2DS2+/KIR2DL2+ genotipinde olduğunu, 1 hastamızın KIR2DS2-/KIR2DL2- genotipinde olduğunu gördük. Kalan bir ITP hastamız ise KIR2DL2+ idi ancak KIR2DS2 gen durumunu, teknik aksaklık nedeniyle belirleyemedik.



7. SONUÇ

İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Hematoloji Polikliniği’imizde takip edilen otoimmün olay gözlenmiş olan 25 ve otoimmün olay gözlenmemiş 24 KLL hastamız çalışmamıza dahil edilmiştir. Çeşitli otoimmün hastalıklar ile ilişkisi gösterilmiş KIR genotipleri incelenmiştir.

En sık gözlenmiş otoimmün olay OİHA iken onu İTP ve PRCA takip etmiştir. Otoimmün olay gözlenmiş hastalarımızın tanı anında direkt antiglobulin pozitiflik oranı, otoimmün olay gözlenmemiş KLL hastalarımıza göre artmış olarak tespit edilmiştir ($p=0.024$). Ayrıca otoimmün olay gözlenen hastalarımız tanı aldıklarında, KLL’nin daha ileri evrede olduğu görülmüştür ($p=0.04$). Otoimmün olaylar kendi aralarında değerlendirildiğinde ise, sayı az olmasına karşın, PRCA’da çevresel kanda CD38 pozitif hücre oranının %30’un üstünde olma sıklığının arttığı gözlenmiştir ($p=0.008$).

Çalışmamızda KIR genlerinin otoimmün olaylarla ilişkisi incelendiğinde, otoimmünite gözlenmeyen gruba göre herhangi bir istatistiki fark tespit edilememiştir. PCR yöntemi ile çalışılan hasta kanlarının sonuçlarında, teknik problem nedeniyle değerlendirilememiş genler mevcuttur. Genlerin negatif olduğu hasta sayımız oldukça azdır. Bu nedenle tezimizin sonuçları dikkatli değerlendirilmelidir. Ayrıca bir diğer önemli nokta, takipteki otoimmün KLL hastalarımıza ulaşabilmiş olmamıza bağlı olarak hasta sayımızın az olmasıdır. Bu durum da karşılaştırmalı sonuçlarımızın anlamlı çıkmamasında rol oynamış olabilir. Daha iyi teknik şartlarda yeni çalışmalar yapılmasında fayda vardır.

8. ÖZET

İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Hematoloji Polikliniği’imizde takip edilen 49 Kronik Lenfositik Lösemi (KLL) hastası çalışmamıza dahil edilmiştir. Çalışmamızın amacı, çeşitli otoimmün hastalıklar ile ilişkisi gösterilmiş olan Killer Immunoglobuline Like Receptor (KIR) gen düzeylerinin, otoimmün olay gözlenmiş ve gözlenmemiş KLL hastalarında karşılaştırılmasıdır. Çeşitli otoimmün hastalıklar ile ilişkisi gösterilmiş KIR genotipleri incelenmiştir. Bu doğrultuda otoimmün olay gözlenmiş olan 25 ve otoimmün olay gözlenmemiş 24 KLL hastamız çalışmamıza dahil edilmiştir. Hastalarımızın 32’si erkek, 17’si kadındır. Otoimmün hastalık gözlenen grup ile otoimmün olay gözlenmeyen KLL grubu arasında tanı anındaki yaş (60 vs 64) ve ortalama takip süresi (59 ay vs 71 ay) istatistiki olarak benzerdir. Benzer şekilde hastalarımızın tanı anında evre, lenfadenopati, organomegali, serum LDH ve Beta-2 mikroglobulin düzeyi, çevresel kanda CD38 düzeyi gibi parametreleri benzerdir.

En sık gözlenmiş otoimmün olay otoimmün hemolitik anemi (OİHA) iken onu immün trombositopeni (İTP) ve saf eritroid aplazi (PRCA) takip etmiştir. Otoimmün olay gözlenmiş hastalarımızın tanı anında direkt antiglobulin testi pozitiflik oranı, otoimmün olay gözlenmemiş KLL hastalarımıza göre artmış olarak tespit edilmiştir ($p=0.024$). Ayrıca otoimmün olay gözlenen hastalarımız tanı aldıklarında, KLL’nin daha ileri evrede olduğu görülmüştür ($p=0.04$). Otoimmün olaylar kendi aralarında değerlendirildiğinde ise, sayı az olmasına karşın, PRCA’da çevresel kanda CD38 pozitif hücre oranının %30’un üstünde olma sıklığının arttığı gözlenmiştir ($p=0.008$).

Çalışmamızda KIR genlerinin otoimmün olaylarla ilişkisi incelendiğinde, otoimmünite gözlenmeyen gruba göre herhangi bir istatistiki fark tespit edilememiştir. PCR yöntemi ile çalışılan hasta kanlarının sonuçlarında, teknik problem nedeniyle değerlendirilememiş genler mevcuttur ve muhtemelen bu nedenle Tetkik edilen genlerin negatif olduğu hasta sayımız oldukça azdır. Bu nedenle tezimizin sonuçları dikkatli değerlendirilmelidir. Ayrıca bir diğer önemli nokta, KLL takipteki otoimmün KLL hastalarımıza ulaşabilmiş olmamıza bağlı olarak hasta sayımızın az olmasıdır. Bu durum da bazı sonuçlarımızın anlamlı çıkmamasında rol oynamış olabilir. Daha iyi teknik şartlarda yeni çalışmalar yapılmasında fayda vardır.

9. SUMMARY

Our study was performed on 49 chronic lymphocytic leukemia (CLL) patients followed in the outpatient clinic of Istanbul University Cerrahpasa Medical Faculty Department of Hematology. We aimed to analyze the relation between autoimmune phenomena in CLL and Killer Immunoglobuline Like Receptor (KIR) genes, which are known to be associated with various autoimmune diseases. Twenty-five CLL patients with autoimmune phenomena and 24 CLL patients without autoimmune phenomenon were included; 32 of them were male and 17 were female. No statistically significant difference in the median age at diagnosis (60 vs 64) and in the median follow-up time (59 months vs 71 months) was detected. The initial stage of disease, initial presence of lymphadenopathy, organomegaly, initial levels of serum LDH, beta-2 microglobulin, peripheral blood CD38 positive cells were similar between the two groups.

In our autoimmune phenomenon cohort, the most frequent autoimmune disease was autoimmune hemolytic anemia (AIHA) followed by immune thrombocytopenia (ITP) and pure red cell aplasia (PRCA). The direct antiglobulin positivity at the time of diagnosis was increased in the autoimmune phenomenon group ($p=0.024$). Additionally, the stage of CLL in patients of the autoimmune phenomenon group was more advanced than the other group ($p=0.04$). Although the number of autoimmune phenomena was not high enough, the CD38 positive cell ratio over 30% in the peripheral blood was more frequent in PRCA group ($p=0.008$).

We could not determine a relation between autoimmunity in CLL and KIR genotypes. We could not define all the genotypes of every patient due to technical difficulties during PCR process. The number of patients that we defined to be negative for a specific genotype is very low. Our results should be considered carefully. As we could have drawn blood samples of CLL patients who are in active follow-up in our institution, the number of autoimmune phenomena was not high and, we had to perform our study in a small cohort. This issue might have affected our results. We think that a new study in a larger cohort with better technical conditions should be planned to find accurate response to our study.

10. KAYNAKLAR

1. Hallek, M., 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**(12): p. 5446-56.
2. Hamblin, T.J., 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**(3): p. 1023-9.
3. Hamblin, T.J., *Autoimmune complications of chronic lymphocytic leukemia*. Semin Oncol, 2006. **33**(2): p. 230-9.
4. Hodgson, K., et al., *Chronic lymphocytic leukemia and autoimmunity: a systematic review*. Haematologica, 2011. **96**(5): p. 752-61.
5. Ghia, P., et al., *The pattern of CD38 expression defines a distinct subset of chronic lymphocytic leukemia (CLL) patients at risk of disease progression*. Blood, 2003. **101**(4): p. 1262-9.
6. Nourse, J.P., et al., *The KIR2DS2/DL2 genotype is associated with adult persistent/chronic and relapsed immune thrombocytopenia independently of FCGR3a-158 polymorphisms*. Blood Coagul Fibrinolysis, 2012. **23**(1): p. 45-50.
7. Shastri, A., et al., *Different KIRs confer susceptibility and protection to adults with latent autoimmune diabetes in Latvian and Asian Indian populations*. Ann N Y Acad Sci, 2008. **1150**: p. 133-8.
8. Akpınar, S., *Kronik Lenfositik Lösemide KIR gen polimorfizmi*, in *İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Hematoloji Bilim Dalı*. 2013, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi: Edirne. p. 41.
9. Salim, P.H., et al., *Autoimmune rheumatic diseases and their association with killer immunoglobulin-like receptor genes*. Rev Bras Reumatol, 2011. **51**(4): p. 351-6, 362-4.
10. Rai, K.R., et al., *Clinical staging of chronic lymphocytic leukemia*. Blood, 1975. **46**(2): p. 219-34.
11. Binet, J.L., et al., *A new prognostic classification of chronic lymphocytic leukemia derived from a multivariate survival analysis*. Cancer, 1981. **48**(1): p. 198-206.
12. Junevik, K., et al., *The expression of NK cell inhibitory receptors on cytotoxic T cells in B-cell chronic lymphocytic leukaemia (B-CLL)*. Ann Hematol, 2007. **86**(2): p. 89-94.
13. Hodgson, K., et al., *Autoimmune cytopenia in chronic lymphocytic leukaemia: diagnosis and treatment*. Br J Haematol, 2011. **154**(1): p. 14-22.
14. Campbell, K.S. and A.K. Purdy, *Structure/function of human killer cell immunoglobulin-like receptors: lessons from polymorphisms, evolution, crystal structures and mutations*. Immunology, 2011. **132**(3): p. 315-25.

15. Purdy, A.K. and K.S. Campbell, *Natural killer cells and cancer: regulation by the killer cell Ig-like receptors (KIR)*. Cancer Biol Ther, 2009. **8**(23): p. 2211-20.
16. Marsh, S.G., et al., *Killer-cell immunoglobulin-like receptor (KIR) nomenclature report, 2002*. Immunogenetics, 2003. **55**(4): p. 220-6.
17. TheAlleleFrequencyNetDatabase. *The Allele Frequency Net Database*. IPD-KIR last Update: 2.6.0, 17 February, 2015. 15.06.2015]; Available from: <http://www.allelefrequencies.net/#>.
18. Karabon, L., et al., *KIR/HLA gene combinations influence susceptibility to B-cell chronic lymphocytic leukemia and the clinical course of disease*. Tissue Antigens, 2011. **78**(2): p. 129-38.
19. Olerup. *KIR genotyping*. 11.07.2015]; Available from: http://www.olerup-ssp.com/productfiles/interpretation_tables/KIR%20Genotyping%202013%2078R%20R01.pdf.
20. Bastion, Y., et al., *Severe autoimmune hemolytic anemia in two patients treated with fludarabine for chronic lymphocytic leukemia*. Ann Oncol, 1992. **3**(2): p. 171-2.
21. Tosti, S., et al., *Severe autoimmune hemolytic anemia in a patient with chronic lymphocytic leukemia responsive to fludarabine-based treatment*. Ann Hematol, 1992. **65**(5): p. 238-9.
22. Myint, H., et al., *Fludarabine-related autoimmune haemolytic anaemia in patients with chronic lymphocytic leukaemia*. Br J Haematol, 1995. **91**(2): p. 341-4.
23. Wing, K. and S. Sakaguchi, *Regulatory T cells exert checks and balances on self tolerance and autoimmunity*. Nat Immunol, 2010. **11**(1): p. 7-13.
24. Borthakur, G., et al., *Immune anaemias in patients with chronic lymphocytic leukaemia treated with fludarabine, cyclophosphamide and rituximab--incidence and predictors*. Br J Haematol, 2007. **136**(6): p. 800-5.
25. Dearden, C., et al., *The prognostic significance of a positive direct antiglobulin test in chronic lymphocytic leukemia: a beneficial effect of the combination of fludarabine and cyclophosphamide on the incidence of hemolytic anemia*. Blood, 2008. **111**(4): p. 1820-6.
26. Hamblin, T.J., D.G. Oscier, and B.J. Young, *Autoimmunity in chronic lymphocytic leukaemia*. J Clin Pathol, 1986. **39**(7): p. 713-6.
27. Zent, C.S., et al., *The prognostic significance of cytopenia in chronic lymphocytic leukaemia/small lymphocytic lymphoma*. Br J Haematol, 2008. **141**(5): p. 615-21.
28. Barcellini, W., et al., *Relationship between autoimmune phenomena and disease stage and therapy in B-cell chronic lymphocytic leukemia*. Haematologica, 2006. **91**(12): p. 1689-92.
29. Mauro, F.R., et al., *Autoimmune hemolytic anemia in chronic lymphocytic leukemia: clinical, therapeutic, and prognostic features*. Blood, 2000. **95**(9): p. 2786-92.
30. Moreno, C., et al., *Autoimmune cytopenia in chronic lymphocytic leukemia: prevalence, clinical associations, and prognostic significance*. Blood, 2010. **116**(23): p. 4771-6.

31. Visco, C., et al., *Impact of immune thrombocytopenia on the clinical course of chronic lymphocytic leukemia*. Blood, 2008. **111**(3): p. 1110-6.
32. Hall, A.M., et al., *Rh autoantigen presentation to helper T cells in chronic lymphocytic leukemia by malignant B cells*. Blood, 2005. **105**(5): p. 2007-15.
33. Galletti, J., et al., *Chronic lymphocytic leukemia cells bind and present the erythrocyte protein band 3: possible role as initiators of autoimmune hemolytic anemia*. J Immunol, 2008. **181**(5): p. 3674-83.
34. von Bergwelt-Baildon, M., et al., *CD40 activation: potential for specific immunotherapy in B-CLL*. Ann Oncol, 2004. **15**(6): p. 853-7.
35. Williams, F., et al., *Activating killer cell immunoglobulin-like receptor gene KIR2DS1 is associated with psoriatic arthritis*. Hum Immunol, 2005. **66**(7): p. 836-41.
36. Romero, V., et al., *Genetic interactions of KIR and G1M immunoglobulin allotypes differ in obese from non-obese individuals with type 2 diabetes*. Mol Immunol, 2008. **45**(14): p. 3857-62.
37. Pellett, F., et al., *KIRs and autoimmune disease: studies in systemic lupus erythematosus and scleroderma*. Tissue Antigens, 2007. **69 Suppl 1**: p. 106-8.
38. Lowe, D.P., et al., *Association of killer cell immunoglobulin-like receptors with primary Sjogren's syndrome*. Rheumatology (Oxford), 2009. **48**(4): p. 359-62.
39. Jiao, Y.L., et al., *Polymorphisms of KIR gene and HLA-C alleles: possible association with susceptibility to HLA-B27-positive patients with ankylosing spondylitis*. J Clin Immunol, 2010. **30**(6): p. 840-4.
40. Fusco, C., et al., *KIRs and their HLA ligands in remitting-relapsing multiple sclerosis*. J Neuroimmunol, 2010. **229**(1-2): p. 232-7.
41. Cosentini, E., et al., *Killer immunoglobulin-like receptors (KIR) and their HLA-ligands in Italian paroxysmal nocturnal haemoglobinuria (PNH) patients*. Tissue Antigens, 2012. **80**(4): p. 322-7.
42. Taintor, A.R., et al., *A novel case of IgA paraneoplastic pemphigus associated with chronic lymphocytic leukemia*. J Am Acad Dermatol, 2007. **56**(5 Suppl): p. S73-6.
43. Seymour, L.A., et al., *The presence of KIR2DS5 confers protection against adult immune thrombocytopenia*. Tissue Antigens, 2014. **83**(3): p. 154-60.

11. EKLER

MANUEL DNA İZOLASYON PROTOKOLÜ

- 1- 2 ml EDTA'lı kan, 50 ml'lik falkon tüpe boşaltılır.
- 2- Üzerine 15ml'ye kadar Lysis Buffer eklenir,vortekslenir.
- 3- 15dk. (+4'te) buzdolabında bekletilir. (-20'de 10dk)
- 4- 6800 rpm'de 10dk santrifüj edilir.
- 5- Çeper ve istenmeyen organelleri içeren üst faz dökülür.
- 6- Pellet üzerine 10ml'ye kadar Lysis buffer eklenir.
- 7- Kalan lenfositlerin parçalanması için vortekslenir.
- 8- Oluşan süspansiyon 6800 rpm'de 10dk santrifüjlenir.
- 9- Üst faz dökülür.
- 10- Pellet üzerine 400ul otoklavlanmış su koyulur.
- 11- Üzerine 3ml nükleaz buffer eklenir.
- 12- 50ul %10 SDS eklenir.
- 13- 30ul proteinaz K eklenir. Vortekslenir.
- 14- 37°C'deki etüvde 1 gece bekletilir.
- 15- Ertesi sabah falkon tüplere 1.8ml amonyum asetat eklenir. Vortekslenir.
- 16- 10800 rpm'de 30 dk santrifüj edilir.
- 17- Ependorf tüplere 400ul su konulur.
- 18- Bu defa süpernatant başka bir falkona alınır.
- 19- Üzerine süpernatantın 2 katı kadar etanol eklenir.Hafifçe çalkalanır. İplik haline gelen DNA pipet yardımıyla alınıp 400ul otoklavlanmış su içeren ependorf içine alınır.
- 20- DNA'lar distile su içinde çözünmesi için 2-3 gün oda sıcaklığında bekletilir.

ETANOL KOYDUKTAN SONRA DNA'LAR GÖRÜLMEZ İSE ÇÖKTÜRME İŞLEMİ

- 1- Buzdolabına (-20°C) konur,1 gece bekletilir.
- 2- 6800 rpm'de 10dk santrifüj edilir.
- 3- DNA'lar çepere yapışık olarak görülürse süpernatant kısmı atılır.
- 4- Alkolün uçması için birkaç gün açık havada bırakılır.
- 5- Birkaç günün sonunda tüplerin üzerine 200ul distile su eklenir. DNA'lar ependorfa alınır.

GİRİŞİMSSEL OLMAYAN İLAÇ DIŞI KLİNİK ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ETİK KURUL DEĞERLENDİRME FORMU

ETİK KURULUN ADI	Istanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
AÇIK ADRES	Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Dekanlık Binası, 34303 Kocamustafapaşa Fatih İstanbul
TELEFON	+90 (212) 414 32 52; 414 30 00/22300
FAKS	+90 (212) 632 00 40
E-POSTA	ctfetik@istanbul.edu.tr

BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Kronik Lenfositik Lösemi (KLL) tanılı hastalarda Killer İmmunoglobulin Like Reseptör (KIR) Gen Düzeyleri ve Bu Düzeylerin KLL hastalarında görülen otoimmün olaylar ile ilişkisi		
	SORUMLU ARAŞTIRMACI ÜNVANI/ADI/SOYADI	Uzm. Öğr.Dr. M.Murat ÖZBALAK		
	SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	İç Hastalıkları		
	KOORDİNATÖRÜN ÜNVANI/ADI/SOYADI	Prof.Dr. Teoman SOYSAL		
	KOORDİNATÖRÜN UZMANLIK ALANI	Hematoloji		
	ARAŞTIRMA MERKEZİ	İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Hematoloji Bilim Dalı		
	ARAŞTIRMA MERKEZİNİN AÇIK ADRESİ	İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi 34098 Fatih /İstanbul		
	BAŞVURULAN ETİK KURULUN ADI	İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu		
	DESTEKLEYİCİ VE AÇIK ADRESİ			
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ VE ADRESİ			
UZMANLIK TEZİ/AKADEMİK AMAÇLI	UZMANLIK TEZİ ☐	AKADEMİK AMAÇLI ☐		
ARAŞTIRMANIN TÜRÜ	☐ Anket çalışması ☐ Retrospektif (geriye dönük) araştırma ☒ Girişimsel (invaziv) olmayan klinik araştırma ☐ Rutin tetkik ve tedavi işlemleri sırasında elde edilmiş materyallerle (kan, idrar, geyta, doku, görüntü gibi) yapılan çalışma ☐ Hemşirelik faaliyetlerinin sınırı içerisinde yapılan araştırma ☐ Vücut fizyolojisi çalışması ☐ Antropometrik ölçümlere dayalı çalışma ☐ Yaşam alışkanlıklarının değerlendirilmesi çalışması DİĞER ☐ Diğer ise belirtiniz:			
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ ☒	ÇOK MERKEZLİ ☐	ULUSAL ☐	ULUSLARARASI ☐

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ			Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ			Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU			Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐
	OLGU RAPOR FORMU			Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐
	DİĞER			Açıklama:

	Karar No:A-20	Tarih:02 Nisan 2013
KARAR BİLGİLERİ	Prof.Dr.Teoman SOYSAL'IN danışmanlığında Uzm.Öğr.Dr.M.Murat ÖZBALAK'ın sorumluluğunda yapılması tasarlanan ve yukarıda başvuru bilgileri verilen klinik araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, gerçekleştirilmesinde etik sakınca bulunmadığına toplantıya katılan etik kurul üyelerinin oy birliği ile karar verilmiştir.	

ÇALIŞMA ESASI	İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu
ETİK KURUL BAŞKANI UNVANI/ADI/SOYADI: Prof. Dr. Fatih ALTINDAŞ	

ETİK KURUL ÜYELERİ						
Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet	İlişki *	Katılım **	İmza
Prof. Dr. Fatih ALTINDAŞ (başkan)	Anesteziyoloji ve Reanimasyon	İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi	K	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Prof. Dr. Öner SÜZER (başkan yardımcısı)	Tıbbi Farmakoloji	İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi	E	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Prof. Dr. Özgür KASAPÇOPUR (raportör)	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi	E	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Prof. Dr. Mehmet Rıza ALTIPARMAK	İç Hastalıkları	İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi	E	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Prof. Dr. Mahmut Reha BAYAR	Ruh Sağlığı ve Hastalıkları	İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi	E	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Prof. Dr. Sebahattin SAİP	Nöroloji	İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi	E	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Prof. Dr. Fahri ERDOĞAN	Ortopedi ve Travmatoloji	İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi	E	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Prof. Dr. Mehmet Faik ÖZÇELİK	Genel Cerrahi	İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi	E	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Prof. Dr. Nuran Şenel BEŞE	Radyasyon Onkolojisi	İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi	K	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Doç. Dr. Suphi VEHLİD	Halk Sağlığı	İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi	E	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Prof. Dr. Ertan YURDAKOŞ	Fizyoloji	İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi	E	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Prof. Dr. Hatun Hanzade DOĞAN	Deontoloji	İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi	K	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Doç. Dr. Muhlis Cem AR	İç Hastalıkları	İst. Eğitim ve Araştırma Hast.	E	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Avukat Ayfer DİKMEN	Ticaret ve Sağlık Hukuku	Serbest Hukuk Bürosu	K	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Zümrüt GAMLI	Emekli Öğretmen	Sivil Üye	K	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	

* :Araştırma ile İlişki

** :Toplantıda Bulunma

06.01.2015

TEZ Kapsamlı Projelerim



İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi

version 1 Bilim İnsanı Portalı ve Proje Yaşam Döngüsü Otomasyonu

MUSTAFA MURAT ÖZBALAK | Çıkış

Sayfam | Kişisel Bilgilerim | Projelerim | Hakemliklerim | İzlediklerim

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ

Proje Durum / İşlemleri
Proje Harcamaları
Proje Yayın'a Dönüştü
Raporlar
Ara Rapor Ekle
Ara Rapor Taslağı İndir
Kesin Rapor Ekle
Kesin Rapor Taslağı İndir
TTS Fillerim
Yeni Proje Başvurusu
Yeni Proje Başvurusu için Tıklayınız
Taslağı Başvurularınız

Normal	UDP	ACİP	TEZ	BYP	YÖP	ÖNAP	GÜDÜMLÜ	YADOP	IRP	UAİP	Eski Projeleriniz
--------	-----	------	-----	-----	-----	------	---------	-------	-----	------	-------------------

Yeni Başvuru	Havuzda	KÜ Ata	Hakem Ata	Hakem Belirlendi	Hakem Yanıtı Geldi	Karar GİR	Sözleşme Bekleniyor	Yürüyen	Askıda	Kapandı	BAP İptal	Re
--------------	---------	--------	-----------	------------------	--------------------	-----------	---------------------	---------	--------	---------	-----------	----

32784 -- Kronik Lenfositik Lösemi (KLL) tanımlı hastalarda Killer Immunoglobulin Like Reseptör (KIR) gen düzeyleri ve bu düzeylerin KLL hastalarında görülen otoimmün olaylar ile ilişkisi

Yürütücü : [PhD MUSTAFA MURAT ÖZBALAK](#) - CERRAHPAŞA TIP FAKÜLTESİ / Dahili Tıp Bilim. / İç Hastalıkları

Aktarılan Ödenek (KDV Dahil) : **7.986,00 ₺** , Kalan Ödenek (KDV Dahil) : **₺** [Talep Listesi](#) [Proje Harcamaları](#)

Proje Başvuru Tarihi : **06/04/2013** Proje Başlangıç Tarihi : **07/06/2013** Proje Muhtemel Bitiş Tarihi : **07/06/2014**

Proje Süresi : **12** Ay Kalan Süre : gün

Anahtar Kelimeler : Chronic lymphocytic leukemia (CLL), Kronik lenfositik lösemi (KLL), Killer Immunoglobulin Like Receptor (KIR), Killer Immunoglobuline Like F (KIR), autoimmunity, autoimmunity,

Tez Türü : Tıpta Uzmanlık

Tez Danışmanı : Teoman Soysal

ASGARİ BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU (BGOF)

1. “Kronik Lenfositik Lösemi (KLL) tanılı hastalarda Killer Immunoglobulin Like Reseptör (KIR) gen düzeyleri ve bu düzeylerin KLL hastalarında görülen otoimmün olaylar ile ilişkisi” konulu çalışma bir araştırma özelliğindedir.
2. Araştırmanın amacı, kronik lenfositik lösemi tanılı hastalarda hastalarımızda görülen, bir nevi bağışıklık sisteminin kendi sağlıklı dokularına verdiği zarar olarak değerlendirebileceğimiz otoimmün olaylar ile ilişkisinin saptanmasıdır.
3. Size herhangi bir tedavi uygulanmayacaktır.
4. Sizden, kolunuzdaki toplar damarınızdan, 15 cc lik kan alınacaktır, bu sırada ufak bir acı hissedebilirsiniz.
5. Sizin hiçbir sorumluluğunuz yoktur.
6. Araştırmadan makul ölçüde beklenen yararlarla ilgili olarak sizin açınızdan hedeflenen herhangi bir klinik yarar olmadığına dair sizlere bilgi verilmiştir.
7. Size herhangi bir alternatif yöntem veya tedavi uygulanmayacaktır.
8. Size verilecek herhangi bir tazminat veya tedavi bulunmamaktadır.
9. Size ait herhangi bir ulaşım, yemek gibi masraf yapılmayacaktır. Size herhangi bir ücret ödenmeyecektir. Ve sizden herhangi bir ücret alınmayacaktır. Bağlı olduğunuz Sosyal Güvenlik Kurumunuzdan (SGK) herhangi bir ödeme alınmayacaktır.
10. Araştırmaya katılımınız isteğinize bağlı olup, istediğiniz zaman herhangi bir cezaya veya yaptırıma maruz kalmaksızın hiçbir hakkını kaybetmeksizin araştırmaya katılımı rededebilirsiniz ve araştırmadan çekilebilirsiniz.
11. İzleyiciler, yoklama yapan kişiler, Etik Kurul, Bakanlık ve diğer ilgili sağlık otoriteleri orijinal tıbbi kayıtlarınıza doğrudan erişebilirler, ancak bu bilgileriniz gizli tutulacaktır. Yazılı bilgilendirilmiş gönüllü olur formunu imzalamakla, söz konusu yasal erişime izin vermiş bulunmaktasınız.
12. İlgili mevzuat gereğince, kimliğinizi ortaya çıkaracak kayıtlar gizli tutulacak, kamuoyuna açıklanmayacaktır; araştırma sonuçlarının yayınlanması halinde dahi kimliğiniz gizli tutulacaktır.
13. Araştırma konusuyla ilgili ve araştırmaya katılmaya devam etme isteğini etkileyebilecek yeni bilgiler elde edilebildiğinde siz veya yasal temsilciniz zamanında bilgilendirilecektir.
14. Araştırma hakkında veya araştırmayla ilgili herhangi bir beklenmeyen etki, olay hakkında daha fazla bilgi temin edilebilmeniz için temasa geçebileceği ilgili kişilerin araştırmacıların 24 saat ulaşabileceği telefon numaraları size verilecektir.
15. Gönüllerin araştırmaya katılması için öngörülen süre 4.5 aydır ve araştırmaya katılması beklenen tahmini gönüllü sayısı, 100 hasta ve 50 sağlıklı birey olmak üzere 150 kişidir.
16. Sizlerden alınacak olan 15 cc lik kolunuzdan toplar damardan alacağımız kan ilgili parametrelerin bakılması amacıyla İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı’na, yine bu araştırmanın yardımcı araştırmacısı olan Prof. Dr. Nur Buyru (4143000/22656) tarafınca değerlendirilecek ve laboratuvar işlemler yapılacaktır.
17. BGOF gönüllü veya yasal temsilcisinin yasal haklarını ortadan kaldıracak bir hüküm veya ifade içermemektedir. Araştırmacıyı, kurumu destekleyici veya bunların temsilcilerini kendi ihmallerinden kaynaklanan herhangi bir yükümlülüğün kurtaracak hüküm veya ifade taşımamaktadır.

“Kronik Lenfositik Lösemi (KLL) tanılı hastalarda Killer Immunoglobulin Like Reseptör (KIR) gen düzeyleri ve bu düzeylerin KLL hastalarında görülen otoimmün olaylar ile ilişkisi” konulu çalışmada kullanılacak olan kan örneğimin;

- a) Sadece yukarıda bahsi geçen araştırmada kullanılmasına izin veriyorum.
- b) İleride yapılması planlanan tüm araştırmalarda kullanılmasına izin veriyorum.
- c) Hiçbir koşulda kullanılmasına izin vermiyorum.

Yukarıda belirtilen ‘Asgari Gönüllü Olur Formu’nu okumuş bulunmaktayım.

Yukarıda, gönüllüye araştırmadan önce verilmesi gereken bilgileri içeren metni okudum (veya bu metin bana okundu). Ayrıca, araştırma ve yapılacak işlem hakkında bana sözlü açıklamalar yapıldı. Bu koşullarla söz konusu klinik araştırmaya, hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın tamamen kendi rızamla, katılmayı kabul ediyorum.

GÖNÜLLÜNÜN;
ADI- SOYADI:

İMZASI:

TARİH:
TELEFON:

DOKTORUN;
ADI-SOYADI: Dr. M. Murat
ÖZBALAK

İMZA:

TARİH:
TELEFON: 0505 718 5960

Varsa gönüllünün yasal temsilcisinin

Adı:

Adresi:

Tel:

Tarih:

İmzası:

Olur alma işlemine başından sonuna kadar tanıklık eden kuruluş görevlisinin

Adı:

Görevi:

Tel:

Tarih:

İmzası:

Açıklama yapan araştırmacının

Adı:

Tel:

Tarih:

İmzası:

Not: Bu form iki nüsha olarak hazırlanmıştır. İmzalandıktan sonra bir nüshası gönüllüye verilecektir; diğer nüsha hasta dosyasında saklanacaktır.