



**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**



BÜYÜK GRANÜLER LENFOSİTİK LÖSEMİ TANILI HASTALARIN KLİNİK VE GENETİK ÖZELLİKLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Dr. Çağrı KÜÇÜKKAYIKCI

**İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
TIPTA UZMANLIK TEZİ**

DANIŞMAN

Prof.Dr. Meltem KURT YÜKSEL

ANKARA

2024

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

BÜYÜK GRANÜLER LENFOSİTİK LÖSEMİ TANILI HASTALARIN KLİNİK
VE GENETİK ÖZELLİKLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Dr. Çağrı KÜÇÜKKAYIKCI

İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
TIPTA UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN

Prof.Dr. Meltem KURT YÜKSEL

ANKARA

2024

Ankara Üniversitesi

Tıp Fakóltesi Dekanlığı'na,

Tıpta Uzmanlık Tezi olarak hazırlayıp sunduğum “Büyük Granüler Lenfositik Lösemi Tanılı Hastaların Klinik ve Genetik Özelliklerinin Değerlendirilmesi” başlıklı tez; bilimsel ahlak ve değere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan araştırma tarafımda yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir.

Bu tez çalışmasıyla ilgili tüm süreçler AÜTF İnsan Araştırmaları Etik Kurulu tarafından, 25.04.2024 tarihinde, İ04-320-24 numaralı kararla onaylanmıştır.

Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı: Çağrı Küçükkayıkçı

Tarih: 12.08.2024

İmza:

ÖZGÜNLÜK RAPORU



Dijital Makbuz

Bu makbuz ödevinizin Turnitin'e ulaştığını bildirmektedir. Gönderiminize dair bilgiler şöyledir:

Gönderinizin ilk sayfası aşağıda gönderilmektedir.

Gönderen:	Çağrı Küçükayıkçı
Ödev başlığı:	Tez
Gönderi Başlığı:	BÜYÜK GRANÜLER LENFOSİTİK LÖSEMİ TANILI HASTALARIN ...
Dosya adı:	ASTALARIN_KL_N_K_VE_GENET_K_ZELL_KLER_N_N_DE_ERLEN...
Dosya boyutu:	1.84M
Sayfa sayısı:	53
Kelime sayısı:	11,654
Karakter sayısı:	77,946
Gönderim Tarihi:	11-Ağu-2024 03:56ÖS (UTC+0300)
Gönderim Numarası:	2430331772

BÜYÜK GRANÜLER LENFOSİTİK LÖSEMİ TANILI HASTALARIN KLİNİK VE GENETİK ÖZELLİKLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

ORJİNALLİK RAPORU

%9

BENZERLİK ENDEKSİ

%8

İNTERNET KAYNAKLARI

%6

YAYINLAR

%5

ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

KABUL ONAY SAYFASI

Düzenleme tarihi: 24/12/2014

ANKARA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ TEZ SINAVI TUTANAĞI

I. UZMANLIK ÖĞRENCİSİNİN		
Adı, Soyadı	: Çağrı Küçükkayıkçı	Sınav tarihi: 20 / 08 / 2024
Anabilim/Bilim Dalı	: İç Hastalıkları	
Tez Danışmanı	: Prof. Dr. Meltem Kurt Yüksel	

II. TEZ İLE İLGİLİ BİLGİLER	
Tezin Başlığı: Büyük Granüler Lenfositik Lösemi Tanılı Hastaların Klinik ve Genetik Özelliklerinin Değerlendirilmesi	
Tezin Niteliği:	☒ Ana Dal Uzmanlık Tezi ☐ Yan Dal Uzmanlık Tezi
Kaçıncı tez sınavı olduğu:	☒ 1 ☐ 2 ☐ 3

III. KARAR
Yapılan tez sınavı sonucunda yukarıda belirtilen tezin "Tıpta Uzmanlık Tezi" olarak ☒ Kabulüne ☐ Reddine ☐ Düzeltmeler yapıldıktan sonra tekrar değerlendirilmesine ☒ Oy birliği ☐ Oy çokluğu ile karar verilmiştir.

IV. AÇIKLAMALAR
Lütfen, tezin reddi veya düzeltme istenmesi durumunda gerekçeli açıklamalarınızı buraya yazınız

Prof. Dr. Meltem KURT YÜKSEL

Jüri Başkanı
Hematoloji Bilim Dalı

Prof. Dr. Şule Mine BAKANAY ÖZTÜRK
Jüri Üyesi
Hematoloji Bilim Dalı

Dr. Öğr. Üyesi Şule ALTINER
Jüri Üyesi
Tıbbi Genetik Anabilim Dalı

ÖNSÖZ

Zorlu uzmanlık eğitimim boyunca her ihtiyacım olduğunda destek olan; tez çalışmasının tasarımı ve hazırlanmasında yoğun çalışma temposu arasında ilgisi ve deneyimleriyle yol gösteren değerli tez danışmanım Prof. Dr. Meltem KURT YÜKSEL'e,

Genetik analizlerin planlanması ve bütçesinin oluşturulmasındaki yardımları ve çalışma tasarımıdaki danışmanlığı için Tıbbi Genetik Ana Bilim Dalı'nın değerli öğretim üyesi Prof. Dr. Nüket YÜRÜR KUTLAY'a,

Uzmanlık eğitimimde emeği olan, iyi bir hekim ve yetkin bir iç hastalıkları uzmanı olmam için çabalayan Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı'nın saygıdeğer öğretim üyelerine,

Beraber çalışmaktan keyif aldığım, dayanışma içerisinde mutlu bir asistanlık süreci geçirmemi sağlayan tüm çalışma arkadaşlarıma,

Akım sitometri laboratuvarında hasta verilerinin taranması aşamasındaki destekleri için Nihal OKUL, Şenay İPEK ve Aydın ÖZTÜRK'e,

Varlığından güç aldığım, bugünlere gelmemi sağlayan annem Ferda KÜÇÜKKAYIKCI'ya, hekimliğe olan sevgisiyle en büyük rol modelim babam Bekir KÜÇÜKKAYIKCI'ya ve desteğini her zaman yanımda hissettiğim ablam Selin KÜÇÜKKAYIKCI'ya,

Mutluluklarımı çoğaltan, stresimi unutturan, koşulsuz sevgisi ve inancıyla her zorluğun üstesinden gelmemi sağlayan canım hayat arkadaşım Ayşe Sena KÜÇÜKKAYIKCI'ya

Kalpten teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Çağrı KÜÇÜKKAYIKCI

İÇİNDEKİLER

Etik Beyan	ii
Özgünlük Raporu	iii
Kabul Onay Sayfası	iv
Önsöz	iv
İçindekiler	vi
Simgeler ve Kısaltmalar	viii
Şekiller Dizini	xi
Tablolar Dizini	xii
1. TÜRKÇE ÖZET	1
2. ABSTRACT	3
3. GİRİŞ VE AMAÇ	5
4. GENEL BİLGİLER	7
4.1. T-Hücre Ontogenisi	7
4.2. Tarihçe ve Sınıflandırma	8
4.3. Epidemiyoloji	10
4.4. Patogenez ve Genetik	10
4.5. Patomorfoloji ve İmmüfenotip	11
4.6. Klinik Özellikler	12
4.7. İlişkili Durumlar	13
4.7.1. RA – LGLL ilişkisi	14
4.7.2. Hematolojik Hastalıklar ile LGLL ilişkisi	14
4.8. Laboratuvar Çalışmaları	16
4.8.1. Akım Sitometri	16
4.8.2. Klonalite Tespiti	16
4.8.3. Kemik İliği Biyopsisi ve Ekstramedüller Tutulum	17
4.9. Tanı	17
4.10. Ayırıcı Tanı	19
4.11. Tedavi ve Prognoz	19
5. GEREÇ VE YÖNTEM	22
5.1. Çalışmanın Tasarımı	22
5.2. Hastalar ve Hasta Verilerinin Toplanması	22
5.3. Laboratuvar Analizi	23

5.4. İstatistiksel Analiz	24
6. BULGULAR	25
7. TARTIŞMA	35
8. SONUÇ VE ÖNERİLER	40
9. KAYNAKLAR	41



SİMGELER VE KISALTMALAR

AA	: Aplastik anemi
AKT/PKB	: Protein kinaz B
ALC	: <i>Absolute lymphocyte count</i> - Mutlak lenfosit sayısı
ANC	: <i>Absolute neutrophil count</i> - Mutlak nötrofil sayısı
ANKL	: Agresif NK hücreli lösemi
ASXL1	: <i>Additional sex combs like 1</i> - Ek seks tarağı benzeri 1
BRAF	: <i>B-raf proto-oncogene, serine/threonine kinase</i> - B-raf proto-onkogen, serin/treonin kinaz
CALR	: <i>Calreticulin</i> – Kalretikülin
CCL22	: <i>C-C motif chemokine ligand 22</i> - C-C motif kemokin ligand 22
CD	: <i>Cluster of differentiation</i> – Yüzey farklılaşma antijenleri
CHIP	: <i>Clonal hematopoiesis of indeterminate potential</i> - Potansiyeli belirlenmemiş klonal hematopoez
CR	: <i>Complete remission</i> - Tam remisyon
CVID	: <i>Common variable immunodeficiency</i> - Yaygın değişken immün yetmezlik
DNMT3A	: <i>DNA (cytosine-5)-methyltransferase 3 alpha</i> - DNA (sitozin-5)-metiltransferaz 3 alfa
EBV	: Epstein Barr Virüsü
EZH2	: <i>Enhancer of zeste 2 polycomb repressive complex 2 subunit</i> - Zeste 2 artırıcısı polycomb baskılayıcı kompleks 2 alt birimi
FCM	: <i>Flow cytometry</i> - Akım sitometri
G-CSF	: Granülosit koloni stimüle edici faktör
GvHH	: Graft versus host hastalığı
Hb	: Hemoglobin
HSTCL	: Hepatosplenik T-hücreli lenfoma
IDH1	: <i>Isocitrate dehydrogenase 1</i> - İzositrat dehidrogenaz 1
İST	: İmmünsüpresif tedavi
JAK	: Janus kinaz

KIR	: <i>Killer-cell immunoglobulin like receptor</i> - Öldürücü hücre immünoglobulin benzeri reseptör
KLF2	: <i>Kruppel like factor 2</i> - Kruppel benzeri faktör 2
KLL	: Kronik lenfositik lösemi
KDM6A	: <i>Lysine demethylase 6A</i> – Lizin demetilaz 6A
KMT2D	: <i>Lysine methyltransferase 2D</i> – Lizin metiltransferaz 2D
LGL	: <i>Large granular lymphocyte</i> - Büyük granüler lenfosit
LGLL	: <i>Large granular lymphocytic leukemia</i> - Büyük granüler lenfositik lösemi
MAP2K1	: <i>Mitogen-activated protein kinase kinase 1</i> - Mitogen-aktif protein kinaz kinaz 1
MBL	: Monoklonal B-lenfositoz
MDS	: Miyelodisplastik sendrom
MPL	: <i>Myeloproliferative leukemia virus oncogene</i> - Miyeloproliferatif lösemi virüs onkojeni
MYD88	: <i>Myeloid differentiation primary response 88</i> - Miyeloid diferansiyasyon birincil tepki 88
NF1	: <i>Neurofibromin 1</i> - Nörofibromin 1
NF-κB	: <i>Nuclear factor kappa B</i> – Nükleer faktör kappa B
NGS	: <i>Next-generation sequencing</i> - Yeni nesil dizileme
NK	: <i>Natural killer</i> - Doğal öldürücü
NOTCH2	: <i>Notch receptor 2</i> - Notch reseptörü 2
NRAS	: <i>Neuroblastoma RAS viral oncogene homolog</i> - Nöroblastoma RAS viral onkojen homologu
ORR	: <i>Overall response rate</i> - Toplam yanıt oranı
PCR	: <i>Polymerase chain reaction</i> - Polimeraz zincir reaksiyonu
PD	: <i>Progressive disease</i> - Progresif hastalık
PI3K	: <i>Phosphoinositide-3-kinase</i> - Fosfoinositid-3 kinaz
PR	: <i>Partial remission</i> - Parsiyel remisyon
RA	: Romatoid artrit
RHOA	: <i>Ras homolog family member A</i> - Ras homolog ailesi üyesi A
RUNX1	: <i>Runt-related transcription factor 1</i> - Runt ilişkili transkripsiyon faktörü 1
SETBP1	: <i>SET binding protein 1</i> - SET bağlayıcı protein 1

SETD1B	: <i>SET domain containing 1B, histone lysine methyltransferase</i> – SET bölgesi içeren 1B, histon lizin metiltransferaz
SOX11	: <i>SRY-box transcription factor 11</i> - SRY-kutu transkripsiyon faktörü 11
SRSF2	: <i>Serine/arginine-rich splicing factor 2</i> - Serin/arjinin zengin ayırma faktörü 2
STAG2	: <i>Stromal antigen 2</i> - Stromal antijen 2
STAT	: <i>Signal transducer and activator of transcription proteins</i> – Sinyal çevirici ve transkripsiyon proteinlerinin aktivatörü
TCR	: <i>T-cell receptor</i> - T hücre reseptörü
TET2	: <i>Tet methylcytosine dioxygenase 2</i> - Tet metilsitozin dioksijenaz 2
TF	: <i>Treatment Failure</i> - Tedavi Başarısızlığı
TNFAIP3	: <i>Tumor necrosis factor, alpha-induced protein 3</i> - Tümör nekroz faktörü, alfa-indüklenmiş protein 3
TNFRSF14	: <i>Tumor necrosis factor receptor superfamily member 14</i> - Tümör nekroz faktör reseptör süperailisi üyesi 14
TP53	: <i>Tumor protein p53</i> - Tümör proteini p53
TRG	: TCR γ
U2AF1	: <i>U2 small nuclear RNA auxiliary factor 1</i> - U2 küçük nükleer RNA yardımcı faktörü 1
WHO-HAEM5	: DSÖ Hematolenfoid Tümörler Sınıflandırması 5. Edisyon
ZRSR2	: <i>Zinc finger RNA binding motif and serine/arginine rich 2</i> - Çinko parmak RNA bağlanma motifi ve serin/arjinin zengin 2
$\alpha\beta$	: alfa-beta
$\gamma\delta$	: gama-delta

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 4.1. Çevresel kan yaymasında LGL.....	12
Şekil 6.1. LGLL alt gruplarının dağılımı	25
Şekil 6.2. LGLL hastalarının Kaplan-Meier sağkalım eğrileri.....	34



TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 4.1. DSÖ sınıflandırmasına göre LGL hastalıkları.....	8
Tablo 4.2. WHO-HAEM5 (2022) - T-hücre ve NK-hücre lenfoid proliferasyonları ve lenfomaları	9
Tablo 4.3. LGLL ile ilişkili hastalıklar	15
Tablo 4.4. WHO-HAEM5 (2022) T-LGLL tanı kriterleri	18
Tablo 4.5. WHO-HAEM5 NK-LGLL tanı kriterleri	19
Tablo 4.6. Birincil yanıt kriterleri.....	21
Tablo 5.1. Çalışmanın dahil edilme-dışlama kriterleri	22
Tablo 6.1. LGLL tanılı hastaların demografik özellikleri	26
Tablo 6.2. LGLL tanılı hastaların komorbiditeleri	27
Tablo 6.3. LGLL tanılı hastaların başvurudaki tam kan sayımı anormallikleri	28
Tablo 6.4. LGLL tanılı hastaların akım sitometri sonuçları	28
Tablo 6.5. LGLL tanılı hastaların immünofenotipleri.....	29
Tablo 6.6. LGLL tanılı hastalarda klonalite tespit yöntemleri	29
Tablo 6.7. LGLL tanılı hastaların histopatolojik bulguları.....	30
Tablo 6.8. LGLL tanılı hastaların tedavi alma durumları	30
Tablo 6.9. LGLL tanılı hastalarda tedavi basamakları ve yanıt oranları.....	30
Tablo 6.10. LGLL tanılı hastalarda İST endikasyonu gelişimini etkileyen olası faktörler	31
Tablo 6.11. LGLL tanılı hastalarda İST endikasyonu gelişimi için lojistik regresyon analizi.....	32
Tablo 6.12. LGLL tanılı hastalarda ilk basamak İST direncini etkileyen olası faktörler.....	32
Tablo 6.13. NGS sonucunda mutasyon saptanan hastaların özellikleri.....	33
Tablo 6.14. LGLL tanılı hastalarda mortalite sebepleri	34

1. TÜRKÇE ÖZET

Küçükkayıkçı, Ç., Büyük Granüler Lenfositik Lösemi (LGLL) Tanılı Hastaların Klinik ve Genetik Özelliklerinin Değerlendirilmesi, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Uzmanlık Tezi. Ankara 2024.

Büyük granüler lenfositik lösemi (LGLL); sitopeniyle seyreden, çevresel kanda ve kemik iliğinde büyük granüler lenfosit infiltrasyonu ile karakterize, klonal, kronik lenfoproliferatif neoplazidir.

Amaç: Bu çalışmada LGLL alt gruplarının ve hastalarda görülen somatik mutasyonların prognoza ve tedavi gerekliliği gelişmesine etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Hematoloji Bilim Dalı'nda 2019-2024 yılları arasında LGLL tanısı konan ve takip edilen 79 hastanın tanı anındaki klinik ve demografik özellikleri, akım sitometri analizleri, kemik iliği histopatolojik değerlendirmeleri, genetik inceleme sonuçları, tedavileri ve tedavi yanıtları retrospektif ve kesitsel olarak incelendi. Ki-kare testi, Fisher'in kesin testi ve Mann-Whitney U testi ve lojistik regresyon kullanılarak tedavi endikasyonu ve tedavi direnci gelişimini ön görebilecek olası risk faktörleri incelendi.

Bulgular: Verileri incelenen toplam 79 hastanın 75'i (%94,9) T-LGLL, 3'ü (%3,8) hasta NK-LGLL, 1'i (%1,3) ANKL tanısıyla izlenmektedir. T-LGLL hastaları içerisinde 67 hasta $T\alpha\beta$ -LGLL, 8 hasta $T\gamma\delta$ -LGLL alt grubundadır. Hastaların ortalanca yaşı 57 (19-85 yaş aralığında); kadın/erkek oranı 1,32'dir. Hastaların %54'4'ünde (n=43) en az bir komorbidite bulunmakta, en sık romatoid artrit eşlik etmektedir. En sık başvuru sebepleri lenfositoz ve sitopenidir. Hastaların %37,2'sinde immünsüpresif tedavi (İST) uygulanmış, kemik iliğinde retikülin lif artışı İST gerekliliği için olası risk faktörü olarak görülmüştür. $T\gamma\delta$ -LGLL grubunda daha düşük lenfosit sayıları ve daha sık İST gerekliliği olmakla beraber istatistiksel anlamlılığa ulaşmamıştır. Yeni nesil dizileme analizi yapılan 8 hastadan birinde *STAT5B* ve *TET2* genlerinde Tier sınıflamasına göre sınıf I ve II olası patojenik mutasyonlar saptanmıştır.

Sonuç: Ülkemizden ilk tek merkezli LGLL verilerini ortaya koyan çalışmamızda literatürle benzer bulgular saptanmıştır. Lenfositozu olmayan ve nedeni belirsiz sitopeni nedeniyle tetkik edilen hastalarda ön tanıda $T\gamma\delta$ -LGLL düşünülmesi önemlidir. *TET2* mutasyonunun cilt

tutulumu ile ilgili olabileceği düşünölmüştür. Yeni nesil dizileme analizi, tanıyı destekleyebileceğinden seçilmiş hastalarda kullanılabilir.

Anahtar Kelimeler: Büyük granüler lenfositik lösemi, LGLL, T-LGLL, NK-LGLL, prognoz



2. ABSTRACT

Kucukkayikci, C., Evaluation of Clinical and Genetic Features of Patients Diagnosed with Large Granular Lymphocytic Leukemia (LGLL), Ankara University Faculty of Medicine, Dissertation in Internal Medicine, Ankara 2024.

Large Granular Lymphocytic Leukemia (LGLL): LGLL is a clonal, chronic lymphoproliferative neoplasm characterized by cytopenia and the infiltration of the peripheral blood and bone marrow with large granular lymphocytes.

Objective: This study aims to investigate the effects of LGLL subgroups and somatic mutations observed in patients on prognosis and the development of treatment necessity; it also aims to share the first single-center patient experience in Turkey.

Materials and Methods: The clinical and demographic characteristics at diagnosis, flow cytometry analyses, bone marrow histopathological evaluations, genetic examination results, treatments, and treatment responses of 79 patients diagnosed and followed with LGLL between 2019-2024 at the Department of Hematology, Ankara University Faculty of Medicine, were retrospectively and cross-sectionally analyzed. Possible risk factors predicting the development of treatment indication and resistance were examined using the Chi-square test, Fisher's exact test, Mann-Whitney U test and logistic regression.

Results: Of the total 79 patients whose data were analyzed, 75 (94,9%) were followed with T-LGLL, 3 (3,8%) with NK-LGLL, and 1 (1,3%) with ANKL. Among the T-LGLL patients, 67 belonged to the $T\alpha\beta$ -LGLL subgroup and 8 to the $T\gamma\delta$ -LGLL subgroup. The median age of the patients was 57 (range: 19-85 years); the female/male ratio was 1,32. At least one comorbidity was present in 54,4% (n=43) of the patients, with rheumatoid arthritis being the most common. The most frequent reasons for presentation were lymphocytosis and cytopenia. An indication for immunosuppressive therapy (IST) developed in 37,2% of the patients, with potential risk factor being increased reticulin fibers in bone marrow. Although lower lymphocyte counts and more frequent IST requirements were observed in the $T\gamma\delta$ -LGLL group, statistical significance was not achieved. Next-generation sequencing analysis of 8 patients revealed possible pathogenic (Tier I and II) mutations of *STAT5B* and *TET2* genes in one patient.

Conclusion: Our study, which presents the first single-center LGLL data from our country, found results similar to the literature. Considering $T\gamma\delta$ -LGLL in the differential diagnosis is crucial for patients being investigated for unexplained cytopenia without lymphocytosis. It was thought that *TET2* mutation might be associated with skin involvement. Next-generation sequencing analysis can be used in selected patients as it may support the diagnosis.

Key Words: Large granular lymphocytic leukemia, LGLL, T-LGLL, NK-LGLL, prognosis



3. GİRİŞ VE AMAÇ

LGLL, başta nötropeni olmak üzere sitopeniyle seyreden, splenomegalinin eşlik edebildiği, çevresel kanda ve kemik iliğinde büyük granüler lenfosit infiltrasyonu ile karakterize, klonal, kronik lenfoproliferatif neoplazidir (1). RA başta olmak üzere sıkça romatolojik hastalıklara eşlik etmektedir (2). 1970’li yıllarda DSÖ güncel sınıflandırmasında “matür T-hücre ve NK-hücre neoplazileri” alt başlığında ele alınmaktadır (3). LGLL nadir bir hastalık olmakla birlikte klinik, fenotipik ve genotipik anlamda belirgin heterojenite göstermektedir. Kronik asemptomatik lenfositozdan refrakter sitopenilere bağlı sık ve ağır enfeksiyonlar ve transfüzyon bağımlılığına, tedavisiz izlemiden çok sıra tedavi gerekliliğine ve akut lösemilere benzer şekilde prezante olan agresif NK hücre lösemisine kadar uzanan geniş spektruma sahiptir (4).

Hematopoietik sistem hastalıklarının tanımlanmasında majör rol oynayan immünofenotipleme teknolojilerinin gelişimiyle birlikte morfolojik olarak benzer görünümdeki lösemik LGL’lerin yüzey belirteçleri aydınlatılmış, hastalık T-LGLL ve NK-LGLL olarak iki ana grupta toplanmıştır. Devamında hastalığın etyopatogenezinde rol oynayan mekanizmaların aydınlatılmasıyla birlikte lösemik hücrelerin kronik antijenik uyarıyla indüklenen sitotoksik T lenfositler ve NK hücrelerden köken aldığı, çeşitli intrinsek ve ekstrinsek faktörler ile programlanmış hücre ölümünden kaçtığı ve immün sistemin klonal olmayan unsurlarını da etkileyerek başta kemik iliğinde olmak üzere hastalık bulgularına neden olduğu bulunmuştur (5).

Diğer hematolenfoid malignitelere göre görece indolen seyreden LGLL’de median sağkalım 10 yılın üzerindedir ve çoğunlukla ilk tanı konulduğunda tedavi gerektirmemektedir. Güncel tedavilerle kür sağlanamayan hastalıkta tedavi genellikle semptomatik olan hastalara uygulanır. Yaklaşık üç hastadan ikisinde takip sürecinde tedavi gereksinimi doğmakta, nadir de olsa bazı hastalarda spontan olarak iyileşme olabilmektedir. Son yıllarda yapılan araştırmalar, hastalığın doğasını, tedavi yanıtlarını ve prognozu etkileyen genetik değişikliklere ve biyobelirteçlere odaklanmıştır. Bu çalışmalar sonucunda T-LGLL’nin T $\alpha\beta$ -LGLL ve T $\gamma\delta$ -LGLL olmak üzere iki farklı alt tipe ayrıldığı ve bunlar arasında hastalık seyri açısından farklılıklar olabileceği (6, 7); ek olarak *STAT3* başta olmak üzere bazı genlerdeki mutasyonların tanıya

yardımcı olabileceği ve semptomatik hastalığı ön görebileceği ortaya konulmuştur (8-10). Geniş bir kohortta tüm ekzom dizileme yöntemi ile yapılan çalışmada rekürren mutasyonların özellikle kromatin modifiye edici ve epigenetik modifiye edici gen bölgelerinde yoğunlaştığını ve sıklıkla *STAT3* mutasyonlarına eşlik edebildiğini göstermiştir.

Nadir görülen bir hastalık olması nedeniyle literatür bilgilerinin diğer hematolojik hastalıklara göre kısıtlı olduğu bilinmektedir. Ülkemizden de LGLL konulu vaka takdimleri bulunmakla birlikte tek veya çok merkez deneyimleri bugüne kadar paylaşılmamıştır (11, 12). Çalışmamız; 2009-2024 yılları arasında merkezimizde tanı konmuş ve takip edilmiş, bilgilerine ulaşılabilen 79 hastanın özelliklerinin ortaya konulduğu, ülkemizdeki ilk vaka serisidir.

Çalışmamızın birincil amacı LGLL tanısı konan hastalarda literatürde LGLL ile ilişkisi gösterilen literatürde bildirilmiş olası sürücü genlerden *STAT3*, *KMT2D*, *TNFAIP3*, *KDM6A* bölgelerindeki somatik mutasyonların LGLL alt tipleriyle ($T\alpha\beta$ -LGLL, $T\gamma\delta$ -LGLL, NK-LGL) ilişkilerinin; hastalığın seyrine ve tedavi gerekliliği gelişme durumuna etkisinin aydınlatılmasıdır. İkincil olarak hastaların demografik özelliklerinin, ilk tanıdaki klinik ve laboratuvar bulgularının, mevcut ek hastalıkların, çevresel kan akım sitometri ve kemik iliği biyopsi bulgularının prognoza etkilerini saptamayı amaçladık. Bu sayede sürücü genlerdeki mutasyonların klinik bulgularla ilişkilerini aydınlatmaya, özellikle sitopeni etyolojisi tespit edilemeyen hastalarda LGLL tanısını kolaylaştıracak mutasyonların belirlenmesine, tanı konduktan sonra tedavi ihtiyacı olacak veya dirençli seyredecek hastaların erken tespit edilmesine katkı sağlamayı hedefledik.

4. GENEL BİLGİLER

Büyük granüler lenfositik lösemi (LGL); büyük granüllü lenfositlerin (LGL) klonal artışıyla karakterize, nadir bir kronik lenfoproliferatif hastalıktır. Lösemik lenfositler; sitotoksik CD8+ T-hücre veya NK-hücrelerden köken almaktadır (13).

4.1. T-Hücre Ontogenisi

Lenfopoiez, kemik iliğindeki plüripotent hematopoietik kök hücrelerin lenfoid progenitörlere dönüşümüyle başlamaktadır. Çeşitli stimülan veya inhibitör sitokinlerin ve mikroçevrenin etkisiyle farklılaşan lenfoid progenitörler; B-hücre, T-hücre ve NK-hücre progenitörlerini oluşturur. T-hücre progenitörleri bu aşamada kemik iliğinde timüs glandına göç eder ve multipotent erken timik progenitör olarak matürasyon sürecine başlar. Bu süreçte T-hücrelerine özgü hücre yüzeyi belirteci olan TCR zincirlerini kodlayan genlerde (sırasıyla TRD, TRG, TRB, TRA) yeniden düzenleme (rearranjman) başlar ve hücre yüzeyinde eksprese olan zincirlere göre TCR $\alpha\beta$ veya TCR $\gamma\delta$ olarak hücrenin kaderi belirlenir. TCR rearranjmanı sayesinde geniş bir antijen spektrumunu tanıma potansiyeline sahip farklı T hücreler oluşturulur. Devamında CD4+ yardımcı T-hücreler (T helper) ve CD8+ sitotoksik T-hücre özellikleri belirlenir. Oluşan hücreler timik kortekste; vücudun sahip olduğu self antijenlere gösterdiği aviditeye göre pozitif veya negatif seçilime uğrar ve adaptif immünitenin bir parçası olan naiv T hücre repertuarı meydana getirilir (14). Gelişen bir enfeksiyon sonucu antijenle karşılaşan ve aktive olan T hücreler çoğalarak patojeni kontrol altına alır ve görevini tamamlayan CD8+ sitotoksik T hücrelerin bir kısmı efektör hafıza T hücrelere dönüşerek varlığını sürdürür.

Doğal immünitenin üyelerinden biri olan NK-hücrelerin; ortak belirteçlere ve sitotoksik fonksiyonlara sahip olduğundan T-hücrelerle aynı kökenden geldiği düşünülmektedir. Farklı olarak NK-hücrelerde TCR bulunmadığından antijen aviditesi göstermez. Virüslerle enfekte hücrelere ve tümör hücrelerine karşı immün yanıtta rol oynamaktadır (14).

4.2. Tarihçe ve Sınıflandırma

20. yüzyıl ortalarından itibaren çevresel kanda lenfosit artışı ile birlikte sitopeni ve splenomegali bulguları olan, muhtemel LGLL tanılı hastalar araştırmacılar tarafından bildirilmiştir. İmmünofenotipleme tekniklerinin gelişmediği dönemde bu hastalar kronik lenfositik lösemi (KLL) olarak değerlendirilmiştir. 1970’li yıllarda hücre yüzey belirteçlerinin gösterilmesiyle, hastalık T-KLL başlığıyla isimlendirilmiştir (15, 16). 1980’li yıllarda TCR’nin keşfi ile T hücre klonalite tespiti mümkün olmuştur. 1985’te ilk kez Loughran ve ark. tarafından LGLL tanımı kullanılmış (17), devamında farklı ülkelerden vaka serileri paylaşılmıştır (18, 19). KIR (*killer immunoglobulin like receptor*) fenotip analizinin keşfi ile NK hücre klonalitesinin tespiti de mümkün olmuştur (20).

Birçok farklı terminoloji ile adlandırılan hastalık; nadir görülen agresif NK hücreli lösemi (ANKL) ile birlikte 2001 yılında DSÖ sınıflandırmasına dahil edilmiştir (21). 2008 yılında NK hücre kökenli CLPD-NK da sınıflandırmaya eklenmiştir (Tablo 4.1). 2022 yılında güncellenerek yayınlanan DSÖ Hematolenfoid Tümörler Sınıflandırması 5. Edisyon’da (WHO-HAEM5) matür T-hücreli lenfomaların matür T- ve NK-hücreli neoplaziler başlığı altında T-LGL, NK-LGL ve ANKL olmak üzere üç antite olarak sınıflandırılmıştır (Tablo 4.2) (22).

Tablo 4.1. DSÖ sınıflandırmasına göre LGL hastalıkları (21)

DSÖ (2001)	DSÖ (2008)	DSÖ (2016)
Matür T- ve NK-hücreli neoplaziler	Matür T- ve NK-hücreli neoplaziler	Matür T- ve NK-hücreli neoplaziler
T-hücreli LGL lösemi Agresif NK-hücreli lösemi	T-hücreli LGL lösemi NK hücrelerin kronik lenfoproliferatif bozukluğu (CLPD-NK) Agresif NK-hücreli lösemi	T-hücreli granüler lenfositik lösemi Agresif NK-hücreli lösemi NK hücrelerin kronik lenfoproliferatif bozukluğu (CLPD-NK)

Tablo 4.2. WHO-HAEM5 (2022) - T-hücre ve NK-hücre lenfoid proliferasyonları ve lenfomaları
(22)

<i>T-hücre baskın tümör-benzeri lezyonlar</i> <i>Prekürsör T-hücreli neoplaziler</i> <i>*Matür T ve NK hücreli neoplaziler</i>
Matür T ve NK hücreli lösemiler • T-prolenfositik lösemi • <i>T-büyük granüler lenfositik lösemi*</i> • <i>NK-büyük granüler lenfositik lösemi*</i> • Erişkin T hücreli lösemi/lenfoma • Sezary sendromu • <i>Agresif NK hücreli lösemi*</i> Primer kutanöz T hücreli lenfomalar • Primer kutanöz CD4+ küçük/orta T hücreli lenfoproliferatif hastalık • Primer kutanöz akral CD8+ lenfoproliferatif hastalık • Mikozis fungoides • Primer kutanöz CD30+ T hücreli lenfoproliferatif hastalık: Lenfomatoid papülozis • Primer kutanöz CD30+ T hücreli lenfoproliferatif hastalık: Primer kutanöz anaplastik büyük hücreli lenfoma • Subkutanöz pannikülit benzeri T hücreli lenfoma • Primer kutanöz gamma/delta T hücreli lenfoma • Primer kutanöz CD8+ agresif epidermotropik sitotoksik T hücreli lenfoma • Primer kutanöz periferik T hücreli lenfoma, NOS İntestinal T ve NK hücreli lenfoid proliferasyon ve lenfomalar • Gastrointestinal sistemin indolent T hücreli lenfoması • Gastrointestinal sistemin indolent NK hücreli lenfoproliferatif hastalığı • Enteropati-iliskili T hücreli lenfoma • Monomorfik epiteliotropik intestinal T hücreli lenfoma • İntestinal T hücreli lenfoma, NOS Hepatosplenik T hücreli lenfoma • Hepatosplenik T hücreli lenfoma Anaplastik büyük hücreli lenfoma • ALK pozitif anaplastik büyük hücreli lenfoma • ALK negatif anaplastik büyük hücreli lenfoma • Meme implant ilişkili anaplastik büyük hücreli lenfoma Nodal T-foliküler yardımcı (TFH) hücreli lenfoma • Nodal TFH hücreli lenfoma, anjiyoimmünoblastik tip • Nodal TFH hücreli lenfoma, foliküler tip • Nodal TFH hücreli lenfoma, NOS Diğer periferik T hücreli lenfoma • Periferik T hücreli lenfoma, NOS EBV pozitif NK/T hücreli lenfoma • EBV pozitif nodal T ve NK hücreli lenfoma • Ekstranodal NK/T hücreli lenfoma, nazal tip Çocukluk çağıının EBV pozitif T ve NK hücreli lenfoid proliferasyon ve lenfomaları • Ciddi sivrisinek ısırık alerjisi • Hidroa vaksiniforme lenfoproliferatif hastalık • Sistemik kronik aktif EBV hastalığı • Çocukluk çağıının sistemik EBV pozitif T hücreli lenfoması

Not: Çalışmamıza dahil edilen hastalıklar, sınıflandırmada yıldız (*) ile işaretlenmiştir.

4.3. Epidemiyoloji

Kronik lenfoproliferatif hastalıkların Kuzey Amerika ve Avrupa'da %2-3, Asya'da %5-6'sını oluşturan LGL insidansı popülasyon bazlı çalışmalarda 1.000.000 insanda 0,2-0,72 olarak hesaplanmıştır (23, 24). Tanı yaşı yaklaşık 60'tır ve 30 yaş altı vakalar nadir görülmektedir. Hastalık erkek ve kadınları eşit oranda etkilemektedir. Bildirilen vakaların yaklaşık %80-85'i T-LGL, %15'i NK-LGL alt grubundadır. ANKL vakaları tüm hastaların %5 kadarını oluşturur; sıkça EBV ile ilişkilidir ve Doğu Asya toplumlarında prevalansı daha yüksektir. Genellikle genç-orta yaşlı erişkinleri etkilemektedir (4, 13).

4.4. Patogenez ve Genetik

Nedeni tam olarak bilinmeyen LGL; altta yatan gösterilmiş mekanizmalar ve doğası nedeniyle klonal lenfoproliferasyon, kronik inflamasyon ve otoimmünite kavramlarının kesişiminde yer almaktadır (21). Hastalık sitotoksik T lenfositlerden ve NK hücrelerden köken almaktadır. Viral kökenli olduğu düşünülen belirsiz bir antijenik uyarıyla başlayan oligoklonal LGL artışının hastalığı başlattığı düşünülmektedir. İmmün sitotoksik yanıtla ilişkili olan IL-15 (interlökin-15) başta olmak üzere proinflamatuvar sitokinlerin güçlendirdiği LGL klonları; süreç içerisinde somatik mutasyonlara maruz kalarak monoklonal hücre popülasyonunu oluşturmaktadır. Bu mutasyonlar hücrede sağkalımı sağlayan JAK-STAT (Janus kinaz, *signal transducer and activator of transcription proteins* – sinyal çevirici ve transkripsiyon proteinlerinin aktivatörü), PI3K-PKB/AKT (fosfoinositid-3 kinaz, protein kinaz B/AKT) ve NF-κB (*Nuclear factor kappa B* – Nükleer faktör kappa B) yollarının aktive olmasına ve lösemik hücrelerin apoptoza (FasL-aracılı apoptoz) direnç geliştirmesine yol açmaktadır (25-29). Neoplastik LGL'lerde eş zamanlı olarak perforin ve granzimler gibi sitotoksik fonksiyonda rol oynayan genlerin ekspresyonu artmaktadır (30).

LGL'de kemik iliği infiltrasyonu görülmekle birlikte nötropeni ve anemi primer olarak myeloid ve eritroid progenitör hücrelere karşı gelişen multifaktöriyel otoimmün sitotoksositeye bağlı olarak gelişmekte, splenomegalinin de bu süreci derinleştirebildiği düşünülmektedir (31). Bu mekanizmalara ek olarak anti-nötrofil antikorlar ve Coombs pozitifliği de sitopeni gelişiminde rol oynayabilmektedir.

Rekürren sitogenetik anormallikler nadir vaka bildirimleri dışında gösterilmemiştir. LGLL tanılı hasta gruplarında yapılan genomik çalışmalarda *STAT3* ve *STAT5B*; NK-LGLL özelinde ise *TET2* (Tet metilsitozin dioksijenaz 2), *TNFAIP3* (Tümör nekroz faktör alfa-indüklenmiş protein 3) ve *CCL22* (C-C motif kemokin ligand 22) sık mutasyona uğrayan olası sürücü genler olarak gösterilmektedir (9, 27, 32, 33). Spesifik genetik değişiklikler farklı immünofenotiplerle ve klinik özelliklerle ilişkilendirilmektedir. Bunlar içerisinde en yaygın olan ve otoimmün hastalıklardaki rolü bilinen *STAT3* genindeki somatik, fonksiyon kazanımı (*gain-of-function*) mutasyonları; çoğunlukla proteinin SRC homology 2 (SH2) alt birimini kodlayan 20 ve 21. ekzonları etkiler ve hastaların %40'ında bulunmaktadır; semptomatik hastalıkla ve azalmış genel sağkalımla ilişkilidir (8).

Son dönemde geniş kohortlarda tüm ekzom dizileme yöntemleri ile *STAT3*' e eşlik edebilecek veya JAK-STAT yolağında mutasyonu olmayan vakalarda etyolojiyi açıklayabilecek diğer sürücü mutasyonlar araştırılmıştır (9, 34). Bu çalışmalarda kromatin ve epigenetik modifiye edici genlerden *TET2*, *KMT2D* (*lysine methyltransferase 2D* – lizin metiltransferaz 2D), *KDM6A* (*lysine demethylase 6A* – lizin demetilaz 6A) ve *SETD1B* (*SET domain containing 1B, histone lysine methyltransferase* – SET bölgesi içeren 1B, histon lizin metiltransferaz) genlerindeki fonksiyon kaybı (*loss-of-function*) mutasyonlarının sıklıkla *STAT3* mutasyonlarıyla birlikte gözlemlendiği ve LGLL patogeneğinde önemli rol oynayabileceği gösterilmiştir.

Doğu Asya toplumlarında daha sık görülen ANKL; diğer LGLL tiplerinden farklı olarak EBV enfeksiyonu ile ilişkilidir (35).

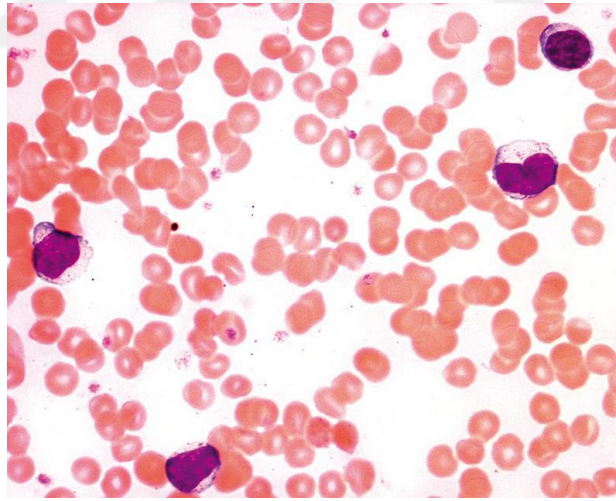
4.5. Patomorfoloji ve İmmünofenotip

LGL'ler; çevresel kan yaymasında normal lenfositlerden farklı olarak tipik azurofilik granüller içeren geniş sitoplazmaya sahip, reniform veya yuvarlak çekirdekli, büyük boyutlu (15-18 µ) hücreler olarak tanımlanırlar (Şekil 4.1). Mutlak LGL sayısı sağlıklı insanlarda 200-400/µL kadardır ve çevresel kan mononükleer hücrelerinin %10-15'lik kısmını oluşturmaktadır. LGLL'de sayıca artmış olmakla birlikte, morfolojik olarak reaktif/lösemik ayrımı yapılması mümkün değildir (21).

LGLL alt tiplerinin belirlenmesinde immünofenotipleme altın standart yöntemidir. Hastaların %80'i CD3+ olan T-LGL grubunda yer alır ve post-timik terminal efektör hafıza T

hücre fenotipi (CD3+ CD8+ CD57+ CD45RA+ CD62L-) sergiler. CD5 ve CD7 ekspresyonunda azalma veya kayıp olabilirken CD16 çoğunlukla pozitif bulunur. T-LGLL'de TCR zincir ekspresyonuna göre sırasıyla %90 ve %10 oranlarında görülen ve aralarında klinik farklılık gösteren T $\alpha\beta$ -LGLL ve T $\gamma\delta$ -LGLL alt grupları tanımlanmıştır (6). CD8+ T-LGLL dışında daha seyrek olarak CD3+ CD4+ CD8+/- TCR $\alpha\beta$ + olan CD4+ T-LGLL fenotipi de görülmektedir. CD56 pozitifliği, semptomatik hastalık ve kötü prognozla ilişkilendirilmiştir (36).

NK-LGLL; tüm hastaların %15'sini oluşturur. CD3 ve TCR eksprese etmeyen lösemik hücreler CD2+ CD3- cCD3 ϵ + CD16+ CD56+ CD57+/- CD122+ fenotiple karakterizedir. CD2 ve CD7 ekspresyonunda azalma ve değişken oranlarda CD8 ekspresyonu görülebilir. NK-hücre reseptörleri olan KIR (CD158a, CD158b veya CD158e) ve CD94/NKG2 belirteçlerindeki anormallikler hastalığın tipik özelliğidir. Lösemik hücrelerde KIR izoformlarından sadece biri bulunur. NKR ve kısıtlanmış KIR patterni göstermektedir. Yaklaşık %5 oranında görülen ANKL hücreleri de benzer şekilde CD2+ CD3- CD5- CD7+ CD16+/zayıf CD56+ CD57- olarak tanımlanırlar (37) ve hastaların yaklaşık %90'ında EBV-kodlanmış küçük RNA (EBER) pozitifliği bulunur.



Şekil 4.1. Çevresel kan yaymasında LGL

4.6. Klinik Özellikler

Genellikle kronik ve indolent seyreden LGLL'nin kardinal bulguları sitopeni ve LGL lenfositozudur. Çevresel kandaki LGL sayısı çoğu hastada $2-20 \times 10^9/L$ aralığında bulunur; fakat mutlak lenfosit ve LGL sayısı normal aralıktaki olmayan hastaların oranı azımsanamayacak kadar

yüksektir. Semptomatik hastalarda şikayetler genellikle etkilenen hematopoietik seri ile ilişkilidir (21).

Hastaların üçte biri insidental saptanan asemptomatik kronik lenfositöz sebebiyle hematoloji kliniklerine yönlendirilmektedir. Yaklaşık %85’inde nötropeni mevcuttur. Büyük bir kısmı kronik asemptomatik nötropeni ile tanı alırken, bir kısım hastada cilt, orofarinks, akciğer ve perirektal bölgeyi etkileyebilen rekürren bakteriyel enfeksiyonlar, nötropenik ateş ve oral aftöz ülserasyonlar eşlik etmektedir. Anemi (%25-49) ve trombositopeni (%20) daha seyrek bulunur ve transfüzyon bağımlılığı ile sonuçlanabilir. Splenomegali hastaların yaklaşık %20’sinde saptanır ve pansitopeniye katkı sağlayabilir. Lenfadenopati, B semptomları (ateş, gece terlemesi, kilo kaybı) ve hepatomegali nadir görülen klinik bulgulardır. Cilt tutulumu çok nadir hasta grubunda saptanmıştır (38, 39).

ANKL; diğer LGLL alt tiplerinde farklı olarak klinik özellikleri bakımından agresif NHL’lar ile benzerlik gösterir. Prezantasyonunda çoğunlukla ateş, lenfadenopati, hepatosplenomegali, konstitüsyonel semptomlar ve lenfositöz vardır ve hızlı progrese olarak haftalar-aylar içerisinde mortaliteyle sonuçlanmaktadır. Hemofagositik lenfositosis ile ilişkili hastalıklardan sayılmaktadır (13, 37).

4.7. İlişkili Durumlar

LGLL; başta romatolojik ve hematolojik hastalıklar olmak üzere %40 oranında başka hastalıklarla ilişki göstermektedir (Tablo 4.3) (21). Romatoid artrit (RA) ve Sjögren hastalığı en sık eşlik eden romatolojik hastalıklardır. Hastaların bir kısmında otoimmün hematolojik hastalıklar görülürken, diğer lenfoid veya myeloid klonal hematolojik bozukluklar da eşlik edebilmektedir. Solid organ ve hematopoietik kök hücre nakli sonrası gelişen T-LGLL; posttransplant T hücreli lenfoproliferatif bozukluklar arasında en iyi prognoza sahiptir (40). Reaktif benign LGL artışları; viral enfeksiyonlara (EBV, HIV, HBV, HCV, CMV), bağ doku hastalıklarına veya çeşitli deri hastalıklarına sekonder gelişebilir ve klonal neoplastik LGL bozukluklarından ayrılması önem taşır.

4.7.1. RA – LGLL İlişkisi

RA; sinoviyal eklemlerin kronik inflamasyonu ile karakterize sistemik, otoimmün bir hastalıktır. LGLL tanılı hastalarda %36'ya varan oranlarda RA'nın eşlik edebildiği farklı yayınlarda bildirilmiştir. RA tanısı daha önce konulabileceği gibi LGLL seyrinde daha sonra da ortaya çıkabilmektedir (41). Bu iki hastalığın ortak patogenetik mekanizmaları paylaştığı düşünülmektedir. RA'nın bir komplikasyonu olarak tanımlanan Felty sendromunda splenomegali ve nötropeni görülmesi; iki hastalığın ortak somatik mutasyonları paylaşması ve tedavilerindeki benzerlikler de bu tezi desteklemektedir (42).

4.7.2. Hematolojik Hastalıklar ile LGLL İlişkisi

LGLL ve otoimmünite arasındaki ilişki, birliktelik gösterdiği hematolojik hastalıklarda da kendisini göstermektedir. Otoimmün sitopeni başlığında incelenen otoimmün hemolitik anemi (OIHA) ve immün trombositopenik purpura; kemik iliği yetmezliği sendromları alt başlıklarından aplastik anemi (AA) ve saf kırmızı hücre aplazisi (PRCA) bu hastalıklar arasında sayılmaktadır. Özellikle PRCA hastalarında %7,3-68,2 oranlarında LGLL insidansı bildirilmektedir (43). Başta MDS olmak üzere klonal myeloid hastalıklar ve özellikle B hücreli lenfoproliferatif bozukluklar da LGLL ile eş zamanlı bulunabilmektedir (12, 44). Endikasyonları arasında hematolojik bozuklukların başını çektiği splenektomi operasyonu sonrasında LGL lenfositozu görülebilir ve bu durum genellikle neoplastik olmayan, poliklonal bir artıştır. Allojeneik kök hücre nakli de reaktif poliklonal LGL artışına neden olabileceği gibi bazı hastalarda LGLL gelişebilir.

Tablo 4.3. LGLL ile ilişkili hastalıklar (21)

LGLL ilişkili Hastalık	Sıklık
Neoplaziler	4-10
Otoimmün sitopeni	
- Saf kırmızı hücre aplazisi (PRCA) - Otoimmün hemolitik anemi (OIHA) - İmmün trombositopenik purpura (ITP) - Evans sendromu	5
B-hücreli lenfoid neoplaziler	
- Düşük dereceli Non-Hodgkin lenfoma - Diffüz büyük B hücreli lenfoma - Mantle hücreli lenfoma - Multipl myelom - Kronik lenfositik lösemi - Saçlı hücreli lösemi - Waldenstrom makroglobulinemi - Hodgkin lenfoma - Lenfomatoid granülomatoz - Ağır zincir hastalığı	5
Otoimmün hastalıklar/bağ doku hastalıkları	
- RA - Sjögren hastalığı - Sistemik lupus eritematozus - Vaskülit - Sistemik skleroz - Endokrinopatiler (APECED, MEN-1, Hashimoto hastalığı, Graves hastalığı) - Gastrointestinal hastalıklar (İBH, Çölyak hastalığı) - Nöromusküler hastalıklar (Polimyozit, inklüzyon cisimciği myoziti, poli/multinevrit, Lambert-Eaton myastenik sendromu) - Glomerülonefrit - İnflammatuar artrit (sınıflandırılmamış) - Good sendromu - Multipl skleroz - Edinsel faktör VIII inhibitörü	10-20 10-18
MDS	3-10
AML	<1
Hemofagositik sendrom	<1
Pulmoner hipertansiyon	<1
Post-organ veya hematopoietik KHN	<1
Post viral enfeksiyon	<1

(APECED: otoimmün poliendokrinopati kandidiazis ektodermal distrofi, MEN: multipl endokrin neoplazi, KHN: kök hücre nakli)

4.8. Laboratuvar Çalışmaları

4.8.1. Akım Sitometri

Akım sitometri (FCM; akan hücre ölçer); matür T hücreli neoplazilerin tanısı ve sınıflandırmasında merkezi öneme sahiptir. Odaklanmış lazer serileri içerisinde tekli sıra halinde hızlı şekilde geçirilen hücrelerin büyüklük, granülerite gibi fiziksel özelliklerine ve flüoresan belirteçlere (florokrom) bağlı antikorlara bağlanan antijenlerine göre yarattığı farklı ışık saçılımlarının sensörler tarafından algılanarak analiz edilmesi prensibine dayanmaktadır (45). Bu yöntem sayesinde çevresel kan ve kemik iliği örneklerindeki hücrelerin immünofenotipleri belirlenir. Hücre alt gruplarının kısıtlanması; normal T- ve NK-hücre antijenlerinin eksik, azalmış veya anormal olarak artmış ekspresyonu, aberran antijenlerin varlığı ve sağlıklı bireylerde seyrek olan T hücre popülasyonlarının ekspansiyonu gibi bulgular, neoplaziye işaret eder. Daha önce detaylı olarak açıklanan (Bölüm 4.5) antijenik patternleri sergileyen lösemik LGL'lerin çevresel kanda ve kemik iliği aspirasyon biyopsisinde artmış oranlarda saptanması sayesinde tanıya yaklaşılr.

4.8.2. Klonalite Tespiti

T-hücre klonalite varlığı, LGLL'nin evrensel olarak kabul edilmiş hastalık-tanımlayıcı özelliğidir ve çeşitli yöntemlerle saptanabilmektedir. İlk kullanılan ve günümüzde de geçerli kabul edilen yöntem TCR γ polimeraz zincir reaksiyonudur (TRG-PCR) (46). T-hücre matürasyonunda gerçekleşen TCR gen rearranjmanı sonucu her bir T hücrenin kendine özgü TCR ekspresyonu mevcuttur. TRG genindeki V (variable: değişken) ve J (joining: birleşme) bölgelerine yönelik hazırlanan primerler ile yapılan PCR amplifikasyonu sonrası elektroforez yapılır. Sağlıklı bireylerde poliklonal merdiven görünümü beklenirken; klonal T hücre varlığında monoklonal pikler saptanır.

Klonalite tespitinde sık kullanılan diğer yöntem FCM ile T-hücrelerdeki TCR beta zincir değişken (V β) bölgesinin antikor panelleri ile işaretlenmesine dayanır ve 'V β repertuar analizi' olarak isimlendirilir (47). Diğer belirteçler yardımıyla artmış olduğu saptanan lösemik LGL'lerin aynı tip V β eksprese etmesi, monoklonal olduklarını kanıtlar.

Son dönemde yapılan çalışmalarla yeni bir klonalite belirteci olan ve T-hücre reseptör β sabit bölgesini kodlayan TRBC1 ve TRBC2, neoplastik olmayan T hücrelerinde karışık oranda eksprese edilirken, monoklonal T hücrelerinde monotipik olarak bulunmaktadır. Bu sayede anormal olduğu düşünülen hücre popülasyonundaki TRBC1 ekspresyonunun analizi, FCM ile klonalite tespitinde maliyeti daha düşük, pratik ve güvenilir bir yöntem olarak birçok matür T-hücreli neoplazide kullanılmaya başlanmıştır (48).

NK-hücrelerde TCR gen rearranjmanı gerçekleşmediğinden ve hücre yüzeyinde TCR ekspresyonu olmadığından; klonalite tespitinde KIR ekspresyon restriksiyonu (tek izoformun bulunması) kullanılır (20). T-LGLL hastalarının yaklaşık üçte birinde KIR ekspresyonu mevcuttur ve klonalite analizinde bu yöntem yardımcı olabilir.

4.8.3. Kemik iliği Biyopsisi ve Ekstramedüller Tutulum

Kemik iliği ve dalak tutulumu LGLL'de sık görülür. İnterstisyel ve intrasinüzoidal alanlarda sitotoksik T hücre fenotipindeki LGL kümeleri ve eşlik eden B hücreleri, kemik iliği infiltrasyonunun en tipik bulgusudur (45). Kemik iliği sıkça hipersellüler görünümündedir ve granülositer seride immatür formlara kayma saptanabilir. İmmünohistokimyasal olarak lösemik hücrelerde TIA-1, perforin, granzim B ve granzim M pozitifliği görülmesi beklenir. Splenik infiltrasyon; dalağın kırmızı pulpasındaki kord ve sinüzoidlerde klonal LGL'lerin artışı ve beyaz pulpa mimarisinin korunmasıyla karakterizedir. Her iki hastalıkta immünohistokimyasal olarak CD3+ saptandığından T-LGLL ve NK-LGLL'yi biyopsi ile birbirinden ayırmak mümkün değildir.

4.9. Tanı

LGLL tanısı; persistan olarak artmış klonal LGL popülasyonunun gösterilmesiyle konmaktadır. Uyumlu klinik bulgular nedeniyle değerlendirilen hastanın çevresel kan yaymasında lenfositoz ve LGL morfolojisindeki hücrelerin tespit edilmesi, tanısal süreçteki ilk basamağı oluşturur (49). İkinci basamakta istenmesi gereken tetkik çevresel kan akım sitometrik değerlendirmesidir. Bu sayede artmış lenfosit popülasyonunun immünofenotipi (T veya NK hücre) saptanır ve aberran yüzey belirteçleri tanımlanır. Çevresel kandaki LGL sayısı genelde $2 \times 10^9/L$ üzerindedir fakat eşlik eden açıklanmamış sitopeni varlığında $>0,5 \times 10^9/L$ tanı için yeterli kabul edilir (10). Bir sonraki adımda ise hücre popülasyonunun klonal olduğu kanıtlanması, tanı için şarttır. Reaktif proliferasyonların dışlanması için anormal popülasyonun

zaman içinde (>6 ay) persistan olması ve sık rastlanan virüs enfeksiyonlarının seroloji ile negatif görülmesi gerekir. Son olarak tanıyı destekleyici olarak *STAT3* ve *STAT5B* mutasyon analizi yapılabilir.

Kemik iliği değerlendirmesi tanı için şart olmamakla birlikte MDS veya PRCA gibi diğer sitopeni sebeplerinin ekartasyonu için gerekli olabilmektedir. T-LGLL ve NK-LGLL ile uyumlu bulgular, onkolojik hastalıklar sınıflandırmasında (ICD-O) 9831/3 koduyla tanımlanmaktadır.

2022 yılında yayınlanan son WHO-HAEM5'te T-LGLL ve NK-LGLL tanısı için majör (essential) ve minör (desirable) tanı kriterleri tanımlanmıştır (Tablo 4.4 ve Tablo 4.5) (3). Bazı otörler açıklanamayan sitopeni; organomegali; romatoid faktör (RF) ve anti nükleer antikor (ANA) pozitifliği ile poliklonal hipergammaglobulinemi varlığını minör kriterler arasında saymaktadır (45).

ANKL tanısı için majör kriterler: ateş, konstitüsyonel semptomlar ve lösemik kan tablosu; NK-hücre immünofenotipine sahip neoplastik lenfoid hücrelerle sistemik (multiorgan) tutulum; TCR ekspresyonu olmaması ve/veya klonal TCR rearranjmanı olmaması; minör kriterler: EBER pozitifliği (yaklaşık %90 oranında bulunur) ve hemofagositik lenfositosis varlığı olarak tanımlanmıştır (3).

Tablo 4.4. WHO-HAEM5 (2022) T-LGLL tanı kriterleri

Majör Kriterler	Minör Kriterler
1. Çevresel kanda sitotoksik T hücre artışı (sıklıkla $>2 \times 10^9/L$)	1. Kemik iliğinde intrasinüzoidal sitotoksik lenfosit infiltratlarının immünohistokimya ile gösterilmesi
2. Aberran fenotipli T-hücre popülasyonu (genellikle CD8+ CD5 zayıf+ ve/veya CD7 zayıf+ ve/veya CD16 ve NK-hücre reseptörlerinde anormal ekspresyon)	2. <i>STAT3</i> veya <i>STAT5B</i> mutasyonunun gösterilmesi
3. Kanıtlanmış T-hücre monoklonalitesi	

NOT: 3 majör veya 2 majör 1 minör kriterin varlığı T-LGLL tanısı için yeterlidir.

Tablo 4.5. WHO-HAEM5 NK-LGLL tanı kriterleri

Majör Kriterler	Minör Kriterler
1. >6 ay devam eden, çevresel kanda NK-hücre artışı (sıklıkla $>2 \times 10^9/L$)	1. Kemik iliğinde intrasinüzoidal NK-hücreleri
2. Çevresel kan veya kemik iliğinde akım sitometride uniform sCD3- CD16+ NK-hücre popülasyonu	2. NK-hücre serisinde STAT3 ve/veya <i>TET2</i> mutasyonunun gösterilmesi
3. Akım sitometride kısıtlanmış (restrikte) patternde KIR ekspresyonu (dominant ekspresyon veya KIR olmaması)	

NOT: Majör kriterlerden 2. ve 3. varlığında NK-hücre artışı olmaksızın tanı koyulabilir.

4.10. Ayırıcı Tanı

LGLL ayırıcı tanısında ilk sırada reaktif benign LGL artışları gelmektedir. Viral enfeksiyonlar (EBV, hepatit B ve C virüsleri), bağ doku hastalıkları, otoimmün hastalıklar, solid tümörler hafif düzeylerde LGL kökenli lenfositöze sebep olabilecek başlıca hastalıklardır. Bu durumlarda artış genellikle poli- veya oligoklonal zemindedir, sitopeni gibi klinik bulguların olması beklenmez (3).

Diğer matür T- ve NK-hücreli neoplaziler; ayırıcı tanıda düşünülmelidir. Özellikle hepatosplenik T-hücreli lenfoma, immünofenotipi nedeniyle $\gamma\delta$ T-LGLL ve agresif klinik seyri nedeniyle ANKL ile benzerlik göstermektedir. Hastalık sıklıkla genç erkekleri etkiler; ilk tanıda genellikle pansitopeni, B-semptomları ve splenomegali ön plandadır ve prognoz kötüdür. Massif splenomegali varlığı, kemik iliğinde sinüzoidal ekspansiyon, lenfositlerin azurofilik granüllerden yoksun olması, granzim-B ve perforin negatifliği, izokromozom 7q veya trizomi 8 gibi reküren sitogenetik anormallikler HSTCL lehine bulgulardır (50).

4.11. Tedavi ve Prognoz

İlk tanı konduğunda yarıya yakın hasta asemptomatiktir ve 'izle ve bekle' stratejisi uygulanabilirken hastalığın tipik indolent doğasına rağmen LGLL hastalarının yaklaşık %65-80'inde tedavi gerekliliği gelişmektedir. Başlıca tedavi endikasyonları: ciddi nötropeni ($< 0,5 \times 10^9/L$), nötropeni ilişkili enfeksiyonlar ($ANC < 1 \times 10^9/L$ ve enfeksiyon varlığı), transfüzyon bağımlı ve/veya semptomatik anemi olarak sayılmaktadır. Hastaların bir kısmında ise eşlik eden otoimmün hastalık nedeniyle tedavi gerekmektedir.

LGLL tedavisinin köşetaşını immünsüpresif tedaviler oluşturmaktadır ve ilk basamak tedavide kullanım sırası konusunda fikir birliği olmamakla birlikte düşük doz metotreksat (MTX 10 mg/m²/hafta), siklofosamid (CTX 50-100 mg/gün) ve siklosporin A (CSA 3-5 mg/kg/gün) kullanılması önerilmektedir. Bu üç ilaçla toplam yanıt oranları (ORR) %38-75 arası olarak bildirilmiştir ve tam yanıt (CR) düşük oranlarda sağlanmıştır (51-54). İki hastalıkta ortak başarısı nedeniyle RA tanılı hastalarda MTX tedavisi CTX tedavisi bir miktar daha başarılı görünse de sekonder neoplazi riski nedeniyle 12 aydan uzun verilemezken; MTX tedavisi progresyon veya kabul edilemez toksisite gelişene kadar devam edilebilmektedir. CSA tedavisi; genellikle relaps/refrakter hastalığa saklanır; AA, PRCA ve Tγδ-LGLL alt gruplarında diğer tedavilere göre daha etkilidir. Glukokortikoidler eşlik eden otoimmün hastalık varlığında immünsüpresif tedaviye eklenebilir; fakat tek başına kullanımı önerilmez. Granülosit-koloni stimüle edici faktör (G-CSF) tedavisi altta yatan hastalığa etki etmediğinden destek tedavisi olarak febril epizodlarla sınırlı olarak kullanılabilir.

Temel üç ilaca refrakter hastalarda diğer tedavilere üstünlüğü gösterilmiş bir ilaç yoktur ve etkili olabileceği düşünülen pek çok seçenek vardır. Alemtuzumab, bendamustin, pürin analogları (fludarabin ve kladribin), AA alt grubunda anti-timosit globülin; değişken yanıt ve toksisite oranları ile kullanımı bildirilen tedavilerdir. RA tanılı hastalarda tofasitinib ve rituksimab; refrakter sitopeni ve splenomegali varlığında splenomegali fayda sağlayabilir. Ototog ve allojeneik KHN çok sıra basamak tedaviye rağmen refrakter hastalıkta nadiren uygulanmaktadır (55). JAK-STAT yolğunun patogenezdaki rolü nedeniyle bu yolağı hedefleyen ruxsolutinib tedavisi ile özellikle STAT3 mutasyonuna sahip hastalarda ilgi çekecek yanıt oranları bildirilmiştir. Patogenezdaki rolü olduğu gösterilen IL-6, IL-15 ve JAK/STAT yolağı; yeni tedavi hedefleri olarak görülmektedir ve güncel olarak faz çalışmaları devam eden konulardır.

Tedavi yanıtının takibi için düzenli aralıklarla klinik ve tam kan sayımı değerlendirmeleri yapılmalıdır. Birincil yanıt kriterleri, tedavi başlangıcından en erken 4 ay sonraki sonuçlara göre tanımlanır (Tablo 4.6) (49). PR veya CR sağlanan hastalarda (CTX tedavisi hariç) tedavi başarısızlığı gelişene kadar tedaviye devam edilmelidir; öte yandan moleküler CR bir veya iki yıl idame edildiği takdirde tedaviye ara verilmesi düşünülebilir. En az PR sağlanamayan hastalar yeni tedavi için değerlendirilir.

Tablo 4.6. Birincil yanıt kriterleri (49)

Hematolojik Tam Remisyon	Tam kan sayımının tamamen normalize olması (Hb > 12 g/dL, PLT > 150 x 10 ⁹ /L, ANC > 1,5 x 10 ⁹ /L, ALC < 4 x 10 ⁹ /L)
Moleküler Tam Remisyon	CR ile birlikte T-hücre klonunun ortadan kalktığı PCR ile gösterilmesi
Hematolojik Parsiyel Remisyon	Tam kan sayımında CR kriterlerini karşılamayan iyileşme (ANC > 0,5 x 10 ⁹ /L veya azalmış transfüzyon gerekliliği)
Tedavi Başarısızlığı	CR ve PR kriterlerinin karşılanmaması
Progresif Hastalık	Sitopeni veya organomegalide kötüleşme

T-LGLL ve NK-LGLL; ortanca sağkalımın 10 yılın üzerinde olduğu, indolen seyirli hastalıklardır ve hastalık-ilişkili mortalite; hasta popülasyonunun %10'dan küçük kısmında gelişen ağır enfeksiyonlara bağlı gelişir.

Diğer gruplardan farklı olarak ANKL tedavisinde intensif kemoterapi rejimleri gerekli olmaktadır. Tam yanıt oranları çok düşük olmakla beraber önerilen tedavi stratejisi; başta SMILE (deksametazon, metotreksat, ifosfamid, etopozid ve L-asparajinaz) olmak üzere L-asparajinaz temelli rejimler ile tedavi sonrası hematopoietik KHN yapılmasıdır (13). Kötü prognozlu bu hastalıkta ortanca sağkalım aylarla sınırlıdır.

5. GEREÇ VE YÖNTEM

5.1. Çalışmanın Tasarımı

Çalışmamız; Ocak 2019-Nisan 2024 dönemleri arasında Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi (AÜTF) Hematoloji Bilim Dalında T-LGLL, NK-LGLL ve ANKL tanısıyla takip edilen hastaların incelendiği; tek merkezli, retrospektif bir kohort çalışmasıdır. Araştırmanın ikinci fazı için bütçe temini sonrasında kohorttaki hastaların davet edilerek çevresel kan örnekleri alınması ve literatürde bildirilmiş olası sürücü genlerden *STAT3*, *KMT2D*, *TNFAIP3*, *KDM6A* için AÜTF Tıbbi Genetik Anabilim Dalı eşgüdümünde NGS analizi yapılması, bu genlerdeki mutasyonların hastalık seyrine ve tedavi gerekliliği gelişimine etkisinin değerlendirilmesi planlanmıştır.

5.2. Hastalar ve Hasta Verilerinin Toplanması

Çalışma kapsamında belirtilen tarihler arasında AÜTF Hematoloji Laboratuvarı'nda klinik bulguları nedeniyle LGLL ön tanısıyla tanısız amaçlı veya LGLL tanısı mevcut olup kontrol amaçlı istenen çevresel kan ve/veya kemik iliği T-lenfoproliferatif panel akım sitometri incelemesi yapılan 350 hastanın dosyaları retrospektif olarak incelendi ve dahil edilme-dışlanma kriterlerini (Tablo 5.1) karşılayan 79 hasta çalışmaya dahil edilmiştir.

Tablo 5.1. Çalışmanın dahil edilme-dışlama kriterleri

Dahil edilme kriterleri
18 yaşından büyük
LGLL ön tanısıyla çevresel kandan veya kemik iliğinden FCM değerlendirmesi yapılan
WHO-HAEM5 T-LGLL veya NK-LGLL veya ANKL tanı kriterlerini sağlayan
Dışlama kriterleri
18 yaşından küçük
Tanı ve tedavilerine ilişkin bilgilerine erişilemeyen
Reaktif LGL lenfositozu olan (Ör: viral enfeksiyon ilişkili)
Serolojik olarak kanıtlanmış HIV, hepatit C veya hepatit B enfeksiyonu olan

Çalışmaya dahil edilen hastaların elektronik hasta kayıt sisteminden demografik bilgileri, ilk tanı tarihi, ilk başvuru nedenleri, ilk tanıdaki klinik özellikleri (sitopeni, lenfadenopati, B-septomu, splenomegali, nötropeni ilişkili enfeksiyon, transfüzyon ihtiyacı, cilt tutulumu) ve tam kan sayımı sonuçları, eşlik eden otoimmün/hematolojik hastalıkları, immünsüpresif tedavi alma durumları kaydedildi. Sitopeniler ve tam kan sayımı anormallikleri; nötropeni (ANC < 1,5

$\times 10^9/L$), anemi ($Hb < 12 \text{ g/dL}$), trombositopeni ($PLT < 150 \times 10^9/L$), lenfositoz ($ALC > 4 \times 10^9/L$), lenfopeni ($ALC < 1,5 \times 10^9/L$), monositoz (mutlak monosit sayısı $> 0,95 \times 10^9/L$), olarak tanımlandı ve etkilenen hematopoietik seri sayısına göre unisitopeni (tek seri), bisitopeni (iki seri) ve pansitopeni (her üç seri) olarak derecelendirildi.

Çevresel kan ve kemik iliği FCM analizindeki T-hücre, NK-hücre ve LGL oranları ve LGL immünofenotipleri; T-hücre klonalite tespit yöntemi (FCM ve TRG-PCR); kemik iliği biyopsisi yapılan hastaların patoloji sonuçlarından kemik iliği selülaritesi (hiposelüler, normoselüler, hiperselüler), retikülin lif skorlaması (derece 0-1: normal; derece 2-3: artmış) kaydedildi. Biyopsi sonucunda sitotoksik T-hücre artışı bulguları mevcut olan hastalar LGL uyumlu, diğer sonuçlar LGL uyumsuz olarak değerlendirildi. Tanı ve tedavi sürecinde endikasyon dahilinde yeni nesil dizileme (NGS) yapılan hastalarda saptanan patojenik mutasyonları eklendi.

Hastaların izlem süresince aldıkları tedaviler, tedavi yanıtları, son kontrol tarihleri ve takip süreleri ve halen sağ olup olmadıkları, ölen hastaların ölüm nedenleri kaydedildi. Tedavi yanıtları literatürde önerilen kriterlere göre (Tablo 4.6) (49) CR, PR, TF ve PD şeklinde gruplandırıldı.

5.3. Laboratuvar Analizi

İmmünofenotipleme Beckman Coulter Navios cihazında, 10-renkli FCM yöntemi ile yapılmıştır. Birinci basamak lenfoproliferatif panelde CD2, CD5, CD10, CD14, CD19, CD34, CD38, CD45, HLA-DR; ikinci basamak T-lenfoproliferatif panelde CD3, CD4, CD7, CD8, CD16, CD56, CD57, TCR $\alpha\beta$, TCR $\gamma\delta$ belirteçleri kullanılmıştır. 2022 yılından itibaren T-hücreli neoplazi şüphesinde TRBC1, NK-hücreli neoplazi şüphesinde ise KIR belirteçleri (CD158a, CD158b, CD158e) ile ek çalışma yapılmıştır.

TRG-PCR ile klonalite analizi için çevresel kan yaymaları veya kemik iliği aspirasyon yaymalarından Qiagen QiAmp DNA FEPE Tissue Kit ile DNA ekstraksiyonu gerçekleştirilerek spektrofotometri ile DNA konsantrasyonu ve saflığı ölçülmüştür. Sonrasında TCR β ve TCR γ tüpleri içerisinde 6FAM ve HEX floresan boyaları ile işaretli primerlerle (In-Vivo Scribe) multiplex PCR ile amplifikasyon yapılmış, PCR ürünleri ABI 3500 Genetic Analyser cihazında kapiller elektroforez ile yürütülmüştür. Beklenen boyutlar arasındaki amplifikasyon pikleri pozitif ve negatif kontrol örnekleri ile karşılaştırılarak değerlendirilmiştir.

NGS analizi yapılan hasta örneklerinde DNA saflaştırma ve dizileme QIAseq Targeted DNA Custom Panel kitleri ve Illumina MiSeq® sistemi ve uyumlu reaktif kitleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Biyoinformatik analiz QIAGEN CLC Genomic Workbench ve QIAGEN Clinical Insight Interpret arayüzlerinden biri ya da birkaçı kullanılarak yapılmış, referans genom olarak GRCh37/g19 kullanılmış olup değerlendirmelerin tümü bu annotasyona göre yapılmıştır. Somatik verilerin analizi, varyant okuma derinliği (>500X), varyant okuma sayısı (>5) ve fraksiyon (>%1), forward-reverse okuma dengesi, okuma kalitesi (>20), homopolimer bölgede bulunup bulunmama, minor allele frekans (<%1) ve in-house frekans (<5%) kriterleri dikkate alınarak yapılmıştır. Bu kriterlere uyan varyantlar ACMG/AMP kriterlerine göre değerlendirilmiştir.

5.4. İstatistiksel Analiz

Verilerin analizi IBM SPSS (Statistical Package for Social Sciences) versiyon 15.0 paket programında yapıldı. Tanımlayıcı istatistikler nicel değişkenler için normal dağılıma uygunluk durumuna göre ortalama $\pm$ standart sapma veya ortanca (minimum-maksimum), nitel değişkenler için ise frekans (yüzde) olarak verildi. Niceliksel verilerin normallik varsayımı Kolmogorov Smirnov Testi ile değerlendirildi. Hastaların nicel verileri normallik varsayımına göre Mann Whitney U Testi, nitel verileri ise Pearson Ki-Kare Testi veya Fisher's Exact Testi ile değerlendirildi. Tedavi gelişimini etkilediği düşünülen faktörler lojistik regresyon analizi ile değerlendirildi. İstatistiksel anlamlılık düzeyi 0,05 olarak kabul edildi. Sağkalım analizi Kaplan Meier eğrileri ile yapıldı. Düşük örneklem büyüklüğü nedeniyle grup kıyaslaması yapılmadı.

6. BULGULAR

Çalışmanın tasarımıyla yapılması planlanan NGS analizleri için proforma teklifi alınarak belirlenen ve fakültemiz etik kurulu tarafından onaylanan bütçede gereken maddi destek (€9.300,00, ₺367.096,00) üniversitemiz Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü (BAP) ve dış kaynakların (TÜBİTAK, TÜRSEB) tıpta uzmanlık çalışmaları için belirlenmiş bütçe desteği miktarlarının üzerinde olduğundan tez çalışması için gerekli sürede sağlanamamıştır. Bu nedenle çalışmanın ikinci fazında yeni saptanacak LGLL hastaları da dahil edilerek daha geniş bir örneklem ile bütçe temini sonrası yapılması ve sonuçlarının bildirilmesi planlandı.

Çalışmaya AÜTF Hematoloji BD tarafından LGLL tanısı ile izlenen 79 hasta alınmıştır. Hastaların tanı anındaki ortalama yaşı 57 (19-85 yaş aralığında); 30 yaştan erken tanı alan hasta sayısı 5'tir (%6,3). Cinsiyet dağılımına bakıldığında 45'i (%57) kadın ve 34'ü (%43) erkek olan hastaların kadın/erkek oranı 1,32'dir. Hastaların 75'i (%94,9) T-LGLL, 3'ü (%3,8) hasta NK-LGLL, 1'i (%1,3) ANKL tanısıyla izlenmektedir. Hematoloji bölümüne başvuru veya yönlendirilme sebebi 36 (%45,6) hastada sitopeni, 30 (%38) hastada lenfositoz, 11 (%13,9) hastada ise iki durumun bir arada bulunmasıdır. İlk başvuruda nötropeni ilişkili enfeksiyon 7 (%8,9) hastada, B-semptomu 4 (%5,1) hastada, lenfadenopati 6 (%7,6) hastada mevcuttur. Splenomegali 7 (%8,9) hastada saptanırken, 5 (%6,3) hasta tanı anında halihazırda başka sebeplerle splenektomizedir. Kohorttaki bir hastada ilk tanıda cilt tutulumu saptanmıştır. Ortanca takip süresi 28 aydır (1-135 ay arası). Çalışma kohortunun demografik ve klinik özellikleri (Tablo 6.1) yer almaktadır. Diğer tanı gruplarına göre agresif klinik seyri ve epidemiyolojik farklılığı nedeniyle ANKL tanılı hastanın verileri bu analizlere dahil edilmemiştir.



Şekil 6.1. LGLL alt gruplarının dağılımı

Tablo 6.1. LGLL tanılı hastaların demografik özellikleri

Değişken	Tüm Hastalar (n=79)	Tαβ-LGLL (n=67)	Tγδ-LGLL (n=8)	NK-LGLL (n=3)
Cinsiyet*				
Kadın	45 (57)	40 (59,7)	4 (50)	1 (33,3)
Erkek	34 (43)	27 (40,3)	4 (50)	2 (66,7)
Tanıda Yaş*				
Ortanca	57 (19-85)	57 (19-85)	62 (30-76)	62 (52-79)
<30 yaş	5 (6,3)	5 (7,5)		
30-60 yaş	46 (59)	41 (61,2)	4 (50)	1 (33,3)
>60 yaş	27 (34,2)	21 (31,3)	4 (50)	2 (66,7)
Tanı Tarihi*				
2019 öncesi	9 (11,4)	9 (13,4)		
2019 ve sonrası	70 (88,6)	58 (86,6)	8 (100)	3 (100)
Başvuru Şikâyeti*				
Sitopeni	47 (59,5)	35 (52,2)	7 (87,5)	3 (100)
Lenfositoz	41 (51,9)	39 (58,2)	1 (12,5)	
Lenfositoz ve Sitopeni	11 (13,9)	9 (13,4)		
Diğer	2 (2,6)	2 (3)		
B-semptomu*	4 (5,1)	2 (3)	1 (12,5)	
Nötropeni ilişkili Enfeksiyon*	7 (8,9)	4 (6)	3 (37,5)	
Splenomegali*				
Var	7 (8,9)	6 (9)	1 (12,5)	
Splenektomize	5 (6,3)	5 (7,5)		
Lenfadenopati*	6 (7,6)	5 (7,5)	1 (12,5)	
Cilt Tutulumu*	1 (1,3)	1 (1,5)		
Tanı Grupları*				
T-LGLL	75 (94,9)			
Tαβ-LGLL	67 (84,8)			
Tγδ-LGLL	8 (10,1)			
NK-LGLL	3 (3,8)			
ANKL	1 (1,3)			
Takip Süresi, ay (Ortanca)	28 (1-135)			

*n (%)

Hastaların %54'4'ünde (n=43) en az bir eşlik eden hastalık bulunmaktadır. Hematolojik hastalıklar %26,6 (n=21) oranında eşlik ederken, hastaların %13,9 'u (n=11) otoimmün hematolojik hastalığa sahiptir. Tüm hastalıklar arasında en sık komorbidite; 11 (%13,9) hastada bulunan RA; otoimmün hematolojik hastalıklardan en sık görülenler %5,1 (n=4) ile OİHA ve ITP olarak saptanmıştır. Bunların dışında AA, PRCA, amegakaryositik trombositopeni, MDS ve KMPH diğer komorbiditeler arasında yer almıştır. Diğer otoimmün hastalıklardan Sjögren hastalığı, psoriatik artrit ve sistemik skleroz %1,3 (n=1) oranında görülmüştür. B-hücreli neoplazi tanılı 3 (%3,8) hastadan birinde LGLL ile eş zamanlı olarak KLL, diğerlerinde ise LGLL öncesinde primer dalak lenfoması ve folliküler lenfoma saptanmıştır. 4 (%5,1) hastada LGLL tanısı öncesi allojeneik KHN öyküsü bulunurken, solid organ transplantı olan hasta bulunmamıştır. LGLL tanısı anında hastaların %16,4'ü (n=13) ek hastalıkları nedeniyle immünsüpresif tedavi almaktadır. Komorbid durumlar (Tablo 6.2) ile gösterilmiştir.

Tablo 6.2. LGLL tanılı hastaların komorbiditeleri

	Tüm LGLL (n=78)	Tαβ-LGLL (n=67)	Tγδ-LGLL (n=8)	NK-LGLL (n=3)
Ek Hastalık	44 (56,4)	37 (55,2)	4 (50)	2 (66,7)
Otoimmün Hastalıklar	33 (42,3)	30 (44,8)	3 (37,5)	
Hematolojik	16 (20,3)	16 (23,9)		
Diğer	19 (24,4)	16 (23,9)	3 (37,5)	
Hematolojik Hastalıklar	21 (26,6)	19 (28,4)	1 (12,5)	1 (33,3)
OİHA	4 (5,1)	4 (6)		
ITP	4 (5,1)	4 (6)		
Allojeneik KHN	4 (5,1)	4 (6)		
GvHH	3 (3,8)	3 (4,5)		
B-hücreli Neoplazi	3 (3,8)	3 (4,5)		
AA	2 (2,5)	2 (3)		
PRCA	2 (2,5)	2 (3)		
Amegakaryositik Trombositopeni	1 (1,3)	1 (1,5)		
MDS	1 (1,3)			1 (33,3)
KMPH	1 (1,3)		1 (12,5)	
Diğer Hastalıklar				
RA	11 (13,9)	9 (13,4)	2 (25)	
Spondiloartropati	3 (3,8)	3 (4,5)		
Sjögren Hastalığı	1 (1,3)		1 (12,5)	
Psoriatik Artrit	1 (1,3)	1 (1,5)		
Sistemik Skleroz	1 (1,3)	1 (1,5)		
Vitiligo	1 (1,3)	1 (1,5)		
CVID	1 (1,3)	1 (1,5)		
Hashimoto hipotiroidi	1 (1,3)	1 (1,5)		
Solid Tümörler	5 (6,3)	4 (6)		1 (33,3)
Meme	2 (2,5)	1 (1,5)		1 (33,3)
Kolorektal	1 (1,3)	1 (1,5)		
Özefagus	1 (1,3)	1 (1,5)		
Deri	1 (1,3)	1 (1,5)		
Tanı Öncesi İmmünsüpresif Kullanımı	13 (16,4)	10 (14,9)	3 (37,5)	
Anti-TNF	3 (3,8)	3 (4,5)		
Glukokortikoid	3 (3,8)	1 (1,5)	2 (25)	
CSA	3 (3,8)	3 (4,5)		
MTX	2 (2,5)	2 (3)		
Abatasept	1 (1,3)	1 (1,5)		
Azatiyoprin	1 (1,3)		1 (12,5)	

Tanı anındaki tam kan sayımı sonuçları incelendiğinde (Tablo 6.3); hastaların %51,9'unda (n=38) nötropeni, %32,9'unda (n=26) anemi ve %16,5'inde (n=13) trombositopeni saptanmıştır. Ayrıca, hastaların %51,9'unda (n=41) lenfositoz ve %20,3'ünde (n=16) monositoz gözlenmiştir. Tanı alt gruplarının değerlendirilmesinde Tαβ-LGLL grubunda nötropeni oranı %43,3 (n=16) oranda görülürken, Tγδ-LGLL'de %75 (n=6) olarak daha yüksek oranda saptanmıştır. Ek olarak lenfositoz; Tαβ-LGLL'de %58,2 (n=39) hastada mevcutken, Tγδ-LGLL'de hastaların sadece %12,5'luk (n=1) kısmında görülmüş, %62,5 (n=5) hastada lenfopeni saptanmıştır. Trombositopeni ve anemi iki grupta benzer oranlarda izlenmiştir. Sadece 3 hasta içeren NK-LGLL grubunda ise tüm hastalarda nötropeni bulunurken, anemi ve trombositopeni hastaların %66,7'sinde (n=2) izlenmiş, hiçbir hastada lenfositoz mevcut değildir.

Tablo 6.3. LGLL tanılı hastaların başvuruındaki tam kan sayımı anormallikleri

	Tüm Hastalar (n=78)	Tαβ-LGLL (n=67)	Tγδ-LGLL (n=8)	NK-LGLL (n=3)
Tek Sitopeni	31 (39,2)			
Bisitopeni	12 (15,2)			
Pansitopeni	7 (8,9)			
Nötropeni	38 (51,9)	29 (43,3)	6 (75)	3 (100)
ANC < 0,5 x 10 ⁹ /L	6 (7,6)	5 (7,5)	1 (12,5)	
ANC < 0,2 x 10 ⁹ /L	4 (5,1)	3 (4,5)	1 (12,5)	
Anemi	26 (32,9)	21 (31,3)	2 (25)	2 (66,7)
Transfüzyon-Bağımlı	8 (10,1)	6 (9)	1 (12,5)	
Trombositopeni	13 (16,5)	9 (13,4)	1 (12,5)	2 (66,7)
PLT < 50 x 10 ⁹ /L	4 (5,1)	3 (4,5)		
Lenfositoz	41 (51,9)	39 (58,2)	1 (12,5)	
Lenfopeni	16 (20,3)	9 (13,4)	5 (62,5)	2 (66,7)
Monositoz	16 (20,3)	16 (23,9)		

FCM sonuçları incelendiğinde (Tablo 6.4); çevresel kanda LGL/Lenfosit oranı, Tαβ-LGLL grubunda ortalanca %34 (4-87 arası), Tγδ-LGLL grubunda ortalanca %18,3 (8-47 arası), NK-LGLL grubunda ortalanca %37 (11-73 arası) olarak saptanmıştır. Çevresel kan LGL sayıları ise ilgili tanı grupları için sırasıyla ortalanca 1198, 226,5 ve 225 olarak saptanmıştır. LGL sayısının tanısallık değeri olan 0,5 x 10⁹/L üzerinde olması Tαβ-LGLL’de %77,6 (n=52) hastada, Tγδ-LGLL’de %12,5 (n=1) hastada, NK-LGLL grubunda ise %33,3 (n=1) hastada izlenmiştir. Kemik iliğindeki LGL oranı ortalanca %37,5 (6-82 arası) ile en yüksek Tαβ-LGLL hasta grubunda ölçülmüştür.

Tablo 6.4. LGLL tanılı hastaların akım sitometri sonuçları

	Tαβ-LGLL (n=67)	Tγδ-LGLL (n=8)	NK-LGLL (n=3)	p değeri
Çevresel Kan				
T-hücre Oranı**	88 (47-99)	78 (74-91)	40 (21-60)	
NK-hücre Oranı**	6 (1-39)	7,5 (1-13)	31 (2-37)	
LGL/Lenfosit Oranı**	34 (4-87)	18,3 (8-47)	37 (11-73)	0,13 ^a
LGL Oranı > %50*	17 (25,4)	0 (0)	1 (33,3)	0,19 ^b
LGL Sayısı**	1198 (30-5811)	226,5 (197-1964)	225 (108-2160)	0,003 ^a
LGL > 500/μL*	52 (77,6)	1 (12,5)	1 (33,3)	0,001 ^b
LGL > 2000/μL*	22 (32,8)	0 (0)	0 (0)	0,1 ^b
	Tαβ-LGLL (n=38)	Tγδ-LGLL (n=6)	NK-LGL (n=1)	
Kemik İliği				
LGL/Lenfosit Oranı**	37,5 (6-82)	25 (8-53)	43	0,224 ^a

*n (%)

**Ortanca (Minimum-Maksimum)

^a Mann-Whitney U Testi (Tαβ-LGLL ve Tγδ-LGLL arasında)

^b Fisher’s Exact Test (Tαβ-LGLL ve Tγδ-LGLL arasında)

FCM ile belirlenen immünofenotipler incelendiğinde (Tablo 6.5); Tαβ-LGLL hastalarının çoğunda (%74,6, n=50) sitotoksik T-hücre (CD3+ CD4- CD8+) fenotipi, %11,9 (n=8) hastada ise

yardımcı T-hücre (CD3+ CD4+ CD8-) fenotipi izlenmiştir. İki hastada CD4+ CD8+ fenotipi görülmüştür. T γ δ -LGLL hastalarında CD4+ fenotip saptanmamıştır. NK-LGLL hastalarının tamamı CD3- CD16+ CD56+ CD57+ fenotipinde tespit edilmiştir.

Tablo 6.5. LGLL tanılı hastaların immünofenotipleri

T$\alpha$$\beta$-LGLL*	(n=67)
CD3+ CD4- CD8+ CD16+ CD56-/+ CD57+	50 (74,6)
CD3+ CD4+ CD8- CD16- CD56-/+ CD57+	8 (11,9)
CD3+ CD4- CD8+ CD16- CD56+ CD57+/-	7 (10,4)
CD3+ CD4+ CD8+ CD16- CD56+ CD57+	2 (3)
T$\gamma$$\delta$-LGLL*	(n=8)
CD3+ CD4- CD8+ CD16+ CD56+/- CD57+	4 (50)
CD3+ CD4- CD8+ CD16- CD56+/- CD57+	3 (37,5)
CD3+ CD4- CD8- CD16+ CD56+/- CD57+	1 (12,5)
NK-LGLL*	(n=3)
CD3- CD16+ CD56+ CD57+	3 (100)
ANKL*	(n=1)
CD3- CD5- CD4+/- CD8+ CD16z+ CD56+ CD57-CD94+ CD159+ CD99+	1 (100)

*n (%)

Klonalite tespiti; hastaların %78,5'inde (n=62) TRG-PCR ve %48,1'inde (n=38) FCM ile saptanırken, %26,6 (n=21) hastada her iki yöntem ile pozitif bulunmuştur (Tablo 6.6).

Tablo 6.6. LGLL tanılı hastalarda klonalite tespit yöntemleri

Klonalite Tespiti*	
TRG-PCR	62 (78,5)
FCM	38 (48,1)
İkisi Birlikte	21 (26,6)

*n (%)

Çalışmaya dahil edilen hastalardan toplam 63'ü kemik iliği biyopsisi ile değerlendirilmiştir (Tablo 6.7). Bu biyopsilerin %54'ünde (n=34) LGLL ile uyumlu histopatolojik bulgular saptanmıştır. T α β -LGLL grubunda değerlendirilen 53 biyopsinin %49,1'inde (n=26), T γ δ -LGLL grubunda değerlendirilen 7 biyopsinin %85,7'sinde (n=6); NK-LGLL grubunda değerlendirilen 3 biyopsinin %66,7'sinde (n=2) biyopsi sonucu LGLL tanısı ile uyumludur. Selülarite değerlendirmesinde örneklerin %74,6'sı (n=47) hiperselüler kemik iliği olarak raporlanmıştır. Retikülin lif artışı, hastaların %19'unda (n=12) gözlenmiştir.

Tablo 6.7. LGLL tanılı hastaların histopatolojik bulguları

	Tüm Biyopsiler (n=63)	Tαβ-LGLL (n=53)	Tγδ-LGLL (n=7)	NK-LGLL (n=3)
Uyumlu*	34 (54)	26 (49,1)	6 (85,7)	2 (66,7)
Selülarite*				
Hiperselüler	47 (74,6)	39 (73,6)	5 (71,4)	3 (100)
Normoselüler	12 (19)	10 (18,9)	2 (28,6)	
Hiposelüler	4 (6,3)	4 (7,5)		
Retikülin Lif Artışı*	12 (19)	9 (18)	2 (28,6)	

*n (%)

Çalışmaya dahil edilen hastaların tedavi süreçleri ve yanıtları ayrıntılı olarak incelenmiştir (Tablo 6.8 ve Tablo 6.9). Hastaların %64,1'i (n=50) tedavisiz izlenmiş, %19,2'si (n=15) tek sıra immünsüpresif tedavi (İST), %12,8'i (n=10) çok sıra IST ve %3,8'i (3 hasta) çok sıra IST ve allojenik kemik iliği nakli tedavileri almıştır. İlk sırada ve tüm sıralarda en sık MTX tercih edilirken, kurtarma tedavisinde en sık CTX verilmiştir. İlk sırada en sık uygulanan tedavilere yanıtlar incelendiğinde, MTX tedavisine %53,8 (7/13 hasta) oranında, CTX tedavisine %66,7 (4/6 hasta) oranında ve CSA tedavisine %42,9 (3/7 hasta) oranında yanıt alınmıştır. Tüm sıra tedaviler bir arada değerlendirildiğinde MTX, CTX ve CSA tedavileri ile birbirine benzer yanıt oranları (sırasıyla %47,1 %45,5 %50) sağlanmıştır. ANKL ve cilt tutulumlu T-LGLL tanılı hastalar kombinasyon kemoterapi ile tedavi görmüştür ve her iki hastada yanıt sağlanamamıştır. Kurtarma tedavisi olarak düşük sıklıkta kullanılan ilaçlardan MMF ile %100 (2/2 hasta) yanıt sağlanırken, kladribin ve tofasitinib tedavileri alan birer hastada yanıt izlenmemiştir.

Tablo 6.8. LGLL tanılı hastaların tedavi alma durumları

İST Alma Durumu	Tüm Hastalar (n=78)	Tαβ-LGLL (n=67)	Tγδ-LGLL (n=8)	NK-LGLL (n=3)
Tedavisiz	50 (64,1)	44 (62,7)	3 (37,5)	3 (100)
Tek Sıra IST	15 (19,2)	11 (16,4)	4 (50)	-
Çok Sıra IST	10 (12,8)	9 (13,4)	1 (12,5)	-
Çok Sıra IST ve allo-KHN	3 (3,8)	3 (4,5)	-	-

Tablo 6.9. LGLL tanılı hastalarda tedavi basamakları ve yanıt oranları

	İlk Sıra		Kurtarma		Tüm Sıralar	
	Sayı	ORR	Sayı	ORR	Sayı	ORR
MTX	13	7 (53,8)	4	2 (50)	17	8 (47,1)
CTX	6	4 (66,7)	5	1 (20)	11	5 (45,5)
CSA	7	3 (42,9)	3	2 (66,7)	10	5 (50)
Kombinasyon Kemoterapi	1	0 (0)	1	0 (0)	2	0 (0)
MMF			2	2 (100)	2	2 (100)
Kladribin			1	0 (0)	1	0 (0)
Tofasitinib			1	0 (0)	1	0 (0)

Kohortumuzdaki Tαβ-LGLL, Tγδ-LGLL ve NK-LGLL tanılı 78 hastada; İST endikasyonu gelişimi için olası risk faktörleri araştırılmıştır (Tablo 6.10). Diğer tanı gruplarına göre agresif klinik seyri ve epidemiyolojik farklılığı nedeniyle ANKL tanılı hastanın verileri bu analizlere dahil edilmemiştir. Hasta grubunun %37,2'sinde (n=29) İST endikasyonu mevcuttur. İST endikasyonu gelişimi; ek hematolojik hastalık varlığında (%52,4), immünofenotipe CD16 negatifliği durumunda (%57,1) ve retikülin lif artışı varlığında (%75) istatistiksel anlamlı olarak artarken ve çevresel kan mutlak LGL sayısının >500/μL olması (%29,4) durumunda anlamlı olarak azalmaktadır. Herhangi ek hastalık varlığında İST endikasyonu gelişimi %47,7 olarak saptansa da diğer gruba göre istatistiksel anlamlılık açısından sınırdadır kalmıştır. Cinsiyet, Tαβ-LGLL fenotipi, başka otoimmün hastalıklar sebebiyle İST alıyor olmak, çevresel LGL sayısının >2000/μL olması, kemik iliği biyopsisinde tutulum saptanması, tanı yaşı, tanıda çevresel kan ve kemik iliği LGL/LYM oranları ve çevresel kandaki mutlak LGL sayısı; İST endikasyonu gelişimi ile ilişkili bulunmamıştır. İstatistiksel anlamlı bulunan değişkenler ile yapılan çok değişkenli lojistik regresyon analizinde ise kemik iliğinde retikülin lif artışı varlığının yaşa ve cinsiyete göre düzeltilmiş odds oranı 4,8 (%95 güven aralığı ile 1,08-21,33, p=0,039) saptanırken, diğer üç değişken için anlamlı etki gösterilememiştir (Tablo 6.11).

Tablo 6.10. LGLL tanılı hastalarda İST endikasyonu gelişimini etkileyen olası faktörler

	n	İST Endikasyonu+	İST Endikasyonu-	p değeri
Tüm Hastalar*	78	29 (37,2)	49 (62,8)	
Cinsiyet/ Erkek*	33	13 (39,4)	20 (60,6)	0,73 ^a
LGLL Tipi/ Tαβ-LGLL*	67	24 (35,8)	43 (64,2)	0,51 ^b
Ek Hastalık*	44	21 (47,7)	23 (52,3)	0,06 ^a
Otoimmün Hastalık*	33	16 (48,5)	17 (51,5)	0,08 ^a
Hematolojik Hastalık*	21	11 (52,4)	10 (47,6)	0,03^a
Başka Sebep İST*	13	5 (38,5)	8 (61,5)	1 ^b
CD16 Negatif*	21	12 (57,1)	9 (42,9)	0,03^a
LGL > 500/μL *	54	16 (29,6)	38 (70,4)	0,04^a
LGL > 2000/μL *	23	10 (43,5)	13 (56,5)	0,46 ^a
Uyumlu Histopatoloji*	34	18 (52,9)	16 (47,1)	0,23 ^a
Retikülin Lif Artışı*	12	9 (75)	3 (25)	0,03^a
Tanı Yaşı**		55 (19-84)	58 (27-85)	0,64 ^c
Tanıda LGL/LYM oranı**		30 (4-87)	33,6 (7-73)	0,6 ^c
Tanıda LGL sayısı** (/μL)		708 (30-5623)	1189 (108-5811)	0,31 ^c
Kemik İliği LGL Oranı**		38 (6-82)	36,5 (7-65)	0,84 ^c

*n (%)

**Ortanca (Minimum-Maksimum)

^a Pearson Ki-Kare Testi

^b Fisher's Exact Test

^c Mann-Whitney U Testi

Tablo 6.11. LGLL tanılı hastalarda İST endikasyonu gelişimi için lojistik regresyon analizi

	Tek Değişkenli			Çok Değişkenli		
	OR	%95 CI	p	OR	%95 CI	p
Retikülin Lif Artışı	4,65	1,12-19,28	0,034	4,8*	1,08-21,33	0,039
LGL > 500/ μ L	0,38	0,14-1,01	0,053	0,52	0,16-1,69	0,28
CD16 Negatif	3,14	1,12-8,82	0,03	2,62	0,81-8,46	0,11
Hematolojik Hastalık	2,26	0,82-6,24	0,12	2,05	0,61-6,84	0,24

OR: Odds oranı

*Yaşa ve cinsiyete göre düzeltilmiş

Aynı kohort alt grubunda, İST alan hastalar için (n=27) tek sıra ve çok sıra tedavi açısından olası risk faktörleri araştırılmıştır (Tablo 6.12). Tedavi alan hastaların %55,6'sında (n=15) tek sıra İST uygulanırken, %44,4 (n=12) hastada çok sıra İST gerekliliği olmuştur. İST endikasyonu gelişimi için etkileri analiz edilen değişkenler içerisinde sadece otoimmün hastalık varlığının istatistiksel olarak anlamlı olarak etkisi saptanmıştır. Herhangi bir otoimmün hastalığı olan hastalarda LGLL için tek sıra İST ile başarı oranı %37,5 iken, %63,6 hastada çok sıra tedaviye başvurulmuştur. Bu açıdan otoimmün hastalık varlığı, ilk basamak tedaviye yanıtı ile ilişkili görülmüştür. Diğer araştırılan değişkenlerin tek veya çok sıra İST gerekliliğine istatistiksel olarak etkisi görülmemiştir.

Tablo 6.12. LGLL tanılı hastalarda ilk basamak İST direncini etkileyen olası faktörler

	n	Tek Sıra İST	Çok Sıra İST	p değeri
İST Alan Hastalar*	27	15 (55,6)	12 (44,4)	
Cinsiyet/ Erkek*	12	7 (58,3)	5 (41,7)	0,9 ^a
LGLL Tipi/ Tαβ-LGLL*	23	12 (52,2)	11 (47,8)	0,61 ^b
Ek Hastalık*	20	11 (55)	9 (45)	0,09 ^b
Otoimmün Hastalık*	16	6 (37,5)	10 (62,5)	0,047^b
Hematolojik Hastalık*	11	4 (36,4)	7 (63,6)	0,13 ^b
Başka Sebep İST*	5	2 (40)	3 (60)	0,63 ^b
CD16 Negatif*	12	6 (50)	6 (50)	0,6 ^a
LGL Sayısı > 0,5 x 10 ⁹ /L*	16	8 (50)	8 (50)	0,7 ^b
LGL Sayısı > 2 x 10 ⁹ /L*	10	4 (40)	6 (60)	0,26 ^b
Uyumlu Histopatoloji*	17	8 (47,1)	9 (52,9)	0,42 ^b
Retikülin Lif Artışı*	8	4 (50)	4 (50)	1 ^b
Tanı Yaşı**		55 (19-84)	54,5 (24-76)	0,38 ^c
Tanıda LGL/LYM oranı**		30 (4-87)	42,6 (5-60)	0,7 ^c
Tanıda LGL sayısı** (/μL)		519 (70-5623)	1447 (30-3364)	0,96 ^c
Kemik iliği LGL Oranı**		38 (8-62)	36 (6-63)	0,82 ^c

*n (%)

**Ortanca (Minimum-Maksimum)

^a Pearson Ki-Kare^b Fisher's Exact Test^c Mann-Whitney U Testi

Kohortumuzdaki hastaların %10'una (n=8) tanısal süreçte AÜTF Tıbbi Genetik Ana Bilim Dalı tarafından yeni nesil dizileme analizi yapılmıştır. Bu analizler; beş hastada 16 gen bölgesini (*RHOA*, *STAT3*, *STAT5B*, *MYD88*, *TP53*, *SOX11*, *IDH1*, *IDH2*, *DNMT3A*, *TNFRSF14*, *MAP2K1*, *NOTCH2*, *KLF2*, *EZH2*, *BRAF* ve *TET2* genlerine yönelik), üç hastada ise 18 gen bölgesini (*IDH1*, *NF1*, *NRAS*, *SETBP1*, *DNMT3A*, *ZRSR2*, *U2AF1*, *CALR*, *IDH2*, *ASXL1*, *RUNX1*, *SRSF2*, *STAG2*, *JAK2*, *TET2*, *EZH2*, *MPL* ve *TP53*) kapsamıştır. Tetkik edilen hastaların %37,5'luk (n=3) kısmında mutasyon gösterilirken, iki hastada olası patojenik (Tier I ve II) varyantlar saptanmıştır (Tablo 6.12). Cilt tutulumu ile prezente olan hastada *STAT5B* ve *TET2*'de olası patojenik (Tier I ve II), *STAT5B* ve *NOTCH2*'de önemi bilinmeyen (Tier III) varyantlar saptanmıştır. İkinci hastada *STAT5B* ve *NOTCH* genlerinde birinci hasta ile aynı varyantlara ek olarak *DNMT3A* geni splice bölgesinde önemi bilinmeyen (Tier III) bir varyant saptanmıştır. Üçüncü hastada ise *TP53* geninde yüksek varyant fraksiyonuna sahip, germline olabilecek olası patojenik (Tier II) bir varyant gösterilmiştir. *STAT3* mutasyonu saptanmamıştır.

Tablo 6.13. NGS sonucunda mutasyon saptanan hastaların özellikleri

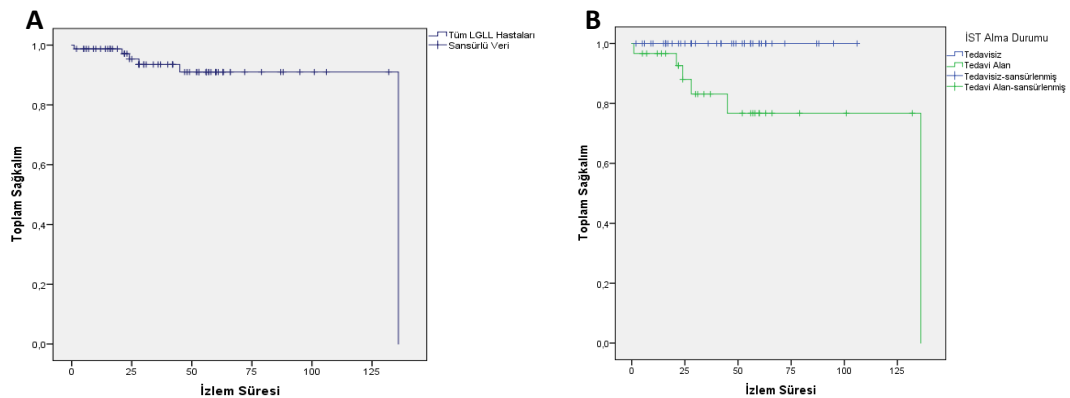
Demografik/Klinik Özellikler	NGS Sonucu	Varyant Fraksiyonu
66 yaş erkek Tαβ-LGLL, Eşlik eden MBL/KLL Cilt Tutulumu, lenfositoz Çevresel LGL Sayısı/Oranı: 2,4 x 10 ⁹ /L, %47 CD3+ CD4+ CD8- CD16- CD56-/+ CD57+ Kombinasyon Kemoterapi	STAT5B / NM_012448.4 - c.1883C>G, p.Thr628Ser (Tier III / önemi bilinmeyen varyant) - c.1924A>C, p.Asn642His (Tier I / olası patojenik) - c.1994A>T, p.Tyr665Phe (Tier III / önemi bilinmeyen varyant)	%1,02 %10 %7,8
	TET2 / NM_001127208.3 c.3008G>A, p.Trp1003* (Tier IIC / olası patojenik)	%15
	NOTCH2 / NM_024408.4 c.7_8delGCinsTT, p.Ala3Phe (Tier III / önemi bilinmeyen varyant)	%8,55
58 yaş kadın Tαβ-LGLL Nötropeni Çevresel LGL Sayısı/Oranı: 0,6 x 10 ⁹ /L, %34 CD3+ CD4- CD8+ CD16+ CD56- /+ CD57+ Tedavisiz izlem	STAT5B / NM_012448.4 c.1883C>G, p.Thr628Ser (Tier III / önemi bilinmeyen varyant)	%4,97
	NOTCH2 / NM_024408.4 c.7_8delGCinsTT, p.Ala3Phe (Tier III / önemi bilinmeyen varyant)	%7,96
	DNMT3A / NM_175629.2 c.2082+1G>A (Tier III / önemi bilinmeyen varyant)	%1,74
56 yaş kadın Tγδ-LGLL, RA Nötropeni, splenomegali Çevresel LGL Sayısı/Oranı: 0,2 x 10 ⁹ /L, %16 CD3+ CD4- CD8+ CD16+ CD56+/- CD57+ Sadece G-CSF ile izlem	TP53 / NM_000546.6 c.694A>C p.Ile232Leu (Tier II / olası patojenik)	%50

Kohortumuzda ANKL tanılı bir hasta bulunmaktadır. B-semptomları, belirgin lenfositoz, anemi ve trombositopeni ile hematoloji kliniğine yönlendirilmesi sonrası FCM ile tanı konmuştur. Diğer gruplara göre çevresel kan LGL sayısının belirgin yüksekliği dikkati çekmiştir. Transfüzyon ihtiyacı ve hızlı progresyon nedeniyle hospitalize edilen hastaya SMILE rejimi ile kombinasyon kemoterapi başlanmıştır. Tedavi sırasında trombositopeni zemininde intrakranial hemoraji gelişmesi sonrası mortalite ile sonuçlanmıştır.

Kohortumuzdaki tüm hastaların %7,6'sında (n=6) mortalite gelişmiştir (Tablo 6.13). Bu ölümlerin %66,6'sı (n=4) enfeksiyon nedeniyle gerçekleşirken, ANKL tanısı olan bir hasta intrakranial hemorajiye bağlı kaybedilmiştir. Bir hasta ise T-LGLL tanısıyla MTX tedavisi altında parsiyel remisyonda izlenirken tanı konan özefagus karsinomu nedeniyle exitus olmuştur. Kohortumuzda tanı sonrası 5 yıl ve üzerinde yaşayan 20 (%25,6), 10 yıl ve üzerinde yaşayan 2 (%2,6) hasta bulunmaktadır.

Tablo 6.14. LGLL tanılı hastalarda mortalite sebepleri

	Tüm Hastalar (n=79)	Tαβ-LGLL (n=67)	Tγδ-LGLL (n=8)	NK-LGLL (n=3)
Mortalite*	6 (7,6)	5 (7,5)	0	0
Enfeksiyon	4 (66,6)	4 (80)		
Kanama	1 (16,7)			
Hematoloji Dışı	1 (16,7)	1 (20)		



Şekil 6.2. LGLL hastalarının Kaplan-Meier sağkalım eğrileri

7. TARTIŞMA

LGLL, farklı klinik bulgularla prezente olabilen, başta otoimmün hastalıklar olmak üzere birçok hastalığa eşlik edebilen, hafif lenfositozdan refrakter sitopenilere kadar geniş ve heterojen klinik spektruma sahip, nadir bir lenfoproliferatif hastalıktır. İnsidansı düşük olan bu hastalığın patobiyolojisi ve prognostik belirteçleri halen tam olarak aydınlatılamamıştır. Randomize kontrollü çalışmaların sınırlı olması nedeniyle; hastalığın tedavisi konusunda da fikir birliği yoktur. Çalışmamız ile LGLL hastalarında hastalığın patogenezinde rol oynayabilecek genetik değişiklikleri ve bunların klinik seyre ve tedavi yanıtlarına etkisini araştırmayı planladık. İkincil olarak ülkemizdeki ilk LGLL hasta serisinin özelliklerini paylaşmayı, tedavi yanıtlarını değerlendirmeyi ve hasta grubumuzdaki prognostik belirteçleri aydınlattık. Yeterli bütçe temini sağlanamadığından genetik çalışmaların araştırmanın ikinci fazında yapılması ve raporlanması planlanmıştır.

Tanımlayıcı özellikler açısından hasta grubumuzun özellikleri, literatürde bildirilen verilerle genel anlamda benzerlik göstermiştir. Fransa'daki 35 farklı merkezden 229 hastanın değerlendirildiği ve geçmiş çalışmalarla karşılaştırıldığı çalışmada ortalama yaş 58, kadın/erkek oranı 1,2 olarak bildirilmiştir (56). Kohortumuzun da yaş ve cinsiyet dağılımı geçmiş çalışmalarla benzerdir. Başvuru anındaki klinik bulgular açısından splenomegali sıklığı literatüre göre daha az olmakla birlikte 5 hastanın geçmişte splenektomize olmasının bu sonuca sebep olduğu düşünülebilir.

Kohortumuzdaki hastalarda nötropeni, anemi ve trombositopeni sıklıkları; literatür ile benzer saptanmıştır (23, 57, 58). Fakat kohortumuzdaki hastaların %48,1'inde lenfositoz olmadığı ve %45,6'sına izole sitopeni ile LGLL tanısı konduğu görülmüştür. Yıllar içerisinde tanı kriterleri içinde çevresel kan LGL sayısının eşik değerinin ve bu kriterin öneminin giderek azaldığı, normal veya düşük lenfosit sayıları ile tanı alan hasta oranlarının arttığı görülmüştür. Bu açıdan ülkemizden Bektaş ve ark. tarafından çalışmada etiyolojisi bilinmeyen sitopeni (CUE) ve önemi belirlenmemiş idiopatik sitopeni (ICUS) kriterlerini karşılayan hastalarda LGLL sıklığı araştırılmıştır. Lenfositozu olan hastaların dışlandığı bu kohortta CUE ve ICUS tanılı hasta gruplarında prevalans sırasıyla 12/28 (%42,9) ve 6/17 (%35,3) bulunmuştur (11). Sitopeni etiyolojisi açısından tanısız süreçteki hastalarda lenfositoz ve LGL artışı eşlik etmediği

durumlarda da çevresel kan ve kemik iliği değerlendirmelerinde LGLL'nin azımsanamayacak oranlarda saptandığı akılda tutulmalıdır.

LGLL hastalarında sık rastlanan birçok komorbidite bulunmaktadır. Kohortumuzdaki hastaların %56,4'ünde ilişkili olabilecek en az bir hastalık olduğu görülmüştür. Bu hastalıkların büyük kısmını otoimmün hastalıklar oluşturmuş, %20,3 oranında hematolojik komorbiditeler saptanmıştır. Kohortumuzdaki solid tümör ve hematolojik neoplazi sıklığı da literatürle benzer oranlarda izlenmiştir. Otoimmün hastalıklar ile LGLL arasında yakın ilişki olduğu bilinmektedir (59).

Kohortumuzda LGLL'ye en sık eşlik eden komorbidite olarak literatürle benzer şekilde RA dikkati çekerken, spondiloartropati de görece sık eşlik etmiştir (42). Otoimmün hematolojik hastalıklardan OiHA, ITP, PRCA ve AA; sık eşlik eden otoimmün hematolojik hastalıklar olarak görülmüştür. Daha nadir görülen amegakaryositik trombositopeni de bir hastada tanımlanmıştır. Daha önce tanımlanmış hastalıklara ek olarak literatürde ikinci kez otoimmün bir deri hastalığı olan vitiligonun LGLL ile birlikteliği kohortumuzda gösterilmiştir (60).

RA ve LGLL arasındaki ilişki henüz aydınlatılamamakla birlikte, LGLL'nin uzun süreli RA sonucu geliştiğini, RA'nın LGLL'den köken aldığını veya RA tedavisinin LGLL'ye sebep olduğunu düşündüren bulgular literatürde gösterilmiştir (41). Schwaneck ve ark. RA tanılı hastalarda anti-TNF tedavilere kümülatif maruziyet ile klonal T-LGL artışı arasında ilişki olduğunu öne sürmüştür (60). Kohortumuzdaki RA tanılı hastaların tümünde LGLL tanısının daha sonra konduğu görülmüştür. LGLL tanısı öncesi anti-TNF tedavi alan 3 hasta bulunmakla birlikte ilaca maruziyet süresi açısından bilgi edinilememiştir.

Kohortumuzdaki hastaların %16,4'ünün LGLL tanısı öncesinde başka endikasyonlarla İST aldığı görülmüştür. İST alan ve almayan hastalarda LGLL için tedavi gerekliliği veya tedaviye direnç açısından fark saptanmamıştır. Fakat LGLL olup halihazırda uygulanan İST nedeniyle asemptomatik veya subklinik seyreden ve tanı almayan hastalar olabileceğinden bu açıdan genelleme yapılamayacağı düşünülmüştür.

Barila ve ark. yaptığı; 8 farklı merkezden $T\gamma\delta$ -LGLL tanılı 137 hastanın dahil edildiği çalışmada, bu alt grubun $T\alpha\beta$ -LGLL tanılı hastalara göre klinik ve biyolojik olarak farklı özellikler taşıdığı gösterilmiştir. $T\gamma\delta$ -LGLL hastalarında çevresel kan LGL sayıları daha düşük görülmekte,

bu nedenle tanı daha geç koyulmakta, anemi ve otoimmün hastalıklar daha sık eşlik etmektedir. Sağkalım analizlerinde de $T\alpha\beta$ -LGLL'ye göre daha kötü sonlanımla ilişkili olduğu bildirilmiştir. Kohortumuzdaki az sayıdaki $T\gamma\delta$ -LGLL hastasında çevresel kandaki LGL sayısı literatürle uyumlu şekilde anlamlı olarak düşük saptanmış, bu hastaların %87,5'inin izole sitopeni ile başvurduğu, %85,7'sinde kemik iliği tutulumu olduğu ve %62,5'sinde İST endikasyonu geliştiği görülmüştür. Kısa takip süresi nedeniyle sağkalım açısından yorum yapmak mümkün olmamıştır. Elde edilen bulgularla $T\gamma\delta$ -LGLL tanısı konan hastaların daha yakın takip edilmesi ve özellikle nedeni bilinmeyen sitopeni varlığında ayırıcı tanıda düşünülmesi gerektiği söylenebilir.

Geçmiş çalışmalar; yaklaşık %50 hastada LGLL için tedavi gerekliliğinin geliştiğini bildirmektedir (1). Kohortumuzda görece kısa takip süresine rağmen hastaların %35,9'unda oranında tedavi gerekliliği olduğu, bunların %16,6'sının ilk basamak tedaviye yanıtızsız oldukları görülmüştür. T-LGLL ve NK-LGLL hastalarında hematolojik hastalık varlığı, CD16 negatifliği, düşük LGL sayısı ve kemik iliğinde retikülin lif artışının yüksek İST endikasyonu sıklığı ile ilişkili olduğu düşünülmüştür. Bu faktörlerle yapılan çok değişkenli lojistik regresyon analizinde ise kemik iliği histopatolojisinde retikülin fibrozis varlığının diğer faktörlerden bağımsız olarak İST ihtiyacını artırdığı saptanmıştır. Çok sıra tedavi ihtiyacının ise eşlik eden otoimmün hastalığı olanlarda daha sık olduğu saptanmıştır.

LGLL hastalarında tedavi endikasyonu geliştiğinde; ilk basamakta konvansiyonel İST uygulaması önerilmektedir (4, 49, 61). Kohortumuzda da en sık tercih edilen MTX, CTX ve CSA tedavileri ile toplam yanıt oranları açısından literatürle benzer bulgular saptanmıştır. İlk basamak tedavide CTX görece daha etkili görünmekle birlikte uzun süreli tedavinin olası onkogenik etkileri nedeniyle daha az tercih edildiği görülmüştür. Geçmiş çalışmalarda önerilen tedaviler arasında yer almayan MMF, kohortumuzda iki hastada kurtarma tedavisinde kullanılmış ve %100 yanıt oranı sağlamasıyla dikkat çekmiştir. Splenektomi de LGLL tedavisinde seçilmiş hastalarda uygulanan bir seçenektir (56, 62). Kohortumuzda LGLL tanısı sonrası splenektomi yapılan hasta bulunmamakla birlikte, hastaların %6,3'ünün tanı öncesi splenektomi öyküsü olmasının literatürle örtüştüğü söylenebilir. EBMT kayıtlarından yapılan bir çalışmada 2004-2011 yılları arasında T-LGLL tanısıyla KHN yapılan 33 hasta bulunduğu bildirilmiştir (55). Tek merkezli kohortumuzda aynı endikasyonla KHN yapılan 3 hastanın ikisi komplikasyonlara bağlı kaybedilirken, bir hastada remisyon sağlanmıştır. İndolen bir hastalık

olan LGLL'nin nadir görülen refrakter/agresif formlarında KHN son opsiyon olarak akla getirilmelidir.

LGLL hastalarında cilt tutulumu çok nadir görülmektedir ve şu ana kadar literatürde toplam 10 hastada tanımlanmıştır (39). Hastamızda cilt lezyonundan yapılan FCM olmadığından lezyondaki neoplastik hücrelerin immüfenotipi tam olarak bilinmemekle birlikte histopatolojik bulgular, çevresel kan ve kemik iliğinden elde edilen immüfenotipik bulguların uyumlu olması sayesinde T-LGLL tanısı koyulmuştur.

Son yıllarda yapılan genomik çalışmalarla LGLL patogenezinde rol oynadığı ve prognoza etki edebildiği düşünülen pek çok gen ortaya konmuştur (9, 63, 64). *STAT3*, *STAT5B* ve *TET2* bunların başlıcaları olarak dikkat çekmektedir. Kohortumuzda genetik analiz yapılan az sayıda hastada rekürren *STAT5B* ve *NOTCH2* mutasyonları yanı sıra epigenetik modifiye edici *TET2* ve *DNMT3A* genlerindeki mutasyonlar dikkat çekmiştir. Literatürde en sık bildirilen *STAT3*'te ise mutasyon saptanan hasta olmamıştır. Cilt tutulumu olan bir hastada *STAT5B* ile birlikte *TET2* genlerinde olası patojenik (Tier II) mutasyonlar gösterilmiştir. *TET2* ve *DNMT3A* mutasyonları; potansiyeli belirlenmemiş klonal hematopoezde (CHIP) sıkça sürücü olarak gösterilmektedir (65) ve LGLL ile birliktelikleri de bildirilmiştir (66). NGS öncesi lösemik LGL'ler izole edilmediğinden, saptanan varyantların CHIP kaynaklı olması ekarte edilememiştir. Bir hastamızda yüksek varyant fraksiyonu ile *TP53* geninde olası patojenik (Tier II) varyant saptanmıştır ve bu hastada germline/somatik ayrımı yapılabilmesi için hematopietik olmayan doku örneklerinden dizileme yapılması gerekmektedir ve Li-Fraumeni Sendromu ile LGLL birlikteliği açısından değerlendirilmelidir.

Çalışmamız; ülkemizde LGLL tanılı hasta özelliklerini, demografik verileri ve klinik bulguları tanımlayan ilk çalışmadır. Kendi hasta popülasyonumuzun daha önce yayınlanan uluslararası kohortlar ile benzer klinik özellikler taşıdığı izlenmiştir. Ağır seyri ön görebilecek belirteçlerin eksikliğinin dikkat çektiği LGLL'de kemik iliğinde retikülin lif artışı İST endikasyonu gelişimi için bağımsız risk faktörü olarak tanımlanmıştır. Kohortumuzda T-LGLL alt gruplarının klinik farklılıkları ortaya konmuş; izole sitopeni ile başvuran vakalarda T γ -LGLL'nin ayırıcı tanıda mutlaka düşünülmesi gerektiğine işaret etmiştir.

Çalışmamızın en önemli kısıtlılığı; birincil sonlanım olarak belirlenen mutasyon analizlerinin bütçe yetersizliği nedeniyle yapılamamasıdır. Bütçe sağlanmasındaki finansal

kısıtlılıkların yanı sıra; çok sayıda disiplini içinde bulunduran iç hastalıkları uzmanlık eğitiminde diğer klinik sorumluluklar ile birlikte özelleşmiş bir alanda bilimsel değeri yüksek bir tez çalışmasının planlanması ve gerçekleştirilmesi için zaman kısıtlılığı da primer amacımıza ulaşmamızı zorlaştırmıştır. Literatürde de uzmanlık öğrencilerinin tez çalışmalarında benzer zorluklarla karşılaştıkları bildirilmiştir (67-69). Buna çözüm önerisi olarak uzmanlık eğitiminin sadece son kısmında değil farklı aşamalarında tez çalışmasına odaklanmayı hedefleyen dönemler belirlenmesi sunulabilir. Kohortumuzdaki az sayıda hastada tanısal süreçte NGS analizleriyle saptanan mutasyonlar olmakla birlikte prognostik etkileri ortaya koymak için daha geniş örnekleme değerlendirme yapılması gerekmektedir. Bu nedenle pilot çalışma niteliğindeki çalışmamızın devamında bütçe sağlandıktan sonra hastalar davet edilerek planlanan mutasyon analizlerinin yapılması hedeflenmektedir.

Nadir görülen bir hastalık olmasına bağlı olarak düşük örneklem büyüklüğü ve kısa takip süreleri çalışmamızın diğer kısıtlılıkları arasında önde gelmektedir. Hastaların çoğunlukla asemptomatik olması, izole lenfositozu olan hastaların genelde kontrollerini aksatması nedeniyle indolen seyreden gruptaki birçok vakaya tanı koyulamadığından ve ağır seyirli hastalarda tanısal süreç daha hızlı ilerlediğinden seçme yanlılığı (selection bias) sonuçları etkilemiş olabilir. Fakat hastalığın doğası gereği retrospektif LGLL serilerinin genel sorunu olduğu söylenebilir. İzole lenfositoz ile başvuran hastaların yakın takibi, LGLL tanısının atlanmasına engel olacaktır.

Klonalite tespit yöntemlerinden 'V β repertuar analizi'nin merkezimizdeki eksikliğinin etkisi TRBC analizine başlanması ile ortadan kalkmıştır. Merkezimizde KIR analizi son yıllarda başladığından; kohortumuzdaki NK-LGLL tanılı hasta oranının literatüre göre düşük kaldığı düşünülmüştür, ileriki yıllarda yeni tanı hastaların sayısının artması beklenmektedir. NGS yönteminin yaygınlaşması ile gelecekte daha çok hastamızda genomik değerlendirme mümkün olacaktır.

Yaklaşık 50 yıllık bir geçmişe sahip olan LGLL; otoimmünite, klonal lenfoproliferasyon ve kronik inflamasyonun kesişimindeki nadir bir hastalık olarak halen birçok bilinmeyenine sahiptir (64). İç hastalıkları ve hematoloji polikliniklerinde sıkça karşılaşılabilen lenfositoz, anemi, nötropeni, splenomegali ve B-semptomları gibi klinik bulguların ayırıcı tanısında LGLL'nin bulunması nedeniyle hastalıkla ilgili farkındalık yaratılması; tanıya kadar geçen sürenin azaltılmasında ve hastaların doğru yönlendirilmesinde önem arz etmektedir.

8. SONUÇ VE ÖNERİLER

- LGLL, geniş bir klinik spektrum ve otoimmün hastalıklar dahil olmak üzere birçok komorbidite ile ilişkilidir. Hastalığın insidansı düşük olmakla birlikte, patobiyolojisi ve prognostik belirteçleri tam olarak anlaşılamamıştır.

- Çalışmamızda, hasta grubumuzun klinik ve demografik özellikleri, uluslararası literatürle benzerlik göstermiştir. Hastaların çoğunda lenfositoz olmadan izole sitopeni ile tanı konmuştur.

- Kemik iliğinde retikülin lif artışı immünsüpresif tedavi gerekliliği için bağımsız risk faktörü olarak tanımlanmıştır.

- Çalışmamızda, LGLL tanılı hastaların %35,9'unda tedavi gerekliliği saptanmış ve bu hastaların %16,6'sının ilk basamak tedaviye yanıt vermediği görülmüştür.

- LGLL'nin ayırıcı tanıda düşünülmesi, özellikle nedeni bilinmeyen sitopeni ve otoimmün hastalıklar ile başvuran hastalarda önemlidir. Hastalıkla ilgili farkındalık, tanı süresini kısaltabilir ve hastaların doğru yönlendirilmesini sağlayabilir.

- İzole lenfositoz veya nedeni bilinmeyen sitopeni ile başvuran hastaların düzenli ve dikkatli takibi, LGLL tanısının atlanmasını önleyecektir.

- LGLL'nin nadir görülmesi ve heterojen yapısı göz önüne alındığında, daha geniş örneklemelerle ve uzun süreli takiplerle prospektif çalışmalar yapılması gerekmektedir. Bu, prognostik belirteçlerin ve tedaviye yanıtın daha iyi anlaşılmasına olanak tanıyacaktır.

- LGLL hastalarında epigenetik ve kromatin modifiye edici genlerde mutasyon sıklığı artmıştır. NGS ve diğer genetik analiz yöntemlerinin yaygınlaştırılması, hastalığın patogenezi ve tedaviye yanıt üzerinde daha derin bir anlayış sağlayacaktır.

- Konvansiyonel İST ve alternatif tedavi yöntemlerinin etkinliği daha fazla araştırılmalı ve tedavi protokollerinde güncellemeler yapılmalıdır. Özellikle MMF gibi alternatif tedaviler incelenmelidir.

9. KAYNAKLAR

1. Marchand T, Lamy de La Chapelle T, Loughran TP. A modern view of LGL leukemia. *Blood*. 2024.
2. Zhang R, Shah MV, Loughran TP, Jr. The root of many evils: indolent large granular lymphocyte leukaemia and associated disorders. *Hematol Oncol*. 2010;28(3):105-17.
3. Pathology and Genetics of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues [Internet; beta version ahead of print]. 5th edition ed. Board WCoTE, editor: IARC; 2022.
4. Magnano L, Rivero A, Matutes E. Large Granular Lymphocytic Leukemia: Current State of Diagnosis, Pathogenesis and Treatment. *Curr Oncol Rep*. 2022;24(5):633-44.
5. Zawit M, Bahaj W, Gurnari C, Maciejewski J. Large Granular Lymphocytic Leukemia: From Immunopathogenesis to Treatment of Refractory Disease. *Cancers (Basel)*. 2021;13(17).
6. Barila G, Grassi A, Cheon H, Teramo A, Calabretto G, Chahal J, et al. Tgammadelta LGLL identifies a subset with more symptomatic disease: analysis of an international cohort of 137 patients. *Blood*. 2023;141(9):1036-46.
7. Sandberg Y, Almeida J, Gonzalez M, Lima M, Barcena P, Szczepanski T, et al. TCRgammadelta+ large granular lymphocyte leukemias reflect the spectrum of normal antigen-selected TCRgammadelta+ T-cells. *Leukemia*. 2006;20(3):505-13.
8. Barila G, Teramo A, Calabretto G, Vicenzetto C, Gasparini VR, Pavan L, et al. Stat3 mutations impact on overall survival in large granular lymphocyte leukemia: a single-center experience of 205 patients. *Leukemia*. 2020;34(4):1116-24.
9. Cheon H, Xing JC, Moosic KB, Ung J, Chan VW, Chung DS, et al. Genomic landscape of TCRalphabeta and TCRgammadelta T-large granular lymphocyte leukemia. *Blood*. 2022;139(20):3058-72.
10. Shi M, Morice WG. How I diagnose large granular lymphocytic leukemia. *Am J Clin Pathol*. 2024.
11. Bektas O, Uner A, Aydin SM, Eliacik E, Uz B, Isik A, et al. High frequency of autonomous T-cell proliferation compatible with T-cell large granular lymphocytic leukemia in patients with cytopenia of unknown etiology. *Int J Hematol*. 2015;102(2):211-7.

12. Bozdag SC, Namdaroglu S, Kayikci O, Kaygusuz G, Demiriz I, Cinarsoy M, et al. Diagnosis of large granular lymphocytic leukemia in a patient previously treated for acute myeloblastic leukemia. *Hematol Rep.* 2013;5(4):e14.
13. Semenzato G, Calabretto G, Barila G, Gasparini VR, Teramo A, Zambello R. Not all LGL leukemias are created equal. *Blood Rev.* 2023;60:101058.
14. Rich RR, Fleisher TA, Schroeder Jr HW, II, Weyand CM, Corry DB, Puck JM, et al. *Clinical Immunology: Principles and Practice.* Sixth edition ed. Philadelphia: Elsevier; 2022.
15. Brouet JC, Sasportes M, Flandrin G, Preud'Homme JL, Seligmann M. Chronic lymphocytic leukaemia of T-cell origin. Immunological and clinical evaluation in eleven patients. *Lancet.* 1975;2(7941):890-3.
16. McKenna RW, Parkin J, Kersey JH, Gajl-Peczalska KJ, Peterson L, Brunning RD. Chronic lymphoproliferative disorder with unusual clinical, morphologic, ultrastructural and membrane surface marker characteristics. *Am J Med.* 1977;62(4):588-96.
17. Loughran TP, Jr., Kadin ME, Starkebaum G, Abkowitz JL, Clark EA, Distech C, et al. Leukemia of large granular lymphocytes: association with clonal chromosomal abnormalities and autoimmune neutropenia, thrombocytopenia, and hemolytic anemia. *Ann Intern Med.* 1985;102(2):169-75.
18. Semenzato G, Pandolfi F, Chisesi T, De Rossi G, Pizzolo G, Zambello R, et al. The lymphoproliferative disease of granular lymphocytes. A heterogeneous disorder ranging from indolent to aggressive conditions. *Cancer.* 1987;60(12):2971-8.
19. Oshimi K. Granular lymphocyte proliferative disorders: report of 12 cases and review of the literature. *Leukemia.* 1988;2(10):617-27.
20. Zambello R, Falco M, Della Chiesa M, Trentin L, Carollo D, Castriconi R, et al. Expression and function of KIR and natural cytotoxicity receptors in NK-type lymphoproliferative diseases of granular lymphocytes. *Blood.* 2003;102(5):1797-805.
21. Lamy T, Moignet A, Loughran TP, Jr. LGL leukemia: from pathogenesis to treatment. *Blood.* 2017;129(9):1082-94.
22. Alaggio R, Amador C, Anagnostopoulos I, Attygalle AD, Araujo IBO, Berti E, et al. The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: Lymphoid Neoplasms. *Leukemia.* 2022;36(7):1720-48.
23. Dinmohamed AG, Brink M, Visser O, Jongen-Lavrencic M. Population-based analyses among 184 patients diagnosed with large granular lymphocyte leukemia in the Netherlands between 2001 and 2013. *Leukemia.* 2016;30(6):1449-51.

24. Shah MV, Hook CC, Call TG, Go RS. A population-based study of large granular lymphocyte leukemia. *Blood Cancer J.* 2016;6(8):e455.
25. Lamy T, Liu JH, Landowski TH, Dalton WS, Loughran TP. Dysregulation of CD95/CD95 Ligand-Apoptotic Pathway in CD3+ Large Granular Lymphocyte Leukemia. *Blood.* 1998;92(12):4771-7.
26. Perzova R, Loughran TP, Jr. Constitutive expression of Fas ligand in large granular lymphocyte leukaemia. *Br J Haematol.* 1997;97(1):123-6.
27. Johansson P, Bergmann A, Rahmann S, Wohlers I, Scholtysik R, Przekopowicz M, et al. Recurrent alterations of TNFAIP3 (A20) in T-cell large granular lymphocytic leukemia. *Int J Cancer.* 2016;138(1):121-4.
28. Jerez A, Clemente MJ, Makishima H, Koskela H, Leblanc F, Peng Ng K, et al. STAT3 mutations unify the pathogenesis of chronic lymphoproliferative disorders of NK cells and T-cell large granular lymphocyte leukemia. *Blood.* 2012;120(15):3048-57.
29. Fasan A, Kern W, Grossmann V, Haferlach C, Haferlach T, Schnittger S. STAT3 mutations are highly specific for large granular lymphocytic leukemia. *Leukemia.* 2013;27(7):1598-600.
30. Kothapalli R, Bailey R, Kusmartseva I, Mane S, Epling-Burnette P, Loughran T. Constitutive expression of cytotoxic proteases and down-regulation of protease inhibitors in LGL leukemia. *International Journal of Oncology.* 2003.
31. Pontikoglou C, Kalpadakis C, Papadaki HA. Pathophysiologic mechanisms and management of neutropenia associated with large granular lymphocytic leukemia. *Expert Rev Hematol.* 2011;4(3):317-28.
32. Baer C, Kimura S, Rana MS, Kleist AB, Flerlage T, Feith DJ, et al. CCL22 mutations drive natural killer cell lymphoproliferative disease by deregulating microenvironmental crosstalk. *Nat Genet.* 2022;54(5):637-48.
33. Olson TL, Cheon H, Xing JC, Olson KC, Paila U, Hamele CE, et al. Frequent somatic *TET2* mutations in chronic NK-LGL leukemia with distinct patterns of cytopenias. *Blood.* 2021;138(8):662-73.
34. Coppe A, Andersson EI, Binatti A, Gasparini VR, Bortoluzzi S, Clemente M, et al. Genomic landscape characterization of large granular lymphocyte leukemia with a systems genetics approach. *Leukemia.* 2017;31(5):1243-6.
35. Tang YT, Wang D, Luo H, Xiao M, Zhou HS, Liu D, et al. Aggressive NK-cell leukemia: clinical subtypes, molecular features, and treatment outcomes. *Blood Cancer J.* 2017;7(12):660.

36. Teramo A, Binatti A, Ciabatti E, Schiavoni G, Tarrini G, Barila G, et al. Defining TCRgammadelta lymphoproliferative disorders by combined immunophenotypic and molecular evaluation. *Nat Commun.* 2022;13(1):3298.
37. Gao LM, Zhao S, Liu WP, Zhang WY, Li GD, Kucuk C, et al. Clinicopathologic Characterization of Aggressive Natural Killer Cell Leukemia Involving Different Tissue Sites. *Am J Surg Pathol.* 2016;40(6):836-46.
38. Pandolfi F, Loughran TP, Jr., Starkebaum G, Chisesi T, Barbui T, Chan WC, et al. Clinical course and prognosis of the lymphoproliferative disease of granular lymphocytes. A multicenter study. *Cancer.* 1990;65(2):341-8.
39. Daou H, Hatch LA, Weinkle A, Morey GE, Messina J, Zhang X, et al. CD8-positive cutaneous lymphoproliferation associated with large granular lymphocyte leukemia in a patient with X-linked agammaglobulinemia. *J Cutan Pathol.* 2021;48(4):567-71.
40. Tiede C, Maecker-Kolhoff B, Klein C, Kreipe H, Hussein K. Risk factors and prognosis in T-cell posttransplantation lymphoproliferative diseases: reevaluation of 163 cases. *Transplantation.* 2013;95(3):479-88.
41. Moosic KB, Ananth K, Andrade F, Feith DJ, Darrah E, Loughran TP, Jr. Intersection Between Large Granular Lymphocyte Leukemia and Rheumatoid Arthritis. *Front Oncol.* 2022;12:869205.
42. Gazitt T, Loughran TP, Jr. Chronic neutropenia in LGL leukemia and rheumatoid arthritis. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program.* 2017;2017(1):181-6.
43. Qiu ZY, Qin R, Tian GY, Wang Y, Zhang YQ. Pathophysiologic Mechanisms And Management Of Large Granular Lymphocytic Leukemia Associated Pure Red Cell Aplasia. *Onco Targets Ther.* 2019;12:8229-40.
44. Goyal T, Thakral B, Wang SA, Bueso-Ramos CE, Shi M, Jevremovic D, et al. T-Cell Large Granular Lymphocytic Leukemia and Coexisting B-Cell Lymphomas: A Study From the Bone Marrow Pathology Group. *Am J Clin Pathol.* 2018;149(2):164-71.
45. Jaffe ES, Arber DA, Campo E, Harris NL, Quintanilla-Martinez L. *Hematopathology.* Second edition. ed. Philadelphia, Pennsylvania: Elsevier; 2017.
46. Lamberson C, Hutchison RE, Shrimpton AE. A PCR assay for detecting clonal rearrangement of the TCR-gamma gene. *Mol Diagn.* 2001;6(2):117-24.
47. Langerak AW, van Den Beemd R, Wolvers-Tettero IL, Boor PP, van Lochem EG, Hooijkaas H, et al. Molecular and flow cytometric analysis of the Vbeta repertoire for clonality assessment in mature TCRalpha beta T-cell proliferations. *Blood.* 2001;98(1):165-73.

48. Novikov ND, Griffin GK, Dudley G, Drew M, Rojas-Rudilla V, Lindeman NI, et al. Utility of a Simple and Robust Flow Cytometry Assay for Rapid Clonality Testing in Mature Peripheral T-Cell Lymphomas. *Am J Clin Pathol*. 2019;151(5):494-503.
49. Lamy T, Loughran TP, Jr. How I treat LGL leukemia. *Blood*. 2011;117(10):2764-74.
50. Yabe M, Medeiros LJ, Wang SA, Tang G, Bueso-Ramos CE, Jorgensen JL, et al. Distinguishing Between Hepatosplenic T-cell Lymphoma and gammadelta T-cell Large Granular Lymphocytic Leukemia: A Clinicopathologic, Immunophenotypic, and Molecular Analysis. *Am J Surg Pathol*. 2017;41(1):82-93.
51. Pouillot E, Zambello R, Leblanc F, Bareau B, De March E, Roussel M, et al. Chronic natural killer lymphoproliferative disorders: characteristics of an international cohort of 70 patients. *Ann Oncol*. 2014;25(10):2030-5.
52. Lamy T, Pastoret C, Houot R, Ysebaert L, Hunault M, Damaj G, et al. Prospective, Multicentric Phase II Randomized Trial Comparing the Efficacy of Methotrexate or Cyclophosphamide in Large Granular Lymphocytic Leukemia: A French National Study. Report on the Interim Analysis. *Blood*. 2019;134(Supplement_1):1545-.
53. Moignet A, Hasanali Z, Zambello R, Pavan L, Bareau B, Tournilhac O, et al. Cyclophosphamide as a first-line therapy in LGL leukemia. *Leukemia*. 2014;28(5):1134-6.
54. Loughran TP, Jr., Zickl L, Olson TL, Wang V, Zhang D, Rajala HL, et al. Immunosuppressive therapy of LGL leukemia: prospective multicenter phase II study by the Eastern Cooperative Oncology Group (E5998). *Leukemia*. 2015;29(4):886-94.
55. Marchand T, Lamy T, Finel H, Arcese W, Choquet S, Finke J, et al. Hematopoietic stem cell transplantation for T-cell large granular lymphocyte leukemia: a retrospective study of the European Society for Blood and Marrow Transplantation. *Leukemia*. 2016;30(5):1201-4.
56. Bareau B, Rey J, Hamidou M, Donadieu J, Morcet J, Reman O, et al. Analysis of a French cohort of patients with large granular lymphocyte leukemia: a report on 229 cases. *Haematologica*. 2010;95(9):1534-41.
57. Uranga A, Gonzalez C, Furundarena JR, Robado N, Rey M, Aragon L, et al. Large granular lymphocyte leukaemia study at the University Hospital of Donostia. *J Clin Pathol*. 2022;75(4):226-33.
58. Sanikommu SR, Clemente MJ, Chomczynski P, Afable MG, 2nd, Jerez A, Thota S, et al. Clinical features and treatment outcomes in large granular lymphocytic leukemia (LGLL). *Leuk Lymphoma*. 2018;59(2):416-22.
59. Melenhorst JJ. LGL: a disease rediscovered. *Blood*. 2012;120(15):2932-3.

60. Schwaneck EC, Renner R, Junker L, Einsele H, Gadeholt O, Geissinger E, et al. Prevalence and Characteristics of Persistent Clonal T Cell Large Granular Lymphocyte Expansions in Rheumatoid Arthritis: A Comprehensive Analysis of 529 Patients. *Arthritis Rheumatol*. 2018;70(12):1914-22.
61. Ullah F, Markouli M, Orland M, Ogbue O, Dima D, Omar N, et al. Large Granular Lymphocytic Leukemia: Clinical Features, Molecular Pathogenesis, Diagnosis and Treatment. *Cancers (Basel)*. 2024;16(7).
62. Ciftciler R, Pasayeva A, Aksu S, Ozcebe O, Sayinalp N, Malkan UY, et al. Indications and Outcomes of Splenectomy for Hematological Disorders. *Open Med (Wars)*. 2019;14:491-6.
63. Fei F, Stehr H, Zehnder JL. Genomic landscape of T-large granular lymphocyte leukemia and chronic lymphoproliferative disorder of NK cells: a single institution experience. *Leuk Lymphoma*. 2023;64(9):1536-44.
64. Semenzato G, Zambello R. Interrogating molecular genetics to refine LGLL classification. *Blood*. 2022;139(20):3002-4.
65. Caiado F, Kovtonyuk LV, Gonullu NG, Fullin J, Boettcher S, Manz MG. Aging drives *TET2*+/- clonal hematopoiesis via IL-1 signaling. *Blood*. 2023;141(8):886-903.
66. Raess PW, Cascio MJ, Fan G, Press R, Druker BJ, Brewer D, et al. Concurrent *STAT3*, *DNMT3A*, and *TET2* mutations in T-LGL leukemia with molecularly distinct clonal hematopoiesis of indeterminate potential. *Am J Hematol*. 2017;92(1):E6-E8.
67. Yilmaz O, Yuksel H. Thesis in Medical Specialty Education at a Glance: Problems and Solution Proposals. *Plevra Bulteni*. 2013;7(2):33-6.
68. Saydam MB, Ozgulnar N, Darendeliler F. Medical speciality thesis: contribution to a controversial issue with a research study. *Journal of Higher Education and Science*. 2014;4(3).
69. Gogate PM, Biswas P, Natarajan S, Nayak BK, Gopal S, Shah Y, et al. Residency evaluation and adherence design study: Young ophthalmologists' perception of their residency programs II: Academics and Research dissertation. *Indian J Ophthalmol*. 2017;65(1):12-8.