



**T.C.  
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**KRONİK LENFOSİTİK LÖSEMİDE FLORESAN İN SİTU  
HİBRİDİZASYON YÖNTEMİ İLE SİTOGENETİK  
ANOMALİLERİN TESPİTİ VE SİTOGENETİK  
ANOMALİLERİN KLİNİKLE KORELASYONU**

**Dr. Canan BELİN CİRİT  
UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI  
Doç. Dr. Birol GÜVENÇ**

**ADANA-2010**



T.C.  
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**KRONİK LENFOSİTİK LÖSEMİDE FLORESAN İN SİTU  
HİBRİDİZASYON YÖNTEMİ İLE SİTOGENETİK  
ANOMALİLERİN TESPİTİ VE SİTOGENETİK  
ANOMALİLERİN KLİNİKLE KORELASYONU**

**Dr. Canan BELİN CİRİT  
UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI  
Doç. Dr. Birol GÜVENÇ**

**ADANA-2010**

## TEŞEKKÜR

Tez konumun belirlenmesinde ve çalıŐmalarım boyunca destek ve ilgisinden dolayı sayın Doç. Dr. Birol Güvenç'e; uzmanlık eğitimim süresince gerek bilgileri gerek hasta yaklaŐımları ile bizlere ışık tutan öncelikle Dahiliye AD başkanı Prof. Dr. Hikmet Akkız başta olmak üzere tüm değerli hocalarıma; tezimin patoloji sonuçlarının değerlendirilmesinde katkısı bulunan Prof. Dr. Melek Ergin'e ve Biolog zge Dinigzel'e; tez istatistiğimi yapan Prof. Dr. Refik Burgut'a; eğitim sremini paylaŐtıđım tüm asistan arkadaşlarıma;

Her yönüyle kusursuz bir anne olan sevgili anneme ve aileme desteğini benden hiç esirgemeyen sevgili eŐime; bana sevmenin ne demek olduğunu baŐtan öğreten biricik oğluma en içten teŐekkürler...

Dr. Canan Belin Cirit

## İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	I
İÇİNDEKİLER .....	II
TABLO LİSTESİ.....	III
KISALTIMA LİSTESİ.....	IV
ÖZET.....	V
ABSTRACT.....	VI
1. GİRİŞ.....	1
2.GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Kronik Lenfositik Lösemi .....	3
2.1.1. Etyoloji.....	3
2.1.2. Patogenez ve Sitogenetik.....	4
2.1.3. Klinik Belirtiler.....	8
2.1.4.Laboratuvar Bulguları .....	10
2.1.5. Tanı, Evrelendirme ve Ayrıcı Tanı .....	12
2.1.5.1. Tanı ve Değerlendirme .....	12
2.1.5.2. Evrelendirme.....	13
2.1.5.3. Ayrıcı Tanı.....	15
2.1.6. Tedavi.....	19
2.1.6.1. Tedavi Endikasyonları.....	19
2.1.6.2. Tedaviye Yanıt Kriterleri.....	20
2.1.6.3. KLL Tedavisinde Seçenekler.....	21
2.1.7. KLL’de Prognostik Faktörler .....	27
2.2. Floresan in Situ Hibridizasyon ve KLL’deki Yeri .....	36
2.2.1. Floresan İn Situ Hibridizasyon .....	36
2.2.2. FISH Analizi İsterken .....	37
2.2.3. FISH Tekniğinde Kullanılan Problar .....	37
2.2.4. Kronik Lenfositik Lösemi’de FISH .....	37
3.GEREÇ VE YÖNTEM.....	39
3.1. FISH Yöntemi .....	39
3.2. İstatistiksel Yöntem .....	40
4. BULGULAR.....	41
5.TARTIŞMA.....	48
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	58
7. KAYNAKLAR .....	59
ÖZGEÇMİŞ .....	73

## TABLO LİSTESİ

<b><u>Tablo no</u></b>	<b><u>Sayfa no</u></b>
Tablo 1: REAL/WHO Klasifikasyonu .....	5
Tablo 2: KLL'de NCI-WG ve IW-CLL tanı kriterleri .....	13
Tablo3:Modifiye Edilmiş Rai Evreleme Sistemi .....	15
Tablo4:Binet Sınıflandırması.....	16
Tablo 5: Kronik Lenfositik Lösemi Ayrımında Kullanılan Yüzey Markerları: .....	17
Tablo6: IWCLL Tedavi Endikasyonları.....	21
Tablo7: NCI-WG Tedavi Endikasyonları.....	21
Tablo8: KLL'de Tedaviye Yanıt Kriterleri .....	22
Tablo9: KLL'de Prognostik Belirteçler.....	29
Tablo10:KLL ile ilişkili kromozom anomalileri ve prognostik önemleri .....	33
Tablo 11: 45 KLL'li hastada FISH yöntemi ile saptanan sitogenetik anomalilerin sıklığı .....	43
Tablo12:Hasta yaşlarının gruplara göre dağılımı.....	43
Tablo13:Hasta cinsiyetinin gruplardaki dağılımı.....	44
Tablo14:Gruplarda LDH dağılımı.....	44
Tablo15:Gruplarla beta2 mikroglobulinin ilişkisi.....	45
Tablo16:Gruplarla Rai evrelerinin ilişkisi .....	45
Tablo17: Gruplarla Binet evrelerinin ilişkisi .....	46
Tablo18:Gruplarla CD38 düzeyi ilişkisi .....	47
Tablo19:Gruplarla CD23 düzeyi ilişkisi .....	47

## KISALTMA LİSTESİ

<b>ABD</b>	: Amerika Birleşik Devletleri
<b>AML</b>	: Akut myeloid lösemi
<b>ATM</b>	: Ataksi telenjektazi mutasyon
<b>B<sub>2</sub>M</b>	: Beta2mikroglobulin
<b>CHOP</b>	: Siklofosfamid-adriamisin-vincristin-prodnizolon
<b>CLB</b>	: Klorombusil
<b>COP</b>	: Siklofosfamid -vincristin-prodnizolon
<b>CMV</b>	: Sitomegelovirus
<b>ÇÜTF</b>	: Çukurova üniversitesi tıp fakültesi
<b>EBV</b>	: Ebstein bar virus
<b>FC</b>	: Fludarabin-siklofosfamid
<b>FISH</b>	: Floresan in situ hibridizasyon
<b>FCR</b>	: Fludarabin-siklofosfamid-rituximab
<b>FR</b>	: Fludarabin -rituximab
<b>GM</b>	: Germinal merkez
<b>HCL</b>	: Hair cell lösemi(saçlı hücreli lösemi)
<b>HCV</b>	: Hepatit C virus
<b>HTLV</b>	: İnsan T hücreli lösemi/lenfoma virus
<b>IgVH</b>	: Immunglobulin ağır zincir
<b>INOS</b>	: İndüklenebilir nitrik oksit sentetaz
<b>ITP</b>	: İmmun trombositopenik purpura
<b>IW-CLL</b>	: Uluslararası KLL çalışma grubu
<b>KLL</b>	: Kronik lenfositik lösemi
<b>KML</b>	: Kronik myelositer lösemi
<b>LDH</b>	: Laktat dehidrogenaz
<b>LDT</b>	: Lenfosit ikilenme zamanı(lenfosit doubling time)
<b>LPL</b>	: Lenfoproliferatif lenfoma
<b>MBL</b>	: Monoklonal B lenfositoz
<b>MZL</b>	: Marjinal zon lenfoma
<b>NCI-WG</b>	: Ulusal kanser enstitüsü çalışma grubu
<b>NK</b>	: Naturel killer
<b>OİHA</b>	: Oto immün hemolitik anemi
<b>PRCA</b>	: Saf kırmızı küre aplazisi
<b>SH</b>	: Somatik hipermutasyon
<b>SLL</b>	: Small lenfositik lenfoma
<b>SmIg</b>	: Yüzey immünglobulin
<b>VEGF</b>	: Vasküler endotelial büyüme faktörü
<b>WHO</b>	: Dünya sağlık örgütü
<b>ZAP70</b>	: Zeta ilişkili protein -70

## ÖZET

### **Kronik Lenfositik Lösemili Hastalarda Floresan In Situ Hibridizasyon Yöntemi İle Sitogenetik Anomalilerin Tespiti Ve Sitogenetik Anomalilerin Klinikle Korelasyonu**

**Amaç:** KLL hastalarında erken tanı konulan hastaların yüzdeleri giderek artmaktadır. KLL prognozunu belirlemede kullanılan Rai ve Binet evrelerinin özellikle erken evredeki hastalarda prognozu belirlemede yetersiz kalması nedeniyle araştırmacılar yeni prognostik belirteçler aramaya başlamıştır. FISH yönteminin sitogenetik anomalileri saptamadaki duyarlılığı ve sitogenetik anomalilerin prognostik değeri birçok çalışmada gösterilmiştir. Bu çalışmada KLL hastalarında FISH yöntemi ile sitogenetik anomali sıklığını ve bu anomalilerin Rai, Binet, yaş, cinsiyet, LDH, B<sub>2</sub>M, CD38, CD23 düzeyleri ile ilişkisine bakılması amaçlandı.

**Gereç ve yöntem:** Bu çalışmada Çukurova Üniversitesi hematoloji anabilim dalında NCI kriterlerine göre KLL tanısı konan ve takipteki 45 hasta (16'sı kadın; 29'u erkek) alındı. Bu hastaların FISH yöntemi ile sitogenetik anomalileri (13q14, 11q, 17p, trizomi12) incelendi. Hastalar sitogenetik anomalilerine göre iyi prognostik grup(normal FISH inceleme veya izole 13q delesyonu olan hastalar) ve kötü prognostik grup (diğer kromozom anomalilerini izole veya kombine içeren hastalar) olarak iki gruba ayrıldı. Bu grupların serum LDH, B<sub>2</sub>M, CD23, CD38, yaş, cinsiyet, Rai ve Binet evreleriyle ilişkisine bakıldı.

**Bulgular:** KLL'li hastaların % 77,8'inde en az bir sitogenetik anomali saptandı. En sık saptanan sitogenetik anomali 13q14 delesyonu idi.13q14 delesyonu hastaların % 71'inde saptandı. 17p delesyonu % 31,1; 11q delesyonu % 17,7; trizomi12 % 11,1 oranında tespit edildi. Gruplar arasındaki ilişkiye bakıldığında gruplarla serum LDH, B<sub>2</sub>M, CD23, CD38, yaş, cinsiyet arasında anlamlı ilişki görülmezken, rai ve binet evreleri ile gruplar arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulundu.

**Sonuç:** Bu çalışmadan elde edilen sonuçlara göre FISH yöntemi sitogenetik anomali tespitinde duyarlı bir yöntemdir. Sitogenetik anomalilerin yaş, cinsiyet, serum LDH, B<sub>2</sub>M, CD23 ve CD38 düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır. Rai ve Binet evresi ile sitogenetik anomaliler arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

**Anahtar sözcükler:** KLL, sitogenetik anomali, FISH

## ABSTRACT

### **The Detection Of Cytogenetic Anomalies In Chronic Lymphocytic Leukemia Patients By Fluorescence In Situ Hybridization Method And The Clinical Correlation Of Cytogenetic Anomalies**

**Aim:** The percentage of early diagnosed CLL patients is getting higher. The recently used Rai and binnet stagings cannot be enough in predicting the prognosis especially in early stages. Since then, researchers began searching for new biomarkers. The sensitivity of FISH method in cytogenetic anomalies and the prognostic value of cytogenetic anomalies is well known in many studies. In our study, we aimed to detect the frequency of cytogenetic anomalies by FISH method and the correlation of these cytogenetic anomalies with rai, binnet, age, gender, LDH, B<sub>2</sub>M, CD38, CD23 levels.

**Material and methods:** In our study, 45 patients admitted to Çukurova University hematology department and diagnosed as CLL according to NCI criteria (16 female; 29 male) and stil under clinical folow-up are included. Cytogenetic anomalies (13q14, 11q, 17p, trisomy 12) is investigated by FISH method. The patients divided into two groups according to cytogenetic anomalies; better prognosis group (normal FISH findings and isolated 13q deletion) and poor prognosis group (isolated or combined anomalies of the other cytogenetic anomalies). The correlation of these gropus with serum LDH, B<sub>2</sub>M, CD23, CD38, age , gender, rai and binnet staging is researched.

**Results:** 77.8% of CLL patients is found to have at least one cytogenetic anomalies. The most frequently detected cytogenetic anomaly was 13q14 deletion, %71 of patients had this anomaly. 17p deletion, 11q deletion and trisomy12 was detected 31.1%, 17.7% and 11.1% respectively. As no significant correlation between groups and serum LDH, B<sub>2</sub>M, CD23, CD38, age, gender is detected; the relationship between groups and rai and binnet staging was statistically signifiantly important.

**Conclusions:** As a result FISH method is a sensitive method in detecting the cytogenetic anomalies. The relationship between cytogenetic anomalies and serum LDH, B<sub>2</sub>M, CD23, CD38, age , gender is not significantly important ; the relationship between groups and rai and binnet staging is statistically signifiantly important.

**Key words:** CLL, cytogenetic anomalies, FISH

# 1. GİRİŞ

Kronik lenfositler lösemi (KLL) erişkin yaşta görülen en sık lösemi tipidir.<sup>1</sup> KLL olgun görünen malign monoklonal B hücrelerinin kemik iliği, periferik kan, lenf nodunda akümülyasyonu ile oluşur. KLL tanısı periferik kanda 3 aydan fazla süredir devam eden lenfositoz (ki bu değer ulusal kanser enstitüsü çalışma grubu (NCI-WG) tarafından 5000 /microL olarak belirtilmiştir), immunfenotip (CD19, CD20, CD5 ve CD 23 pozitifliği), tipik olmayan hücrelerin % 55 altında olması ve kemik iliğinde % 30 üzerinde lenfoid hakimiyeti esaslarına dayanır. KLL klinik olarak değişken klinik spektrumda seyredabilmektedir; bazı hastalar kemoterapi gerektirmeden uzun yıllar yaşayabilirken bazıları agresif seyirli Richter's transformasyonu (agresif seyirli diffüz büyük B hücreli lenfoma) gösterebilmektedir. KLL'deki bu heterojen seyir hastalık biyolojisini iyi bilmeyi gerektirmektedir.

KLL'de prognozu belirleyen bazı belirteçler tanımlanmıştır. Bu belirteçler arasında kromozomal anomaliler (del 13q, del 11q, trizomi12, del 17p ve del 6q), bir trozin kinaz olan ZAP70, CD38 düzeyi, IgVH mutasyonu, beta 2 mikroglobulin (B<sub>2</sub>M) düzeyi, laktat dehidrojenez (LDH) düzeyleri, kemik iliğinde infiltrasyon paterni ve klinik evre sayılabilir.

Floresan İn Situ Hibridizasyon (FISH), nükleik asit problemleri aracılığı ile preparat üzerinde bulunan hücresel ya da kromozomal DNA veya RNA'nın incelenmesi temeline dayanan bir tekniktir. 1969 yılında ilk kez moleküler tekniklerin sitolojik preparatlara uygulanabileceği saptanmış; ancak ilk dönemlerde radyoaktif maddelerin kullanılması, uygulama süresinin uzun olması ve moleküler klonlama tekniklerinin geliştirilememiş olması bu tekniğin çok yavaş ilerlemesine yol açmıştır. Moleküler klonlama teknikleri ile diğer rekombinant DNA yöntemlerinin büyük bir hızla gelişmesi, FISH tekniğinin ilerlemesini sağlamıştır. Özellikle prob işaretlenmesinde radyoaktif olmayan maddelerin kullanılabilmesi, sinyallerin güçlendirilmesinde immünokimyasal ajanlardan yararlanılabileceği saptandıktan sonra bu teknikte belirgin bir ilerleme gözlenmiş, çok geniş uygulama alanı bulmuştur.

FISH tekniğinin avantajları kolay uygulanabilir olması, duyarlılığı ve güvenilirliğinin yüksek olması, diğer moleküler DNA hibridizasyon yöntemlerine göre rezolüsyon gücünün yüksek olmasıdır.

FISH tekniği özellikle lösemilerde geniş bir kullanım alanına sahip olup birçok farklı amaçla avantajlı bir şekilde kullanılmaktadır. Bunlar; hastalığa özgü kromozom anomalisini belirleyerek tanı koymak, prognoz takibi yapabilmek, en kısa sürede sonuç vermek, mozaizm tanısı koyabilmek, çok sayıda metafaz ve/veya interfaz hücresinde analiz yapabilmektir.

KLL'de, malign B hücrelerini *in vitro* proliferasyona indüklemek zor olduğundan klasik sitogenetik çoğunlukla sonuçsuz kalmaktadır. Bu nedenle bu olgularda interfaz FISH analizi çok değerlidir. FISH ile yapılan çalışmalar sonucunda KLL hastalarının % 80'inde genomik aberasyonlar saptanabilmektedir.

Biz de ÇÜTF Hematoloji Anabilim Dalı'nda KLL tanısı ile izlenen veya yeni tanı almış olan hastalarda FISH yöntemi ile sitogenetik anomali sıklığını ve bu sitogenetik anomalilerin klinikle korelasyonunu araştırmayı amaçladık.

## 2.GENEL BİLGİLER

### 2.1. Kronik Lenfositik Lösemi

Kronik lenfositik lösemi (KLL) genellikle B (% 95) nadiren T hücre immunfenotipinde non reaktif lenfositlerin monoklonal birikimi ile karakterize bir neoplazidir. Hücreler kemik iliği, karaciğer, dalak, lenf nodları ve bazen diğer organlarda birikirler. KLL batı dünyasındaki en sık lösemi tipidir (olguların üçte biri) ve insidansı ABD’de 2,7/100.000 ve tüm dünyada 1-5,5/100.000’dir.<sup>1</sup> KML’nin iki katı kadar sıktır. Hastalık otuz yaşın altında çok nadirdir, hastaların çoğu atmış yaş üzerindedir. KLL insidansı yaş ile ekspansiyel olarak artar; 80 yaşında yıllık insidansı 100.000 kişide 20’e kadar yükselir. Erkeklerde kadınlardan 2,8 kat daha fazla gözlenir.<sup>2</sup>

#### 2.1.1. Etyoloji

**Çevresel ve Herediter Faktörler:** KLL hastalığının sebebi bilinmemektedir. Diğer hematolojik malignansilerin aksine iyonize radyasyon, kimyasal maddeler, toksik ilaç ve virusler KLL ile ilişkilendirilememişlerdir.

Çiftçilerde KLL insidansının diğer mesleklere göre fazla olması bitki ve böcek öldürücülerinin olası etyolojik rolünün sorgulanmasına yol açmıştır.

Yapılan bazı çalışmalarda KLL’li hastalarda normal populasyonla karşılaştırıldığında artmış HCV prevalansı saptanmış ve patogeneizde rolü olabileceği düşünülmüş.<sup>3,4</sup> Bazı çalışmalarda da EBV’un patogeneizde rol oynadığı ileri sürülmektedir.

Erkeklerde kadınlardan yüksek saptanması estrogenin KLL riskini azalttığını düşündürmekle beraber postmenapozol hormon replasman tedavisi alan hastalarda azalmış KLL insidansı gösterilememiştir.

KLL gelişiminde genetik faktörlerin rolü olduğu açıktır. Batı ülkelerinde erişkinlerde en sık gözlenen lösemi tipi olmasına rağmen asyada oldukça nadirdir. Amerika Birleşik Devletlerinde insidansı erkeklerde 3,9/100.000 ve bayanlarda

2/100.000'dir. Japonya ve Çin'deki asyalılardaki KLL insidansı ABD ve diğer batı ülkelerinin % 10'u kadardır. İspanik orjinli kişilerde de arada insidans oranları vardır. Uzak doğuda ise nadiren gözlenir.

Çoğu KLL vakası sporadik olmakla beraber birçok ailesel KLL vakaları bildirilmiştir. KLL'deki ailesel birikim diğer lösemilerden daha sıktır. KLL hastalarının birinci derecedeki yakınlarında daha genç yaşlarda KLL ve diğer lenfoproliferatif hastalık gelişme riski normal popülasyondan üç kat yüksektir; bunların ışığında familial KLL'li vakalarda bazı genetik faktörlerin erken lökomogenezde rolü olduğunu düşündürmektedir.

KLL'li hastaların yaklaşık yarısında Ig ağır zincir sekanslarının çoklu mutasyonları vardır. Vh genlerinde mutasyon olan hastalarda CD38 ekspresyonu düşük; mutasyon olmayanlarda ise CD38 ekspresyonu çoktur. KLL hücrelerindeki Vh genlerindeki mutasyon ve düşük CD38 ekspresyonu yavaş seyirli ve iyi bir prognozla ilişkilidir.

### 2.1.2. Patogenez Ve Sitogenetik

KLL kronik lenfoproliferatif hastalıklardan biridir. Günümüzdeki WHO sınıflamasına göre B hücreli KLL matur(periferal) B-hücreli küçük lenfositik lenfoma (SLL) ile aynıdır (Tablo 1).<sup>5</sup>

Bu hastalık orjin olarak monoklonal olan fonksiyon olarak yetersiz lenfositlerin birikimi ile karakterizedir.

**Tablo 1: REAL/WHO Klasifikasyonu**

<b>B-hücreli Neoplazmlar:</b>
I. Prekürsör B-hücreli neoplazmlar: prekürsör B-akut lenfoblastik lösemi/lenfoblastik lenfoma(B-ALL, LBL)
II. Periferal B-hücreli neoplazmlar :
A. B-hücreli kronik lenfositik lösemi/küçük lenfositik lösemi
B. B-hücreli prolenfositik lösemi
C. Lenfoplasmositik lenfoma/immunositoma
D. Mantle hücreli lenfoma
E. Foliküler lenfoma
F. Extranodal marjinal zon B-hücreli lenfoma-Maltoma tipi
G. Nodal marjinal zon B-hücreli lenfoma (+/- monositoid B hücreler)
H. Splenik marjinal zon lenfoma (+/- villöz lenfatikler)
I. Hairy cell lösemi

**Tablo 1 devamı**

J.Plasmositoma/ plasma hücreli myeloma
K.Diffüz büyük hücreli lenfoma
L.Burkit lenfoma
<b>T-Hücreli ve Natürel Killer(NK) hücreli neoplasmlar:</b>
I.Prekürsör T-hücreli neoplazmlar: prekürsör T-akut lenfoblastik lösemi/lenfoblastik lenfoma(T-ALL, LBL)
II.Periferel T-hücreli ve Natürel Killer hücreli neoplasmlar
A.T-hücreli kronik lenfositik lösemi/ prolenfositik lösemi
B.T hücreli granüler lenfositik lösemi
C.Mycosis fungoides/Sezary sendromu
D.Periferel T hücreli lenfoma,
E.Hepatosplenik gamma/delta T-hücreli lenfoma
F.Subkutanöz pannikülit benzeri T-hücreli lenfoma
G.Anjioimmunoblastik T-hücreli lenfoma
H.Ekstranodal T-/NK hücreli lenfoma, nazal tip
I.Enteropati tipi intestinal T-hücreli lenfoma
J.Eriskin T-hücreli lenfoma / lösemi (HTLV 1+)
K.Anaplastik büyük hücreli lenfoma, primer sistemik tip
L.Anaplastik büyük hücreli lenfoma, primer kutanöz tip
M.Agresif NK-hücreli lösemi

**İmmunobiyojji:** Önceleri KLL hücrelerinin büyük kısmının hücre siklusunun G0 fazında olduğu, % 1'den daha azının *in vitro* spontan mitoz ile çoğalarak, uzun ömürlü lenfositlerin akumülasyonundan oluşan bir hastalık olarak düşünülürdü. Hakikaten KLL'de malign hücreler apoptoza dirençlerinden dolayı birikir. KLL'de apoptoz direnç mekanizması bcl-2 overekspresyonunu ve toso gibi fas inhibitör molekülleri içerir.<sup>6</sup> Ancak *in vivo* kinetik çalışmalar hastalarda büyük hücreli proliferasyon ve ölüm oranlarını ortaya çıkarmıştır. Hücreli doğum oranı >% 0,35/gün olan hastalar daha düşük hücreli doğum oranı olan hastalara göre aktif hastalığı veya progresif hastalık geliştirmeye yatkın bulunmuştur.<sup>7</sup>

Morfolojik olarak KLL hücreleri normal periferik kanda görülen matur küçük lenfositlerle benzerdir. Ancak KLL lenfositleri B hücre diferansiyasyon yolunun pre B hücrelerinden matur B hücreli gelişimi ara basamağında arrest olmuş klonal B hücreleridir.(Muhtemelen aktive edilmiş antijen sunulmuş B hücre alt gubu)<sup>8-10</sup>

**B-KLL Lenfositlerinin Normal Kopyaları:** B-KLL'de hücre yüzey markerlarının kombinasyonunun patofizyolojik anlamlarına karar vermek için birçok çalışma yapılmıştır. CD5 pozitif B hücreleri (monoklonallik dahil neredeyse tamamen B-KLL hücrelerinin listenen özelliklerini taşırlar) normal insan fetusunun dalağında ve lenf nodlarında, lenf nodlarının germinal merkezlerinin kenarında<sup>11-13</sup> ve hatta normal

erişkinin periferik kanında dahi bulunur.<sup>14,15</sup> En yaygın B-KLL fenotipi lenf nodlarının mantle bölgesindeki hücresel gruplara benzer. Buna ek olarak periferik kandaki normal B hücrelerinin % 15'i CD5 eksprese eder.<sup>16</sup>

CD5+ B hücreleri romatoid artrit gibi otoimmün hastalıkları olan hastalarda da yüksek oranda bulunur.<sup>17</sup> Bu gözlem KLL ile de ilişkilidir; çünkü KLL de hala açıklanamamış gözüken artmış coombs pozitifliği ve diğer otoimmün fenomenlerin mekanizması olabilir. KLL vakalarının % 25'i lenfosit yüzeyinde kappa hafif zinciri taşır. Lösemik hücreler bu spesifik kappa genine karşı oluşan antikor ile reaksiyon verir (çapraz reaktif idiotip).<sup>18-20</sup> Otoimmün hastalarda ve KLL'de kappa gen düzenlenmesinin analizi ile kappa genlerinde sekans homolojisi saptanmıştır. Bu gözlemler CD5+ B hücrelerinin spesifik alt gruplarının B-KLL hücrelerinin normal benzerleri olabileceğini gösteriyor.<sup>18-20</sup> KLL hastalığı olmayan kişilerde otoantikor salan CD5+ B hücresi ile B-KLL hücrelerin her ikisinin de IgV genlerinin sınırlanmış ekspresyon göstermesi B-KLL'nin oto antikor üreten normal B hücrelerinden orijin aldığını düşündürür.<sup>21,22</sup> Normal insan CD5+ hücrelerinin küçük bir alt grubunun kan ve lenf nodları arasında dolaşan, genellikle mantle bölgesinin iç halkasında yer alan uzun yaşayan bir populasyon olduğu düşünülür. Bu hücreler belki de neoplastik B-KLL hücrelerinin normal benzerleridir.<sup>23</sup>

**KLL'de T Hücreleri ve Natural Killer Hücreleri:** B-KLL'de tüm lenfositlerinin % 90'nını B hücreleri oluşturduğundan T hücreleri ve naturel killer (NK) hücrelerinin oranı oldukça azdır. Net T hücre sayısı yüksek normal veya düşük olabilir ve T hücre fonksiyonu da net T hücre sayısı ile ilişkidir. Buna ek olarak NK hücreleri hem sayı hem de fonksiyon olarak azalmıştır.

B-KLL hastalarında ayrıca klasik T hücrelerinden daha düşük düzeyde CD4 ve CD8 eksprese eden alışılmamış T hücre subgrupları izlenir ki bunların klasik olmayan T hücre gelişim basamaklarından köken aldığı veya malign B hücre populasyonu ile direk etkileşimi ile oluştuğu düşünülür.<sup>24-26</sup>

**KLL'de Defektif T ve B Hücrelerinin Klinik Sonuçları:** KLL'de hipogamaglobulinemi sıktır ve hastaların % 25'inde otoimmün hastalıklar gözlenir.<sup>20,27</sup> KLL'de gözlenen otoimmün fenomenler; coombs pozitif otoimmün hemolitik anemi (OIHA), immün trombositopenik purpura (ITP) ve saf kırmızı küre aplazisidir (PRCA).<sup>28,29</sup>

Yapılan bir çalışmada KLL'li hastaların % 11'inde OİHA görülmüştür (genellikle yaygın hastalıkta). ITP ve PRCA sırasıyla % 2-3 ve 6 oranlarında saptanmıştır.<sup>28</sup>(genellikle erken hastalıkta) otoantikorların lösemik klon tarafından oluşturulduğu düşünülmektedir.<sup>30</sup>

Otoimmün hastalıklara ek olarak KLL hastaları spesifik hastalıklara ve aşılarla defektif antikor cevabı gösterirler.<sup>31</sup> KLL de gram negatif bakteriler ve kapsülsüz organizmalar morbidite ve mortalitenin en sık sebebidirler.<sup>32,33</sup> *In vitro* çalışmalar B-KLL hücrelerinin CD95 ile etkileşime geçerek normal Kİ plazma hücrelerinde antikor üretimini inhibe ettiğini göstermektedir.<sup>34</sup>

**Moleküler Genetik:** Bir protoonkogen olan bcl2 ve bir tümör supresör gen olan p53 B-KLL hücrelerinin davranışına katkıda bulunur.

**Bcl-2 protoonkogen:** Önceleri bcl-2 ekspresyonunun hematolojik malignensiler arasında özellikle foliküler lenfoma ve bazı vakalarda diffüz büyük B hücreli lenfoma da eksprese olduğu sanılmaktaydı. Bu hastalarda 18q21 de yer alan bcl-2 ile 14q32'de yer alan Ig ağır zincir lokusunun yanyana olduğu bir kromozomal translokasyon t(14,18) mevcuttur.<sup>35</sup> Ancak B-KLL'li hastaların % 95'inde bcl-2 eksprese olurken t(14-18)' i taşıyan lenfomalarda benzer miktarda (% 70) klasik transformasyondan farklı mekanizmayla bcl2 ekspresyonu bulunmaktadır.B KLL'de CD5+ B hücrelerinde bcl2 bulunurken, normal CD5+ B hücrelerinde bulunmaz. Bcl-2 programlı hücre ölümünü suprese eden protoonkogenler arasında tektir. Bu da hastalığın moleküler düzeyde açıklanmasını sağlamıştır. 1960'lı yıllarda KLL'nin uzun yaşam süreli lenfositlerin birikmesi ile oluştuğu düşünülmekteydi. Daha sonra yapılan *in vitro* çalışmalar yüksek seviyedeki bcl-2 proteininin lenfositlerin uzun yaşam süresi ile ilişkili olduğunu göstermiştir. B hücreli KLL hücrelerinin uzun yaşam sürelerini belirleyen bir başka faktörde fonksiyonel ve indüklenbilir nitrik oksid sentataz (İNOS) ekspresyonudur.<sup>36</sup> Bu hücrelerde eksprese edilen CD23 ligasyonu İNOS ekspresyonu ve aktivitesi ile sonuçlanır. Bu da antiapoptotik etki göstermektedir.

**P53 tümör supresör gen:** p53 kromozom 17'in kısa kolunda bulunan tümör supresör gendir. Birçok malignenside delesyon ve/veya nokta mutasyonu ile inaktive olur. Wild tip p53 geni apoptozu tetikler ve hücrenin S fazına girmesinde düzenleyici olarak görev alır. KLL hastalarının % 10-47'sinde p53 gen mutasyonu gösterilmiştir.<sup>37-</sup><sup>42</sup>p53 gen delesyonu olmayan hastalarla olan hastalar karşılaştırıldığında; p53 gen

delesyonu olan hastalarda sağkalım süresi kısalmıştır.<sup>40,41</sup> 181 KLL hastanın alındığı bir çalışmada p53 gen delesyonu olmayan hastalarla olan hastalarda karşılaştırılmış, yaşam süresi p53 eksprese eden hastalarda anlamlı olarak azalmıştır ve tedaviyede daha az cevap vermişlerdir.<sup>41</sup> Farklı bir çalışmada klorombusil ve/veya CHOP ve/veya fludarabine kemoterapisine cevap karşılaştırılmıştır. p53 mutasyonu bulunan 8 hastanın birinde (% 13) tedaviye cevap alınırken; p53 mutasyonu olmayan 36 hastada (% 80) tedaviye cevap alınmıştır.<sup>41</sup>

**MicroRNA:** Yeni yapılan çalışmalarda küçük, kod taşımayan microRNA'lar kanser apoptozu ve hücre metabolizmasında post transkripsiyonel aşamadaki genlerin ekspresyonunu programladıkları gösterilmiştir. 56 KLL'li hastada yapılan bir çalışmada microRNA'ların KLL ile ilişkili olabileceği gösterilmiştir. Bu çalışmada iki microRNA (miR21 ve miR155) ekspresyonunun artmıştır.<sup>43</sup> miRNA transkripsiyonu mutasyonu sıklığı KLL ve diğer ilişkili malignensi gelişimine yatkın bulunmuştur.<sup>44-46</sup>

### 2.1.3. Klinik Belirtiler

KLL'li hastaların çoğu semptomsuzdur ve % 40 hastada hastalık tanısı diğer hastalıkların değerlendirilmesi sırasında veya rutin fizik muayene yapıldığında periferik kanda mutlak lenfositoz ile konur. Yorgunluk, halsizlik, iştahsızlık, kilo kaybı ve egzersiz toleransının azalması gibi semptomlar spesifik değildir. Bu özellikler özellikle yorgunluk bazen aneminin derecesi ile veya tümör kitlesinin yaygınlığı ile açıklanamayacak derecede fazladır. Birçok hastanın kendileri veya başkalarının saptanan büyümüş lenf nodları (genellikle servikal) vardır. Ateş, gece terlemesi ve dökümente edilen enfeksiyonlar ilk semptomlar olarak nadirdir (<% 5), ama hastalık ilerledikçe daha belirgin olur. Hastalığın erken dönemlerinde sinopulmoner enfeksiyonlar görülür ama hastalık ilerledikçe nütropeni sıklığının, T hücre yetersizliğinin ve hipogamaglobulineminin artmasının sonucu olarak gram negatif bakteriyel fungal ve herpes zoster, herpes simplex gibi viral enfeksiyonlar sık görülebilir. CMV enfeksiyonları genellikle hastalığın ilerlemiş dönemlerinde özellikle purin analogları veya T hücrelerini azaltan alemtuzumab gibi tedavilerden sonra görülür.

Major fiziksel bulgular retikuloendotelyal sistemin infiltrasyonu ile ilgilidir. Birbirinden ayrı lastik kıvamında mobil lenf nodları teşhis esnasında hastaların üçte ikisinde vardır. Lenf nodlarının büyüklüğü değişkendir. Hastalığın ilerleyen dönemlerinde masif adenopati gelişebilir ve tıkanma sarılığı, tıkanma üropatisi, disfaji veya kısmi barsak tıkanıklığı gibi lümen obstruksiyonuna sebep olabilir. Lenfatik ve/veya venöz sistemin tıkanmasına bağlı olarak tek ve ya çift taraflı bacak ödemi görülebilir.

Karaciğer ve dalak büyüklüğü teşhis esnasında daha nadirdir (sırasıyla olguların % 10 ve % 40'ında saptanır). Bazen splenomegali hipersplenizmle seyrederek anemi ve trombositopeniye neden olabilir. KLL'deki sitopeniler otoantikörlere veya kemikiliğinin masif tutulumuna da bağlı olabilir. Hepatomegali nadiren karaciğerin tümörle infiltrasyonuna bağlı olarak büyüyebilir. Visseral damarların tutulumuna veya bilier sarılığa bağlı hepatik fonksiyonlar bozulabilir.

KLL'ye bağlı diğer organ infiltrasyonları genellikle semptom vermez ve otopsi ile tanı konur. Örneğin renal parankimin lösemik infiltrasyonu postmortem olarak % 50 vakada saptanmıştır; buna rağmen KLL'de renal fonksiyon kaybı çok nadirdir.

Lösemik hücre infiltrasyonları ancak önemli lokalizasyonlarda bulgu verebilir. Retroorbital bölgedeki infiltrasyonlar propitoza neden olarak semptom verebilir. Lenfoid doku saçlı deri, subkonjonktiva, prostat, gonad veya farinkstede gelişebilir; farinksteki tutulumuna bağlı olarak hastalar hava yolu obstruksiyonları ile başvurabilir.

KLL'nin santral sinir sistemi infiltrasyonu nadirdir. Santral sinir sistemi semptomları kriptokok ve listeria gibi fırsatçı infeksiyonlara bağlıdır.

Perikard tutulumuna bağlı konstruktif perikardit veya perikardiyal tamponatla başvurabilir.<sup>47</sup>

KLL infiltrasyonuna bağlı organ yetersizliği nadirdir. En sık pulmoner semptomlar klinik problem çıkarabilir. Lösemik hücreler nadiren akciğer parankimini tutabilir ve direk akciğer grafisinde görülebilen milier veya nodüler tutulum yapabilir. Akciğer fonksiyon testleri bozulabilir. Respiratuvar hava yollarındaki mukozada tutulabilir. Plevral lösemik infiltrasyona bağlı hemorajik veya eksudatif plevral efüzyon görülebilir. Bu tutulum kötü prognozla ilişkilidir.<sup>48</sup>

Gastrointestinal sistem lösemik hücreler ile tutulabilir ve bu durum ülserasyona, gastrointestinal kanamaya, malabsorsiyona sebep olabilir.

#### 2.1.4.Laboratuvar Bulguları

**Periferik kan bulguları:** Normal periferik kan lenfosit sayısı  $4,5 \times 10^6/L$ 'nin altındadır. KLL periferik kanda lenfositoz ile karakterizedir. KLL tanısı için minimal olarak  $5000/\mu L$ 'den fazla lenfosit sayısı gerekmektedir. Genellikle  $25000-150000/\mu L$  arasındadır.  $1000.000/\mu L$ 'ye yaklaşan aşırı lökositoz hastalığın ileri dönemlerinde olur ama lökosit sayısı  $500.000/\mu L$  üstünde değilse hipervizkozite semptomları görülmez. Kandaki malign hücreler matur lenfositler şeklindedir. Ancak büyük, plasmoid, yarılmış ve prolenfosit şeklinde de olabilir. Periferik kanda görülen bu yırtılmış hücreler basket hücreleri olarak adlandırılır. Eğer lenfosit sayısı  $5000-15000/\mu L$  arasında ise tanı konulması için klonalite (kapa ve lamda hafif zincir fazlalığı veya immunglobulin gen yeniden düzenlenmesi) bulgusu olması gerekir. Birçok doktor kemik iliğindeki lenfositozu (lenfositler  $> \% 30$ ) da dökümente eder ve kemik iliği biyopsisi yapar. Teşhis esnasında hastaların  $\% 15-20$ 'sinde anemi ( $Hb < 11 \text{ gr/dl}$ ) ve  $\% 10$ 'nunda trombositopeni (trombosit sayısı  $< 100000/\mu L$ ) vardır. Olguların çoğunda anemi ve trombositopeniye kemik iliği infiltrasyonu ve hipersplenizm bir arada katkıda bulunur. Anemi genellikle normokromik ve normositiktir. Hastada sıcak IgG antikorlarının gelişmesine bağlı otoimmün hemolitik anemi yoksa retikulosit sayısı normaldir. Olguların  $\% 8-10$ 'unda görülen otoimmünhemolitik anemi tanısı pozitif direk coombs testi (olguların  $\% 80-90$ 'ı) retikulositoz, düşük serum haptoglobulini ve artmış serum indirek bilirubin düzeyi ile konfirme edilir. Bu hastalarda kemik iliğinde hemolize cevap olarak gelişen reaktif eritrositer hiperplazi belirgin trombositik infiltrasyona bağlı olarak maskelenebilir. KLL'de soğuk aglutinin hemolizi nadiren olur. Bazı hastalarda trombosit antikorları ile otoimmün trombositopeni (immün trombositopenik purpura) tanısı konur. Eritrosit ve trombositleri yıkan antikorlar KLL hücreleri tarafından oluşturulmaz ve otoimmün hastalıkların mekanizması bilinmemektedir. Nutrisyonel beslenme bozukluğuna bağlı B12, folik asit, demir eksikliğine bağlı anemi de gelişebilir. T supresör hücre aktivitesi ile ilişkili saf eritrosit aplazisi KLL'de göz ardı edilen diğer bir anemi sebebidir.

**Kemik iliği bulguları:** KLL'deki lenfositler ışık ve elektron mikroskopisinde normal küçük B lenfositlerden ayırt edilemez. Kemik iliği aspirasyonunda lenfositlerin oranı  $\% 30$ 'dan fazladır ve yeni tanı konan hastalarda  $\% 100$ 'lere kadar çıkabilir. Geri kalan hücreler normal myeloid ve eritroid hücrelerdir.

**Lenf nodu bulguları:** Lenf nodu yapısı periferik kandaki lösemik hücrelerin lenf nodunu diffüz infiltre etmesi şeklinde görülür. Lenf nodunun histolojisi küçük lenfositik lenfoma ile aynıdır. Bazı nadir vakalarda Hodgkin lenfoma için tipik olan Red-Steinberg hücreleri görülebilir.

**İmmunolojik bulgular:** Hemen her zaman için KLL tek bir B lenfositin malign transformasyonu ve klonal ekspansiyonu sonucu gelişir. Klonalite hücre membran yüzeyindeki kappa veya lamda hafif zincirlerinden herhangi birinin ekspresyonu ile doğrulanmalıdır. KLL hücreleri genellikle CD19, CD20, CD21, CD23 ve CD24 gibi B hücre markırlarını bulundurlar. CD22 ve transferin reseptörü gibi normal B hücrelerinde bulunan yüzey markerları ise KLL hücrelerinde nadiren bulunur. B-KLL’de genellikle CD5 pozitifliği tipik olmasına rağmen % 5 vakada CD5 negatif bulunmaktadır. FMC7 Tüylü Hücreli Lösemide ve Prolenfositik lösemide kuvvetli bir şekilde ekspresedir ve KLL’li vakaların % 16’sında pozitif boyanır. Genel olarak FMC7 pozitif vakalar daha yüksek yüzey IgM seviyeleri , düşük CD23 ekspresyonu ve kötü prognozla ilgilidir. KLL’li hastalarda myelomonositik antijenlerin varlığı (CD11b ve CD13) diffüz kemik iliği tutulumu, CD5 negatifliği ve kötü prognozla birliktedir. CD5 negatif KLL hastalarında CD5 pozitif hastalara göre sıklıkla FMC7 pozitif, CD23 negatif, CD11b pozitif, CD13 pozitif bulunmakta ve daha kötü prognozla seyretmektedir. CD5 antijeni genellikle matur T hücrelerinde bulunur ve timositler üzerinde zayıf ekspresyon gösterir. Lenfoid follüküllerin mantle bölgesinde normal B hücrelerinde de CD5 antijeni bulunmasına rağmen bazen periferik kanda da bulunabilir. CD5’in T hücre aktivasyonunda rol aldığı bilinmektedir. Ancak B lenfositlerdeki fonksiyonu halen bilinmemektedir. İlginç olarak normal CD5+ hücrelerin aksine KLL hücreleri normal antijenik lenfositlerin bir özelliği olan düşük yüzey immunglobinlerine sahiptirler. Bu karakteristik özelliğe dayanılarak B-KLL hücresinin otoantikor üretimi yapan anerjik self-reaktif hücrelerin karşılığı olduğu söylenebilir.

Hipogamaglobulinemi KLL’de siktir ve özellikle kapsüllü mikroorganizmalara bağlı enfeksiyonlara zemin hazırlar. Düşük IgG ve IgA veya IgM düzeyleri yeni tanı konulan hastaların % 25’inde görülür. İleri evrelerde daha siktir ve hastalık ilerledikçe sıklığı % 50-70’e artar.

## 2.1.5. Tanı, Evrelendirme ve Ayırıcı Tanı

### 2.1.5.1. Tanı ve Değerlendirme

Uluslararası KLL çalışma grubu ve ulusal Kanser enstitüsü (NCI) çalışma Grubu tarafından tanı kriterleri tanımlanmıştır (Tablo2).<sup>55</sup>

**Tablo 2: KLL'de NCI-WG ve IW-CLL tanı kriterleri**

KRİTER	NCI-WG	IWCLL
Periferik Kan Lenfositleri( $10^9/L$ )	>5	Belirtilmemiş
Morfoloji	Belirtilmemiş	Görülebilir çekirdeksiz küçük olgun lenfositler, smudge hücreler karakteristiktir.
İmmunfenotip	Diğer bütün T-hücrelerin yokluğunda $\geq 1$ B-hücre markeri (CD19, CD20 veya CD23) ve CD5 pozitifliği	Diğer bütün T-hücrelerin yokluğunda $\geq 1$ B-hücre markeri (CD19, CD20 veya CD23) ve CD5 pozitifliği
	$\kappa$ veya $\lambda$ zincirinin monoklonal salınımı	$\kappa$ veya $\lambda$ zincirinin monoklonal salınımı
	düşük dansite yüzey Ig	düşük dansite yüzey Ig
Tipik Olmayan Hücreler (örneğin prolenfositler)	<%55 ve/veya $<15 \times 10^9/L$	<%55 ve/veya $<15 \times 10^9/L$
Lenfositöz Süresi	Gerekli değil	Belirtilmemiş ancak kronik olması için gerekli
Kemik İliği Lenfositleri(%)	$\geq 30$	Kemik iliği muayenesi gerekli değil.
NCI-WG: National Cancer Institute-sponsor Work Group IWCLL : International Workshop on Chronic Lymphocytic Leukemia		

**Patolojik özellik:** KLL'den şüphelenilen hastalarda ayırıcı tanıya varmak için tam kan sayımı, periferik yayma ve periferik kandaki lenfositlerin flowsitometresi gerekmektedir. Hastalık tanısı için lenf nodu ve kemik iliği biyopsisi gerekli değildir. Kromozomal anormalliklerde teşhiste gerekli değildir.

**Morfoloji:** KLL'li hastaların periferik kan yaymasında lenfositöz mevcuttur. Lösemik hücreler tipik olarak küçük matur görünümlü, dens nukleusu bulunan kısmi olarak kromatin ağı seçilen, nukleolusun görülmediği lenfositler olarak görülür. Lenfositlerin dar bir bazofilik sitoplazması mevcuttur. Ek olarak hücreler büyük, plazmoid, yarılmış ve prolenfosit şeklinde de olabilir. Fransız-Amerikan-İngiliz sınıflandırmasında hastalık atipik hücrelerin oranlarına göre 3 gruba ayrılır:

- 1-Tipik KLL . Hücrelerin % 90'dan fazlası olgun görünümlü lenfosit
- 2-Prolenfositik lösemi: Hücrelerin % 11-54'ü prolenfosit
- 3-Atipik KLL: Heterojen morfolojiye sahip lenfositler, prolenfositlerin oranı % 10'un altında

**İmmunfenotip:** KLL teşhisinde immunfenotip anahtarlardan biridir. Üç major immunfenotipik özellik mevcuttur:<sup>49,50</sup>

1-Bir veya daha fazla B hücre ilişkili antijenlerin ekspresyonu (CD19, CD20, CD21, CD23 ve CD24)

2-Oldukça düşük düzeylerde yüzey Ig ( sıklılla SmIg veya sIg) Ig genellikle IgM veya IgM ve IgD nadiren de IgG olarak da görülür. Sadece bir immunglobulin kısa zinciri eksprese olur (ya kappa ya da lamda)

3-CD5 ekspresyonu (bir Tcell antijeni)

Ek olarak hücrelerde cyclin D1 ve CD10 negatiftir. CD22, FMC7 ve CD79b'de genellikle negatiftir veya zayıf eksprese edilir.<sup>51</sup>

**Kemik iliği aspirasyon ve biyopsisi:** KLL tanısını koymak için kemik iliği biyopsisi gerekmemektedir eğer tanı anında yapılırsa lenfosit oranının % 30'dan fazla olduğu hiperselüler kemik iliği gözlenir. Kemik iliğinde lenfositlerin infiltrasyon şekline göre 3 tipe ayrılır; İntertisyel, nodüler ve diffüz patern. Diffüz paterne sahip hastalar nodüler ve intrtisyel paterne sahip hastalar göre daha kötü prognoza ve ileri evre hastalığa sahiptir.<sup>52-54</sup> Bununla birlikte KLL için diğer prognostik faktörler tanımlandıktan sonra kemik iliği biyopsi paterninin değeri açık değildir.

**Lenf Nodu Biyopsisi:** Lenf nodu yapısı periferik kandaki lösemik hücrelerin lenf nodunu diffüz infiltre etmesi şeklinde görülür. Lenf nodunun histolojisi küçük lenfositik lenfoma ile aynıdır. Hastalarda anemi, nötropeni, trombositopeni bulguları yoksa ve periferik kanda 5000/microL den az lenfositoz varsa tanı KLL/SLL olarak tanımlanır. Bazı nadir vakalarda Hodgkin lenfoma için tipik olan Red-steinberg hücreleri görülebilir.

### 2.1.5.2. Evrelendirme

1970'lerin ortalarına kadar herhangi bir evreleme sistemi yokken zaman içinde çeşitli evreleme sistemleri tanımlanmış. Dünyada yaygın olarak iki majör klinik evreleme sistemi kullanılır:

Rai evreleme sistemi (1975) Lösemik hücrelerin vücuddaki progresif yayılım esasına dayanan bir evreleme sistemidir. Beş evre tanımlar ve en sıklıkla ABD’de kullanılır. Rai evreleme sistemine göre hastaların % 25’i ilk tanı anında evre 0, % 50’si evre 1 veya 2, % 25’i ise evre 3 veya 4’dedir. Rai sınıflamasına göre ilk tanı anındaki evresine göre ortalama yaşam süresi: Evre 0 -150 ay; evre 1 -101 ay; evre 2-71 ay; evre 3 ve 4 -19 aydır.<sup>56</sup>

1980’lerde Rai ve meslektaşları evreleme sisteminde evre 1 ve 2 ile 3 ve 4 arasında klinik ve biyolojik fark olmadığından evreleme sistemini modifiye ettiler (Tablo3):<sup>57</sup>

**Tablo3.Modifiye Edilmiş Rai Evreleme Sistemi**

Risk Düzeyi	Evre	Klinik Özellikler	Ort. Yaşam Süresi(yıl)
Düşük	0	Sadece lenfositoz (kanda veya kemik iliğinde)*	10
Orta	I	Lenfadenopati ile lenfositoz*	7
	II	Splenomegali ve/veya hepatomegali ile birlikte lenfositoz*(Lenfadenopati eşliğinde veya olmadan)	7
Yüksek	III	Anemi ** (hemoglobin <11g/dL) ile birlikte lenfositoz*	
		(Lenfadenopati, splenomegali veya hepatomegali eşliğinde veya olmadan)	1,5 - 4
	IV	Trombositopeni**(platelet <100x10 <sup>9</sup> /L) ile lenfositoz (anemili veya anemisiz ve/veya lenfadenopati, splenomegali veya hepatomegali eşliğinde veya olmadan)	1,5 - 4
* >5x10 <sup>9</sup> /L Lenfosit periferik kanda ve kemik iliğindeki çekirdekli hücrelerin >%30’unu içeren.			
** Immun-mediated anemi veya trombositopeni hariç.			

Binnet sistemi (1981) ise üç evre tanımlar ve en sık avrupada kullanılır. Binet evreleme sistemi ve ortalama yaşam süreleri aşağıdaki gibidir (Tablo4).

**Tablo4.Binet Sınıflandırması**

Evre	Klinik Özellikler	Ort. Yaşam Süresi (Yıl)
A	<3 nodal içeren** bölge ile birlikte Lenfositoz (kanda veya kemik iliğinde)* Anemi veya trombositopeni yok.	12
B	≥3 nodal içeren** bölge ile birlikte Lenfositoz*; splenomegali ve/veya hepatomegali eşliğinde veya olmadan.	7
C	Anemi*** (hemoglobin erkeklerde <11g/dL, kadınlarda <10g/dL) ile birlikte Lenfositoz*, nodal içeren bölgelerin sayısına, splenomegali veya hepatomegaliye bakılmaksızın trombositopeni*** (platelet <100x10 <sup>9</sup> /L)	2 - 4

\* >5x10<sup>9</sup>/L Lenfosit periferik kanda ve kemik iliğindeki tüm çekirdekli hücrelerin >%30'unu içeren.  
\*\* Her bir boyun, koltukaltı, kasık bölgesi (tek veya çift taraflı), dalak ve karaciğer bir bölge sayılır.  
Bundan dolayı nodal bölgelerin sayısı 1'den 5'e kadar değişir.  
\*\*\*Immün-mediated anemi veya trombositopeni hariç.

Her iki sistemin basitlik düşük maliyet ve tekrarlanabilirliği vardır ve her ikisinde prospektif olarak geçerliliği gösterilmiştir. Her iki evreleme sisteminin bazı eksik tarafları da mevcuttur. Herhangi bir evrede bulunan hastalar arasından hastalığı progresif olabilecek hastaların yavaş seyredecek olgulardan ayırımında yeterli olmazlar. Örneğin immünsitopeniler ayrı bir kategoride değerlendirilmezler. Rai ve Binet evreleme sistemleri bir dönem birbirlerine entegre edilerek kullanılmak istense de bu yöntemde geniş kullanım alanı kazanmamıştır.

Evreleme sistemindeki bu yetersizlikler klinisyeni farklı prognostik faktörleri belirlemeye itmiştir. Yaş, performans statüsü ve cinsiyetle yapılan çalışmalarda sonuçlar değişkendir. Başka birçok prognostik faktör belirlenmiş olmasına rağmen tedavi ve KLL yönetim klavuzları lenfotik ikilenme zamanı ve sitogenetik anomalileri esas almaktadır.

### 2.1.5.3. Ayırıcı Tanı

KLL tanısını koymak nisbeten kolay olmakla birlikte asıl zorluk birbiri ile yakın ilişkili bir çok hastalıktan ayırıcı tanısını yapmaktır. İmmünofenotiplendirme ve sitogenetik çalışmalar ayırıcı tanıda yararlı olmaktadır Tablo5'te KLL ayırımında kullanılan yüzey markerları ve ayırıcı tanı listesi mevcuttur.

**Tablo 5: Kronik Lenfositik Lösemi Ayırımında Kullanılan Yüzeysel Markerlar:**

Hastalık	sIg	CD2	CD3	CD4	CD5	CD7	CD8	CD19/20/24	CD23	CD22	CD10	CD25	CD38
Kronik Lenfositik Lösemi	Zayıf	-	-	-	++	-	-	++	++	±	-	-	-
Prolenfositik Lösemi	Güçlü	-	-	-	±	-	-	++	±	++	±	-	-
Hairy Cell Lösemi	Güçlü	-	-	-	-	-	-	++	-	++	-	++	±
Foliküler NHL'nın Lösemik Fazı	Güçlü	-	-	-	-	-	-	++	-	+	+	-	±
Mantle Cell Lenfoma	+	-	-	-	++	-	-	-	-	-	-	-	-
T-Cell KLL	Negatif	++	++	+	++	+	-	-	-	-	-	-	-
Sezary Sendromu	Negatif	++	++	++	++	-	-	-	-	-	-	-	-

sIg: yüzeysel İmmünglobin; +:Lösemide hücrelerin >%40'ında pozitif marker insidansı; ++: %80-100; ±: %10-40; -: %0-9 (vakaların)

**Lenfositozun infeksiyöz nedenleri:** Bir çok hastalık lenfositoz yapabilir: Boğmaca, sitomegalovirus (CMV), ebsteinbar virus mononukleoz, tüberküloz, toksoplazma, kronik inflamatuvar hastalıklar ve otoimmün sendromlar. Bu durumlar yüzeysel olarak KLL'ye benzese de klinik tablolar nadiren B hücreli KLL ile karışır. Bu hastaların çoğu daha gençtir, daha az veya başka akut semptomları, döküntü ve eklem bulguları gibi KLL'de sık olmayan diğer klinik özellikleri vardır. Lenfositoz (genellikle <15000/µL) sürekli değildir. Bu hastalarda kemik iliğinde lenfositoz tespit edilmez. Eğer şüphe varsa immunfenotiplendirme ve monoklonal çalışmalar KLL'deki lenfositozu diğer hastalıklardaki poliklonal B hücre proliferasyonundan ayırır.

Prolenfositik lösemi, villöz lenfositli splenik lenfoma, hairy cell lösemi, mantle hücreli lenfomanın lösemik fazı, Waldenström makroglobulinemisi ve T hücreli KLL gibi diğer lenfoproliferatif hastalıkların ayırıcı tanısını yapmak daha zordur. Bu bozuklukların bazılarında belirli klinik özellikler (ör, prolensositik lösemi, splenik lenfoma ve saçlı hücreli lösemide belirgin splenomegalinin yanında lenfadenopatinin minimal olması veya hiç olmamasına karşın KLL'de splenomegali olup/olmadan lenfadenopatinin olması) daha sık da olsa bu klinik özelliklerin hiçbiri spesifik değildir. Ayırıcı tanı bu nedenle büyük oranda histopatolojik ve daha spesifik olarak immunfenotipik özelliklere dayanır.

**a) Prolenfositik lösemi (PLL):** Nadir bir hastalıktır. (KLL insidansının < % 5'i), masif splenomegali, minimal lenfadenopati ve lökosit sayısının 100.000/ $\mu$ L üstünde olup hücrelerin % 10-90'nının prolenfosit olması gibi özellikleri bu hastalığı tipik B hücreli KLL'den ayırır. Prolenfositler KLL lenfositlerinden daha büyüktür, farklı bir nukleolusları vardır ve genellikle FMC-7 pozitiftir<sup>58,59</sup> Erkek:kadın oranı 4:1 ve tanı esnasında ortalama yaş 70'dir. Sağkalım KLL'den (median 3 yıl) kısa ve KLL tedavisine cevap kötüdür. Olguların üçte birinde IgG ve IgA tipinde monoklonal bant vardır. Hücre yüzeyindeki immunglobulinler IgG veya IgA tipindedir ama KLL'de olduğu gibi IgM±IgD değildir. Prolenfositik lösemide t(11;14); 8q13;q32 gibi birçok karyotipik bozukluklar vardır. 11q3,23 ve 17p delesyonları B hücreli PLL'de KLL'den daha siktir. B hücreli PLL'sinin % 75'inde p53 bozuklukları bulunur. PLL'lerin beşte biri T-hücre fenotipindedir. Ayrıca PLL'de CD5 eksprese edilmez.

**b) Monoklonal B hücreli lenfositozis (MBL):** Periferik kanda 5000/microL'yi aşmayan lenfositoz ve lenadenopati, sitopeni, organomegali ve hastalıkla ilişkili semptomu olmayan hastaları kategorize etmek için kullanılır. Yüksek sensitiviteye sahip flowsitometri ile KLL fenotipine sahip MBL'de ile 60 yaş üstü hastaların yaklaşık olarak % 5'inde normal kan sayımı ve yine 60 yaşın üstündeki hastaların % 14'ünde lenfositoz tespit edilir. KLL fenotipine sahip MBL olup KLL gelişen hastaların her yıl % 1-2'si tedaviye ihtiyaç gösterir.

**c) Lenfoplazmositik lenfoma (LPL):** KLL gibi küçük hücreli indolent lenfoma grubunda yer alır. LPL waldenstraum lenfomanın aynı olan bir lenfositozdur. Periferik kan içeriği KLL'ye göre daha az göze çarpar; dolaşan malign hücreler sıklıkla plazmoid görünümündedir. LPL CD23 eksprese etmemesi, yüzey IgM ve CD20 ile güçlü boyanması ve sitoplazmik Ig içermesi ile KLL'den ayrılır.

**d) Mantle cell lenfoma (MCL):** KLL'yi taklit eden bir lösemik faz gösterebilir. Bazı hastalar bölünmüş ve irregüler nukleusu olan lenfositlere sahiptir. Malign hücreler KLL'de olduğu gibi CD20 ve CD5 eksprese ederler. MCL KLL'den cyclin D1 ve Smlg ile güçlü boyanması, t(11;14) kromozomal anormalliğine sahip olması ve CD23 eksprese etmemesi ile ayrılır.

**e) Saçlı hücreli lösemi (HCL):** Periferik kanda lenfositoz mevcuttur. HCL'de periferik kanda tipik saçaklı hücreler mevcuttur. İmmunfenotipik olarak HCL'de CD5

ve CD21 genellikle negatiftir ve CD25, CD11c ve CD103 için pozitif boyanması ile KLL'den ayrılır.

**f) Foliküler lenfoma (FL):** KLL gibi ağrısız periferik LAP ile belirti verir. FL lenf nodu biyopsisinde noduler büyüme paterni göstermesi, CD10 pozitif, CD5 negatif olması ve parlak SmIg leri ile KLL'den ayrılır. Foliküler küçük çentikli hücreli lenfoma (FSCCL) genellikle sitogenetik analizlerde t(14;18) translokasyonunun ve bcl-2 gen yeniden düzenlemesinin bulunması ile belirlenir ki bu iki durum KLL'de nadirdir.

**g) Küçük lenfositik lenfoma (SLL;small lymphocytic leymphoma):** KLL ile birçok histopatolojik ve immunfenotipik özellikler taşır ama periferik kanda mutlak monoklonal lenfositoz olmaması ile KLL'den ayrılır. SLL'de kemik iliğinde % 30'dan fazla lenfositoz vardır veya yoktur. LFA-1 adezyon molekülü SLL hücrelerinde KLL hücrelerinden daha fazla sıklıkla eksprese olur. Bazen diğer lenfomalar örneğin foliküler küçük çentikli hücreli lenfoma (FSCCL-foliculer small cleaved cell lymphoma) ve mantle hücreli lenfoma ilk prezentasyonda lösemik faz ile belirgin hale gelebilir. Bu hücreler ışık mikroskopunda genellikle çentikli, SmIg parlak boyanan ve genellikle FMC-7 ve CD10 pozitifdir. Bu olguları daha net ayırmak için lenf nodu biyopsisi gereklidir. Kanda lenfoma hücrelerinin saptanması SLL ve FSCCL'nın ileri dönemlerinde daha sıktır.

**h) Waldenström makroglobulinemisi:** Lökosit sayısı genellikle KLL'den düşüktür (<10000 / $\mu$ L) ve hastaların çoğu lökopeniktir. Hücrelerin plazmositer görüntüsü vardır, CD38 ve PCA-1 pozitifdir ve daha çok smIg ve sitoplazmik Ig vardır. Monoklonal plazma IgM bandı waldenström makroglobulinemili olguların tamamına yakınında, splenik lenfomada sık olarak vardır. KLL ve MZL hastalarının her ikisinde splenomegali ve lenfositoz ile presente olurlar. Ek olarak her iki hastalıkta da CD23, CD43, CD5 ve IgD eksprese ederler. Aslında bunlar daha çok KLL için spesifiktir. Arada kalınan vakalarda kemik iliği, dalak ve lenf nodu biyopsileri ile tanıya gidilebilir. Ayrıca KLL'de görülen tipik sitogenetik değişiklikler MZL'da genellikle görülmez.

**i) Sezary sendromunu:** En belirgin klinik bulgu kronik ekfoliyatif eritrodermi ve düşük sayıda dolaşımda bulunan T hücreleridir. KLL'den ayırıcı tanı güç değildir. Periferik kan tutulumu yapan diğer T hücreli malign hastalıklar arasında, T hücreli lösemi lenfoması, büyük granuler lenfoproliferatif bozukluk olarak da geçen large

granuler lenfositozis, nütropenili T hücre lenfositozu veya T gama lenfositoz sendromu yer alır. T hücre lösemi lenfoması bir retrovirus (insan T hücreli lösemi lenfoma virusu (HTLV 1)) ile ilişkilidir ve Japonya ve karayiplerde sıktır. Sıklıkla litik kemik lezyonları ve hiperkalsemi ile prezente olur. T-LGL de mutlak lenfosit sayısı genellikle düşüktür (5000/ $\mu$ L) ve CD2 pozitif, CD3 pozitif, CD8 pozitif ve CD16 pozitif (T supresör) fenotipi (T-gama hücreleri)vardır. Bu hastalarda genellikle splenomegali, nütropeni ve romatoid artrite benzer semptomlar ve seroloji vardır. NK cell LGL diye adlandırılan bazı tümörlerde naturel killer fenotipi (CD16+) vardır ve moleküler olarak T hücre reseptörü tekrar düzenlenmesi bulguları yoktur.

## **2.1.6. Tedavi**

### **2.1.6.1. Tedavi Endikasyonları**

KLL lenfoproliferatif hastalıklardan biridir ve WHO sınıflamasına göre SLL ile aynı hastalık olarak kabul edilir. Hastalık sadece lenf nodunu tuttuğunda SLL; kemik iliği ve periferik kanda bulgu verdiğinde de KLL adını alır. Erken evre SLL ve KLL tedavilerinde bazı değişiklikler olsa da ileri evre hastalıkta tedavi aynıdır. KLL seyri değişken bir hastalıktır. Erken evredeki olguların önemli bir kısmında tedaviden bağımsız olarak uzun bir yaşam söz konusu olabilir.<sup>60-62</sup> Rai I veya II ve Binet A evresinde bulunan 2048 hastayı içeren 6 prospektif randomize çalışmayı içeren metaanalizde erken evrede klorombusil başlanan hastalarda tedavi almayan gruba göre yaşam süresinde anlamlı uzama görülmemiştir,<sup>63</sup> yeni ajanlarla KLL' deki tam remisyon oranlarında belirgin artma saptandı.

Bu son gelişmelere kadar KLL'de erken evrede tedavi için acele edilmezken; SLL'de erken evrede radyoterapi bir tedavi seçeneği olabilir. Ancak bazı hastalar tanıdan 1-2 yıl sonra kaybedilirler. Bu nedenle hangi hastanın ne zaman tedavi edileceği önemli bir sorundur. KLL'de tedaviye başlama endikasyonlarını standart hale getirmeye yönelik çalışmalar sonucunda ulusal kanser enstitüsü çalışma grubu (NCIWG) ve uluslar arası KLL çalışma grubu (IWCLL) tarafından iki rehber yayınlanmıştır (Tablo6 ve Tablo7).

**Tablo6: IWCLL Tedavi Endikasyonları<sup>64</sup>**

Evre	Endikasyon
Binet A	Olumsuz prognoz parametreleri varlığı <ul style="list-style-type: none"><li>▪ Lenfosit sayısı &gt;50.000/microL</li><li>▪ LDT &lt;12 ay</li><li>▪ Diffüz kemik iliği tutulumu</li><li>▪ Diğer?</li></ul>
Binet B ve C	Tüm olgular

**Tablo7: NCI-WG Tedavi Endikasyonları<sup>65</sup>**

<ul style="list-style-type: none"><li>• Protokol tedavisi için aktif hastalık dökümanite edilmelidir. Aşağıdaki kriterler aranır:</li><li>• 1-Aşağıdaki hastalık semptomlarından en az birinin varlığı</li><li>• 6 ayda &gt;%10 kilo kaybı</li><li>• Günlük olağan işleri etkileyecek şekilde halsizlik(ECOG II veya daha kötü)</li><li>• İki hafta veya daha fazla süren, enfeksiyonla ilişkisi gösterilemeyen ateş</li><li>• Enfeksiyonla ilişkisiz gece terlemesi</li><li>• 2-Anemi/trombositopeniye neden olan ilerleyici kemik iliği yetersizliği</li><li>• 3- Steroid tedaviye yanıtız otoimmün hemolitik anemi ve/veya trombositopeni</li><li>• 4-Kosta kenarını &gt;6cm geçen, masif veya ilerleyici splenomegali</li><li>• 5-En uzun çapı &gt;11cm olan masif veya gruplar oluşturan veya ilerleyici lenfadenomegali</li><li>• 6-İki ay içinde %50 artan ilerleyici lenfositoz veya tahmini LDT&lt;6 ay</li><li>• 7-Yukarıdaki kriterler mevcut değilse belirgin hipogamaglobulinemi veya monoklonal protein oluşumu protokol tedavileri için yeterli değildir.</li></ul>
--

Not: lenfosit sayısı tek başına tedavi gerekçesi olarak alınmamalı genel klinik tablo içerisinde değerlendirilmelidir.

### 2.1.6.2. Tedaviye Yanıt Kriterleri

1980 sonralarına doğru NCIWG ve IWCLL tarafından yanıt kriterleri yayınlandı. IWCLL tarafından tanımlanan yanıt kriterleri Binet sınıfındaki değişiklikleri esas almıştır. NCIWG belirlediği yanıt kriterleri kan ve kemik iliği cevaplarına göre düzenlenmiştir. Tablo8’de KLL’de NCI ve IWCLL tedaviye yanıt kriterleri yer almaktadır.

**Tablo8: KLL'de Tedaviye Yanıt Kriterleri**

Parametre	NCI <sup>66</sup>	IWCLL <sup>67</sup>
<b>Tam yanıt</b>		
Fizik muayene	Normal	Normal
Semptom	Yok	Yok
Lenfositler (x1000/microL)	<4	<4
Nötrofiller (x1000/microL)	>1,5	>1,5
Trombositler (x1000/microL)	>100	>100
Hb (g/dl)	>11	?
Kemik iliği lenfosit %	<30,nodül neg .	Normal (nodül veya fokal tutulum olabilir)
<b>Nodüler kısmi Yanıt</b>	Tanımlanmamış.	Kemik iliğinde nodül veya fokal tutulum var Diğer veriler tam yanıt kriterlerine uygun
<b>Kısmi remisyon</b> Fizik muayene ( LAP veya Kc/dalak) Ayrıca aşağıdakilerden en az biri Nötrofil(x1000/microL) Hb(gr/dl) Trombosit(x1000/microL) Yanıt süresi	>%50 azalma  >1.5 >11gr/dl veya %50 artış >100 >2 ay	Evrede azalma   ?
<b>İlerleyici hastalık</b> Fizik muayene (KC,dalak,LAP)  Lenfosit sayısı Veya	>%50 artış veya Yenilerinin oluşması >%50 artış Richter sendromu	Evrede ilerleme
<b>Dengeli (stabil) hastalık</b>	Diğer tümü	Evrede değişim yok

### 2.1.6.3. KLL Tedavisinde Seçenekler

**Tedavisiz izlem:** Hem NCIWG hem de IWCLL rehberleri erken evredeki olgularda tedavi için hastalığın ilerleyici olduğunu gösteren belirli kriterlerin bulunması gerektiğine işaret etmektedir. Binet A evresindeki 609 hastanın alındığı çalışmada hastalar tedavisiz takip ve günlük klorombusil alanlar olarak iki kola randomize edilmişler. On yıllık sağkalım tedavisiz kolda % 54 bulunurken klorombusil kolunda % 47 bulunmuş (p 0,23).<sup>68</sup> Buna karşılık Clorombusil alan grupta hastalık progresyonunun yavaşladığı ve takip süresi içinde tedavi almayan gruptaki hastaların % 51'inin tedavi ihtiyaçlarının ortaya çıktığı bildirildi. Hastaların % 27'sinin KLL nedeniyle kaybedildiği ve klorombusil alan grupta bu oranın daha belirgin olduğu anlaşıldı. Ayrıca ikincil kanserler klrombusil (CLB) kolunda daha fazlaydı. Bir diğer çalışmada ise 926 hasta tedavisiz izlem ve CLB+prednizolon olmak üzere iki kola randomize

edildi. Her iki kolda da 7 yıllık sağkalım % 69 bulundu. Tek başına veya prednizolon ile birlikte CLB tedavisi ile tedavisiz izlemin karşılaştırıldığı 6 çalışmanın metaanalizinde (2048 hastada) erken tedavi başlamanın 10 yıllık yaşam süresi açısından bir farka neden olmadığı anlaşılmıştır.<sup>63</sup> Nukleozid analoglarının ise erken tedavi olarak uygulanması sonucunda sağkalıma etkilerinin nasıl olabileceğini araştıran randomize çalışma yoktur. Rai evre 0 veya 1 yada Binet A evresinde bulunan olgulara bu nedenle hastalık progresyonu veya aktivite belirtileri olmadan tedavi başlanmamalıdır.

**Semptomatik ve İlerlemiş SLL' de Tedavi Seçenekleri:** İleri evre SLL ve semptomatik KLL için standart bir tedavi seçimi yoktur. Bir çok tedavi seçeneği mevcuttur. Bunlar purin analogları (fludarabin), alkalizan ajanlar (klorombusil, bendamustin), monoklonal antikorlar (rituximab, alemtuzumab) veya bu ajanların kombinasyonlarını içerir. Bu tedavi seçeneklerinin hiçbirinin direk olarak karşılaştırıldığı çalışma yoktur.

#### **Nukleozid Analogları:**

**A-Fludarabin:** Bir pürin nükleozid analogu olup, bir çok lenfoproliferatif hastalıkta etkili olduğu gösterilmiştir. İntravenöz verilmesini takiben 5 dakika içinde F-ara'ya fosforile olur ve hücre içine girdikten sonra fosforlu olarak aktif metaboliti olan F-ara-ATP'ye dönüşür. Vücutta birikmeyen fludarabinin esas atılım yeri böbreklerdir. Aktif metaboliti olan F-ara-ATP'nin DNA'ya bağlanması ile etkisi ortaya çıkar. Bu yolla DNA ve RNA sentezini inhibe eder. DNA ve RNA polimeraz , DNA primoze, DNA lipoze , ribonukletid reduktaz inhibitörüdür. Apoptoza yol açar, lösemik hücrelerde Ara-CTP birikimini artırır ve bu yüzden sitozin arabinozid, mitoksantron ve sisplatin ile sinerjik etki gösterir. Genellikle günlük 25mgr/m<sup>2</sup> 5 gün süreyle uygulanmaktadır.

**Fludarabin bazlı rejimler:** Birinci basamak tedavi de bir çok hasta FR bazlı rejimlerden birini almaktadır. Bu rejimler:

Fludarabin+Rituximab (FR)

Fludarabin+Siklofosfamid (FC)

Fludarabin+Siklofosfamid+Rituximab (FCR)

Sağkalım süreleri arasında tedavi rejimleri arasında fark olmadığı ancak tedaviye yanıt oranlarının FCR alan grupta daha yüksekken tedaviye bağlı toksisite FR ve FC

tedavisi alan grupta daha az gözlenir. Tam remisyon oranları FR, FC, veya FCR alan gruplarda sırasıyla % 47, % 53 ve % 70'dir. Bu rejimler için tüm yanıt oranları ise yine sırasıyla % 90, % 80 ve % 95'dir.

Bir çok hastada klorombusile nazaran fludarabin bazlı kemoterapi tercih edilmiştir. Çünkü alkalizan ajanlarla (klorombusil), purin analoglarının (fludarabin) karşılaştırıldığı birçok randomize prospektif çalışmada purin analogları ile yanıt oranları ve progresyonsuz yaşam süreleri daha iyi bulunmuş ancak sağkalımlarda fark gözlenmemiştir.<sup>69</sup> Uzun süreli takipte fludarabine bağlı sınırlı bir myelotoksisite ve enfeksiyonlar görülebilir. Ayrıca fludarabin alan hastalarda otoimmün hemolitik anemi riski artmıştır.

Fludarabin+Rituximab ile yapılan bir randomize faz iki çalışmada daha önce tedavi almamış 104 KLL hastası alınmış ve hastalar FR kemoterapisini ardışık ve eş zamanlı almak üzere randomize edilmiş ve görülmüş ki tüm yanıt oranları ardışık tedavide % 77 iken eş zamanlı tedavi alan grupta % 90 saptanmış. Tam remisyon oranları da sırasıyla % 28 ve % 47 bulunmuş.<sup>70</sup> Nötropeni ve infüzyon ilişkili toksisite eş zamanlı tedavi alan grupta daha sık görülmüş ancak ciddi nötropeniye bağlı enfeksiyon sıklığı her iki grupta aynı oranlarda saptanmış (yaklaşık olarak % 20).

Bir başka retrospektif çalışmada fludarabin alan hastalarla FR tedavisi alan hastalar incelenmiş ve progresyonsuz yaşam süreleri ve tüm yanıt oranları kombinasyon grubunda daha iyi saptanmıştır.<sup>71</sup>

**B-Cladribine:** Fludarabinden sonra en fazla uygulanmış pürin analogu olmakla beraber elde edilen deneyimin FLD ile elde edilene göre daha az olduğu bir gerçektir. Yaklaşık 450 olguyu kapsayan faz 1 ve faz 2 çalışmalarında % 14'ü tam remisyon olmak üzere % 48 oranında yanıt görülmüştür.<sup>72</sup>

**C-Pentostatin:** 136 olguyu içeren 5 farklı çalışmada % 26 oranında yanıt elde edilmiştir (4 hastada tam yanıt).<sup>72</sup>

**Nükleozid Analoglarının İstenmeyen Yan Etkileri:** Tedavi sonrası nötropeni ve trombositopeni sık görülür. Miyelosüpresyon etkisi 3 hafta kadar sürer. Daha önemli ve kümülatif etkisi ise CD4+ T-lenfosit sayısında azalmadır. İki yılı aşabilen bu etki nedeni ile fırsatçı infeksiyonlarda artış görülmektedir. Transfüzyona bağlı Graft Versus Host Hastalığı riski arttığından kan ürünlerinin ışınlanarak verilmesi önerilmektedir. Otoimmün hemolitik anemi sık görülür. İlk kez fludarabin alanlarda % 2, ikinci kez

kullananlarda % 5, daha önceden yoğun tedavi görmüş hastalarda ise % 20 sıklıkta bildirilmiştir.<sup>72</sup> İkincil kanserlerin araştırıldığı bir çalışmada fludarabin kullanan 2014 hastada 111 adet ikincil kanser tespit edilmiştir.<sup>73</sup> Bu oran genel popülasyonun üzerinde olmakla beraber KLL’de beklenenin üzerinde değildir.

**Kortikosteroidler:** Tek veya alkilleyicilere ek olarak kombine tedavilerde kullanılmışlarsa da hastalık sonucuna olumlu katkı yaptıklarına dair herhangi bir kanıt yoktur. Genellikle olguların % 30-50’sinde iyi kriterize edilmemiş yanıtlar sağladıkları bildirilmiştir.<sup>74</sup> İnfeksiyonların daha fazla görülmesine yol açabilirler. Daha çok immün sitopenilerin tedavisinde kullanılırlar.

**Alkilleyici Ajanlar:** En sık kullanılan ajan klorombusil ve siklofosfamiddir. Siklofosfamid daha ziyade CLB’yi tolere edemeyenlerde kullanılmakta ve miyelotoksitesinin CLB’ye göre daha az olduğu ileri sürülmektedir. CLB sürekli düşük doz (0,08-0,1 mg/kg/gün) veya aralıklı yüksek doz 0,7mg/kg/gün-ayda 4 gün, veya 20-40 mg/m<sup>2</sup>/ayda bir gün) veya düzenli yüksek doz (10 mg/m<sup>2</sup>/gün) gibi değişik şekillerde uygulanmaktadır. prednizolon ilave etmenin faydası gösterilememiştir.<sup>74</sup> CLB ile hastaların % 30-70’inde yanıt elde edilmekle birlikte, tam yanıt oranı oldukça düşüktür. Aralıklı yüksek doz uygulamanın fludarabin ile karşılaştırıldığı bir çalışmada tam yanıt, toplam yanıt ve yanıt süresi fludarabin ile daha iyi bulunurken toplam sağ kalım süreleri arasında herhangi bir fark bulunmamıştır.<sup>75</sup> Enfeksiyon sıklığı fludarabin grubunda daha sık görülmüştür. Düşük doz CLB ile tam yanıt veya kür şansı çok düşüktür. Buna karşılık yüksek doz CLB’in özellikle yeni ve ekonomik maliyeti yüksek ajanlarla ileriye dönük randomize çalışmalarla karşılaştırılması uygun olacaktır. En önemli sakıncası ise hematolojik toksitesisi ve kemik iliği ile kök hücre üzerindeki muhtemel zararidir. Bu sakıncanın kök hücre nakli olabilecek adaylarda göz ardı edilmemesi gerekir.

**Kombine Tedaviler:** En sık kullanılan kombine kemoterapi protokolleri siklofosfamid-Vinkristin-Prednisolon (COP) ve Siklofosfamid-Adriamycin-Vincristin Prednisolon (CHOP) rejimleridir. Fransa’da yapılan bir çalışmada COP ile dozu değiştirilmiş CHOP (ChOP Siklofosfamid 300 mg/m<sup>2</sup> ve Prednisolon 40 mg/m<sup>2</sup> 5 gün, Vincristin 1mg/m<sup>2</sup> ve Adriamisin 25mg/m<sup>2</sup> 1 gün) protokolleri Binet C evresinde bulunan 70 olguda karşılaştırılmış ve medyan sağkalım CHOP ile 62 ay bulunurken COP ile 22 ay bulunmuştur.<sup>76</sup> Binet B veya C evresinde bulunan olguların yer aldığı ve

kombine kemoterapi rejimlerinin (COP; CHOP; CLB + Epirubisin) tek başına veya PRED ilaveli CLB ile karşılaştırıldığı ve toplam 2035 olguyu kapsayan 10 değişik çalışmanın metaanalizlerinde CHOP ile bazı serilerde daha fazla yanıt elde edildiğinin görülmesine karşılık genel olarak bu kombinasyonların CLB'ye göre daha fazla bir sağkalım avantajı sağlamadıkları bildirilmiştir.<sup>63</sup>

#### **Monoklonal antikolar:**

**A-Alemtuzumab (Campath-1H):** Anti CD52 monoklonal antikordur. Amerikada yeni FDA onayı almıştır. Yanıtlar bulky hastalığı olan olgularda daha kötüdür.<sup>77-79</sup> Daha önce tedavi almamış hastalarda yapılan bir prospektif faz 3 çalışmada KLL hastaları klorombusil ve alemtuzumab almak üzere randomize edilmiş. Alemtuzumab alan hastalar da tüm yanıt; tam yanıt oranları ve progresyonsuz yaşam süreleri daha iyi bulunmuş. Çalışmanın alt grup analizinde 17p del olan hastaların yanıt oranlarının da yüksek olduğu tespit edilmiş. Fludarabin sonrası alemtuzumab kullanımına ilişkin yapılan çalışmalarda hastaların ciddi bölümünde enfeksiyonlar nedeniyle kemoterapiyi tolere edemedikleri gözlenmiş.<sup>80,81</sup>

**B-Rituximab (Anti-CD20):** Lenfomaya göre KLL'de daha düşük sonuçlar elde edilmiştir. Rituximab ile fludarabin ve siklofosfamid'in kombine kullanıldığı çalışmalarda daha önce tedavi görmemiş olgularda % 57 oranında tam, % 20 kısmi yanıt (toplam % 94) bildirilmiştir.<sup>82</sup>

**Yüksek Doz Kemoterapi Ve Kök Hücre Nakli:** Küratif potansiyeli olan tek tedavi yöntemidir. KLL'nin bir ileri yaş hastalığı olması nedeniyle hastaların çoğunun bu tedaviyi tolere edemeyecek olmaları, bir kısmının da potansiyel olarak uzun yaşam beklentisi olmasına karşılık yüksek doz kemoterapi toksisitesinin sonucunda yaşam süresinin kısalabileceği olasılığı kök hücre transplantasyonunun uygulanabilirliğini sınırlayan en önemli faktördür. KLL'nin erken dönemlerinde henüz kemosensitif olabileceği de dikkate alındığında kök hücre destekli yüksek doz kemoterapi uygun bir alternatif olabilir. KLL'de kök hücre nakli seçenekleri:

**A-Allojenik Kök Hücre Nakli:** Uygun donörü olan, genç fakat yüksek risk faktörlerine sahip olgularda düşünülebilecek bir tedavidir. Allojenik kök hücre nakli ile hastaların % 70-90'ında yanıt elde edilmektedir. Uzun süreli sağ kalım ise % 40-50 civarındadır. Transplantasyona bağlı mortalite % 25-50 arasındadır. Özetle yüksek transplant mortalitesi dikkate alındığında sadece ileri evrede, nüks veya refrakter, hızlı

lenfosit artışı olan, IgVH mutant olmayan, kötü sitogenetik (ör del 11q vd) gibi biyolojik risk faktörleri olan ve işlemi tolere edebilecek hastalarda onaylanmış klinik çalışmalar çerçevesinde uygulanmalıdır.

**B-Otolog Kök Hücre Nakli:** Bu yöntemde transplantasyona bağlı mortalite genel olarak % 10'un altındadır. Transplantasyonu izleyen yaşam eğrilerinde plato izlenmemesi nedeni ile küratif olmadığı düşünülmektedir. Standart tedavilerle karşılaştırıldığı randomize çalışmalar olmadığından prognoza olumlu katkısını değerlendirmek zordur.

**Daha Önce Tedavi Görmemiş Olgularda Tedavi Seçenekleri:** Halen erken evredeki olgularda (Binet A) tedavi önerilmemektedir. CLB bugüne dek en çok kullanılan standart tedavi olmuştur. Antrasiklinli kombinasyonların CLB'e üstünlüğü gösterilememiştir. fludarabin primer tedavide kullanıldığında daha aktif bir alternatif olarak dikkati çekmektedir. Standart CLB ve diğer kemoterapi protokollerine göre fludarabin ile daha yüksek remisyon oranı ve progresyonsuz sağ kalım süreleri sağlanabilir. Buna karşılık kür sağlamadığı ve toplam sağkalım süresini uzatmadığı bilinmektedir. Nüks eden ve/veya alkilleyicilere yanıtız olgularda ikinci tedavi amacıyla kullanımı konusunda pek tartışma yoktur. Ancak ilk tedavi aracı olarak kullanımı hususunda fikir birliği yoktur.<sup>72</sup> Bazılarına göre en etkili ajan olarak görülen fludarabin en önce kullanılmalıdır. Çünkü fludarabin'nin en etkili olduğu olgular fludarabin'nin primer olarak uygulandığı hastalardır. İlk tedavi aracı olarak kullanımının aleyhine olabilecek görüşler CLB'e göre yüksek maliyeti, komplikasyonları ve toplam sağkalım süresinde uzamaya neden olduğunun kanıtlanmamış olmasıdır.

**Nüks Eden veya Refrakter Olgularda Tedavi:** Nüks sırasında hastanın yaşı, risk faktörleri, performans durumu ve eşlik eden diğer sağlık problemleri yanında daha önce uygulanan tedaviler ve yanıt durumları gözönünde bulundurulmalıdır. Bazı olgularda sadece palyatif tedavi ile yetinilmelidir. Başlangıçta alkilleyici ajanlarla ve kombine kemoterapi rejimleri ile tedavi gören olgularda fludarabin ile % 70'e varan yanıtlar elde edilmektedir. İkinci seçenek tedavi fludarabin ve siklofosfamid kombinasyonudur. Daha önce fludarabin almış ve yanıt vermemiş olgularda fludarabin ve diğer purin analoglarının kullanımı etkili değildir. Otolog kök hücre naklinin kür potansiyeli olduğu gösterilmemiş olmakla beraber belirli risk gruplarında sonuçların

olumlu olduğu öngörölmektedir. En yüksek küratif potansiyeli olan allojenik kök hücre naklinde ise yaş, yüksek mortalite ve donör bulunamaması gibi sınırlayıcı nedenler vardır.

### **2.1.7. KLL’de Prognostik Faktörler**

KLL kronik lenfoproliferatif hastalıklardan biridir ve WHO klasifikasyonuna göre bir indolent non-hodgin lenfoma olan small lenfositik lenfoma ile aynı grupta kabul edilmektedir.

KLL hakkındaki genel inanış KLL’nin uzun bir klinik seyire sahip olduğu (10 ila 20 yıl) ve ölümlerin çoğunun KLL ile ilişkili olmadığı doğrultusunda olmasına rağmen hastaların % 30’dan azında bu durum gözlenir. Bazı hastalar tanıdan iki veya üç yıl sonra ya komplikasyonlara veya direk KLL’ye bağılı sebeplerden ölürken diğerk hastalarda ki yaşam süresi beş ila on yıldır. Terminal dönemde hastaların morbiditesi hastalığın direk kendinden ve tedavi komplikasyonlarından dolayı bozulur. Hastalar erken evrede normal yaşamlarını sürdürürken terminal dönemde hospitalizasyona ihtiyaç duyarlar. Bu dönemdeki en önemli ölüm sebebid e ciddi sistemik infeksiyonlar özellikle pnömoni, sepsis ve kanamadır. Spontan klinik regresyon bildirilmiştir ancak çok nadirdir.<sup>83</sup>

KLL’de gözlenen bu değışken yaşam süresi klinisyenleri prognozu saptamaya yönelik arayışa itmiştir. Prognozu belirlemede kullanılan belirteçler Tablo9’da yer almaktadır:

**Tablo9: KLL’de Prognostik Belirteçler**

Parametre	İyi	Kötü
Binet Evresi	A	B ve C
Rai Evresi	0	I,II,III,IV
Kemik iliği tutulumu	Non-diffuz	Diffuz
Kemik iliği Aspirasyonu	≤ 80 lenfosit	> %80 lenfosit
Periferik kanda prolenfosit	≤ %10	> %10
Lökosit sayısı	≤ 50 x 10 <sup>9</sup> / L	> 50 x 10 <sup>9</sup> / L
LDT	≤ 12 ay	> 12 ay
LDH / β2 M / sCD44		
Timidin kinaz ve sCD23	Normal	Artmış
Sitogenetik	Normal ,ve izole del 13q	del 11q,del 17p, trisomi12
CD38	≤ %30	> %30
IgVH mutasyon durumu	mutant	non-mutant
p53 mutasyonu durumu	non-mutant	mutant

**1.KLL’de evreleme:** Yukarıda bahsedilmişti.

**2.Lenfosit ikilenme zamanı:** Lenfosit iki katına çıkış süresini belirtir. Bu prognostik faktörün kullanımı sınırlıdır çünkü zaman gerekir. Tedavi almamış hastalarda LDT <12 ay ise progresif hastalık lehine iken, LDT>12 ay olan hastalarda yavaş seyirli hastalık olarak atfedilir.<sup>84,85</sup> Erken evre hastalarda LDT süresi kısa olan hastalara daha agresif tedavi tercih edilir.

**3.Kemik iliği tutulum paterni:** Kemik iliği biyopsisindeki lenfosit infiltrasyonu bağımsız bir prognostik faktördür. Kemik iliği biyopsisinde dört çeşit lenfosit infiltrasyon şekli vardır:

- 1.Nodüler (% 15),
- 2.İntersitisyel (% 30),
- 3.Mix nodüler ve intersitisyel (% 30) ve
- 4.Diffüz (%35) Diffüz tutulum progresif hastalıkla ilişkili iken intertisyel ve nodüler patern ise daha ılımlı seyreder.<sup>86-89</sup>

**4.Beta-2 mikroglobulin:** Beta-2 mikroglobulin düzeyi hastalık evresi ve tümör yükü ile koreledir. Artmış serum seviyeleri kötü prognozla ilişkilidir.<sup>90</sup> Beta-2 mikroglobulin artmış düzeyinin kaynağı belli değildir. Vasküler endotelden kaynaklandığı düşünülmektedir.

**5.IgVH mutasyonu:** Normalde sağlıklı kişilerde sirkulasyondaki B-hücrelerinin % 60’ı saf germinal merkez (GM) öncesi hücrelerden oluşmaktadır. Yani daha immünglobulin sentez yapma kapasitesi kazanmamıştır. İmmünglobulin sentezi

yapabilmesi için ilk önce Vh genlerinin rekombinasyonu gerekmektedir. Saf lenfositlerde Vh rekombinasyonu olmamıştır ve yüzeylerinde IgM ve IgD antikorları vardır ve ayrıca % 25’inde CD5 pozitifdir fakat CD27 negatiftir. Sirkulasyondaki geriye kalan % 40 oranındaki B-hücreleri GM sonrası “hafıza” hücreleridir. GM sonrası B hücreleri immünglobulin sentezi yapabilmesi için somatik hipermutasyondan (SH) geçmek zorundadır. Bu SH’dan geçen hücreler CD27 pozitifdir ve % 60’ının yüzeylerinde IgM ve/veya IgD bulunur fakat CD5 yoktur; % 40’ında immünglobulin sınıf değişimi olmuştur. İmmün sistemde çok çeşit antikor yapımı genelde üç genetik mekanizma ile başılır:

1) İmmünglobulin geninin somatik rekombinasyonu: B-hücrelerinin erken gelişme döneminde immünglobulin ağır (Vh) zincirinin V (variable) ve D (diversity) gen bölümleri, J (joining) bölümüyle kendine özgü rekombinasyon yapar ve her lenfosit yeni bir VDJ genetik yapı yaratır. Bu yapılan antikorlar hücre membranında sentezlenmek zorundadırlar. Aksi takdirde bu erken dönemde B-hücrelerinin büyük kısmı apoptozis ile ölürlür. Bu bağımlılık B hücrelerinin B-hafıza hücrelerine dönüşümüne kadar devam eder.

2) Somatik hipermutasyon (SH): VDJ seçildikten sonra lenfositler her ne kadar antikor yapıyorlarsa da daha bu antikor yapma kapasitesinde değildir. SH özellikle Vh geninin CDR denilen kısmına yakın yerlerde olur. Bu işlemde herhangi bir seçim yapılmadan rastgele nukleotidler sokulur ki bazı hücrelerin yaptığı antikorlar antijene tam uyacak şekilde sentez olabilir. İşte bu yüksek affiniteli hücreler GM’de artık seçilip hafıza hücresi ve plazma hücrelerine dönüşür. Bir kere seçildikten sonra artık lenfositlerin uzun yaşamları için yüzeylerinde antikor yapmasına ihtiyaç yoktur. Buna karşılık düşük affiniteli hücreler GM’de apoptozis ile ekarte edilirler.

3) Sınıf değiştirme rekombinasyonu: Bu rekombinasyon en son olarak GM’de SH tamamlandıktan sonra VDJ ve Vh kısımları arasında transpozisyon denilen işlemle yapılarak immünglobulin sınıf değiştirmesine yol açar.

Bu üç rekombinasyon işlemleri ikili-DNA zincir hasarları ve yanlışlıklarına yol açabileceğinden B-hücreli lenfoma ve lösemilerin patogeneğinde çok önemli rol oynadığı düşünülmektedir. Ayrıca yukarıda açıklanan immünglobulin yapısının analizi özellikle KLL’li hastaların prognozunun tayininde özellikle önemlidir. KLL

hücrelerinde Vh gen analizi yaparak SH olup olmadığına karar verilip KLL'li hastalar iki gruba ayrılmaktadır :

- 1) GM öncesi
- 2) GM odaklı veya sonrası.

Hastaların yaklaşık yarısında IgVH somatik mutasyon varlığı tespit edilmiş; IgVH mutasyonu olmayan olguların pregerminal lenfositlerden kaynaklandıkları ve bu tip olguların trizomi12 anomalisi olan, atipik morfolojisi ve daha ilerleyici bir seyri olduğunu ayrıca hematopoetik hücre transplantlarında relapsı artırdığını ileri süren çalışmalar mevcuttur.<sup>91-92</sup> Buna karşılık mutasyonlu olgularda hastalığın postgerminal lenfositlerden kaynaklandığı ve bu olgularda daha tipik morfoloji yanında hastalık seyrinde daha yavaş ve sağ kalımında daha uzun olduğu düşünülmektedir. Ancak bu tür gen mutasyonlarının saptanması rutin uygulamada mümkün değildir. Bazı çalışmalarda mutasyonsuz vakalarda artmış CD38 düzeyi tespit edilmiştir.<sup>91</sup>

**6.Kromozom anomalileri:** Eğer sensitif testler kullanılırsa KLL hücrelerinin çoğunda kromozomal anormallikler saptanabilir.<sup>93-95</sup> Belli başlı genetik anormallikler prognozla ilişkili olarak saptanmıştır. Kompleks genetik değişiklikleri olan hastalar daha agresif hastalığa sahip olurlar.<sup>96</sup> En sık görülen anormallikler trizomi 12 ve 14q+ dir. B KLL'de sitogenetik anormallikler B hücresi ile sınırlıdır.<sup>97</sup> KLL hastaları üzerinde FISH tekniği kullanılarak yapılan iki çalışmada 82 hastanın 69'unda kromozomal anormallikler saptandı ve kromozom 11, 12, 13 anormallikleri en sık rastlanıldı. Bu çalışmaların birinde istatistiksel model ile beş kategori belirlenmiş: 17p delesyonu, 11q del, 13qdel, trizomi12, normal karyotip.<sup>93,94</sup> Bu hastalar için ortalama sağkalım süresi sırasıyla 32, 79, 133,114 ve 111 aydır.<sup>93</sup> Karyotipik anormallikler zamanla artış gösterir.

**Trizomi12** FISH yöntemi ile saptanan Trizomi12'nin prognostik değeri belli değildir. Bir çalışma trizomi12 düzeyi ile ileri evre ve yüksek proliferatif hastalık arasında ilişki saptamıştır.<sup>98</sup> Bununla birlikte bir başka çalışmada normal karyotipli hastalar ile trizomi12'ye sahip hastalar arasında ortanca yaşam süreleri arasında fark bulunmamıştır.<sup>93</sup>

Trizomi12 KLL hastalarının % 15-25'inde bulunmaktadır. Sağkalım süreleri yaklaşık 110 aydır. KLL'nin atipik morfolojiye ve ilerlemiş klinik evreye sahip bir subgrubunu oluşturmaktadır.<sup>93</sup>

**Del(13q14)13q14 anormallikleri (en sık delesyon).** KLL hastalarında en sık görülen tekli kromozomal anomalidir. Hastaların % 50-60'ında gözlenir. Trizomi12'de olduğu gibi konvansiyonel tekniklerle karşılaştırıldığında moleküler tekniklerle daha yüksek oranda tespit edilirler.<sup>99</sup> Bu delesyon retinoblastom gen inaktivasyonu ile ilişkilidir. Bu bölgedeki minimal delesyonun KLL ile ilişkili tümör supresör genlere liman olduğundan şüphelenilir. Bu konudaki genetik analizler devam ediyor. Retinoblastom geninin defektif ekspresyonu KLL'nin hem erken hem de geç evrelerinde gözükür.<sup>106</sup> 13q anormallikleri daha iyi prognozla ilişkilidir.<sup>93</sup>

Tedavisiz yaşam süreleri ve sağ kalım süreleri normal karyotipli hastalarla benzer bulunmuştur (130 ay)<sup>93</sup> Bu delesyon 13q14'de yer alan MIRN15A ve MIRN16-1 iki microRNA'yı da içerir. Bu microRNA'lar da RNA interferaz yoluyla bcl-2'yi posttranskripsiyonel aşamada negatif olarak etkiler. Sonuç olarak 13q14 delesyonuyla bcl-2 fazla miktarda eksprese olur.

**Diğer delesyonlar:** FİSH tekniği ile hastaların % 17-20 oranında 11q delesyonları, % 7-10 oranında 17p delesyonları mevcuttur.<sup>93,101</sup> Karyotipik analizlerden 11q delesyonları zaman içinde gelişen en sık anomalidir.<sup>102</sup> 11q delesyonları prognostik değere sahiptir.<sup>93</sup> büyük adenopati, progresif hastalık, kısa yaşam süresi (80 ay) ve 55 yaşın altındaki hastalarda sık tespit edilir.<sup>93,103</sup>

Kromozom 11q ATM (ataxi telenjiektazi mutasyon) geninide içerir. Bu gen kopyasına düşük oranda veya mutasyon olarak sahip olan hastalarda hücreler DNA hasarı yoluyla etki eden kemoterapik ajanlara ve radyoterapiye yanıtız kalırlar.<sup>94</sup> Bununla birlikte kötü prognozla ilişkili bu anormalliğin fludarabin gibi ciddi kemoterapik ajanlarla üstesinden gelinebilir.<sup>105</sup>

KLL'li hastalarda çok değişkenli analizde 17p delesyonu kötü prognozda çok güçlü bir prediktör olarak tespit edildi.<sup>93</sup>

17p delesyonu KLL hastalarının % 5-10 ununda bulunmaktadır. 17p delesyonu p53 inaktivasyonuna sebep olur ve bu hastaların % 30'unda kemoterapiye direnç vardır. TP53 delesyonu kötü klinik sonuç ve düşük sağkalım oranları(30 ay) pürin nukleozid analogları ve alkilleyici ajanlarla yapılan tedaviye yanıtızlıkla ilişkilidir.<sup>93</sup> Ek olarak P53 inaktivasyonu KLL'nin diffüz büyük B hücreli non hodgin lenfomaya veya Richter transformasyonuna dönüşümü ile ilişkili bulunmuştur.<sup>106</sup>

**6q delesyonu ve 8q24'teki değişiklikler:** 6q delesyonu KLL hastalarının % 6-7'sinde bulunmaktadır. 6q delesyonu olan hastalar ortalama yaşam süreleri bakımından orta derecede risk grubundadır. 6q25-26'da bulunan genin KLL patogenezi ile ilişkisi henüz bilinmemektedir. Bilinmeyen tümör supresör genleri inaktive ettiği sanılmaktadır. 8q24'teki değişiklikler KLL hastalarının % 5'inde bulunmaktadır. Bu da myc over ekspresyonundan sorumludur. Myc ekspresyonu KLL'li hastalarda DNA hasarı ile oluşan apoptoza direktten sorumludur.<sup>107</sup> ve görüldüğünde kötü prognozla ilişkilidir.<sup>108</sup> Tablo10'da KLL'de görülen kromozom anomalileri ve prognostik önemleri yer almaktadır.

**Tablo10 :KLL ile ilişkili kromozom anomalileri ve prognostik önemleri**

Kromozom anomalisi	Sıklık	İlgili genler	Klinik özellikler
Del 13q14.3	%36 - %50	RB1'e telomerik	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Düşük CD38</li> <li>● IgVH mutasyonları +</li> <li>● İyi prognoz</li> </ul>
Del 11q22-q23	%17 - %19	ATM geni	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Belirgin lenfadenomegali</li> <li>● Kısa sağkalım (özellikle &lt;55 yaş olgularda)</li> </ul>
Trisomi 12	%15 - %20	MDM-2 geni	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Yüksek CD38 oranı</li> <li>● IgVH mutasyonları (-)</li> <li>● Agresif hastalık , atipik morfoloji</li> </ul>
Del 17p13.3	% 7- %15	p53	<ul style="list-style-type: none"> <li>● KLL/PL</li> <li>● Richter dönüşümü</li> <li>● Kısa sağkalım</li> <li>● Purin analoglarına yanıtızlık</li> </ul>
Del 6 q	% 6 - %10	TLX geni	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Yüksek lenfosit sayısı</li> <li>● Belirgin lenfadenomegali</li> </ul>

**CD38:** Flow sitometri ile saptanan CD 38 pozitifliği mutasyonsuz IgVH ile koreledir. CD38 bağımsız bir prognostik faktördür ve bunu ciddi gen ekspresyonlarını değiştirerek yapıyordur.

**ZAP70 (Zeta chain associated protein 70):** ZAP70 naturel killer ve T hücrelerinden salgılanan ve T hücre sinyali için gerekli bir tirozin kinazdır. Normal şatlarda B hücrelerinden salgılanmaz. KLL hastalarının bazılarında B hücrelerinden salgılandığı ve yaşam süresi ile korele olduğu görülmektedir. Çalışmalarda üst sınırı

kesin olarak belirlenememiştir. Çalışmalarda artmış ZAP70 düzeyi bir başka prognostik marker olan mutasyonsuz IgVH ile korele bulunmuştur.

**Diğer Prognostik Faktörler:** VEGF-2 artmış serum lenfosit sayısı, ciddi anemi, artmış B<sub>2</sub>M ve yaşam süresinde ciddi kısalma ile ilişkili bulunmuştur. IL-8 düzeyleri de yine kısalmış yaşam süresini belirleyen bir başka faktördür. Bunlara ek olarak bcl-2, CD23, timidin kinaz ve CD79b de prognozla ilişkili olduğu öne sürülen diğer parametrelerdir.

**İyi ve Kötü Prognostik Grupları Belirleme:** Klinik, sitogenetik ve moleküler biyolojiye dayanan bir inceleme yapıldığında iki tip KLL tanımlanmıştır.<sup>109,110</sup>

1- İlk gruptaki KLL postgerminal merkezdeki B hücrelerinden kaynaklanır. IgVH mutasyonuna sahiptir. Bir çok çalışmada IgVH mutasyonu tercih edilen kromozom anomamallileri ile korele olup, düşük CD38 ve ZAP70 ekspresyonu ile birlikte dir. Bu grup erken klinik evre; stabil hastalık ve mükemmel yaşam sürelerine sahiptir.

2- İkinci grupta KLL pregerminal merkezli B-hücrelerinden köken alır ve IgVH mutasyonu yoktur. Genel olarak bu grup kötü prognostik kromozomal anomalilerle presente olur. CD38 ve ZAP70 ekspresyonu fazladır. Yüksek klinik evre, hızlı progresyon; tedaviye yanıtı zlıkla ve kısa yaşam süresi ile koreledir.

**Histolojik transformasyon:** KLL hastalarında değişen oranlarda diğer lenfoproliferatif hastalığı dönüşüm gözlenir. Transformasyon özellikle ileri evre hastalarda gözlenir. Geniş çaplı yapılmış bir epidemiyolojik çalışmada KLL’de normal populusyona göre 2-5 kat artmış oranda ikinci malignensi geliştiği tespit edilmiş.<sup>123</sup> Yaklaşık olarak % 60 hastada transforme hücreler B-KLL hücrelerinden köken alırken % 40’ında farklı hücrelerden köken alırlar.<sup>111</sup> KLL’de en sık görülen transformasyonlar:

Prolenfositik lösemi (% 10)

Richter’s transformasyonu (B hücreli agresif veya çok agresif lenfoma) (%3)

Hodgin lenfoma (% 0,5)

Multiple myelom (% 01)

Çalışmalar gösteriyor ki purin analogları ve antrasiklin ile tedavi edilen KLL hastalarında ikincil lenfoma gelişimi artmıştır. Mayo klinikte yapılan 962 hastalık bir gözlemsel kohort çalışmasında hastalar ortalama olarak 3,3 yıl izlenmiş.<sup>112</sup> 26 hastada KLL teşhisinden ortalama 4,4 yıl sonra ikinci bir lenfoid malignensi gelişmiş. Bu çalışmada hastaların yaşı, klinik evresi, net lenfosit oranı, diğer bilinen prognostik

faktörler (IgVH mutasyonu, ZAP70, CD38 düzeyi, FISH ile saptanan sitogenetik anormallikler ve B<sub>2</sub>M düzeyleri) ile transformasyon gelişimi açısından bağlantı bulunamamış.

**1.Prolenfositik Transformasyon:** Yaklaşık olarak % 10 vakada gözlenir. Periferik kanda KLL'deki küçük matur görünümlü lenfositlerin nukleol ve düşük dansiteli nukleer kromatini olan geniş hücelere dönüşümü ile tanı alır. Yıllar içinde yavaşça gelişir ve kullanılan kemoteropatlara yanıtızlıkla ilişkilidir.<sup>113,114</sup> Klinik ve immunofenotipik olarak denovo prolenfositik lenfomadan farklıdır.

**2.Richter's Transformasyon:** % 1-10 vakada KLL çok agresif NHL'a transforme olur. Hızlı klinik gidişle, artmış LAP, splenomegali, B semptomlarının belirmesi ile kendini belli eder. Beklenen yaşam süresi 5-8 aydır.

**3.Hodgkin Lenfoma:** B-KLL'den hodgin lenfomaya transformasyon gözlenen bir kısım vakada tek hücre analizleri KLL hücreleri ile izole edilen redsteinberg hücrelerinin aynı klonal populusyona ait olduğunu gösterdi. Aynı zamanda EBV enfeksiyonu ile fludarabine tedavisinin ilişkili olduğu bu vakalarda gösterildi. Hodgkin lenfomaya transformasyon görülmeyen diğer üç vakada tipik B-KLL hücrelerinin yerine tipik redsteinberg benzeri hücreler gözlendi. Redsteinberg benzeri hücreler bir hastada orjinal B-KLL klonundan köken almıştı fakat diğer iki vakada böyle değildi. Bu iki vakada da redsteinberg benzeri hücreler EBV ile enfekte idi. 4121 KLL/SLL olan hastanın alındığı bir retrospektif çalışmada bu hastalardan 18 (% 0,4)'inde KLL/SLL tanısının ardından ortalama 4.6 yıl sonra hodgin lenfoma gelişti. Bu hasta grubunda hodgin lenfomanın en sık ortaya çıkış semptomları: LAP (% 79), B semptomları (% 67), splenomegali (% 43), ve hepatomegali (% 29) idi. Bu hastalardan 14'ü HL için kemoterapi aldı. Toplam cevap oranı % 44 idi (% 19 tam remisyon oranı) ve KLL'nin Richter transformasyonuna dönüşümüne benzer olarak oldukça kısa ortalama yaşam süresine (ortalama 0,8 yıl) sahiptirler.

**4.Akut lenfositik transformasyon:** KLL nadiren akut lösemiye dönüşür. Dönüştüğünde de myeloid transformasyon gösterir (AML). Daha önce alınan alkalın tedavilerle AML gelişimi ilişkilendirilmiştir. KLL'den AML geliştiğinde akut lösemi rejimlerinden biriyle tedavi edilir; ancak tedaviye yanıt iyi değildir.

**İkinci malignensi gelişimi:** KLL vakalarında bir başka kanser gelişimi normal populusyona göre fazladır. Genellikle akciğer, cilt ve kemik kanserleri gözlenir.<sup>115-117</sup>

Danish Kanser grubunun yaptığı 12000 KLL vakasını içeren bir çalışmada non lenfoid malignensi rölatif risk gelişimi sonuçları:

Kemik kanseri 4,3; cilt kanseri 3,6; troid kanseri 2,6; böbrek 1,8; yanak ve farinx 1,8; akciğer kanseri görülme sıklığı da 1,6 kat artmıştır. Cilt kanserinin görülme sıklığı genel populusyona göre ciddi oranda yüksek olmasına rağmen bu durum daha fazla mortalite ile sonuçlanmaz.

## 2.2. Floresan in Situ Hibridizasyon Ve KLL'deki Yeri

### 2.2.1. Floresan İn Situ Hibridizasyon

Günümüzde malign hematolojik hastalıklarda spesifik kromozom anomalilerinin saptanmasında sitogenetik analizler vazgeçilmez bir öneme sahiptirler. Floresan İn Situ Hibridizasyon (FISH) analizi tümöre özgü karyotipik anomalilerin saptanmasında sitogenetik yöntemlere göre çok daha hızlı, hassas ve bazı durumlarda daha güvenilir bir tanı tekniğidir. FISH, nükleik asit problemleri aracılığı ile preparat üzerinde bulunan hücresel ya da kromozomal DNA veya RNA'nın incelenmesi temeline dayanan bir tekniktir. Bu teknikle kromozomal DNA veya RNA'nın hücre yapısı bozulmaksızın incelenebilmesi yöntemin en önemli özelliklerinden birisidir. Kolay uygulanabilir olması, duyarlılığı ve güvenilirliğinin yüksek olması, diğer moleküler DNA hibridizasyon yöntemlerine göre rezolüsyon gücü, mozaikizm tanısı gibi avantajlarının olması FISH tekniğinin moleküler tekniklerdeki ilerlemelere paralel olarak gelişmesine ve geniş bir uygulama alanı bulmasına neden olmuştur.<sup>118</sup>

Moleküler sitogenetik metodları klasik sitogenetik yöntemlerle tanımlanamayan kromozomal mikrodelsiyonlar ve yeniden düzenlenmeleri ortaya koyma olanağı sağlar. Sitogenetikte rutin GTG bantlama tekniğinde >4Mb, HRB (2000 band düzeyinde) tekniğinde de >2 Mb'ye kadar olan düzensizlikler saptanabilmektedir. Bu boyutlardan daha küçük olan yapısal düzensizlikler ancak FISH (1-3Mb) ile saptanabilmektedir. İnterfaz nükleusunda kromozomlar daha az yoğun ve metafaza göre 10-20 kat daha uzun olduğu için rezolüsyon 100 kilobaza kadar çıkabilir.<sup>118</sup>

Tümör hücrelerinde metafaz kromozomu eldesi kimi zaman ve durumlarda oldukça zordur. Elde edilen bu metafaz kromozomlarının morfolojileri çoğunlukla klasik sitogenetik yöntemlerle, özellikle yapısal anomalilerin belirlenmesinde yetersiz kalabilmektedir. Kromozom elde edilemediğinde de ne yapısal ne de sayısal değerlendirme yapılamamaktadır. FISH analizi metafaz kromozomlarının yanı sıra interfaz nükleusunda da analizi olanaklı kılması nedeniyle kanser genetiğinde önemli bir tanı testi olarak kullanılabilir.

FISH tekniği özellikle lösemilerde geniş bir kullanım alanına sahip olup birçok farklı amaçla avantajlı bir şekilde kullanılmaktadır. Bunlar; hastalığa özgü kromozom anomalisini belirleyerek tanı koymak, prognoz takibi yapabilmek, en kısa sürede sonuç

vermek, mozaizizm tanısı koyabilmek, çok sayıda metafaz ve/veya interfaz hücresinde analiz yapabilmektir.

### **2.2.2. FISH Analizi İsterken**

Farklı bir çok materyalde FISH analizi yapılabilir. Bunlar heparinize kan, heparinize kemik iliği, hücre yaymaları, hücre süspansiyonları, doku kesitleri ve benzeridir. Örnek seçiminde, hastalık tutulumunun olduğu doku gözönünde bulundurulmalı ve incelenecek materyal buna göre seçilmelidir. Ancak unutulmaması gereken seçilen bu örneklerin analizi yapacak olan laboratuvarın şartlarına uygun olarak alınması, saklanması ve iletilmesidir.

### **2.2.3. FISH Tekniğinde Kullanılan Problar**

Belirli bir kromozomal bölgenin veya DNA kesiminin FISH yöntemi ile görünür hale gelebilmesi için o bölgeye spesifik bir probun kullanılması gerekir. FISH yönteminde hedef DNA/RNA molekülüne komplementer işaretli nükleik asit dizisine "prob" denir. Günümüzde pratik olmaları ve ticari olarak florokromlarla işaretli problemler kullanılmaktadır. Hematolojik malign hastalıklarda tanı amaçlı kullanılmakta olan çok sayıda spesifik (sentromer spesifik, lokus spesifik, translokasyon spesifik), bunun yanında kromozoma özgü tüm kromozom, telomer ve  $\alpha$ -satellit problemleri bulunmaktadır. Ayrıca panel prob setleri de rutin kullanımda ticari olarak bulunabilmektedir. Bu problemler kullanım şekilleri ve özelliklerine göre tek ve/veya çift renkli, prob setlerinde; üç ve/veya beş farklı renkle işaretli olabilirler.

### **2.2.4. Kronik Lenfositik Lösemi'de FISH**

KLL'de, malign B hücrelerini *in vitro* proliferasyona indüklemek zor olduğundan klasik sitogenetik çoğunlukla sonuçsuz kalmaktadır. Bu nedenle bu olgularda interfaz FISH analizi çok değerlidir. Günümüzde CGH ile analiz sonucu yığılım gösteren çoğunluğu delesyon bölgelerine ilişkin panel problemler geliştirilmiştir. FISH ile yapılan

alışmalar sonucunda KLL hastalarının % 80'inde genomik aberasyonlar saptanabilmektedir. Bu problemler kromozom 13'ün uzun kol delesyonları, kromozom 11'in uzun kol delesyonları, kromozom 17'nin kısa kol delesyonlarını ve trizomi 12'nin varlığı veya yokluğunu göstermemize yardımcı olur, bunun dışında IGH (14q32), BCL6 (3q27) ve kromozom 6 yeniden düzenlenmelerini belirlemede de kullanılabilir.

### 3.GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmaya Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi (ÇÜTF) İç Hastalıkları Anabilim Dalı Hematoloji bölümünde takip edilen veya yeni tanı almış sırayla gelen 45 KLL'li hasta alındı. KLL tanısında NCI tanı kriterleri (1996) esas alındı. Çalışmaya alınan hastalar bilgilendirilerek yazılı onamları alındı. Hastaların çalışmaya alındığı andaki yaşı, cinsiyeti, hastalık süreleri, daha önce tedavi alıp almadıkları, B semptomları kaydedildi. Hastaların fizik muayene incelemeleri yapıldı. LAP sayısı, hepatomegali ve splenomegali durumu, Rai ve Binet evreleri kaydedildi. PA akciğer grafileri ve batın USG incelemeleri yapıldı.

Hastalardan biyokimyasal olarak backman coller marker culter cihazı ile tam kan sayımı, periferik yayması, JCI accridite onayı almış olan ÇÜTF merkez laboratuvarında BUN, Cr, AST, ALT, total ve indirek bilirubin, beta2 mikroglobulin, LDH, ALP, total protein, albumin ölçüldü. Hastaların BD facs calibur marka cihazla flow citometrik yöntemle CD23 ve CD38 bakıldı. LDH UV (İFCC) metod ile bakıldı. Beta2 mikroglobulin immunoturbidimetrik yöntemle bakıldı.

Ayrıca hastalardan sitogenetik inceleme için kan örneği alındı.

KLL hastalarında üniversitemizde FISH tekniğinin oturtulması, FISH yöntemi ile sitogenetik anomali sıklığının belirlenmesi ve bu sitogenetik anomalilerin literatürdeki diğer parametreler ve klinikle korelasyonuna bakmak için hastalar sitogenetik sonuçlarına göre iki gruba ayrıldı. Kromozomal anomali tespit edilmeyenler ve izole 13q14 delesyonu olanlar iyi prognostik grup; diğerleri ise kötü prognostik grup olarak kaydedildi. Gruplarla kaydedilen diğer parametrelerin ilişkisine bakıldı.

#### 3.1. FISH Yöntemi

Hastalardan 5cc heparinli tüpe periferik kan alındı. Bu kanın 1 cc' si 5 ml RPMI 1640 ile karıştırıldı. 1500 rpm' de 7 dk santrifüj edildi. Üstte kalan sıvı döküldü. Pelletin üstüne 5cc KCL eklendi. 37<sup>0</sup> C'de 25 dk bekletildi. 25 dk sonra üstüne 1cc Carnoy fiksatif eklendi. 1500 rpm'de 7 dk santrifüj edildi. Üstte kalan sıvı döküldü. Pelletin üzerine 5 cc carnoy fiksatif eklendi. 1500 rpm'de 7 dk santrifüj edildi. Bu

işlem 2 defa daha tekrarlandı. Lamın ortasına 10 ml hücre süspansiyonu yayıldı. Havada kurutuldu. Havada kurutulan lamalar 5 dk 2XSSC (sodyum klorid/sodyum sitrat) solüsyonunda bekletildi. Ardından 37<sup>0</sup>C’de 35 dk pepsin solüsyonunda bekletildi. Distile suda 10-15 sn çalkalandı. Sırasıyla 2’şer dk PBS (fosfat buffer salin) ve PBS/MgCl<sub>2</sub> ardından 10 dk PBS/MgCl<sub>2</sub> /formaldehit çözeltisinde bekletildi. % 70; % 85 ve % 100’lük etil alkolden 3’er dk geçirildi. Kurumaya bırakıldı.

Daha sonra karanlık odaya geçildi ve işlem karanlık odada devam edildi. Problema işlemi yapıldı. Üzeri lamelle kapatıldı. Hibridizasyon işlemi için 73<sup>0</sup>C’de 5 dk denatüre edildi. 37<sup>0</sup> C’de bir gece bekletildi. Bir gece sonra lamel kaldırıldı. 73<sup>0</sup>C’de yıkama solüsyonunda (NP-40) 3 dk bekletildikten sonra oda ısısında yıkama solüsyonunda 10-15 sn çalkalandı. Havada kurutuldu. Yaymanın üzerine 10µL DAPI (4,6-diamino-2-phenylindole in 1,4-phenylenediamine ,glyserol) eklendi ve lamelle kapatıldı.

Hazırlanan preparat Olimpos BX61 marka floresan mikroskopta incelendi. En az 200 çekirdekli hücre hazır proplarla 11q,13q, 17p delesyonu ve trizomi 12 anomalileri bakıldı. Tüm anomaliler için cut off değeri % 10 olarak alındı.

Preparatlar daha sonra başka bir gözlemci tarafından daha değerlendirildi. Sonuçlar kaydedildi.

### **3.2. İstatistiksel Yöntem**

Ki kare test istatistiği ile prognostik gruplar ve LDH, B2M, yaş, cinsiyet, CD38, CD23, rai ve binet evreleri arasındaki ilişkiye bakıldı. p değerinin 0,05’ten küçük değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Gerektiğinde fisher exact testi ile prognostik gruplar ve LDH, B2M, yaş, cinsiyet, CD38, CD23, rai ve binet evreleri arasındaki ilişkiye bakıldı. p değerinin 0,05’ten küçük değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

## 4. BULGULAR

Çalışmamıza ÇÜTF (Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi) Hematoloji bölümünde takip edilen veya yeni tanı almış 45 hasta alındı . Hastaların 16 (% 35,5)'sı kadın; 29 (% 64,5)'u erkek idi, çalışmaya alınan hastaların yaş ortalamaları 65 idi (en küçük yaş 43 en büyük yaş 82 olarak kaydedildi). Çalışmaya alındıkları anda hastaların 10'u (% 22,2) Rai 1, 23'ü (% 51,1) Rai 2, 12'si (% 26,7) Rai 3 evresinde idi. 17, 16 ve 12 hastada sırasıyla Binet A, B ve C evresinde kaydedildi. Hastaların 17'sinde splenomegali yokken 27 (% 60) hastada splenomegali mevcuttu ve 1 hastaya daha önce splenektomi uygulanmıştı. 9 (% 20) hastada hepatomegali saptandı. 45 hastanın 22 (% 48,8)'sinde LAP saptanmazken diğerlerinde tek veya çok merkezli LAP mevcuttu. Hastaların 7'si yeni tanı aldı diğerleri takipte olan hastalardı. 45 hastanın 25 (% 55,5)'i daha önce hiç tedavi almamıştı. Diğer hastalar CVP, FC, FCR ve alemtuzumab olmak üzere çeşitli kemoterapi protokolleri almıştı. Hastaların hiçbirinde böbrek ve karaciğer fonksiyon testlerinde problem yoktu.

Çalışmaya alınan hastalarda FISH yöntemi ile periferik kanda 13q14 delesyonu, 17p delesyonu, 11q delesyonu ve trizomi 12 bakıldı. Hastaların 35'inde (% 77,8) en az bir sitogenetik anomali saptanırken 10 hastada hiç sitogenetik anomali saptanmadı. 17 (% 37,8) hastada tek, 13 (% 28,8) hastada iki, 4 (% 8,8) hastada üç ve bir hastada 4 (% 2,2) sitogenetik anomali birden vardı. En sık saptanan sitogenetik anomali 13q14 delesyonu idi. Hastaların 32 (% 71)'sinde mevcuttu, bu hastalarında 16'sında izole 13q14 delesyonu varken, diğerlerine tek başına veya kombine olarak 17p delesyonu (6 hastada), 11q delesyonu (3 hastada) ve trizomi 12 (2 hastada) eşlik etmekteydi. Sitogenetik anomali sıklığına bakıldığında 13q14 delesyonunu 14 hasta ile (% 31,1) 17p delesyonu izlemekteydi. Bu hastaların 13'ü takipteki hastalardan oluşmaktaydı ve yeni tanı alan 7 hastanın sadece birinde 17 p delesyonu mevcuttu. 11q delesyonu 8 (% 17,7) hastada saptandı yine bu hastalarında 6'sı takipteki hastalardan oluşmaktaydı, hiçbir hastada 11q delesyonu izole olarak görülmedi. Trizomi12'de 5 (% 11,1) hasta saptandı. Bu hastaların hiçbirinde trizomi 12 izole olarak görünmemekteydi.

**Tablo 11. 45 KLL’li hastada FISH yöntemi ile saptanan sitogenetik anomalilerin sıklığı**

Sitogenetik anomali	Hasta sayısı	Hastalardaki %
Kromozomal anomali yok	10	%22.2
İzole 13q14	16	%35.6
13q14 + 17p	6	%13.4
13q14 + tri12	2	%4.4
13q14 + 11q	3	%6.7
İzole 17p	1	%2.2
İzole 11q	-	-
İzole tri12	-	-
Tri12 + 17p	2	%4.4
13q14 + 17p + 11q	4	%8.9
13q14 + 17p + 11q + tri12	1	%2.2
Toplam	45 hasta	%100

Hastalar sitogenetik anomali durumuna göre iyi ve kötü prognostik grup olarak iki gruba ayrıldı. Sitogenetik anomali tespit edilmeyenler ve izole 13q14 delesyonu olanlar iyi prognostik grup; diğerleri kötü prognostik grup olarak kaydedildi. Gruplar arasında rai, binnet, yaş, cinsiyet, beta2 mikroglobulin, LDH, CD38 ve CD23 arasındaki ilişkiye bakıldı.

**Tablo12.Hasta yaşlarının gruplara göre dağılımı**

		İyi prognoz	Kötü prognoz	Toplam	
Yaş grubu	<51	Hasta sayısı	4	4	8
		Yaş gruplarındaki yüzdesi	50,0%	50,0%	100,0%
		Gruplardaki %	15,4%	21,1%	17,8%
	51-70	Hasta sayısı	17	10	27
		Yaş gruplarındaki yüzdesi	63,0%	37,0%	100,0%
		Gruplardaki %	65,4%	52,6%	60,0%
	>70	Hasta sayısı	5	5	10
		Yaş gruplarındaki yüzdesi	50,0%	50,0%	100,0%
		Gruplardaki %	19,2%	26,3%	22,2%
Toplam		Hasta sayısı	26	19	45
		Yaş gruplarındaki yüzdesi	57,8%	42,2%	100,0%
		Gruplardaki %	100,0%	100,0%	100,0%

45 hastanın 8’i (% 17,8) 50 yaş altında idi, bu hastaların dörtü iyi prognostik grupta yer alırken dördü de kötü prognostik grupta yer almaktaydı. İyi prognostik gruptaki 26 hastanın sadece 4’ü (% 15,4) 50 yaş ve altında saptandı.

Ortanca yaş grubunda (51-70 yaş arası) 27 (% 60) hasta mevcuttu. Bu yaş aralığında iyi prognostik gruptaki hasta sayısı 17 (% 63), kötü prognostik gruptaki hasta sayısı 10 (% 37) bulundu.

45 hastanın 10'u (% 22) ileri yaşıydı (70 yaş ve üzeri). Bu 10 hastanın gruplar arasındaki dağılımı eşit bulundu. İyi prognostik gruptaki hasta dağılımına bakıldığında % 19,2 hasta ileri yaş grubunda yer alırken ; kötü prognostik gruptaki hastaların % 26,3'ü ileri yaşta yer almaktaydı, bu sonuçlara göre yaş dağılımı ve gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunamadı (p=0.689).

**Tablo13.Hasta cinsiyetinin gruplardaki dağılımı**

			Gruplar		Total
			İyi prognoz	Kötü prognoz	
cinsiyet	kadın	Hasta sayısı ve %	10(%58,8)	7(%41,2)	17
		Gruplardaki %	%38,5	%38,9	%38,6
	erkek	Hasta sayısı ve %	17 (59,3%)	11(40,7%)	28
		Gruplardaki %	%61,5	%61,1	%61,4
Total		Hasta sayısı ve %	27(%59,1)	18(%40,9)	45
		Gruplardaki %	%100	%100	%100

45 hastanın 28 (% 61,4)'i erkek 17 (% 38,6)'si kadındı. İyi prognostik grupta toplam 27 hasta mevcuttu. Bu hastaların 10'u kadın 17'si erkek idi. Kötü prognostik gruptaki hasta sayısı da 18 bulundu. Bu hastalarında 7'si kadın 11'i erkekti. Cinsiyet dağılımı açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunamadı (p=0,611).

**Tablo14.Gruplarda LDH dağılımı**

			Gruplar		Total
			iyi prognoz	Kötü prognoz	
LDH	<480	Hasta sayısı (%)	19(%65,5)	10(%34,5)	29(%100)
		Gruplarda % LDH	73,1%	52,6%	64,4%
	>480	Hasta sayısı	7(%43,8)	9(%56,3)	16(%100)
		Gruplarda % LDH	26,9%	47,4%	35,6%
Total		LDH %	57,8%	42,2%	100,0%
		Gruplarda % LDH	100,0%	100,0%	100,0%

LDH düzeyi düşük saptanan 29 hastanın 19 (% 65,5)'u iyi prognostik grupta yer alırken, kötü prognostik grupta 10 hasta (% 34,5) mevcuttu. LDH yüksek saptanan 16 hastaya bakıldığında da 9 hasta (% 56,3) kötü prognostik grupta yer alırken; iyi prognostik grupta 7 hasta (% 43,8) mevcuttu. Düşük LDH düzeyi iyi prognostik grupta, yüksek LDH oranları da kötü prognostik grupta çok olmakla beraber istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı (p= 0.157).

**Tablo15.Gruplarla beta2 mikroglobulinin ilişkisi**

			Grup		Total
			iyi prognoz	Kötü prognoz	
B <sub>2</sub> M	<2,7	Hasta sayısı ve %	7(%63,6)	4(%36,4)	11(%100)
		Gruplardaki % B <sub>2</sub> M	26,9%	21,1%	24,4%
	>2.7	Hasta sayısı	19(%55,9)	15(%44,1)	34
		Gruplardaki % B <sub>2</sub> M	73,1%	78,9%	75,6%
Total		Hasta sayısı v e %	26(%57,8)	19(%42,2)	45
		Gruplardaki % B <sub>2</sub> M	100,0%	100,0%	100,0%

Yüksek B<sub>2</sub>M düzeyi iyi prognostik gruba göre kötü prognostik grupta daha yüksek olmakla beraber (iyi prognostik grupta % 73,1 e karşılık kötü prognostik grupta % 78,9 saptandı) bu bulgularda istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (p=0,651). Aynı şekilde iyi prognostik grupta da düşük B<sub>2</sub>M düzeyleri kötü prognostik gruba göre daha yüksek oranda saptanırken (% 26,9 a karşılık % 21,1) gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunamadı (p=0,651).

**Tablo16.Gruplarla Rai evrelerinin ilişkisi**

			Grup		Total
			İyi prognoz	Kötü prognoz	
prognostik evreler	düşük risk	Hasta sayısı ve %	9(%90)	1(%10)	10
		Gruplardaki %	34,6%	5,3%	22,2%
	Orta risk	Hasta sayısı ve %	13(%56,5)	10(%43,5)	23
		Gruplardaki %	50,0%	52,6%	51,1%
	yüksek risk	Hasta sayısı ve %	4(%33,3)	8(%66,7)	12
		Gruplardaki %	15,4%	42,1%	26,7%
Total		Hasta sayısı ve %	26(%57,8)	19(%42,2)	45
		Gruplardaki %	100,0%	100,0%	100,0%

45 hastanın 10'u (% 22,2) rai'ye göre düşük risk grubunda yer almaktaydı. Bu 10 hastanın gruplardaki dağılımına bakıldığında 9 hasta (% 90) iyi prognostik grupta yer alırken 1 hasta (% 10) kötü prognostik grupta yer alıyor.

Rai'ye göre orta risk grubuna bakıldığında bu aralıkta 23 (hastaların % 51,1'i) hasta vardı ve bu hastaların gruplardaki dağılımı birbirine çok yakındı.

Yüksek risk grubuna bakıldığında buradaki 12 hastanın % 66,7'si (8 hasta) kötü prognostik grupta yer alırken; % 33,3'ü (4 hasta) iyi prognostik grupta yer alıyordu. Gruplardaki dağılıma bakıldığında da iyi prognostik gruptaki hastalarda düşük risk grubunda % 34,6 hasta ve yüksek risk grubundaki % 15,4'lük dağılıma karşılık kötü prognostik gruptaki hastaların % 5,3'ü düşük risk grubunda yer alırken hastaların % 42,1'i yüksek risk grubunda yer almaktaydı. Rai evrelemesi ve gruplar arsında istatistiksel olarak anlamlı korelasyon mevcuttu .İyi prognostik grupla düşük riskli hastalar ve kötü prognostik grupla yüksek riskli hastalar istatistiksel olarak da korele bulundu (p=0,027).

**Tablo17. Gruplarla Binet evrelerinin ilişkisi**

			Grup		Toplam
			İyi prognoz	Kötü prognoz	
Binet	A+	Hasta sayısı ve%	22(%66,7)	11(%33,3)	33(%100)
	B	Gruplardaki %	84,6%	57,9%	73,3%
	C	Hasta sayısı ve%	4(33,3%)	8(%66,7)	12(%100)
		Gruplardaki %	15,4%	42,1%	26,7%
Toplam		Hasta sayısı ve %	26(%57,8)	19(%42,2)	45(%100)
		Gruplardaki %	100,0%	100,0%	100,0%

Gruplarla binet evrelerinin ilişkisine bakıldığında iyi prognostik gruptaki hastaların % 84,6 sı A ve B evresinde iken % 15,4'ü C evresinde yer almaktaydı. Buna karşılık kötü prognostik gruptaki hasta dağılımı % 57,9'a karşılık % 42,2 saptandı. Bu sonuçlara göre binet evresi ve gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı (p=0,049). İyi prognostik gruptaki hastalar düşük binet evresi ile korele iken kötü prognostik gruptaki hastalar yüksek binet evresi ile korele saptandı.

**Tablo18.Gruplarla CD38 düzeyi ilişkisi**

			Grup		Total
			İyi prognoz	Kötü prognoz	
CD38	<30	Hasta sayısı ve %	20(%58,8)	14(%41,2)	34
		Gruplardaki %	76,9%	73,7%	75,6%
	>30	Hasta sayısı ve %	6(%54,5)	5(%45,5)	11
		Gruplardaki %	23,1%	26,3%	24,4%
Total		Hasta sayısı ve %	26(%57,8)	19(%42,2)	45
		Gruplardaki %	100,0%	100,0%	100,0%

Gruplarla CD38 düzeyi ilişkisine bakıldığında her iki grupta da düşük CD38 düzeyi olan hastaların oranı yüksek bulundu. (iyi prognostik gruptaki hastaların CD38 düzeyine göre dağılımı % 76,9'a karşılık % 23,1 iken kötü prognostik grupta da benzer şekilde % 73,7'e karşılık % 26,3 saptandı) Dağılımlar arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunamadı (p=0,536).

**Tablo19.Gruplarla CD23 düzeyi ilişkisi**

			Grup		Total
			İyi prognoz	Kötü prognoz	
CD23	<60	Hasta sayısı ve %	18(%56,3)	14(%43,8)	32
		Gruplardaki %	69,2%	73,7%	71,1%
	>61	Hasta sayısı ve %	8(%61,5)	5(%38,5)	13
		Gruplardaki %	30,8%	26,3%	28,9%
Total		Hasta sayısı ve %	26(%57,8)	19(%42,2)	45
		Gruplardaki %	100,0%	100,0%	100,0%

CD23 düzeyi ile grupların ilişkisine bakıldığında gruptaki dağılımın her iki prognostik grupta benzer olduğu saptandı. İyi prognostik gruptaki hastaların % 69,2'sinde CD23 düzeyi düşük saptanırken kötü prognostik grupta da benzer şekilde % 73,7'sinde CD23 düzeyi düşük saptandı. Gruplarla CD23 düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunamadı (p=0,745).

İyi ve kötü prognostik gruplarla yaş, cinsiyet, LDH, B<sub>2</sub>M, CD38, CD23 düzeyleri arasında istatistiksel olarak korelasyon bulunamadı. Düşük riskli rai evresi ile iyi prognostik grup ve yüksek riskli rai evresi ile kötü prognostik grup arasında istatistiksel olarak anlamlı korelasyon tespit edildi. Aynı şekilde binet evresi ile prognostik gruplar arasındaki ilişkide istatistiksel olarak anlamlı bulundu; iyi prognostik gruptaki hastalar

erken evre binet evresi ile kötü prognostik gruptaki hastalarda ileri evre binet evresi ile korele bulundu.

## 5.TARTIŞMA

Batı dünyasında gözlenen en sık lösemi tipi olan KLL genellikle B (% 95) hücre immunfenotipinde lenfositlerin monoklonal birikimi ile karakterize bir neoplazidir<sup>1</sup> ve insidansı yaş ile artar. Erkeklerden kadınlardan yaklaşık 2 kat fazla gözlenir.<sup>2</sup> KLL hastalığının sebebi belli değildir ancak KLL gelişiminde genetik faktörlerin katkısı olduğu gösterilmiştir.

Kronik lenfositik lösemi (KLL) aşırı derecede değişken bir seyre sahip heterojen bir hastalıktır. Tanıdan sonraki sağkalım aylar ile on yıllar arasında değişiklik gösterebilir. Hastalığın patogenezi zamanla daha iyi anlaşıldıkça, farklı prognostik alt grupları tanımlayan moleküler markerlar ortaya konmaya ve klinik seyri öngörmek üzere stratejiler geliştirilmeye başlanmıştır. KLL’de prognozu belirleyen faktörler önceleri klinik parametrelere dayanmaktayken geçen birkaç yılda IgVH, CD38, ZAP-70 ve sitogenetik gibi birçok biyolojik marker tanımlandı. Bu yöntemler henüz klinik kullanım pratiğine girmemiştir ve prognozu belirlemedeki değeri prospektif çalışmalarla onaylanmalıdır.

KLL’de prognozu belirlemede klinik evreleme sistemi temel alınmakta ve klinik evrelemeyi saptamada sadece fizik muayene ve periferik kan sayımı gerekmektedir. Ek olarak klinik evre birçok çalışmada onaylanmıştır. Düşük riskli hastalarda (rai 0,binet A) yaşam süreleri 10 yılı aşarken orta riskli hastalarda (rai 1-2, binet B) 5-7 yıl yüksek riskli hastalarda 3-4 yıldan kısadır.<sup>56</sup> Klinik evreleme sisteminin bazı kısıtlamaları mevcuttur; şöyle ki günümüzde hastaların % 80 kadarı erken klinik evrede tanı almaktadır<sup>119</sup> ve özellikle bu hasta popülasyonunda hastalığın agresif mi yoksa selim seyirli mi seyredeceği ön görülememektedir. Ayrıca sitopeninin mekanizması (kemik iliği infiltrasyonu, otoimmün) göz ardı edilmiştir. Klinik evrelemede bir başka göz ardı edilen durum da tümör boyutunun düşünülmemiş olması ve tedaviye yanıtın değerlendirilememesidir.

KLL hastalığının prognozu hastalara (yaş, cinsiyet, eşlik eden hastalık durumu ve performans statüsü); hastalığın kendine (tümör yükü, tümörün kinetiği ve biyolojik özellikleri) ve hastalığın tedaviye yanıtına bağlı birçok kompleks faktörlerden etkilenmektedir.

Hastaların kendi ile ilgili faktörlerden yaş, cinsiyet ve performans statüsü klasik prognostik faktörlerdendir.<sup>120</sup> Lee ve arkadaşlarının 325 tedavi edilmemiş KLL hastasında yaptığı çalışmada ileri yaşın kötü prognostik faktör olduğu ancak bu durumun eşlik eden komorbid hastalıklara bağlı olabileceği; yine genç KLL hastalarında KLL surveyinin rölatif olarak düşük olduğu ve KLL ile ilişkili ölümlerin genç hastalarda daha sık olduğu saptanmıştır.<sup>120</sup> Bunun tersine Diehl LF ve arkadaşları da ileri yaşın komorbid hastalıktan bağımsız olarak KLL'de mortalite ile ilişkili olduğunu belirtmişler. Ayrıca erkek cinsiyette hastalığın daha agresif seyrettiğini tespit etmişlerdir. Bu çalışmada 5 yıllık beklenen yaşam süresi 40 yaş altında % 69,5; 40-59 yaş arasında % 72,2; 60-79 yaş arasında % 63,1 ve 80 yaş üzerinde % 41,7 saptanmıştır.<sup>121</sup>

Cinsiyetin prognoza etkisine bakıldığında birçok çalışmada kadın KLL hastalarında sağkalım süreleri erkek KLL hastalarından daha uzun bulunmuştur, bu farkın sebebi açıklanabilmiş değildir.<sup>122</sup> Erkeklerde kadınlardan yüksek saptanması estrogenin KLL riskini azalttığı düşündürmekle beraber postmenapozol hormon replasman tedavisi alan hastalarda azalmış KLL insidansı gösterilememiştir.

Klasik bilgi KLL hastalığı hücre siklusunun G0 fazında akümüle olmuş neoplastik lenfositlerden oluştuğudur ancak yakın zamanda yapılan *in vivo* kinetik çalışmalar hastalarda büyük hücresel proliferasyon ve ölüm oranlarını ortaya çıkardı. Hücresel doğum oranı  $>0.35/\text{gün}$  olan hastalar daha düşük hücresel doğum oranı olan hastalara göre aktif hastalığı veya progresif hastalığa geliştirmeye yatkındır.<sup>7</sup> Hücre bölünmesini gösteren diğer bir parametrede S fazındaki hücrelerin oranı, telomer uzunluğu ve telomeraz aktivitesidir.<sup>123</sup> Çok daha kolay belirlenen diğer yöntemler ise lenfosit ikilenme zamanı, serum timidin kinaz düzeyi ve LDH seviyeleri, beta2mikroglobulin, soluble CD23, CD27 ve CD44, bazı interlökinler, timidin kinaz ve trombopoetindir (TPO)<sup>124</sup> Serum LDH seviyeleri hücre döngüsünün belirteçidir ve hematopoetik malignansilerde veya diğer neoplastik hastalıklarda düzeyi artmıştır. KLL hastalarında artmış LDH düzeyleri de azalmış sağkalım ile ilişkilidir, çalışmalarda kötü prognostik belirteç olarak tanımlanan 17p delesyonu<sup>93</sup>, yüksek ZAP70 düzeyi ve CD38 ekspresyonu ile korele bulunmuştur.<sup>125,126</sup> B<sub>2</sub>M çekirdekli hücrelerde eksprese olan membran ilişkili bir proteindir. MHC Clas 1 in alfa zincirine non kovalant olarak bağlıdır. Serum B<sub>2</sub>M seviyeleri klinik evre, kemik iliği infiltrasyonu ve yüksek turnoverlı hastalıkla ilişkilidir.

B<sub>2</sub>M'nin kendisi ile yapılan birçok çalışmada klinik önemi gösterilmiştir<sup>127</sup>, yine ZAP70 ve CD38 gibi diğer prognostik faktörlerle ilişkisi gösterilmiştir.<sup>125,126</sup>

KLL'de farklı membran proteinleri plazmaya salınırlar ve eriyebilen bu CD molekülleri KLL'de tümör belirteci olarak kullanılabilir. sCD23 evre A hastalarda prognoz belirlemede bir belirteç olarak kullanılabilir.<sup>128</sup> Serum sCD23 düzeyleri diffüz kemik iliği infiltrasyonu, kısa LDT, artmış serum timidin kinaz düzeyleri ve yüksek CD38 ekspresyonu ve ZAP70 düzeyi ile ilişkili bulunmuştur.<sup>129</sup>

IL6, IL8 ve IL10 gibi bazı interlökinler tüm çalışmalarda gösterilemese de prognoz belirlemede kullanılabilecek diğer belirteçlerdendir. Plazma TPO seviyelerinin de KLL'de prognostik değeri tam olarak kesinleşmemiştir. Koller ve arkadaşları tarafından plazma TPO seviyelerinin klinik evre, B<sub>2</sub>M seviyeleri, IgVH mutasyon durumu ve sağkalımla ilişkisi gösterilmesine rağmen<sup>115</sup> Malika ve arkadaşları tarafından bu bilgi onaylanamamıştır.<sup>130</sup>

KLL prognozunda son yıllarda üzerinde durulan parametrelerden biride CD38 düzeyidir. CD38 ve CD23'ün prognostik önemine yönelik Giovanni ve arkadaşlarının 164 yeni tanı KLL hastasında yaptığı çalışmada CD38 düzeyi % 30 üzerinde pozitif saptanan hastalar orta/yüksek risk Rai evresi, yüksek sCD23 düzeyi, yüksek tümör yükü(intraabdominal ve torasik LAP/splenomegali) ve 12 aydan kısa olan LDT ile ilişkili bulunmuştur.<sup>131</sup> Bu hastalarda 5 yıllık progresyonsuz sağkalım süresi incelendiğinde düşük CD38 düzeyine sahip hastalarda bu sürenin belirgin olarak uzun olduğu tespit edilmiştir (% 75'e karşılık % 37). Genel sağkalım süreleri de CD38 düzeyi yüksek olan hastalarda kısa tespit edilmiştir (8 yıllık sağkalım % 50'e karşılık % 92). Ayrıca bu çalışmada CD38 ekspresyonunun artmasıyla fludarabina yanıtı veya kısmi yanıt riski yüksek bulunmuştur ki bu durum oldukça güçlü bir prognostik faktördür. Bir başka prognostik faktör olarak tanımlanan IgVH mutasyon durumu ile CD38 düzeyi arasında ilişki olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur. Çalışmalarda iyi prognozla seyreden IgVH mutasyonu düşük CD38 düzeyi ile korele bulunmuştur. Biz çalışmamızda hastalarda IgVH mutasyonuna bakmadık.

ZAP70 molekülü T hücre reseptörlerinde sinyal iletimde sorumlu 70 kdal ağırlığında bir tirozin kinazdır. ZAP 70 T hücre ve NK hücrelerinden eksprese olurken pek çok B hücresinde bulunmuyor ve onun yerine sinyal iletiminde 'syk' adlı bir tirozin kinaz kullanılıyor. Son yayınlarda ZAP70'in KLL hücrelerindeki tesbitinin

median yaşama etkisi birçok grup tarafından iddia edilmektedir. Örneğin, Orchard grubunun yaptığı çalışmada ZAP70 negatif olan KLL'li hastaların ortalama yaşama süresi 24,5 sene iken ZAP70 pozitif olan hastaların ortalama yaşama süresi ise 93 sene olarak gösterilmiştir.<sup>132</sup> Üre ve arkadaşlarının yaptığı retrospektif bir çalışmada erken evre (binet A) hastalar ZAP70 pozitif ve negatif olarak iki gruba ayrılmış. ZAP70 pozitif hastaların ortalama tedavisiz izlem süresi 25 ay bulunurken ZAP70 negatif olan hastalarda bu süre 72 ay tespit edilmiş.<sup>133</sup> Yine birçok çalışmada ZAP70 salınımı kötü prognostik belirteç olarak tanımlanan sitogenetik anomaliler ile korele bulunmuş. ZAP70 çalışmalarda güçlü ve bağımsız bir prognostik faktördür. Klinik kullanım pratiği kısıtlılığı nedeniyle biz çalışmamızda ZAP70 düzeyi çalışmadık.

1970'lerin sonlarında KLL'de kromozomal anomalilerin ilk saptandığı yıllarda konvansiyonel sitogenetik yöntemlerle hastaların % 40-50'sinde sitogenetik anomali saptanırken 1980'lerin sonlarında FISH yönteminin interfaz evresindeki hücrelerinde değerlendirilmesi ile bu oran % 80-90'lara çıkmıştır.<sup>119,134</sup> Glassman ve arkadaşlarının FISH yönteminin KLL'de duyarlılığını ve kullanılabilirliğini araştırmak için 100 KLL hastasında FISH yöntemi ve konvansiyonel sitogenetik anomali yöntemini karşılaştırmışlar.<sup>135</sup> Konvansiyonel sitogenetik yöntem ile hastaların % 28'inde kromozomal anomali saptanırken FISH yöntemi ile bu oran % 64'e çıkmış. 11q22 % 23, trizomi12 % 11, 13q14.3 % 40, 17p13.1 delesyonu % 12 hastada saptanmış. Bununla birlikte FISH yöntemi ile saptanmayan 6. kromozomal anomali 2 hastada konvansiyonel yöntem ile saptanmış. Çalışmacılar sitogenetik anomalileri saptamada FISH yönteminin konvansiyonel sitogenetik yöntemlere göre daha sensitiv olduğu saptamış ve bu durumun konvansiyonel sitogenetik anomalinin metafaz plaklarında sınırlanması bununla beraber FISH yönteminin hücrelerin hem metafaz hem de interfaz döngüsünde çalışılabilir olmasına bağlamış. Ancak FISH yöntemi konvansiyonel sitogenetik anomalinin yerini alamaz çünkü FISH yöntemi ile sadece daha önce konvansiyonel yöntemlerle tespit edilen kromozomal anomalilerin tespit etmek için hazırlanan spesifik problemler kullanılmaktadır.

KLL'de en sık görülen sitogenetik anormalliklerin insidansı izole 13q delesyonu için % 14-40, 11q delesyonu için % 10-32, 17 p delesyonu için % 3-27, 6q delesyonu için ise % 2-9 dur.<sup>119,134</sup> En sık gözlenen sitogenetik anomali 13q delesyonudur ve mükemmel bir prognozla seyrettiği bir çok çalışmada gösterilmiştir.<sup>93</sup> 13q14 bölgesi

antiapoptotik bir protein olan bcl2'nin artışı negatif yönde regüle eden miR15a, miR16-1 ve Leu2 gibi bazı genleri içerir.<sup>136</sup>

Kromozomal anomalilerin KLL'deki yerini tespit etmek için yapılan ilk çalışmalardan biri olan çalışmada Döhner ve arkadaşları 325 KLL'li hastanın periferik kanında FISH yöntemi ile sitogenetik tarama yapmış ve hastaların % 82'sinde sitogenetik anomali tespit etmişler.<sup>93</sup> Sırasıyla 13q14 % 55; 11q % 18; trizomi12 % 16; 17p delesyonu % 7 sıklıkta tespit edilmiş. Hastaları normal karyotip, izole 13q delesyonu, 11q delesyonu mevcudiyeti (17p delesyonu eşlik etmeyecek), 17p delesyonu ve trizomi12 (17p delesyonu ve 11q delesyonu olmayan grup) olarak 5 gruba kategorize etmişler. Kaplan meier yöntemi ile hastaların ortalama yaşam sürelerine bakıldığında 17p delesyonunda 32 ay, 11q delesyonunda 79 ay, trizomi12 de 114 ay, normal karyotipte 111 ay ve 13q delesyonunda 133 ay olarak saptanmış. 17p delesyonunda tedavisiz yaşam süresi 9 ay iken 13q delesyonunda 92 ay olarak tespit edilmiş. 13q delesyonu olan hastalarla kromozom anomali tespit edilmeyen hastaların ortanca yaşam süreleri istatistiksel olarak benzer bulunmuş.

Buna benzer bir çalışma da Türkiye'den Durak ve arkadaşları tarafından yapılmış.<sup>137</sup> 79 KLL'li hastada FISH tekniği ile sitogenetik anomali taranmış. Hastalar 3 gruba ayrılmış. Birinci grup rai 0-1 olan düşük lenfosit sayısına sahip ve 13q14 delesyonu olan hastalar iyi prognostik grup olarak alınmış. Kötü prognostik grupta yüksek lenfosit sayısına sahip rai 3-4 olan ve 11q ve/veya 17p delesyonu olan hastalar alınmış. Orta risk grubuna ise trizomi12si olan ve rai 2 evresinde olan hastalar alınmış. 13q14 delesyonu 20 hastada izole olarak tespit edilmiş ve bu hastaların % 55'i ileri evre hastalıklarda görülürken % 45'i erken evre rai 0 evresinde görülmüş. Çalışmacı bu durumu Türk hastaların doktor ziyaretine geç gelmelerine bağlamış. Trizomi12 10 hastada izole olarak tespit edilmiş bu hastaların % 70'i ileri evre hastalarda (rai 2-4) hastalarla korele imiş. Toplam 9 hastada 17p ve 11q delesyonu ya izole ya da 13q delesyonu ile birlikte görülmüş. Bu hastaların da % 77,8'i ileri evre hastalıkla korele bulunmuş. Sağkalım süreleri bakımından iyi ve kötü prognostik grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark varken iyi ve ortanca grup ile kötü ve ortanca grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmemiş. Bu çalışmada 13q14 delesyonu saptanan hastaların % 55'i ileri evre hastalarda tespit edilmiş ancak yaşayan hasta sayısı tahmini yaşam süreleri 13q14 delesyonu olan hastalarda daha yüksek tespit edilmiş. Bu çalışma

süresince 17p del ve 11q del olan ve ileri evre ile korele olan 7 hastanın tümü eksitus olmuş.

Birçok çalışma 13q14 delesyonunun iyi prognostik bir belirteç olduğunu göstermekle beraber bazı çalışmalarda bunun tersine yorumlar yapılmıştır. Daniel L. ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada izole 13q delesyonu pozitif 323 tedavi edilmemiş ardışık KLL hastası alınmış ve hastalar 13q delesyonu açısından homozigot, heterozigot ve mozaik patern olarak üç gruba ayrılarak hastaların tedavisiz yaşam süreleri ve sağkalım süreleri açısından incelendiğinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamış ancak yine aynı çalışmada 13q delesyonunun nukleuslardaki oranı % 65,5 üzerinde olanlarda tedavisiz yaşam süreleri belirgin olarak kısaldığı görülmüş.<sup>138</sup> 13q delesyonu % 65,5 üzerinde olanlarda 5 yıllık tedavisiz yaşam süreleri % 79 iken diğer grupta % 39 olarak saptanmış. Yine aynı çalışmada ek olarak 217 KLL hastası daha incelenmiş. Bu hastalar 11q, 17p ve trizomi12'si izole olanlar ve 13q delesyonuna eşlik edenler olarak incelendiğinde 17p delesyonuna eşlik eden 13q delesyonu varlığında tüm sağkalım süresinde uzama olduğu görülmüş(1,6 yıla karşılık 6,1 yıl). Tedavisiz yaşam süreleri bakımından hiçbir grupta fark saptanmamış. Buna benzer başka bir çalışmada delesyon oranı % 80 ve üzeri alındığında 13q14 delesyonunun kötü prognostik bir kriter olduğu sonucuna varılmıştır.<sup>139</sup>

Diğer taraftan ataksi telenjiektazi mutasyon (ATM) genini içeren 11q delesyonu ve p53 içeren 17p delesyonunu içeren hastalar konvansiyonel kemoterapiye yanıt vermezler ve hızlı seyirli hastalıkla ilişkilidirler. P53 DNA hasarlı hücre ölümünde ve apoptozun başlatılmasında önemli rol oynamaktadır ve KLL hastalarında 17p delesyonu veya p53'ü inaktive eden mutasyonların olması p53 bağımlı apoptoz üzerinden etki gösteren purin nukleozit analogları (fludarabine) ve alkalizan ajanlarla (klorombusil) tedaviye direnç gelişiminden sorumludur. Zenz T ve arkadaşları p53 yolağının fludarabin direçli KLL hastalarındaki patofizyolojisini anlamak için yaptıkları çalışmada 17p delesyonu ve p53 mutasyonunun bu grupta sık olduğu ancak yarıdan fazla hastada bu direncin sadece p53 mutasyonu veya 17p delesyonu ile açıklanamayacağını belirtmişler.<sup>140</sup> Aynı çalışmada 17p delesyonu veya p53 mutasyonu içeren hastalarda mir34a'nın çok az eksprese olduğu görülmüştür. Bu hasta grubunda alemtuzumabın etkisi gösterilmiştir. Lozanski G ve arkadaşlarının 36 fludarabin dirençli KLL hasta ile yaptığı çalışmada da hastaların 15 (% 42)'i p53 mutasyonu veya

delesyonu saptanmış.<sup>141</sup> P53 mutasyonu veya delesyonu içeren 15 hastanın % 40'ı alemtuzumab tedavisine yanıt verirken mutasyon içermeyen 21 hastanın % 19'u tedaviden fayda bulduğu; tedaviye yanıt süresini de ortalama 8 ay olarak saptanmıştır.

Byrd ve arkadaşları da sitogenetik anomalilerin ritüximaba yanıtını tahmin etmedeki değerine bakmışlar ve 17p delesyonu içeren hastaların hiçbirinin rituximaba yanıt vermediği bunun yanında 11q delesyonu olan hastalarda yanıtın % 60, 13q delesyonu olanlarda % 86 ve trizomi12 olanlarda % 25 olarak bulmuşlardır.<sup>142</sup> 17p delesyonu içeren hastaların yanıt oranı diğer hastalara göre belirgin olarak düşük saptanmıştır.

Döhner ve arkadaşlarının 100 B hücreli lösemide yaptığı çalışmada da p53 mutasyonu olan hastaların hiçbirinin fludarabin veya pentostatine cevap vermediği görülmüştür.<sup>37</sup> Aynı çalışmada p53 mutasyonu içeren hastaların tahmini yaşam süreleri tedavisiz yaşam süreleri istatistiksel olarak belirgin olarak kısa bulunmuştur. Bu çalışmada p53 mutasyonun sağkalımda güçlü bir prognostik belirteç olduğu saptanmıştır.

Allogenik kemik iliği tansplantında da 17 p delesyonu içeren hastaların kür oranı belirgin olarak düşük bulunmuş. Dolares ve arkadaşlarının 22 transplantlı hastada yaptığı çalışmada hastalar ortalama olarak 47,3 ay izlenmiş.<sup>143</sup> Bu hastalardan p53 mutasyonu olan 6 hastanın tümünde aktif hastalık tekrarlarlarken 11q delesyonunda diğer gruplardan fark bulunmamış. Özetle 17p delesyonu çalışmalarda kısalmış yaşam süreleri, güçlü bir prognostik belirteç olan tedaviye yanıtızsızlık ve kemik iliği transplantında başarısızlıkla ilişkilidir. Dahası bazı çalışmalarda p53 mutasyonu richter's transformasyonu ile ilişkilli bulunmuştur.<sup>106</sup>

KLL'li hastaların % 10-20 sinde görülen 11q delesyonuna sahip hastalar sıklıkla erkektir. Özellikle batında büyük adenopati, ileri evre hastalık, kısalmış yaşam süresine sahiptir.<sup>103</sup> 11q delesyonu daha çok genç KLL hastalarında tespit edilir.<sup>93,103</sup> Bu hastalarda genelde p53 yolağında görevli olan ATM geni silinir. Xu V ve arkadaşlarının 80 KLL hastasında yaptığı çalışmada p53 ve ATM delesyonu içeren hastalarda cinsiyet, yaş, binnet evresi, periferik lenfosit sayısı, serum LDH, B<sub>2</sub>M ve ZAP-70 düzeyleri arasında önemli bir fark saptanmamış.<sup>144</sup> CD38 düzeylerinin yüksek olduğu grupta p53 ve ATM gen delesyonları yüksek oranlarda saptanmış. Fludarabin verilen 41 hastada p53 ve/veya ATM gen delesyonu içeren 9 hastanın hiçbirinde tam

yanıt alınmamış. Buna karşılık geriye kalan 32 hastanın % 37,5'inde başarı sağlanmıştır.

Trizomi12 çalışmalarda ikinci sıklıkla görülen anomali olup % 15-25 oranlarında tespit edilmektedir. Ortalama sağkalım süreleri Döhnerin yaptığı çalışmada 111 ay olarak bulunmuştur.<sup>93</sup> Aynı çalışmada trizomi12 tüm sağkalımda 13 delesyonu olan hastalarla farklılık göstermezken, tedavisiz yaşam süreleri kısa tespit edilmiştir. Trizomi12 KLL'nin atipik morfolojiye<sup>145</sup> ve ilerlemiş klinik evreye sahip bir subgrupunu oluşturmaktadır. CDK4 gibi bazı genlerden şüphelenilse de henüz hangi genlerde defekt olduğu bilinmemektedir. Abalsalam ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada tanı anında trizomi12'ye sahip hastalar ileri evre hastalık, artmış lenfosit sayısı ve kısalmış progresyonsuz yaşam süresi ile korele bulunmuştur.<sup>146</sup>

Biz de çalışmamızda KLL'de prognostik önemi olan ve en sık gözlenen sitogenetik anomalileri (13q14.3, trizomi12, 17p13.1 (p53), 11q22.3 (LSI ATM)) FISH yöntemi ile taradık; ve sitogenetik anomalilerin klinikle korelasyonunu inceledik. Hastaları iyi prognostik ve kötü prognostik grup olarak iki sınıfa ayırdık. İzole 13q14 delesyonu olanlar ve kromozomal anomalisi olmayanlar iyi prognostik gruba alındı. Diğer kromozomal anomalileri tek veya kombine olanlar da kötü prognostik gruba alındı.

Çalışmamıza ÇÜTF (Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi) Hematoloji bölümünde takip edilen veya yeni tanı almış sıradan gelen 45 hasta alındı. Hastaların 16 (% 35,5)'sı kadın; 29 (% 64,5)'u erkek idi. Erkek kadın oranı 1.8 olarak bulundu ve bu değer genel literatür ile uyumlu idi. Çalışmaya alınan hastaların yaş ortalamaları 65 idi (en küçük yaş 43 en büyük yaş 82 olarak kaydedildi). Bir ileri yaş hastalığı olan KLL'de bizim çalışmamızda da 45 hastanın sadece 6 tanesi 50 yaş ve altında bulundu. Bu hastalar arasında cinsiyet dağılımı birebirdi. Çalışmaya alındıkları anda hastaların 10 (% 22,2)'u Rai 1, 23'ü (% 51,1) Rai 2, 12'si (% 26,7) Rai 3 evresinde idi. 17, 16 ve 12 hastada sırasıyla Binet A, B ve C evresinde kaydedildi. Literatürlerde hastaların daha çok erken evrede tanı aldığı söyleniyor ancak biz çalışmaya hem takipteki hem de yeni tanı almış olan hastaları aldığımızda dolayı bu ayrımı göremedik. Hastaların 7'si yeni tanı aldı diğerleri takipte olan hastalardı. 45 hastanın 25'i daha önce hiç tedavi almamıştı. Diğer hastalar klorombusil, CVP, FC, FCR ve bir hasta alemtuzumab olmak

üzere çeşitli kemoterapi protokolleri almıştı. Hastaların hiçbirinde böbrek ve karaciğer fonksiyon testlerinde problem yoktu.

Kromozomal anomali sıklıklarına bakıldığında FISH yöntemi ile 45 hastanın 35'inde (% 77,8) en az bir sitogenetik anomali saptandı. 17 (% 37,8) hastada tek, 13 (% 28,8) hastada iki, 4 (% 8,8) hastada üç ve bir hastada dört (% 2,2) sitogenetik anomali birden vardı. FISH yöntemi ile sitogenetik anomali sıklığı literatür ile uyumlu bulundu. En sık saptanan sitogenetik anomali 13q14 delesyonu idi; hastaların 32 (% 71)'sinde mevcuttu, bu hastalarında 16'sında izole 13q14 delesyonu varken, diğerlerine tek başına veya diğer sitogenetik anomalilere kombine olarak (17p delesyonu (6 hastada), 11q delesyonu (3 hastada) ve trizomi12 (2 hastada)) eşlik etmekteydi. 45 hastanın 10'ununda herhangi bir kromozomal anomali tespit edilmedi. Literatürde iyi prognostik grup olarak belirlenen ve çalışmamızda iyi prognostik grup olarak alınan bu grup ile düşük LDH düzeyi, düşük B<sub>2</sub>M düzeyi, düşük CD38 düzeyi, düşük CD23, yaş ve cinsiyet dağılımı açısından ilişki bulunamadı. Binet ve Rai evreleri ile prognostik gruplar arasındaki ilişki incelendiğinde Binet A ve B evresi ile düşük riskli Rai evresi arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulundu.

Biz çalışmamızda kromozomal anomali olarak ikinci sıklıkla 17p delesyonu tespit ettik. Çalışmalarda 17p delesyon sıklığına bakıldığında bu oranın % 5-10 arasında değiştiği görülüyor. Bazı çalışmalarda bu oran % 27'e kadar yükseliyor.<sup>119</sup> Bizim çalışmamızda 17p delesyon sıklığı % 31 olarak saptandı. Bu bizim hasta seçiminde hem yeni tanı almış olan hastaları hem de takipteki hastaları almamızdan kaynaklanıyor olabilir. Aralıkla yapılan FISH taraması ile hastalık seyrinde yeni gelişen sitogenetik anormallikler tespit edilebilir. Bu durum KLL'li hastalarda nadiren görünürken FISH çalışmalarında kötü prognozlu hastalarda % 17 oranında yeni gelişen sitogenetik anormallikler görülmüştür.<sup>147</sup> Nitekim çalışmaya alınan yeni tanı almış 7 hastadan sadece birinde 17p delesyonu tespit edilmiştir. Bir başka olasılık da kötü seyirli hastaların daha sık poliklinik kontrolü olmasından kaynaklanabilir. Hastaların % 17,7'sinde 11q delesyonu ve % 11,1'inde trizomi12 tespit edildi. Bu anomalilerin hiçbiri izole olarak görülmedi. Bu sitogenetik anomali sıklıkları da literatür ile uyumlu bulundu. Kromozomal anomaliler izole olarak görülmediğinden 11q delesyonu ile ilişkili LAP, genç hasta ilişkisi değerlendirilemedi. Ancak 11q delesyonu tespit edilen 8 hastanın sadece ikisinde LAP yoktu. Çalışmaya alınan 45 hastaya

bakıldığında ise bu hastaların % 48,8'inde LAP görülmemiştir. Yine yapılan çalışmada 11q delesyonu görülen 8 hastanın 7'si erkekti; literatürde de bu durum göze çarpmaktaydı. Çalışmada kötü prognostik grup olarak alınan kromozomal anomalilerin yüksek LDH, yüksek CD38, yüksek CD23, yüksek B<sub>2</sub>M düzeyi, yaş ve cinsiyet ile ilişkisi saptanmadı; İleri binet evresi ve yüksek riskli rai evresi ile istatistiksel olarak anlamlı ilişki görüldü. Bu durum alınan hasta sayısı veya bizim hastalarda kromozomal anomalileri tek tek inceleyememizden kaynaklanıyor olabilir. Ayrıca yapılan bazı çalışmalarda 13q delesyonunun kötü prognozla seyrettiği, ve Daniel L ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 17p delesyonuna eşlik eden 13q delesyonunun tüm sağkalım süresini uzattığı tespit edilmiştir.<sup>138</sup>

FISH kromozomal anomali tespit etmede konvensiyonel sitogenetik yöntemlere üstündür. Sitogenetik anomalilerin hastaların tedavi ve prognozlarını belirlemedeki değeri birçok çalışmada gösterilmiştir. Bu çalışma ile üniversitemizde ilk kez olarak KLL hastalarında FISH yöntemi ile sitogenetik anomaliler bakılmaya başlamıştır. Bu çalışmanın temel amaçlarından biri de KLL hastalarında FISH yönteminin oturması ve standardizasyonunun sağlanmasıdır. Özellikle yeni tanı almış düşük evre hastalarda sitogenetik anomali değerlendirilerek şuan dünyada da değişmeye başlayan izle ve gör yaklaşımının değişmeye başladığı göz önüne alınarak risk durumuna göre hastalarda en başta tedavi stratejileri belirlenmelidir. Sitogenetik anomalilerin önemini anlamak için daha birçok çalışmaya ihtiyaç vardır.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

1.45 KLL'li hasta ile yapılan bu çalışmada FISH yöntemi ile hastaların %77,8'inde sitogenetik anomali tespit edilmiştir. FISH yöntemi konvansiyonel sitogenetik yöntemlere göre sitogenetik anomali saptamada sensitiv ve hızlı bir yöntemdir; ancak konvansiyonel sitogenetik yöntemlerin yerini alamaz. KLL tedavisinin planlanmasında ve prognozu belirlemede değerli bilgiler vermektedir.

2.Sitogenetik anomalilerin önemini anlamak için yapılan bu çalışmada gruplarla serum LDH, B<sub>2</sub>M, CD23 ve CD38 düzeyleri, yaş ve cinsiyet arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmamıştır. Bu çalışmaya alınan hasta sayısı ve çalışmaya tanı ve takipteki hastaların alınmasından kaynaklanmış olabilir. Rai ve binet evresi ile gruplar arasında anlamlı ilişki saptanmıştır.

3.Çalışmalarda kötü prognostik faktör olarak belirtilen 17p delesyonu, 11q delesyonu ve trizomi 12'nin önemini anlamak için daha geniş kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

4.KLL'deki bu yeni gelişmeler ışığında hastaların tanı anında risk durumu belirlenmeli ve buna göre tedavi planı yapılmalıdır.

5.Tedavi klavuzlarının yeniden düzenlenmesi ve tedavi stratejilerinde standardizasyonu gerekmektedir.

## 7. KAYNAKLAR

1. **Redaelli A, Laskin BL, Stephens JM, Boteman MF, Pashos CL.** The clinical and epidemiological burden of chronic lymphocytic leukemia. *Eur J Cancer Care* **2004**; 13;279-287.
2. **Diehl LF, Karnell LH, Menck HR.** The National Cancer data base report on age ,gender ,treatment, and outcomes of patient with chronic lymphocytic leukemia. The American College of Surgeons Commission on Cancer and the American Cancer Society. *Cancer* **1999**; 86:2684-2692.
3. **La Civita L, Zignego AL, Monti M, Longombardo G, Greco F, Pasero G, Ferri C.** Type C hepatitis and chronic lymphocytic leukaemia. *Eur J Cancer* **1996**; 32a:1819-1820.
4. **Bianco E, Marcucci F, Mele A, Musto P, Cotichini R, Sanpaolo MG, Iannitto E, De Renzo A, Martino B, Specchia G, Montanaro M, Barbui AM, Nieddu R, Pagano L, Rapicetta M, Franceschi S, Mandelli F, Pulsoni A.** Prevalence of hepatitis C virus infection in lymphoproliferative diseases other than B-cell non-Hodgkin's lymphoma, and in myeloproliferative diseases: An Italian Multicenter case- control study. *Haematologica* **2004**; 89:70-76.
5. **Swerdlow SH, Campo E, Harris NL.** World Health Organization Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues, IARC Press, Lyon **2008**.
6. **Pallasch CP, Schulz A, Kutsch N, SchwambJ, Hagist S, Kashkar H, Ultsch A, Wickenhauser C, Hallek M, Wendtner CM.** Overexpression of TOSO in CLL is triggered by B-cell receptor signaling and associated with progressive disease. *Blood* **2008**; 112:4213-4219.
7. **Messmer BT, Messmer D, Allen SL, Kolitz JE, Kudalkar P, Cesar D, Murphy EJ, Koduru P, Ferrarini M, Zupo S, Cutrona G, Damle RN, Wasil T, Rai KR, Hellerstein MK, Chiorazzi N.** In vivo measurements document the dynamic cellular kinetics of chronic lymphocytic leukemia B cells. *J Clin Invest* **2005**; 115:755-764.
8. **Fais F, Ghiotto F, Hashimoto S, Sellars B, Valetto A, Allen SL, Schulman P, Vinciguerra VP, Rai K, Rassenti LZ, Kipps TJ, Dighiero G, Schroeder HW, Ferrarini M, Chiorazzi N.** Chronic lymphocytic leukemia B cells express restricted sets of mutated and unmutated antigen receptors. *J Clin Invest* **1998**; 102:1515-1525.
9. **Damle RN, Ghiotto F, Valetto A, Albesiano E, Fais F, Yan XJ, Sison CP, Allen SL, Kolitz J, Schulman P, Vinciguerra VP, Budde P, Frey J, Rai KR, Ferrarini M, Chiorazzi N.** B-cell chronic lymphocytic leukemia cells express a surface membrane phenotype of activated, antigen-experienced B lymphocytes. *Blood* **2002**; 99:4087-4093.

10. **Stevenson FK, Caligaris-Cappio F.** Chronic lymphocytic leukemia: revelations from the B-cell receptor. *Blood* **2004**; 103:4389-4395.
11. **Antin JH, Emerson SG, Martin P, Gadol N, Ault KA.** Leu-1+ (CD5+) B cells. A major lymphoid subpopulation in human fetal spleen: Phenotypic and functional studies. *J Immunol* **1986**; 136:505-510.
12. **Bofill M, Janossy G, Janossa M, Burford GD, Seymour GJ, Wernet P, Kelemen E.** Human B cell development. II. Subpopulations in the human fetus. *J Immunol* **1985**; 134:1531-1538.
13. Caligaris-Cappio F, Gobbi M, Bofill M, Janossy G. Infrequent normal B lymphocytes express features of B-chronic lymphocytic leukemia. *J Exp Med* **1982**; 155:623-628.
14. **Rawstron AC, Green MJ, Kuzmicki A, Kennedy B, Fenton JA, Evans PA, O'Connor SJ, Richards SJ, Morgan GJ, Jack AS, Hillmen P.** Monoclonal B lymphocytes with the characteristics of "indolent" chronic lymphocytic leukemia are present in 3.5% of adults with normal blood counts. *Blood* **2002**; 100:635-639.
15. **Ghia P, Prato G, Scielzo C, Stella S, Geuna M, Guida G, Caligaris-Cappio F.** Monoclonal CD5+ and CD5- B-lymphocyte expansions are frequent in the peripheral blood of the elderly. *Blood* **2004**; 103:2337-2342.
16. **Gadol N, Ault KA.** Phenotypic and functional characterization of human Leu1 (CD5) B cells. *Immunol Rev* **1986**; 93:23-34.
17. **Molica S, Alberti A.** Prognostic value of lymphocyte doubling time in chronic lymphocytic leukemia. *Cancer* **1987**; 60:2712-2716.
18. **Kipps TJ, Tomhave E, Chen PP, Carson DA.** Autoantibody-associated kappa light chain variable region gene expressed in chronic lymphocytic leukemia with little or no somatic mutation. Implications for etiology and immunotherapy. *J Exp Med* **1988**; 167:840-852.
19. **Kipps TJ, Tomhave E, Pratt LF, Duffy S, Chen PP, Carson DA.** Developmentally restricted immunoglobulin heavy chain variable region gene expressed at high frequency in chronic lymphocytic leukemia. *Proc Natl Acad Sci USA* **1989**; 86:5913-5917.
20. **Kipps TJ, Carson DA.** Autoantibodies in chronic lymphocytic leukemia and related systemic autoimmune diseases. *Blood* **1993**; 81:2475.
21. **Inghirami G, Foitl DR, Sabichi A, Zhu BY, Knowles DM.** Autoantibody-associated cross-reactive idiotype-bearing human B lymphocytes: Distribution and characterization, including Ig VH gene and CD5 antigen expression. *Blood* **1991**; 78:1503-1515.
22. **Dighiero G.** Biology of the neoplastic lymphocyte in B-CLL. *Baillieres Clin Haematol* **1993**; 6:807-820.

23. **Abe M, Tominaga K, Wakasa H.** Phenotypic characterization of human B-lymphocyte subpopulations, particularly human CD5+ B-lymphocyte subpopulation within the mantle zones of secondary follicles. *Leukemia* **1994**; 8:1039-1044.
  
24. **Dianzani U, Omede P, Marmont F, DiFranco D, Fusaro A, Bragardo M, Redoglia V, Giaretta F, Mairone L, Boccadoro M.** Expansion of T cells expressing low CD4 or CD8 levels in B-cell chronic lymphocytic leukemia: Correlation with disease status and neoplastic phenotype. *Blood* **1994**; 83:2198-2205.
  
25. **Scrivener S, Kaminski ER, Demaine A, Prentice AG.** Analysis of the expression of critical activation/interaction markers on peripheral blood T cells in B-cell chronic lymphocytic leukaemia: evidence of immune dysregulation. *Br J Haematol* **2001**; 112:959-964.
  
26. **Gorgun G, Holderried TA, Zahrieh D, Neuberg D, Gribben JG.** Chronic lymphocytic leukemia cells induce changes in gene expression of CD4 and CD8 T cells. *J Clin Invest* **2005**; 115:1797-1805.
  
27. **Dighiero G.** An attempt to explain disordered immunity and hypogammaglobulinemia in B-CLL. *Nouv Rev Fr Hematol* **1988**; 30:283-288.
  
28. **Diehl LF, Ketchum LH.** Autoimmune disease and chronic lymphocytic leukemia: Autoimmune hemolytic anemia, pure red cell aplasia, and autoimmune thrombocytopenia. *Semin Oncol* **1998**; 25:80-97.
  
29. **Majumdar G, Brown S, Slater NG, Singh AK.** Clinical spectrum of autoimmune haemolytic anaemia in patients with chronic lymphocytic leukaemia. *Leuk Lymphoma* **1993**; 9:149-151.
  
30. **Stoeger ZM, Stoeger D, Shtalrid M, Sigler E, Geltner D, Berrebi A.** Mechanism of autoimmune hemolytic anemia in chronic lymphocytic leukemia. *Am J Hematol* **1993**; 43:259-264.
  
31. **Sinisalo M, Aittoniemi J, Oivanen P, Kayhty H, Olander RM, Vilpo J.** Response to vaccination against different types of antigens in patients with chronic lymphocytic leukaemia. *Br J Haematol* **2001**; 114:107-110.
  
32. **Molica S.** Infections in chronic lymphocytic leukemia. Risk factors and impact on survival, and treatment. *Leuk Lymphoma* **1994**; 13:203-204.
  
33. **Salonen J, Nikoskelainen J.** Lethal infections in patients with hematological malignancies. *Eur J Haematol* **1993**; 51:102-108.
  
34. **Sampalo A, Navas G, Medina F, Segundo C, Cámara C, Brieva JA.** Chronic lymphocytic leukemia B cells inhibit spontaneous Ig production by autologous bone marrow cells: role of CD95-CD95L interaction. *Blood* **2000**; 96:3168-3174.

35. **Hanada M, Delia D, Aiello A, Reed JC, Stadtmauer E.** bcl-2 gene hypomethylation and high-level expression in B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Blood* **1993**; 82:1820-1828.
36. **Zhao H, Dugas N, Mathiot C, Demler A, Dugas B, Sigaux F, Kolb JP.** B-cell chronic lymphocytic leukemia cells express a functional inducible nitric oxide synthase displaying anti-apoptotic activity. *Blood* **1998**; 92:1031-1043.
37. **Dohner H, Fischer K, Bentz M, Hansen K, Benner A, Cabot G, Diehl D, Schlenk R, Coy J, Stilgenbauer S.** p53 gene deletion predicts for poor survival and non-response to therapy with purine analogs in chronic B-cell leukemias. *Blood* **1995**; 85:1580-1589.
38. **Rouby S, Thomas A, Costin D, Rosenberg CR, Potmesil M, Silber R, Newcomb EW.** p53 gene mutation in B-cell chronic lymphocytic leukemia is associated with drug resistance and is independent of MDR1/MDR3 gene expression. *Blood* **1993**; 82:3452-3459.
39. **Gaidano G, Ballerini P, Gong JZ, Inghirami G, Neri A, Newcomb EW, Magrath IT, Knowles DM, Dalla-Favera R.** p53 mutations in human lymphoid malignancies: Association with Burkitt lymphoma and chronic lymphocytic leukemia. *Proc Natl Acad Sci U S A* **1991**; 88:5413-5417.
40. **Wattel E, Preudhomme C, Hecquet B, Vanrumbeke M, Quesnel B, Dervite I, Morel P, Fenaux P.** p53 mutations are associated with resistance to chemotherapy and short survival in hematologic malignancies. *Blood* **1994**; 84:3148-3157.
41. **Cordone I, Masi S, Mauro FR, SoddubS, Marsilli O, Valletini T, Guglielmo C, Marcini F, Giuiacci C, Sacch F, mandelli F, Foa R.** p53 expression in B-cell chronic lymphocytic leukemia: A marker of disease progression and poor prognosis. *Blood* **1998**; 91:4342-4349.
42. Barnabas N, Shurafa M, Van Dyke DL, Wolman SR, Clark D, Worsham MJ. Significance of p53 mutations in patients with chronic lymphocytic leukemia: a sequential study of 30 patients. *Cancer* **2001**; 91:285-293.
43. **Fulci V, Chiaretti S, Goldoni M, Azzalin G, Carucci N, Tavolaro S, Castellano L, Magrelli A, Citarella F, Messina M, Maggio R, Peragine N, Santangelo S, Mauro FR, Landgraf P, Tuschl T, Weir DB, Chien M, Russo JJ, Ju J, Sheridan R, Sander C, Zavolan M, Guarini A, Foà R, Macino G.** Quantitative technologies establish a novel microRNA profile of chronic lymphocytic leukemia. *Blood* **2007**; 109:4944-4951.
44. **Calin GA, Croce CM.** Genomics of chronic lymphocytic leukemia microRNAs as new players with clinical significance. *Semin Oncol* **2006**; 33:167-173.
45. **Calin GA, Ferracin M, Cimmino A, Di Leva G, Shimizu M, Wojcik SE, Iorio MV, Visone R, Sever NI, Fabbri M, Iuliano R, Palumbo T, Pichiorri F, Roldo C, Garzon R, Sevignani C, Rassenti L, Alder H, Volinia S, Liu CG, Kipps TJ, Negrini M, Croce CMA** MicroRNA

signature associated with prognosis and progression in chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med* **2005**; 353:1793-1801.

46. **Calin GA, Liu CG, Sevignani C, Ferracin M, Felli N, Dumitru CD, Shimizu M, Cimmino A, Zupo S, Dono M, Dell'Aquila ML, Alder H, Rassenti L, Kipps TJ, Bullrich F, Negrini M, Croce CM.** MicroRNA profiling reveals distinct signatures in B cell chronic lymphocytic leukemias. *Proc Natl Acad Sci USA* **2004**; 101:11755-11760.
47. **Habboush HW, Dhundee J, Okati DA, Davies AG.** Constructive pericardities in B Cell Chroniclymphatic leukemia. *Haematologia* **1996**; 18:117-119.
48. **Sivakumaran M, Qureshi H, Chapman CS.** Chylous effusion in CLL. *Leul Lymphoma* **1995**; 18:365-366.
49. **Matutes E, Owusu-Ankomah K, Morilla R, Garcia Marco J, Houlihan A, Que TH, Catovsky D.** The immunological profile of B-cell disorders and a proposal of a scoring system for the diagnosis of CLL. *Leukemia* **1994**; 8:1640-1645.
50. **Moreau EJ, Matutes E, A'Hern RP, Morilla AM, Morilla RM, Owusu-Ankomah KA, Seon BK, Catovsky D.** Improvement of the chronic lymphocytic leukemia scoring system with the monoclonal antibody SN8 (CD79b). *Am J Clin Pathol* **1997**; 108:378-382.
51. **Swerdlow SH, Campo E, Harris NL.** World Health Organization Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues, IARC Press, Lyon **2008**.
52. **Lipshutz MD, Mir R, Rai KR, Sawitsky A.** Bone marrow biopsy and clinical staging in chronic lymphocytic leukemia. *Cancer* **1980**; 46:1422-1427.
53. **Pangalis GA, Boussiatis VA, Kittas C.** B-chronic lymphocytic leukemia. Disease progression in 150 untreated stage A and B patients as predicted by bone marrow pattern. *Nouv Rev Fr Hematol* **1988**; 30:373-375.
54. **Rozman C, Montserrat E, Rodriguez-Fernandez JM, Ayats R, Vallespi T, Parody R, Rios A, Prados D, Morey M, Gomis F.** Bone marrow histologic pattern--the best single prognostic parameter in chronic lymphocytic leukemia: A multivariate survival analysis of 329 cases. *Blood* **1984**; 64:642-648.
55. **Hallek M, Cheson BD, Catovsky D, Caligaris-Cappio F, Dighiero G, Dohner H, Hillmen P, Keating MJ, Montserrat E, Rai KR, Kipps TJ.** Guidelines for the diagnosis and treatment of chronic lymphocytic leukemia: a report from the International Workshop on Chronic Lymphocytic Leukemia updating the National Cancer Institute-Working Group 1996 guidelines. *Blood* **2008**; 111:5446.
56. **Rai KR, Sawitsky A, Cronkite EP, Chanana AD, Levy RN, Pasternack BS.** Clinical staging of chronic lymphocytic leukemia. *Blood* **1975**; **46**:219-234.

57. **Rai KR.** A critical analysis of staging in CLL. In: Chronic Lymphocytic Leukemia: Recent Progress and future Direction. 1987 UCLA Symposia on Molecular and Cellular Biology **1987**; 59:253.
58. **Catovsky D, Foa R.** The Lymphoid Leukaemias. Butterworths, London **1990**.
59. **Stone RM.** Prolymphocytic leukemia. Hematol Oncol Clin North Am **1990**; 4:457-471.
60. **The French Cooperative Group on Chronic Lymphocytic Leukemia.** Effects of chlorambucil and therapeutic decision in initial forms of chronic lymphocytic leukemia (stage A): results of a randomized clinical trial on 612 patients. Blood **1990**; 75:1414-1421.
61. **Montserrat E, Vinolas N, Reverter JC.** Chronic lymphocytic leukemia in early stage "smoldering" and "active" forms in chronic lymphocytic leukemia. In: Scientific advances and clinical developments. New York **1993**. p.281.
62. **French Cooperative Group on Chronic Lymphocytic Leukaemia.** Natural history of stage A chronic lymphocytic leukaemia untreated patients.. Br J Haematol **1990**; 76:45-57.
63. **CLL trialists' collaborative group.** Chemotherapeutic options in chronic lymphocytic leukemia: a meta-analysis of the randomized trials. J Natl Cancer Inst. **1999**; 91:861-868.
64. **International Workshop on Chronic Lymphocytic Leukemia.** Chronic Lymphocytic Leukemia: Recommendations for Diagnosis , Staging and Response Criteria. Annals of Internal Medicine **1989**; 110:236-238.
65. **Cheson D, Bennet JM, Michael G, Grever M, Kay N, Keating MJ, Obrein S, Rai KR.** National Cancer Institute –Sponsored Working Group Guidelines for Chronic Lymphocytic Leukemia . Revised Guidelines for Diagnosis and Treatment . Blood **1996**; 87:4990-4997.
66. **Goodnow CC, Crosbie J, Adelstein S, Lavoie TB, Smith-Gill SJ, Brink RA, Pritchard-Briscoe H, Wotherspoon JS, Loblay RH, Raphael K.** Altered immunoglobulin expression and functional silences of self –reactive B lymphocytes in transgenic mice. Nature **1998**;334:676-682.
67. **Cappio CF , Hamblin T.** B-cell chronic lymphocytic leukemia: A bird of a different feather. J Clin Oncol **1999**; 17:399-408.
68. **Dighiero G, Maloum K, Desablens B, Cazin B, Navarro M, Leblay R, Leporrier M, Jaubert J, Lepeu G, Dreyfus B, Binet JL, Travade P.** For the French Cooperative Group on Chronic Lymphocytic Leukemia: Chlorambucil in indolent chronic lymphocytic leukemia. N Engl J Med **1998**; 338:1506-1514.
69. **Steurer M, Pall G, Richards S, Schwarzer G, Bahlius S, Greil R.** Purine antagonists for chronic lymphocytic leukaemia. Cochrane Database Syst Rev **2006**; 3:CD004270

70. **Byrd JC, Peterson BL, Morrison VA, Park K, Jacobson R, Hoke E, Vardiman JW, Rai K, Schiffer CA, Larson RA.** Randomized phase 2 study of fludarabine with concurrent versus sequential treatment with rituximab in symptomatic, untreated patients with B-cell chronic lymphocytic leukemia: results from Cancer and Leukemia Group B 9712 (CALGB 9712). *Blood* **2003**; 101:6-14.
71. **Byrd JC, Rai K, Peterson BL, Appelbaum FR, Morrison VA, Kolitz JE, Shepherd L, Hines JD, Schiffer CA, Larson RA.** Addition of rituximab to fludarabine may prolong progression-free survival and overall survival in patients with previously untreated chronic lymphocytic leukemia: an updated retrospective comparative analysis of CALGB 9712 and CALGB 9011. *Blood* **2005**; 105:49-53.
72. **Hamblin TJ.** Achieving optimal outcomes in chronic lymphocytic leukemia. *Drugs* **2001**; 6:593-611.
73. **Cheson BD, Vena DA, Barrett J, Freidlin B.** Second malignancies as a cosequence of nucleoside analog therapy for chronic lymphocytic leukemias. *J Clin Oncol* **1999**; 17:2454-2460.
74. **Keating MJ, O'Brien S.** Conventional Management of chronic lymphocytic leukemia. *Rev Clin Exp Hematol* **2000**; 42:118-133.
75. **Rai KR, Peterson BL, Appelbaum FR, Kolitz J, Elias L, Shepherd L, Hines J, Threutte GA, Larson RA, Cheson BD, Schiffer CA.** Fludarabine compared with chlorambucil as primary therapy for chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med* **2000**; 343:1750-1757.
76. **French Co-operative Group On Chronic Lymphocytic Leukemia .** Benefit of the CHOP regimen in advanced untreated chronic lymphocytic leukemia. Results of a randomized clinical trial. *Lancet* **1986**; I:346- 349.
77. **Keating MJ, Flinn I, Jain V, Binet JL, Hillmen P, Byrd J, Albitar M, Brettman L, Santabarbara P, Wacker B, Rai KR.** Therapeutic role of alemtuzumab (Campath-1H) in patients who have failed fludarabine: results of a large international study. *Blood* **2002**; 99:3554-3561.
78. **O'Brien SM, Kantarjian HM, Thomas DA, Cortes J, Giles FJ, Wierda WG, Koller CA, Ferrajoli A, Browning M, Lerner S, Albitar M, Keating MJ.** Alemtuzumab as treatment for residual disease after chemotherapy in patients with chronic lymphocytic leukemia. *Cancer* **2003**; 98:2657-2663.
79. **Fiegl M, Falkner A, Hopfinger G, Brugger S, Zabernigg A, Bauer F, Haslbauer F, Demirtas D, Grossschmidt P, Tatzreiter G, Gastl G, Greil R.** Routine clinical use of alemtuzumab in patients with heavily pretreated B-cell chronic lymphocytic leukemia: a nationwide retrospective study in Austria. *Cancer* **2006**; 107:2408-2416.
80. **Hainsworth JD, Vazquez ER, Spigel DR, Raefsky E, Bearden JD, Saez RA, Greco FA.** Combination therapy with fludarabine and rituximab followed by alemtuzumab in the first-line

treatment of patients with chronic lymphocytic leukemia or small lymphocytic lymphoma: a phase 2 trial of the Minnie Pearl Cancer Research Network. *Cancer* **2008**; 112:1288-1295.

81. **Schweighofer CD, Ritgen M, Eichhorst BF, Busch R, Abenhardt W, Kneba M, Hallek M, Wendtner CM.** Consolidation with alemtuzumab improves progression-free survival in patients with chronic lymphocytic leukaemia (CLL) in first remission: long-term follow-up of a randomized phase III trial of the German CLL Study Group. *Br J Haematol* **2009**; 144:95-98
82. **Keating MJ, O'Brien S, Albitar M.** Emerging information on the use of rituximab in chronic lymphocytic leukemia. *Seminars in Oncology* **2002**; 29:suppl 2,70-74.
83. **Thomas R, Ribeiro I, Shepherd P, Johnson P.** Spontaneous clinical regression in chronic lymphocytic leukaemia. *Br J Haematol* **2002**; 116:341-345.
84. **Molica S, Alberti A.** Prognostic value of lymphocyte doubling time in chronic lymphocytic leukemia. *Cancer* **1987**; 60:2712-2716.
85. **Montserrat E, Sanchez-Bisono J, Vinolas N, Rozman C.** Lymphocyte doubling time in chronic lymphocytic leukaemia: Analysis of its prognostic significance. *Br J Haematol* **1986**; 62:567-575.
86. **Lipshutz MD, Mir R, Rai KR, Sawitsky A.** Bone marrow biopsy and clinical staging in chronic lymphocytic leukemia. *Cancer* **1980**; 46:1422-1427.
87. **Pangalis GA, Boussiotis VA, Kittas C.** B chronic lymphocytic leukemia. Disease progression in 150 untreated stage A and B patients as predicted by bone marrow pattern. *Nouv Rev Fr Hematol* **1988**; 30:373-375.
88. **Rozman C, Montserrat E, Rodriguez-Fernandez JM, Ayats R, Vallespi T, Parody R, Rios A, Prodos RD, Morey M, Gomis F, Alcalá A, Gutierrez M, Maldonado J, Gonzalez C, Grialt M, Hernandez-Nieto L, Cabrera A, Fernandez-Ranada JM.** Bone marrow histologic pattern, the best single prognostic parameter in chronic lymphocytic leukemia: A multivariate survival analysis of 329 cases. *Blood* **1984**; 64:642-648.
89. **Rozman C, Hernandez-Nieto L, Montserrat E, Bruges R.** Prognostic significance of bone-marrow patterns in chronic lymphocytic leukaemia. *Br J Haematol* **1981**; 47:529-537.
90. **Fayad L, Keating MJ, Reuben JM, O'Brien S, Lee B, Lerner S, Kurzrock R.** Interleukin-6 and interleukin-10 levels in chronic lymphocytic leukemia: correlation with phenotypic characteristics and outcome. *Blood* **2001**; 97:256-263.
91. **Damle RN, Wasil T, Fais F, Ghiotto F, Valetto A, Allen SL, Buchbinder A, Bumdan D, Dittmar K, Kolitz J, Lichtman SM, Schulman P, Vinciguerra VP, Rai KR, Ferrarini M, Chiorazzi N.** Ig V gene mutation status and CD38 expression as novel prognostic indicators in chronic lymphocytic leukemia. *Blood* **1999**; 94:1840-1847.

92. **Lin KI, Tam CS, Keating MJ, Wierda WG, O'Brien S, Lerner S, Coombes KR, Schlette E, Ferrajoli A, Barron LL, Kipps TJ, Rassenti L, Faderl S, Kantarjian H, Abruzzo LV.** Relevance of the immunoglobulin VH somatic mutation status in patients with chronic lymphocytic leukemia treated with fludarabine, cyclophosphamide, and rituximab (FCR) or related chemoimmunotherapy regimens. *Blood* **2009**; 113:3168-3171.
  
93. **Döhner H, Stilgenbauer S, Benner A, Leupolt E, Kröber A, Bullinger L, Döhner K, Bentz M, Lichter P.** Genomic aberrations and survival in chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med* **2000**; 343:1910-1916.
  
94. **Reddy KS.** Chronic lymphocytic leukaemia profiled for prognosis using a fluorescence in situ hybridisation panel. *Br J Haematol* **2006**; 132:705-722.
  
95. **Grubor V, Krasnitz A, Troge JE, Meth JL, Lakshmi B, Kendall JT, Yamrom B, Alex G, Pai D, Navin N, Hufnagel LA, Lee YH, Cook K, Allen SL, Rai KR, Damle RN, Calissano C, Chiorazzi N, Wigler M, Esposit N .** Novel genomic alterations and clonal evolution in chronic lymphocytic leukemia revealed by representational oligonucleotide microarray analysis (ROMA). *Blood* **2009**; 113:1294-1303.
  
96. **Kujawski L, Ouillette P, Erba H, Saddler C, Jakubowiak A, Kaminski M, Shedden K, Malek SN.** Genomic complexity identifies patients with aggressive chronic lymphocytic leukemia. *Blood* **2008**; 112:1993-2003.
  
97. **Knuutila S, Elonen E, Teerenhovi L, Rossi L, Leskinen R, Bloomfield CD, Chapelle A.** Trisomy 12 in B cells of patients with B-cell chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med* **1986**; 314:865-869.
  
98. **Garcia-Marco JA, Price CM, Ellis J, Morey M, Matutes E, Lens D, Colman S, Catovsky D.** Correlation of trisomy 12 with proliferating cells by combined immunocytochemistry and fluorescence in situ hybridization in chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia* **1996**; 10:1705-1711.
  
99. **Lehmann S, Ogawa S, Raynaud SD, Sanada M, Nannya Y, Ticchioni M, Bastard C, Kawamata N, Koeffler HP.** Molecular allelokaryotyping of early-stage, untreated chronic lymphocytic leukemia. *Cancer* **2008**; 112:1296-1305.
  
100. **Zhao H, Dugas N, Mathiot C, Delmer A, Dugas B, Sigaux F, Kolb JP.** B-cell chronic lymphocytic leukemia cells express a functional inducible nitric oxide synthase displaying anti-apoptotic activity. *Blood* **1998**; 92:1031-1043.
  
101. **Hockenbery D, Nuñez G, Milliman C, Schreiber RD, Korsmeyer SJ.** Bcl-2 is an inner mitochondrial membrane protein that blocks programmed cell death. *Nature* **1990**; 348:334-336.
  
102. **Austen B, Skowronska A, Baker C, Powell JE, Gardiner A, Oscier D, Majid A, Dyer M, Siebert R, Taylor AM, Moss PA, Stankovic T.** Mutation status of the residual ATM allele is an important determinant of the cellular response to chemotherapy and survival in patients with chronic lymphocytic leukemia containing an 11q deletion. *J Clin Oncol* **2007**; 25:5448-5457.

103. **Döhner H, Stilgenbauer S, James MR, Benner A, Weilguni T, Bentz M, Fischer K, Hunstein W, Lichter P.** 11q deletions identify a new subset of B-cell chronic lymphocytic leukemia characterized by extensive nodal involvement and inferior prognosis. *Blood* **1997**; 89:2516-2522.
104. **Austen B, Skowronska A, Baker C, Powell JE, Gardiner A, Oscier D, Majid A, Dyer M, Siebert R, Taylor AM, Moss PA, Stankovic T.** Mutation status of the residual ATM allele is an important determinant of the cellular response to chemotherapy and survival in patients with chronic lymphocytic leukemia containing an 11q deletion. *J Clin Oncol* **2007**; 25:5448-5457.
105. **Tsimberidou AM, Tam C, Abruzzo LV, O'Brien S, Wierda WG, Lerner S, Kantarjian HM, Keating MJ.** Chemoimmunotherapy may overcome the adverse prognostic significance of 11q deletion in previously untreated patients with chronic lymphocytic leukemia. *Cancer* **2009**; 115:373-380.
106. **Tsimberidou AM, Keating MJ.** Richter's transformation in chronic lymphocytic leukemia. *Semin oncol* **2006**;33:250-256.
107. **Vallat L, Magdelénat H, Merle-Béral H, Masdehors P, Potocki de Montalk G, Davi F, Kruhoffer M, Sabatier L, Orntoft TF, Delic J.** The resistance of B-CLL cells to DNA damage-induced apoptosis defined by DNA microarrays. *Blood* **2003**;101:4598-4606.
108. **Huh YO, Lin KI, Vega F, Schlette E, Yin CC, Keating MJ, Luthra R, Medeiros LJ, Abruzzo LV.** MYC translocation in chronic lymphocytic leukaemia is associated with increased prolymphocytes and a poor prognosis. *Br J Haematol* **2008**; 142:36-44.
109. **Ibrahim S, Keating M, Do KA, O'Brien S, Huh YO, Jilani I, Lerner S, Kantarjian HM, Albitar M.** CD38 expression as an important prognostic factor in B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Blood* **2001**; 98:181-186.
110. **Schöllkopf C, Rosendahl D, Rostgaard K, Pipper C, Hjalgrim H.** Risk of second cancer after chronic lymphocytic leukemia. *Int J Cancer* **2007**; 121:151-156.
111. **Giles FJ, O'Brien SM, Keating MJ.** Chronic lymphocytic leukemia in (Richter's) transformation. *Semin Oncol* **1998**; 25:117-125.
112. **Maddocks-Christianson K, Slager SL, Zent CS, Reinalda M, Call TG, Habermann TM, Bowen DA, Hoyer JD, Schwager S, Jelinek DF, Kay NE, Shanafelt TD.** Risk factors for development of a second lymphoid malignancy in patients with chronic lymphocytic leukaemia. *Br J Haematol* **2007**; 139:398-404.
113. **Kjeldsberg CR, Marty J.** Polymphocytic transformation of chronic lymphocytic leukemia. *Cancer* **1981**; 48:2447-2457.

114. **Melo JV, Catovsky D, Galton DAG.** The relationship between chronic lymphocytic leukaemia and prolymphocytic leukaemia. II. Patterns of evolution of "prolymphocytoid" transformation. *Br J Haematol* **1986**; 64:77-86.
115. **Koller C, Bekele BN, Zhou X, Park C, Estrov Z, O'Brien S, Keating M, Jilani I, Giles FJ, Kantarjian HM, Albitar M.** Plasma thrombopoietin compared with immunoglobulin heavy-chain mutation status as a predictor of survival in chronic lymphocytic leukemia. *Blood* **2006**; 108:1001-1006.
116. **Travis LB, Curtis RE, Hankey BF, Fraumeni JF Jr.** Second cancers in patients with chronic lymphocytic leukemia. *J Natl Cancer Inst* **1992**; 84:1422-1427.
117. **Hisada M, Biggar RJ, Greene MH, Fraumeni JF Jr, Travis LB.** . Solid tumors after chronic lymphocytic leukemia. *Blood* **2001**; 98:1979-1981.
118. **Durak B.** Hematolojide FISH. Molekuler Hematoloji ve Sitogenetik Alt Komitesi Temel Molekuler Hematoloji Kurs Kitapçığı **2005**.
119. **Hamblin TJ.** Prognostic markers in chronic lymphocytic leukaemia. *Best Practice and Research Clinical Haematology* **2007**; 3:455-468
120. **Lee JS, Dixon DO, Kantarjian HM, Keating MJ, Talpaz M.** Prognosis of chronic lymphocytic leukemia: a multivariate regression analysis of 325 untreated patients. *Blood* **1987**;69:929-936.
121. **Diehl LF, Karnell LH, Menck HR.** The American College of Surgeons Commission on Cancer and the American Cancer Society. The National Cancer Data Base report on age, gender, treatment, and outcomes of patients with chronic lymphocytic leukemia. **1999**;86:2684-2692.
122. **Molica S.** Sex differences in incidence and outcome of chronic lymphocytic leukemia patients. *Leuk Lymphoma* **2006**;47:1477-1480.
123. **Damle RN, Batliwalla FM, Ghiotto F, Valetto A, Albesiano E, Sison C, Allen SL, Kolitz J, Vinciguerra VP, Kudalkar P, Wasil T, Rai KR, Ferrarini M, Gregersen PK, Chiorazzi N.** Telomere length and telomerase activity delineate distinctive replicative features of the B-CLL subgroups defined by immunoglobulinV gene mutations. *Blood* **2004**;103:375-382.
124. **Montserrat E, Sanchez-Bisono J, Vinolas N, Rozman C.** Lymphocyte doubling time in chronic lymphocytic leukaemia analysis of its prognostic significance. *Br J Haematol* **1986**;62:567-575.
125. **Dürig J, Naschar M, Schmücker U, Renzing-Köhler K, Hölter T, Hüttmann A, Dührsen U.** CD38 expression is an important prognostic marker in chronic lymphocytic leukaemia. *Leukemia* **2002**;16:30-35.

126. **Schroers R, Griesinger F, Trümper L, Haase D, Kulle B, Klein-Hitpass L, Sellmann L, Dührsen U, Dürig J.** Combined analysis of ZAP-70 and CD38 expression as a predictor of disease progression in B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia* **2005**;19:750–758.
127. **Hallek M, Wanders L, Ostwald M, Busch R, Senekowitsch R, Stern S, Schick HD, Kuhn-Hallek I, Emmerich B.** Serum beta(2)-microglobulin and serum thymidine kinase are independent predictors of progression-free survival in chronic lymphocytic leukemia and immunocytoma. *Leuk Lymphoma* **1996**; 22:439–447.
128. **Sarfati M, Chevret S, Chastang C, Biron G, Stryckmans P, Delespesse G, Binet JL, Merle-Beral H, Bron D.** Prognostic importance of serum soluble CD23 level in chronic lymphocytic leukemia. *Blood* **1996**;88:4259–4264.
129. **Saka B, Aktan M, Sami U, Oner D, Sanem O, Dinçol G.** Prognostic importance of soluble CD23 in B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Clin Lab Haematol* **2006**;28:30–35.
130. **Molica S, Vitelli G, Cutrona G, Todoerti K, Mirabelli R, Digiesi G, Morabito F, Neri A, Ferrarini M.** Serum thrombopoietin compared with ZAP-70 and immunoglobulin heavy-chain gene mutation status as a predictor of time to first treatment in early chronic lymphocytic leukemia. *LeukLymphoma* **2008**; 49:62–67.
131. **Poeta G, Maurillo L, Venditti A, Buccisano F, Epiceno AM, Capelli G, Tamburini A, Suppo G, Battaglia A, principe MIP, Moro BD, Masi M, Amadori S.** Clinical significance of CD38 expression in chronic lymphocytic leukemia. *Blood* **2001**; 98:2633-2639.
132. **Orchard JA, Ibbotson RE, Davis Z, Wiestner A, Rosenwald A, Thomas PW, Hamblin TJ, Staudt LM, Oscier DG.** ZAP-70 expression and prognosis in chronic lymphocytic leukaemia. *Lancet.* **2004**; 363:105-111
133. **Üre Ü, Ar C, Başlar Z, Soysal T, Öngören Ş, Gülseven M, Aydın Y, Ülkü B, Tütüner N, Ferhanoglu B.** The Effect of ZAP-70 Expression on Disease Progression in Early –Stage (Binet A) B-CLL Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi. **2009**; 26,4:317-321.
134. **Bockstaele FV, Verhasselt B, Philippe J.** Prognostic markers in chronic lymphocytic leukemia: A comprehensive review. *Blood Reviews* **2009**;23:25–47.
135. **Glassman AB, Hayes KJ.** The value of fluorescence in situ hybridization in the diagnosis and prognosis of chronic lymphocytic leukemia. *Cancer Genetics and Cytogenetics* **2005**; 158:88-91.
136. **Calin GA, Pekarsky Y, Croce CM.** The role of microRNA and other non-coding RNA in the pathogenesis of chronic lymphocytic leukemia. *Best Pract Res Clin Haematol* **2007**;20:425–437.
137. **Durak B, Akay OM, Aslan V, Ozdemir M, Sahin F, Artan S, Gulbas Z.** Prognostic impact of chromosome alterations detected by FISH in Turkish patients with B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Cancer Genetics and Cytogenetics.* **2009**;188: 65-69.

138. **Daniel L. Van Dyke, Tait D. Shanafelt, Timothy G. Call, Clive S. Zent, Stephanie A. Smoley, Kari G. Rabe, Susan M Schwager, Jessica C. Sonbert, Susan L. Slager and Neil E. Kay.** A comprehensive evaluation of the prognostic significance of 13q deletions in patients with B-chronic lymphocytic leukaemia. *British Journal of Haematology* **2009**;148:544–550
139. **Hernandez JA, Rodriguez AE, Gonzalez M, Benito R, Fontanillo C, Sandoval V, Romero M, Martín-Núñez G, Coca AG, Fisac R, Galende J, Recio I, García JL, Rivas J, Carmen N Miguel JF, Hernández JM.** A high number of losses in 13q14 chromosome band is associated with a worse outcome and biological differences in patients with B-cell chronic lymphoid leukemia. *Haematologica* **2009**; 94:364-371.
140. **Zenz T, Häbe S, Denzel T, Mohr J, Winkler D, Bühler A, Sarno A, Groner S, Mertens D, Busch R, Hallek M, Döhner H, Stilgenbauer S.** Detailed analysis of p53 pathway defects in fludarabine-refractory chronic lymphocytic leukemia :dissecting the contribution of 17p deletion, TP53 mutation, p53-p21 dysfunction, and miR34a in a prospective clinical trial. *Blood* **2009** 24;114:2589-2597.
141. **Lozanski G, Heerema NA, Flinn IW, Smith L, Harbison J, Webb J, Moran M, Lucas M, Lin T, Hackbarth ML, Proffitt JH, Lucas D, Grever MR, Byrd JC.** Alemtuzumab is an effective therapy for chronic lymphocytic leukemia with p53 mutations and deletions. *Blood* **2004**;103:3278-3281.
142. **Byrd JC, Smith L, Hackbarth ML, Flinn IW, Young D, Proffitt JH, Heerema NA.** Interphase cytogenetic abnormalities in chronic lymphocytic leukemia may predict response to rituximab. *Cancer Res.* **2003**; 63:36-38.
143. **Dolores C, Jose A. Garcla M, Rodrigo M, Victoria M, Ribera JM.** Allogeneic Transplant with Reduced Intensity Conditioning Regimens may Overcome the Poor Prognosis of B-Cell CLL with Unmutated IgVH Gene and Chromosomal Abnormalities. *Clin Cancer Res.* **2005** ;11:7757-7763.
144. **Xu W, Li JY, Li L, Wu YJ, Yu H, Shen QD, Qiu HX.** [Prognostic significance of p53 and ATM gene deletion in patients with chronic lymphocytic leukemia. *Zhonghua Xue Ye Xue Za Zhi.* **2008**; 29:450-453.
145. **Oscier DG, Matutes E, Copplestone A, Pickering RM, Chapman R, Gillingham R, Catovsky D, Hamblin TJ.** Prognostic factors in stage A chronic lymphocytic leukaemia; the importance of atypical lymphocyte morphology and abnormal karyotype for disease progression in stage A CLL. *British Journal of Haematology* **1997**; 98: 934–939.
146. **AbdelSalam M, El Sissy A, Samra MA, Ibrahim S, El Markaby D, Gadallah F.** The impact of trisomy 12, retinoblastoma gene and P53 in prognosis of B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Hematology* **2008**;13:147-153.
147. **Stilgenbauer S, Sander S, Bullinger L, Benner A, Leupolt E, Winkler D, Kröber A, Kienle D, Lichter P, Döhner H.** Clonal evolution in chronic lymphocytic leukemia: acquisition of

high-risk genomic aberrations associated with unmutated VH, resistance to therapy, and short survival. *Haematologica* **2007**; 92:1242–1245.

## ÖZGEÇMİŞ

**Adı Soyadı** : Canan BELİN CİRİT  
**Doğum Tarih ve Yeri** : 11.10.1978/ÇANKIRI  
**Medeni Durumu** : Evli  
**Adres** : Yurt Mah. 71329 Sok. Türkistanlılar Sitesi D Blok  
6/11 Çukurova/ADANA  
**Telefon** : 0 505 375 00 88  
**E. posta** : belincirit@gmail.com  
**Mezun Olduğu Tıp Fakültesi** : Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi  
**Görev Yerleri** : Pozantı 1 nolu ASH  
Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları  
**Yabancı Dil(ler)** : İngilizce