

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI AD

KRONİK LENFOSİTİK LÖSEMİ HASTALARININ
GENEL KLİNİK DEĞERLENDİRİLMESİ

Dr. Vahit DEMİR

TIPTA UZMANLIK TEZİ

İZMİR 2011

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI AD

**KRONİK LENFOSİTİK LÖSEMİ HASTALARININ GENEL
KLİNİK DEĞERLENDİRİLMESİ**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. Vahit Demir

TEZ DANIŞMANI

Prof.Dr. Mehmet Ali ÖZCAN

İÇİNDEKİLER

TABLO LİSTESİ	iii
KISALTMALAR	iv
TEŞEKKÜR	v
ÖZET	1
SUMMARY	3
1.GİRİŞ ve AMAÇ	5
2.GENEL BİLGİLER.....	6
2.1.EPİDEMİYOLOJİ	6
2.2.PATOFİZYOLOJİ.....	6
2.2.1.Predispozan Faktörler	6
2.2.2.Hücre Kaynağı	7
2.2.3.Apoptozisteki Anomaliler	7
2.2.4.Genomdaki Anomaliler	8
2.3.KLİNİK BULGULAR.....	8
2.4.LABORATUVAR BULGULARI	9
2.4.1.Periferik Kan Bulguları	9
2.4.2.Kemik İliği ve Lenf Nodu Bulguları	10
2.4.3.İmmunfenotipik Bulgular	10
2.5.FONKSİYONEL ve OTOİMMUN BOZUKLUKLAR.....	11
2.6.TANI ve EVRELEME.....	12
2.7.PROGNOSTİK FAKTÖRLER.....	14

2.7.1.Rai ve Binet Evreleme Sistemleri	14
2.7.2.Yaş ve Cinsiyet.....	15
2.7.3.Lenfosit Özellikleri	15
2.7.4.Moleküler ve Sitogenetik Anomaliler.....	16
2.7.5.İmmun Belirteçler.....	16
2.7.6.Kemik İliği Histolojik Özellikleri	16
2.7.7.Serum Belirteçleri	17
2.8.TEDAVİ.....	17
2.8.1.Tedavi Endikasyonları	18
2.8.2.Tedavi Rejimleri.....	18
2.8.3.Tedaviye Yanıt Kriterleri	20
3.GEREÇ ve YÖNTEM	23
3.1.HASTALAR.....	23
3.2.İSTATİKSEL ANALİZ	24
4.BULGULAR.....	25
5.TARTIŞMA ve SONUÇ.....	37
6. KAYNAKLAR	43

TABLO VE ŞEKİL LİSTESİ

Tablo1:	Rai evreleme sistemi	13
Tablo2:	Binet evreleme sistemi	14
Tablo3:	KLL’de kullanılan kötü prognostik belirteçler	17
Tablo4:	Hastaların yaş ortalaması ve laboratuvar değerleri.....	25
Tablo5:	Rai evrelemesine göre hasta dağılımı	26
Tablo6:	Binet evrelemesine göre hasta dağılımı	26
Tablo7:	Hastalarda klinik bulgular	27
Tablo8:	CD38 ve CD23 pozitiflik oranları	28
Tablo9:	Tedavi alan ve almayan grupta Binet evrelemesine göre hasta dağılımı	30
Tablo10:	Tedavi alan hastaların tedavisiz ve progresyonsuz sağ kalım süreleri	32
Tablo11:	Birinci sıra kemoterapi rejimleri ve her bir rejimin progresyonsuz sağ kalım süresi.....	32
Tablo12:	Birinci sıra kemoterapide tedavi endikasyonları	33
Tablo13:	Birinci sıra kemoterapide yanıt değerlendirilmesi	33
Tablo14:	İkinci kemoterapi rejimleri	34
Tablo15:	İkinci sıra kemoterapide tedavi endikasyonları	34
Tablo16:	Üçüncü sıra kemoterapi rejimleri	35
Tablo17:	Çalışma süresi sonunda son durum	35
Şekil1:	Tedaviye göre sağ kalım eğrisine bakıldığında tedavi alan hastalarda almayanlara göre sağ kalım oranının daha kötü olduğu görülmektedir.	29
Şekil2:	Binet evrelemesine göre sağ kalım eğrisine bakıldığında evreB olan hastaların sağ kalım oranının daha kötü olduğu görülmektedir	30

KISALTMALAR

ATM	Ataksi Telenjektazi Mutasyon
CAP	Siklofosfamid Adriamisin(doksorubisin) Prednizon
CD	Cluster of differantitation
CFAR	Siklofosfamid Fludarabin Alemtuzumab Rituksimab
CHOP	Siklofosfamid Hidroksidaunorubisin(Doksorubisin) Onkovin(vinkristin) Prednizon
COP	Siklofosfamid Onkovin(vinkristin) Prednizon
CR	Tam Yanıt(<i>complet remission</i>)
CVP	Siklofosfamid Vinkristin Prednizon
FC	Fludarabin Siklofosfamid
FCR	Fludarabin Siklofosfamid Rituksimab
HLA	İnsan Lökosit Antijeni(<i>human leukocyte antigen</i>)
ICD	International Classification of Disease
ITP	Immun Trombositopenik Purpura
IWCLL	Uluslararası KLL çalıştay(<i>International workshop on chronic lymphocytic leukemia</i>)
KLL	Kronik Lenfositik Lösemi
LAP	Lenfadenopati
LDH	Laktat Dehidrogenaz
LDT	Lenfosit İkilenme Zamanı(<i>lymphocyte doubling time</i>)
NCI-WG	Ulusal Kanser Enstitüsü-Çalışma Grubu(<i>national cancer institute-working group</i>)
OIHA	Otoimmun Hemolitik Anemi
OS	Toplam Sağ Kalım(<i>overall survival</i>)
PD	İlerleyici Hastalık(<i>progressive disease</i>)
PFS	Progresyonsuz Sağ Kalım(<i>progression free survival</i>)
PLL	Prolenfositik Lösemi
PR	Kısmi Yanıt(<i>partial remission</i>)
SD	Stabil Hastalık(<i>stabil disease</i>)
TFS	Tedavisiz Sağ Kalım(<i>therapy free survival</i>)
ZAP-70	Zeta Zincir İlişkili Protein-70(<i>zeta chain associated protein-70</i>)

TEŞEKKÜR

İç hastalıkları uzmanlık eğitimi sürecinde bilgi, birikim, sabır ve özenleri ile yetişmeme katkıda bulunan başta Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. İlkey Şimşek olmak üzere tüm değerli hocalarıma teşekkür ederim.

Tezimin planlanması, proje aşamasından hayata geçirilmesi, hasta verilerinin toplanması ve değerlendirilmesi, tezin metin haline getirilmesi ve son halini alması aşamalarında değerli vakitlerini ayırarak katkı sağlayan ve her aşamada sosyal ve manevi desteklerini yanımda hissettiğim tez danışmanım Prof. Dr. M. Ali. Özcan'a, çalışma süresince yardımlarını esirgemeyen Uzm. Dr. Selda Kahraman, Uzm. Dr. Abdullah Katgı, Uzm. Dr. Deniz Kırtay, Uzm. Dr. Yasin Bakır ve Uzm. Dr. Serdar Kalkan'a; tezinin istatistiği, sonuçların analiz edilmesi ve yorumlanması konusunda yardımlarını esirgemeyen Uzm. Dr. Dilek Solmaz'a ayrıca teşekkür ederim.

Ve son olarak eğitimim süresince her zaman yanımda olan, desteklerini esirgemeyen eşime ve aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Dr.Vahit DEMİR

ÖZET
KRONİK LENFOSİTİK LÖSEMİ HASTALARININ GENEL KLİNİK DEĞERLENDİRİLMESİ

Dr. Vahit Demir

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı

Dokuz Eylül Üniversite Hastanesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Inciraltı/İZMİR
35340

AMAÇ: KLL ogun B lenfositlerin periferik kan, kemik iliği ve lenfoid dokularda anormal birikimiyle karakterize hematolojik malignitedir. Çalışmamızda 2000-2011 yılları arasında Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Hematoloji Bilim Dalı tarafından takip edilen 114 hastanın demografik verileri, tedavi endikasyonları, tedavi yanıtları ve total sağ kalım analizlerinin yapılması amaçlandı.

YÖNTEMLER: KLL tanısıyla takip edilen 114 hastanın verileri geriye dönük olarak değerlendirildi. Hastalara KLL tanısı Ulusal Kansere Enstitüsü Çalışma Grubu kriterlerine uygun olarak konuldu. Hastaların tedavi endikasyonları ve tedaviye yanıtları da yine bu kriterler göz önünde bulundurularak değerlendirildi.

SONUÇLAR: Çalışmaya Dokuz Eylül Üniversitesi Hematoloji Bilim Dalı tarafından takip edilen 114 hasta dahil edildi. Hastaların 60'ı erkek(%52,6), 54'ü kadındı(%47,4). Yaşları 28-87 arasında ve ortalama 68,24 olarak saptandı. 61 hasta tedavisiz izlenirken 53 hasta tedavi aldı. Tedavi alan hasta sayısının Rai orta risk grubu veya Binet evre B'de yoğunlaştığı görüldü. Tanıdan ilk tedaviye kadar geçen süre ortalama 15,57 ay idi. İlk sıra kemoterapide en sık klorambusil kullanıldı(%62) ve ilk sırada en sık sistemik semptom nedeniyle kemoterapi başlandı. Hastaların ilk sıra kemoterapi sonrası yapılan değerlendirmelerinde 40 hastada kısmi yanıt, 5 tam yanıt, 7 stabil hastalık ve 1 hastada progresyon izlendi ve progresyonsuz sağ kalım ortalaması 18 ay olarak bulundu. 25 hasta ikinci sıra kemoterapi aldı. Bu hastalarda kemoterapi sonrası 1 hastada tam yanıt, 20 kısmi yanıt ve 1 hastada stabil hastalık yanıtı elde edildi. 3 hastada progresyon saptandı. İkinci sıra kemoterapinin progresyonsuz sağ kalım ortalaması 6,23 ay olarak hesaplandı. 6 hastaya üçüncü sıra kemoterapi verildi ve üçüncü sıra kemoterapinin progresyonsuz sağ kalım ortalaması 5,5 ay idi. Çalışma sonunda 114 hastanın ortalama toplam sağ kalım süreleri 92,8 ay olarak hesaplandı. 10 hastada otoimmün hemolitik anemi, 12 hastada immün trombositopeni izlenirken bu hastaların 6'sında Evans sendromu

saptandı. 12 hastada ise ikinci bir kanser izlendi. CD38 pozitifliği, otoimmün hemolitik anemi ve otoimmün trombositopeni gelişen hastalarda toplam sağ kalım sürelerinin daha kısa olduğu, CD23 pozitifliği ile toplam sağ kalım arasında pozitif korelasyon olduğu görüldü($p<0,05$). Rai ve Binet evresi yüksek olan hastalarda tedavisiz sağ kalım ve progresyonsuz sağ kalım sürelerinin kısaldığı görüldü($p<0,05$). Ancak evreleme ile toplam sağ kalım arasında ilişki bulunamadı. Tedavi alan hastalarda toplam sağ kalım süresinin almayanlara göre daha kısa olduğu görüldü. Çalışma süresinde 14 hasta hastalık ilişkili nedenlerle 9 hasta hastalık dışı nedenlerle hayatını kaybetti.

TARTIŞMA: Hastalarımızın demografik özellikleri diğer çalışmalarla hemen hemen benzer iken tedavi alan hastalarda toplam sağ kalım süresinin daha kısa olmasının nedeni gelişmiş prognostik belirteçlerin merkezimizde kullanılmaması, ilk sıra tedavilerde monoklonal antikorların yer almaması ve yetersiz hasta uyumu olabilir.

ANAHTAR KELİMELEER: kronik lenfositik lösemi, prognoz, sağ kalım

SUMMARY

GENERAL CLINICAL EVALUATION OF THE CHRONIC LYMPHOCYTIC LEUKEMIA PATIENTS

Dr.Vahit Demir

Dokuz Eylül University Medical Faculty Department of Internal Medicine

OBJECTIVE: CLL is a hematologic malignancy characterized by abnormal accumulation of mature B lymphocytes in peripheral blood, bone marrow and lymphoid tissues. Demographic features, treatment indications, responds to treatment of 114 patients observed in years of 2000-2011 on hematology department of Dokuz Eylül University Medical Faculty have been analyzed in our study.

METHODS: Features of 114 CLL patients were evaluated retrospectively. National Cancer Institute Working Group criteria were accepted for disease diagnosis. Also treatment indications and response to treatment were evaluated according to these criteria.

RESULTS: 114 patients observed by hematology department of Dokuz Eylül University Medical Faculty were included in the study. In total 60 patients were male(%52,6) and 54 patients were female(%47,4). They were between the ages of 28 and 87; the average age was 68,24. While 61 patients were being observed without treatment, 53 patients were under medical treatment. The number of the patients under treatment was found out to be increased on Rai medium risk group or Binet stage B. The therapy free survival time was 15,57 months in average. Chlorambucil was the most preferred drug on the first line therapy(%62) and the most frequent treatment indication was systemic symptom. In the evaluation which was held at the end of the patients first line chemotherapy; partial remission for 40 patients, complete remission for 5 patients, stable disease for 7 patients and progression for 1 patient was observed. Also progression free survival time was found to be 18 months. 25 patients have second line therapy. At the end of chemotherapy for those patients; complete remission for 1 patient, partial remission for 20 patients, stable disease for 1 patient was observed and there was progression in 3 patients. The progression free survival average of the second line therapy was 6,23 months. On the other side; the third line therapy was given to 6 patients and the progression free survival average of the third line therapy was 5,5 months. At the end of the study overall survival of 114 patients was 92,8 months in average. It was seen that 10 patients had autoimmune hemolytic anemia, 12 patients had immune

thrombocytopenic purpura and 6 of them had Evans Syndrome. Also there was second malignancy on 12 patients. For the patients who has positiveness of CD38, autoimmune hemolytic anemia and immune thrombocytic purpura, overall survival time was shorter. There was positive correlation between CD23 and overall survival time($p<0,05$). It was concluded that for the patients whose Rai and Binet stage is high, therapy free survival and progression free survival 1 time is shorter($p<0,05$). But there was no correlation between staging and overall survival time. The overall survival time for the patients who had treatment was shorter than the patients who had not. During the study deaths of the 14 patients were related to the CLL and deaths of 9 patients related to another reasons.

DISCUSSION: Demographic features of our patients are nearly similar to other studies. Causes of shorter survival time in therapy group may be related to lack of using modern prognostic markers in our center, lack of using monoclonal antibodies on the first line therapy and poor patient adaptation to treatment.

KEY WORDS: chronic lymphocytic leukemia, prognosis, survival

1.GİRİŞ ve AMAÇ

Kronik lenfositik lösemi (KLL), olgun görünümlü neoplastik B lenfositlerin periferik kan, kemik iliği, lenf düğümü, dalak ve karaciğer gibi lenfoid bileşimi olan dokularda artışı ile karakterize batin ülkelerinde erişkin dönemde en sık karşılaşılan lösemi türüdür[1-3]. KLL hücreleri monoklonal B lenfositlerdir. Yüzeylerinde CD19, CD5, CD23 antijenlerini bulundururken; yüzey immunglobulini, CD20, CD79b ve FMC7 antijenlerini ya çok az miktarlarda bulundurlar ya da hiç bulundurmazlar[1, 3-5].

KLL de tanı; tam kan sayımı, periferik yayma, periferik kanın akımsitometrik incelemesi ve mutlak gerekli olmasa da kemik iliği incelemesiyle konulmaktadır.

KLL hastalarında yaşam süresi geniş çapta değişiklikler gösterir. Bazı hastalarda uzun süreli sağkalım hatta nadir de olsa spontan remisyon görülürken, bazılarında ise ölümlle sonuçlanan hızlı bir ilerleme meydana gelmektedir. Rai ve Binet evreleme sistemleri prognozu belirlemede kullanılan, fizik muayene ve tam kan sayımı bulgularına dayanan basit ve güvenilir yöntemlerdir. Ancak düşük evredeki hastalarda da kötü prognoz görülebilmesi evreleme ile diğer prognostik faktörlerin birlikte kullanımını gerektirmektedir[6, 7].

Rai ve Binet evreleme sistemlerinin yanında hastalığın seyrini ve genel sağkalımı etkileyen kötü prognostik belirteçler arasında; genç yaş, erkek cinsiyet, tanı anında lenfosit sayısının yüksek olması, mutlak lenfosit sayısının ikiye katlanması için geçen sürenin kısa olması (lenfosit ikilenme zamanı), CD38 pozitif hücre sayısının >%30 olması, ZAP70 (zeta ilişkili protein) pozitifliği, sitogenetik anomali bulunması, serum LDH (laktat dehidrogenaz) ve β 2 mikroglobulin yüksekliği ve kemik iliği diffüz tutulumu gibi faktörler sayılabilir[8-17].

Bu çalışmada Dokuz Eylül Üniversitesi Hematoloji Bilim Dalı'nda takip edilen KLL hastalarının geriye dönük olarak demografik verilerini, klinik ve prognostik faktör özelliklerini ortaya koymayı, tedaviye yanıt ve genel sağkalım oranlarını değerlendirmeyi ve bu bilgiler ışığında Türkiye verilerinin oluşumuna katkıda bulunmayı amaçladık.

2.GENEL BİLGİLER

2.1.EPİDEMİYOLOJİ

KLL insidansı dünya genelinde değişiklik gösterir. Tüm dünyada insidansı 100000'de <1 ila 5,5 arasında değişir[18, 19]. En sık kuzey amerikada görülürken uzak doğuda nadirdir. Kuzey amerikada tüm lösemilerin %22,6'sını oluşturur. Erkeklerde kadınlardan yaklaşık 2 kat daha sık görülür[20-22]. Erkeklerde yıllık insidansı 100000'de 3,35 ila 3,69 iken kadınlarda 100000'de 1,61 ila 1,92 arasındadır[23]. Ayrıca açıklanamayan nedenlerle KLL'li kadınlarda yaşam süresi erkeklerden daha uzundur[9, 10, 24]. Son yıllarda prognostik belirteçlerin daha yaygın kullanılması ve gelişen yeni tedavi seçenekleri sayesinde hastaların genel sağ kalım oranları artmıştır[25].

Hastalık genç popülasyonda nadir görülür, dördüncü dekatta insidans artar ve yaş ilerledikçe artmaya devam eder. Ortalama tanı yaşı 69,6'dır ve hastaların %80'den fazlası 60 yaşın üzerindedir[23]. Bununla birlikte non-hodgkin lenfomalardan farklı olarak son 30 yılda KLL insidansı artmamıştır.

2.2.PATOFİZYOLOJİ

2.2.1.Predispozan Faktörler

KLL'de diğer lösemi türlerinden farklı olarak çevre ve meslek ile ilgili faktörlerin hastalık insidansı üzerine olumsuz etkilerini gösterecek yeterli kanıt saptanamamıştır[26]. Bununla birlikte hastalık etyolojisinde enfeksiyöz etkenlerin varlığını düşündüren çalışmalar da vardır[27]. Aile öyküsünün KLL'de önemli bir risk faktörü olduğunu düşündüren çalışmalarda KLL hastalarının onda birinin ailesinde KLL veya başka bir lenfoproliferatif hastalık olduğu bildirilmiştir[28]. KLL hastalarının birinci derece akrabalarında KLL gelişme riski normal popülasyona göre 30 kat fazladır[26, 28-31]. Ailesel KLL hastaları sporadik olanlara göre ortalama 10 yaş daha gençtir ve çocuklar ebeveynlere göre ortalama 15-20 yıl daha erken tanı alır[26, 30, 32, 33]. Ailesel ve sporadik KLL hastalarının klinik özellikleri arasında fark yoktur[26, 34]. Ailesel KLL vakalarında kalıtım şekli bilinmemekle birlikte HLA ilişkili olmadığı bulunmuştur[35].

Sporadik KLL'nin immunglobulin değişken bölgesinde (IgV_H) somatik hipermutasyonu olanlar ve olmayanlar olmak üzere 2 formu vardır. Ailesel KLL ile sporadik KLL'de IgV_H gen mutasyonu insidansları arasında fark olup olmadığı tam olarak aydınlatılamamıştır[36, 37]. KLL hastalarının üçte birinde kromozom 11q23 üzerinde bulunan ataksi telenjiyektazi mutasyon (ATM) geninde mutasyon ya da delesyonlar bulunmaktadır[38, 39]. Bu olgular IgV_H gen mutasyonu bulundurmazlar ve hücre orijini pre-germinal merkezlidir[40].

2.2.2.Hücre Kaynağı

KLL hücresinin kaynağı tartışmalıdır. KLL hücresinin CD5(+) olması nedeniyle, mantle zonda ve az miktarda da periferik kanda bulunan CD5(+) B lenfositlerden köken aldığı düşünölmektedir[41]. Ancak normal CD5(+) B lenfositlerde IgV_H gen mutasyonu bulunmazken KLL hücrelerinde %50 vakada bu mutasyon vardır ve bu özellik malign hücrelerin en azından germinal merkezden geçtiklerini düşöndörmektedir[12, 13, 42]. Bu bulgular dikkate alındığında iki farklı KLL hücresi olduğu anlaşılmaktadır. Pregerminal merkezden köken alan KLL lenfositleri IgV_H gen mutasyonu içermezken germinal merkezden geçmiş olanlar mutasyonlar içerirler ve bunlar farklılaşması daha fazla olan hücrelerdir[40]. Bu iki farklı hücre tipinde farklı genetik anomaliler saptanmıştır ve prognozları da farklıdır. IgV_H gen mutasyonu içeren hücrelerde sıklıkla kromozom 13q14 delesyonu bulunmaktadır ve prognoz iyidir. Ancak mutasyon içermeyen ikinci grup hücre tipinde trizomi 12 gibi kötü prognozla birlikte olan sitogenetik anomaliler mevcuttur ve bunlarda sağkalım oldukça kötüdür[12, 14]. KLL'nin köken aldığı hücrenin IgV_H gen mutasyonu olsun ya da olmasın bellek B hücresi olduğu düşünölmektedir. Bu tez, KLL hücrelerinin neden bir bellek B lenfosit yüzey antijeni olan CD27 taşıdıklarını açıklamaktadır[43-46]. Normal CD27(+)B lenfositlerinin büyük çoğunluğunda da IgV_H gen mutasyonu bulunur, çok az bir kısmında ise bu mutasyon yoktur[47, 48]. Buna göre KLL hücrelerinin IgV_H gen mutasyonu içeren ve içermeyen olmak üzere iki farklı bellek B lenfositten köken aldığı söylenebilir.

2.2.3.Apoptozisteki Anomaliler

KLL'deki hücrelerin büyük çoğunluğu uzun ömürlüdür, hücre döngüsüne girmeyip G0 fazında bekler. Kemik iliğı ve lenf nodlarındaki hücrelerin çok az bir kısmı döngüye girerek bölünür ve hastalığı ilerlemesinden bu hücreler sorumlu

tutulmaktadır[4]. Apoptozis yollarında meydana gelen defektlerin hastalığın patogenezinde ve apoptozisi indükleyen kemoteropatlara direnç gelişiminde rol oynadığı düşünülmektedir[49, 50].

KLL hücreleri antiapoptatik özellikleri olan bcl-2, bcl-xl, mcl-1 ve bag-1 proteinlerini yüksek miktarda eksprese ederken proapoptatik özellikteki bax ve bcl-xs proteinlerini düşük miktarda eksprese etmektedirler[51-55]. Antiapoptatik proteinlerin proapoptatik proteinlere oranında artma olması KLL hücresinde apoptozise ve kemoterapi ilaçlarına direnç yol açar[56]. Ayrıca yapılan kemik iliği kültür çalışmalarında; ilik mikroçevresinin birer elemanı olan hemşire hücreleri (nurse-like cell) ve foliküler dendritik hücrelerin hücre-hücre bağları ve çeşitli ligand reseptör ilişkileri aracılığıyla lösemik hücreleri apoptozisten koruduğunu gösteren kanıtlar elde edilmiştir[57, 58].

2.2.4.Genomdaki Anomaliler

KLL'deki sitogenetik çalışmalarda hastaların yaklaşık yarısında klonal kromozomal anomaliler saptanmıştır[59, 60]. En sık rastlanan yapısal bozukluk kromozom 13q14 delesyonudur[61]. Bu anomaliye sahip hastalarda genellikle IgV_H gen mutasyonu vardır ve prognozları normal karyotipli hastalardan farksızdır[42]. Kromozom 11q22-q23 delesyonu yaklaşık %20 oranında görülür, hızlı ilerleme, belirgin lenfadenopati ve kısa sağkalımla ilişkilidir[62, 63]. Trisomi12 sıklığı da yaklaşık %20'dir. Genellikle tanı anında saptanmazken hastalık progresyonu ile ortaya çıkar, kötü prognoz belirteçidir[59, 64, 65]. Kromozom 17p13 delesyonu bir tümör supresör gen olan p53 mutasyonu ile ilişkilidir, prognoz kötüdür ve bu hastalarda sıklıkla ilaçlara direnç vardır[53].

2.3.KLİNİK BULGULAR

KLL hastalarının büyük çoğunluğu yaşlı olmasına rağmen hastaların %10'u 50 yaşından gençtir. Bununla hastalığın klinik özellikleri her yaşta benzerdir[8, 66]. Hastaların yarısı asemptomatiktir, başka bir nedenle yapılan kan tetkiklerinde tesadüfen saptanırlar ve hastalık genellikle erken evrededir[67]. Daha az sıklıkla, olağan muayene sırasında saptanan lenfadenopati veya splenomegalinin araştırılması ile teşhis konabilir.

Asemptomatik hastalar ayrıntılı sorgulandığında genellikle halsizlikten şikayetçidirler. Bazı hastalarda sık bakteriyel enfeksiyonlar görülür. Diğer lenfoproliferatif malignitelerden farklı olarak; ateş, gece terlemesi ve kilo kaybı gibi B semptomları erken evre hastalarda nadir görülür.

Lenfadenopati ile gelen hastalarda sıklıkla splenomegali de bulunur. Erken evre hastalarda dalak büyümesi sınırlıdır. Servikal lenfadenopati aksiller ve inguinal lenfadenopatiye göre daha sık görülür. Lenf nodları genellikle çok büyük değildir, kolayca hareket ettirilebilir ve hassasiyet yoktur. Ağrılı lenf nodu varlığında üzerine binen viral ya da bakteriyel enfeksiyon akla gelmelidir. Nadiren tonsiller infiltrasyon, cilt tutulumu ve retroperitoneal konglomere lenfadenopati olabilir.

Bunların dışında kemik iliği infiltrasyonu veya otoimmün olaylar sonrasında meydana gelen periferik yıkım ve aplazi nedeniyle anemi görülebilir.

İstisnai vakalarda KLL'ye bağlı paraneoplastik sendrom gelişebilir. Bunlardan en çok bilinenler; nefrotik sendrom, pemfigus ve anjiyoödemdir.

2.4.LABORATUVAR BULGULARI

2.4.1.Periferik Kan Bulguları

KLL tanısı için, periferik kanda $5 \times 10^3/\text{ml}$, tipik immunfenotipik ve morfolojik özellikler gösteren lenfosit popülasyonunun varlığı gereklidir[3]. Genellikle tanı esnasında ortalama mutlak lenfosit sayısı $30 \times 10^3/\text{ml}$ 'dir ve bu sayı zamanla giderek artar[8, 66]. Hastaların yarısında lenfosit sayısının ikiye katlanması (LDT) 12 aydan uzun sürmektedir. Bazı hastalarda lenfosit sayısı dönemsel dalgalanmalar halinde $50 \times 10^3/\text{ml}$ düzeyini aşmakla birlikte diğerlerinde bu

sayı uzun yıllar sabit değerlerde kalır[8]. Hastaların çoğunda KLL lenfositleri normal lenfositlerde olduğu gibi küçük, olgun görünümlü, kompakt kromatinli ve dar stoplazmalıdır. Nadiren stoplazik inklüzyonlar da görülebilir[68]. Periferik yaymada çoğunlukla parçalanmış lenfositlere rastlanır (basket cell, smudge cell, smear cell) ve bunların yoğunluğu lenfosit sayısının artması ile çoğalır. Bu hücrelerin oranının $>30\%$ olmasının IgV_H gen mutasyonu ile ilişkili olup iyi prognoz belirtisi olduğunu gösteren çalışmalar vardır[69, 70].

2.4.2.Kemik İliği ve Lenf Nodu Bulguları

KLL'de kemik iliği diffüz, interstisyel, noduler ve karışık (noduler+interstisyel) olmak üzere dört şekilde infiltre olabilir. Bunlardan en sık karışık tutulumla rastlanırken en az noduler tutulum görülmektedir. Diffüz tutulumda yağ hücreleri tamamen silinmiştir ve prognoz en kötüdür[71].

2.4.3.İmmunfenotipik Bulgular

Günümüzde KLL'nin tek bir lenfositin malign dönüşümü ve ardından klonal çoğalması sonucu geliştiği düşünülmektedir[4, 72]. KLL'de immunfenotipleme ile hastalığa özgü belirteçler saptanarak diğer lenfoproliferatif hastalıklardan ayırım kolayca yapılabilir. Lösemik hücreler yüzeylerinde B hücre belirteçleri olan CD19, CD20 (düşük), CD43, CD79b (düşük) ve bir T hücre belirteci olan CD5 bulundurulur. Ek olarak genellikle klonal hafif zincir kısıtlamalıdır, zayıf sIgM ve sIgD ekspresyonu vardır, CD23 pozitif ve CD10 negatiftirler. Aynı zamanda bellek B lenfositlerinden köken aldıklarını destekler şekilde CD27 pozitiflikleri vardır. CD27'nin CD23 ve CD5 ile birlikte eksprese olması hücrelerin aktive olduklarını göstermektedir[45, 73, 74].

Damle ve ark. yaptığı çalışmada hastaların yaklaşık yarısında CD38 seviyeleri >%30 bulunmuştur. Bu hastaların IgV_H gen mutasyonu olmadığı ve takipte sağkalımların daha kısa olduğu saptanmıştır[13]. Ancak diğer çalışmalarda IgV_H gen mutasyonu ve CD38 arasında ilişki saptanamamıştır[12, 14, 75].

KLL'nin diğer özelliklerinden birisi de bir aktivasyon belirteci olan ve apoptozisin baskılanmasında rol alan CD23'ün fazla eksprese edilmesidir[76]. Ayrıca CD23; CD5 pozitif olan diğer lenfoproliferatif hastalıklardan (mantle hücreli lenfoma) KLL ayrımının yapılmasında önemlidir. Normalde hücre yüzeyinde bulunan CD23 spontan proteolize uğrayarak serumda serbest halde saptanabilir. Hastalığın ilerlemesiyle serumda ölçülen CD23 düzeyleri de artar[76, 77]. B lenfositlerin immün uyarılar sonucu çoğalmasında en önemli reseptör B hücre antijen reseptör kompleksidir. Bu kompleks sIg ve Igα/Igβ (CD79a/CD79b)'dan oluşur. KLL lenfositlerinde normal B lenfositlerden farklı olarak CD79b bulunmaz çünkü gendeki alternatif bölünme nedeniyle CD79a aşırı eksprese olur[78].

FMC7 genellikle prolenfositik lösemi ve saçlı hücreli lösemide aşırı eksprese olan bir yüzey belirteçidir. KLL hastalarının yaklaşık %16'sında FMC7 pozitifdir. Bu hastalarda genellikle sIgM belirgin olup CD23 negatifdir ve prognoz oldukça kötüdür[79].

CD11b ve CD13 gibi myelomonositik belirteçler küçük bir hasta grubunda saptanabilir. Bunların varlığı diffüz kemik iliği tutulumu ve kötü prognozla ilişkilidir[80].

KLL hastalarının yaklaşık %5'inde CD5 negatifdir. Bu hastalarda genelde FMC7(+), CD23(-), CD11b(+) ve CD13(+)’tir ve prognoz kötüdür[79, 81].

2.5.FONKSİYONEL ve OTOİMMUN BOZUKLUKLAR

Hastalık progresyonu ile gerek hastalığın doğası gerekse kemoterapiye bağlı olarak immunsupresyon gelişmeye başlar. %80 hastada ana ölüm nedeni olan tekrarlayan enfeksiyonlar ve sepsis meydana gelir[82]. KLL hastaları tipik bakteriyel enfeksiyonların yanında fırsatçı enfeksiyonlara da yatkındırlar. Özellikle nükleozid analogları veya monoklonal antikor tedavisi alanlarda fırsatçı enfeksiyonlar sık görülür[83-85]. Enfeksiyonların en büyük sebebi hipogamaglobulinemidir, bunun yanında KLL hastalarında T hücre, kompleman ve nötrofil fonksiyonlarında da anormallikler vardır. Hipogamaglobulinemi hastalık ilerledikçe ağırlaşır ve patogenezi tam olarak anlaşılamamıştır. B hücre fonksiyon bozukluğu ve T hücrelerin düzenleyici özelliklerindeki bozuklukların rol aldığı düşünülmektedir[86].

KLL hastaları immunsuprese olmasına rağmen bu hastalarda özellikle hematopoetik sistemi kapsayan otoimmün bozukluklarda artış vardır. Otoimmün bozukluk sıklığı ileri evre hastalarda ve tedavi alanlarda daha fazladır[87-89]. KLL otoimmün hemolitik aneminin (OIHA) en sık sebebidir. İkinci sırada sistemik lupus eritematozus gelir[89]. Fludarabin tedavisi alanlarda OIHA göreceli olarak daha sık gibi görünmektedir. Sıklık 60 yaş üzerindeki mutlak lenfosit sayısı $>60 \times 10^3/\text{ml}$ olan erkeklerde daha fazladır[87]. İmmün trombositopeni (ITP) %2 hastada meydana gelir ve periferik yaymada trombosit boyutlarında, kemik iliğinde megakaryosit sayısında artma ile tanı konabilir. Ancak kemik iliğinin KLL hücreleri tarafından yoğun infiltrasyonu megakaryosit oranını değerlendirmeyi güçleştirebilir[89]. Saf kırmızı hücre aplazisi (pure red cell aplasia) sıklığı yaklaşık %1’dir. Otoimmün nedenlerden çok T hücre ilişkili mekanizmalarla oluştuğu düşünülmektedir[88]. KLL hastalarında

otoimmun hematolojik bozuklukların dışında, membranöz ya da membranoproliferatif glomerülonefrite bağlı nefrotik sendrom, kazanılmış anjioödem ve otoimmun deri hastalıkları da görülebilir. Glomerulonefrit monoklonal immunglobulin birikimine bağlı gelişmektedir ve tedaviyle geriler[90]. Kazanılmış anjioödeme tekrarlayan karın ağrıları eşlik eder ve kompleman 1 inhibitörünün paraproteinler tarafından inaktive edilmesine bağlı olarak ortaya çıkar[89]. Ağrılı ağız ülserleri, konjuktivit ve deride kaşıntılı büller ile karakterize paraneoplastik pemfigus ise deriye karşı oluşan otoantikörler aracılığıyla gelişmektedir[91].

2.6.TANI ve EVRELEME

Ulusal Kanser Enstitüsü KLL Çalışma Grubu (NCI-WG) tarafından 1996'da yayınlanan KLL tanı ve tedavi rehberinin, 2008'de Uluslararası KLL Çalışmayı (IWCLL) tarafından güncellenen tanı kriterleri aşağıdaki gibidir[3];

- 1.Periferik kan mutlak lenfosit sayısı $>5 \times 10^3/\text{ml}$
- 2.Periferik yaymada lösemi hücreleri küçük, olgun görünümlü, dar stoplazmalı, sıkı nukleuslu lenfositlerden oluşmalı
- 3.Büyük, bölünmüş atipik hücreler ve prolenfositler $<\%55$
- 4.B lenfosit antijenleri (CD19, CD20, CD23) ve bir T lenfosit belirteci olan CD5 pozitifliği
- 5.Monoklonaliteyi destekleyen yüzey κ veya λ hafif zincir varlığı
- 6.Düşük yoğunlukta yüzey immunglobulini (sIg)
- 7.Kemik iliği aspiratında lenfosit oranı $>\%30$

KLL'de tanı koymak ve prognozu belirlemek amacıyla ilk aşamada tam kan sayımı, periferik yayma ve immunfenotiplleme analizi yapmak gerekir. Tanı için kemik iliği biyopsisi yapmak zorunlu değildir ancak hastalığın ilikte ne şekilde yayıldığı prognostik açıdan önemli olduğu için bir engel yoksa yapılması önerilir[92].

Bunun dışında tanı anında retikülosit sayısı, coombs testi, böbrek ve karaciğer fonksiyon testleri, LDH düzeyi, serum protein elektroforezi, serum immunfiksasyonu ve immunglobulin düzeyleri bakılmalıdır. $\beta 2$ mikroglobulin düzeyi prognoz açısından

ve tedaviye yanıt takbinde basit ve önemli bir belirteçtir[93, 94]. Ayrıca genetik anomalilerin saptanması için sitogenetik analiz yapılması da önerilmektedir.

KLL evrelemesinde genel olarak fizik muayene ve rutin kan sayımı sonuçlarını temel alan iki evreleme sistemi kullanılır[95, 96]. Rai ve ark. tarafından 1975 yılında geliştirilen evreleme sistemi hastaları; lenfositoz, lenfadenopati, splenomegali, anemi ve trombositopeni durumuna göre beş gruba ayırır. Ayrıca bu beş evre prognoz açısından benzer gruplar bir araya getirilerek üç prognostik gruba ayrılmıştır. Buna göre; evre0 düşük riskli, evre I ve II orta riskli, evre III ve IV yüksek riskli grupta yer alır. (tablo1)

Tablo 1. Rai Evreleme Sistemi(Wintrobe's Clinical Hematology 12th Edition s:2228)

RAI EVRELEMESİ

Modifiye		Ortalama
Evre	Klinik	Sağkalım(yıl)
0	Düşük risk Lenfositoz	>10
I	Orta Risk Lenfositoz + Lenfadenopati	7–9
II	Orta Risk Lenfositoz + Splenomegali± Lenfadenopati	7–9
III	Yüksek Risk Lenfositoz + Anemi ± Lenfadenopati veya Splenomegali	1.5–5
IV	Yüksek Risk Lenfositoz + Trombositopeni±Anemi ± Splenomegali ± Lenfadenopati	1.5–5

Anemi; hemoglobin <11 g/dL, **trombositopeni;** trombosit sayısı <100000/dL

Binet evreleme sisteminde hastalar tutulan lenf nodu bölgesi sayısı, hemoglobin ve trombosit düzeyine göre üç evreye ayrılır. Bu sistemde tutulmuş olan lenfoid bölgeler beş grupta incelenir. Bunlar servikal, aksiller, inguinal lenf nodu bölgeleri, dalak ve karaciğerdir. Üçten az lenfoid bölge tutulumu evre A, üç ve üzeri bölge

tutulumu evre B, anemi ya da trombositopeni varlığı evre C olarak değerlendirilir. (tablo2)

Tablo2. Binet Evreleme Sistemi(Wintrobe's Clinical Hematology 12th Edition s:2229)

BİNET EVRELEMESİ

Evre	Kan Sayımı	Tutulan Bölge Sayısı ^a	Ortalama Sağkalım(yıl)
A	Hb >10g/dL ve trombosit >100000/dL	<3	>10
B	Hb >10g/dL ve trombosit >100000/dL	>3	7
C	Hb <10g/dL veya trombosit <100000/dL,	Önemsiz	5

Hb, hemoglobin.

^aServikal,aksiller,inguinal bölgeler,palpabl dalak ve karaciğer

2.7.PROGNOSTİK FAKTÖRLER

KLL hastalarının sağ kalımı genellikle iyi olmakla birlikte oldukça değişkenlikte gösterebilir. Bazı hastalar uzun sağkalım süresine sahiptir, hatta çok nadir de olsa spontan remisyon görülebilir[7]. Ancak bazılarında hastalık seyri çok hızlıdır ve kısa sürede ölümle sonuçlanır. Günümüzde yaygın kullanılan Rai ve Binet evreleme sistemleri basit ve güvenilir prognostik ölçütlerdir[6]. Yine de herhangi bir risk grubu içinde bulunan hastalar arasında da belirgin prognoz farklılığı gözlenebilir. Bu yüzden evrelemenin yanında ek prognostik faktörlerin kullanılması gerekmektedir[6]. (tablo3)

2.7.1.Rai ve Binet Evreleme Sistemleri

Rai evrelemesine göre düşük risk grubunda yer alan (%31) ve sadece lenfositozu olan hastaların sağkalımı 10 yıldan fazladır. Bu hasta grubu normal toplumdan farksızdır ve genellikle tedaviye gerek yoktur. Orta risk grubunda yer alan (%61), lenfadenopati ve/veya splenomegalisi olan hastaların ortalama sağkalım

süreleri 7-9 yıl arasındadır. Bu hastalar daha fazla tümör yükü taşırlar ve tümör kitlesine bağlı hastalık belirtileri olabilir. Yüksek risk grubunda yer alan (%8) hastaların genelde anemisi ve/veya trombositopenisi vardır, hastalık hızlı seyreder ve ortalama sağkalım süreleri 5 yıldan azdır[97-99].

Binet A evresinde bulunan (%63) hastaların ortalama yaşam süresi 10 yıldan fazladır. Bu süre evre B hastalarda (%30) 7 yıl, evre C hastalarda (%7) 5 yıldır[97-99].

Binet A ve Rai düşük risk grubundaki hastaların ortalama yaşam süreleri 10 yıl olmasına rağmen, bu hastalardan %40'ı ileriki dönemlerde ileri evreye geçecek, %50'si herhangi bir zamanda tedavi almak zorunda kalacak, %25 hasta ise yaşamını kaybedecektir[99].

2.7.2.Yaş ve Cinsiyet

KLL hastalarının yaklaşık %10'u 50 yaşından gençtir. Bu hastaların klinik özellikleri ileri yaş grubundaki hastalardan çok farklı değildir[8, 66]. Genç yaş grubundaki hastaların bir kısmında hastalık oldukça kötü seyretmektedir ve bu kişilerde agresif bir lenfomaya dönüşüm (Richter transformasyonu) riski beş kat fazladır[8].

KLL'de erkek kadın oranı 2:1'dir. Kadınlar genellikle erken evre hastalık özellikleri gösterir. Yaş ve evreye bakmaksızın, kadınlarda prognoz daha iyi olduğu bilinmektedir[9, 24].

2.7.3.Lenfosit Özellikleri

Atipik KLL ya da KLL/PLL (prolenfositik lösemi) özellikleri taşıyan hasta oranı yaklaşık %20'dir. Bunlar yüksek proliferasyon indeksleri olan, ileri evrede ve kötü prognoza sahip hastalardır[81, 100, 101]. Ayrıca atipik morfolojik özellikler gösteren hastalarda kötü prognostik belirteçler olan trizomi12, delesyon 17p13, CD38 pozitifliği, ve IgV_H gen mutasyon eksikliği daha sık görülür[81, 102, 103].

Lenfosit sayısı sağkalım süresi ile ters orantılıdır. Lenfosit sayısı $20 \times 10^3/\text{ml}$ 'den az olan hastalarda ortalama sağkalım 8,6 yıl, $40 \times 10^3/\text{ml}$ 'den fazla olanlarda ise 3,7 yıldır[104].

LDT hastalığının agresif seyrini takip etmek için yararlı bir ölçüttür. LDT'nin 12 aydan kısa olduğu hastalarda sağ kalım süresi belirgin olarak kısalmaktadır[10, 11].

2.7.4.Moleküler ve Sitogenetik Anomaliler

Sitogenetik çalışmalarla hastalığın seyrini etkileyen çok önemli bilgiler elde edilebilir. Özellikle 17p13 delesyonu, 11q22-q23 mutasyonu bulunanlarda tedaviye yanıt ve sağ kalım süreleri oldukça kötüdür[12, 14, 105-107]. Bir diğer anomali olan trizomi 12 varlığında da atipik morfoloji, farklı immunofenotipik özellikler, ileri evre hastalık ve kötü prognoz birlikteliği vardır[101].

2.7.5.İmmun Belirteçler

Yüzey immunglobulin düzeyinin artması, FMC7 pozitifliği, CD20 yoğunluğunun artması gibi immunfenotipik değişiklikler atipik morfoloji, trizomi 12 gelişmesi ve kötü prognozla ilişkilidir[79, 100, 108].

Birçok çalışmada CD38'in önemli bir prognostik belirteç olduğu saptanmıştır. Yüksek oranda CD38 pozitifliği ileri evre, kısa sağkalım süresi, kısa LDT, mediastinal ve batin içi yaygın lenfadenopati, artmış $\beta 2$ mikroglobulin düzeyi ile ilişkili bulunmuştur[109, 110]. Hastaların takibi sırasında CD38 negatif olanlar zamanla CD38 pozitif hale gelebilir. Bu durum p53 mutasyonunun de novo gelişmesi ve hastalık progresyonu ile ilişkilidir[106].

İleri evre hastaların bir kısmında CD4/CD8 lenfosit oranı düşük saptanır ayrıca doğal öldürücü hücre (NK) sayısı azalmıştır, bunun sonucunda hipogamaglobulinemi meydana gelir, enfeksiyonlara yatkınlık artar ve sağkalım süresi kısalmaktadır[106, 111].

ZAP-70 hücre içi sinyal iletiminde görevli bir protein kinazdır. KLL hücrelerinde yüksek pozitiflik oranı kötü prognoz göstergesidir. CD38 pozitifliği ile korelasyon gösterir ve kötü prognostik sitogenetik anomaliler ile birlikte bulunur[16, 112, 113].

2.7.6.Kemik İliği Histolojik Özellikleri

Kemik iliğinde nodüler ya da interstisyel yayılım özelliği benzer tümör yükü taşımaktadır. Nodüler tutulumda ortalama sağkalım süresi 90 ay, diffüz tutulumda 28 aydır[71]. Kemik iliğinde fibrozis saptanması hızlı hastalık seyri ile ilişkilidir[114].

Kemoterapi sonrası kemik iliğinde halen lenfoid noduller bulunması kısa sürede relaps gelişeceğinin işaretidir[115, 116].

2.7.7.Serum Belirteçleri

Serum belirteçlerinden LDH, β 2 mikroglobulin ve serum CD23 düzeyi agresif seyirli hastalarda yüksek düzeyde bulunur. Bunlar tümör yükünü yansıtır ve tedaviye takipte kullanılabilir[117].

Tablo3. KLL'de kullanılan kötü prognostik belirteçler

RUTİN KULLANILAN BELİRTEÇLER
İleri evre
Atipik morfoloji veya KLL/PLL
LDT <12 ay olması
İmmunfenotipleme: yoğun sIgM, FMC7(+), CD23(-), CD11b(+), CD13(+), CD38(+)
Yüksek β 2 mikroglobulin
Diffüz kemik iliği tutulumu
Yüksek LDH
Kemoterapiye kötü yanıt
İLERİ ARAŞTIRMALARDA KULLANILAN BELİRTEÇLER
IgV _H mutasyonu olmaması
Yüksek ZAP-70 ekspresyonu
Sitogenetik analizde del 11q, del 17p, trizomi 12 saptanması
Artmış serum CD23 düzeyi

2.8.TEDAVİ

Genel olarak düşünüldüğünde KLL hastalarının üçte biri hiçbir zaman tedaviye ihtiyaç duymayacaklardır, üçte birinde hastalık progresyonu ile yıllar içinde tedavi endikasyonu doğarken geri kalan kısmında tanı anında tedavi gereksinimi vardır[99]. Bütün tedavi rejimlerinin yan etki riski olması nedeniyle tedavi için hasta seçiminin çok iyi yapılması gerekir. Erken başlanacak tedavi hastalarda yarardan çok zarara neden olabilir. Mesela Rai 0 ya da Binet A evresindeki hastaların klorambusil ile

tedavisi hastalık progresyonunu yavaşlatır ancak genel sağkalım süresini etkilemez ayrıca böyle hastalarda tedavi vererek gereksiz yere malign epitelyal tümör ve akut lösemi riski arttırılmış olur[118].

2.8.1.Tedavi Endikasyonları[3, 92, 119]

- Sistemik semptom varlığı (son altı ayda vücut ağırlığının %10'dan fazlasının kaybı, enfeksiyon kanıtı olmaksızın 1 aydan uzun süren gece terlemeleri, enfeksiyon kaynağı olmaksızın 2 haftadan uzun süren 38⁰C ve ateş yüksekliği)
- LDT'nin 6 aydan kısa olması
- Kemik iliği yetmezlik bulguları (ilerleyici anemi veya trombositopeni)
- Bulky (çapı>10 cm) veya ilerleyici lenfadenopati
- Masif splenomegali (kot kavsinin 6 cm altında palpabl)
- Otoimmün hemolitik anemi veya immün trombositopeni

2.8.2.Tedavi Rejimleri

Alkilleyici Ajanlar

KLL tedavisinde en yaygın kullanılan ve 50 yıldır tedavide olan alkilleyici ajan; DNA, RNA ve hücrel proteinlere kovalent bağlanarak anti-tümör etkisini gösteren klorambusildir[120]. Günlük 0,1 mg/kg dozunda sürekli olarak veya 0,4 mg/kg dozunda 2 haftalık aralıklarla uygulanabilir. Tedavi etkinliği açısından arada fark yoktur ancak aralıklı kullanımda myelosupresyon olasılığı daha düşüktür. Tedaviye toplam yanıt oranı % 40-60 arasında değişirken %4-10 hastada CR elde edilmektedir[121, 122].

Tedavide kullanılan bir diğer ajan olan siklofosfamid etki mekanizması olarak klorambusile benzer. İki ilaç arasında etkinlik açısından küçük farklar vardır[122]. Siklofosfomid genellikle 2-3 mg/kg günlük doz ya da 2-3 haftada bir 20 mg/kg dozunda verilir.

Tedaviye yanıt oranlarını arttırmak için steroidlerle ya da diğer ajanlarla kombinasyon rejimleri uygulanmakta ya da ilaç dozu artırımına gidilmektedir.

Klorambusil, COP (siklofosfomid, vinkristin, prednizon), CHOP (siklofosfomid, doksorubisin, vinkristin, prednizon) ve CAP (siklofosfomid, doksorubisin, prednizon) rejimlerinin karşılaştırıldığı birçok çalışmada bu tedavi rejimlerinin birbirlerine belirgin

bir üstünlüğü saptanamamıştır. Kombinasyon rejimleri daha çok ileri evre veya relaps olan hastalarda denenmiş ancak total sağkalım ve CR oranlarında benzer sonuçlar elde edilmiştir[97, 123-125].

Nükleozid Analogları

Nükleozid analogları düşük dereceli lenfoproliferatif hastalıklarda belirgin etkiye sahiptir[126]. Deoksikoformisin (dCF, pentostatin) nükleozid sentezinde görevli bir enzim olan adenozin deaminazı inhibe eder. 2-klorodeoksiadenozin (CdA, kladrabin) ve fludarabin, adenozin deaminazın substratı olan deoksadenozinin halojenize deriveleridir ve adenozin deaminaz tarafından yıkılmaya dirençlidirler. Bu ilaçların etkisiyle özellikle lenfositlerde biriken metabolitler DNA kırıklarına neden olarak hücrenin apoptozise gitmesini sağlar[127-129].

Pentostatin saçlı hücreli lösemi tedavisinde belirgin fayda sağlarken KLL tedavisinde etkinliği azdır[126, 130].

Bunun yanında fludarabin KLL'de belirgin klinik yarar sağlamaktadır. Hem oral hem intravenöz yolla uygulanabilir[131]. Fludarabin tedavisine steroid eklenmesinin tedaviye yanıt oranlarında artışa neden olmadığı gibi enfeksiyon oranlarını arttırdığı gösterilmiştir[132]. Fludarabin tedavisinin tek başına CAP rejimiyle yapılan karşılaştırmalı çalışmasında tedaviye yanıt oranları benzer bulunmuştur ancak fludarabin grubunda yanıt sürelerinin daha uzun olduğu görülmüştür[133]. Fludarabin ve klorambusil tedavisinin karşılaştırıldığı bir başka çalışmada ise fludarabin grubunda tedaviye yanıt oranları daha yüksek ve yanıt süreleri daha uzun bulunmuş ancak total sağ kalım süresi arasında fark saptanamamıştır[134]. Fludarabin, klorambusil ve fludarabin/siklofosfomid kombinasyonun karşılaştırıldığı çalışmada kombinasyon tedavisinin yanıt oranlarında üstün olduğu ancak 3 grup arasında total sağ kalım sürelerinde fark olmadığı görülmüştür[135].

Monoklonal Antikorlar

Rituksimab, B lenfositlerin aktivasyon, çoğalma ve farklılaşmalarında önemli bir yüzey antijeni olan CD20 ye karşı geliştirilmiş kimerik bir monoklonal antikordur[136]. Etkisini kompleman aracılı sitotoksiste, antikor bağımlı hücre aracılı sitotoksiste ve direkt olarak apoptozisin indüklenmesiyle gösterdiği düşünülmektedir[136-138]. KLL tedavisinde tedaviye yanıt oranlarını arttırmak için lenfomalarda kullanılandan daha

sık aralıklarla kullanılır[139, 140]. Rituksimabın kemoterapi ile kombine edilmesi myelosupresyonu arttırmadan antitümör etkinliğe katkı sağlar. Ayrıca kemoterapi sonrası ortaya çıkabilecek otoimmün hemolitik anemi riskini azaltır[87-89]. Rituksimabın fludarabin ve fludarabin/siklofosfamid rejimlerine kombine edilmesi ile yapılan karşılaştırmalı çalışmalarda rituksimab eklenen hastalarda tedaviye yanıt oranlarının, progresyona kadar geçen sürelerin ve total sağ kalım oranlarının daha iyi olduğu gösterilmiştir[93, 94, 141-144].

KLL tedavisinde kullanılan bir diğer monoklonal antikor, B ve T lenfositler, NK hücreler ve eozinofillerde bulunan bir yüzey antijeni olan CD52 ye karşı geliştirilmiş alemtuzumabdır[85]. Alemtuzumab da antitümör etkinliğini rituksimaba benzer şekilde gösterir[85, 145]. İntravenöz ya da subkutan yolla kullanılabilir.

Alemtuzumab çalışmalarda genellikle diğer tedavilere dirençli ya da yanıtız hastalarda kullanılmıştır. Ayrıca ilaca dirençli vakalarda fludarabin ile kombinasyonun da kısmi de olsa CR ve PR elde edilmiştir[146, 147]. Bir diğer çalışmada daha önce tedavi almış hastalarda fludarabin/siklofosfomid/rituksimab kombinasyon rejimine alemtuzumab eklenmesiyle %27 CR, %67 PR oranı elde edilmiştir[148].

2.8.3.Tedaviye Yanıt Kriterleri

Ulusal Kanser Enstitüsü KLL Çalışma Grubu (NCI-WG) tarafından 1996'da yayınlanan KLL tanı ve tedavi rehberi 2008'de Uluslararası KLL Çalışmayı (IWCLL) tarafından güncellendi[3]. Buna göre; tam remisyon (CR, complet remission), kısmi remisyon (PR, partial remission), ilerleyici hastalık (PD, progressive disease) ve stabil hastalık (SD, stabil disease) kriterleri aşağıdaki gibidir ve bu kriterler tedavi bitim tarihinden en az 2 ay sonra değerlendirilmelidir;

Tam Remisyon

1. Periferik kan mutlak lenfosit sayısı $<4 \times 10^3/\text{ml}$ olmalı
2. Fizik muayenede $>1,5$ cm lenfadenopati olmamalı
3. Fizik muayenede hepatosplenomegali olmamalı
4. Sistemik semptom olmamalı
5. Kan sayımı değerleri aşağıdaki gibi olmalı;

- Eksojen büyüme faktörü kullanmadan bakılan mutlak nötrofil sayısı >1500/ml
- Eksojen büyüme faktörü kullanmadan bakılan trombosit sayısı >100000/ml
- Eksojen büyüme faktörü kullanmadan bakılan hemoglobin değeri >11 gr/dl

Kısmi Remisyon

1. Kan mutlak lenfosit sayısında tedavi öncesi değere göre %50 ya da daha fazla azalma
2. Fizik muayenede lenf nodu boyutlarında aşağıda belirtildiği şekilde azalma olması;
 - Tedavi öncesi ölçüme göre lenf nodu boyutlarında %50 ya da daha fazla azalma olması
 - Lenf nodu boyutlarında artma ya da yeni ortaya çıkan lenf nodu olmaması
3. Fizik muayenede tedavi öncesi büyümüş saptanan dalak ve/veya karaciğer boyutlarında %50 ya da daha fazla küçülme olması
4. Kan sayımı değerleri aşağıdaki gibi olmalıdır;
 - Eksojen büyüme faktörü kullanmadan bakılan mutlak nötrofil sayısı >1500/ml
 - Eksojen büyüme faktörü kullanmadan bakılan trombosit sayısı >100000/ml yada tedavi öncesi basal değere göre %50 artma
 - Eksojen büyüme faktörü kullanmadan bakılan hemoglobin değeri >11 gr/dl veya tedavi öncesi basal değere göre %50 artma

İlerleyici Hastalık

Aşağıdakilerden en az birinin olması;

1. Fizik muayenede daha önce var olan lenf nodu boyutlarında %50 veya daha fazla artma, veya yeni ortaya çıkan >1,5 cm lenf nodu

2. Fizik muayenede daha önce var olan splenomegali ve/veya hepatomegali boyutlarında %50 veya daha fazla artma, veya yeni ortaya çıkan splenomegali ve/veya hepatomegali
3. Kan sayımında mutlak lenfosit sayısında %50 veya daha fazla artma
4. Richter sendromu gibi daha agresif bir histolojiye dönüşüm
5. KLL'ye bağlı ortaya çıktığı düşünülen sitopeni

Stabil Hastalık

CR, PR ya da PD kriterlerini karşılamayan hasta grubu stabil hastalık olarak değerlendirilir. Bu grup aynı zamanda tedaviye yanıtız olarakta adlandırılabilir.

3.GEREÇ VE YÖNTEM

3.1.HASTALAR

Bu çalışma Dokuz Eylül Üniversitesi Hastanesi Hematoloji Bilim Dalı'nda takip ve tedavisi yapılan KLL hastalarının genel klinik özellikleri, prognostik belirteçleri, tedavileri, tedaviye yanıt ve total sağ kalım sürelerinin incelendiği multiparametrik, geriye dönük bir sağ kalım çalışmasıdır.

Bu amaçla 2000 ile 2011 yılları arasında Hematoloji Bilim Dalı'nda takibi yapılan 114 KLL hastasının listesi, ICD-10 (International Classification of Disease-10) tanı kodlama sistemi kullanılarak Hematoloji Bilim Dalı hasta takip listesi ve dosyalarından çıkarıldı.

Demografik verileri, tam kan sayımı, serum biyokimyası, akım sitometri, kemik iliği histolojik özellikleri, tedaviler, tedavi endikasyonları, tedaviye yanıt durumları, hastaneye son başvuru tarihleri ve yaşamını yitiren hastaların ölüm tarihleri hastane kayıtlarından elde edildi. 6 ay ve daha uzun süre hastaneye başvurmamayan hastaların durumları için hasta veya hasta yakınları ile telefonla iletişim kuruldu.

KLL tanısı ve tedaviye yanıt kriterlerinde, Ulusal Kanser Enstitüsü KLL Çalışma Grubu (NCI-WG) tarafından 1996'da yayınlanan KLL tanı ve tedavi rehberinin 2008'de Uluslararası KLL Çalışmayı (IWCLL) tarafından yapılan güncellemesi esas alındı.

Veri analizi için bazı kavramlar aşağıda ifade edildiği şekilde tanımlandı:

- Evre: Hastalık evresi (Rai ve Binet evreleme sistemleri)
- Toplam sağ kalım (OS): Tanı tarihinden son görülme tarihi veya ölüm tarihine kadar geçen süre
- Tedavisiz sağ kalım (TFS): Tanı tarihinden 1. sıra tedaviye kadar geçen süre, hiç tedavi almayan hastalarda son görülme tarihi veya ölüm tarihine kadar geçen süre
- Progresyonsuz sağ kalım (PFS): Bir sıra tedavinin bitiminden diğer sıra tedavinin başlangıcına kadar geçen süre

3.2.İSTATİKSEL ANALİZ

Elde edilen tüm veriler bilgisayar ortamına aktarıldı. Verilerin değerlendirilmesi amacıyla *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS) 15,0 yazılımı kullanıldı. Nominal ve ordinal değişkenler arasındaki farkların ortaya konması için *Ki-kare* testi, bağımsız değişkenler arasındaki farkların incelenmesi amacıyla *Mann-Whitney U* ve *Wilcoxon* testleri ve normal dağılım özelliği gösteren sayısal değişkenlerin değerlendirilmesi için *Student-t* testleri kullanıldı. Genel ve progresyonsuz sağkalım sonuçlarının değerlendirilmesi için *Kaplan-Meier* ve *Cox regresyon* testleri kullanıldı. Prognostik ve prediktif faktörler için *lojistik regresyon* testi kullanıldı.

4.BULGULAR

Çalışmaya alınan edilen toplam 114 hastanın 60'ı (%52,6) erkek, 54'ü (%47,4) kadındı. Yaşları 28-87 arasında ve yaş ortalaması 68,24 olarak saptandı. Tanı anında ortalama mutlak lökosit sayısı 43854/ml, mutlak lenfosit sayısı 34082/ml, ortalama hemoglobin değeri 12,9 gr/dl, ortalama trombosit sayısı 207280/ml olarak bulundu. (tablo4)

Tablo4. Hastaların yaş ortalaması ve laboratuvar değerleri(a: sayı/ml, b:gr/dl, c:mg/dl, d:IU/L)

ÖZELLİKLER	MİNİMUM	MAKSİMUM	ORTALAMA	STANDART SAPMA
Yaş	28	87	68,20	9,89
Lökosit sayısı ^a	10700	392300	43854	50239
Lenfosit sayısı ^a	5400	239300	34082	39308
Hemoglobin ^b	6,10	16,60	12,90	1,97
Platelet sayısı ^a	25000	527000	207280	89522
Ürik asit ^c	2,50	11,20	5,80	1,94
ALT ^d	4,00	58,00	21,59	10,11
AST ^d	6,00	57,00	23,50	9,26
T.bilürubin ^c	0,21	2,64	0,73	0,34
D.bilürubin ^c	0,10	0,98	0,33	0,21
T.Protein ^c	5,10	8,70	6,95	0,67
Albumin ^c	3,00	5,20	4,38	0,49
Kreatinin ^c	0,40	4,50	1,05	0,46

Tanı esnasında Rai evrelemesine göre 30 hasta (%26,3) evre 0, 42 hasta (%36,8) evre 1, 30 hasta (%26,3) evre 2, 5 hasta (%4,4) evre 3 ve 7 hasta (%6,1) evre 4 grubundaydı. (tablo5)

Tablo5. Rai evrelemesine göre hasta dağılımı

EVRE RAI	N	YÜZDE(%)
0	30	26,3
1	42	36,8
2	30	26,3
3	5	4,40
4	7	6,20
TOPLAM	114	100

Binet evrelemesine göre bakıldığında ise 59 hastanın (%51,8) evre A, 43 hastanın (%37,7) evre B, 12 hastanın (%10,5) ise evre C grubunda olduğu görüldü.(tablo6)

Tablo6. Binet evrelemesine göre hasta dağılımı

EVRE BINET	N	YÜZDE(%)
A	59	51,8
B	43	37,7
C	12	10,5
TOPLAM	114	100

22 hastada (%19,3) tanı anında sistemik semptom saptanırken, 92 hastada (%80,7) saptanmadı. 40 hastada splenomegali (%35) saptanırken, 74 hastada (%65) dalak boyutu normal saptandı. Bunun yanında 114 hastanın 24 (%21)'ünde hepatomegali saptandı. Hastaların takibi sırasında herhangi bir zamanda 10 hastada (%8,8) OIHA, 12 hastada (%10,5) ITP, 6 hastada (%5,3) Evans sendromu, 1 hastada (%0,9) Richter transformasyonu saptandı. LDH değerine bakıldığında 20 hastada (%17,5) LDH değerinin yüksek olduğu görüldü. 12 hastada (%10,5) ikinci bir malignite olduğu görüldü. Bunlardan 4 hastada akciğer, 2 hastada meme, 1 hastada over, 1 hastada endometrium, 2 hastada prostat, 1 hastada kolon kanseri ve 1 hastada derinin skuamöz hücreli karsinomu mevcuttu.(tablo7)

Tablo7.Hastalarda klinik bulgular

ÖZELLİKLER	VAR		YOK		TOPLAM	
	N	YÜZDE(%)	N	YÜZDE(%)	N	YÜZDE(%)
Sistemik semptom	22	19,3	92	80,7	114	100
Splenomegali	40	35	74	65	114	100
Hepatomegali	24	21	90	79	114	100
Yüksek LDH	20	17,5	94	82,5	114	100
OIHA	10	8,8	104	91,2	114	100
ITP	12	10,5	102	89,5	114	100
EVANS	6	5,3	108	94,7	114	100
Richter	1	0,9	113	99,1	114	100
İkincil tümör	12	10,5	102	89,5	114	100
Tedavi alan	53	46,5	61	53,5	114	100

92 hastada (%80,7) periferik kanda akımsitometrik inceleme yapıldı. 68 hastada CD38 düzeyine bakılırken, CD23 düzeyine 71 hastada bakıldı. CD23 ve CD38 değerleri >%30 pozitif kabul edildi. Tedavi alan ve almayan hastalarda CD38 ve CD23 pozitiflik oranları tablo 8'de görüldüğü gibidir.

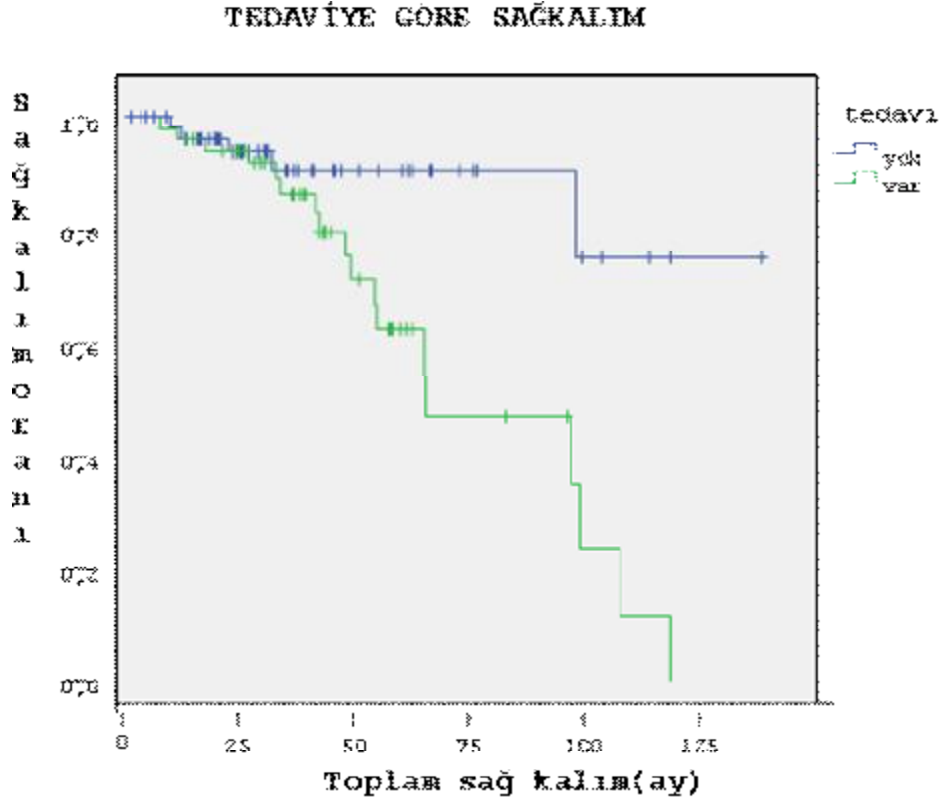
Tablo8.CD38 ve CD23 pozitiflik oranları

CD38		
TEDAVİ	N	YÜZDE(%)
Yok		
negatif	13	21,3
pozitif	16	42,6
total	39	63,9
bakılmayan	22	36,1
Var		
negatif	7	13,2
Pozitif	22	41,5
total	29	54,7
bakılmayan	24	45,3
CD23		
TEDAVİ	N	YÜZDE(%)
Yok		
negatif	5	8,2
pozitif	35	57,4
total	40	65,6
bakılmayan	21	34,4
Var		
negatif	9	17,0
Pozitif	22	41,5
total	31	58,5
bakılmayan	22	41,5

İzlem süresince 61 hasta (%53,5) hiç tedavi almazken 53 hasta (%46,5) tedavi aldı. Tedavi gerektirmeyen grupta 5 hasta (%8,2), tedavi grubunda 18 hasta (%44) olmak üzere toplamda 23 hasta (%20,2) hayatını kaybetti. Tedavi alan hastalarda ortalama genel sağ kalım süresi 74,9 ay, tedavi almayanlarda 121,6 ay olarak bulundu. Tedavi durumunu dikkate almadan ortalama genel sağ kalım süresi 92,8 ay

bulundu. Hastaların yaş ve tedavi durumuna göre genel sağ kalım eğrisi şekil1'de gösterilmektedir.

Şekil1. Tedaviye göre sağ kalım eğrisine bakıldığında tedavi alan hastalarda almayanlara göre sağ kalım oranının daha kötü olduğu görülmektedir.



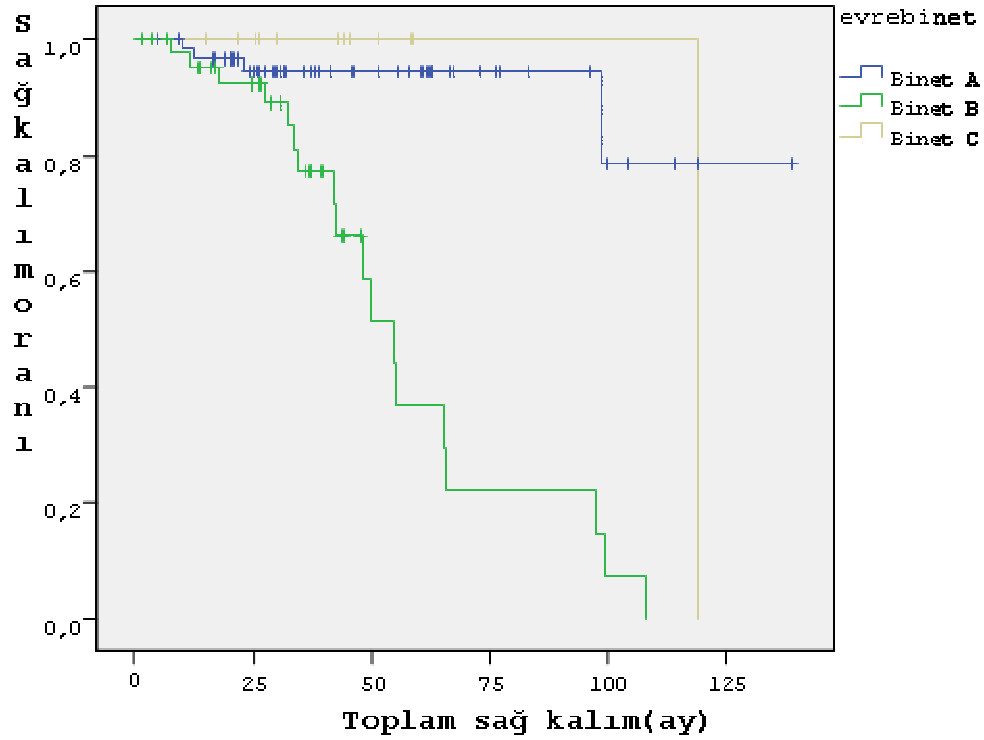
Binet evrelemesine göre sağ kalım değerlendirildiğinde; tanı sırasında evre A olan 59 hastanın 4'ü (%6,8), evre B olan 43 hastanın 18'i (%41,9) ve evre C olan 12 hastanın 1'i (%8,3) izlem sırasında yaşamını kaybetti. Evre A hastalarda ortalama sağ kalım süresi 125 ay, evre B hastalarda 57 ay ve evre C hastalarda 119 ay olarak bulunmuştur. Hastaların Binet evresine göre sağ kalım eğrisi ve tedavi alanların yüzdesi şekil2 ve tablo 9'da özetlenmektedir.

Tablo 9. Tedavi alan ve almayan grupta Binet evrelemesine göre hasta dağılımı

TEDAVİ	N	YÜZDE(%)
Yok		
Binet A	51	83,6
Binet B	10	16,4
Total	61	100
Var		
Binet A	8	15,1
Binet B	33	62,3
Binet C	12	22,6
Total	53	100

Şekil2. Binet evrelemesine göre sağ kalım eğrisine bakıldığında evreB olan hastaların sağ kalım oranının daha kötü olduğu görülmektedir

EVREYE GÖRE SAĞKALIM



Cinsiyete göre sağ kalım değerlendirildiğinde; 60 erkek hastanın 16'sı (%27), 54 kadın hastanın 7'si (%13) izlem sırasında hayatını kaybetti. Erkeklerde ortalama sağ kalım süresi 88 ay, kadınlarda 94 ay olarak bulunmuştur.

114 hastadan sadece 19 hastada sitogenetik analiz yapıldı. Bu hastalardan 14'ünde (%12,3) sitogenetik anomali saptanmadı. 2 hastada (%1,8) 17p delesyonu, 2 hastada (%1,8) trizomi12, 1 hastada (%0,9) t(14;19) saptandı. 17p delesyonu olan her iki hasta da tanı anında Binet B evresinde, kadın hastalar olup, her ikisinde de diffüz kemik iliği tutulumu ve LDH yüksekliği mevcuttu. Bu hastalardan birisinde aynı zamanda masif splenomegali olup 3 sıra kemoterapi aldı ve çalışma süresinin sonunda kısmi yanıt elde edildi. Diğer hastada aynı şekilde 3 sıra kemoterapi aldı ve çalışma süresinin sonunda stabil hastalık yanıtı elde edildi. Trizomi 12 anomalisi olan iki hastadan birisi evre A diğeri evre B olup bu hastalar kemoterapi almadı. t(14,19) anomalisi olan 1 hastada Evans sendromu saptandı, bu hasta iki sıra kemoterapi aldı ve 7 yıllık takip süresinin sonunda hastalık ilişkili nedenlerle hayatını kaybetti.

22 hastaya (%20,2) kemik iliği biyopsisi yapılmadı. Biyopsi yapılan 92 hastanın (%79,8) 39'unda (%34,2) diffüz, 53'ünde (%46,5) non-diffüz kemik iliği infiltrasyonu saptandı.

Sadece 20 hastada (%17,5) β 2 mikroglobulin düzeyine bakıldı ve bu hastaların 11'inde (%9,6) β 2 mikroglobulin yüksek bulundu.

Tedavi alan 53 hastanın tedavisiz sağ kalım süresinin 2 ile 88 ay arasında değiştiği görüldü ve ortalama tedavisiz sağ kalım süresi 15,57 ay olarak bulundu. 1. sıra tedavinin progresyonsuz sağ kalım süresi 6 ile 99 ay arasında değişmekteydi ve ortalama progresyonsuz sağ kalım süresi 17,99 ay olarak bulundu. Toplam 25 hastaya 2. sıra tedavi verildi. 2. sıra tedavinin progresyonsuz sağ kalım süresi 4 ile 36 ay ortalama süre 6,23 ay olarak bulundu. (tablo10)

Tablo10.Tedavi alan hastaların tedavisiz ve progresyonsuz sağ kalım süreleri

	N	MİNİMUM	MAKSİMUM	ORTALAMA	STD SAPMA
Tedavisiz sağ kalım	53	2	88	15,57	22,35
Progresyonsuz sağ kalım1	53	6	99	17,99	20,58
Progresyonsuz sağ kalım2	25	4	36	6,23	8,83
Progresyonsuz sağ kalım3	6	4	23	5,50	8,90

Birinci sıra tedavide 33 hasta (%62,3) klorambusil, 11 hasta (%20,8) FC, 2 hasta (%3,8) FCR ve 7 hasta (%13,2) CVP tedavisi aldı. Klorambusil alanlarda progresyonsuz sağ kalım 7 ile 85 ay, ortalama 15,63 ay olarak bulundu. FC alan hastalarda PFS; 6 ile 53 ay, ortalama 23,61 ay olarak bulundu. FCR alan 2 hastada pfs 12 ile 17 ay, ortalama 14,68 ay olarak bulundu. CVP tedavisi alan hastalarda pfs 6 ile 99 ay, ortalama 21,26 ay olarak saptandı. (tablo11)

Tablo11. Birinci sıra kemoterapi rejimleri ve her bir rejimin progresyonsuz sağ kalım süresi

İLK KT N YÜZDE(%)			PROGRESYONSUZ SAĞ KALIM			
			MİNİMUM	MAKSİMUM	ORTALAMA	STD SAPMA
klorambusil	33	62,3	7	85	15,63	18,47
FC	11	20,8	6	53	23,61	17,45
CVP	7	13,2	6	99	21,26	35,17
FCR	2	3,7	12	17	14,68	3,22
Toplam	53	100				

İlk sıra kemoterapi alanlara bakıldığında 8 hastada (%15) lenfosit ikilinme zamanında kısılma, 18 hastada (%34) sistemik semptom, 9 hastada (%17) LAP

progresyonu, 6 hastada (%11) immunsitopeni, 12 hastada (%23) ise kemik iliği yetmezlik bulgusu endikasyonlarıyla kemoterapiye başlandığı görülmüştür. (tablo12)

Tablo12. Birinci sıra kemoterapide tedavi endikasyonları

ENDİKASYON	N	YÜZDE(%)
Sistemik semptom	18	34
Kemik iliği yetmezlik	12	23
LAP progresyonu	9	17
Lenfosit ikilenme zamanı	8	15
immunsitopeni	6	11
TOPLAM	53	100

İlk sıra kemoterapi sonunda klorambusil alan 1 hastada tam yanıt (CR %3), 26 hastada kısmi yanıt (PR %78), 6 hastada stabil hastalık yanıtı (SD %18), FC alan 4 hastada tam yanıt (%37), 6 hastada kısmi yanıt (%54), 1 hastada stabil hastalık yanıtı (%9), FCR alan 2 hastada kısmi yanıt (%100), CVP alan 6 hastada kısmi yanıt (%86), 1 hastada progresif hastalık yanıtı (PD %14) elde edilmiştir.(Tablo13)

Tablo13. Birinci sıra kemoterapide yanıt değerlendirilmesi

KEMOTERAPİ	CR		PR		SD		PD		TOPLAM	
	N	(%)	N	(%)	N	(%)	N	(%)	N	(%)
klorambusil	1	3	26	79	6	18	0	0	33	100
FC	4	37	6	54	1	9	0	0	11	100
CVP	0	0	6	86	0	0	1	14	7	100
FCR	0	0	2	100	0	0	0	0	2	100

İkinci sıra tedavide 1 hasta (%1,9) klorambusil, 1 hasta (%1,9) fludarabin, 1 hasta (%1,9) CHOP, 1 hasta (%1,9) R-CHOP, 1 hasta (%1,9) R-CVP, 1 hasta (%1,9) alemtuzumab, 2 hasta (%3,8) rituksimab/prednizon, 3 hasta (%5,7) FCR, 4 hasta (%7,5) CVP, 10 hasta (%18,9) FC aldı. (tablo14)

Tablo14.İkinci kemoterapi rejimleri

2. SIRA KEMOTERAPİ	N	YÜZDE(%)
FC	10	40
CVP	4	16
FCR	3	12
Rituksimab/prednizon	2	8
Klorambusil	1	4
Fludarabin	1	4
CHOP	1	4
R-CVP	1	4
Alemtuzumab	1	4
R-CHOP	1	4
Toplam	25	100

İkinci sıra kemoterapi alan 25 hastanın 7'sinde lenfosit ikilenme zamanında kısılma, 6 hastada LAP progresyonu, 5 hastada immunsitopeni, 5 hastada kemik iliği yetmezlik bulgusu, 1 hastada sistemik semptom, 1 hastada ise Richter transformasyonu endikasyonu ile kemoterapi başlandı.(Tablo15)

Tablo15. İkinci sıra kemoterapide tedavi endikasyonları

ENDİKASYON	N	YÜZDE(%)
Lenfosit ikilenme zamanı	7	28
LAP progresyonu	6	24
İmmunsitopeni	5	20
Kemik iliği yetmezlik	5	20
Sistemik semptom	1	4
Richter	1	4
TOPLAM	25	100

İkinci sıra kemoterapi sonunda 1 hastada CR, 20 hastada PR, 1 hastada SD ve 3 hastada PD saptandı.

3.sıra kemoterapi alan 6 hastadan 2 hastaya FC verilirken, 1 hastaya tek başına steroid, 1 hastaya fludarabin, 1 hastaya rituksimab/prednizon ve 1 hastaya CFAR

tedavisi verildi. Üçüncü sıra kemoterapi alan 6 hastanın 3'ünde kemik iliği yetmezlik bulgusu, 2 hastada LAP progresyon ve 1 hastada lenfosit ikilenme zamanının kısalması nedeniyle kemoterapi başlandı.(tablo16)

Tablo16. Üçüncü sıra kemoterapi rejimleri

3. SIRA KEMOTERAPİ	N	YÜZDE(%)
FC	2	33,6
Prednizon	1	16,6
Fludarabin	1	16,6
Rituksimab/prednizon	1	16,6
CFAR	1	16,6
Toplam	6	100

Çalışma süresi tamamlandığında 91 hastanın yaşadığı, 14 hastanın hastalık ilişkili nedenlerle, 9 hastanın ise hastalık dışı nedenlerle öldüğü görüldü. Sağ olan hastalardan 21 hastanın kısmi yanıtı, 4 hastanın tam yanıtı, 65 hastanın stabil olduğu ve 1 hastada ise progresif hastalık olduğu görüldü.(tablo17)

Tablo17. Çalışma süresi sonunda son durum

SON DURUM	N	YÜZDE(%)
SD	65	57,3
PR	21	18,4
CR	4	3,5
PD	1	0,8
Hastalık ilişkili ex	14	12,2
Diğer nedenlerle ex	9	7,8
TOPLAM	114	100

Çalışmamızda Binet ve Rai evresi yüksek olan hastalarda 1.sıra kemoterapiye kadar geçen sürenin daha kısa olduğu görüldü. (sırasıyla $p=0,001$ ve $p=0,004$). Ayrıca yüksek evre hastalarda progresyonsuz sağ kalım1 (PFS1) süresinin anlamlı

olarak kısa olduğu görüldü. (sırasıyla $p=0,014$ $p=0,013$) Ancak PFS2, PFS3 ve toplam sağ kalım (OS) arasında anlamlı bağlantı bulunamadı.

Hepatosplenomegali ile OS, tedavisiz sağ kalım (TFS) arasında anlamlı ilişki bulunmazken kitlesel lenf nodu olanlarda TFS'ın daha kısa olduğu görüldü. ($p=0,030$)

CD38 pozitifliği ile OS süresi arasında negatif, CD23 pozitifliği ile OS süresi arasında pozitif korelasyon olduğu görüldü. (sırasıyla $p=0,026$ ve $p=0,043$). Ancak bu iki parametreyle TFS arasında ilişki bulunamadı.

Prognostik belirteçlerden biri olan $\beta 2$ mikroglobulin ile OS ve TFS arasında bağlantı bulunamadı. LDH yüksekliği ile OS arasında negatif korelasyon saptandı. ($p=0,001$) Ayrıca LDH yüksekliği olan hastalarda diffüz kemik iliği tutulumunun daha fazla olduğu görüldü. ($p=0,043$)

OIHA, ITP ve EVANS sendromu ile OS arasında negatif korelasyon saptandı. (sırasıyla $p=0,010$ $p=0,001$ $p=0,003$). Bu parametrelerle TFS arasında ilişki bulunamadı.

Yaş, cinsiyet ve kemik iliği tutulum şekli ile TFS, PFS1, PFS2, PFS3 ve OS arasında anlamlı ilişki saptanmadı.

5.TARTIŞMA ve SONUÇ

KLL batı ülkelerinde sık görülen bir lösemi türüdür. Ülkemizdeki sıklığı bilinmemektedir. Genellikle yaşlı bireylerde ortaya çıkar. Hastalığın doğal seyri agresif olmasa da tedavi gereken hastalarda ortaya çıkan komplikasyonlar önemli morbidite ve mortaliteye neden olmaktadır.

Hastalığın tanısı, prognostik belirteçleri, tedavi ve tedaviyi etkileyen faktörler üzerinde birçok çalışma yapılmaktadır. Bu çalışmalarda ortaya konan prognostik faktörler sayesinde kötü prognostik özelliklere sahip hasta popülasyonunda erken tedaviye başlanması ve yeni tedavi rejimleri ile son yıllarda KLL hastalarının yaşam sürelerinde önemli oranda iyileşme elde edilmiştir. Batı ülkelerinde gelişmiş tanı ve tedavi klavuzları sayesinde bu prognostik belirteçler tanı esnasında bakılmakta, tedavi için hasta seçimleri çok iyi yapılabilmekte ve bu sayede sağ kalım süreleri önemli derecede uzamaktadır. Ancak ülkemizde immunfenotipik ve sitogenetik analizlerle elde edilen gelişmiş prognostik belirteçler çok yaygın kullanılamamaktadır ve bu nedenle tanı esnasında hastalar eksik değerlendirilebilmektedir.

KLL ile ilgili bilgiler yabancı kaynaklıdır. Yabancı toplumlardaki hasta özellikleri ile ülkemizdeki hasta özellikleri birçok açıdan farklı olabilir. Bu nedenle ülkemizde hastalara uygulanan tanı, takip ve tedavi protokolleri her zaman batı ülkeleri ile uyuşmamaktadır.

Ülkemizde birçok hastalığın kayıtları iyi tutulmamaktadır. Biz çalışmamızda KLL hastalarının genel klinik özelliklerini ortaya koymanın yanında ülke verilerine katkı sağlamayı da amaçladık. Araştırmaya dahil edilen hasta grubunu değerlendirdiğimizde yaş ortalamalarının batı kaynaklarıyla benzer olduğu görülmüştür[23]. Hastalık, diğer çalışmalarda erkeklerde kadınlara göre hemen hemen 2 kat daha sık görülmesine rağmen bizim çalışmamızda erkek ve kadın sayısı birbirine yakın bulunmuştur[20, 22]. Kadınlarda ortalama toplam sağ kalım süresi ılımlı olarak yüksek bulunmuş olsada bu istatikselsel olarak anlamlı bulunmadı($p=0,076$). Hastalar evrelere göre değerlendirildiğinde Rai düşük risk grubunda %26,3 orta risk grubunda %63,1 yüksek risk grubunda %10,6 hasta saptanmıştır. Rai ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada düşük risk grubunda %31 orta risk grubunda %61 ve yüksek risk grubunda ise %8 hasta olduğu görülmüştür[95]. Bu oranların bizim çalışmamızla benzer olduğu görülmüştür. Binet evresine göre hasta

dağılımı evre A %51,8 evre B %37,7 ve evre C %10,5 olarak saptanmıştır. Binet ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise evre A %55, evre B %30, evre C %15 olarak saptanmıştır ve bizim çalışmamızdaki bulgularla hemen hemen benzerdir[96].

Rai yüksek risk grubu ya da Binet evre C olan hastalarda en önemli bulgular anemi ve trombositopenidir. Buradaki sitopenilerin otoimmün ya da başka bir sebebe bağlı olmaması gerekmektedir. Ancak hastalarımızın değerlendirilmesinde özellikle anemi açısından sıkıntılar yaşanmaktadır. Hastalarımızda görülen anemi yaşlılığa, kardiyovasküler sorunlara, demir eksikliğine ya da kronik hastalık anemisi gibi başka nedenlere bağlı olabilir. Genellikle ilk değerlendirme sırasında hastalarda lenfadenopati, splenomegali, B semptomları gibi diğer nedenler dikkate alınırken anemi nedeni genellikle dikkate alınmaz ve hasta ileri evre olarak kabul edilir. Bu noktada kemik iliği biyopsisi bize yardımcı olabilir. Anemi ile gelen KLL hastalarında kemik iliğinde diffüz lenfoid infiltrat, eritroid baskılanma ve yeterli demir depoları gösterilirse bu hastalardaki aneminin KLL'ye bağlı olduğunu söyleyebiliriz. Anemi de olduğu gibi trombositopenide de yeterince araştırma yapılmamaktadır ve hastalar ileri evre olarak kabul edilmektedir. Otoimmün trombositopeniyi tanımlamak için kullanılan bir test yoktur. Trombositopenik hastada da anemide olduğu gibi kemik iliği biyopsisi fikir verebilir. Sonuçta KLL düşünülen hastalarda hastalık evresi hakkında karara varmadan önce anemi ve trombositopeni iyi değerlendirilmelidir.

Çalışmamızda mutlak lenfosit değerleri ortalaması 34082/ml bulunmuştur. Oscier ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada İngiltere'de KLL hastalarının ilk tanısında ortalama lenfosit sayısının <20000/ml olduğu bulunmuştur[104]. Lenfosit sayısının yüksek olmasının sağ kalımı olumsuz etkilediği bilinmektedir[10]. Bizim çalışmamızda mutlak lenfosit sayı ortalamasının yüksek çıkmasının nedeni hastaların yüksek değerler de hematolojiye yönlendirilmesi olabilir. Çalışmamızda yüksek lenfosit değerlerinin sağ kalımı olumsuz etkilediğine dair istatistiksel korelasyon saptanmamıştır.

CD38 iyi bilinen bir prognostik belirteçtir. Çalışmamızda 68 hastada periferik kanda CD38 ekspresyon düzeyine bakıldı. >%30 düzeyi pozitif kabul edildi. Tedavi alan hastalardan 22 hastada (%41), tedavi gerektirmeyenlerden 16 hastada (%42) CD38 pozitif bulundu. Damle ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada CD38 pozitif olan hastalarda IgVH mutasyonunun görülmediği ve kötü prognoza sahip oldukları

bulundu[13]. Çalışmamızda CD38 pozitifliği ile TFS ve PFS arasında bağlantı bulunamamış ancak bu hastalarda Damle ve arkadaşlarının çalışmasında olduğu gibi OS süresinin kısaltıldığı görülmüştür($p=0,026$). Ancak tedavi grubunda ve tedavi gerektirmeyen grupta CD38 pozitifliği görülme yüzdesinin eşit olması bu parametrenin tedavi kararı vermede katkısı olmadığını düşündürmektedir.

Çalışmamızda değerlendirilen bir diğer yüzey belirteci, lenfosit farklılaşmasında rolü olan CD23'tür. Toplam 71 hastada periferik kan CD23 ekspresyonuna bakılmış, tedavi alan 22 hastada (%41), almayan 35 hastada (%57) pozitif bulunmuştur. Di Raimondo ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ve diğer çalışmalarda CD23 antijenin yüksek düzeyde eksprese edilmesi iyi prognozla ilişkili bulunmuştur[76]. Bizim çalışmamızda da bu çalışmaları destekler şekilde CD23 pozitifliğinin hastalarda OS süresine olumlu katkısı olduğu görüldü($p=0,043$). Ancak CD23 ekspresyonu ile TFS ve PFS arasında anlamlı ilişki saptanamadı.

KLL ile otoimmün sorunların birlikteliği bilinmektedir. Çalışmamızda 10 hastada OIHA (%8,8), 12 hastada ise ITP (%10,5) saptandı. Hastalarımızda OIHA ve ITP ile OS süresi arasında negatif korelasyon saptandı(sırasıyla $p=0,010$, $p=0,001$). Moreno ve arkadaşlarının yaptığı 961 hastayı içeren çalışmada OIHA %5, ITP %2 sıklıkta bulundu ve bu hastalardaki otoimmün sitopenilerle OS arasında anlamlı ilişki bulunamadı[149]. Visco ve arkadaşlarının yaptığı 1278 hastayı içeren çok merkezli çalışmada OIHA %3,6 ITP %5 sıklığında bulundu ve ITP'si olan hastalarda OS süresinin daha kısa olduğu görüldü[150].

KLL hastalarında normal popülasyona göre solid tümör sıklığında artış vardır. Özellikle deri kanserleri, akciğer kanseri ve gastrointestinal kanser sıklığında artış bildirilmiştir[151-153]. İkincil malignite sıklığının artması KLL'deki lenfosit fonksiyonlarında bozukluğa bağlı olabilir. Çalışmamızda 4 hastada akciğer, 2 hastada meme, 2 hastada prostat, 1 hastada over, 1 hastada endometriyum, 1 hastada kolon ve 1 hastada deri kanseri olmak üzere toplam 12 hastada ikincil malignite saptandı. Akciğer kanseri olan hastaların hepsi izlem sırasında akciğer kanserine bağlı olarak yaşamını kaybetti.

Evre ilerledikçe sağ kalım süresinin ve prognozun kötüleştiği bilinmektedir. Ancak bizim çalışmamızda hastalık evresinin OS süresini etkilemediği görüldü. Bununla birlikte Rai ve Binet evreleri yüksek olan hastalarda TFS ve PSF1'in daha

kısa olduğu saptandı(sırasıyla $p=0,001$ $p=0,004$). Evre A olan hastaların %13'ü evre B hastaların %76'sı evre C hastaların tümü tedavi aldı. Tedavi dikkate alınmadan tüm hastalara bakıldığında evre A hastaların ortalama sağ kalım süresi 125 ay, evre B hastaların 57 ay, Evre C hastaların 119 ay olarak bulunmuştur. Bu değerlere göre en fazla tedavi alan evre B grubunda ya da Rai orta risk grubunda sağ kalım süresinin en kısa olduğu görülmektedir. Bilindiği gibi evreleme hastalık prognozu ile ilgili tek başına yeterli öngörü sağlamamaktadır. Orta risk grubundaki yani en fazla tedavi alan hastalarda ortalama sağ kalım süresinin ileri evre hastalardan daha kısa olmasının nedeni, bu grupta yer alan hastalarda merkezimizde bakılmayan ve hastalıkta kötü prognoz göstergesi olan parametrelerin bu hastalarda varlığı olabilir. Bunun yanında çalışmamızdaki hasta sayısının azlığı ve ileri evrede sadece 12 hastanın bulunması bu sonuca neden olabilir. Ayrıca daha önce bahsedildiği şekilde evre C ya da Rai yüksek risk grubu hastaların bazılarında tanı anındaki anemi ya da trombositopeninin hastalık dışı nedenlere bağlı olma olasılığının gözardı edilmemesi gereklidir. Bu durumda bu gruptaki hastalar, olması gerekenden daha düşük evrede ve daha iyi prognoz beklentisi olan kişiler olacaktır. Evre C hastaların ortalama yaşam süresinin daha uzun olmasının bir diğer nedeni bu gruptaki hastaların 2. ve 3. sıra tedavilerde diğer hastalardan daha fazla monoklonal antikor tedavisi almaları olabilir. Ayrıca ülkemizde sağlık uygulama tebliği gereğince ilk sırada monoklonal antikor tedavisi uygulanamamaktadır. Halbuki bu ilaçların tedaviye eklenmelerinin tedavi yanıtı ve sağ kalımı arttırdıkları bilinmektedir[144, 146, 148]. Çalışmamızda monoklonal antikor tedavisinin çok az kullanılması orta risk grubundaki OS süresinin kısılmasının nedeni olabilir.

Klorambusille yapılan çalışmalarda CR %4-10, PR %36-50 arasında değişmektedir[121, 122, 154, 155]. Bizim çalışmamızda 1.sıra tedavide klorambusil alan 33 hastanın %3'ünde CR, %79'unda PR ve %18'inde SD yanıtı elde edildi. Birinci sıra tedavide sadece 2 hasta rituksimab içeren FCR tedavisi alabildi ve bu iki hastada PR yanıtı elde edildi. Geriye kalan 11 hasta FC (%37 CR, %54 PR, %9 SD) 7 hasta ise CVP (%86 PR, %14 PD) tedavisi aldı. Klorambusil alan hastalarda PFS ortalama 15,6 ay FC alan hastalarda 23,6 ay FCR alan hastalarda 14,6 ay CVP alan hastalarda 21,2 ay olarak bulundu. Wolfgang ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada klorambusil tedavisi alan hastalarda PFS 8,3 ay, Eichhorst ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 18 ay olarak bulundu[156, 157]. Robak ve arkadaşlarının yaptığı

çalışmada FC alan hastalarda PFS ortalama 27 ay olarak bulundu[158]. Çalışmamızda ikinci ve üçüncü sıra tedavilerde çok çeşitli kemoterapi rejimlerinin kullanılması bunlarda yorum yapmayı güçleştirmektedir. Ancak her bir sıra kemoterapiye geçişte PFS'nin giderek kısaldığı dikkati çekmektedir (PFS1 ortalama 18 ay, PFS2 ortalama 6 ay, PFS3 ortalama 5,5 ay).

Çalışmamızda 114 hastadan sadece 19 hastada sitogenetik analiz yapıldı. Bu hastalardan 14'ünde sitogenetik anomali saptanmadı. 2 hastada 17p delesyonu, 2 hastada trizomi12, 1 hastada t(14;19) saptandı. Çok az sayıda hastada sitogenetik analiz yapıldığı için bu hastalarda istatistiksel korelasyon çalışması yapılamadı. Anomali saptanan 5 hastaya bakıldığında bu hastalarda LDH yüksekliği, splenomegali, diffüz kemik iliği tutulumu gibi kötü prognositik belirteçlerinde bulunduğu görüldü.

114 hastadan sadece 20 hastada LDH yüksekliği saptandı. Az sayıda hastada LDH yüksekliği olmasının, KLL'nin yavaş ilerleyen bir hastalık olmasına ve hücrelerin çoğunun G0 fazında beklemesine bağlı olduğu düşünüldü. Nitekim LDH değeri yüksek olan hastalarda hastalığın daha saldırgan olduğunu destekler şekilde OS süresi daha kısa bulunmuştur($p=0,001$). Ayrıca bu hastalarda bir diğer kötü prognoz belirtisi olan diffüz kemik iliği tutulumunun daha fazla olduğu görüldü($p=0,043$).

Çalışma süresi boyunca 23 hasta hayatını kaybetti. 14 hasta KLL'ye bağlı immunsupresyon sonucu sepsis ve ilişkili multipl organ yetmezlikleri nedeniyle hayatını kaybederken, 4 hasta akciğer kanseri, 5 hasta kardiyovasküler hastalıklar nedeniyle hayatını kaybetti.

Çalışmamızda bazı eksiklikler olmasına karşın, ülkemizde KLL üzerine yapılan az sayıdaki sağ kalım çalışmasından biridir. Hastalıkları risk gruplarına göre ayırıp tedavi ve takip planı oluşturmak için bu hastalıklarla ilgili prognostik belirteçlerin iyi bilinmesi gereklidir. Ülkemizde hastalık kayıt sistemlerinin geliştirilmesi ile yapılan çalışmaların anlamlılık düzeyinin artacağı görüşündeyiz. Ayrıca gelişmiş sitogenetik analizlerin ve prognostik belirteçlerin tanı anında kullanılabilmesi, KLL tedavi ve takibinin daha iyi yapılabilmesini ve sağ kalım sürelerinin uzatılabilmesini sağlayacaktır. Ülkemizde birçok hastalıkta olduğu gibi KLL tedavisinde de gelişmiş tedavi yöntemleri, sağlık uygulama tebliği gereği ilk sırada kullanılamamaktadır. Bu da alınan tedavi sonuçlarının batı ülkelerinden daha kötü olmasına yol açmaktadır.

Yine de bizim çalışmamızda elde edilen veriler yapılan diğer çalışmalarla hemen hemen benzerdir. Ülkemiz verilerini yansıtacak daha iyi sonuçların yüksek sayıda hasta içeren çok merkezli prospektif çalışmalarla elde edileceği kanaatindeyiz.

6. KAYNAKLAR

1. Cheson, B.D., et al., *National Cancer Institute-sponsored Working Group guidelines for chronic lymphocytic leukemia: revised guidelines for diagnosis and treatment*. Blood, 1996. **87**(12): p. 4990-7.
2. Rozman, C. and E. Montserrat, *Chronic lymphocytic leukemia*. N Engl J Med, 1995. **333**(16): p. 1052-7.
3. Hallek, M., et al., *Guidelines for the diagnosis and treatment of chronic lymphocytic leukemia: a report from the International Workshop on Chronic Lymphocytic Leukemia updating the National Cancer Institute-Working Group 1996 guidelines*. Blood, 2008. **111**(12): p. 5446-56.
4. Chiorazzi, N., K.R. Rai, and M. Ferrarini, *Chronic lymphocytic leukemia*. N Engl J Med, 2005. **352**(8): p. 804-15.
5. Yee, K.W. and S.M. O'Brien, *Chronic lymphocytic leukemia: diagnosis and treatment*. Mayo Clin Proc, 2006. **81**(8): p. 1105-29.
6. Montserrat, E., *New prognostic markers in CLL*. Hematology Am Soc Hematol Educ Program, 2006: p. 279-84.
7. Thomas, R., et al., *Spontaneous clinical regression in chronic lymphocytic leukaemia*. Br J Haematol, 2002. **116**(2): p. 341-5.
8. Mauro, F.R., et al., *Clinical characteristics and outcome of young chronic lymphocytic leukemia patients: a single institution study of 204 cases*. Blood, 1999. **94**(2): p. 448-54.
9. Catovsky, D., J. Fooks, and S. Richards, *Prognostic factors in chronic lymphocytic leukaemia: the importance of age, sex and response to treatment in survival. A report from the MRC CLL 1 trial. MRC Working Party on Leukaemia in Adults*. Br J Haematol, 1989. **72**(2): p. 141-9.
10. Lee, J.S., et al., *Prognosis of chronic lymphocytic leukemia: a multivariate regression analysis of 325 untreated patients*. Blood, 1987. **69**(3): p. 929-36.
11. Montserrat, E., et al., *Lymphocyte doubling time in chronic lymphocytic leukaemia: analysis of its prognostic significance*. Br J Haematol, 1986. **62**(3): p. 567-75.
12. Oscier, D.G., et al., *Multivariate analysis of prognostic factors in CLL: clinical stage, IGVH gene mutational status, and loss or mutation of the p53 gene are independent prognostic factors*. Blood, 2002. **100**(4): p. 1177-84.

13. Damle, R.N., et al., *Ig V gene mutation status and CD38 expression as novel prognostic indicators in chronic lymphocytic leukemia*. Blood, 1999. **94**(6): p. 1840-7.
14. Krober, A., et al., *V(H) mutation status, CD38 expression level, genomic aberrations, and survival in chronic lymphocytic leukemia*. Blood, 2002. **100**(4): p. 1410-6.
15. Del Poeta, G., et al., *Clinical significance of CD38 expression in chronic lymphocytic leukemia*. Blood, 2001. **98**(9): p. 2633-9.
16. Orchard, J.A., et al., *ZAP-70 expression and prognosis in chronic lymphocytic leukaemia*. Lancet, 2004. **363**(9403): p. 105-11.
17. Pangalis, G.A., V.A. Boussiotis, and C. Kittas, *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**(5-6): p. 373-5.
18. Redaelli, A., et al., *Clinical and epidemiologic burden of chronic myelogenous leukemia*. Expert Rev Anticancer Ther, 2004. **4**(1): p. 85-96.
19. *StatBite: Estimated new cases for the four major leukemias, 2008*. J Natl Cancer Inst, 2009. **101**(6): p. 371.
20. Cartwright, R.A., K.A. Gurney, and A.V. Moorman, *Sex ratios and the risks of haematological malignancies*. Br J Haematol, 2002. **118**(4): p. 1071-7.
21. Linet, M.S., et al., *Chronic lymphocytic leukaemia: an overview of aetiology in light of recent developments in classification and pathogenesis*. Br J Haematol, 2007. **139**(5): p. 672-86.
22. Dores, G.M., et al., *Chronic lymphocytic leukaemia and small lymphocytic lymphoma: overview of the descriptive epidemiology*. Br J Haematol, 2007. **139**(5): p. 809-19.
23. Diehl, L.F., L.H. Karnell, and H.R. Menck, *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*. Cancer, 1999. **86**(12): p. 2684-92.
24. Molica, S., *Sex differences in incidence and outcome of chronic lymphocytic leukemia patients*. Leuk Lymphoma, 2006. **47**(8): p. 1477-80.
25. Kristinsson, S.Y., et al., *Improved survival in chronic lymphocytic leukemia in the past decade: a population-based study including 11,179 patients*

- diagnosed between 1973-2003 in Sweden*. Haematologica, 2009. **94**(9): p. 1259-65.
26. Sellick, G.S., D. Catovsky, and R.S. Houlston, *Familial chronic lymphocytic leukemia*. Semin Oncol, 2006. **33**(2): p. 195-201.
 27. Landgren, O., et al., *Respiratory tract infections and subsequent risk of chronic lymphocytic leukemia*. Blood, 2007. **109**(5): p. 2198-201.
 28. Houlston, R.S., D. Catovsky, and M.R. Yuille, *Genetic susceptibility to chronic lymphocytic leukemia*. Leukemia, 2002. **16**(6): p. 1008-14.
 29. Stevenson, F.K. and F. Caligaris-Cappio, *Chronic lymphocytic leukemia: revelations from the B-cell receptor*. Blood, 2004. **103**(12): p. 4389-95.
 30. Ishibe, N., et al., *Clinical characteristics of familial B-CLL in the National Cancer Institute Familial Registry*. Leuk Lymphoma, 2001. **42**(1-2): p. 99-108.
 31. Capalbo, S., et al., *Increased risk of lymphoproliferative disorders in relatives of patients with B-cell chronic lymphocytic leukemia: relevance of the degree of familial linkage*. Eur J Haematol, 2000. **65**(2): p. 114-7.
 32. Wiernik, P.H., et al., *Anticipation in familial chronic lymphocytic leukaemia*. Br J Haematol, 2001. **113**(2): p. 407-14.
 33. Goldin, L.R., et al., *Anticipation in familial chronic lymphocytic leukemia*. Am J Hum Genet, 1999. **65**(1): p. 265-9.
 34. Mauro, F.R., et al., *Clinical features and outcome of familial chronic lymphocytic leukemia*. Haematologica, 2006. **91**(8): p. 1117-20.
 35. Bevan, S., et al., *Linkage analysis for major histocompatibility complex-related genetic susceptibility in familial chronic lymphocytic leukemia*. Blood, 2000. **96**(12): p. 3982-4.
 36. Pritsch, O., et al., *VH gene usage by family members affected with chronic lymphocytic leukaemia*. Br J Haematol, 1999. **107**(3): p. 616-24.
 37. Sakai, A., et al., *Analysis of expressed immunoglobulin heavy chain genes in familial B-CLL*. Blood, 2000. **95**(4): p. 1413-9.
 38. Schaffner, C., et al., *Somatic ATM mutations indicate a pathogenic role of ATM in B-cell chronic lymphocytic leukemia*. Blood, 1999. **94**(2): p. 748-53.
 39. Bullrich, F., et al., *ATM mutations in B-cell chronic lymphocytic leukemia*. Cancer Res, 1999. **59**(1): p. 24-7.
 40. Stankovic, T., et al., *Ataxia telangiectasia mutated-deficient B-cell chronic lymphocytic leukemia occurs in pregerminal center cells and results in*

- defective damage response and unrepaired chromosome damage. Blood, 2002. 99(1): p. 300-9.*
41. Dighiero, G., et al., *What is the CLL B-lymphocyte?* Leuk Lymphoma, 1996. **22 Suppl 2**: p. 13-39.
 42. Brezinschek, H.P., et al., *Analysis of the human VH gene repertoire. Differential effects of selection and somatic hypermutation on human peripheral CD5(+)/IgM+ and CD5(-)/IgM+ B cells.* J Clin Invest, 1997. **99(10)**: p. 2488-501.
 43. Klein, U., et al., *Gene expression profiling of B cell chronic lymphocytic leukemia reveals a homogeneous phenotype related to memory B cells.* J Exp Med, 2001. **194(11)**: p. 1625-38.
 44. Rosenwald, A., et al., *Relation of gene expression phenotype to immunoglobulin mutation genotype in B cell chronic lymphocytic leukemia.* J Exp Med, 2001. **194(11)**: p. 1639-47.
 45. van Oers, M.H., et al., *Expression and release of CD27 in human B-cell malignancies.* Blood, 1993. **82(11)**: p. 3430-6.
 46. Agematsu, K., et al., *CD27: a memory B-cell marker.* Immunol Today, 2000. **21(5)**: p. 204-6.
 47. Klein, U., K. Rajewsky, and R. Kuppers, *Human immunoglobulin (Ig)M+IgD+ peripheral blood B cells expressing the CD27 cell surface antigen carry somatically mutated variable region genes: CD27 as a general marker for somatically mutated (memory) B cells.* J Exp Med, 1998. **188(9)**: p. 1679-89.
 48. Tangye, S.G., et al., *Identification of functional human splenic memory B cells by expression of CD148 and CD27.* J Exp Med, 1998. **188(9)**: p. 1691-703.
 49. Herr, I. and K.M. Debatin, *Cellular stress response and apoptosis in cancer therapy.* Blood, 2001. **98(9)**: p. 2603-14.
 50. Johnstone, R.W., A.A. Ruefli, and S.W. Lowe, *Apoptosis: a link between cancer genetics and chemotherapy.* Cell, 2002. **108(2)**: p. 153-64.
 51. Hanada, M., et al., *bcl-2 gene hypomethylation and high-level expression in B-cell chronic lymphocytic leukemia.* Blood, 1993. **82(6)**: p. 1820-8.
 52. Robertson, L.E., et al., *Bcl-2 expression in chronic lymphocytic leukemia and its correlation with the induction of apoptosis and clinical outcome.* Leukemia, 1996. **10(3)**: p. 456-9.

53. Johnston, J.B., et al., *P53, MDM-2, BAX and BCL-2 and drug resistance in chronic lymphocytic leukemia*. Leuk Lymphoma, 1997. **26**(5-6): p. 435-49.
54. Johnston, J.B., et al., *Role of myeloid cell factor-1 (Mcl-1) in chronic lymphocytic leukemia*. Leuk Lymphoma, 2004. **45**(10): p. 2017-27.
55. Schimmer, A.D., et al., *Bcl-2 and apoptosis in chronic lymphocytic leukemia*. Curr Treat Options Oncol, 2003. **4**(3): p. 211-8.
56. Korsmeyer, S.J., *Bcl-2 initiates a new category of oncogenes: regulators of cell death*. Blood, 1992. **80**(4): p. 879-86.
57. Tsukada, N., et al., *Distinctive features of "nurselike" cells that differentiate in the context of chronic lymphocytic leukemia*. Blood, 2002. **99**(3): p. 1030-7.
58. Pedersen, I.M., et al., *Protection of CLL B cells by a follicular dendritic cell line is dependent on induction of Mcl-1*. Blood, 2002. **100**(5): p. 1795-801.
59. Sole, F., et al., *Cytogenetic studies in seventy-six cases of B-chronic lymphoproliferative disorders*. Cancer Genet Cytogenet, 1997. **93**(2): p. 160-6.
60. Hilgenfeld, E., et al., *Analysis of B-cell neoplasias by spectral karyotyping (SKY)*. Curr Top Microbiol Immunol, 1999. **246**: p. 169-74.
61. Peterson, L.C., et al., *Frequent clonal abnormalities of chromosome band 13q14 in B-cell chronic lymphocytic leukemia: multiple clones, subclones, and nonclonal alterations in 82 midwestern patients*. Genes Chromosomes Cancer, 1992. **4**(4): p. 273-80.
62. Monni, O. and S. Knuutila, *11q deletions in hematological malignancies*. Leuk Lymphoma, 2001. **40**(3-4): p. 259-66.
63. Aalto, Y., et al., *Distinct gene expression profiling in chronic lymphocytic leukemia with 11q23 deletion*. Leukemia, 2001. **15**(11): p. 1721-8.
64. Dierlamm, J., et al., *Genetic abnormalities in chronic lymphocytic leukemia and their clinical and prognostic implications*. Cancer Genet Cytogenet, 1997. **94**(1): p. 27-35.
65. Brynes, R.K., et al., *Trisomy 12 in Richter's transformation of chronic lymphocytic leukemia*. Am J Clin Pathol, 1995. **104**(2): p. 199-203.
66. de Lima, M., et al., *Chronic lymphocytic leukemia in the young patient*. Semin Oncol, 1998. **25**(1): p. 107-16.
67. Shanafelt, T.D., et al., *Narrative review: initial management of newly diagnosed, early-stage chronic lymphocytic leukemia*. Ann Intern Med, 2006. **145**(6): p. 435-47.

68. Feliu, E., et al., *Cytoplasmic inclusions in lymphocytes of chronic lymphocytic leukaemia*. Scand J Haematol, 1983. **31**(5): p. 510-2.
69. Binet, J.L., et al., *Basket cells or shadow cells of Gumprecht: a scanning electron microscope study, and the correlation between percentages of basket cells, and cells with altered chromatin structure (dense cells), in chronic lymphocytic leukemia*. Blood Cells, 1993. **19**(3): p. 573-81; discussion 582-9.
70. Nowakowski, G.S., et al., *Using smudge cells on routine blood smears to predict clinical outcome in chronic lymphocytic leukemia: a universally available prognostic test*. Mayo Clin Proc, 2007. **82**(4): p. 449-53.
71. Rozman, C., et al., *Bone marrow histologic pattern--the best single prognostic parameter in chronic lymphocytic leukemia: a multivariate survival analysis of 329 cases*. Blood, 1984. **64**(3): p. 642-8.
72. Ghia, P. and F. Caligaris-Cappio, *The origin of B-cell chronic lymphocytic leukemia*. Semin Oncol, 2006. **33**(2): p. 150-6.
73. Damle, R.N., et al., *B-cell chronic lymphocytic leukemia cells express a surface membrane phenotype of activated, antigen-experienced B lymphocytes*. Blood, 2002. **99**(11): p. 4087-93.
74. Ranheim, E.A., M.J. Cantwell, and T.J. Kipps, *Expression of CD27 and its ligand, CD70, on chronic lymphocytic leukemia B cells*. Blood, 1995. **85**(12): p. 3556-65.
75. Lin, K., et al., *Relationship between p53 dysfunction, CD38 expression, and IgV(H) mutation in chronic lymphocytic leukemia*. Blood, 2002. **100**(4): p. 1404-9.
76. DiRaimondo, F., et al., *The clinical and diagnostic relevance of CD23 expression in the chronic lymphoproliferative disease*. Cancer, 2002. **94**(6): p. 1721-30.
77. Knauf, W.U., et al., *Serum levels of soluble CD23, but not soluble CD25, predict disease progression in early stage B-cell chronic lymphocytic leukemia*. Leuk Lymphoma, 1997. **27**(5-6): p. 523-32.
78. Alfarano, A., et al., *An alternatively spliced form of CD79b gene may account for altered B-cell receptor expression in B-chronic lymphocytic leukemia*. Blood, 1999. **93**(7): p. 2327-35.

79. Geisler, C.H., et al., *Prognostic importance of flow cytometric immunophenotyping of 540 consecutive patients with B-cell chronic lymphocytic leukemia*. Blood, 1991. **78**(7): p. 1795-802.
80. Ikematsu, W., et al., *Surface phenotype and Ig heavy-chain gene usage in chronic B-cell leukemias: expression of myelomonocytic surface markers in CD5- chronic B-cell leukemia*. Blood, 1994. **83**(9): p. 2602-10.
81. Matutes, E. and A. Polliack, *Morphological and immunophenotypic features of chronic lymphocytic leukemia*. Rev Clin Exp Hematol, 2000. **4**(1): p. 22-47.
82. Bartik, M.M., D. Welker, and N.E. Kay, *Impairments in immune cell function in B cell chronic lymphocytic leukemia*. Semin Oncol, 1998. **25**(1): p. 27-33.
83. Wadhwa, P.D. and V.A. Morrison, *Infectious complications of chronic lymphocytic leukemia*. Semin Oncol, 2006. **33**(2): p. 240-9.
84. Morrison, V.A., et al., *Impact of therapy With chlorambucil, fludarabine, or fludarabine plus chlorambucil on infections in patients with chronic lymphocytic leukemia: Intergroup Study Cancer and Leukemia Group B 9011*. J Clin Oncol, 2001. **19**(16): p. 3611-21.
85. Faderl, S., et al., *The evolving role of alemtuzumab in management of patients with CLL*. Leukemia, 2005. **19**(12): p. 2147-52.
86. Kay, N.E. and R.T. Perri, *Evidence that large granular lymphocytes from B-CLL patients with hypogammaglobulinemia down-regulate B-cell immunoglobulin synthesis*. Blood, 1989. **73**(4): p. 1016-9.
87. Mauro, F.R., et al., *Autoimmune hemolytic anemia in chronic lymphocytic leukemia: clinical, therapeutic, and prognostic features*. Blood, 2000. **95**(9): p. 2786-92.
88. Diehl, L.F. and L.H. Ketchum, *Autoimmune disease and chronic lymphocytic leukemia: autoimmune hemolytic anemia, pure red cell aplasia, and autoimmune thrombocytopenia*. Semin Oncol, 1998. **25**(1): p. 80-97.
89. Hamblin, T.J., *Autoimmune complications of chronic lymphocytic leukemia*. Semin Oncol, 2006. **33**(2): p. 230-9.
90. Moulin, B., et al., *Glomerulonephritis in chronic lymphocytic leukemia and related B-cell lymphomas*. Kidney Int, 1992. **42**(1): p. 127-35.
91. Anhalt, G.J., et al., *Paraneoplastic pemphigus. An autoimmune mucocutaneous disease associated with neoplasia*. N Engl J Med, 1990. **323**(25): p. 1729-35.

92. Binet, J.L., et al., *Perspectives on the use of new diagnostic tools in the treatment of chronic lymphocytic leukemia*. Blood, 2006. **107**(3): p. 859-61.
93. Keating, M.J., et al., *Early results of a chemoimmunotherapy regimen of fludarabine, cyclophosphamide, and rituximab as initial therapy for chronic lymphocytic leukemia*. J Clin Oncol, 2005. **23**(18): p. 4079-88.
94. Wierda, W., et al., *Chemoimmunotherapy with fludarabine, cyclophosphamide, and rituximab for relapsed and refractory chronic lymphocytic leukemia*. J Clin Oncol, 2005. **23**(18): p. 4070-8.
95. Rai, K.R., et al., *Clinical staging of chronic lymphocytic leukemia*. Blood, 1975. **46**(2): p. 219-34.
96. Binet, J.L., et al., *A new prognostic classification of chronic lymphocytic leukemia derived from a multivariate survival analysis*. Cancer, 1981. **48**(1): p. 198-206.
97. Jaksic, B., et al., *High dose chlorambucil versus Binet's modified cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone regimen in the treatment of patients with advanced B-cell chronic lymphocytic leukemia. Results of an international multicenter randomized trial*. International Society for Chemo-Immunotherapy, Vienna. Cancer, 1997. **79**(11): p. 2107-14.
98. Rassenti, L.Z. and T.J. Kipps, *Clinical utility of assessing ZAP-70 and CD38 in chronic lymphocytic leukemia*. Cytometry B Clin Cytom, 2006. **70**(4): p. 209-13.
99. Dighiero, G. and J.L. Binet, *When and how to treat chronic lymphocytic leukemia*. N Engl J Med, 2000. **343**(24): p. 1799-801.
100. Geisler, C.H., P. Philip, and M.M. Hansen, *B-cell chronic lymphocytic leukaemia: clonal chromosome abnormalities and prognosis in 89 cases*. Eur J Haematol, 1989. **43**(5): p. 397-403.
101. Matutes, E., et al., *Trisomy 12 defines a group of CLL with atypical morphology: correlation between cytogenetic, clinical and laboratory features in 544 patients*. Br J Haematol, 1996. **92**(2): p. 382-8.
102. Criel, A., L. Michaux, and C. De Wolf-Peeters, *The concept of typical and atypical chronic lymphocytic leukaemia*. Leuk Lymphoma, 1999. **33**(1-2): p. 33-45.
103. Auer, R.L., et al., *The sequential analysis of trisomy 12 in B-cell chronic lymphocytic leukaemia*. Br J Haematol, 1999. **104**(4): p. 742-4.

104. Oscier, D.G., et al., *Atypical lymphocyte morphology: an adverse prognostic factor for disease progression in stage A CLL independent of trisomy 12*. Br J Haematol, 1997. **98**(4): p. 934-9.
105. Dohner, H., et al., *Genomic aberrations and survival in chronic lymphocytic leukemia*. N Engl J Med, 2000. **343**(26): p. 1910-6.
106. Chevallier, P., et al., *CD38 expression and secondary 17p deletion are important prognostic factors in chronic lymphocytic leukaemia*. Br J Haematol, 2002. **116**(1): p. 142-50.
107. Byrd, J.C., et al., *Select high-risk genetic features predict earlier progression following chemoimmunotherapy with fludarabine and rituximab in chronic lymphocytic leukemia: justification for risk-adapted therapy*. J Clin Oncol, 2006. **24**(3): p. 437-43.
108. Molica, S. and A. Alberti, *Prognostic value of the lymphocyte doubling time in chronic lymphocytic leukemia*. Cancer, 1987. **60**(11): p. 2712-6.
109. Molica, S., et al., *Clinico-prognostic relevance of quantitative immunophenotyping in B-cell chronic lymphocytic leukemia with emphasis on the expression of CD20 antigen and surface immunoglobulins*. Eur J Haematol, 1998. **60**(1): p. 47-52.
110. Ibrahim, S., et al., *CD38 expression as an important prognostic factor in B-cell chronic lymphocytic leukemia*. Blood, 2001. **98**(1): p. 181-6.
111. Apostolopoulos, A., A. Symeonidis, and N. Zoumbos, *Prognostic significance of immune function parameters in patients with chronic lymphocytic leukaemia*. Eur J Haematol, 1990. **44**(1): p. 39-44.
112. Crespo, M., et al., *ZAP-70 expression as a surrogate for immunoglobulin-variable-region mutations in chronic lymphocytic leukemia*. N Engl J Med, 2003. **348**(18): p. 1764-75.
113. Krober, A., et al., *Additional genetic high-risk features such as 11q deletion, 17p deletion, and V3-21 usage characterize discordance of ZAP-70 and VH mutation status in chronic lymphocytic leukemia*. J Clin Oncol, 2006. **24**(6): p. 969-75.
114. Frisch, B. and R. Bartl, *Histologic classification and staging of chronic lymphocytic leukemia. A retrospective and prospective study of 503 cases*. Acta Haematol, 1988. **79**(3): p. 140-52.

115. Oudat, R., et al., *Significance of the levels of bone marrow lymphoid infiltrate in chronic lymphocytic leukemia patients with nodular partial remission.* Leukemia, 2002. **16**(4): p. 632-5.
116. Montserrat, E., et al., *Bone marrow assessment in B-cell chronic lymphocytic leukaemia: aspirate or biopsy? A comparative study in 258 patients.* Br J Haematol, 1996. **93**(1): p. 111-6.
117. Molica, S., et al., *Clinico-prognostic implications of simultaneous increased serum levels of soluble CD23 and beta2-microglobulin in B-cell chronic lymphocytic leukemia.* Eur J Haematol, 1999. **62**(2): p. 117-22.
118. Dighiero, G., et al., *Chlorambucil in indolent chronic lymphocytic leukemia. French Cooperative Group on Chronic Lymphocytic Leukemia.* N Engl J Med, 1998. **338**(21): p. 1506-14.
119. Gribben, J.G., *How I treat CLL up front.* Blood. **115**(2): p. 187-97.
120. Begleiter, A., et al., *Chlorambucil in chronic lymphocytic leukemia: mechanism of action.* Leuk Lymphoma, 1996. **23**(3-4): p. 187-201.
121. Sawitsky, A., et al., *Comparison of daily versus intermittent chlorambucil and prednisone therapy in the treatment of patients with chronic lymphocytic leukemia.* Blood, 1977. **50**(6): p. 1049-59.
122. Montserrat, E. and C. Rozman, *Chronic lymphocytic leukaemia treatment.* Blood Rev, 1993. **7**(3): p. 164-75.
123. Raphael, B., et al., *Comparison of chlorambucil and prednisone versus cyclophosphamide, vincristine, and prednisone as initial treatment for chronic lymphocytic leukemia: long-term follow-up of an Eastern Cooperative Oncology Group randomized clinical trial.* J Clin Oncol, 1991. **9**(5): p. 770-6.
124. *A randomized clinical trial of chlorambucil versus COP in stage B chronic lymphocytic leukemia. The French Cooperative Group on Chronic Lymphocytic Leukemia.* Blood, 1990. **75**(7): p. 1422-5.
125. Montserrat, E., et al., *Treatment of chronic lymphocytic leukemia in advanced stages. A randomized trial comparing chlorambucil plus prednisone versus cyclophosphamide, vincristine, and prednisone.* Cancer, 1985. **56**(10): p. 2369-75.
126. Tallman, M.S. and D. Hakimian, *Purine nucleoside analogs: emerging roles in indolent lymphoproliferative disorders.* Blood, 1995. **86**(7): p. 2463-74.

127. Begleiter, A., et al., *Induction of DNA strand breaks in chronic lymphocytic leukemia following treatment with 2'-deoxycoformycin in vivo and in vitro*. Cancer Res, 1987. **47**(9): p. 2498-503.
128. Begleiter, A., et al., *Comparison of antitumor activities of 2-chlorodeoxyadenosine and 9-beta-arabinosyl-2-fluoroadenine in chronic lymphocytic leukemia and marrow cells in vitro*. Leukemia, 1995. **9**(11): p. 1875-81.
129. Genini, D., et al., *Nucleotide requirements for the in vitro activation of the apoptosis protein-activating factor-1-mediated caspase pathway*. J Biol Chem, 2000. **275**(1): p. 29-34.
130. Dillman, R.O., R. Mick, and O.R. McIntyre, *Pentostatin in chronic lymphocytic leukemia: a phase II trial of Cancer and Leukemia group B*. J Clin Oncol, 1989. **7**(4): p. 433-8.
131. Rossi, J.F., et al., *Efficacy and safety of oral fludarabine phosphate in previously untreated patients with chronic lymphocytic leukemia*. J Clin Oncol, 2004. **22**(7): p. 1260-7.
132. O'Brien, S., et al., *Results of fludarabine and prednisone therapy in 264 patients with chronic lymphocytic leukemia with multivariate analysis-derived prognostic model for response to treatment*. Blood, 1993. **82**(6): p. 1695-700.
133. Johnson, S., et al., *Multicentre prospective randomised trial of fludarabine versus cyclophosphamide, doxorubicin, and prednisone (CAP) for treatment of advanced-stage chronic lymphocytic leukaemia. The French Cooperative Group on CLL*. Lancet, 1996. **347**(9013): p. 1432-8.
134. Rai, K.R., et al., *Fludarabine compared with chlorambucil as primary therapy for chronic lymphocytic leukemia*. N Engl J Med, 2000. **343**(24): p. 1750-7.
135. Catovsky, D., et al., *Assessment of fludarabine plus cyclophosphamide for patients with chronic lymphocytic leukaemia (the LRF CLL4 Trial): a randomised controlled trial*. Lancet, 2007. **370**(9583): p. 230-9.
136. Maloney, D.G., B. Smith, and A. Rose, *Rituximab: mechanism of action and resistance*. Semin Oncol, 2002. **29**(1 Suppl 2): p. 2-9.
137. Byrd, J.C., et al., *The mechanism of tumor cell clearance by rituximab in vivo in patients with B-cell chronic lymphocytic leukemia: evidence of caspase activation and apoptosis induction*. Blood, 2002. **99**(3): p. 1038-43.

138. Manches, O., et al., *In vitro mechanisms of action of rituximab on primary non-Hodgkin lymphomas*. Blood, 2003. **101**(3): p. 949-54.
139. Byrd, J.C., et al., *Rituximab using a thrice weekly dosing schedule in B-cell chronic lymphocytic leukemia and small lymphocytic lymphoma demonstrates clinical activity and acceptable toxicity*. J Clin Oncol, 2001. **19**(8): p. 2153-64.
140. O'Brien, S.M., et al., *Rituximab dose-escalation trial in chronic lymphocytic leukemia*. J Clin Oncol, 2001. **19**(8): p. 2165-70.
141. Schulz, H., et al., *Phase 2 study of a combined immunochemotherapy using rituximab and fludarabine in patients with chronic lymphocytic leukemia*. Blood, 2002. **100**(9): p. 3115-20.
142. Byrd, J.C., et al., *Randomized phase 2 study of fludarabine with concurrent versus sequential treatment with rituximab in symptomatic, untreated patients with B-cell chronic lymphocytic leukemia: results from Cancer and Leukemia Group B 9712 (CALGB 9712)*. Blood, 2003. **101**(1): p. 6-14.
143. Byrd, J.C., et al., *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**(1): p. 49-53.
144. James, D.F. and T.J. Kipps, *Rituximab in chronic lymphocytic leukemia*. Adv Ther. **28**(7): p. 534-54.
145. Keating, M.J., et al., *Therapeutic role of alemtuzumab (Campath-1H) in patients who have failed fludarabine: results of a large international study*. Blood, 2002. **99**(10): p. 3554-61.
146. Kennedy, B., et al., *Campath-1H and fludarabine in combination are highly active in refractory chronic lymphocytic leukemia*. Blood, 2002. **99**(6): p. 2245-7.
147. Elter, T., et al., *Fludarabine in combination with alemtuzumab is effective and feasible in patients with relapsed or refractory B-cell chronic lymphocytic leukemia: results of a phase II trial*. J Clin Oncol, 2005. **23**(28): p. 7024-31.
148. Wierda, W.G., *Current and investigational therapies for patients with CLL*. Hematology Am Soc Hematol Educ Program, 2006: p. 285-94.
149. Moreno, C., et al., *Autoimmune cytopenia in chronic lymphocytic leukemia: prevalence, clinical associations, and prognostic significance*. Blood. **116**(23): p. 4771-6.

150. Visco, C., et al., *Impact of immune thrombocytopenia on the clinical course of chronic lymphocytic leukemia*. Blood, 2008. **111**(3): p. 1110-6.
151. Robak, T., *Second malignancies and Richter's syndrome in patients with chronic lymphocytic leukemia*. Hematology, 2004. **9**(5-6): p. 387-400.
152. Kyasa, M.J., et al., *Veterans with chronic lymphocytic leukemia/small lymphocytic lymphoma (CLL/SLL) have a markedly increased rate of second malignancy, which is the most common cause of death*. Leuk Lymphoma, 2004. **45**(3): p. 507-13.
153. Travis, L.B., et al., *Second cancers in patients with chronic lymphocytic leukemia*. J Natl Cancer Inst, 1992. **84**(18): p. 1422-7.
154. Knospe, W.H., V. Loeb, Jr., and C.M. Huguley, Jr., *Proceedings: Bi-weekly chlorambucil treatment of chronic lymphocytic leukemia*. Cancer, 1974. **33**(2): p. 555-62.
155. Robak, T., et al., *Cladribine with prednisone versus chlorambucil with prednisone as first-line therapy in chronic lymphocytic leukemia: report of a prospective, randomized, multicenter trial*. Blood, 2000. **96**(8): p. 2723-9.
156. Knauf, W.U., et al., *Phase III randomized study of bendamustine compared with chlorambucil in previously untreated patients with chronic lymphocytic leukemia*. J Clin Oncol, 2009. **27**(26): p. 4378-84.
157. Eichhorst, B.F., et al., *First-line therapy with fludarabine compared with chlorambucil does not result in a major benefit for elderly patients with advanced chronic lymphocytic leukemia*. Blood, 2009. **114**(16): p. 3382-91.
158. Robak, T., et al., *Comparison of cladribine plus cyclophosphamide with fludarabine plus cyclophosphamide as first-line therapy for chronic lymphocytic leukemia: a phase III randomized study by the Polish Adult Leukemia Group (PALG-CLL3 Study)*. J Clin Oncol. **28**(11): p. 1863-9.