



T.C.

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ

İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ

İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**KRONİK LENFOSİTER LÖSEMİ OLGULARININ
TANI SIRASINDAKİ T-LENFOSİT ALT GRUPLARININ PROGNOZ ÜZERİNE ETKİSİ**

Dr. Deniz SEYİTHANOĞLU

UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Mustafa Nuri YENEREL

İSTANBUL

2021

TEŞEKKÜR

İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı'nda uzmanlık eğitimine başladığım Eylül 2017'den beri klinisyenlik ve akademisyenlik yolunda bana desteğini esirgemeyen ve bu çalışmanın yapılmasında önemli katkısı olan değerli tez hocam Prof. Dr. Mustafa Nuri YENEREL'e, tezin hazırlanma sürecinde emeği olan Hematoloji Bilim Dalı yan dal uzmanlarına, poliklinik ve laboratuvar personellerine teşekkür ederim.

İç Hastalığı uzmanlık eğitimim süresince eşsiz bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım başta Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Meliha NALÇACI olmak üzere tüm değerli hocalarıma,

Hekimlik hayatımın önemli bir dönemini beraber paylaştığım, iyi ve kötü zamanlarda yanımda olan tüm asistan arkadaşlarıma, sağlık çalışanı dostlarıma,

Hayatımın başlangıcından itibaren bütün zor anlarımda yanımda olmuş ve büyük fedakarlıklarla eğitim ve meslek hayatım boyunca maddi ve manevi olarak bana destek olmuş sevgili anneme, kardeşime, hem insanlık hem hekimlik konusunda bana yol gösterici olmuş ve aynı fakülteden uzmanlık alma onuruna sahip olduğum merhum babama,

Tüm eğitim ve meslek hayatım boyunca bana sabırla katlanan ve güvenen tüm aile fertlerime sonsuz teşekkürü borç bilirim.

Dr. Deniz SEYİTHANOĞLU

İSTANBUL, 2021

ÖZET

Amaç: Bu çalışmada Kronik Lenfositik Lösemi hastalarının tanı anında akım sitometrik incelemelerinde T-lenfosit alt gruplarının prognostik önemini ve sağkalıma etkilerini inceledik.

Metod: İstanbul Tıp Fakültesi Hematoloji Bilim Dalı'nda Eylül 1998 ile Eylül 2019 yılları arasında takip edilmiş, tedavi almamış 83 KLL hastası geriye dönük tarandı. Hastaların tanı sırasındaki akım sitometri testlerindeki T-lenfosit alt grupları yüzdeleri; mutlak sayıları ve malign B-lenfositler (MBC) ile oranları incelendi. Hastaların tanıda klinik ve laboratuvar bulgular, evreleri, prognostik belirteçleri, progresyon ve tedavi durumları, progresyonsuz sağkalım ve genel sağkalım süreleri incelendi. Nicel bağımsız değişkenlerin analizinde Kruskal-Wallis testi ile Mann-Whitney U tesleri, nitel bağımsız değişkenlerin analizinde ki-kare testi kullanıldı. Sağkalım analizlerinde Cox-regresyon ve Kaplan-Meier kullanıldı. p -değeri < 0.05 istatistiksel anlamlı kabul edildi.

Bulgular: Yaş, cinsiyet, modifiye Rai ve Binet evresine göre T-lenfosit parametreleri açısından fark saptanmadı. Beta-2 mikroglobulin > 3.5 mg/L olan hastalarda CD3 yüzdesi ($p: 0.046$) ve CD4 yüzdesi ($p: 0.022$) daha düşük saptandı. Multipl tedavili grupta CD7 yüzdesi ($p: 0.026$), CD4/MBC ($p: 0.033$), CD8/MBC ($p: 0.027$) ve CD7/MBC ($p: 0.036$), tedavisiz gruptan daha düşük saptandı. İlk tedaviye kadarki süre (İTS) ile T-lenfosit alt grupları arasında korelasyon saptanmadı. Progresyonlu hastalarda CD4 yüzdesi ($p: 0.048$), CD7 yüzdesi ($p: 0.020$), CD4/MBC ($p: 0.021$), CD8/MBC ($p: 0.035$) ve CD7/MBC ($p: 0.012$) daha düşük saptandı. Tek değişkenli regresyon modelinde T-lenfosit yüzdeleri ve MBC ile oranları, HLA-DR yüzdesi, evre, Beta-2 mikroglobulin, gammaglobulin ve tedavi durumunun progresyonsuz sağkalım süresi (PSS) üzerine anlamlı etkisi gözlemlendi ($p < 0.05$). Vefat eden hastalarda CD3 yüzdesi ($p: 0.000$), CD4 yüzdesi ($p: 0.001$), CD8 yüzdesi ($p: 0.002$) ve CD7 yüzdesi ($p: 0.004$) daha düşük saptandı. Tek değişkenli regresyon modelinde, T-lenfosit yüzdeleri ve MBC ile oranları, HLA-DR yüzdesi, tanı yaşı, evre ve Beta-2 mikroglobulinin genel sağkalım süresi (GSS) üzerine anlamlı etkisi gözlemlendi ($p < 0.05$). CD3 yüzdesi ≤ 10 , CD4 yüzdesi ≤ 7.5 , CD8 yüzdesi ≤ 6 , CD7 yüzdesi ≤ 18 , CD4/MBC ≤ 0.1 , CD8/MBC ≤ 0.2 ve CD7/MBC ≤ 0.15 olan hastalarda, bu kesim noktaları üzerindeki kıyasla daha kısa PSS ($p < 0.05$) ve daha kısa GSS ($p < 0.05$) gözlemlendi. CD4/CD8 inversiyonu olan ve olmayan hastalar arasında gamma globulin düzeyi, Beta-2 mikroglobulin düzeyi, CD38 yüzdesi, ITS, PSS ve GSS açısından fark saptanmadı.

Sonuç ve Öneriler: Çalışmamızda tanı sırasında düşük T-lenfosit yüzdeleri ve düşük T-lenfosit/MBC oranlarının kötü prognoz, progresif hastalık ve azalmış sağkalım ile ilişkisi olduğu gösterilmiştir. Fakat CD4/CD8 inversiyonu ile progresif hastalık, tedavi süresinde kısalma ve azalmış sağkalım arasında ilişki saptanmamıştır. Tanıda akım sitometride düşük T-lenfosit/malign B-hücre oranı, hızlı KLL progresyonuyla ilişkili olabilir. Naif T-lenfosit ile farklılaşmış T-lenfosit alt gruplarının ve T-lenfosit aktivasyon ile inhibisyon belirteçlerinin değerlendirildiği çalışmalarda, KLL'de T-lenfositlerin prognoz üzerine etkisi daha net anlaşılacaktır.

ABSTRACT

Purpose: The aim of this study was to examine the prognostic significance and effects on survival of T-lymphocyte subgroups in flow cytometry at diagnosis of Chronic Lymphocytic Leukemia patients.

Method: 83 previously untreated CLL patients that were followed between September 1998 and September 2019 at Istanbul University Department of Hematology were enrolled retrospectively into the study. T-Lymphocyte subgroups in flow cytometry during diagnosis were examined; percentages, absolute values and ratios with malignant B-cells (MBC) were calculated. The patients' clinical and laboratory findings, stages, prognostic markers, progression and treatment status, progression free survival and overall survival times were analyzed. Continuous parameters were analyzed with Kruskal-Wallis and Mann-Whitney U tests. Categorical parameters were analyzed using Chi-squared test. Spearman analysis was used for correlation; Cox regression models and Kaplan-Meier tests were used for estimation of survival times. p -value < 0.05 was considered statistically significant.

Results: There was no difference in T-lymphocyte parameters according to age, gender, modified Rai and Binet stage. CD3 percentage ($p: 0.046$) and CD4 percentage ($p: 0.022$) were lower in patients with beta-2 microglobulin > 3.5 mg/L. The CD7 percentage ($p: 0.026$), CD4/MBC ($p: 0.033$), CD8/MBC ($p: 0.027$) and CD7/MBC ($p: 0.036$) were lower in the multiple treatment group compared to the untreated group. No correlation was found between T-lymphocyte subgroups and time to first treatment (TTFT). CD4 percentage ($p: 0.048$), CD7 percentage ($p: 0.020$), CD4/MBC ($p: 0.021$), CD8/MBC ($p: 0.035$) and CD7/MBC ($p: 0.012$) were lower in patients with disease progression. The univariate regression model revealed T-lymphocyte percentages and ratios with MBC, HLA-DR percentage, stage, Beta-2 microglobulin, gamma globulin and treatment status as independent predictors of progression-free survival (PFS) ($p < 0.05$). CD3 percentage ($p: 0.000$), CD4 percentage ($p: 0.001$), CD8 percentage ($p: 0.002$) and CD7 percentage ($p: 0.004$) were lower in deceased patients. The univariate regression model revealed T-lymphocyte percentages and ratios with MBC, HLA-DR percentage, age, stage and Beta-2 microglobulin as independent predictors of overall survival (OS) ($p < 0.05$). Patients with CD3 percentage ≤ 10 , CD4 percentage ≤ 7.5 , CD8 percentage ≤ 6 , CD7 percentage ≤ 18 , CD4/MBC ≤ 0.1 , CD8/MBC ≤ 0.2 , and CD7/MBC ≤ 0.15 had shorter PFS ($p < 0.05$) and shorter OS ($p < 0.05$) than patients with values above these cut-off points. No significant difference was found between patients with and without CD4/CD8 inversion in terms of gamma globulin level, Beta-2 microglobulin level, CD38 percentage, TTFT, PFS and OS.

Conclusion: Our study has shown that low T-lymphocyte percentages and low T-lymphocyte/MBC ratios at diagnosis are associated with poor prognosis, progressive disease and decreased survival. However, no association was found between CD4/CD8 inversion and progression, treatment time, and survival. Low T-lymphocyte/malignant B-cell ratios at diagnosis may be related with rapid CLL progression. Studies evaluating naive T-lymphocyte and differentiated T-lymphocyte subgroups, together with T-lymphocyte activation-inhibition markers would show the role of T-lymphocytes on CLL prognosis more clearly.

İÇİNDEKİLER

KAPAK.....	1
TEŞEKKÜR.....	2
ÖZET	3
ABSTRACT.....	4
İÇİNDEKİLER	5
KISALTMALAR	6
1.GİRİŞ VE AMAÇ	7
2.GENEL BİLGİLER.....	8-41
2.1 KLL TANIMI, EPİDEMİYOLOJİSİ VE RİSK FAKTÖRLERİ.....	8
2.2 KLL PATOGENEZİ, KROMOZOMAL VE SİTOGENETİK BOZUKLUKLAR	9-11
2.3 KLL'DE KLİNİK BULGULAR VE KOMPLİKASYONLAR	12-15
2.4 KLL TANISI	16-18
2.5 KLL'DE EVRELEME	19-20
2.6 KLL'DE PROGNOTİK FAKTÖRLER	21-24
2.7 KLL TEDAVİSİ VE İZLEMİ	25-33
2.8 KLL'DE T-LENFOSİTLERİN ROLÜ	34-40
3.MATERYAL VE METOD.....	41
4.BULGULAR.....	42
4.1 HASTALARIN TANI SIRASINDAKİ DEMOGRAFİK, KLİNİK VE LABORATUVAR ÖZELLİKLERİ.....	42-43
4.2 HASTALARIN TANI SIRASINDAKİ KROMOZOMAL VE SİTOGENETİK ÖZELLİKLERİ	44
4.3 HASTALARIN KLİNİK SEYRİ SIRASINDAKİ PROGRESYON, TEDAVİ VE SAĞKALIM ÖZELLİKLERİ	45-46
4.4 HASTALARIN KLİNİK SEYRİ SIRASINDAKİ KOMPLİKASYONLARI VE İKİNCİL MALİGNİTELER	47
4.5 HASTALARIN TANI SIRASINDAKİ AKIM SİTOMETRİ SONUÇLARI	48-49
4.6 T-LENFOSİT ALT GRUPLARI VE BETA-2 MİKROGLOBULİN	50
4.7 T-LENFOSİT ALT GRUPLARI VE TEDAVİ	51
4.8 PROGRESYON ANALİZLERİ	52-53
4.9 SAĞKALIM ANALİZLERİ	54-56
4.10 REGRESYON ANALİZLERİ	57-58
4.11 KAPLAN-MEİER ANALİZLERİ	59-63
4.12 CD4/CD8 İNVERSİYONUNA GÖRE HASTALARIN ANALİZİ.....	63
5.TARTIŞMA	64-69
6.SONUÇ VE ÖNERİLER	70-71
7.KAYNAKÇA	72-87

KISALTMALAR

ATM: Ataksi-Telenjektazi Mutantı	Reseptör G1
BAK: BCR ilişkili kinazlar	KR: Kısmi remisyon
BCL: B-hücre ligandı	LAG-3: Lenfosit Aktivasyon Geni 3
BCR: B-hücre reseptörü	LAP: Lenfadenopati
BR: Bendamustin+ritüksimab	LDH: Laktat dehidrogenaz
BT: Bilgisayarlı tomografi	LDT: Lökosit ikilenme zamanı
BTK: Bruton tirozin kinaz	MAPK: Mitojen aktive protein kinaz
CAR: Şimerik antijen reseptörleri	MBL: Monoklonal B-lenfositöz
CD: Cluster of differentiation	miR: Mikro RNA
CIRS: Kümülatif Hastalık Evreleme Ölçeği	MRH: Minimal residüel hastalık
CLL-IPI: KLL Uluslararası Prognoz İndeksi	NEU: Nötrofil
CMV: Sitomegalovirüs	NK: Doğal katil
CTLA-4: Sitotoksik T-lenfosit ilişkili protein 4	OİHA: Otoimmün Hemolitik Anemi
DBBHL: Diffüz büyük B-hücreli lenfoma	PD-1: Programlanmış ölüm-1 yolağı
DNA: Deoksiribonükleik asit	PH: Progresif hastalık
EBV: Epstein-Barr virüs	PI3K: Sınıf I fosfatidilinositol 3-kinaz
ECOG: Doğu Kooperatif Onkoloji Grubu	PLT: Trombosit
EPO: Eritropoetin	PSS: Progresyonsuz sağkalım süresi
FCR: Fludarabin+siklofosfamid+ritüksimab	RB: Retinoblastoma
FDG PET/BT: florodeoksiglukoz pozitron emisyon tomografisi	RH: Refrakter hastalık
FISH: Floresans in situ hibridizasyon	RNA: Ribonükleik asit
GSS: Genel sağkalım süresi	RS: Richter Sendromu
Hgb: Hemoglobin	SH: Stabil hastalık
HL: Hodgkin lenfoma	SLEC: Kısa ömürlü efektör hücreler
HLA: İnsan Lökosit Antijeni	TCR: T-hücre reseptörleri
HPKH: Hematopoetik kök hücreler	Tfh: Folliküler yardımcı T-lenfositler
HSM: Hepatosplenomegali	TGF: Transforming büyüme faktörü
IFN-γ: İnterferon gamma	Th: T helper (yardımcı) lenfositler
Ig: İmmüoglobulin	TIM-3: T-hücre İmmüoglobulin Musin 3
IGHV: Ağır zincir immüoglobulin değişken bölge	TLS: Tümör lizis sendromu
IL: İnterlökin	TM: Hafıza hücreleri
ITIM: İmmünoresptör tirozin-kökenli inhibitör motif	TNF: Tümör nekroz faktörü
İTP: İmmün Trombositopeni	TP53: Tümör protein 53
İTS: İlk tedaviye kadarki süre	T-PLL: T-hücreli prolenfositik lösemi
iwCLL: KLL Uluslararası Çalışma Grubu	TR: Tam remisyon
KHLL: Küçük hücreli lenfositik lenfoma	Treg: Düzenleyici T lenfositler
KLL: Kronik lenfositik lösemi	TTFT: İlk tedaviye kadarki süre
KLRG1: Doğal Katil Hücre Lektin Benzeri	WBC: Beyaz kan hücreleri
	WHO: Dünya Sağlık Örgütü
	ZAP-70: Zeta zincir ilişkili protein kinaz 70

1 – GİRİŞ VE AMAÇ

Kronik lenfositik lösemi (KLL), erişkin yaşta en sık görülen lösemi türüdür. Hastalığın patofizyolojisinin temelinde olgun B-lenfositlerin klonal proliferasyonu sonucu çevre kanı, lenf düğümleri, dalak ve kemik iliğinde birikimi yer almaktadır. Hastalığın prognozunu gösteren çeşitli immünolojik ve genetik faktörler mevcut olup, kötü prognozla ilişkili olan IGHV mutasyonu olmaması, 11q ve 17p kromozom delesyonları, CD38 pozitifliği, ZAP-70 ve Beta-2 mikroglobulin yüksekliğidir. İmmünpatogeneizde lösemik hücrelerin sağkalımını sağlayan immünotoleran makrofajlar ve T-lenfositlerden oluşan mikro çevrenin prognoza etkisi olduğu kabul edilmektedir. Bu hücrelerden salınan sağkalım ve proliferasyon ilişkili sinyal yollarını aktive eden sitokinler, lösemik hücrelerin çoğalması ve immünsistemden korunmasına yardımcı olmaktadır.

Literatürde yer alan çeşitli çalışmalarda, KLL hastalarında hem CD4 pozitif, hem CD8 pozitif T-lenfosit sayılarında artış bildirilmiştir. Yine KLL hastalarında T-lenfosit işlevleri üzerinde yapılmış çalışmalarda, T-lenfositlerinin sayısında artış olsa da immünolojik açıdan işlevsiz oldukları gösterilmiştir. Ayrıca CD4/CD8 lenfosit oranının tersine dönmesi de (<1 olması), kötü prognozla ilişkilendirilmiştir.

Periferik kanda olgun küçük lenfositlerin 5000/mm³ üzerinde olması KLL tanısı için önemlidir. Kesin tanı için sayıca artmış olan lenfositlerin yüzeylerinde akım sitometrik incelemeyle CD19, CD20 ve CD23 yanında B lenfosit belirteci olan CD5'i taşıdıklarının gösterilmesi yeterlidir. Hastalığın evrelemesi, klinik semptomlar, lenfadenomegali, organomegali, anemi ve trombositopeni varlığı dikkate alınarak Rai ve Binet evreme sistemleriyle yapılmaktadır. Bu evreleme sistemlerine ek olarak takip ve tedavide yardımcı olmak amacıyla çeşitli prognostik gruplar da oluşturulmuştur. Tanı sırasında çevre kanı akım sitometrik incelemesinde CD4 ve CD8 T lenfosit yüzde ve sayılarının da tanı sırasında prognoz göstergesi olarak yol gösterici olabilir.

Bu çalışmayla İstanbul Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Hematoloji Polikliniği'nden takipli Kronik Lenfositik Lösemi hastalarının tanı anında akım sitometrik incelemelerde T-lenfosit alt gruplarının oran ve sayılarının, tanı sırasındaki hastalık evresi, prognoz belirteçleri, progresyon durumu ve tedavi durumu ile ilişkisini ve sağkalım sürelerine olan etkilerini ortaya koymayı amaçladık.

2 - GENEL BİLGİLER

2.1 - KLL TANIMI, EPİDEMİYOLOJİSİ VE RİSK FAKTÖRLERİ

2.1.1-KLL Tanımı

Kronik lenfositik lösemi, olgun B-lenfositlerin klonal proliferasyonu sonucu kan, lenf düğümleri, dalak ve kemik iliğinde birikimiyle kendini gösteren kronik seyirli bir lenfoproliferatif hastalıktır.(1) Hastalığın sadece lenf düğümü ile sınırlı olan şekli küçük hücreli lenfositik lenfoma (KHLL) olarak adlandırılmaktadır.(2) Günümüzde KLL denildiğinde B hücreli lenfoproliferatif hastalık düşünülmektedir. Eskiden T hücreli KLL olarak adlandırılan olgular artık T hücreli prolenfositik lösemi (T-PLL) olarak tanımlanmaktadır.(2)

2.1.2-KLL Epidemiyolojisi

KLL, günümüzde batı ülkelerinde en yaygın görülen lösemi türüdür ve bütün lösemilerin yaklaşık %25-30'unu oluşturmaktadır.(1) Amerika Birleşik Devletleri'nde görülme sıklığı 100.000'de 4.1 olarak bildirilmektedir.(3) KLL, daha çok yaşlı nüfusta görülen bir hastalıktır ve ortalama tanı yaşı 65 olarak bildirilmektedir.(1) Erkeklerde, kadınlara göre 1.5-2 kat daha fazla görülmektedir.(1) Türkiye'de ülke çapında yapılmış epidemiyolojik bir çalışma yoktur. Literatürde İstanbul'da tek bir merkezden bildirilen 200 hastalık bir seride erkek/kadın hasta oranı 1.82, tanıda ortalama yaş 63 bulunmuştur.(4)

2.1.3-KLL'de Risk Faktörleri ve Ailesel Yatkınlık

KLL gelişiminde şu zamana kadar kanıtlanmış bir çevresel risk faktörü yoktur.(1) Fakat genetik faktörler ve ailesel yatkınlığın hastalığın gelişinde önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir. Uzakdoğu Asya ülkelerinde ve bu bölgeden göç etmiş hastalarda KLL'nin nadir görülmesi etiyolojide çevresel faktörlerden çok, genetik yatkınlığın rol oynadığını düşündürmektedir.(5, 6) Yine bazı epidemiyolojik çalışmalarda aynı ailede iki ya da daha fazla bireyde KLL ve diğer lenfoproliferatif hastalıkların görülme oranının % 5-10 arası olduğunu gösterilmiştir.(7-9) Birinci derece akrabasında KLL saptanan bir bireyde hastalık gelişim riski, genel topluma kıyasla iki ile yedi kat daha yüksektir.(10) Ailede KLL hastası olan kişilerde erken yaşta KLL gelişimi ve daha kötü prognoz görülür.(9, 11-13)

2.2 - KLL PATOGENEZİ, KROMOZOMAL VE SİTOGENETİK BOZUKLUKLAR

2.2.1-KLL Patogenezindeki Biyolojik Özellikler

KLL'nin olgun B lenfositlerden köken alması en önemli biyolojik özelliğidir.(14) Fakat KLL'de de diğer hematopoetik kök hücre (HPKH) hastalıkları gibi, klonal B hücre proliferasyon kapasitesinin HPKH evresinde geliştiği ve lösemik dönüşümde multipotent HPKH'lerin rol aldığına dair bulgular vardır.(14) Çoğu KLL hastasında, tanı öncesi monoklonal B-lenfositoz (MBL) tablosu görülmektedir.(15) MBL, klonal B hücrelerinin proliferasyonu ile karakterize, lenfosit sayısının < 5000/mikrolitre olduğu, KLL'ye dönüşme riski olan asemptomatik bir tablodur.(16) KLL'de çoğu zaman monoklonal B-lenfosit proliferasyonu olsa da, hem KLL hem MBL hastalarının dolaşımında oligoklonal B lenfositler de saptanmaktadır.(14) Bu hücrelerin varlığı da KLL gelişiminde ilk onkojenik olayın progenitör ya da HPKH evresinde meydana geldiği tezini desteklemektedir.(14)

KLL'de olgun B-lenfositlerin malign özellik kazanmasında, B-hücre reseptörü (BCR) yolu önemli bir rol oynamaktadır. BCR yolu, olgun B lenfositlerin üretimi, farklılaşması ve apoptozundan sorumludur. KLL'de BCR reseptörlerindeki yapısal benzerlik, bu hücrelerin lösemik transformasyon öncesi ortak bir antijenle tetiklenmiş klonal seleksiyona uğrayarak patojenite kazandığı hipotezini doğrulamıştır.(17) KLL hücrelerindeki BCR'lerin otoreaktivite göstermesi de, malign dönüşümün vücuttaki otoantijenler aracılığıyla olduğunu ve KLL hücrelerinin self-reaktif B-lenfosit öncülleri olabileceğini düşündürmektedir.(18) KLL'deki malign B lenfositlerin hayatlarını devam ettirmede, immüntoleran makrofajlar ve T-lenfositlerden oluşan mikroçevre de önemlidir.(19-21) Vücuttaki immün sistem elemanları tarafından salınan kemokinler, sitokinler ve anjiojenik faktörler, KLL hücrelerinin yüzey reseptörleriyle ve adezyon molekülleriyle etkileşerek, hücrelerin sağkalımı ve proliferasyonu ile ilişkili sinyal yollarının uyarır.(21-23) Bu nedenle KLL tedavisinde özellikle gereksiz yere aktive olan sinyal yolları baskılayıcı ilaçlar üzerine çalışılmaktadır.(2)

2.2.2-KLL Patogenezindeki Genetik Özellikler

Genetik ve kromozomal testlerin yaygınlaşmasıyla birlikte, KLL'de patogenez ve prognoz açısından önemli bir çok genetik değişiklik saptanmıştır. Büyük hasta grupları ile yapılan çalışmalarda del (13q14), del (11q), del (17p) ve Trizomi 12 gibi kromozomal anomalileri ile sitogenetik mutasyonların, lösemik dönüşümünde ve mevcut hastalığın seyrinin kötüleşmesinde rol oynadıkları saptanmıştır.(24) KLL hastaların yarısından fazlasında en az bir tane kromozomal bozukluk vardır; % 20 hastada iki, % 10 hastada ikiden fazla kromozomal bozukluk olduğu bildirilmiştir.(25-27) Bu kromozomal bozukluklar arasında iyi prognoz ile ilişkili olduğu saptanan izole 13q delesyonu dışında,

diğer kromozomal bozuklukların hepsi tedaviye direnç, hastalık progresyonu ve kötü sonlanım ile ilişkili bulunmuştur.(25) Bu kromozomal bozukluklara ek olarak sık görülen 44 gen mutasyonu ve 11 somatik kopya numara varyasyonu da tanımlanmıştır.(24) Günümüzde bu kromozomal anomaliler ve genetik mutasyonlar, KLL’de bağımsız prognoz göstergeleri olarak kullanılmaktadır.(25)

2.2.3-Kromozomal Anomaliler

KLL hastalarında en sık görülen kromozomal bozukluk, hastaların %55’inde görülen 13. kromozomun uzun kolunda 13q14 bandını içeren delesyonlardır.(2) 13q14 bandındaki miR-15a ve 16-1’in kodlandığı bölgenin delesyonu, anti-apoptotik BCL-2 ekspresyonunu arttırarak MBL, KLL ve lenfoma gelişiminden sorumludur.(28, 29) KLL hastalarında tek başına del(13q14) bulunması, iyi prognozla ilişkilendirilmiştir.(2) Tanımlanan bir diğer kromozomal anomali 11. kromozomun uzun kol delesyonu, erken evre hastalarının % 19.7’sinde, tedavi almamış ileri evre hastaların ise % 25’inde görülür.(17, 30) Delesyonlar, proksimal DNA hasar cevap kinazlarını kodlayan ATM genini kapsayacak şekilde 11q23 bandına kadar uzanır.(2) Del(11q) taşıyan hastalarda büyük lenfadenopatiler, artmış hastalık progresyon hızı ve azalmış genel sağkalım görülür.(31) 17. kromozomun kısa kolundaki delesyonlar, tedavi almamış hastaların % 5 ile 8’i arasında görülür.(2) Delesyonlar, çoğunlukla tümör süpresör gen TP53’ün bulunduğu 17p13 bandını kapsar; ayrıca birçok hastada geride kalan TP53 allelinde de mutasyon vardır.(32) Bu mutasyonlar, TP53’ün tümör süpresör fonksiyonunu azaltır.(33) KLL hastalarının % 4 ile % 37’sinde görülen TP53 mutasyonları, del(17p) olmadan da kemoterapiye azalmış yanıt ve azalmış sağkalım ile ilişkilidir.(34) KLL hastalarının % 10-20’si arasında görülen Trizomi 12’nin hastalık gelişimine ve prognoza etkisi halen tartışmalıdır.(35) Fakat trizomi 12’li KLL hastalarında Richter sendromuna progresyon riskinin daha yüksek olduğu bildirilmiştir.(36)

2.2.4-Sitogenetik Anomaliler

KLL hastalıklarında kromozomal bozukluklara ek olarak HPKH evresinde geliştiği düşünülen ve lösemi dönüşümüne zemin hazırlayan çeşitli sitogenetik anomaliler mevcuttur.(37) Sık görülen sitogenetik bozukluklar arasında NOTCH1, MYD88, TP53, ATM, SF3B1, FBXW7, POT1, CHD2, RPS15, IKZF3, ZNF292, ZMYM3, ARID1A ve PTPN11 genleri vardır.(24, 30, 38) Bu genlerin çoğu RNA işlenmesi, MYC aktivitesi ve MAPK gibi sinyal yolları ile ilişkilidir.(24) Ayrıca bu genler DNA hasar sinyali ve DNA onarımında rol alan proteinlerin sentezini de kontrol etmektedir.(39) Genetik mutasyonlar arasından en sık mutasyon, KLL hastalarının %10-15’inde görülen SF3B1 gen mutasyonudur.(30, 40) SF3B1 gen mutasyonu, KLL hücrelerinde alternatif splicing ile RNA

değişimlerini indükler ve KLL ilişkili sinyal yolları indükler.(41) del(17p) ile çoğu zaman beraber görülen TP53 gen mutasyonu ve del(11q) ile görülen ATM'deki inaktive edici mutasyonlar, sitostatik kemoterapilere dirençli KLL hastalarında sıklıkla görülen ve kötü prognoz ile ilişkili mutasyonlardır.(30) İzole del (13q14), iyi prognozla ilişkili olmasına rağmen, retinoblastoma (RB1) gen mutasyonlarının varlığında, hastalık progresyon hızı artar.(42) KLL hastalarının % 10'unda görülen NOTCH1 mutasyonlarını taşıyan hastaların % 40'ında aynı zamanda görülen Trizomi 12 de azalmış sağkalım ile ilişkilidir.(24, 43) NOTCH1 mutasyon taşımayan KLL hastaların HPKH'lerinde de NOTCH1 geninde aşırı aktivasyon görülmesi, bu genin lösemi gelişiminde önemli olduğunun göstermektedir.(44)

2.2.5-IGHV Mutasyonu

KLL hücreleri, diğer olgun B-lenfositler gibi hücre yüzeylerinde immünoglobulin (Ig) genlerinden kodlanan B-hücre reseptörü (BCR) eksprese ederler.(45) Ağır zincir immünoglobulin değişken bölge (IGHV) genindeki somatik hipermutasyonları, immünoglobulin çeşitliliğini sağlamak amacıyla B-lenfosit olgunlaşması sırasında meydana gelen fizyolojik bir süreçtir.(33) IGHV gen mutasyonu, ileri derecede farklılaşmış B-lenfositlerde görülür. IGHV gen mutasyonu taşımayan KLL hastalarında (IGHV-mutasyonsuz KLL) prognoz daha kötüdür.(46) Bu hastalarda artmış BCR sinyalizasyonuna bağlı lösemik hücre proliferasyonu olduğu düşünülmektedir.(33)

2.3 – KLL’DE KLİNİK BULGULAR VE KOMPLİKASYONLAR

2.3.1-KLL’nin Klinik Semptomları ve Bulguları

KLL tanısı, çocuklukla şikayeti olmayan hastaların rutin kan sayımında lenfositoz görülmesiyle koyulur. Fakat bazı hastalar, lösemik hücrelerin kanda hızlı çoğalması ve kemik iliği infiltrasyonu nedeniyle halsizlik, efor dispnesi ve azalmış egzersiz kapasitesi gibi progresif anemi bulguları ile başvurur.(45) Bazı hastalarda lenfoid doku infiltrasyonuna bağlı olarak lenf düğümleri, dalak ve karaciğerde büyüme olur; ateş, gece terlemesi ve kilo kaybı gibi B semptomları KLL için önemli ip uçlarıdır.(45) Asemptomatik hastalar dahil neredeyse bütün KLL hastalarında lösemik hücrelerin kemik iliği infiltrasyonu görülebilir; kemik iliği aynı zamanda relapsların köken aldığı bölgedir.(1) İleri evre hastalarda kemik iliği infiltrasyonunun neden olduğu anemi bağlı halsizlik ve egzersiz intoleransı görülür; fakat trombositopeni ve kanama nadirdir.(45) KLL hastalarında, myeloid lösemilerden farklı olarak yüksek mutlak lenfosit sayıları lökosta neden olmamakta ve prognostik önem taşımamaktadır.(47) Çalışmalarda mutlak lenfosit sayısı < 30.000 mm³’ten olan erken evre hastalarda sağkalım süresi, aynı yaş ve cinsiyetteki sağlıklı kontrollere benzer bulunmuştur.(48)

2.3.2-KLL’de Enfeksiyonlar

Enfeksiyonlar, KLL’deki en sık komplikasyon ve ölüm sebebidir.(45) KLL’de hücrel ve humoral immün sistemde bozukluk enfeksiyonlara yatkınlık oluşturur; ayrıca kemoterapi ajanları bu bozuklukları ağırlaştırır kalıcı hale getirir.(45) Erken evre KLL hastalarında kan immünoglobulin seviyeleri ve T lenfosit sayısı yükselmiş iken, ilerleyen evrelerde tükenmişlik görülmektedir.(49) KLL hastaların en az % 60’ında görülen hipogammaglobulinemi, hastalığın erken döneminde ve ek hastalıklar olmadan bile tekrarlayıcı ve ağır enfeksiyonlara karşı konağı savunmasız kılar.(50)

KLL’de en sık görülen enfeksiyonlar, üst ve alt solunum yolunun ve üriner sistemin bakteriyel enfeksiyonlarıdır; ayrıca herpes zoster enfeksiyonu gibi viral reaktivasyonlar da görülmektedir.(45) KLL’deki tedavi rejimlerine göre de karşılaşılan enfeksiyon etkenleri farklıdır. Alkilleyici ajanlara bağlı kemik iliği süpresyonu, temel etkenlerin *S. aureus*, *S. pneumoniae*, *H. influenzae* ve *Klebsiella pneumoniae* olduğu pnömonilere, üriner sistem enfeksiyonlarına ve bakteriyemilere neden olur.(51) DNA sentezini etkileyen pürin analoglarının lenfosit, ve monositleri tükenmesi sonucu hücre içi fırsatçı enfeksiyon etkenleri (*Listeria*, *Mycobacterium ailesi*, *P. jirovecii*, HSV, VZV, *Candida*, *Aspergillus*, *Cryptococcus*) ile karşılaşılır.(51) Anti-CD20 antikoru, B hücrelerini yıkarak HBV, JC virüs ve CMV gibi viral enfeksiyonlara yatkınlık oluşturur; özellikle HBV reaktivasyonu riski nedeniyle ritüksimab tedavisi öncesi hastaların viral serolojilerinin çalışılması, gereklilik halinde HBV aşılması ve profilaksisi

yapılmalıdır.(51, 52) Anti-CD52 antikoru alemtuzumab ile CMV enfeksiyonlarına yatkınlık olması nedeniyle bu tedaviyi alan hastalara CMV profilaksisi yapılmalıdır.(51) KLL hastalarında enfeksiyon etkenlerine karşı koruma amacıyla *S. pneumoniae* ve *H. influenzae* aşılması önerilir; aşılamanın tedavi öncesi ve hipogammaglobulinemi gelişmeden yapılması, aşının etkinliğini arttırır.(53-56) Canlı aşılar ölümcül enfeksiyonlara neden olabilecekleri için kontrendikedir.(57) KLL hastalarında IVIG tedavisiyle bakteriyel enfeksiyon oranı azalsa da genel sağkalım değişmemektedir.(51, 57) Fakat şiddetli hipogammaglobulinemisi ve ya tekrarlayan bakteriyel enfeksiyon öyküsü olan hastalarına profilaktik IVIG tedavisi önerilir.(51)

2.3.3-KLL’de Otoimmün Komplikasyonlar

KLL hastalarında hematolojik otoimmün komplikasyonlar sıktır.(58) Otoimmün hemolitik anemi (OİHA), bütün hastaların %10-25’inde görülen, en sık otoimmün komplikasyondur; ikinci sıklıkta immün trombositopeni (İTP) (% 1-5), daha nadir olarak saf eritrosit aplazisi (< %1) ve otoimmün nötropeni (%0.2) görülür.(45, 59) Otoimmün komplikasyonların büyük bir kısmı, lösemik olmayan poliklonal B-lenfositlerden salınan, eritrosit, trombosit ve granülositlerin yüzeyinde bulunan antijenlere karşı oluşturulmuş yüksek afiniteli immünoglobulin G (IgG) tipi otoantikordardan kaynaklanır.(58, 60, 61) Fakat nadiren lösemik B-lenfosit klonlarından salınan immünoglobulin M (IgM) tipi otoantikordlar da görülür.(62) Otoimmün komplikasyonlarda T-lenfositlerinin yüzölçümünde hatalı ekspresyonlar sonucu immün yanıtta bozulma ve T-lenfosit dengesinin T-helper (Th2) lehine kaydığı bilinmektedir.(63) Ayrıca KLL hastalarında T-regülatör (Treg) hücrelerinin sayısında ve serum IL-4, IL-6 ve IL-10 gibi immünmodülatör sitokinlerde artış, lösemik hücrelere yetersiz immün yanıt ve artmış otoimmünitede ile ilişkilidir.(63) Lösemik B-hücrelerin antijen sunumunun da otoreaktif T-lenfosit çoğalmasına katkısı olduğu düşünülmektedir.(63)

Otoimmün komplikasyonların, KLL’de ileri hastalık evresi ve kötü prognoz özellikleriyle ilişkisi saptansa da genel sağkalıma doğrudan etkisi gösterilmemiştir.(63) KLL hastalarında otoimmün komplikasyon tanısı konulmadan önce sitotoksik ajanlar ve diğer ilaçlarla ilişkili sitopeniler, kronik inflamasyon, viral enfeksiyonlar, lenfadenopati ve splenomegali gibi progresyon bulguları, vitamin eksiklikleri ve gizli kan kayıpları, böbrek yetmezliği ve kemik iliği tutulumu gibi diğer sitopeni nedenlerinin dışlanmalıdır.(63)

Tablo 1 - KLL'deki Otoimmün Komplikasyonların Tanısal Özellikleri

Otoimmün Hemolitik Anemi (OİHA)	
- Son bir ay içinde sitotoksik tedavi görmemiş hastada, başka etiyolojiyle açıklanamayan Hgb $\leq$ 11 g/dL - Otoimmünite kanıtı (direkt antiglobulin testinde IgG ya da C3 pozitif sonuç, soğuk aglütinin varlığı, geç hemolitik transfüzyon reaksiyonu gibi alternatif tanıların dışlanmış olması) - Hemolizi gösteren en az bir tane laboratuvar bulgusu (yüksek retikülosit sayısı, düşük haptoglobulin seviyesi, LDH ve/ya bilirubin seviyelerinde artış)	
Sıcak Antikorlu OİHA	Soğuk Antikorlu OİHA (Soğuk Aglütinin Hastalığı)
- Daha sık - In vitro ortamda 37 °C'de eritrositlere bağlanan IgG tipi antikorlar	- Daha nadir - In vitro ortamda 4 °C'de eritrositlere bağlanan IgM tipi antikorlar
İmmün Trombositopeni (İTP)	
- Trombosit sayısında başka bir nedenle açıklanamayan ve ani düşüş (PLT $< 100 \times 10^9/L$), kemik iliği biyopsisinin normal olması (megakaryosit sayısının normal ya da artmış olması) - Son bir ay içinde sitotoksik tedavi görmemiş olmak - Splenomegali olmaması - Diğer trombositopeni nedenlerinin dışlanması (ilaç ilişkili trombositopeni, enfeksiyonlar, trombotik trombositopenik purpura, dissemine intravasküler koagülasyon gibi)	
Saf Eritrosit Aplazisi	
- Hemoliz bulgusu olmadan Hgb ≤ 11 g/dL - Mutlak retikülositopeni (trombositopeni ve nötropeni olmadan) - Diğer eritrosit aplazisi nedenlerinin dışlanması (parvovirüs B19 ya da CMV gibi viral enfeksiyonlar, timoma)	
Otoimmün Nötropeni	
- Son iki ay içinde sitotoksik tedavi görmemiş hastada NEU $< 0.5 \times 10^9/L$ - Kemik iliği biyopsisinde granülosit öncüllerinin yokluğu	

Kaynak: Vitale C, Montalbano MC, Salvetti C, Boccillato E, Griggio V, Boccadoro M, et al. Autoimmune Complications in Chronic Lymphocytic Leukemia in the Era of Targeted Drugs. Cancers (Basel). 2020;12(2). Epub 2020/01/26. doi: 10.3390/cancers12020282.

Otoimmün komplikasyonların tedavisinde ilk aşamada kortikosteroidler tek başına ya da anti-CD20 monoklonal antikor ritüksimab ile beraber kullanılabilir; OİHA için ikinci sıra tedavi seçenekleri arasında ritüksimab, splenektomi, IVIG tedavisi ve/ya immünsüpresif ilaçlar (azatiopürin, düşük doz siklofosamid, alemtuzumab) bulunur.(64-67) Kortikosteroid tedavisine yanıtız İTP hastalarında ritüksimab, immünsüpresif ajanlar (mikofenolat) ve/ya trombopoetin analogları kullanılabilir.(68) Bu tedavilere yanıtız hastalarda KLL tedavi rejimlerine geçilmelidir.(69) Rai ve Binet evreleme sistemleri, otoimmün sitopeniler ile kemik iliği infiltrasyonuna bağlı sitopeniler arasında ayırım yapmadan bu hastalara Rai yüksek risk/Binet evre C olarak evrelendirilir.(64)

2.3.4-Richter Sendromu

Richter sendromu (RS), KLL ya da KHLL tanısı olan bir hastada agresif lenfoma gelişmesidir.(70) KLL hastalarının yaklaşık % 5-10'unda hastalık seyri sırasında RS görülür.(71) Semptomlarda artış, infeksiyon olmadan tekrarlayan ateş, bölgesel lenf düğümlerinde agresif ve hızlı boyut artışı ve serum laktat dehidrogenaz (LDH) seviyelerinde agresif yükseliş görülen KLL hastalarında RS transformasyonu düşünülmelidir.(70) Tanıda ¹⁸FDG PET-BT, yüksek negatif prediktif değeri nedeniyle kıymetlidir; tanı için FDG tutulumu olan lenf düğümlerinden yapılan biyopsi ile histopatolojik doğrulama gereklidir.(70) RS'nin hızlı progrese olan KLL'den histopatolojik ayrımı önemli bir sorun olup, merkezin ve patoloğun deneyimi önem taşımaktadır.(70) RS'de diffüz büyük B-hücreli lenfoma (DBBHL) varyantı ve hodgkin lenfoma (HL) varyantı olmak üzere iki varyant görülür.(72) Hastaların büyük çoğunluğunda (% 90) DBBHL-RS varyantı görülür.(71) DBBHL-RS varyantı, hücre proliferasyonu düzenleyici CDKN2A, NOTCH1, MYC genleri ve apoptozisten sorumlu TP53 mutasyonları ile kuvvetli ilişkilidir.(73-75) HL-RS varyantının ise net tanımlanmış biyolojik ve genetik altyapısı yoktur.(70) KLL tedavi rejimi türünün RS gelişim riskiyle ilişkisi olmadığı düşünülse de, tedavi rejimi sayısı ve süresiyle risk doğru orantılıdır.(76) DBBHL-RS varyantının prognozu kötüdür.(70) Prognozun en önemli göstergesi, KLL hücreleri ile DBBHL hücreleri arasındaki klonal benzerliktir; klonal benzerlik arttıkça sağkalım azalır.(73, 77) RS'de hastalar beş risk faktörüne göre (Zubrod performans durumu > 1, yüksek LDH seviyeleri, PLT ≤ 100.000/mm³, tümör boyutu ≥ 5 mg ve tedavi rejimi sayısı > 2) dört gruba ayırır.(78) DBBHL-RS tedavisinde ritüksimab içeren kemoterapi rejimleri (R-CHOP, R-EPOCH gibi) uygulanır; performans durumu iyi olan ve indüksiyon tedavisine yanıtı hastalarda kök hücre nakli sağkalımı uzatır.(70) HL-RS varyantının tedavisinde ise adriamisin, bleomisin, vinblastin ve dakarbazin (ABVD) tercih edilir; kök hücre nakli daha nadir kullanılır.(70)

Tablo 2 – Richter Sendromu Prognostik Skorlama Sistemi

Risk Faktörü Sayısı	Risk Skoru	Ortanca Sağkalım
0-1	Düşük risk	13-45 ay
2	Düşük-orta risk	11-32 ay
3	Yüksek-orta risk	4 ay
4-5	Yüksek risk	1-4 ay

Kaynak: Rossi D, Spina V, Gaidano G. Biology and treatment of Richter syndrome. Blood. 2018;131(25):2761-72. Epub 2018/04/26. doi: 10.1182/blood-2018-01-791376.

2.4 – KLL TANISI

2.4.1-Ayırıcı Tanı

KLL'den şüphelenilen hastalarda öncelikle diğer lökositöz nedenleri dışlanmalıdır. EBV, CMV gibi viral enfeksiyonlara bağlı lenfositöz, serolojik testler ile değerlendirilir.(45) Lenfositözla karşılaşılan diğer lenfoproliferatif hastalıklar (mantle hücreli lenfoma, splenik marjinal zon lenfoma, folliküler lenfoma, hairy cell lösemi ve B-hücreli prolenfositik lösemi gibi), periferik yayma bulguları, akım sitometri ve FISH analizleri ile KLL'den ayırt edilebilir.(45)

Tablo 3 - KLL Hastalarında Başlangıç Değerlendirmesi

Klinik Uygulamalar	Ne Zaman Değerlendirilmeli?
Tanı koyma amaçlı testler - Tam kan sayımı - Periferik kan akım sitometrisi ile immünofenotipleme	Her zaman Her zaman
Tedavi öncesi değerlendirme - Detaylı anamnez ve tam fizik muayene - Performans durumu değerlendirmesi - Tam kan sayımı - <i>Kemik iliği biyopsisi ve aspirasyon</i> - Biyokimya testleri, serum immünglobulin ve direkt antiglobulin testleri - Akciğer filmi - İnfeksiyöz hastalık durumu	Her zaman Her zaman Her zaman <i>Nedeni bilinmeyen sitopeni varsa</i> Her zaman Her zaman Her zaman
Tedavi öncesi ileri testler - del(13q), del(11q), del(17p), trizomi 12 açısından periferik kandan moleküler sitogenetik test (FISH) - <i>Periferik kandan stimülasyon ile karyotipleme</i> - TP53 mutasyonu - IGHV mutasyon durumu - <i>Serum β_2-mikroglobulin</i> - <i>Toraks, batin ve pelvis BT</i> - <i>MRI, PET-BT</i> - <i>Abdomen USG</i>	Her zaman <i>Klinik çalışma dışında gerekli değil</i> Her zaman Her zaman <i>Mümkünse yapılmalı</i> <i>Gerekli değil</i> <i>Gerekli değil</i> <i>Lenfadenopati/organomegali takibi için uygulanabilir</i>

Kaynak: Hallek M, Cheson BD, Catovsky D, Caligaris-Cappio F, Dighiero G, Döhner H, et al. iwCLL guidelines for diagnosis, indications for treatment, response assessment, and supportive management of CLL. Blood. 2018;131(25):2745-60. Epub 2018/03/16. doi: 10.1182/blood-2017-09-806398.

2.4.2-Kronik Lenfositik Lösemi/Küçük Hücreli Lenfositik Lenfoma

KLL Uluslararası Çalışma Grubu (iwCLL), KLL tanı kriterlerini periferik kanda monoklonal B-lenfosit sayısının en az üç ay süreyle ≥ 5000 /mikrolitre olması ve kandaki B-lenfositlerin klonalitesinin akım sitometrisi ve immüfenotiplendirme ile doğrulanması olarak belirlemiştir.(2) Fakat bu kriterler karşılanmadan da lösemik hücrelerin kemik iliği infiltrasyonuna bağlı sitopeni bulguları da tek başına tanı için yeterlidir.(2) Periferik kan B-lenfosit sayısının 5000/mikrolitreyi geçmeden ve kemik iliği tutulumu olmadan lenfadenopati varlığı, küçük hücreli lenfositik lenfoma (KHLL) olarak tanımlanır.(2) KHLL tanısı lenf düğümünün histopatolojik incelemesiyle doğrulanmalıdır.(2)

2.4.3-Monoklonal B-Lenfositoz

MBL, kanda monoklonal B-lenfosit sayısının en az üç ay sürece normalden yüksek fakat 5000/mikrolitre'den az olması ve lenfadenopati, organomegali, sitopeni, hastalıkla ilişkili semptomların yokluğu olarak tanımlanır.(79) MBL KLL'den daha yaygın bulunur ve yaşlanma ile sıklığı artar.(80) Her yıl MBL'li hastaların % 1-2'si KLL'ye progrese olur.(79) MBL, immüfenotipik olarak KLL-tipi, atipik KLL-tipi ve non-KLL tipi olarak üçe ayrılır.(80) Düşük sayımlı (Low Count) MBL (lenfosit ≤ 500 /mikrolitre) daha stabil iken, yüksek sayımlı (High Count) KLL-tipi MBL'nin (lenfosit 500-5000/mikrolitre arası) KLL'ye progresyon riski daha yüksektir.(80) MBL'li hastalarda başta cilt kanseri olmak üzere ikincil malignite riski artmış olduğu için bu hastalarda kanser tarama programları uygulanmalıdır.(81)

2.4.4-Periferik Yayma ve Kemik İliği Biyopsisi

KLL tanısı için periferik yayma gerekli olmamakla beraber, yaymada lösemik hücrelerin karakteristik olarak nükleolusları seçilemeyen ve kısmi olarak çökelmiş kromatin içeren yoğun nükleuslu, dar sitoplazmalı, küçük, matür lenfositler olduğu görülür; Gumprecht nükleer gölgeler ya da ezilmiş hücreler (smudge cells) de KLL ile ilişkili morfolojik bulgulardır.(64) Ayrıca büyük, atipik lenfositler, parçalanmış hücreler ya da prolenfositler, periferik yaymada görülen lenfositlerin % 55'ini oluşturabilir.(82) KLL hastalarında sitopeni bulguları varlığında, kemik iliği infiltrasyonu incelemesi için kemik iliği aspirasyonu ve biyopsisi yapılmalıdır; histopatolojik olarak kemik iliği aspiratında çekirdekli hücrelerin %30'undan fazlasının matür lenfoid hücreler olduğu görülür.(64)

2.4.5-İmmünfenotiplendirme

KLL tanısının doğrulama amacıyla periferik kan akım sitometrisi ve immünfenotiplendirme ile KLL hücrelerinin yüzey antijenleri taranabilmektedir. İmmünfenotiplendirmede KLL hücrelerinin CD5 yüzey antijeni ile beraber CD19, CD20 ve CD23 B-lenfosit yüzey antijenlerini eksprese ettiği görülür.(64) Normal B-lenfositlere kıyasla, KLL hücrelerinde yüzey immünglobulini, CD20 ve CD79b düzeyi düşüktür.(83-85) Ayrıca her bir lösemik klon, kappa ya da lambda olmak üzere tek bir immünglobulün hafif zinciri eksprese eder.(85) KLL tanısı için immünfenotiplendirmede CD5, CD19, CD20, CD23, kappa ve lamda paneli bakılır; gereklilik halinde CD10, CD43, CD79b, CD81, CD200 ya da ROR1 de tanıya yardımcı yüzey antijenleridir.(86)

2.4.6-Moleküler Genetik Testler

Periferik kandaki lenfositlerden interfaz floresan in situ hibridizasyon (FISH) yöntemi ile yapılan genetik incelemede KLL hastalarının %80'inden fazlasında sitogenetik lezyonlar tanımlanır.(25) Ayrıca in vitro KLL hücre stimülasyonu yöntemiyle yapılan karyotipleme ile de kromozomal anomaliler daha güvenli tespit edilebilir hale gelmiştir.(87) Özellikle del(17p), TP53 mutasyonu gibi kromozomal sayı anomalileri ve mutasyonların prognoz ve tedavi ajanlarına dirençten sorumlu olması ve hastalığın seyri boyunca yeni genetik bozuklukların meydana gelmesi nedeniyle, ilk tanı sırasında ve her tedavi planı öncesinde genetik testler yapılmalıdır.(64, 88)

2.5 – KLL’DE EVRELEME

KLL’de hastalığın izlemine ve tedavisini planlama amacıyla oluşturulmuş evreleme kriterleri arasında en yaygın kullanılanlar Rai ve Binet kriterleridir.(89, 90) Kriterlerin sadece fizik muayene ile laboratuvar bulgularına dayanması ve pahalı görüntüleme tetkikleri gerektirmemesi en önemli avantajlarıdır. Her iki evreleme sistemi de hastaları prognozlarına göre üç sınıfa ayırmaktadır.

2.5.1-Rai Evrelemesi

Önceden kullanılan Rai evrelemesi, hastaları beş gruba ayırırken (Rai 0-IV), günümüzde hastaları 3 grubu ayıran Modifiye Rai evrelemesi daha yaygın kullanılmaktadır.(89, 91) Düşük risk grubu, periferik kanda lösemik hücrelere bağlı lenfositöz ve/ya kemik iliğinde lenfoid hücre oranının > %30 saptanması olarak tanımlanır (eski Rai evre 0). Orta risk grubu, lenfositöz ile beraber herhangi bir bölgede boyutu artmış lenf düğümü (eski Rai evre I), splenomegali ve/ya hematomegali saptanması (eski Rai evre II) olarak tanımlanır. Yüksek risk grubu, hastalıkla ilişkili anemi (hemoglobin (Hb) < 11 g/dL) (eski Rai evre III) ya da trombositopeni (trombosit (PLT) < 100 x 10⁹/L)(eski Rai evre IV) olarak tanımlanır.

Tablo 4 - Rai Evreleme Sistemi

Evre	Özellikler	Ortanca Sağkalım
0	Periferik kan lenfositözu ve kemik iliği infiltrasyonu	>150 ay
I	Lenfadenopati	101 ay
II	Hepatosplenomegali	71 ay
III	Anemi (Hgb < 11 g/dL)	19 ay
IV	Trombositopeni (Plt < 100.000 mm ³)	19 ay

Kaynak: Scarfö L, Ferreri AJ, Ghia P. Chronic lymphocytic leukaemia. Crit Rev Oncol Hematol. 2016;104:169-82. Epub 2016/07/03. doi: 10.1016/j.critrevonc.2016.06.003.

Tablo 5 - Modifiye Rai Evreleme Sistemi

Evre	Özellikler
Düşük Risk	Periferik kan lenfositözu ve kemik iliği infiltrasyonu (eski evre 0)
Orta Risk	Lenfadenopati (eski evre I) ve/ya hepatosplenomegali (eski evre II)
Yüksek Risk	Anemi (eski evre III) ve/ya trombositopeni (eski evre IV)

Kaynak: Scarfö L, Ferreri AJ, Ghia P. Chronic lymphocytic leukaemia. Crit Rev Oncol Hematol. 2016;104:169-82. Epub 2016/07/03. doi: 10.1016/j.critrevonc.2016.06.003.

2.5.2-Binet Evrelemesi

Rai evrelemesinden farklı olarak Binet evrelemesinde tutulan bölge sayısı (1 cm'den büyük çapta lenf düğümü ya da organomegali varlığı) değerlendirmeye alınır.(90) Lenf düğümü tutulum bölgeleri, baş ve boyun (waldeyer halkası bu alana dahildir ve tutulan lenf düğümü sayısına bakılmaksızın tek bölge olarak değerlendirilir), aksilla (her iki aksilla tutulumu tek bölge olarak değerlendirilir), femoral (her iki femoral tutulum tek bölge olarak değerlendirilir), palpe edilebilen splenomegali ve palpe edilebilen hepatomegali şeklindedir. Binet Evre A Hgb ≥ 10 g/dL ve PLT $\geq 100 \times 10^9/L$ ve en fazla iki bölge tutulumu; Binet Evre B Hgb ≥ 10 g/dL ve PLT $\geq 100 \times 10^9/L$ ve en az üç bölge tutulumu; Binet Evre C tutulan bölge sayısına bakılmaksızın anemi (Hgb < 10 g/dL) ve/ya trombositopeni (PLT $< 100 \times 10^9/L$) olarak gruplandırılır.

Tablo 6 - Binet Evreleme Sistemi

Evre	Özellikler
A	Anemi olmaması (Hgb ≥ 10 g/dL) ve/ya trombositopeni olmaması (PLT $\geq 100.000 \text{ mm}^3$) ve en fazla 2 bölge tutulumu
B	Anemi olmaması (Hgb ≥ 10 g/dL) ve/ya trombositopeni olmaması (PLT $\geq 100.000 \text{ mm}^3$) ve 2'den fazla bölge tutulumu
C	Anemi (Hgb < 10 g/dL) ve/ya trombositopeni (PLT $< 100.000 \text{ mm}^3$), tutulan bölge sayısından bağımsız olarak

Kaynak: Scarfò L, Ferreri AJ, Ghia P. Chronic lymphocytic leukaemia. Crit Rev Oncol Hematol. 2016;104:169-82. Epub 2016/07/03. doi: 10.1016/j.critrevonc.2016.06.003.

2.6 – KLL’DE PROGNOSTİK FAKTÖRLER

Rai ve Binet evrelemeleri, KLL hastalarını riske göre gruplandırmak ve tedavi planı açısından oldukça faydalı olsa da, değerlendirmeye prognoz göstergesi olan genetik bozukluklar, akım sitometri bulguları ve serum belirtecini almaz. KLL’de prognoz göstergeleri arasında en önemlileri IGHV mutasyon durumu, serum Beta-2 mikroglobulin ve del(17p)/TP53 mutasyon varlığıdır.(64)

2.6.1-Prognozla İlişkili Kromozomal Bozukluklar

Kromozomal bozukluklar ve sitogenetik anomaliler, KLL’de bağımsız prognoz göstergeleridir.(25) En bilinen dört kromozomal bozukluk arasında sadece izole del(13q) iyi prognozla ilişkilidir.(2) Kompleks karyotip (≥ 3 kromozomal anomali) taşıyan lösemik hücreler prognozu kötüleştirir.(24, 38, 92) Trizomi 12’nin prognoza etkisi tartışmalı olmakla beraber, RS riskinde artış ile ilişkilidir.(35, 36) Kötü prognozla en güçlü ilişkili kromozomal bozukluklar del(11q) ve del(17p)’dir.(31, 93) Del(17p), çoğunlukla tümör süpresör gen TP53’ün bulunduğu 17p13 bandını içerir; ayrıca bu hastaların diğer TP53 allelinde de fonksiyon baskılayıcı mutasyonlar sıktır.(32, 33) Tek TP53 allelinin inaktivasyonu azalmış sağkalım ile ilişkilidir; iki TP53 allelinde de inaktivasyon, sağkalımı daha da azaltır.(94, 95) Del(17p) tek başına ya da TP53 gen mutasyonu ile beraber alkilleyici ajanlar ve pürin analogları gibi standart kemoterapi rejimlerine dirençten sorumludur; bu hastalarda BTK, fosfatidilinositol-3 kinaz ve BCL2 gibi küçük molekül inhibitörlerine yanıt daha iyidir.(64) Kromozomal bozukluklar arasında del(17p) en kısa genel sağkalım ile ilişkili iken (~3 yıl), izole del(13q), kromozomal bozukluk taşımayan hastalardan bile daha uzun genel sağkalım ile ilişkilidir (~11 yıl vs. ~9.5 yıl).(25)

2.6.2-Prognozla İlişkili Sitogenetik Bozukluklar

Yeni nesil eksom ve genom sekanslama yöntemleri ile tanınan NOTCH1, SF3B1 gibi mutasyonların patogenetik ve prognostik önemleri giderek daha fazla anlaşılmaktadır.(64) NOTCH1 mutasyonu, azalmış genel sağkalım ve artmış RS riski ile ilişkilidir.(96) SF3B1 mutasyonunu da genel sağkalımı azaltır; BIRC3 mutasyonlu hastalarda prognoz, TP53 mutasyonlu hastalara benzerdir.(97, 98)

2.6.3-IGHV Mutasyonu

KLL hücrelerinin yüzeylerindeki BCR'leri eksprese eden IGHV genindeki somatik hipermutasyon durumu, önemli bir prognoz göstergesidir.(45) IGHV gen mutasyonsuz KLL hastalarında prognoz, mutasyonlu IGHV geni taşıyan hastalardan daha kötüdür.(46) Mutasyonsuz IGHV geni, aynı zamanda fludarabin-siklofosamid-ritüksimab (FCR) rejimine azalmış yanıtın prediktif göstergesidir.(99-101) Mutasyonlu IGHV geni ile beraber diğer iyi prognostik genetik mutasyonların taşıyan, tedavi sonrası minimal residüel hastalık (MRD) yanıtı iyi olan hastalar ise FCR rejimine iyi yanıt gösterir.(99-101)

Tablo 7 - KLL'deki Prognostik Faktörler

Prognoz	Kromozomal Anomaliler	Sitogenetik Mutasyonlar	İmmünofenotipik Göstergeler	Serum Göstergeleri
İyi	İzole del(13q)	IGHV mutasyonlu		
Orta	Trizomi 12 Normal Karyotip			
Kötü	del(17p) del(11q) Kompleks karyotip (≥ 3 kromozomal anomali)	TP53 IGHV mutasyonsuz NOTCH1 SF3B1 BIRC3 ATM	ZAP-70 CD38 CD49d	β ₂ -mikroglobulin LDT < 6 ay

Kaynak: Lee J, Wang YL. Prognostic and Predictive Molecular Biomarkers in Chronic Lymphocytic Leukemia. J Mol Diagn. 2020;22(9):1114-25. Epub 2020/07/03. doi: 10.1016/j.jmoldx.2020.06.004.

2.6.4-Prognozla İlişkili İmmünofenotipik Göstergeler

Lösemik hücrelerde intraselüler kinaz ZAP-70 ve mikroçevre ile iletişimden sorumlu yüzöl moleküllü CD38 ekspresyonu, mutasyonsuz IGHV gen ekspresyonu ile eş zamanlı görülmesi nedeniyle kötü prognozla ilişkilidir.(45, 64) Alfa-4 beta-1 integrin heterodimerinin alfa zinciri olan CD49d'de kötü prognozla ilişkili olup, akım sitometride bakılabilen en güçlü genel sağkalım ve tedavisiz sağkalım göstergesi olarak kabul edilir.(102, 103)

2.6.5-Prognozla İlişkili Serum Göstergeleri

Literatürdeki çalışmalarda genel sağkalım ve progresyonsuz sağkalımla ilişkili saptanmış CD23, timidin kinaz gibi serum göstergeleri arasından Beta-2 mikroglobulin'in prognostik önemi daha belirgindir.(64, 104-106) Mutlak lenfosit sayısının iki katına çıkma süresi olan lenfosit ikilenme zamanı (LDT) da önemli bir progresyon belirticidir; LDT < 6 ay (bazı çalışmalarda < 12 ay) olması progresif hastalığı gösterir.(45)

2.6.6-KLL Uluslararası Prognoz İndeksi (CLL-IPI)

Rai ve Binet evreleme sistemlerini prognoz belirteçleriyle birleştiren çeşitli skorlama indeksleri arasından en yaygın kullanılan, KLL Uluslararası Prognoz İndeksi'dir (CLL International Prognostic Index, CLL-IPI).(104) CLL-IPI'de hastalar beş farklı prognoz faktörüne göre dört kategoriye ayrılır.(2, 107)

Tablo 8 - KLL Uluslararası Prognostik İndeksi (CLL-IPI)

Prognostik Faktör	Puan	Kümülatif Skor/ CLL-IPI Kategorisi
Del(17p) ya da TP53 mutasyonu	4	0-1: Düşük risk
Mutasyonsuz IGHV geni	2	2-3: Orta risk
Serum β_2 -mikroglobulin > 3.5 mg/L	2	4-6: Yüksek risk
Rai Evre I-IV	1	7-10 Çok yüksek risk
Yaş > 65 yıl	1	

Kaynak: Parikh SA. Chronic lymphocytic leukemia treatment algorithm 2018. Blood Cancer J. 2018;8(10):93. Epub 2018/10/05. doi: 10.1038/s41408-018-0131-2.

Tablo 9 - CLL-IPI Kategorilerine Göre Sağkalım ve Tedavi Planı

CLL-IPI Kategorisi	5 yıllık Genel Sağkalım Oranı	Tedavi planı
Düşük risk	% 93.2	Tedavi etme
Orta risk	% 79.3	Hasta semptomatik değil ise tedavi etme
Yüksek risk	% 63.3	Hasta asemptomatik olmadığı sürece tedavi et
Çok yüksek risk	% 23.3	Tedavide kemoterapi yerine yeni ajanlar ya da deneysel ilaçlar tercih et

Kaynak: Hallek M. Chronic lymphocytic leukemia: 2020 update on diagnosis, risk stratification and treatment. Am J Hematol. 2019;94(11):1266-87. Epub 2019/08/01. doi: 10.1002/ajh.25595.

CLL-IPI'nin en önemli katkısı, hastaları tedavi ihtiyacına göre, sadece klinik evreye kıyasla daha iyi sınıflandırmasıdır. Bu nedenle tüm hastalarda tanı sırasında CLL-IPI risk sınıflandırması yapılması önerilir.(107) Asemptomatik, düşük risk CLL-IPI (0-1) hastalarda erken tedavi ile sağkalımda artış gösterilmediği için bu hastalarda tedavi endikasyonu yoktur.(108-111) CLL-IPI düşük ve orta risk hastaların altı-on iki ayda bir, yüksek ve çok yüksek riskli hastaların üç-altı ayda bir hastalık progresyonu açısından izlenmesi önerilir.(104, 107)



2.7 – KLL TEDAVİSİ VE İZLEMİ

2.7.1-Birinci Tedavi Başlama Endikasyonları ve Hasta Seçimi

KLL tanısı alan çoğu hastada tedavi endikasyonu olmasa da, bütün hastalarda CLL-IPI risk sınıflandırmasının yapılması, olası komplikasyonlar ve enfeksiyon risklerine karşı hastaların bilgilendirilmesi, profilaktik aşılamalarının yapılması, sekonder maligniteler ve deri kanserlerine yönelik taramalar önerilir.(107) Ayrıca tedavi başlanacak ya da yeni tedavi rejimlerine geçilecek hastalarda, tedavi öncesi semptomlar, klinik evre, performans durumu, komorbiditeler, prognostik faktörler tekrardan değerlendirilmelidir.(2) Rai 0 ya da Binet A grubu asemptomatik, erken evre hastalar, hızlı progresyon göstermedikleri sürece tedavisiz izlenir; bu hastalarda erken tedavinin faydası gösterilmemiştir.(108-111) Orta riskli (Rai I-II) ya da Binet evre B hastalar da aktif/progresif hastalık özellikleri taşımadıkları sürece tedavisiz izlenir.(64) Aktif-semptomatik hastalık ile hızlı progresyon gösteren bütün evrelerde ve yüksek riskli (Rai III-IV) ya da Binet evre C hastalarda tedavi başlanır.(64) Ayrıca iwCLL kılavuzuna göre CLL-IPI risk sınıflandırmasında yüksek riskli ve çok yüksek riskli olan hastalara da erken deneysel tedaviler önerilebilir.(107)

Tablo 10 - iwCLL Aktif/Progresif Hastalık Kriterleri

iwCLL Kılavuzuna göre Aktif/Progresif Hastalık Kriterleri
1. Progresif kemik iliği yetersizliği bulguları (Hgb < 10 g/dL ya da PLT < 100x10⁹/L) 2. Splenomegali: Masif (sol kosta sınırı altı ≥ 6 cm) ya da progresif ya da semptomatik 3. Lenfadenopati: Masif (en büyük çapı ≥ 10 cm) ya da progresif ya da semptomatik 4. Progresif Lenfositoz: 2 ay içinde ≥ % 50 sayı artışı ya da Lenfosit ikilenme süresi (LDT) < 6 ay 5. Otoimmün komplikasyonlar: Kortikosteroidlere yanıtız anemi, trombositopeni 6. Semptomatik ya da fonksiyonel ektranodal tutulum (cilt, böbrek, akciğer, omurilik gibi) 7. Hastalık ilişkili bulgular: a. Son 6 ay içinde istemsiz ≥ % 10 kilo kaybı b. Belirgin halsizlik (ECOG > 2 ve üstü) c. Enfeksiyon kanıtı olmadan 2 hafta ve daha fazla süren ≥ 38⁰ C ateş d. Enfeksiyon kanıtı olmadan ≥ 1 ay süren gece terlemeleri Hipogammaglobulinemi ya da monoklonal/poliklonal paraproteinemi tek başına tedavi endikasyonu oluşturmaz; fakat tedavi alan hastalarda bu parametrelerdeki değişiklikler izlenmelidir.(64)

Kaynak: Hallek M, Cheson BD, Catovsky D, Caligaris-Cappio F, Dighiero G, Döhner H, et al. iwCLL guidelines for diagnosis, indications for treatment, response assessment, and supportive management of CLL. Blood. 2018;131(25):2745-60. Epub 2018/03/16. doi: 10.1182/blood-2017-09-806398.

Tablo 11 - Klinik Evre ve Özelliklere Göre Tedavi Gerekliliği

Klinik Evre ve Özellikler	Tedavi Gerekliliği
Rai Evre 0 ya da Binet Evre A Aktif/Progresif hastalık yok	Tedavisiz izlem
Rai Evre I-II ya da Binet Evre B	Tedavisiz izlem <i>Aktif/Progresif hastalık varsa tedavi gerekir</i>
Rai Evre III-IV ya da Binet Evre C Aktif/Progresif hastalık var	<i>Tedavi gerekir</i>

Kaynak: Hallek M, Cheson BD, Catovsky D, Caligaris-Cappio F, Dighiero G, Döhner H, et al. iwCLL guidelines for diagnosis, indications for treatment, response assessment, and supportive management of CLL. Blood. 2018;131(25):2745-60. Epub 2018/03/16. doi: 10.1182/blood-2017-09-806398.

Tedavi planlanan hastalara hangi rejimin verileceğinin kararı, hastanın fiziksel performans durumu, komorbiditeleri, del(17p)/TP53 mutasyonu ve IGHV mutasyon durumuna göre değerlendirilir.(2) Daha önce tedavi almamış, genetik testlerde standart risklere sahip, IGHV mutasyonu taşıyan, genç ve fit hastalarda kemoimmünoterapi halen ilk tedavi seçeneğidir.(107) Hastanın fiziksel durumunun iyi bulunması (“go go”), yani kreatinin klirensinin normal ve kümülatif hastalık derecelendirme ölçeği skoru (CIRS) düşük olması halinde, özellikle IGHV gen mutasyonu taşıyan hastalarda FCR rejimi (fludarabin, siklofosamid, ritüksimab), 65 yaş üstü hastalarda BR rejimi (bendamustin, ritüksimab) ya da bütün yaş gruplarında ibrutinib monoterapisi başlanabilir.(2, 112) IGHV mutasyonu taşımayan genç ve fit hastalarda, FISH’te kötü prognozla ilişkili kromozomal bozukluklar (del(17p) ve del(11q)) varsa ibrutinib tercih edilir; del(13q), trizomi 12 ya da kromozomal anomali taşımayan hastalarda ise FCR ve BR rejimleri tercih edilebilir.(107) Fiziksel durumu kırılgan (“slow go”) hastalarda ön planda semptom kontrolü hedeflenerek venetoclax + obinutuzumab, ibrutinib monoterapisi ya da klorambusil + obinutuzumab rejimleri önerilmelidir; bu 3 seçenek arasında sağkalım açısından fark yoktur.(2) IGHV mutasyonu taşımayan yaşlı ve kırılgan hastalarda ibrutinib tercih edilir.(107) Del(17p)/TP53 mutasyonlu hastalarda standart kemoimmünoterapi yerine venetoclax + obinutuzumab, ibrutinib ya da idelalisib + ritüksimab rejimleri daha iyi hastalık kontrolü sağlar.(2, 113) Akılda bulundurulması gereken bir tedavi seçeneği de kök hücre naklidir. TP53 mutasyonu taşıyan hastalarda ilk tedavi başlangıcında ve relaps durumunda farmakolojik tedavi dışında allojenik kemik iliği nakli de değerlendirilmelidir.(2, 107, 113)

Tablo 12 - Birinci Sıra Tedavi Seçenekleri

Evre	Del(17p) ya da TP53 mutasyonu	Fiziksel Durum	IGHV Mutasyonu	Tedavi Seçenekleri*
Binet A-B Rai 0-II İnaktif hastalık	Önemsiz	Önemsiz	Önemsiz	Yok
Aktif hastalık Binet C Rai III-IV	Var	Önemsiz	Önemsiz	İbrutinib Venetoclax + Obinutuzumab İdelalisib + Ritüksimab (ibrutinib kontendikasyonları varlığında)
	Hayır	"Go go"	Var	FCR (yaş < 65) BR (yaş > 65) İbrutinib
			Yok	İbrutinib FCR (yaş < 65) BR (yaş > 65)
		"Slow go"	Var	Venetoclax + Obinutuzumab Klorambusil + Obinutuzumab İbrutinib
			Yok	Venetoclax + Obinutuzumab İbrutinib Klorambusil + Obinutuzumab

*Hastalar ile beraber değerlendirilerek tartışılması gereken durumlar: uzun süreli ya da 6-12 aylık sınırlı tedavi, rejimler arasında genel sağkalım açısından farkın kanıtlanmamış olması, her tedavi seçeneği için spesifik yan etkiler (kemoimmünoterapi için myelosüpresyon, enfeksiyonlar, sekonder maligniteler; ibrutinib için kardiyak toksisite, kanama ve otoimmün hastalıklar, venetoclax + obinutuzumab için tümör lizis sendromu; idelalisib için ishal, otoimmün hastalıkları ve fırsatçı enfeksiyonlar).

Kaynak: Hallek M. Chronic lymphocytic leukemia: 2020 update on diagnosis, risk stratification and treatment. Am J Hematol. 2019;94(11):1266-87. Epub 2019/08/01. doi: 10.1002/ajh.25595.

2.7.2- Tedaviye Yanıtın Değerlendirilmesi

Tedavi almış KLL hastalarında tedavi yanıtı, tedavinin tamamlanmasından en az iki ay sonra detaylı anamnez, fizik muayene, kan sayımı ve laboratuvar tetkikleri ile değerlendirilir.(64) Hastada devam eden sitopeniler var ise kemik iliği biyopsisi yapılmalı, organomegalilerin değerlendirilmesi için USG ve BT gibi görüntüleme yöntemleri kullanılmalıdır.(64) İdame tedavisi olan rejimlerde, tedaviye maksimum cevap alındıktan sonra (en az iki ay sürece klinik ve laboratuvar bulgularında değişiklik olmaması) ya da rejim protokünde belirtilmiş süreden en az iki ay sonra tedaviye yanıt değerlendirilir.(64) Tedaviye yanıtın değerlendirilmesinde kullanılan parametreler, semptomları ve lenfoid tümör yükünü değerlendirilen A grubu ve hematopoetik sistemi değerlendirilen B grubu olarak ikiye ayrılır; bu parametrelerin tedavinin son dozundan en az iki ay boyunca sürdürülmüş

olması kaydıyla hastaların tedavi cevabı tam remisyon (TR), kısmi remisyon (KR), progresif hastalık (PH) ve stabil hastalık (SH) olarak gruplanır.(64) TR ve KR alınan hastalar tedaviye yanıtı olarak değerlendirilirken, diğer bütün hasta grupları (tedaviye cevapsızlık, SH, PH ya da ölüm) tedaviye yanıtı olarak değerlendirilir.(64) Tedavi başarısızlığı ya da tedavinin son dozundan sonraki altı ay içinde hastalık progresyonu, relaps olarak tanımlanır; tedavinin son dozundan sonraki $\geq$ altı ay boyunca TR/KR sağlanmış hastada tekrar hastalık progresyonu olması da refrakter hastalık (RH) olarak tanımlanır.(64) KLL tedavisinde hedef, KLL hücrelerinin tamamen eradikasyonu olup, klinik çalışmalarda bu hedef minimal residüel hastalık (MRH) ile değerlendirilir; eğer periferik kan ya da kemik iliği biyopsisinde 10.000 lökositte KLL hücre sayısı < 1 ise hasta MRH-negatif remisyon olarak değerlendirilir.(64)

Tablo 13 - KLL Hastalarında Tedavi Sonrası Yanıt Tanımlamaları

Grup	Parametre	TR	KR	PH	SH
A	Lenfosit #	< 4 x 10 ⁹ /L	Bazale göre ≥ % 50 azalma	Bazale/önceki cevaba göre ≥ % 50 artış	-%49 ile +%49 arası değişim
	Lenf düğümü*	< 1.5 cm			
	Karaciğer/Dalak boyutu	Dalak boyutu < 13 cm; Karaciğer boyutu normal			
	Konstitüsyonel semptom	Yok	Herhangi birinin varlığı		
B	Trombosit #	≥ 100 x 10 ⁹ /L	≥100 x 10 ⁹ /L ya da bazale göre ≥ % 50 artış	Bazale göre ≥ % 50 azalma	-%49 ile +%49 arası değişim
	Hemoglobin	≥ 11.0 g/dL (transfüzyon yada EPO uygulanmadan)	≥ 11.0 g/dL ya da bazale göre ≥ % 50 artış	Bazale göre ≥ 2 g/dL azalma	Artış < 11.0 g/dL ya da < % 50 ya da bazale göre < 2g/dl azalma
	Kemik iliği	Normoselüler, KLL hücreleri ve B lenfoid nodül yok.	Yapılmak zorunda değil; KLL hücreleri ya da B lenfoid nodül varlığı	Tekrarlayan biyopsilerde KLL hücrelerinde ≥ % 50 artış.	Kemik iliğinde değişiklik yok.
	Nötrofil	≥ 1.5x10 ⁹ /L			

TR: hem A grubu, hem B grubu bütün kriterler sağlanmalı; KR: en az iki A grubu ve bir B grubu kriteri düzelmeli, eğer tedavi öncesi her iki gruptan bir tane kriter anormal ise bu kriterin düzelmesi yeterli; SH: Bütün kriterler karşılanmalı; PH: A ya da B grubu kriterlerden en az biri karşılanmalı, konstitüsyonel semptomların varlığı tek başına yeterli değil.

*Lenfosit boyutu: Önceden belirlenmiş en büyük lenf düğümünün çaplarının toplamı ya da en fazla altı adet lenf düğümünün çaplarının toplamı

Kaynak: Hallek M, Cheson BD, Catovsky D, Caligaris-Cappio F, Dighiero G, Döhner H, et al. iwCLL guidelines for diagnosis, indications for treatment, response assessment, and supportive management of CLL. Blood. 2018;131(25):2745-60. Epub 2018/03/16. doi: 10.1182/blood-2017-09-806398.

2.7.3- İkinci Sıra Tedavi Başlama Endikasyonları

Relaps düşünölen bütün KLL hastalarında tekrardan kapsamlı hastalık değeriendirilmesi yapılmalıdır.(107) Özellikle kemik iliğı biyopsisi ve aspirasyonu, boyun-toraks-batın-pelvik BT ve Richter transformasyonu açısından FDG PET/BT, FISH ile kromozomal ve sitogenetik anomalilerin ve TP3 mutasyon durumu tekrardan taranmalıdır.(107) Daha önce tedavi görmüş asemptomatik bir hastada lenfosit sayısında artış ya da relaps olması, yeniden tedaviye başlamayı gerektirmez; fakat aktif/progresif hastalık varsa ikinci sıra tedavi rejimlerine geçilir.(64) Eğer ilk tedavi rejimine yeterli yanıt yoksa ya da ilaca bağı toksisite gibi nedenlerle tedavi devam edemiyorsa, hastalık progresyonunu beklemeden ve ilaç ilişkili toksisiteler düzeldikten sonra ikincil tedaviler başlanabilir.(64) İlk tedavi rejimi ile 36 aydan fazla remisyon elde edildiyse, tekrardan aynı rejim başlanabilir.(2) İlk tedavi rejimine dirençli hastalarda, fludarabin içeren ilk tedavi rejimleri ile iki-üç yıl içinde tekrar progresyon gelişen hastalarda ve del(17p)/TP53 mutasyonu taşıyan hastalarda ikincil tedavilere yanıt kötü olup, bu hastalara kemoterapi dışı rejimler veya deneysel ilaç tedavileri önerilmelidir.(64, 114, 115) Bu hastalarda kullanılabilecek ajanlar arasında venetoclax tek başına ya da ritüksimab ile kombinasyon ile, ibrutinib tek başına ya da venetoclax ile kombinasyon ile, idelalisib+ritüksimab kombinasyonu ve lenalidomid+ritüksimab kombinasyonu yer alır.(2) Ayrıca alemtuzumab tek başına ya da kombinasyon tedavileri içinde kullanılabilir.(116, 117) Ek olarak fiziksel durumu iyi olan refrakter hastalarda ya da del(17p) pozitif hastalarda, eğer bir kinaz inhibitörü ile relaps olmuş ve ikincil tedavilere yanıt var ise küratif amaçlı allojenik kök hücre nakli uygulanabilir.(113)

Tablo 14 - İkinci Sıra Tedavi Seçenekleri

Birinci Sıra Tedavi Cevabı	Fiziksel Durum	İkinci Sıra Tedavi Seçenekleri
Refrakter hastalık 3 yıl içinde progresyon	“Go go”	İbrutinib İdelalisib + Ritüksimab Venetoclax + Ritüksimab FCR BR Lenalidomid + Ritüksimab Alemtuzumab + Deksametazon Alemtuzumab + Fludarabine Allojenik kök hücre nakli ile konsolidasyon tartışılmalı
	“Slow go”	İbrutinib İdelalisib + Ritüksimab Venetoclax + Ritüksimab Alemtuzumab + Deksametazon FCR-lite BR Lenalidomid + Ritüksimab Yüksek doz ritüksimab
3 yıldan sonra progresyon	Bütün hastalar	Birinci sıra tedavinin tekrarı

Kaynak: Hallek M. Chronic lymphocytic leukemia: 2020 update on diagnosis, risk stratification and treatment. Am J Hematol. 2019;94(11):1266-87. Epub 2019/08/01. doi: 10.1002/ajh.25595.

2.7.4-KLL Tedavisinde Kullanılan Sitostatik Ajanlar

KLL'nin ilk sıra tedavisinde, uzun yıllar alkileyici ajanlar ile monoterapi tercih edilmiştir; bu ajanlar arasında oral kullanım kolaylığı, ucuzluğu ve düşük toksisite ile en çok tercih edilen klorambusil olmuştur.(111) Fakat düşük tam remisyon oranları, uzun süreli kullanım ile görülen sitopeni, myelodisplazi ve sekonder maligniteler gibi yan etkiler nedeniyle klorambusil günümüzde ileri yaş ve düşük performans skorlu hastalarda ucuz bir alternatif olarak kullanılır.(2) Günümüzde tercih edilen sitotoksik ajanlar arasında pürin analogları olan fludarabin, pentostatin ve kladribin yer alır. Bu üç pürin analogu arasından en fazla çalışması olan ajan olan fludarabinin, diğer alkileyici ajanlar ve kortikosterid içeren rejimlerle kıyasla genel yanıt oranı daha yüksektir.(118-120) CHOP (siklofosfamid, doksorubisin, vinkristin, prednizon), CAP (siklofosfamid, doksorubisin, prednizon) ve klorambusil gibi konvansiyonel tedavilere kıyasla fludarabin ile remisyon oranları daha yüksektir; fakat genel yanıt oranı açısından fark yoktur.(120-123) Benzer şekilde klorambusil+prednol tedavisine kıyasla kladribin monoterapisinde daha yüksek tam remisyon oranı görülürken genel yanıt oranında fark yoktur.(124) Bendamustin ile de klorambusile kıyasla daha iyi genel yanıt oranı ve daha uzun progresyonsuz sağkalım süresi (PSS), fakat daha fazla toksisite görülür; genel sağkalım süresinde (GSS) fark yoktur.(125)

Günümüzde FCR rejimi (fludarabin, siklofosfamid ve ritüksimab) yüksek cevap oranları, uzun PSS, uzun GSS ve del(17p)/TP53 pozitif hastalar dışında bütün gruplarda yarar sağlaması nedeniyle ilk sıra tedavi rejimidir.(2, 126) Fakat ilaç ilişkili toksisite nedeniyle yaş > 65-70 olan, ek komorbiditeleri olan, CIRS > 6 ve kreatinin klirensi > 30-50 ml/L olan hastalarda FCR rejimi tercih edilmez.(93, 115) Fiziksel durumu iyi olan (CIRS ≤ 6, kreatinin klirensi ≥ 70 mL/min) ve del (17p) negatif hastalarda FCR rejimine kıyasla BR (bendamustin + ritüksimab) rejimi ile daha düşük genel yanıt oranı ve PSS görülse de; daha az toksisite görülmesi ve 65 yaş üstü hastalarda FCR'ye benzer cevap oranları nedeniyle 65 yaş üstü del(17p) negatif hastalarda BR rejimi tercih edilir.(126)

2.7.5-KLL Tedavisinde Kullanılan Monoklonal Antikorlar

Matür B-lenfositlerinin hücre yüzeyinde bulunan CD20 proteini aynı zamanda birçok B-hücreli malignitelerde de eksprese olur.(2) Bu yüzey proteinine karşı geliştirilmiş Anti-CD20 antikorları ile malign B hücrelerinin yıkımı hedeflenir. Anti-CD20 antikorları arasında ilk bulunan ritüksimab olmakla beraber yakın zamanda geliştirilmiş ofatumumab ve obinituzumab da yer alır.(2) KLL hastalarında ritüksimab, tek başına yüksek doz kullanılmadığı sürece yeterli etkinlik göstermez; fakat diğer kemoterapi ajanlarıyla kombinasyonu oldukça etkilidir.(127, 128)

CD20 molekülünün özgün bir epitopunu hedefleyen ve ritüksimaba kıyasla daha yüksek bağlanma afinitesine sahip olan ofatumumabın, kanda dağılım oranının yüksek olması ve antikor-aracılı hücresel sitotoksositeye ek olarak kompleman-aracılı sitotoksosite sağlaması nedeniyle CD20 ekspresyonu düşük lösemik hücrelerde dahi daha fazla hücre yıkımı sağlanır.(129) Obinituzumab, CD20'nin Tip II epitopuna yüksek affiniteyle bağlanarak ritüksimaba kıyasla daha fazla direkt sitotoksosite, daha fazla antikor aracılığı hücresel sitotoksosite, daha az kompleman aracılı sitotoksosite ve daha fazla B-lenfosit apoptozisi yapar.(130, 131)

KLL'de kullanılan bir diğer monoklonal antikor da, CD52 antijenine karşı geliştirilmiş alemtuzumab'tır.(2) Daha önce alkileyici ajanlara yanıtız, fludarabin tedavisine rağmen relaps geçiren KLL hastalarında, ayrıca del(11q), del(17p) ve TP53 mutasyonu gibi yüksek riskli genetik bozukluklara sahip KLL hastalarında etkili cevap oranları vardır.(116, 132-135)

2.7.6-KLL Hücrelerindeki Sinyal Yolaklarını Hedefleyen Ajanlar

B hücre reseptörlerinin (BCR) devamlı ve tekrarlayıcı sinyalizasyonu ve bunu destekleyen çeşitli tirozin kinazlar, KLL hücrelerinin sağkalımında önemli bir rol oynamaktadır.(136-138) Bu BCR

ilişkili kinazlar (BAK'lar) arasında Bruton tirozin kinaz (BTK) ve Sınıf I fosfatidilinositol 3-kinaz (PI3K)'a karşı geliştirilmiş spesifik inhibitörler, B-hücreli lenfoproliferatif hastalıkların tedavisinde kazanımlar sağlamıştır.(138) Hücre içi sinyal yollarını hedefleyen ajanlar arasında idelalisib, ibrutinib ve lenalidomid yer alır.

Sınıf I fosfatidilinositol 3-kinazlar (PI3K), onkojenezle ilişkili hücre fonksiyonlarını kontrol eder.(139) PI3K'nin p110 delta izoformu (PI3K- δ), hematopotetik kök hücrelerine özgü, B-lenfosit proliferasyonunu ve sağkalımını sağlayan, KLL hastalarında da aktif olan izoformdur.(140) Idelalisib, doz ve zaman bağımlı olarak KLL hücre apoptozisini uyaran, fakat normal T-lenfositlerinde ve doğal katil (NK) hücrelerde apoptoza neden olmayan, antikor aracılı hücresel sitotoksiste aktivitesini koruyan, oral yoldan aktif selektif PI3K- δ inhibitörüdür.(2) Idelalisib, aynı zamanda KLL hücre kemotaksisini ve stromal hücrelerin altına göçünü engelleme, BCR sinyalizasyonu sonrası oluşan kemokin salınımının azaltılması ve AKT ile MAP kinaz (ERK) gibi lösemik hücre sağkalımıyla ilişkili sinyal yollarının inhibisyonunu da sağlar.(140) Idelalisibin faz 1 çalışmasında advers özelliklere sahip relaps/refrakter KLL hastalarının % 81'inde nodal yanıt alınmış, OR % 72, PSS ortalama 15.8 ay saptanmıştır; hastalarda en sık görülen grade ≥ 3 advers etkiler pnömoni (%20), nötropenik ateş (%11) ve ishal (%6) olmuştur.(141)

Bruton tirozin kinaz (BTK), NF-kB ve MAP kinazlar gibi B-lenfositlerin sağkalımına neden olan yolları uyarır.(142) Oral yoldan aktif BTK inhibitörü ibrutinib, bu yolları baskılayarak B-hücreli lenfomaların ve KLL hücrelerinin apoptozisini sağlar.(142) B-hücreli lenfoma, relaps/refrakter KLL ve yüksek riskli KLL hastalarında yapılan çalışmalarda ibrutinib ile uzun remisyon süreleri sağlanmış; fakat üst solunum yolunun viral enfeksiyonları ve geçici diyare gibi yan etkiler görülmüştür.(2) Bunlara rağmen hematolojik toksisite oranı sitotoksik tedavilere kıyasla düşüktür.(2) Güncel faz III çalışmaları arasından RESONATE-2 çalışması, ibrutinib monoterapisini yüksek risk KLL hastalarında ilk sıra tedavi seçeneği olarak kullanılabileceğini göstermiştir.(143) Genç ve fit hastalarda ibrutinib + ritüksimab kombinasyonu (IR), FCR rejimine kıyasla daha uzun PSS ve GSS saptanmıştır.(144) İbrutinib'in önemli bir dezavantajı, ilacın BTK'ya bağlanmasını zayıflatan BTK C481S mutasyonu ve PLCG2 mutasyonu nedeniyle tedaviye direnç gelişimidir.(2, 33) Acalabrutinib, potansiyel olarak daha selektif ve irreversibl bir BTK inhibitörü olup mevcut çalışmalarda yüksek cevap oranları vardır.(145)

Lenalidomid, myelodisplastik sendrom ve multipl myelomda terapötik etkinliği olan talidomid analogudur.(2) Özellikle del(17p) taşıyıcıları gibi yüksek risk KLL hastalarında etkili saptanmıştır.(146)

2.7.7-BCL-2 İnhibitörleri

B-hücreli lenfoma 2 proteini (Bcl-2), ilk olarak folliküler lenfomada t(14:18) translokasyonunda tanımlanmış, BCL2 geninde kodlanan proapoptotik ve sağkalımla ilişkili bir proteindir.(147, 148) KLL hücrelerinin sağkalımından, bu sürecin antiapoptotik proteinler lehine kayması sorumludur.(2) Venetoclax, Bcl-2 protein fonksiyonunu bloke ederek BCL2 bağımlı KLL hücre çoğalmasını engelleyen BH3-mimetik ajandır.(149) Venetoclax, del(17)p'li relaps/refrakter KLL hastalarında etkin ve tolere edilebilir saptanarak bu hasta grubunda onay almıştır.(107, 150) En önemli yan etkisi olan tümör lizis sendromunu (TLS) engellemek amacıyla haftalık doz artım şemasıyla doz kademeli yükseltilerek uygulanır; diğer önemli yan etkiler arasında anemi, trombositopeni, nötropeni ve infeksiyonlar yer alır.(149-151) TLS riski özellikle belirgin kitlesel tümörü olan (> 10 cm lenf düğümü) hastalarda daha yüksektir.(107) Güncel çalışmalarda venetoclax direncinden sorumlu BCL2-G101V mutasyonu tanımlanmıştır.(152)

2.7.8-Pembrolizumab ve Checkpoint İnhibitörleri

Programlanmış ölüm 1 (PD-1) yolağının, KLL'de T-lenfositlerin inhibisyonunda rol aldığını gösteren çalışmalar doğrultusunda, PD-1 blokan antikoru pembrolizumab ile relaps/refrakter KLL ve Richter transformasyonu (RT) geçirmiş KLL hastalarıyla yapılan faz 2 çalışmalarında PD-1 blokajının RT'li KLL hastalarında yararlı olabileceği saptanmıştır.(153)

2.7.9-CAR-T Hücreleri

KLL tedavisinde potansiyeli olan yeni bir tedavi seçeneği de, CAR-T lenfosit tedavisidir. Şimerik antijen reseptörleri (CAR) eksprese eden lentiviral vektör aracılığıyla B-hücre antijeni CD19'a bağlanan; ayrıca T-hücre kostimülatör reseptörü CD137 ve T-hücre antijen reseptörününün sinyal ileten parçası CD3-zeta ile modifiye edilmiş T lenfositler (CAR-T hücreleri) ile yapılmış çalışmalar umut vericidir.(154) Fakat KLL hastalarında görülen T-lenfosit tükenmişliği nedeniyle CAR-T hücre tedavilerinin etkin olmayacağı da düşünülmektedir.(155)

2.8 – KLL’DE T-LENFOSİTLERİN ROLÜ

2.8.1-Genel Bilgiler

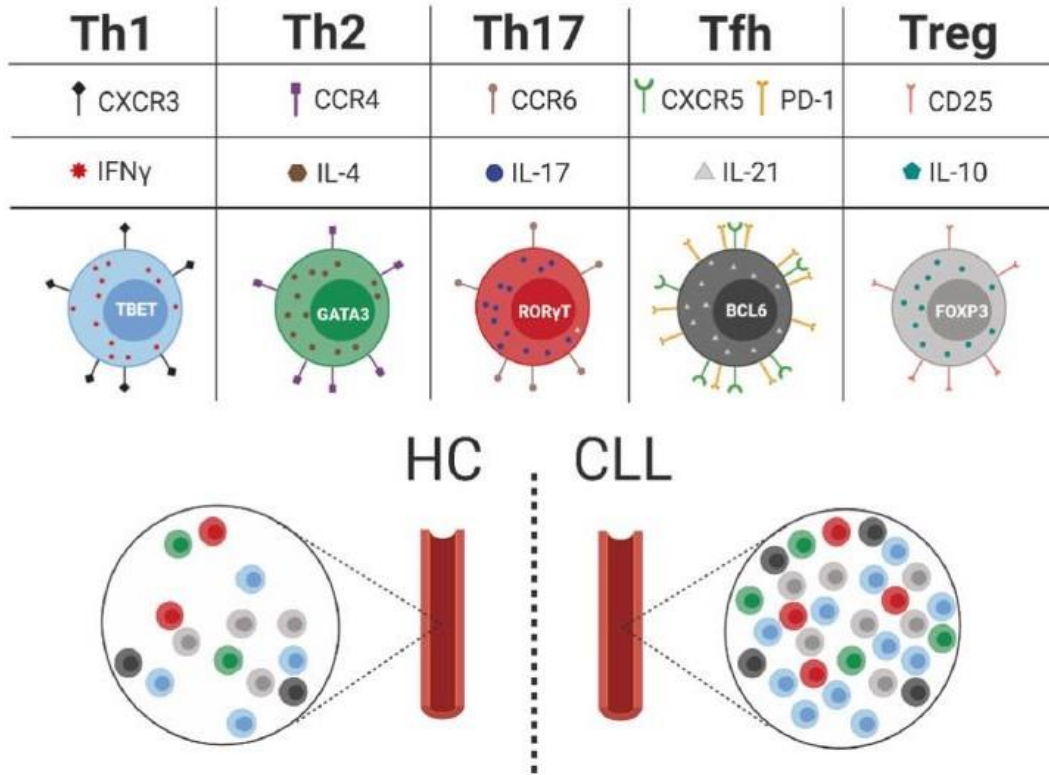
KLL hastalarında hem CD4 hem CD8 T-lenfosit sayılarında artış ilk kez 39 yıl önce bildirilmiştir.(156) KLL hastalarında T-lenfositlerin, lösemik B-lenfositleri uyarıcı etkisi mi, yoksa anti-tümöral etkisi mi olduğu konusu halen tartışmalıdır.(155) KLL hücreleri, diğer B hücrelerinden farklı olarak T-lenfositler ile aktive edici immün sinapslar kuramayan, antijen sunumu zayıf hücrelerdir.(157, 158) Ayrıca KLL hastalarının T-lenfosit yüzeylerinde birçok diğer kanserde gösterilen PD-1 gibi inhibitör reseptörün ekspresyonu vardır; bu nedenle T-lenfosit sayısında artışa rağmen bu hücrelerin fonksiyonel kapasitesinde ve etkinliğinde azalma ve özellikle sekonder lenfoid organlarda daha belirgin olan “T-lenfosit tükenmişliği” görülür.(155) Ayrıca in vitro hücre kültürü ve in vivo fare modeli çalışmalarında KLL hastalarından elde edilen T-lenfositlerin, KLL hücrelerinin gelişimini destekledikleri saptanmıştır.(159-161)

2.8.2-CD4 pozitif T-Lenfositler Alt Grupları

CD4+ T-hücreleri temelde konvansiyonel CD4+ T-lenfositleri (cCD4+) ve forkhead box protein P3 eksprese eden (FOXP3+) düzenleyici T-lenfositler (Treg) olarak ayrılır.(155) CD4+ T-lenfositlerin büyük çoğunluğunu, CD8+ T-lenfositler ve B-lenfositler gibi diğer immün sistem hücrelerini denetleyen çeşitli hücre içi patojenlere karşı bağışıklık yanıtı sorumlu yardımcı T-lenfositler (T-helper ya da Th) oluşturur.(162) Treg hücreleri ise ön planda immünsüpresyon ve diğer CD4+ T-lenfosit gruplarının aktivitesinin azaltılmasında rol oynar.(163) cCD4+ Th lenfositler, salgıladıkları özgün sitokinler ve fonksiyonlarına göre Th1, Th2 ve Th17 hücreler olarak 3 alt gruba ayrılır.(162, 164) KLL hastalarında sağlıklı popülasyona kıyasla hem Th1, hem Th2 hücrelerinde sayıca artış vardır; özellikle Th1 hücrelerindeki artış, progresif KLL hastalarında daha belirgindir; IL-17 eksprese eden Th17 hücrelerindeki artış daha ılımlıdır.(155) Fare modellerinde Th1 hücrelerinin IFN- γ ve antijen aracılı uyarılarla KLL hücrelerini aktive ettiği gösterilmiştir.(161, 165) Fakat benzer çalışmalarda Th1 sayısının azaltılmasının hastalık progresyonu üzerine bir etkisi saptanmamıştır.(155) Th2 hücreleri, IL-4 aracılığıyla lösemik hücrelerin proliferasyonunu ve apoptozdan kaçışını sağlar.(166) Üç ana Th grubuna ek olarak, lenfoid organlarda daha sık bulunan folliküler yardımcı T-lenfositler (Tfh) de tanımlanmıştır.(167). KLL hastalarında hem periferik kan hem de lenf dokularında Tfh hücre sayısında artış görülür; Tfh’lerin salgıladıkları IL-21 ile lösemik hücrelerde proliferasyon görülmesi, bu hücrelerinin tümör destekleyici rolü olduğunu düşündürmektedir.(168-171) KLL hastalarında özellikle lenf düğümlerinde bulunan Treg hücre sayısında da artış görülür.(155) Treg hücrelerden yüksek

seviyede IL-10, TGF-Beta ve CTLA-4 gibi aktivatör ve immünsüpresör sitokinler salınır.(155) Treg hücre sayısındaki artış, lösemik hücre yükü, ileri Rai ve Binet evreleri ve kötü genetik özellikler ile ilişkilidir; ayrıca Treg hücre sayısının ilk tedaviye kadarki süre (İTS) için bağımsız bir prediktör olduğu düşünülmektedir.(155) Fakat fare model çalışmalarında Treg yüzey belirteci CD25'e karşı geliştirilmiş monoklonal antikorlar, hastalık progresyonu engelleyememiştir.(172)

Figür 1 - CD4+ T-hücre Alt Grupları



T-hücreleri özgün yüzey markerleri: CXCR3, CCR4, CCR6, CXCR5, PD-1, CD25; salgılanan sitokinler: IFN- γ , IL-4, IL-17, IL-21, IL-10; transkripsiyon faktörleri: TBET, GATA3, ROR γ T, BCL6 ve FOXP3; HC: sağlıklı kontroller, CLL: KLL hastaları

Kaynak: Roessner PM, Seiffert M. T-cells in chronic lymphocytic leukemia: Guardians or drivers of disease? Leukemia. 2020;34(8):2012-24. Epub 2020/05/28. doi: 10.1038/s41375-020-0873-2.

2.8.3-CD4 pozitif T-Lenfositlerinin KLL Progresyonuna Etkileri

KLL hastalarında CD4+ T hücrelerinin sağlıklı kontrollere kıyasla daha güçlü aktive oldukları, özellikle antijenle karşılaşmamış naif T-lenfositlerde azalma ve antijen deneyimli hafıza ile efektör T-lenfositlerde zenginleşme olduğu bilinmektedir.(155) CD4+ T-lenfositlerin mutlak sayısındaki artış, PSS'de kısalma ile ilişkilidir.(173) Ayrıca KLL hastalarının CD4+ T-lenfositlerinde PD-1, CD160, Ig ve ITIM domain gibi inhibitör reseptörler ile eş zamanlı olarak HLA-DR gibi aktivatör belirteçler de daha yüksek düzeyde eksprese edilmektedir; ek olarak proliferasyon belirteci Ki-67 seviyesi KLL hastalarında daha yüksektir.(155) In-vitro ve fare modelli çalışmalarda KLL'de Th hücrelerden salınan sitokinlerin lösemik hücre sağkalımını ve proliferasyonunu arttırdığı saptanmış, bu nedenle bu hücrelerin lösemik hücreleri desteklediği düşünülmüştür.(155) In-vitro çalışmalarda, CD4+ T-lenfositlerde bulunan PD-1, ITIM domain gibi reseptörlerin inhibisyonu ile KLL hücrelerinde baskılanma gösterilmiştir.(160)

2.8.4-CD8 pozitif T-Lenfositlerin Genel Özellikleri

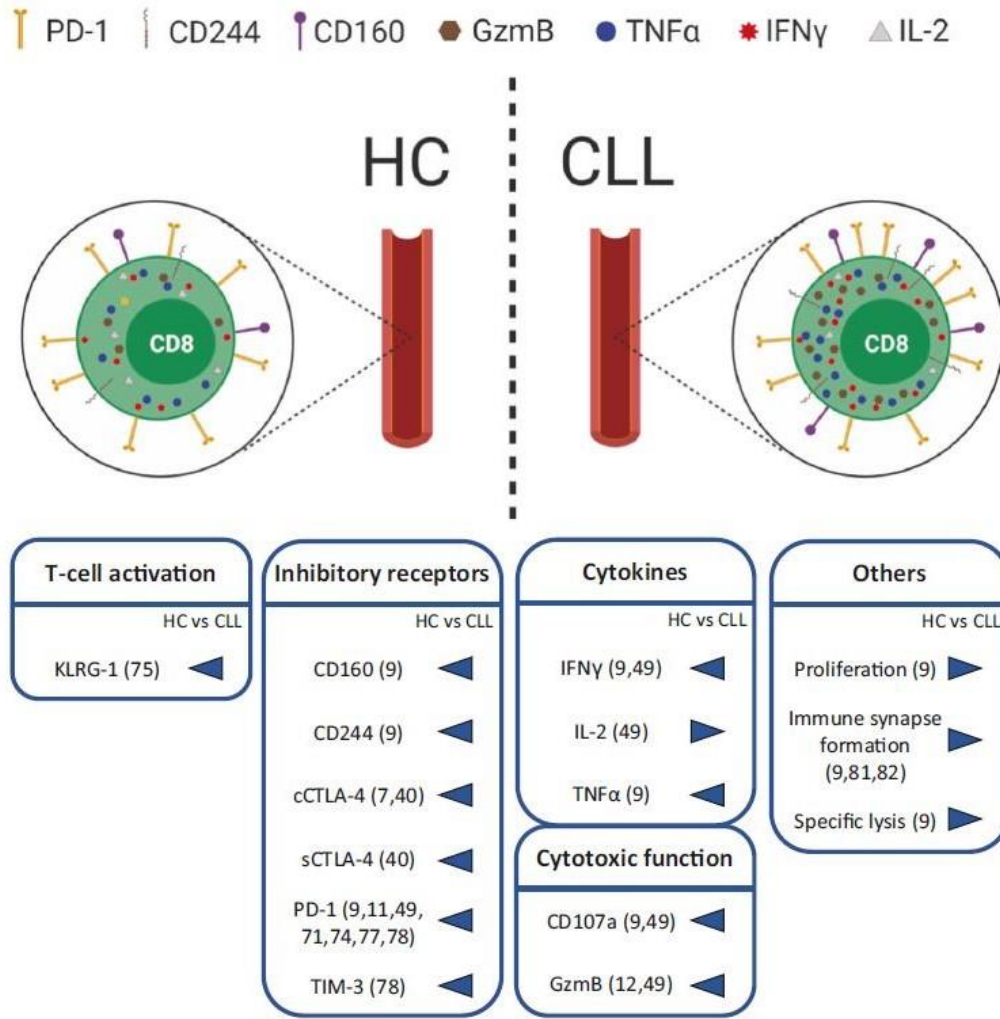
CD8+ T-lenfositler, viral enfeksiyonlar ve malignitelere karşı kazanılmış immün yanıtın sorumludur.(174) Bu hücreler, antijenik uyarım sonucu aktive olan hücre içi sinyal yolları aracılığıyla klonal ekspansiyona ve farklılaşmaya uğrayarak, fonksiyonel ve fenotipik olarak heterojen bir grup olan kısa ömürlü efektör hücrelere (SLEC) dönüşürler.(174) SLEC'lerden salgılanan perforinler, hedef hücre membranında delik açar; sonrasında sitoplazma içine saldıkları granzimler ile hedef hücrenin ölümü sağlanır.(175) Ayrıca SLEC'ler, FAS ligandına bağlanarak hedef hücre apoptozisini ve klirensini sağlarlar.(176) SLEC'lerin bir kısmı, akut enfeksiyon sonrası apoptoza uğrarken, bir kısmı da tekrar aynı antijenle karşılaşılması halinde hızlı immün yanıt oluşumunu sağlayan uzun ömürlü hafıza hücrelerine (T_M) dönüşürler.(174, 177)

2.8.5-CD8 pozitif T-Lenfositlerinin KLL Progresyonuna Etkileri

Kanser ve kronik enfeksiyon gibi sürekli antijen uyarımının olduğu tablolarda, akut dönemde antijen deneyimli efektör CD8+ T-lenfositlerin sayısında artış ile beraber uzun vadede IL-2 TNF-alfa ve IFN-γ gibi sitokin salınımında azalma sonucu, bu hücrelerin çoğalma kapasitesinde azalma, bir nevi "tükenmişlik" meydana gelmektedir.(155, 178). KLL hastalarında da, CD8+ T-lenfositlerde benzer bir süreç vardır. KLL hastalarının CD8+ T-lenfositlerinde hem HLA-DR ve CD69 gibi aktivasyonun belirteçleri, hem de PD-1, CD160, CD244, LAG-3, TIM-3, KLRG1 ve CTLA-4 gibi inhibitör reseptörlerinde artış vardır.(155, 178-181) Özellikle PD1+ CD8+ T-lenfosit sayısı, KLL hastalık yükü ile

doğrudan ilişkilidir.(181, 182) T-lenfosit-TCR etkileşimi çalışmalarında, CD8+ T lenfositlerin proliferasyon kapasitesinde azalma ve hücre lizisi görürmesi, KLL gelişimi sırasında immün yanıtta bozulmanın göstergesidir.(183) Gen ekspresyon analizi çalışmalarında, KLL hastalarının CD8+ T-lenfositlerinde aktin polimerizasyonu, vezikül formasyonu, hücre içi vezikül transferi ve sitotoksiste ilişkili fonksiyonlarda bozukluk saptanmıştır.(184) Başka bir çalışmada, sağlıklı T-lenfositler KLL hücreleri ile beraber 48 saat kültürde tutulduktan sonra hem CD4+ hem CD8+ T-lenfositlerde immün sinaps formasyonunda bozulma saptanmıştır.(158) CD200, PD-L1 ya da CD276 gibi inhibitör reseptörlerin monoklonal antikolarla inhibisyonu, T-lenfositlerde tekrardan immün sinaps formasyonu gözlemlenmiştir.(185) KLL’de CD8+ T lenfositlerde inhibitör reseptörlerde artış ve bozulmuş immün sinaps formasyonuna rağmen sitokin salınımında artış görülür.(155, 181) Ayrıca KLL hastalarının periferik kan ve lenf düğümü CD8+ T lenfositlerine bakıldığında, lenf düğümlerindeki CD8+ T lenfositlerde inhibitör reseptör ekspresyonunda artış ve sitokin üretiminde azalma daha belirgindir.(167, 171, 181) Sonuçta KLL hastalarında lösemik hücre antijenlerinin uyarısıyla CD8+ T-lenfosit sayısında artışa rağmen fonksiyonlarında azalma nedeniyle hastalık progresyonu kontrol edilememektedir; bu durum özellikle lenf düğümlerinde daha belirgindir.(155) Son olarak, KLL hastalarında hem CD4 hem CD8 T-lenfositlerde artış var iken, rölatif olarak CD8+ T-lenfositlerde daha fazla yükselme, dolayısıyla CD4/CD8 oranında inversiyon ($CD4/CD8 < 1$) bildirilmiştir.(156, 180, 186)

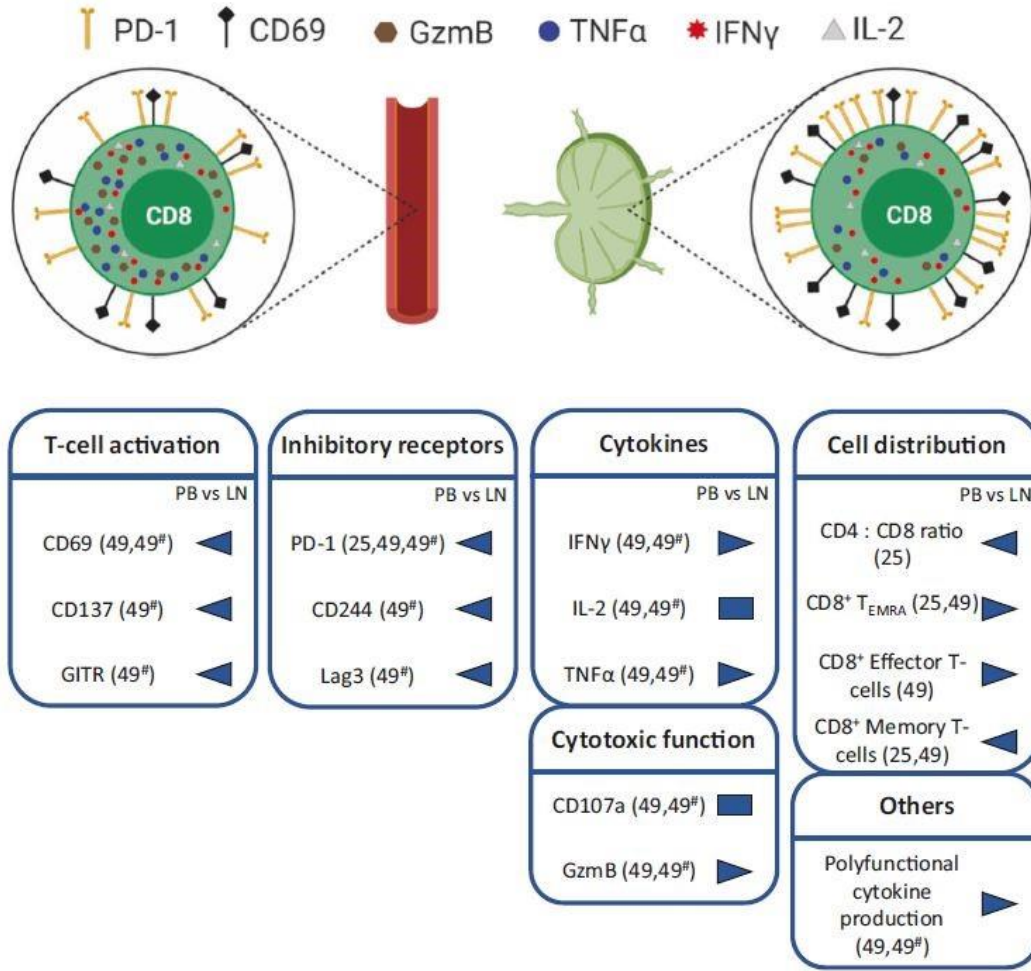
Figür 2 - Sağlıklı Kontroller ve KLL Hastalarında Periferik Kan CD8+ T-lenfositlerinin Özellikleri



KLL hastalarının periferik kanlarındaki CD8+ T-lenfositlerde, sağlıklı kontrollere kıyasla daha fazla T-hücre aktivatör ve inhibitör reseptör ekspresyonu, daha fazla TNF-alfa ve IFN-γ salınımı ve daha fazla sitotoksik fonksiyon görülür. Fakat proliferasyon, immün sinaps formasyonu, lizis aktiviteleri ve IL-2 salınımı daha azdır. HC: sağlıklı kontroller, CLL: KLL hastaları

Kaynak: Roessner PM, Seiffert M. T-cells in chronic lymphocytic leukemia: Guardians or drivers of disease? Leukemia. 2020;34(8):2012-24. Epub 2020/05/28. doi: 10.1038/s41375-020-0873-2.

Figür 3 - KLL Hastalarında Periferik Kan ve Lenf Düğümündeki CD8+ T-lenfositlerinin Özellikleri



Periferik kan CD8+ T-lenfositlerine kıyasla, lenf düğümündeki CD8+ T-lenfositlerindeki tükenmişlik bulguları daha ağırdır. Lenf düğümündeki CD8+ T-lenfositlerde daha fazla inhibitör reseptör ekspresyonu, daha az sitotoksik fonksiyon ve daha az sitokin salınımı görülür. CD4/CD8 oranı, lenf düğümünde daha yüksektir.

Kaynak: Roessner PM, Seiffert M. T-cells in chronic lymphocytic leukemia: Guardians or drivers of disease? Leukemia. 2020;34(8):2012-24. Epub 2020/05/28. doi: 10.1038/s41375-020-0873-2.

2.8.6-KLL Tedavilerinin T-lenfositlere Etkisi

Kanser tedavilerinde kullanılan kemoterapötik ajanların, sitopeniye ve enfeksiyonlara oluşturdıkları yatkınlık bilinmektedir. KLL tedavisinde ilk sırada tercih edilen kemoterapötik ajanlar, erken dönemde T-lenfosit sayısında ciddi azalmaya neden olurlar.(157) Fludarabin tedavisi ile ağırlık olarak CD4 T-lenfositler olmak üzere bütün T-lenfositlerde azalma olur; tedavi sonrası T-lenfosit sayısı 2 yıla kadar normal değerlerin altında seyredebilir.(187, 188) Fludarabin ile tek başına görülen bu etkiler, kombinasyon tedavilerinde de görülmektedir. FCR ve BR ile de ağırlıklı olarak CD4 T-lenfositlerde azalma ve uzun süreli düşüklük görülür; fakat kemoterapötik ajanların NK hücrelerine etkisi gösterilmemiştir.(189, 190) Ayrıca Treg'lerin de fludarabin içeren rejimler ile azaldığı bildirilmiştir.(191) Tedavi sonrası yüksek ortalama CD4 sayılarının progresif minimal rezidüel hastalıkla ilişkili saptanması, CD4 T-lenfositlerin hastalık kontrolünde olumsuz etkisi olduğunu düşündürmektedir.(189) Ibrutinib tedavisi sonrası kemik iliği ve lenfatik organlardan kana geçen KLL hücrelerine bağlı geçici lenfositoz dönemini takiben, hem CD4 hem CD8 T-lenfosit sayılarında azalma görülür.(192-194) Ayrıca ibrutinib ile T-lenfositlerdeki aktivasyon ve inhibisyon belirteçlerinde azalma da görülür.(193, 194) Idelalisib ile yapılan in vitro çalışmalarda T-lenfositlerin sitokin salınımında inhibisyon, ayrıca idelalisib ilişkili hepatotoksiteli hastalarda da Treg sayılarında azalma bildirilmiştir.(195-197) Venetoclax ile aktive T-lenfosit sayısı ve T-lenfosit fonksiyonları korunurken, naif T-lenfosit ve Treg sayısında azalma gösterilmiştir.(198) Ayrıca PD-1+ CD8+ T-lenfosit sayısında ve TNF-alfa ile IFN- γ salgılayan CD8 T-lenfosit sayılarında azalma da görülmüştür.(199) Son olarak Lenalidomid'in KLL hücreleri ile T-lenfositler arasında immün sinaps formasyonunu düzelterek T-hücre aracılı bağışıklığı güçlendirebileceğini gösterilmiştir.(158)

3 – MATERYAL VE METOD

3.1-Hasta Seçimi

Çalışmamızda, İstanbul Tıp Fakültesi Hematoloji Bilim Dalı'nda Eylül 1998 ile Eylül 2019 yılları arasında takip edilmiş, 18 yaşının üstünde 361 KLL hastasının dosyası incelendi. Tanı öncesi ve tanı sırasında sekonder hematolojik malignitesi olan hastalar, akım sitometrik incelemesi olmayan, dosyalarındaki bilgileri eksik olan hastalar çalışmaya alınmadı. Tanı sırasında ve tedavi öncesi periferik kan akım sitometrik incelemelerinde T-lenfosit alt gruplarına bakılmış 83 KLL hastası saptandı ve çalışmaya alındı.

3.2-Yöntem

Seçilen hastalarının dosyaları ve kayıt sistemindeki laboratuvar tetkikleri geriye dönük olarak Eylül-Ekim 2020 tarihleri arasında incelendi. Hastaların tanı sırasındaki demografik bilgileri, komorbid hastalıkları, tanı sırasındaki klinik bulguları, laboratuvar sonuçları, sitogenetik sonuçları, tanı sırasındaki akım sitometrik incelemelerinde T-lenfosit alt grupları; evre, progresyon, ilk tedaviye başlangıç ve son poliklinik kontrolü tarihleri, progresyon türleri, tedavi rejimleri ve tedaviye cevapları, sağkalımları ve advers olaylar not edildi. Hastaların tanı sırasındaki Rai ve Binet evreleri, Ekim 2020'ye kadarki genel sağkalım süreleri, progresyonsuz sağkalım süreleri ve ilk tedaviye kadarki süreleri hesaplandı. Çalışmamızın birincil sonlanım noktaları, T-lenfosit alt gruplarına göre tanı sırasındaki progresyon durumu, progresyonsuz sağkalım süresi, sağkalım durumu ve genel sağkalım süresi olarak belirlendi. Çalışmamızın ikincil sonlanım noktaları, T-lenfosit alt gruplarının tanı evresi ve prognostik faktörlerle ilişkisi olarak belirlendi.

3.3-İstatistiksel Analiz

Verilerin tanımlayıcı istatistiklerinde ortalama, standart sapma, medyan, minimum-maksimum, oran ve frekans değerleri kullanıldı. Değişkenlerin dağılımı Kolmogorov-Smirnov testi ile ölçüldü. Nicel bağımsız değişkenlerin analizinde Kruskal-Wallis testi ile Mann-Whitney U tesleri kullanıldı. Nitel bağımsız değişkenlerin analizinde ki-kare testi kullanıldı. Korelasyon analizinde Spearman analizi kullanıldı. Sağkalım analizinde Cox-regresyon (tek değişkenli-çok değişkenli) ve Kaplan-Meier kullanıldı. p -değeri < 0.05 istatistiksel anlamlı kabul edildi. Verilerin analizinde IBM SPSS 27.0 programı kullanıldı.

4 – BULGULAR

4.1-Hastaların Tanı Sırasındaki Demografik, Klinik ve Laboratuvar Özellikleri

Çalışmaya dahil edilen 83 hastanın 51'i (%61.4) erkek, 32'si (%38.6) kadın, erkek/kadın oranı 1.6 olarak saptandı. Ortalama yaş 61.9 ± 10.6 (kadınlarda 62.2, erkeklerde 61.5) saptandı. Tanı anında 52 hastanın (%62.7) 65 yaşının altında, 31 hastanın (%37.3) 65 yaşı ve üzerinde olduğu saptandı. Hastaların ortalama takip süresi 73.7 ± 58.6 ay saptandı.

Tablo 15 - Hastaların Tanı Sırasındaki Demografik Özellikleri

		Ortalama $\pm$ Standart Sapma	Minimum-Maksimum
Yaş (yıl)		61.9 $\pm$ 10.6	40-84
Takip süresi (ay)		73.7 $\pm$ 58.6	1-243
		Sayı (n)	Yüzde (%)
Cinsiyet	Erkek	51	61.4
	Kadın	32	38.6

Hastaların tanı sırasındaki kronik hastalıklarına bakıldığında 27 hastada (%32.5) herhangi bir kronik hastalık yoktu. 23 hastada koroner arter hastalığı, 21 hastada hipertansiyon, 16 hastada diyabet, sekiz hastada benign prostat hipertrofisi, yedi hastada tiroid hastalığı, altı hastada kronik Hepatit B enfeksiyonu, altı hastada kronik obstrüktif akciğer hastalığı olduğu görüldü. Hasta popülasyonundaki diğer hastalıklar arasında romatoid artrit, Behçet hastalığı, amiloidoz, iskemik serebrovasküler hastalık, epilepsi ve kronik gastrit mevcuttu.

Tanı sırasında 59 hastada (%71.1) B semptomu yok iken, 24 hastada (%28.9) B semptomu vardı. 40 hastada (%48.2) herhangi bir fizik muayene bulgusu yok iken, 21 hastada (%25.3) lenfadenopati, beş hastada (%6) hepato/splenomegali, 17 hastada (%20.5) hem lenfadenopati hem hepato/splenomegali vardı. Tanı sırasında beş hastada (%6) otoimmün anemi ya da trombositopeni vardı. Modifiye Rai evrelemesine göre tanı sırasında 40 hasta (%48.2) düşük riskli, 38 hasta (%45.8) orta riskli, beş hasta (%6) yüksek riskli grubundaydı. Binet evrelemesine göre 58 hasta (%69.9) Binet A, 20 hasta (%24.1) Binet B, beş hasta (%6) Binet C grubundaydı.

Tablo 16 - Hastaların Tanı Sırasındaki Klinik Özellikleri

		Sayı (n)	Yüzde (%)
Tanı Sırasında B Semptomları	Yok	59	71.1
	Var	24	28.9
Fizik Muayene Bulguları	Yok	40	48.2
	LAP	21	25.3
	HSM	5	6.0
	HSM+LAP	17	20.5
Otoimmün Anemi/Trombositopeni	Yok	78	94
	Var	5	6
Rai Evresi	Evre 0	40	48.2
	Evre I+II	38	45.8
	Evre III+IV	5	6.0
Binet Evresi	A	58	69.9
	B	20	24.1
	C	5	6.0

27 hastanın tanı sırasında gamma globulin düzeyine ulaşılamadı. 43 hastanın (%51.8) gamma globulin düzeyi normal aralıkta saptandı; sekiz hastada (%9.6) hipogammaglobulinemi, beş hastada (% 6) hipergammaglobulinemi saptandı. 38 hastanın tanı sırasında Beta-2 mikroglobulin düzeyine ulaşılamadı. 26 hastanın (%31.3) Beta-2 mikroglobulin düzeyi ≤ 3.5 mg/L, 19 hastanın (%22.9) > 3.5 mg/L (medyan 3.10 mg/L) saptandı. Sekiz hastanın (%9.6) CLL-IPi prognostik skoru hesaplanabildi. İki hasta orta riskli, beş hasta yüksek riskli, bir hasta da çok yüksek riskli saptandı.

Tablo 17 - Hastaların Tanı Sırasındaki Laboratuvar Değerleri

	Ortalama $\pm$ Standart Sapma	Minimum-Maksimum
Hgb (g/dL)	13.14 $\pm$ 1.79	6.7-16.2
PLT (/ μ L)	200,233 $\pm$ 69,982	37,000-385,000
WBC (/ μ L)	46,020 $\pm$ 38,355	8,600-231,000
Lenfosit sayısı (/ μ L)	33,193 $\pm$ 34,464	3,700-209,000
Lenfosit oranı (%)	70.6 $\pm$ 14.6	34.8-97.00
LDH (U/L)	315.5 $\pm$ 133.9	119-795
Gamma globulin (g/dL)	1.05 $\pm$ 0.38	0.45-2.5
β -2 mikroglobulin (mg/L)	3.93 $\pm$ 2.66	0.95-14.90

4.2-Hastaların Tanı Sırasındaki Kromozomal ve Sitogenetik Özellikleri

83 hastanın 42'sinin kromozomal ve sitogenetik test sonuçlarına ulaşamadı. 16 hastada (%19.3) del(13q) pozitif, altı hastada (%7.2) trizomi 12 pozitif, dört hastada (%4.8) del(17p) pozitif, üç hastada (%3.6) del(11q) pozitif saptandı. 11 hastada (%13.3) IGHV mutasyonu negatif, bir hastada (%1.2) pozitif saptandı. TP53 mutasyonu sadece bir hastada (%1.2) saptandı; bu hastada aynı zamanda del(17p) pozitif saptandı.

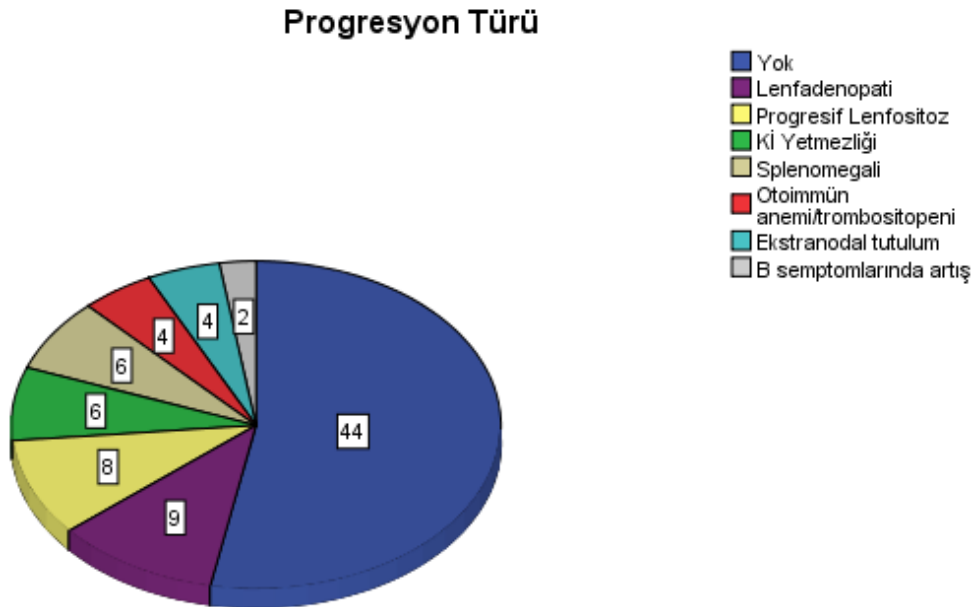
Tablo 18 - Hastaların Tanı Sırasındaki Kromozomal ve Sitogenetik Özellikleri

		Sayı (n)	Yüzde (%)
del(13q)	Bilinmiyor	47	56.6
	Yok	20	24.1
	Var	16	19.3
Trizomi 12	Bilinmiyor	51	61.4
	Yok	26	31.3
	Var	6	7.2
del (11q)	Bilinmiyor	49	59.0
	Yok	31	37.3
	Var	3	3.6
del (17p)	Bilinmiyor	44	53.0
	Yok	35	42.2
	Var	4	4.8
TP53 mutasyonu	Bilinmiyor	68	81.9
	Yok	14	16.9
	Var	1	1.2
IGHV mutasyonu	Bilinmiyor	71	85.5
	Yok	11	13.3
	Var	1	1.2

4.3-Hastaların Klinik Seyri Sırasındaki Progresyon, Tedavi ve Sağkalım Özellikleri

Hastaların ortalama progresyonsuz sağkalım süreleri 50.87 ± 53.02 ay (0-242 ay) saptandı. 44 hastada (%53), takipleri boyunca progresyon saptanmadı. Progresif hastalığa sahip 39 hastadan (%47) dokuz hastada (%10.8) lenfadenopati, sekiz hastada (%9.6) progresif lenfositoz, altı hastada (%7.2) kemik iliği yetmezliği, altı hastada (%7.2) splenomegali, dört hastada (%4.8) otoimmün anemi/trombositopeni, dört hastada (%4.8) ektranodal tutulum ve iki hastada (%2.4) B semptomlarında artış saptandı.

Figür 4 - Progresyon Türü



Takipleri boyunca 46 hastanın (%55.4) tedavisiz izlendiği, 23 hastanın (%27.7) tek rejimle, 14 hastanın (%16.9) çok rejimle tedavi edildiği saptandı. Ortalama ilk tedaviye kadarki süre (İTS) 33.4 ± 34.3 ay (1-100 ay, medyan: 23.0) saptandı. İlk tedavi sonrası 15 hastada tam yanıt, altı hastada parsiyel yanıt alındı; sekiz hastada (% 9.6) tedavi cevabı alınamadı; sekiz hastanın tedaviye yanıtı öğrenilemedi. Dokuz hastada (% 10.8) relaps saptandı. Relaps türlerine bakıldığında dört hastada lenfadenopati, üç hastada kemik iliği yetmezliği, bir hastada otoimmün anemi ve ya trombositopeni ve bir hastada B semptomlarında artış saptandı. 14 hastada (% 16.9) ikinci sıra tedavi rejimlerine, yedi hastada (% 8.4) üçüncü sıra ve ileri tedavi rejimlerine geçildiği saptandı. Bütün hastalar arasında ibrutinib/idelalisib kullanılan altı hasta (% 7.2), venetoclax kullanılan üç hasta (% 3.6) saptandı.

Tablo 19 - Tedavi Alan Hastalardaki Başlangıç ve İkinci Sıra Rejimleri

Başlangıç Rejimi	Sayı (n)	Yüzde (%)	İkinci Tedavi Rejimi	Sayı (n)	Yüzde (%)
Siklofosfamid	12	14.5	Siklofosfamid	4	4.8
Siklofosfamid+Prednol	3	3.6	Siklofosfamid+Prednol	1	1.2
FCR	5	6.0	FCR	1	1.2
BR	5	6.0	BR	1	1.2
Klorambusil+Prednol	6	7.2	Ritüksimab	1	1.2
Klorambusil+Ritüksimab	1	1.2	CVP	2	2.4
Bendamustin+Obinutuzumab	1	1.2	R+CHOP	1	1.2
COP	3	3.6	CHOP	1	1.2
İbrutinib	1	1.2	İbrutinib	2	2.4

Tablo 20 - Üçüncü Sıra Rejimler

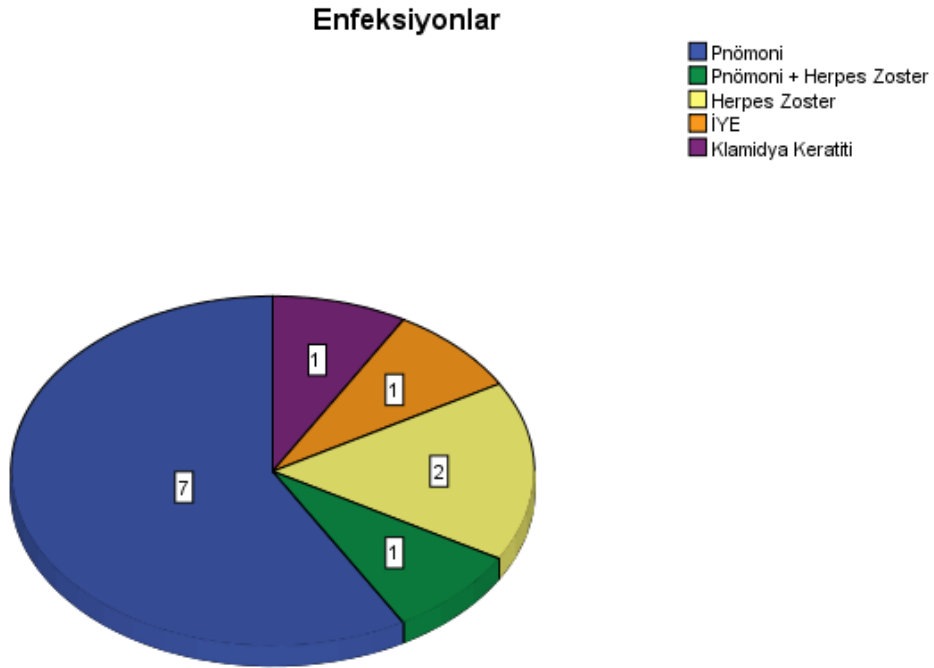
Üçüncü Tedavi Rejimi	Sayı (n)	Yüzde (%)
İbrutinib	2	2.4
FCR	1	6.0
BR	1	6.0
ABVD	1	1.2
Bendamustin+Obinutuzumab	1	1.2
Venetoclax	1	1.2

Hastaların ortalama genel sağkalım süresi 87.64 ± 59.19 ay (1-263 ay) saptandı. Çalışmanın tamamlandığı tarih itibarıyla 63 hastanın (%75.9) sağ olduğu, 20 hastanın (% 24.1) vefat ettiği saptandı.

4.4-Hastaların Klinik Seyri Sırasındaki Komplikasyonları ve İkincil Maligniteler

Hastalardaki komplikasyonlara bakıldığında dört hastada (%4.8) hastalık seyri sırasında sitotoksik ajan kullanımına bağlı nötropeni geliştiği saptandı. 13 hastada (%15.7) dokümente edilmiş enfeksiyon olduğu saptandı. Sekiz hastanın (%9.6) pnömoni olduğu, bu hastalardan bir kişide Covid-19 pnömonisi öyküsü, FCR rejimi alan bir kişide de nötropeni ve tekrarlayan pnömoni nedeniyle IVIG tedavi öyküsü vardı. Üç hastada (%3.6) herpes zoster enfeksiyonu, bir hastada (%1.2) idrar yolu enfeksiyonu, bir hastada da klamidya keratiti öyküsü vardı.

Figür 5 - Hastalık Seyri Sırasındaki Enfeksiyonlar



Sadece bir hastada Richter transformasyonu geliştiği ve tedavide ABVD rejimi uygulandığı saptandı. Yedi hastada (%8.4) ikincil malignite olduğu saptandı. Üç hastada (%3.6) gastrointestinal sistem kanserleri, bir hastada (%1.2) akciğer kanseri, bir hastada (%1.2) mesane kanseri, bir hastada (%1.2) meme kanseri, bir hastada (%1.2) prostat kanseri saptandı.

4.5-Hastaların Tanı Sırasındaki Akım Sitometri Sonuçları

Tablo 21 - Tanıda Sırasında Yapılan Akım Sitometride Seçilmiş Alt Grupların Özellikleri

	Ortalama $\pm$ Standart Sapma	Minimum-Maksimum	Medyan
CD3 %	16.2 $\pm$ 12.9	1.0-57.7	12.5
CD4 %	9.5 $\pm$ 7.1	0.7-31.0	7.6
CD8 %	9.3 $\pm$ 9.9	0.3-62.9	5.8
CD7 %	20.7 $\pm$ 15.4	2.7-75.0	18.0
HLA-DR %	80.5 $\pm$ 16.8	9.4-98.4	85.3
CD7+HLA-DR %	5.7 $\pm$ 4.5	1.4-23.7	4.4
MBC (CD5+CD19) %	71.6 $\pm$ 20.46	0.1-97.8	76.6
CD38 %	14.2 $\pm$ 18.1	0.1-80.0	8.1
Mutlak CD4 # (/µL)	2,269.5 $\pm$ 2,379.7	55.5-15,542.7	1,560
Mutlak CD8 # (/µL)	2,103.8 $\pm$ 2,833.1	88.8-19,144.0	1,281
Mutlak CD7 # (/µL)	4,703.7 $\pm$ 5,737.8	162.8-35,964.5	2,956.5
CD4/CD8	1.41 $\pm$ 1.04	0.27-7.55	1.2
CD4/MBC	.83 $\pm$ 5.52	.01-46.0	.11
CD8/MBC	.33 $\pm$ 1.33	.00-11.0	.08
CD7/MBC	.80 $\pm$ 3.55	.03-28.0	.25

Hastaların tanı sırasında yapılan akım sitometri tetkiklerinde T-lenfosit alt gruplarının oranı (CD3, CD4, CD8, CD7) ve CD7+HLA-DR birlikte ekspresde eden hücre oranı incelendi. CD4, CD8 ve CD7 oranlarının lenfosit sayısı ile çarpımı ile mutlak sayıları hesaplandı. Ek olarak CD4/CD8 oranı, ve T-lenfosit alt grup oranlarının malign B hücre (MBC) yüzdelere (CD5+CD19) oranı hesaplandı.

Kadın ve erkek hastalar arasında T-lenfosit alt gruplarının akım sitometri yüzdeleri, mutlak sayıları ve hesaplanan oranlar arasında anlamlı fark saptanmadı. *Erkeklerde CD4/CD8 < 1 olan hasta sayısı (n: 22, % 43.1), kadınlardan (n: 6, % 18.8) anlamlı olarak daha yüksek saptandı (p: 0.022).* Yaş gruplarına (0-64 yaş ile $\geq$ 65 yaş), Rai evresine (Düşük risk ile orta-yüksek risk), Binet evresine (Binet A ile Binet B+C), takip boyunca enfeksiyon ve malignite gelişim durumuna göre hastalar arasında T-lenfosit alt grup parametreleri açısından anlamlı fark saptanmadı.

Tablo 22 - Modifiye Rai Evresine Göre T-Lenfosit Alt Grupları

	Düşük Risk Rai Evresi		Orta ve Yüksek Risk Rai Evresi		p
	Ort.±ss/n-%	Medyan	Ort.±ss/n-%	Medyan	
CD3 Yüzdesi	18,43 ± 14,49	14,20	14,18 ± 11,11	9,20	0,229 ^m
CD4 Yüzdesi	10,47 ± 7,64	8,90	8,67 ± 6,46	5,60	0,247 ^m
CD8 Yüzdesi	11,32 ± 12,59	6,75	7,43 ± 5,99	5,20	0,264 ^m
Mutlak CD4 #	2372,42 ± 2635,65	1640,00	2163,70 ± 2117,06	1515,30	0,708 ^m
Mutlak CD8 #	2357,63 ± 3380,83	1428,00	1842,88 ± 2148,73	1254,85	0,791 ^m
Mutlak CD7 #	5402,67 ± 6610,26	3590,00	4004,82 ± 4719,57	2555,40	0,110 ^m
CD4/MBC	0,20 ± 0,19	0,11	1,45 ± 7,75	0,08	0,337 ^m
CD8/MBC	0,24 ± 0,41	0,92	0,42 ± 1,84	0,06	0,343 ^m
CD7/MBC	0,43 ± 0,41	0,24	1,12 ± 4,83	0,25	0,314 ^m
CD4/CD8	1,35 ± 0,79	1,22	1,46 ± 1,23	1,20	0,884 ^m
CD4/CD8	< 1	14 35,0%	14 32,6%		0,814 ^{X²}
	≥ 1	26 65,0%	29 67,4%		
HLA Yüzdesi	77,98 ± 17,14	83,80	82,82 ± 16,27	88,50	0,116 ^m
CD7 Yüzdesi	23,36 ± 16,75	18,10	18,32 ± 13,75	14,50	0,269 ^m
CD7 ve HLA Toplam	6,22 ± 5,17	5,70	4,93 ± 3,16	3,80	0,641 ^m
CD38 Yüzdesi	13,16 ± 10,98	12,60	14,44 ± 19,92	7,95	0,655 ^m

^m Mann-whitney u test/ ^{X²} Ki-kare test

Tablo 23 – Binet Evresine Göre T-Lenfosit Alt Grupları

	Binet Evre A		Binet Evre B+C		p
	Ort.±ss/n-%	Medyan	Ort.±ss/n-%	Medyan	
CD3 Yüzdesi	16,83 ± 12,84	12,95	14,84 ± 13,37	9,20	0,290 ^m
CD4 Yüzdesi	9,85 ± 7,21	8,10	8,82 ± 6,81	6,70	0,430 ^m
CD8 Yüzdesi	9,91 ± 10,83	6,50	7,88 ± 7,21	4,70	0,323 ^m
Mutlak CD4 #	2269,40 ± 2339,61	1600,00	2269,70 ± 2535,54	1533,00	0,733 ^m
Mutlak CD8 #	2235,41 ± 2934,67	1436,80	1777,83 ± 2603,39	1225,80	0,295 ^m
Mutlak CD7 #	5027,22 ± 5812,74	3325,30	3948,96 ± 5648,94	2468,20	0,093 ^m
CD4/MBC	0,18 ± 0,18	0,11	2,32 ± 10,01	0,12	0,878 ^m
CD8/MBC	0,20 ± 0,35	0,85	0,64 ± 2,38	0,06	0,667 ^m
CD7/MBC	0,40 ± 0,37	0,25	1,57 ± 6,06	0,21	0,667 ^m
CD4/CD8	1,39 ± 1,08	1,25	1,44 ± 0,96	1,18	0,265 ^m
CD4/CD8	< 1	20 34,5%	8 32,0%		0,526 ^{X²}
	≥ 1	38 65,5%	17 68,0%		
HLA Yüzdesi	79,88 ± 15,62	85,10	81,86 ± 19,59	88,10	0,214 ^m
CD7 Yüzdesi	23,01 ± 16,78	18,10	15,88 ± 10,49	13,15	0,122 ^m
CD7 ve HLA Toplam	6,04 ± 4,78	5,70	4,79 ± 3,60	3,80	0,403 ^m
CD38 Yüzdesi	14,65 ± 14,22	9,40	13,71 ± 21,76	6,80	0,356 ^m

^m Mann-whitney u test/ ^{X²} Ki-kare test

4.6-T-lenfosit Alt Grupları ve Beta-2 Mikroglobulin

Beta-2 mikroglobulin > 3.5 olan hastalarda CD3 yüzdesi ve CD4 yüzdesi, Beta-2 mikroglobulin ≤ 3.5 olan gruptan anlamlı olarak düşük saptandı (p: 0.046 ve p: 0.022). Beta-2 mikroglobulin > 3.5 olan grupta CD8 yüzdesi daha düşük olsa da istatistiksel anlamlı saptanmadı (p: 0.083). Her iki grupta CD7 yüzdesi, CD7+HLA-DR yüzdesi, T-lenfosit alt gruplarının mutlak sayıları ve hesaplanan oranlar arasında fark saptanmadı. *Korelasyon analizinde, Beta-2 mikroglobulin ile CD4 yüzdesi arasında anlamlı negatif korelasyon gözlemlendi. (r: -0.315, p: 0.035).* CD3 yüzdesi ve CD8 yüzdesi ile de anlamlı düzeye yakın (p: 0.052 ve p:0.062) negatif korelasyon saptandı. Diğer parametreler ile Beta-2 mikroglobulin düzeyi arasında anlamlı korelasyon saptanmadı.

Tablo 24 - Beta-2 Mikroglobulin ve T-Lenfosit Alt Grupları

	B2 Mikroglobulin ≤ 3.5		B2 Mikroglobulin > 3.5		p
	Ort.±ss/n-%	Medyan	Ort.±ss/n-%	Medyan	
CD3 Yüzdesi	16,33 ± 10,30	15,65	10,45 ± 6,91	8,10	0,046^m
CD4 Yüzdesi	10,14 ± 6,27	10,20	6,23 ± 3,89	4,80	0,022^m
CD8 Yüzdesi	9,79 ± 11,81	7,55	5,72 ± 4,41	4,60	0,083 ^m
Mutlak CD4 #	2169,35 ± 2331,77	1537,70	2066,57 ± 1697,41	1324,80	0,877 ^m
Mutlak CD8 #	2177,58 ± 2932,80	1180,80	1680,95 ± 1834,44	1137,60	0,700 ^m
Mutlak CD7 #	4799,63 ± 5508,45	3402,55	3741,56 ± 4213,59	2611,20	0,305 ^m
CD4/MBC	0,19 ± 0,18	0,16	2,64 ± 10,82	0,06	0,103 ^m
CD8/MBC	0,22 ± 0,45	0,11	0,69 ± 2,57	0,07	0,133 ^m
CD7/MBC	0,36 ± 0,35	0,26	1,87 ± 6,74	0,22	0,318 ^m
CD4/CD8	1,42 ± 0,80	1,26	1,36 ± 0,80	1,29	0,713 ^m
CD4/CD8	< 1	7	26,9%	7	36,8%
	≥ 1	19	73,1%	12	63,2%
					0,478 ^{X²}
HLA Yüzdesi	80,32 ± 15,10	84,60	84,64 ± 19,76	89,60	0,091 ^m
CD7 Yüzdesi	19,69 ± 11,33	18,45	17,01 ± 16,96	17,00	0,218 ^m
CD7 ve HLA Toplam	5,27 ± 2,92	4,80	4,03 ± 2,48	3,25	0,374 ^m

^mMann-whitney u test/ ^{X²} Ki-kare test

4.7-T-lenfosit Alt Grupları ve Tedavi

Kruskal-wallis testinde multipl tedavili grupta CD7 yüzdesi, CD4/MBC oranı, CD8/MBC oranı ve CD7/MBC oranı, tedavisiz gruptan anlamlı olarak daha düşük saptandı (p: 0.026, p: 0.033, p: 0.027 ve p: 0.036). Tedavisiz grup ile tek tedavili grup arasında CD4/MBC oranı, CD8/MBC oranı ve CD7/MBC oranı açısından anlamlı fark saptanmasa da (p: 0.053, p: 0.053 ve p: 0.061), bu değerlerin tek tedavili hastalarda daha düşük olduğu görüldü. Tedavisiz, tek tedavili ve multipl tedavili gruplar arasında CD3, CD4, CD8 ve CD7+HLA-DR yüzdeleri, T-lenfosit alt gruplarının mutlak sayıları ve CD4/CD8 oranları açısından anlamlı fark saptanmadı. Korelasyon analizinde de ilk tedaviye kadar geçen zaman (İTS) ile T-lenfosit alt grup parametreleri arasında anlamlı ilişki saptanmadı.

Tablo 25 - Tedavisiz, Tek Tedavili ve Multipl Tedavili Hastalarda T-lenfosit Alt Grupları

		Tedavisiz		Tek Tedavi		Multipl Tedavi		p	
CD3 Yüzdesi	Ort.±ss	19,11 ± 14,30		12,55 ± 8,01		12,79 ± 13,25		0,113 ^K	
	Medyan	13,65		10,10		9,50			
CD4 Yüzdesi	Ort.±ss	11,11 ± 7,89		7,56 ± 4,72		7,61 ± 6,51		0,139 ^K	
	Medyan	8,85		7,10		5,95			
CD8 Yüzdesi	Ort.±ss	11,34 ± 11,91		6,83 ± 4,63		6,66 ± 7,44		0,188 ^K	
	Medyan	6,75		5,50		4,45			
Mutlak CD4 #	Ort.±ss	2495,56 ± 2876,12		1954,76 ± 1436,79		1886,42 ± 1100,43		0,934 ^K	
	Medyan	1515,30		1876,00		1817,10			
Mutlak CD8 #	Ort.±ss	2484,57 ± 3501,49		1663,16 ± 1276,55		1331,77 ± 842,63		0,613 ^K	
	Medyan	1436,80		1203,20		1104,45			
Mutlak CD7 #	Ort.±ss	5531,80 ± 7255,42		3940,13 ± 2917,12		3110,14 ± 1475,56		0,887 ^K	
	Medyan	2916,45		3402,55		2896,00			
CD4/MBC	Ort.±ss	1,42 ± 7,43		0,11 ± 0,08		0,09 ± 0,08		0,036 ^K	
	Medyan	0,13		0,09		0,06			
CD8/MBC	Ort.±ss	0,54 ± 1,79		0,10 ± 0,08		0,07 ± 0,06		0,027 ^K	
	Medyan	0,10		0,07		0,05			
CD7/MBC	Ort.±ss	1,32 ± 4,88		0,26 ± 0,20		0,17 ± 0,13		0,040 ^K	
	Medyan	0,29		0,25		0,16			
CD4/CD8 Oranı	Ort.±ss	1,43 ± 1,17		1,30 ± 0,81		1,53 ± 0,94		0,652 ^K	
	Medyan	1,13		1,26		1,37			
CD4/CD8	< 1	n-%	16	34,8%	8	34,8%	4	28,6%	0,904 ^{X²}
	≥ 1	n-%	30	65,2%	15	65,2%	10	71,4%	
HLA Yüzdesi	Ort.±ss	77,74 ± 15,75		82,70 ± 18,00		86,12 ± 17,40		0,044 ^K	
	Medyan	80,25		85,50		93,00			
CD7 Yüzdesi	Ort.±ss	24,66 ± 16,26		18,66 ± 15,01		12,03 ± 7,52		0,046 ^K	
	Medyan	19,25		17,15		11,00			
CD7 ve HLA Toplam	Ort.±ss	6,78 ± 6,45		5,68 ± 3,17		4,10 ± 2,44		0,575 ^K	
	Medyan	4,40		6,50		3,30			

^K Kruskal-wallis (Mann-whitney u test) / ^{X²} Ki-kare test

4.8-Progresyon Analizleri

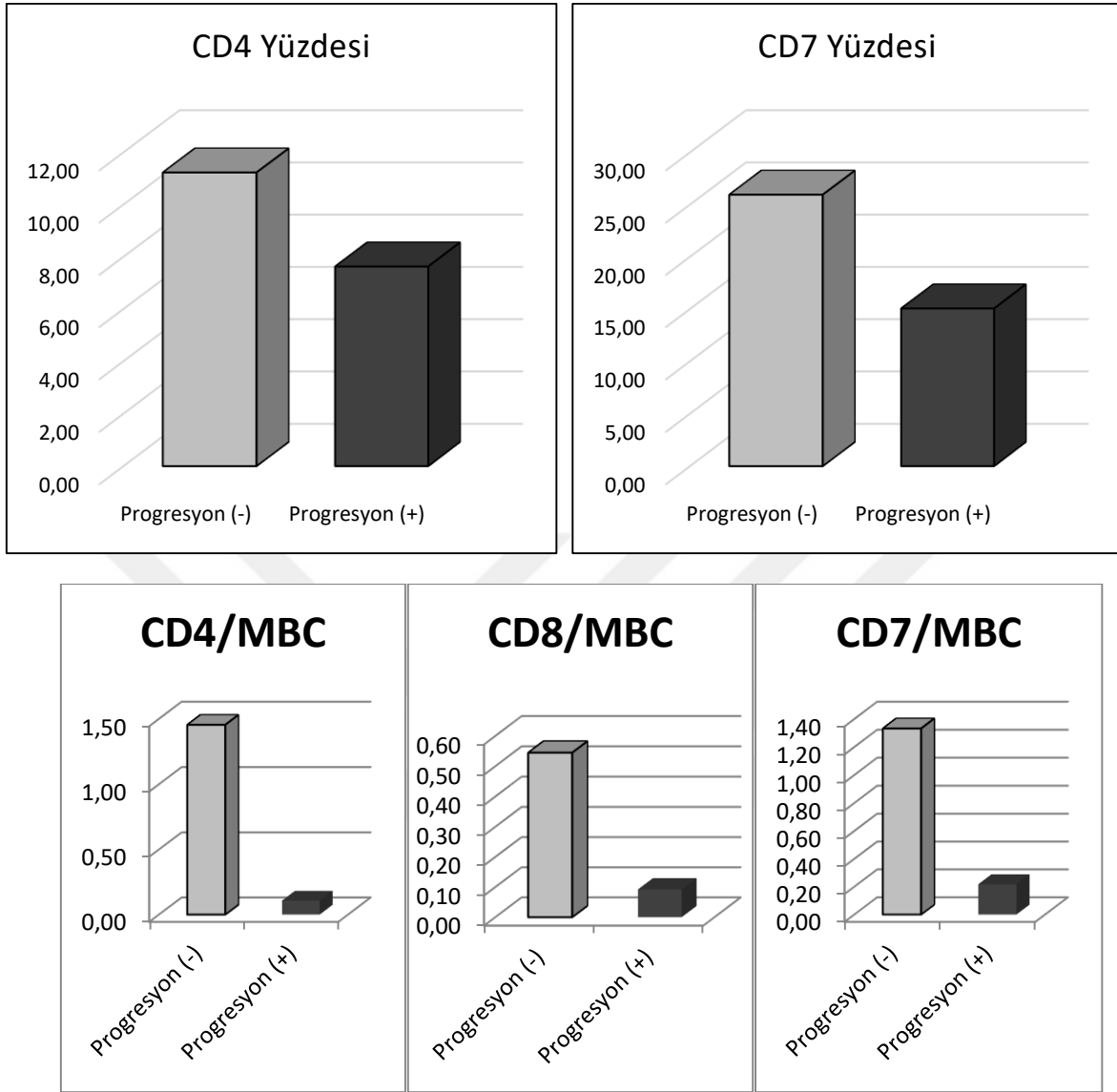
Progresyon olan hastalarda CD4 yüzdesi ve CD7 yüzdesi, progresyon olmayan hastalardan anlamlı olarak daha düşük saptandı (p: 0.048 ve p: 0.020). Yine progresyonu olan hastalarda CD4/MBC, CD8/MBC ve CD7/MBC oranları, anlamlı olarak daha düşük saptandı (p: 0.021, p: 0.035 ve p: 0.012). Progresyonu olan ve olmayan hastalar arasında CD7+HLA-DR yüzdesi, T-lenfositlerin mutlak sayıları ve CD4/CD8 oranı arasında anlamlı fark saptanmadı. Korelasyon analizinde CD3, CD4, CD8 ve CD7 yüzdeleri ile progresyonsuz sağkalım süreleri arasında pozitif korelasyon saptandı (r: 0.257, p: 0.019; r: 0.249, p: 0.023; r: 0.247, p: 0.024 ve r: 0.286, p: 0.017). Diğer parametreler ile progresyonsuz sağkalım arasında korelasyon saptanmadı.

Tablo 26 - Progresyon Durumuna Göre T-lenfosit Alt Grupları

	Progresyon (-)		Progresyon (+)		p
	Ort.±ss/n-%	Medyan	Ort.±ss/n-%	Medyan	
CD3 Yüzdesi	19,11 ± 14,70	13,50	12,98 ± 9,84	10,90	0,106 ^m
CD4 Yüzdesi	11,23 ± 7,99	8,65	7,63 ± 5,35	6,30	0,048 ^m
CD8 Yüzdesi	11,50 ± 12,15	7,05	6,82 ± 5,62	5,20	0,108 ^m
Mutlak CD4 #	2495,09 ± 3033,09	1470,50	2010,71 ± 1277,95	1974,45	0,650 ^m
Mutlak CD8 #	2535,33 ± 3716,33	1284,00	1608,76 ± 1065,96	1319,85	0,956 ^m
Mutlak CD7 #	5650,13 ± 7590,25	2822,00	3692,09 ± 2365,19	3080,60	0,970 ^m
CD4/MBC	1,45 ± 7,53	0,11	0,11 ± 0,08	0,10	0,021 ^m
CD8/MBC	0,54 ± 1,81	0,10	0,09 ± 0,07	0,07	0,035 ^m
CD7/MBC	1,33 ± 4,88	0,36	0,22 ± 0,14	0,21	0,012 ^m
CD4/CD8 Oranı	1,48 ± 1,26	1,11	1,33 ± 0,71	1,26	0,688 ^m
CD4/CD8	< 1	15 34,1%	13 33,3%		0,942 ^{X²}
	≥ 1	29 65,9%	26 66,7%		
HLA Yüzdesi	77,32 ± 16,01	78,05	84,09 ± 17,12	87,60	0,020 ^m
CD7 Yüzdesi	25,94 ± 18,44	19,25	15,05 ± 8,06	15,40	0,020 ^m
CD7 ve HLA Toplam	7,10 ± 6,76	4,40	4,96 ± 2,44	5,05	0,901 ^m

^m Mann-whitney u test/ ^{X²} Ki-kare test

Figür 6 – Progresyon Durumuna Göre T-lenfosit Alt Grupları



4.9-Sağkalım Analizleri

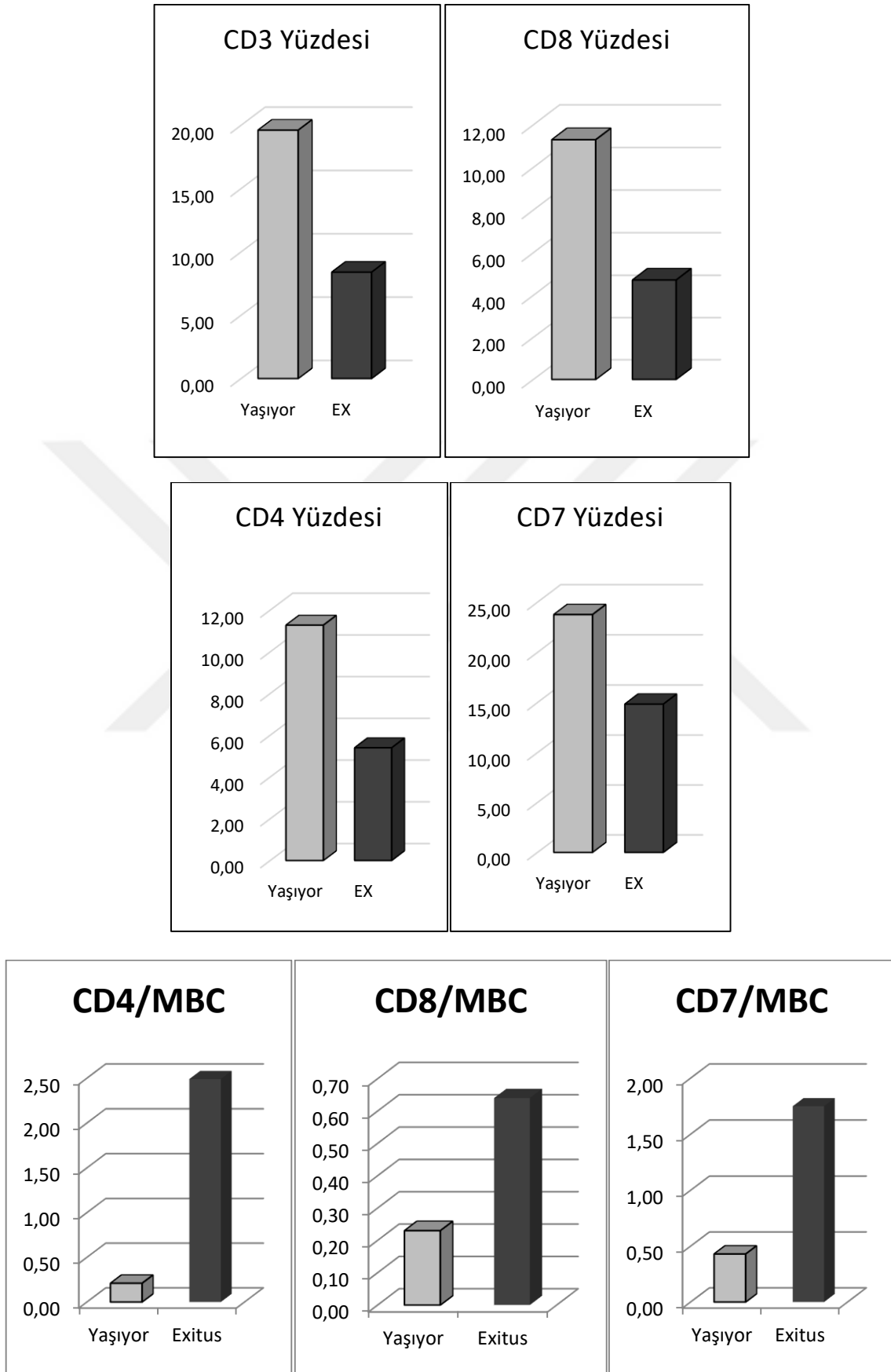
Sağkalım durumuna bakıldığında, vefat eden hastalarda CD3 yüzdesi, CD4 yüzdesi, CD8 yüzdesi ve CD7 yüzdesi, sağ olan hastalara kıyasla anlamlı olarak daha düşük saptandı ($p: 0.001$, $p: 0.001$, $p: 0.005$ ve $p: 0.007$). CD4/MBC, CD8/MBC ve CD7/MBC oranı, vefat eden hastalarda anlamlı olarak daha yüksek saptandı ($p: 0.011$, $p: 0.019$ ve $p: 0.032$). Sağ kalan ve vefat eden hastalar arasında diğer T-lenfosit parametreleri açısından anlamlı fark saptanmadı. Korelasyon analizlerinde, CD3 yüzdesi, CD4 yüzdesi, CD8 yüzdesi ve mutlak CD8 sayısı ile genel sağkalım süresi (GSS) arasında pozitif korelasyon saptandı ($r: 0.286$, $p: 0.009$; $r: 0.262$, $p: 0.017$; $r: 0.310$, $p: 0.004$ ve $r: 0.233$, $p: 0.048$). CD4/MBC, CD8/MBC ve CD7/MBC oranları ile de GSS arasında pozitif korelasyon saptandı ($r: 0.273$, $p: 0.023$; $r: 0.305$, $p: 0.011$ ve $r: 0.270$, $p: 0.035$).

Tablo 27 - Sağkalım Durumuna Göre T-Lenfosit Alt Grupları

	Yaşıyor		Exitus		p
	Ort.±ss/n-%	Medyan	Ort.±ss/n-%	Medyan	
CD3 Yüzdesi	18,71 ± 13,67	15,00	8,40 ± 5,33	7,60	0,001 ^m
CD4 Yüzdesi	10,85 ± 7,39	9,30	5,40 ± 3,72	4,45	0,001 ^m
CD8 Yüzdesi	10,76 ± 10,78	6,90	4,72 ± 3,53	3,30	0,005 ^m
Mutlak CD4 #	2250,64 ± 2501,71	1598,85	2331,59 ± 1991,19	1398,60	0,865 ^m
Mutlak CD8 #	2173,77 ± 3080,22	1323,00	1873,24 ± 1852,51	1203,20	0,824 ^m
Mutlak CD7 #	4790,93 ± 6174,64	3038,95	4463,98 ± 4485,21	2896,00	0,815 ^m
CD4/MBC	0,20 ± 0,17	0,15	2,49 ± 10,54	0,05	0,011 ^m
CD8/MBC	0,22 ± 0,34	0,11	0,64 ± 2,51	0,04	0,019 ^m
CD7/MBC	0,41 ± 0,35	0,26	1,75 ± 6,56	0,16	0,032 ^m
CD4/CD8 Oranı	1,41 ± 1,08	1,17	1,40 ± 0,90	1,28	0,979 ^m
CD4/CD8	< 1	20 31,7%	8 40,0%		0,496 ^{X²}
	≥ 1	43 68,3%	12 60,0%		
HLA Yüzdesi	77,16 ± 17,61	81,45	90,70 ± 7,62	93,15	0,000 ^m
CD7 Yüzdesi	22,81 ± 14,46	19,10	14,84 ± 16,68	12,20	0,007 ^m
CD7 ve HLA Toplam	6,35 ± 5,14	5,70	4,39 ± 2,33	4,15	0,409 ^m

^mMann-whitney u test/ ^{X²} Ki-kare test

Figür 7 - Sağkalıma Göre T-lenfosit Alt Grupları



Tablo 28 - T-Lenfosit Alt Grup Parametreleri ile Korelasyon Analizleri

		İTS (Ay)	PSS (Ay)	GSS (Ay)	Beta-2 Mikroglobulin
CD3 Yüzdesi	r	0,236	0,257	0,286	-0,291
	p	0,159	0,019	0,009	0,052
CD4 Yüzdesi	r	0,237	0,249	0,262	-0,315
	p	0,157	0,023	0,017	0,035
CD8 Yüzdesi	r	0,118	0,247	0,310	-0,280
	p	0,486	0,024	0,004	0,062
Mutlak CD4 #	r	-0,071	0,131	0,177	-0,039
	p	0,713	0,267	0,135	0,820
Mutlak CD8 #	r	-0,195	0,192	0,233	-0,131
	p	0,311	0,104	0,048	0,440
Mutlak CD7 #	r	0,071	0,222	0,164	-0,249
	p	0,731	0,088	0,212	0,168
CD4/MBC	r	0,293	0,207	0,273	-0,217
	p	0,109	0,087	0,023	0,179
CD8/MBC	r	0,153	0,185	0,305	-0,209
	p	0,413	0,129	0,011	0,196
CD7/MBC	r	0,217	0,252	0,270	-0,151
	p	0,258	0,050	0,035	0,380
CD4/CD8 Oranı	r	0,265	0,018	-0,059	0,030
	p	0,112	0,868	0,596	0,846
HLA yüzdesi	r	-0,193	-0,209	-0,173	0,227
	p	0,259	0,059	0,120	0,134
CD7 Yüzdesi	r	0,233	0,286	0,178	-0,270
	p	0,191	0,017	0,144	0,097
CD7 ve HLA Toplam	r	0,110	-0,069	0,218	-0,027
	p	0,644	0,712	0,238	0,916
Spearman Korelasyon					

4.10-Regresyon Analizleri

Tek değişkenli modelde, CD3 yüzdesi, CD4 yüzdesi, CD8 yüzdesi, CD7 yüzdesi, CD4/MBC oranı, CD8/MBC oranı, CD7/MBC oranı, HLA-DR yüzdesi, modifiye Rai evresi, Binet evresi, Beta-2 mikroglobulin düzeyi, gammaglobulin düzeyi ve tedavi durumunun PSS üzerine anlamlı etkisi gözlemlendi ($p < 0.05$). Fakat çok değişkenli indirgenmiş modelde sadece Beta-2 mikroglobulin düzeyinin ve tedavi durumunun PSS anlamlı-bağımsız etkisi olduğu gözlemlendi ($p < 0.05$). Her 2 modelde de CD4/CD8 oranının ve CD7+HLA-DR yüzdesinin hastalıksız sağkalım üzerine etkisi gözlenmedi.

Tablo 29 – Progresyonsuz (Hastalıksız) Sağkalım Süresi Regresyon Modeli

Hastalıksız Sağkalım	Tek Değişkenli Model			Çok Değişkenli Model		
	HR	% 95 GA	p	HR	% 95 GA	p
Cinsiyet	0,690	0,349 - 1,364	0,286			
Yaş	1,181	0,601 - 2,321	0,630			
Gammaglobulin	2,555	1,164 - 5,607	0,019			
Beta-2 Mikroglobulin	1,281	1,115 - 1,472	0,000	1,283	1,092 - 1,508	0,002
Modifiye Rai Evresi	3,577	1,956 - 6,543	0,000			
Binet Evresi	4,092	2,277 - 7,356	0,000			
CD3 %	0,960	0,930 - 0,992	0,014			
CD4 %	0,929	0,877 - 0,984	0,012			
CD8 %	0,938	0,889 - 0,989	0,019			
CD4/CD8	1,014	0,709 - 1,452	0,938			
CD4/MBC	0,009	0,000 - 0,267	0,007			
CD8/MBC	0,014	0,000 - 0,471	0,017			
CD7/MBC	0,052	0,007 - 0,391	0,004			
HLA-DR %	1,027	1,000 - 1,054	0,048			
CD7 %	0,946	0,913 - 0,980	0,002			
CD7+HLA-DR %	0,982	0,838 - 1,149	0,817			
CD38 %	1,007	0,964 - 1,053	0,745			
Dokümente Enfeksiyon	1,318	0,623 - 2,788	0,470			
Tedavi Durumu	3,117	2,125 - 4,570	0,000	2,254	1,379 - 3,686	0,001

Cox Regresyon (Forward LR)

Tek değişkenli modelde, CD3 yüzdesi, CD4 yüzdesi, CD8 yüzdesi, CD7 yüzdesi, CD4/MBC oranı, CD8/MBC oranı, CD7/MBC oranı, HLA-DR yüzdesi, tanı yaşı, modifiye Rai evresi, Binet evresi ve Beta-2 mikroglobulin düzeyinin GSS üzerine anlamlı etkisi gözlemlendi ($p < 0.05$). Fakat çok değişkenli indirgenmiş modelde sadece tanı yaşı ve Beta-2 mikroglobulin düzeyinin GSS üzerine anlamlı-bağımsız etkisi olduğu gözlemlendi ($p < 0.05$). Her 2 modelde de CD4/CD8 oranının ve CD7+HLA-DR yüzdesinin genel sağkalım üzerine etkisi gözlenmedi.

Tablo 30 - Genel Sağkalım Süresi Regresyon Modeli

Genel Sağkalım	Tek Değişkenli Model			Çok Değişkenli Model		
	HR	% 95 GA	p	HR	% 95 GA	p
Cinsiyet	0,459	0,165 - 1,279	0,136			
Yaş	4,022	1,628 - 9,934	0,003	4,412	1,439 - 13,528	0,009
Gammaglobulin	0,479	0,100 - 2,284	0,355			
Beta-2 Mikroglobulin	1,397	1,157 - 1,686	0,000	1,417	1,143 - 1,757	0,001
Modifiye Rai Evresi	3,601	1,791 - 7,239	0,000			
Binet Evresi	2,773	1,506 - 5,105	0,001			
CD3 %	0,876	0,809 - 0,948	0,001			
CD4 %	0,817	0,724 - 0,921	0,001			
CD8 %	0,832	0,732 - 0,946	0,005			
CD4/CD8	1,115	0,700 - 1,775	0,646			
CD4/MBC	0,000	0,000 - 0,102	0,007			
CD8/MBC	1,361	1,041 - 1,779	0,024			
CD7/MBC	1,144	1,034 - 1,266	0,009			
HLA-DR %	1,112	1,043 - 1,186	0,001			
CD7 %	0,950	0,903 - 0,998	0,041			
CD7+HLA-DR %	0,847	0,676 - 1,062	0,150			
CD38 %	0,728	0,453 - 1,170	0,189			
Dokümente Enfeksiyon	0,494	0,114 - 2,140	0,346			
Tedavi Durumu	1,302	0,779 - 2,176	0,314			
Progresyon	2,697	0,977 - 7,449	0,056			

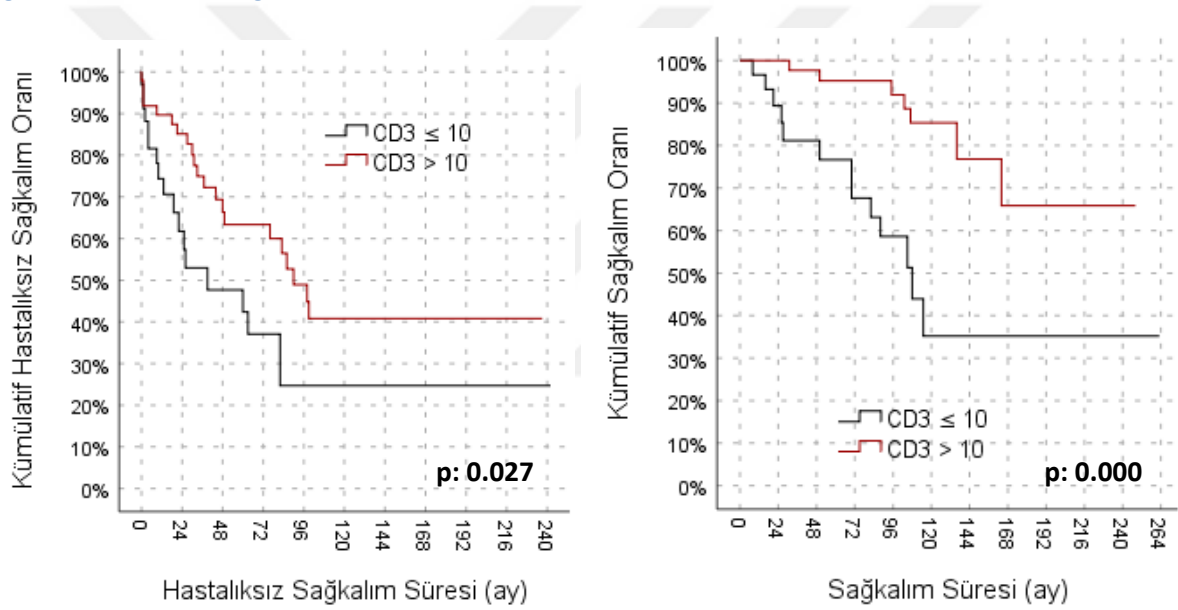
Cox Regresyon (Forward LR)

4.11-Kaplan-Meier Analizleri

Seçilmiş T-lenfosit yüzdeleri ve MBC ile oranlarının medyan değerlerinden yola çıkılarak öngörülen hastalıksız (progresyonsuz) sağkalım ve öngörülen sağkalım sürelerinin Kaplan-Meier (Log Rank) analizleri yapıldı.

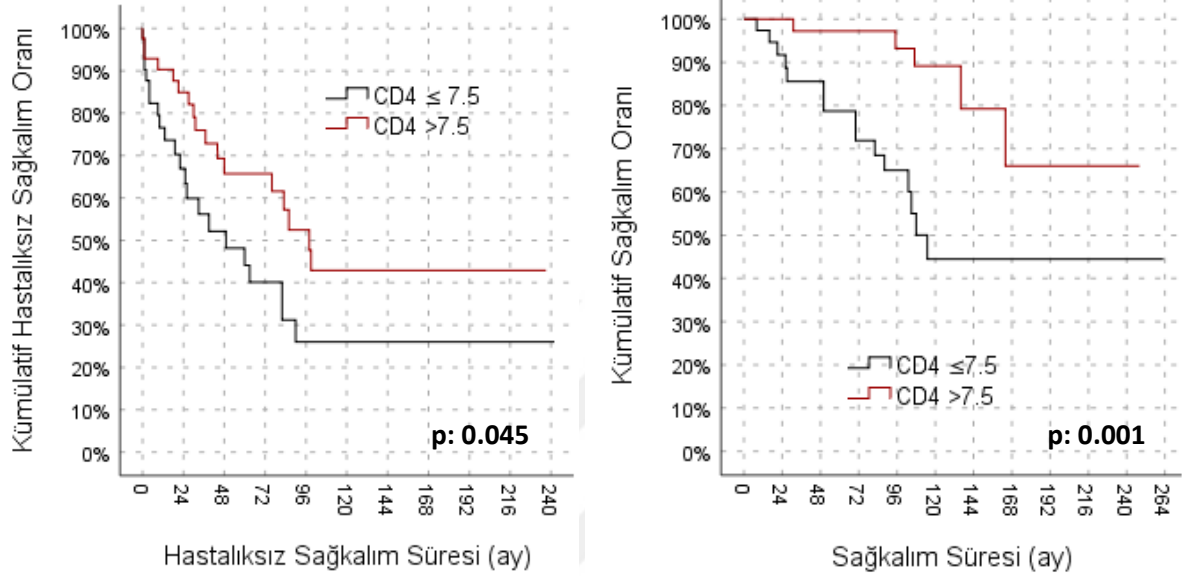
CD3 yüzdesi ≤ 10 olan grupta (84.2 ay, % 95 GA 44.2-124.1) öngörülen PSS, CD3 yüzdesi > 10 olan gruptan (126.2 ay, % 95 GA 94.0-158.4) anlamlı olarak daha kısa saptandı (p: 0.027). Yine CD3 yüzdesi ≤ 10 olan grupta (138.3 ay, % 95 GA 93.8 -182.7) öngörülen GSS, CD3 yüzdesi > 10 olan gruptan (204.9 ay, % 95 GA 176.1-233.7) anlamlı olarak daha kısa saptandı (p: 0.000).

Figür 8 - CD3 Yüzdesinin Log Rank Analizleri



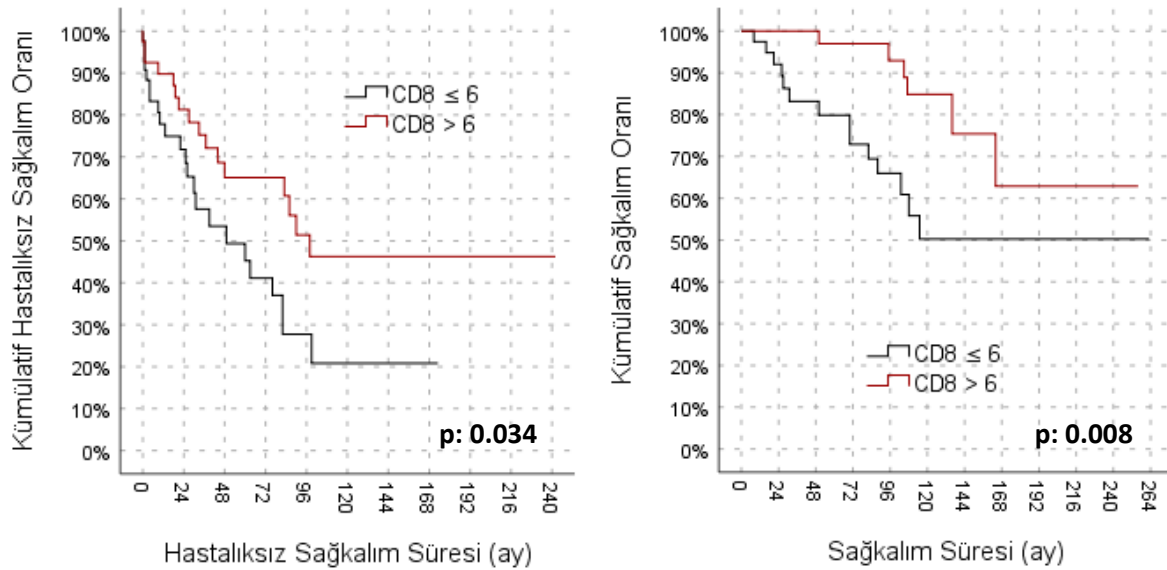
CD4 yüzdesi ≤ 7.5 olan grupta (89.0 ay, % 95 GA 53.4-124.6) öngörülen PSS, CD4 > 7.5 olan gruptan (130.3 ay, % 95 GA 95.0-165.6) anlamlı olarak daha kısa saptandı ($p: 0.045$). Yine CD4 yüzdesi ≤ 7.5 olan grupta (156.1 ay, % 95 GA 117.8-194.3), öngörülen GSS, CD4 > 7.5 olan gruptan (207.9 ay, % 95 GA 176.5.0-239.2) anlamlı olarak daha kısa saptandı ($p: 0.001$).

Figür 9 – CD4 Yüzdesinin Log Rank Analizleri



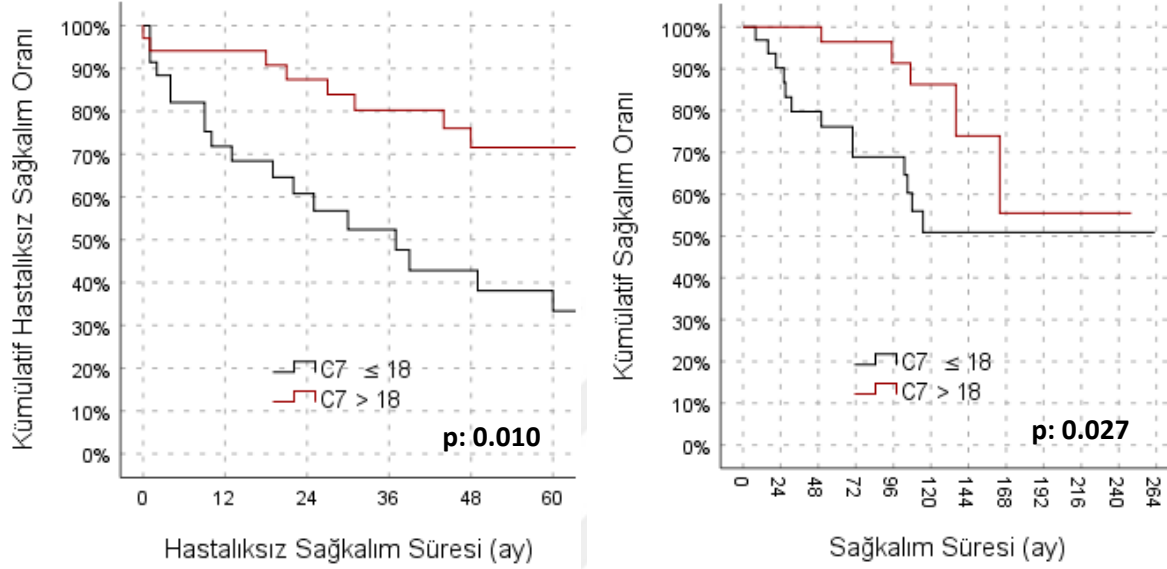
CD8 yüzdesi ≤ 6 olan grupta (68.2 ay, % 95 GA 45.3-91.1) öngörülen PSS, CD8 yüzdesi > 6 olan gruptan (136.9 ay, % 95 GA 99.9-173.9) anlamlı olarak daha kısa saptandı ($p: 0.034$). Yine CD8 yüzdesi ≤ 6 olan grupta (165.3 ay, % 95 GA 127.1-203.6) öngörülen GSS, CD8 yüzdesi > 6 olan gruptan (208.3 ay, % 95 GA 174.8-241.7) anlamlı olarak daha kısa saptandı ($p: 0.008$).

Figür 10 - CD8 Yüzdesinin Log Rank Analizleri



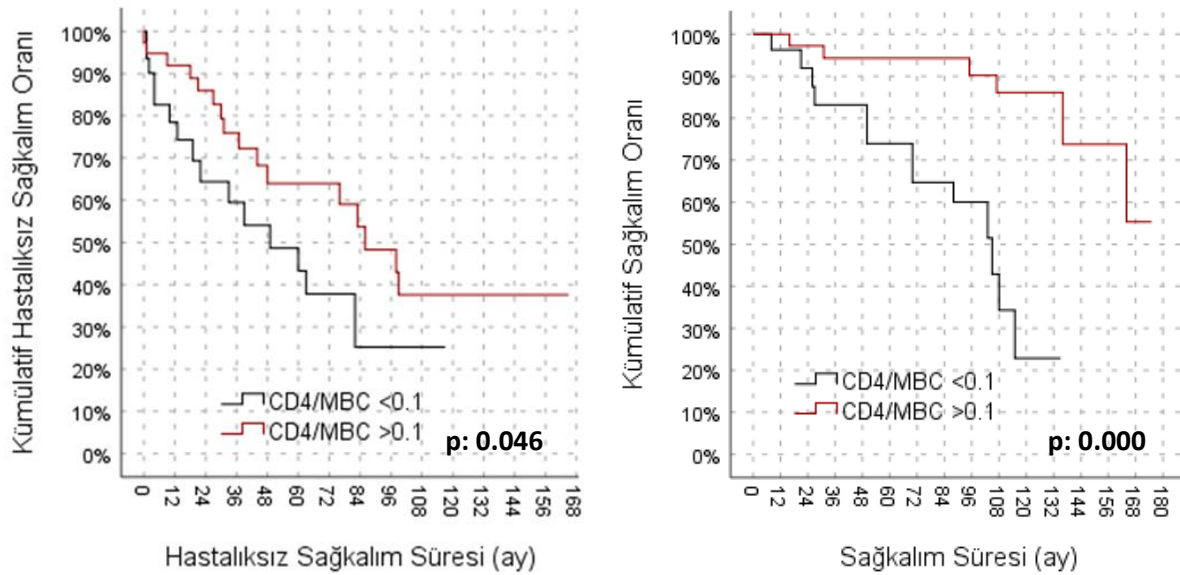
CD7 yüzdesi ≤ 18 olan grupta (75.7 ay, % 95 GA 38.3-113.1) öngörülen PSS, CD7 yüzdesi > 18 olan gruptan (134.2 ay, % 95 GA 95.4-173.0) anlamlı olarak kısa saptandı ($p: 0.010$). Yine CD7 yüzdesi ≤ 18 olan grupta (164.6 ay, % 95 GA 125.0-204.2) öngörülen GSS, CD7 yüzdesi > 18 olan gruptan (196.7 ay, % 95 GA 158.7-234.7) anlamlı olarak kısa saptandı ($p: 0.027$).

Figür 11 - CD7 Yüzdesinin Log Rank Analizleri



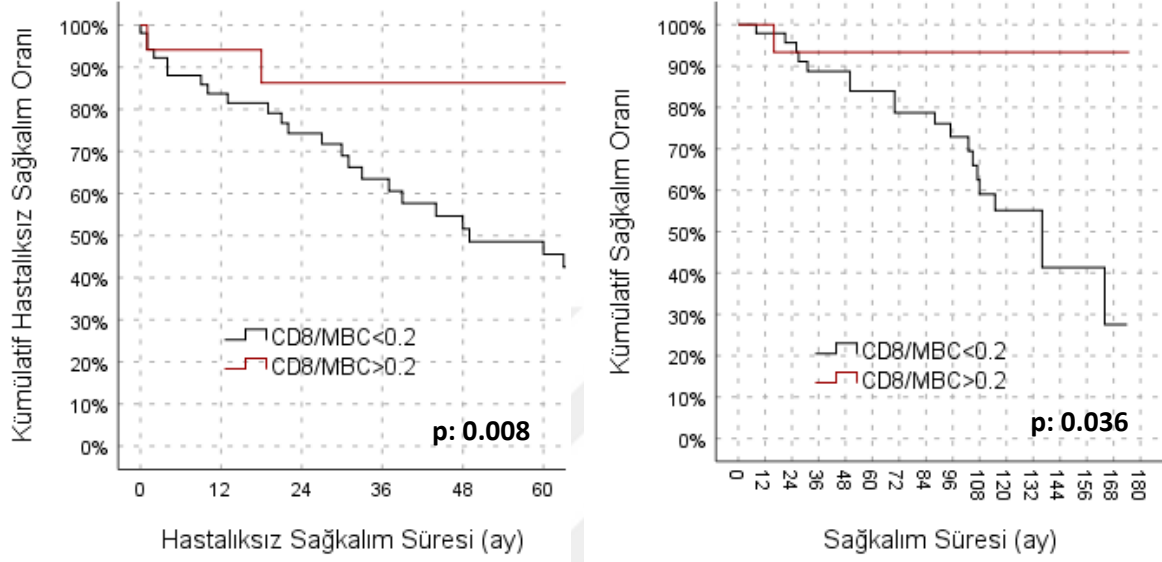
CD4/MBC ≤ 0.1 olan grupta (56.3 ay, % 95 GA 38.3-74.3) öngörülen PSS, CD4/MBC > 0.1 olan gruptan (94.9 ay, % 95 GA 71.8-118.0) anlamlı olarak kısa saptandı ($p: 0.046$). Yine CD4/MBC ≤ 0.1 olan grupta (89.9 ay, % 95 GA 72.9 -106.8) öngörülen GSS, CD4/MBC > 0.1 olan gruptan (153.4 ay, % 95 GA 137.9-169.0) anlamlı olarak kısa saptandı ($p: 0.000$).

Figür 12 - CD4/MBC Oranının Log Rank Analizleri



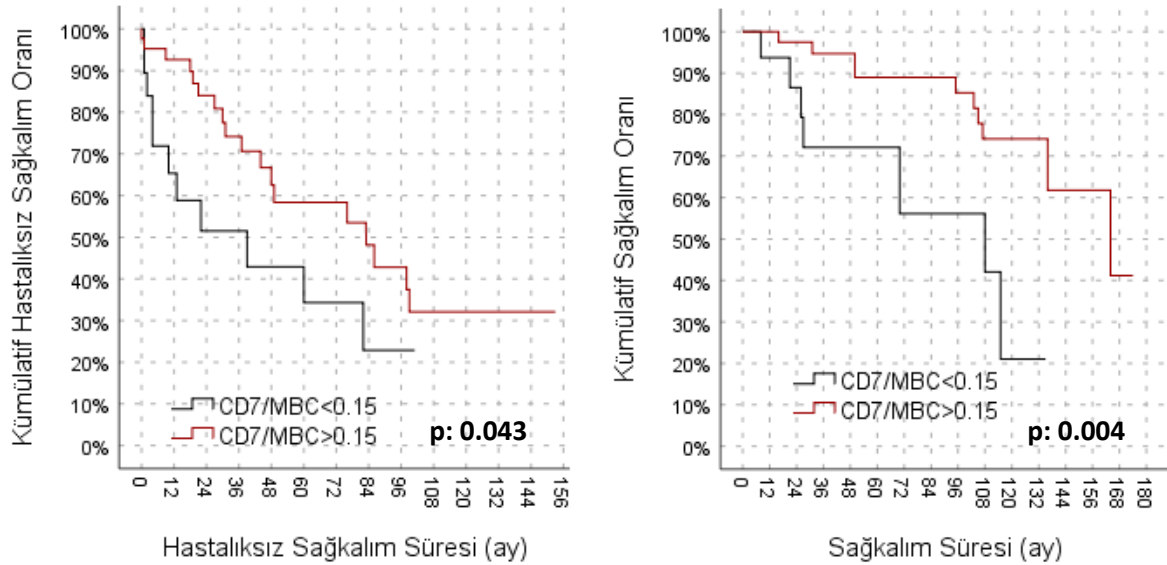
$CD8/MBC \leq 0.2$ olan grupta (64.7 ay, % 95 GA 48.5-80.9) öngörülen PSS, $CD8/MBC > 0.2$ olan gruptan (143.8 ay, % 95 GA 116.3-171.3) anlamlı olarak kısa saptandı ($p: 0.008$). Yine $CD8/MBC \leq 0.2$ olan grupta (122.4 ay, % 95 GA 104.7-140.2) öngörülen GSS, $CD8/MBC > 0.2$ olan gruptan (164.4 ay, % 95 GA 144.3-184.5) anlamlı olarak kısa saptandı ($p: 0.036$).

Figür 13 - CD8/MBC Oranının Log Rank Analizleri



$CD7/MBC \leq 0.15$ olan grupta (44.8 ay, % 95 GA 24.6-65.0) öngörülen PSS, $CD7/MBC > 0.15$ olan gruptan (84.3 ay, % 95 GA 63.9-104.6) anlamlı olarak kısa saptandı ($p: 0.043$). Yine $CD7/MBC \leq 0.15$ olan grupta (84.8 ay, % 95 GA 60.8-108.8) öngörülen GSS, $CD7/MBC > 0.15$ olan gruptan (141.6 ay, % 95 GA 124.8-158.4) anlamlı olarak kısa saptandı ($p: 0.004$).

Figür 14 - CD7/MBC Oranının Log Rank Analizleri



4.12-CD4/CD8 İnversonuna Göre Hastaların Analizi

CD4/CD8 < 1 olan hastalar ile CD4/CD8 ≥ 1 olan hastalar arasında gammaglobulin düzeyi, Beta-2 mikroglobulin düzeyi, CD38 yüzdesi, İTS, PSS ve GSS açısından fark saptanmadı.

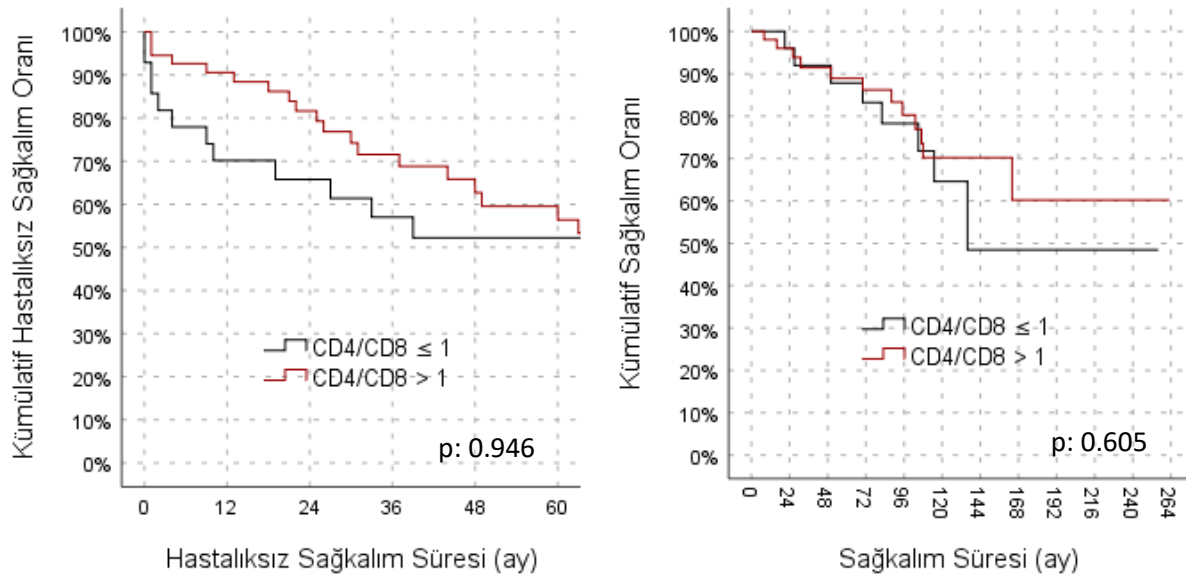
Tablo 31 - CD4/CD8 İnversonu Olan ve Olmayan Hastaların Karşılaştırması

	CD4/CD8 < 1		CD4/CD8 ≥ 1		p
	Ort.±ss/n-%	Medyan	Ort.±ss/n-%	Medyan	
Gamma globulin (g/dL)	1,00 ± 0,35	0,96	1,07 ± 0,39	1,00	0,585 ^m
Beta-2 Mikroglobulin (mg/L)	4,05 ± 2,34	3,35	3,88 ± 2,83	3,10	0,731 ^m
CD38 Yüzdesi (%)	13,06 ± 9,14	14,30	14,60 ± 21,17	7,95	0,423 ^m
İTS (Ay)	18,67 ± 25,92	9,50	40,48 ± 35,93	31,00	0,130 ^m
PSS (Ay)	53,75 ± 61,61	30,00	49,40 ± 48,63	31,00	0,661 ^m
GSS (Ay)	90,61 ± 54,40	89,50	86,10 ± 61,86	94,00	0,668 ^m

^m Mann-whitney u test

Kaplan-Meier analizlerinde, CD4/CD8 ≤ 1 olan grupta (121.4 ay, % 95 GA 75.4-167.4) öngörülen PSS, CD4/CD8 > 1 olan gruptan (100.6 ay, % 95 GA 70.7-130.6) anlamlı farklı saptanmadı (p: 0.946). Ayrıca CD4/CD8 ≤ 1 olan grupta (172.4 ay, % 95 GA 125.8-218.9) öngörülen GSS, CD4/CD8 > 1 olan gruptan (195.8 ay, % 95 GA 163.5-228.1) anlamlı farklı saptanmadı (p: 0.605).

Figür 15 - CD4/CD8 Oranlarının Log Rank Analizleri



5 – TARTIŞMA

KLL patofizyolojisinde olgun B-lenfositlerin klonal proliferasyonu temel olmakla beraber T-lenfositlerinde patogenezin parçası olduğu, hastalık seyri sırasında sayı ve fonksiyon değişiklikleri olduğu bilinmektedir. Patofizyolojide T-lenfositlerin temel rolünün lösemik hücre sağkalımını sağlayan ve proliferasyonu uyaran sinyal yollarının aktivasyonu olduğu düşünülmektedir. KLL’de CD4 ve CD8 pozitif T-lenfositlerin sayıca artışı ve fonksiyonlarında azalma görülmektedir. KLL’de prognozu gösteren ve çalışmalarda güvenilirliği kanıtlanmış çeşitli prognoz faktörleri olsa da, patogeneзде önemli rol oynayan T-lenfosit alt gruplarını prognoz açısından değerlendiren yeterli sayıda çalışma yoktur. Bu nedenle çalışmamızda, KLL tanısında rutin kullanılan akım sitometri yöntemiyle bakılan T-lenfosit alt gruplarının prognoza etkisini inceledik.

Çalışmaya dahil edilen 83 hastanın demografik özelliklerine bakıldığında ortalama tanı yaşının 61.9 ± 10.6 olduğu, erkek/kadın hasta oranının 1.6 olduğu saptandı. Bu özellikler, KLL’nin toplumdaki insidansı ile benzer saptandı. Hastaların % 67.5’inde tanı sırasında kronik hastalık vardı. Hastaların önemli bir kısmının, Modifiye Rai ve Binet evrelemelerine göre erken evre hastalar olduğu saptandı. Onüç hastada (% 15.7) dokümente edilmiş enfeksiyon saptandı. Fakat çalışmanın retrospektif yapılmış olması nedeniyle kayıtların eksik tutulmuş olabileceği göz önünde bulundurularak muhtemel enfeksiyon oranının daha yüksek olduğu düşünülmektedir. Ayrıca yedi hastada (% 8.4) takipleri boyunca malignite geliştiği saptandı.

Hastaların tanı sırasında akım sitometri tetkiklerinde T-lenfosit alt gruplarının yüzdeleri ile beraber, aktive T-lenfositlerin durumunun incelenmesi amacıyla CD7+HLA-DR hücre yüzdesine de bakıldı. Fakat hastaların büyük çoğunluğunda CD7+HLA-DR sonuçlarına ulaşılamadı. Literatürdeki örnek çalışmalarla kıyaslamak amacıyla akım sitometrideki yüzdelerin lenfosit sayısı ile çarpımıyla mutlak CD4 sayısı, mutlak CD8 sayısı ve mutlak CD7 sayısı hesaplandı. Ek olarak patogeneзде T-lenfosit ve B-lenfosit etkileşiminin önemli olması nedeniyle T-lenfosit alt grup yüzdelerinin, malign B-lenfosit yüzdesine (CD5+CD19) oranları (CD4/MBC, CD8/MBC ve CD7/MBC) hesaplandı. Son olarak CD4/CD8 inversiyonunun önceki çalışmalarda kötü prognozla ilişkili olması nedeniyle CD4/CD8 oranı da analizlere dahil edildi.

Kadın ve erkek hastalar arasında, tanı sırasında < 64 yaş ile ≥ 65 yaş hastalar arasında T-lenfosit alt grupları açısından fark saptanmadı. *Sadece erkek hastalarda daha fazla CD4/CD8 inversiyonu saptandı.* Literatürde baktığımız çalışmalarda cinsiyete göre CD4/CD8 inversiyonu ile ilgili bildirilmiş bir yayın saptanmadı. Bu nedenle bu sonucun rastlantısal olduğu düşünüldü. Takipleri sırasında dokümente enfeksiyonu olan ile olmayan hastalarda tanıda T-lenfosit alt grup parametreleri açısından fark saptanmadı. Fakat çalışmamızın retrospektif olması nedeniyle dokümente edilmemiş

enfeksiyonlarla beraber gerçek enfeksiyon oranının daha yüksek olabileceği düşünüldü. Bu nedenle enfeksiyon durumuna göre tanıda T-lenfosit alt gruplarıyla ilgili yapılan analizlerin zayıf olduğu ifade edilmelidir. Literatürde vurgulanmış önemli bir ayrıntı, CMV seropozitif hastalarda CD8+ T-lenfositlerde artış ve azalmış sağkalımın bildirilmiş olmasıdır.(209, 210) Fakat önceki çalışmalarda, T-lenfosit alt gruplarındaki değişikliklerin CMV durumundan bağımsız olduğunu bildirmiştir.(183, 211) Takipleri sırasında malignite gelişen ile gelişmeyen hastalar arasında da T-lenfosit alt grup parametreleri açısından fark saptanmadı. Özellikle CD8 pozitif T-lenfositlerin anti-tümöral etkinlik gösterdiği bilinmektedir. KLL'de yükselen T-lenfositlerin aktifleşmiş anti-tümör etkinlik gösteren hücreler olduğu düşünülmektedir.(200) Dolayısıyla beklenen, T-lenfosit yüzdeleri ve mutlak sayılarında azalma ile malignite oranlarında artış olmasıdır. Fakat çalışmamızda, takipleri boyunca malignite gelişen hasta sayısının az olması nedeniyle bu hipotez yeterli değerlendirilememiştir.

Tanı sırasındaki modifiye Rai ve Binet evrelerini düşük olan ile orta-yüksek olan hastalar arasında T-lenfosit parametreleri açısından fark saptanmadı. Literatüre bakıldığında tanıda evreye göre T-lenfosit alt grupları açısından karşıt sonuçlar bildirilmiştir. Gonzalez-Rodriguez ve arkadaşlarının çalışmasında farklı Rai evreleri arasında mutlak CD4 ve mutlak CD8 T-lenfosit sayıları arasında anlamlı fark saptanmamıştır.(200) Fakat erken Rai evrelerinde CD4/MBC, CD8/MBC ve NK/MBC oranları daha yüksek saptanmıştır.(200) Palmer ve arkadaşlarının çalışmasında da erken Rai evreli IGHV-mutasyonu olan hastalarda daha yüksek T/MBC ve NK/MBC oranı bulunmuştur.(201) Kendi çalışmamızda CD16 pozitif NK hücreleri incelemeye katılmadı; fakat CD4/MBC, CD8/MBC ve CD7/MBC oranları açısından Rai ve Binet evreleri arasında anlamlı fark saptanmasa da erken evre (düşük risk Rai, Binet A) hastalarda T-lenfosit yüzdeleri ve mutlak sayıları yüksek, T-lenfosit alt gruplarının MBC ile oranları da düşük saptandı. Tötterman ve arkadaşlarının çalışmasında T-lenfosit belirteci olan HLA-DR+ CD4+, HLA-DR+ CD8+ ve HLA-DR+ CD16+ T lenfositlerin mutlak sayısı, sağlıklı kontrollere göre KLL hastalarında daha yüksek, ayrıca ileri Rai evrelerinde (Rai II-IV), erken evrelere göre de daha yüksek olduğu saptanmıştır.(180) Aynı çalışmada Rai evreleri arasında mutlak CD3, CD4 ve CD8 T-lenfosit sayılarında fark görülmemiştir.(180) Literatürde CD4 ve CD8 T-lenfosit yüzdelerinin ve mutlak sayılarının da erken evrelerde daha yüksek, ileri evrelerde daha düşük olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur.(202, 203) Fakat aynı çalışmalarda T-lenfosit fonksiyonları açısından yapılan incelemelerde, ileri Rai evreli (evre II, III ve IV) hastalarda hem CD4+ hem CD8+ T-lenfositlerde daha fazla Tim-3 ve PD-1 inhibitör reseptör ekspresyonu ve fonksiyonel defektler (azalmış proliferasyon ve azalmış sitokin salınımı) gösterilmiştir.(202, 203) Bu çalışmalarda Tim-3+ ve PD-1+ CD4 ve CD8 sayıları, ileri evre hastalarda daha yüksek saptanmıştır.(202, 203) Rusak ve arkadaşlarının çalışmasında da, ileri Rai evrelerinde (evre III ve IV) CD4+ PD-1+ T-lenfositlerin yüzdesi daha yüksek saptanmıştır.(204) Fakat Binet evrelerine göre CD4+ PD-1+ ve CD8+ PD-1 + T-lenfosit mutlak

sayılarında fark saptamayan çalışmalar da mevcuttur.(205) Literatürde aynı zamanda CD4 T-lenfosit alt grubu olan Treg'ler ile yapılan çalışmalarda karşıt sonuçlar da mevcuttur. Lad ve arkadaşlarının çalışmasında, Treg (CD4+, CD25^{high}, CD127^{low}, FOXP3+) hücrelerinin mutlak sayısı, erken evre hastalara kıyasla Binet evre C hastalarda daha yüksek bildirilmiştir; bu çalışmada mutlak CD4 ve mutlak CD8 T-lenfosit sayıları açısından fark saptanmamıştır.(206) Mpakou ve arkadaşlarının çalışmasında da erken evrelere kıyasla ileri Binet evrelerinde (Binet B ve C) Treg mutlak sayısı daha yüksek saptanmış; bu hücrelerin lösemik hücrelere karşı immün yanıtı baskılayarak progresif hastalığı arttırdığı yorumlanmıştır.(207) Sonuç olarak, kendi çalışmamızda gösterilmemiş olsa da, literatürdeki örneklerle değerlendirildiğinde CD4 ve CD8 T-lenfosit yüzdeleri, mutlak sayıları ve malign B-lenfositleriyle oranlarının, ileri evre hastalarda daha düşük olduğu görülmektedir. Fakat fonksiyonel belirteçlere de bakıldığında, çalışmamızda yeterli sayıda hastada bakamadığımız T-lenfosit aktivasyon belirteci olan HLA-DR pozitif CD4 ve CD8 T-lenfositlerin mutlak sayılarının ileri evrelerde daha yüksek saptandığı görülmüştür. Aynı zamanda T-lenfositlerde inhibisyonundan sorumlu PD-1 pozitif CD4 ve CD8 T-lenfositlerin yüzdeleri ve mutlak sayıları da ileri evre hastalarda daha yüksek saptanmıştır. Yine Treg hücrelerinin mutlak sayısı da ileri evre hastalarda daha yüksek bildirilmiştir. Bu sonuçlara bakıldığında, tanı sırasında farklılaşmamış T-lenfosit rezervinin az olması, hastalık evresini arttıran ve prognozu kötüleştiren bir faktör olabilir. Aynı zamanda erken evrelerde farklılaşmamış T-lenfositlerin ileri evrelerde aktivatör ve inhibitör reseptörlere sahip T-lenfositlere dönüşmesi de, ileri evrelerde bu hücrelerdeki yüksekliğin nedeni olabilir. Sonuç olarak tanı sırasında akım sitometride CD4 ve CD8 T-lenfositlerin fonksiyonel değerlendirilmesiyle tespit edilecek naif ve farklılaşmış T-lenfosit rezervlerinin hastalık evresi ve prognoza olan etkisini değerlendirecek çalışmalar, T-lenfositlerin hastalık evrelerine olan etkisini de daha net ortaya koyabilecektir.

Hastalar Beta-2 mikroglobulin düzeyi ≤ 3.5 mg/L ile > 3.5 mg/L olarak gruplandırılarak yapılan analizlerde, Beta-2 mikroglobulin > 3.5 mg/L olan hastalarda CD3 yüzdesi ve CD4 yüzdesi daha düşük saptandı. Bu grupta CD8 yüzdesi de istatistiksel anlamlı olmasa da diğer gruba kıyasla daha düşük saptandı. Ayrıca CD4 yüzdesi ile Beta-2 mikroglobulin düzeyi arasında anlamlı negatif korelasyon saptandı. CD3 ve CD8 yüzdesi ile Beta-2 mikroglobulin düzeyi arasında da istatistiksel anlamlı düzeyde olmasa da yakın negatif korelasyon saptandı. CD3 ve CD8 yüzdesi ile Beta-2 mikroglobulin düzeyi arasında da istatistiksel anlamlı düzeyde olmasa da yakın negatif korelasyon saptandı. Literatürde T-lenfosit alt grupları ile Beta-2 mikroglobulini kıyaslayan herhangi bir çalışmaya rastlamadık. Kendi çalışmamızdaki sonuca göre tanıda düşük CD4 yüzdesi, Beta-2 mikroglobulin gibi kötü prognoz belirteci olabilir. Daha fazla hasta sayısı ile yapılacak çalışmalarda, düşük CD8 yüzdesinin de anlamlı düzeyde kötü prognoz ile ilişkili olup olmadığı da daha net ortaya konulabilir.

Hastalar takipleri boyunca tedavisiz izlenen, tek rejimle tedavi gören ve çoklu rejim ihtiyacı olan hastalar olarak 3 gruba ayrılarak kıyaslandığında, tek rejimle tedavi alan hastalar ile tedavisiz ya da çoklu rejim alan hastalar arasında T-lenfosit alt grupları açısından fark saptanmadı. *Fakat tedavisiz hastalar ile çoklu rejim alan hastalar kıyaslandığında, çoklu rejim alan olan grupta CD7 yüzdesi, CD4/MBC, CD8/MBC ve CD7/MBC daha düşük saptandı.* Çoklu rejim alanlarda HLA-DR yüzdesi malign B-lenfositler elemanlarının etkisiyle daha yüksek saptandı; fakat aktive T-lenfosit alt grubunu gösteren CD7+HLA-DR yüzdesine göre tedavi durumu açısından anlamlı bir fark saptanmadı. Yine korelasyon analizinde İTS ile T-lenfosit parametreleri arasındaki anlamlı ilişki saptanmadı. Palmer ve arkadaşlarının çalışmasında T/MBC ve NK/MBC oranları azaldıkça İTS’de kısalma görülmüştür; fakat mutlak T-lenfosit ve NK sayıları ile İTS ilişkili saptanmamıştır.(201) Aynı çalışmada çok değişkenli regresyon modellerinde evre, MBC, CD38, NK/MBC ve T/MBC oranları, İTS için bağımsız prediktör olarak saptanmıştır.(201) Kendi çalışmamızda, İTS ile ilişki saptanmaması nedeniyle regresyon analizleri uygulanmamıştır. Rusak ve arkadaşları, spesifik olarak CD4+ PD-1+ T-lenfositlerin tedavi ihtiyacı olan ileri evre hastalarda daha yüksek olduğunu belirtmiş, özellikle % 15.79 kesim noktasının üzerinde İTS’de anlamlı kısalma olduğunu saptamıştır.(204) İTS ile korelasyon olmadan çoklu tedavi ihtiyacını olan hastalarda CD4/MBC, CD8/MBC ve CD7/MBC oranlarının düşük olması, bu oranların tedaviye direnç ve relaps/refrakter hastalık belirteci olabileceğini de düşündürmüştür.

Çalışmamızda takipleri boyunca progresyonu olan hastalar ile progresyonu olmayan hastaların karşılaştırmasında, progresyonlu hastalarda CD4 yüzdesi, CD7 yüzdesi, CD4/MBC, CD8/MBC ve CD7/MBC oranları daha düşük saptandı. HLA-DR yüzdesi, malign B-lenfosit elemanları nedeniyle progresif hastalarda daha yüksek saptansa da aktive T-lenfosit elemanlarını gösteren CD7+HLA-DR yüzdesi açısından her iki grupta fark saptanmadı. PSS ile CD3, CD4, CD8 ve CD7 yüzdeleri arasında pozitif korelasyon saptandı. Bu sonuçlar, özellikle CD4 ve CD7 yüzdelerinin azalmasının progresyon ihtimalini arttırdığı ve PSS’yi kısalttığı şeklinde yorumlanabilir. CD4/MBC, CD8/MBC ve CD7/MBC oranlarının düşüklüğünün de, PSS’den bağımsız olarak progresyon için prediktif olduğu şeklinde yorumlanabilir. Literatürdeki çalışmalara bakıldığında, Nunes ve ark çalışmasında CD8 yüzdesinde artış, daha kısa PSS ve GSS ile ilişkili bulunmuştur.(186) Aynı merkezden yayınlanmış başka bir çalışmada da CD8 yüzdesi, CD8+ CD57+ HLA-DR+ PD-1+ hücre yüzdesi ve CD8+ EMRA CD57+ HLA-DR+ PD-1+ hücre yüzdesi PSS ile anlamlı ilişkisi bulunmuş; fakat PSS ile en güçlü ilişkili T-lenfosit alt grubunun, CD4+ PD-1+ HLA-DR+ olduğu saptanmıştır.(206) Bu çalışmadaki Kaplan meier analizinde CD8 yüzdesi > % 33.2 (medyan değeri) olan hastalarda daha kısa PSS görülmüş; özyinelemeli bölümlleme ile (recursive partitioning) CD8 > % 56.9 cut-off değerinde ise $p < 0.001$ düzeyinde agresif hastalıkla ilişkili saptanmıştır.(206)

Çalışmadaki hastaların sağkalım durumu incelendiğinde, vefat eden hastalarda tanıda CD3, CD4, CD8 ve CD7 yüzdesi daha düşük saptandı. Fakat CD4/MBC, CD8/MBC ve CD7/MBC oranları vefat eden hastalarda daha yüksek saptandı. HLA-DR yüzdesi de B-lenfosit elemanlarına bağlı olarak vefat eden hastalarda daha yüksek saptansa da CD7+HLA-DR yüzdesi ile sağkalım açısından anlamlı fark saptanmadı. Genel sağkalım süresine bakıldığında, GSS ile CD3, CD4 ve CD8 yüzdeleri, mutlak CD8 sayısı ve CD4/MBC, CD8/MBC ve CD7/MBC oranları arasında pozitif korelasyon saptandı. Gonzalez-Rodriguez ve arkadaşlarının çalışmasında, yüksek CD4/MBC ve CD8/MBC oranlarıyla daha uzun GSS, hem 5. yılda, hem 10. yılda daha yüksek sağkalım oranları bildirilmiştir.(200) Aynı çalışmada, kendi çalışmamızdaki gibi mutlak T-lenfosit sayısı ile sağkalım ilişkili saptanmamıştır.(200) Çalışmamızda CD4/MBC, CD8/MBC ve CD7/MBC oranları, vefat eden hastalarda daha yüksek saptanmış olsa da bu oranlar ile GSS arasında pozitif korelasyon olması nedeniyle bu sonucun rastlantısal olduğu düşünüldü. Vefat eden hastalarda ölümlerin, KLL dışı diğer komorbid nedenlerle ilişkili olabileceği hesaba katılırsa bu uyumsuz sonuç, seçim yanlılığı olarak düşünülebilir. Sonuç olarak çalışmamızda CD3, CD4 ve CD8 yüzdelerinin tanı sırasında düşük olmasının, azalmış sağkalım ve kısa GSS ile ilişkili olduğu saptanmıştır. Gonzalez-Rodriguez ve arkadaşlarının çalışmasıyla beraber değerlendirildiğinde, CD4/MBC, CD8/MBC ve CD7/MBC oranlarının da GSS üzerine etkisi olduğu ifade edilmelidir.

Regresyon analizlerinde tek değişkenli modelde PSS'yi etkileyen faktörler CD3, CD4, CD8 ve CD7 yüzdeleri; CD4/MBC, CD8/MBC, CD7/MBC, HLA-DR yüzdesi, modifiye Rai evresi, Binet evresi, Beta-2 mikroglobulin, gammaglobulin ve tedavi durumu olarak saptandı. Yine tek değişkenli modelde GSS'yi etkileyen faktörler CD3, CD4, CD8 ve CD7 yüzdeleri; CD4/MBC, CD8/MBC ve CD7/MBC oranları, HLA-DR yüzdesi, modifiye Rai evresi, Binet evresi, Beta-2 mikroglobulin ve tanı yaşı olarak saptandı. Fakat çok değişkenli analizlerde T-lenfosit alt gruplarının, CD4/CD8 oranının ve aktive T-lenfositleri gösteren CD7+HLA-DR yüzdesinin PSS ve GSS üzerine etkisi saptanmadı. HLA-DR'nin tek değişkenli modellerde sağkalım süreleri üzerine etkisi, malign B-lenfosit elemanlarına bağlı olduğu düşünülmüştür. Literatürdeki çalışmalarda, Gonzalez-Rodriguez ve arkadaşlarının çalışmasında CD4/MBC oranı, CD8/MBC oranı, yüksek Beta-2 mikroglobulin ve yüksek Rai evresi, hem tek değişkenli, hem çok değişkenli regresyon modellerinde bağımsız sağkalım prediktörleri olarak bildirilmiştir.(200) Bu çalışmada ayrıca B-lenfosit elemanlarının da sağkalım süresi üzerine etkisi olmadığı bildirilmiştir.(200) Bu sonuçlar üzerinden değerlendirildiğinde, T-lenfosit yüzdeleri ile beraber malign B hücre yüzdesinin ve T-lenfosit/MBC oranlarının, hem PSS hem GSS açısından prediktif belirteçler olarak beraber değerlendirilmesi gerektiği düşünülmüştür. Ayrıca bu değerlerin Rai ve Binet evreleri ve Beta-2 mikroglobulin ile beraber prediktif değeri olması nedeniyle, CLL-IPI risk skorlaması ile beraber yapılacak çalışmalarla, daha güçlü sonuçlar gösterilebilir.

Tanıda T-lenfosit alt grup yüzdelerinin ve malign B-hücreleri ile oranlarının düşük olmasıyla daha kısa PSS ve GSS ile ilişkili bulunması nedeniyle, istatistiksel anlamlı olabilecek eşik değerleri belirlemek amacıyla medyan değerlerden yola çıkılarak Kaplan-Meier analizleri yapıldı. Hem kısa PSS, hem de kısa GSS açısından anlamlı saptanan eşik değerler, CD3 yüzdesi ≤ 10 , CD4 yüzdesi ≤ 7.5 , CD8 yüzdesi ≤ 6 , CD7 yüzdesi ≤ 18 , CD4/MBC ≤ 0.1 , CD8/MBC ≤ 0.2 ve CD7/MBC ≤ 0.15 olarak belirlendi. Gonzalez-Rodriguez ve arkadaşlarının çalışmasında, eşik değerlerin üstündeki hastalara kıyasla CD4/MBC ≤ 0.1 ve CD8/MBC ≤ 0.074 olan hastalarda beş yıllık ve 10 yıllık sağkalım daha kısa saptanmıştır. (200) Fakat PSS ve GSS açısından prediktif olabilecek eşik değerlerin saptanması için daha fazla çalışma gereklidir.

CD4/CD8 inversiyonu olan (<1) ve olmayan olarak hastalar arasında, hastalık evresi, gammaglobulin düzeyi, Beta-2 mikroglobulin düzeyi, CD38 yüzdesi, İTS, PSS ve GSS açısından fark saptanmadı. Literatürde KLL hastalarında CD4/CD8 inversiyonunun yaş, tanıda evre ve diğer prognostik göstergelerden (lenfosit ikilenme zamanı, CD38 yüzdesi, IGHV mutasyonu) bağımsız olarak daha kısa İTS, PSS ve GSS ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. (156, 179, 180, 185, 186, 212) Tötterman ve arkadaşları, ileri Rai evrelerinde CD4/CD8 oranının daha düşük olduğunu saptamıştır. (20) Nunes ve arkadaşları, CD4/CD8 inversiyonu olan ve olmayan hastalar arasında tanıda Binet evresi CD38 ve ZAP-70 ekspresyonu ve IGHV mutasyon durumu açısından fark saptamamıştır. (186) Fakat CD4/CD8 inversiyonu olan hastalarda azalmış lenfosit ikilenme zamanı, azalmış İTS ve azalmış PSS saptanmıştır. (186) Aynı çalışmada T-lenfosit alt gruplarının fonksiyonel analizleri de yapılarak, CD4/CD8 inversiyonunun nedeninin yüksek oranda farklılaşmış CD8+ PD-1+ hafıza T-lenfositlerdeki artış olduğu gösterilmiş; bu hücrelerde “replikatif yaşlanma” nedeniyle azalmış immünolojik kontrolün daha hızlı lenfosit ikilenmesine ve progresyona neden olduğu düşünülmüştür. (186) Yine aynı merkezden yayınlanmış başka bir çalışmada, CD4/CD8 inversiyonu ile GSS arasında ilişki raporlanmıştır. (179) Wu ve arkadaşlarının çalışmasında da, CD4/CD8 inversiyonu ile daha kısa İTS ve GSS saptanmış; aynı zamanda KLL hastalarında sağlıklı kontrollere kıyasla CD8+ PD-1+ T-lenfositlerde artış görülmüştür. (212) Kendi çalışmamızda fonksiyonel değerlendirme yapılmamış olup, CD4/CD8 inversiyonuna göre kötü prognoz açısından anlamlı sonuç çıkmamıştır. Fakat literatürdeki çalışmalar doğrultusunda bundan sonraki çalışmalarda CD8+ PD-1+ T-lenfositlerin de incelenmesi, daha anlamlı sonuçlar doğuracaktır.

6- SONUÇ VE ÖNERİLER

Tanıda akım sitometride T-lenfosit alt gruplarının prognoz ve sağkalım üzerine etkilerini değerlendirdiğimiz çalışmamızda elde edilen sonuçlar ve çıkarımlar şu şekilde sıralanabilir.

Yaş, cinsiyet, modifiye Rai evresi, Binet evresi, takipte enfeksiyon ve malignite öyküsüne göre tanıda T-lenfosit alt grupları arasında fark saptanmadı. Fakat literatürdeki çalışmalarla beraber değerlendirildiğinde, tanıda bazal farklılaşmamış T-lenfosit rezervinin az olması, kötü hastalık kontrolü nedeniyle hastalık evresini arttıran ve prognozu kötüleştiren bir faktör olabilir. Aynı zamanda erken evrelerde farklılaşmamış T-lenfositlerin ileri evrelerde aktivatör ve inhibitör reseptörlere sahip T-lenfositlere dönüşmesi de, ileri evrelerde bu hücrelerdeki yüksekliğin nedeni olabilir.

Beta-2 mikroglobulin düzeyi > 3.5 mg/L olan hastalarda tanıda CD3 yüzdesi ve CD4 yüzdesi daha düşük saptandı. Tanıda düşük CD4 yüzdesi, Beta-2 mikroglobulin gibi kötü prognoz belirtici olarak kıymetli olabilir.

Tedavisiz hastalara kıyasla çoklu rejim alan hastalarda tanıda CD7 yüzdesi, CD4/MBC, CD8/MBC ve CD7/MBC daha düşük saptandı. Bu parametrelerin düşüklüğü, İTS'den bağımsız olarak tedaviye direnç ve relaps/refrakter hastalık ile ilişkili olabilir.

Progresyonu olan hastalarda tanıda CD4 yüzdesi, CD7 yüzdesi, CD4/MBC, CD8/MBC ve CD7/MBC düşük saptandı. Bu parametreler arasında CD4 yüzdesi ve CD7 yüzdesi, PSS ile ters ilişkili bulundu. Bu nedenle tanıda düşük CD4 ve CD7 yüzdeleri yüksek progresyon ihtimali ve kısa PSS için prediktif; CD4/MBC, CD8/MBC ve CD7/MBC oranları da PSS'den bağımsız olarak progresyon açısından prediktif olabilir.

Vefat eden hastalarda tanıda düşük CD3 yüzdesi, CD4 yüzdesi ve CD8 yüzdesi, azalmış sağkalım ve kısa GSS ile ilişkili saptandı. Bu ilişki CD4/MBC, CD8/MBC ve CD7/MBC oranlarıyla saptanmasa da bu parametrelerin de GSS üzerine etkisi olduğu görülmektedir.

Tanıda T-lenfosit yüzdeleri ile beraber malign B hücre yüzdesi, T-lenfosit/MBC oranı, Beta-2 mikroglobulin düzeyi, Rai evresi ve Binet evresi, hem PSS hem GSS açısından prediktif olabilir. CLL-IPI risk skorlaması ile beraber yapılacak çalışmalarla, daha güçlü sonuçlar gösterilebilir.

Kendi çalışmamız dahil olmak üzere, literatürde KLL hastarındaki T-lenfosit alt gruplarının etkilerini inceleyen çalışmalarda farklı sonuçlara bildirilmiştir. Bu durum, çalışmalardaki hasta sayılarında ve evrelerindeki farklılıklar, kontrol grubunun olmadığı çalışmalar ve akım sitometri gibi laboratuvar tetkiklerinin standart olmaması gibi nedenlerle açıklanabilir.(157) Çalışmamızın en önemli

kısıtlayıcı noktası, retrospektif olması nedeniyle seçim yanlılığı ihtimalidir. Ayrıca birçok hastanın tanı sırasındaki gamma globulin düzeyi, CD38 yüzdesi, kromozomal ve sitogenetik analizleri bakılmamış ya da kayıt altına alınmamıştır. Çalışmaya dahil edilen hasta sayısının az olması nedeniyle, literatürdeki diğer çalışmalarda da olduğu gibi T-lenfosit alt grupları ile IGHV mutasyon durumunun, kromozomal ve sitogenetik bozuklukların ve CD38 yüzdesinin ilişkili yeterli incelenememiştir.(157) Yine çalışma hastalarının çoğunda CLL-IPI skoru hesaplanamadığı için bu risk skoru ile T-lenfosit alt grupları incelenmemiştir. Bundan sonra yapılacak çalışmalarda T-lenfosit alt gruplarının, kromozomal ve sitogenetik bozukluklar ile CLL-IPI skoruna olan etkilerinin incelenmesi literatüre katkı sağlayacaktır. Çalışmamızın retrospektif olması nedeniyle, CD4 ve CD8 T-lenfosit alt grupları ve fonksiyonel belirteçleri değerlendirilmemiştir. Sadece aktif T-lenfosit belirteçi olarak CD7+HLA-DR T-lenfositlere bakılmıştır, fakat hasta sayısının yetersiz olması nedeniyle yeterli değerlendirme yapılamamıştır. Literatürde özellikle PD-1 pozitif CD4 ve CD8 T-lenfositlerin ileri evre hastalık ve yüksek progresyon ile ilişkili olduğu saptanmıştır. PD-1 ve diğer T-lenfosit fonksiyonel belirteçlerin değerlendirildiği çalışmalar, yeni tedavilerin geliştirilmesine katkı sağlayacaktır. Çalışmamıza T-lenfosit alt gruplarının KLL hastaları arasında prognostik belirteç olarak araştırılması amacıyla sadece KLL hastaları dahil edilmiştir. Fakat literatürdeki diğer çalışmalarda prospektif yöntemler ile sağlıklı kontroller ile de kıyaslama yapılmıştır. İleride planlanacak prospektif çalışmalarda sağlıklı kontrollerin de incelenmesinin literatüre daha fazla katkısı olacaktır. Yine bu çalışmalarda hem tanı sırasında, hem de tedaviden belirli bir süre sonra yapılacak akım sitometrik incelemelerin, T-lenfosit alt gruplarının KLL tedavisindeki rolünü belirlemede önemli katkısı olacaktır. Fakat tedavi ile T-lenfosit sayılarında önemli ölçüde azalma olması, bu incelemeyi zorlaştıran bir durumdur.(157)

Sonuç olarak, çalışmamızda tanı sırasında düşük T-lenfosit yüzdeleri ve düşük T-lenfosit/MBC oranlarının kötü prognoz, progresif hastalık ve azalmış sağkalım ile ilişkisi olduğu gösterilmiştir. Fakat CD4/CD8 inversiyonu ile progresif hastalık, tedavi süresinde kısalma ve azalmış sağkalım arasında ilişki saptanmamıştır. CD7+HLA-DR pozitif aktif T-lenfositlerin de prognostik önemi saptanmamıştır; fakat çalışmamızda fonksiyonel değerlendirme yeterli değildir. Sonuçlar, tanı sırasındaki akım sitometride mutlak T-lenfosit sayısından çok, T-lenfosit yüzdelерinin malign B hücre yüzdesine kıyasla az olmasının, hızlı hastalık progresyonuna neden olabileceğini düşündürmektedir. KLL’de tanıda T-lenfosit/MBC oranları, mevcut risk skorlamalarıyla beraber değerlendirilebilir. Literatürde CD8+ PD-1+ T-lenfositlerdeki artışa bağlı olarak CD4/CD8 inversiyonunun kötü prognozla ilişkisini gösteren çalışmalar mevcuttur. Bu nedenle naif T-lenfosit ile farklılaşmış T-lenfosit alt gruplarının değerlendirildiği ve özellikle PD -1 olmak üzere T-lenfosit aktivasyon ve inhibisyon belirteçlerinin değerlendirildiği çalışmalarda, KLL’de T-lenfositlerin prognoz üzerine etkisi daha net anlaşılacaktır.

7- KAYNAKÇA

1. Rozman C, Montserrat E. Chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med*. 1995;333(16):1052-7. Epub 1995/10/19. doi: 10.1056/nejm199510193331606. PubMed PMID: 7675049.
2. Hallek M. Chronic lymphocytic leukemia: 2020 update on diagnosis, risk stratification and treatment. *Am J Hematol*. 2019;94(11):1266-87. Epub 2019/08/01. doi: 10.1002/ajh.25595. PubMed PMID: 31364186.
3. Jemal A, Siegel R, Ward E, Murray T, Xu J, Thun MJ. Cancer statistics, 2007. *CA Cancer J Clin*. 2007;57(1):43-66. Epub 2007/01/24. doi: 10.3322/canjclin.57.1.43. PubMed PMID: 17237035.
4. Pamuk ON, Pamuk GE, Soysal T, Ongören S, Başlar Z, Ferhanoğlu B, et al. Chronic lymphocytic leukemia in Turkey: experience of a single center in Istanbul. *South Med J*. 2004;97(3):240-5. Epub 2004/03/27. doi: 10.1097/01.Smj.0000053674.03385.B7. PubMed PMID: 15043330.
5. Boggs DR, Chen SC, Zhang ZN, Zhang A. Chronic lymphocytic leukemia in China. *Am J Hematol*. 1987;25(3):349-54. Epub 1987/07/01. doi: 10.1002/ajh.2830250317. PubMed PMID: 3605079.
6. Weiss NS. Geographical variation in the incidence of the leukemias and lymphomas. *Natl Cancer Inst Monogr*. 1979(53):139-42. Epub 1979/11/01. PubMed PMID: 295090.
7. Linet MS, Van Natta ML, Brookmeyer R, Khoury MJ, McCaffrey LD, Humphrey RL, et al. Familial cancer history and chronic lymphocytic leukemia. A case-control study. *Am J Epidemiol*. 1989;130(4):655-64. Epub 1989/10/01. doi: 10.1093/oxfordjournals.aje.a115387. PubMed PMID: 2773914.
8. Neuland CY, Blattner WA, Mann DL, Fraser MC, Tsai S, Strong DM. Familial chronic lymphocytic leukemia. *J Natl Cancer Inst*. 1983;71(6):1143-50. Epub 1983/12/01. PubMed PMID: 6418939.
9. Yuille MR, Matutes E, Marossy A, Hilditch B, Catovsky D, Houlston RS. Familial chronic lymphocytic leukaemia: a survey and review of published studies. *Br J Haematol*. 2000;109(4):794-9. Epub 2000/08/06. doi: 10.1046/j.1365-2141.2000.02111.x. PubMed PMID: 10929032.
10. Capalbo S, Trerotoli P, Ciancio A, Battista C, Serio G, Liso V. 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):114-7. Epub 2000/08/31. doi: 10.1034/j.1600-0609.2000.90183.x. PubMed PMID: 10966171.
11. Goldin LR, Sgambati M, Marti GE, Fontaine L, Ishibe N, Caporaso N. Anticipation in familial chronic lymphocytic leukemia. *Am J Hum Genet*. 1999;65(1):265-9. Epub 1999/06/12. doi: 10.1086/302458. PubMed PMID: 10364544; PubMed Central PMCID: PMC1378102.
12. Horwitz M, Goode EL, Jarvik GP. Anticipation in familial leukemia. *Am J Hum Genet*. 1996;59(5):990-8. Epub 1996/11/01. PubMed PMID: 8900225; PubMed Central PMCID: PMC1914843.
13. Wiernik PH, Ashwin M, Hu XP, Paietta E, Brown K. Anticipation in familial chronic lymphocytic leukaemia. *Br J Haematol*. 2001;113(2):407-14. Epub 2001/05/31. doi: 10.1046/j.1365-2141.2001.02773.x. PubMed PMID: 11380406.
14. Kikushige Y. Pathophysiology of chronic lymphocytic leukemia and human B1 cell development. *Int J Hematol*. 2020;111(5):634-41. Epub 2019/12/05. doi: 10.1007/s12185-019-02788-7. PubMed PMID: 31797231.
15. Landgren O, Albitar M, Ma W, Abbasi F, Hayes RB, Ghia P, et al. B-cell clones as early markers for chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med*. 2009;360(7):659-67. Epub 2009/02/14. doi: 10.1056/NEJMoa0806122. PubMed PMID: 19213679; PubMed Central PMCID: PMC137015348.
16. Marti GE, Rawstron AC, Ghia P, Hillmen P, Houlston RS, Kay N, et al. Diagnostic criteria for monoclonal B-cell lymphocytosis. *Br J Haematol*. 2005;130(3):325-32. Epub 2005/07/27. doi: 10.1111/j.1365-2141.2005.05550.x. PubMed PMID: 16042682.
17. Zenz T, Mertens D, Küppers R, Döhner H, Stilgenbauer S. From pathogenesis to treatment of chronic lymphocytic leukaemia. *Nat Rev Cancer*. 2010;10(1):37-50. Epub 2009/12/04. doi: 10.1038/nrc2764. PubMed PMID: 19956173.

18. Hervé M, Xu K, Ng YS, Wardemann H, Albesiano E, Messmer BT, et al. Unmutated and mutated chronic lymphocytic leukemias derive from self-reactive B cell precursors despite expressing different antibody reactivity. *J Clin Invest*. 2005;115(6):1636-43. Epub 2005/05/20. doi: 10.1172/jci24387. PubMed PMID: 15902303; PubMed Central PMCID: PMCPMC1088018.
19. Tsukada N, Burger JA, Zvaifler NJ, Kipps TJ. Distinctive features of "nurselike" cells that differentiate in the context of chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 2002;99(3):1030-7. Epub 2002/01/25. doi: 10.1182/blood.v99.3.1030. PubMed PMID: 11807009.
20. Pedersen IM, Kitada S, Leoni LM, Zapata JM, Karras JG, Tsukada N, et al. Protection of CLL B cells by a follicular dendritic cell line is dependent on induction of Mcl-1. *Blood*. 2002;100(5):1795-801. Epub 2002/08/15. PubMed PMID: 12176902.
21. Burger JA, Ghia P, Rosenwald A, Caligaris-Cappio F. The microenvironment in mature B-cell malignancies: a target for new treatment strategies. *Blood*. 2009;114(16):3367-75. Epub 2009/07/29. doi: 10.1182/blood-2009-06-225326. PubMed PMID: 19636060; PubMed Central PMCID: PMCPMC4969052.
22. Chiorazzi N, Rai KR, Ferrarini M. Chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med*. 2005;352(8):804-15. Epub 2005/02/25. doi: 10.1056/NEJMra041720. PubMed PMID: 15728813.
23. Reinart N, Nguyen PH, Boucas J, Rosen N, Kvasnicka HM, Heukamp L, et al. Delayed development of chronic lymphocytic leukemia in the absence of macrophage migration inhibitory factor. *Blood*. 2013;121(5):812-21. Epub 2012/11/03. doi: 10.1182/blood-2012-05-431452. PubMed PMID: 23118218.
24. Landau DA, Tausch E, Taylor-Weiner AN, Stewart C, Reiter JG, Bahlo J, et al. Mutations driving CLL and their evolution in progression and relapse. *Nature*. 2015;526(7574):525-30. Epub 2015/10/16. doi: 10.1038/nature15395. PubMed PMID: 26466571; PubMed Central PMCID: PMCPMC4815041.
25. Döhner H, Stilgenbauer S, Benner A, Leupolt E, Kröber A, Bullinger L, et al. Genomic aberrations and survival in chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med*. 2000;343(26):1910-6. Epub 2001/01/03. doi: 10.1056/nejm200012283432602. PubMed PMID: 11136261.
26. Lin K, Sherrington PD, Dennis M, Matrai Z, Cawley JC, Pettitt AR. Relationship between p53 dysfunction, CD38 expression, and IgV(H) mutation in chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 2002;100(4):1404-9. Epub 2002/08/01. doi: 10.1182/blood-2001-11-0066. PubMed PMID: 12149224.
27. Oscier DG, Gardiner AC, Mould SJ, Glide S, Davis ZA, Ibbotson RE, 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):1177-84. Epub 2002/08/01. PubMed PMID: 12149195.
28. Calin GA, Dumitru CD, Shimizu M, Bichi R, Zupo S, Noch E, et al. Frequent deletions and down-regulation of micro- RNA genes miR15 and miR16 at 13q14 in chronic lymphocytic leukemia. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002;99(24):15524-9. Epub 2002/11/16. doi: 10.1073/pnas.242606799. PubMed PMID: 12434020; PubMed Central PMCID: PMCPMC137750.
29. Klein U, Lia M, Crespo M, Siegel R, Shen Q, Mo T, et al. The DLEU2/miR-15a/16-1 cluster controls B cell proliferation and its deletion leads to chronic lymphocytic leukemia. *Cancer Cell*. 2010;17(1):28-40. Epub 2010/01/12. doi: 10.1016/j.ccr.2009.11.019. PubMed PMID: 20060366.
30. Quesada V, Conde L, Villamor N, Ordóñez GR, Jares P, Bassaganyas L, et al. Exome sequencing identifies recurrent mutations of the splicing factor SF3B1 gene in chronic lymphocytic leukemia. *Nat Genet*. 2011;44(1):47-52. Epub 2011/12/14. doi: 10.1038/ng.1032. PubMed PMID: 22158541.
31. Döhner H, Stilgenbauer S, James MR, Benner A, Weilguni T, Bentz M, et al. 11q deletions identify a new subset of B-cell chronic lymphocytic leukemia characterized by extensive nodal involvement and inferior prognosis. *Blood*. 1997;89(7):2516-22. Epub 1997/04/01. PubMed PMID: 9116297.
32. Rossi D, Cerri M, Deambrogi C, Sozzi E, Cresta S, Rasi S, et al. The prognostic value of TP53 mutations in chronic lymphocytic leukemia is independent of Del17p13: implications for overall survival and chemorefractoriness. *Clin Cancer Res*. 2009;15(3):995-1004. Epub 2009/02/04. doi: 10.1158/1078-0432.Ccr-08-1630. PubMed PMID: 19188171.

33. Lee J, Wang YL. Prognostic and Predictive Molecular Biomarkers in Chronic Lymphocytic Leukemia. *J Mol Diagn*. 2020;22(9):1114-25. Epub 2020/07/03. doi: 10.1016/j.jmoldx.2020.06.004. PubMed PMID: 32615167.
34. Zenz T, Vollmer D, Trbusek M, Smardova J, Benner A, Soussi T, et al. TP53 mutation profile in chronic lymphocytic leukemia: evidence for a disease specific profile from a comprehensive analysis of 268 mutations. *Leukemia*. 2010;24(12):2072-9. Epub 2010/09/24. doi: 10.1038/leu.2010.208. PubMed PMID: 20861914.
35. Seiffert M, Dietrich S, Jethwa A, Glimm H, Lichter P, Zenz T. Exploiting biological diversity and genomic aberrations in chronic lymphocytic leukemia. *Leuk Lymphoma*. 2012;53(6):1023-31. Epub 2011/10/26. doi: 10.3109/10428194.2011.631638. PubMed PMID: 22023519.
36. Strati P, Abruzzo LV, Wierda WG, O'Brien S, Ferrajoli A, Keating MJ. Second cancers and Richter transformation are the leading causes of death in patients with trisomy 12 chronic lymphocytic leukemia. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk*. 2015;15(7):420-7. Epub 2015/03/25. doi: 10.1016/j.clml.2015.02.001. PubMed PMID: 25800543; PubMed Central PMCID: PMC4874253.
37. Agathangelidis A, Ljungström V, Scarfò L, Fazi C, Gounari M, Pandzic T, et al. Highly similar genomic landscapes in monoclonal B-cell lymphocytosis and ultra-stable chronic lymphocytic leukemia with low frequency of driver mutations. *Haematologica*. 2018;103(5):865-73. Epub 2018/02/17. doi: 10.3324/haematol.2017.177212. PubMed PMID: 29449433; PubMed Central PMCID: PMC5927998.
38. Puente XS, Beà S, Valdés-Mas R, Villamor N, Gutiérrez-Abril J, Martín-Subero JI, et al. Non-coding recurrent mutations in chronic lymphocytic leukaemia. *Nature*. 2015;526(7574):519-24. Epub 2015/07/23. doi: 10.1038/nature14666. PubMed PMID: 26200345.
39. Jackson SP, Bartek J. The DNA-damage response in human biology and disease. *Nature*. 2009;461(7267):1071-8. Epub 2009/10/23. doi: 10.1038/nature08467. PubMed PMID: 19847258; PubMed Central PMCID: PMC2906700.
40. Wang L, Lawrence MS, Wan Y, Stojanov P, Sougnez C, Stevenson K, et al. SF3B1 and other novel cancer genes in chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med*. 2011;365(26):2497-506. Epub 2011/12/14. doi: 10.1056/NEJMoa1109016. PubMed PMID: 22150006; PubMed Central PMCID: PMC3685413.
41. Wang L, Brooks AN, Fan J, Wan Y, Gambe R, Li S, et al. Transcriptomic Characterization of SF3B1 Mutation Reveals Its Pleiotropic Effects in Chronic Lymphocytic Leukemia. *Cancer Cell*. 2016;30(5):750-63. Epub 2016/11/08. doi: 10.1016/j.ccell.2016.10.005. PubMed PMID: 27818134; PubMed Central PMCID: PMC5127278.
42. Ouilllette P, Collins R, Shakhani S, Li J, Li C, Shedden K, et al. The prognostic significance of various 13q14 deletions in chronic lymphocytic leukemia. *Clin Cancer Res*. 2011;17(21):6778-90. Epub 2011/09/06. doi: 10.1158/1078-0432.Ccr-11-0785. PubMed PMID: 21890456; PubMed Central PMCID: PMC3207001.
43. Del Giudice I, Rossi D, Chiaretti S, Marinelli M, Tavoraro S, Gabrielli S, et al. NOTCH1 mutations in +12 chronic lymphocytic leukemia (CLL) confer an unfavorable prognosis, induce a distinctive transcriptional profiling and refine the intermediate prognosis of +12 CLL. *Haematologica*. 2012;97(3):437-41. Epub 2011/12/31. doi: 10.3324/haematol.2011.060129. PubMed PMID: 22207691; PubMed Central PMCID: PMC3291600.
44. Di Ianni M, Baldoni S, Del Papa B, Aureli P, Dorillo E, De Falco F, et al. NOTCH1 Is Aberrantly Activated in Chronic Lymphocytic Leukemia Hematopoietic Stem Cells. *Front Oncol*. 2018;8:105. Epub 2018/05/08. doi: 10.3389/fonc.2018.00105. PubMed PMID: 29732315; PubMed Central PMCID: PMC5919960.
45. Scarfò L, Ferreri AJ, Ghia P. Chronic lymphocytic leukaemia. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2016;104:169-82. Epub 2016/07/03. doi: 10.1016/j.critrevonc.2016.06.003. PubMed PMID: 27370174.
46. Hamblin TJ, Davis Z, Gardiner A, Oscier DG, Stevenson FK. Unmutated Ig V(H) genes are associated with a more aggressive form of chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 1999;94(6):1848-54. Epub 1999/09/09. PubMed PMID: 10477713.

47. Cheson BD, Bennett JM, Grever M, Kay N, Keating MJ, O'Brien S, et al. National Cancer Institute-sponsored Working Group guidelines for chronic lymphocytic leukemia: revised guidelines for diagnosis and treatment. *Blood*. 1996;87(12):4990-7. Epub 1996/06/15. PubMed PMID: 8652811.
48. Montserrat E, Viñolas N, Reverter JC, Rozman C. Natural history of chronic lymphocytic leukemia: on the progression and progression and prognosis of early clinical stages. *Nouv Rev Fr Hematol*. 1988;30(5-6):359-61. Epub 1988/01/01. PubMed PMID: 3222145.
49. Forconi F, Moss P. Perturbation of the normal immune system in patients with CLL. *Blood*. 2015;126(5):573-81. Epub 2015/06/19. doi: 10.1182/blood-2015-03-567388. PubMed PMID: 26084672.
50. Dighiero G. An attempt to explain disordered immunity and hypogammaglobulinemia in B-CLL. *Nouv Rev Fr Hematol*. 1988;30(5-6):283-8. Epub 1988/01/01. PubMed PMID: 3065729.
51. Friman V, Winqvist O, Blimark C, Langerbeins P, Chapel H, Dhalla F. Secondary immunodeficiency in lymphoproliferative malignancies. *Hematol Oncol*. 2016;34(3):121-32. Epub 2016/07/13. doi: 10.1002/hon.2323. PubMed PMID: 27402426.
52. Riedell P, Carson KR. A drug safety evaluation of rituximab and risk of hepatitis B. *Expert Opin Drug Saf*. 2014;13(7):977-87. Epub 2014/05/14. doi: 10.1517/14740338.2014.918948. PubMed PMID: 24821316.
53. Hartkamp A, Mulder AH, Rijkers GT, van Velzen-Blad H, Biesma DH. Antibody responses to pneumococcal and haemophilus vaccinations in patients with B-cell chronic lymphocytic leukaemia. *Vaccine*. 2001;19(13-14):1671-7. Epub 2001/02/13. doi: 10.1016/s0264-410x(00)00409-6. PubMed PMID: 11166890.
54. Sinsalo M, Aittoniemi J, Käyhty H, Vilpo J. Haemophilus influenzae type b (Hib) antibody concentrations and vaccination responses in patients with chronic lymphocytic leukaemia: predicting factors for response. *Leuk Lymphoma*. 2002;43(10):1967-9. Epub 2002/12/17. doi: 10.1080/1042819021000015916. PubMed PMID: 12481893.
55. Sinisalo M, Vilpo J, Itälä M, Väkeväinen M, Taurio J, Aittoniemi J. Antibody response to 7-valent conjugated pneumococcal vaccine in patients with chronic lymphocytic leukaemia. *Vaccine*. 2007;26(1):82-7. Epub 2007/12/07. doi: 10.1016/j.vaccine.2007.10.053. PubMed PMID: 18053620.
56. Pasiarski M, Rolinski J, Grywalska E, Stelmach-Goldys A, Korona-Glowniak I, Gozdz S, et al. Antibody and plasmablast response to 13-valent pneumococcal conjugate vaccine in chronic lymphocytic leukemia patients--preliminary report. *PLoS One*. 2014;9(12):e114966. Epub 2014/12/17. doi: 10.1371/journal.pone.0114966. PubMed PMID: 25506837; PubMed Central PMCID: PMC4266633.
57. Sánchez-Ramón S, Dhalla F, Chapel H. Challenges in the Role of Gammaglobulin Replacement Therapy and Vaccination Strategies for Hematological Malignancy. *Front Immunol*. 2016;7:317. Epub 2016/09/07. doi: 10.3389/fimmu.2016.00317. PubMed PMID: 27597852; PubMed Central PMCID: PMC4993076.
58. Hamblin TJ, Oscier DG, Young BJ. Autoimmunity in chronic lymphocytic leukaemia. *J Clin Pathol*. 1986;39(7):713-6. Epub 1986/07/01. doi: 10.1136/jcp.39.7.713. PubMed PMID: 3488334; PubMed Central PMCID: PMC4993076.
59. Hodgson K, Ferrer G, Pereira A, Moreno C, Montserrat E. Autoimmune cytopenia in chronic lymphocytic leukaemia: diagnosis and treatment. *Br J Haematol*. 2011;154(1):14-22. Epub 2011/05/04. doi: 10.1111/j.1365-2141.2011.08707.x. PubMed PMID: 21534942.
60. Kipps TJ, Carson DA. Autoantibodies in chronic lymphocytic leukemia and related systemic autoimmune diseases. *Blood*. 1993;81(10):2475-87. Epub 1993/05/15. PubMed PMID: 8490163.
61. Beaume A, Brizard A, Dreyfus B, Preud'homme JL. High incidence of serum monoclonal Igs detected by a sensitive immunoblotting technique in B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 1994;84(4):1216-9. Epub 1994/08/15. PubMed PMID: 8049436.
62. Caligaris-Cappio F. B-chronic lymphocytic leukemia: a malignancy of anti-self B cells. *Blood*. 1996;87(7):2615-20. Epub 1996/04/01. PubMed PMID: 8639876.
63. Vitale C, Montalbano MC, Salvetti C, Boccellato E, Griggio V, Boccadoro M, et al. Autoimmune Complications in Chronic Lymphocytic Leukemia in the Era of Targeted Drugs. *Cancers (Basel)*.

- 2020;12(2). Epub 2020/01/26. doi: 10.3390/cancers12020282. PubMed PMID: 31979293; PubMed Central PMCID: PMC7072470.
64. Hallek M, Cheson BD, Catovsky D, Caligaris-Cappio F, Dighiero G, Döhner H, et al. iwCLL guidelines for diagnosis, indications for treatment, response assessment, and supportive management of CLL. *Blood*. 2018;131(25):2745-60. Epub 2018/03/16. doi: 10.1182/blood-2017-09-806398. PubMed PMID: 29540348.
 65. Rodon P, Breton P, Courouble G. Treatment of pure red cell aplasia and autoimmune haemolytic anaemia in chronic lymphocytic leukaemia with Campath-1H. *Eur J Haematol*. 2003;70(5):319-21. Epub 2003/04/16. doi: 10.1034/j.1600-0609.2003.00055.x. PubMed PMID: 12694169.
 66. Hamblin TJ. Autoimmune complications of chronic lymphocytic leukemia. *Semin Oncol*. 2006;33(2):230-9. Epub 2006/04/18. doi: 10.1053/j.seminoncol.2006.01.011. PubMed PMID: 16616070.
 67. Zaja F, Vianelli N, Sperotto A, Patriarca F, Tani M, Marin L, et al. Anti-CD20 therapy for chronic lymphocytic leukemia-associated autoimmune diseases. *Leuk Lymphoma*. 2003;44(11):1951-5. Epub 2004/01/24. doi: 10.1080/1042819031000119235. PubMed PMID: 14738149.
 68. Koehrer S, Keating MJ, Wierda WG. Eltrombopag, a second-generation thrombopoietin receptor agonist, for chronic lymphocytic leukemia-associated ITP. *Leukemia*. 2010;24(5):1096-8. Epub 2010/03/27. doi: 10.1038/leu.2010.45. PubMed PMID: 20339441.
 69. Gupta N, Kavuru S, Patel D, Janson D, Driscoll N, Ahmed S, et al. Rituximab-based chemotherapy for steroid-refractory autoimmune hemolytic anemia of chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia*. 2002;16(10):2092-5. Epub 2002/10/03. doi: 10.1038/sj.leu.2402676. PubMed PMID: 12357362.
 70. Rossi D, Spina V, Gaidano G. Biology and treatment of Richter syndrome. *Blood*. 2018;131(25):2761-72. Epub 2018/04/26. doi: 10.1182/blood-2018-01-791376. PubMed PMID: 29692342.
 71. Allan JN, Furman RR. Current trends in the management of Richter's syndrome. *Int J Hematol Oncol*. 2018;7(4):ljh09. Epub 2019/01/18. doi: 10.2217/ijh-2018-0010. PubMed PMID: 30651968; PubMed Central PMCID: PMC6331753.
 72. Gradowski JF, Sargent RL, Craig FE, Cieply K, Fuhrer K, Sherer C, et al. Chronic lymphocytic leukemia/small lymphocytic lymphoma with cyclin D1 positive proliferation centers do not have CCND1 translocations or gains and lack SOX11 expression. *Am J Clin Pathol*. 2012;138(1):132-9. Epub 2012/06/19. doi: 10.1309/ajcpivkzrmpf93et. PubMed PMID: 22706868; PubMed Central PMCID: PMC3700540.
 73. Rossi D, Spina V, Deambrogi C, Rasi S, Laurenti L, Stamatopoulos K, et al. The genetics of Richter syndrome reveals disease heterogeneity and predicts survival after transformation. *Blood*. 2011;117(12):3391-401. Epub 2011/01/27. doi: 10.1182/blood-2010-09-302174. PubMed PMID: 21266718.
 74. Fabbri G, Khiabanian H, Holmes AB, Wang J, Messina M, Mullighan CG, et al. Genetic lesions associated with chronic lymphocytic leukemia transformation to Richter syndrome. *J Exp Med*. 2013;210(11):2273-88. Epub 2013/10/16. doi: 10.1084/jem.20131448. PubMed PMID: 24127483; PubMed Central PMCID: PMC3804949.
 75. Chigrinova E, Rinaldi A, Kwee I, Rossi D, Rancoita PM, Strefford JC, et al. Two main genetic pathways lead to the transformation of chronic lymphocytic leukemia to Richter syndrome. *Blood*. 2013;122(15):2673-82. Epub 2013/09/06. doi: 10.1182/blood-2013-03-489518. PubMed PMID: 24004666.
 76. Robertson LE, Pugh W, O'Brien S, Kantarjian H, Hirsch-Ginsberg C, Cork A, et al. Richter's syndrome: a report on 39 patients. *J Clin Oncol*. 1993;11(10):1985-9. Epub 1993/10/01. doi: 10.1200/jco.1993.11.10.1985. PubMed PMID: 8410123.
 77. Abrisqueta P, Delgado J, Alcoceba M, Oliveira AC, Loscertales J, Hernández-Rivas JA, et al. Clinical outcome and prognostic factors of patients with Richter syndrome: real-world study of the

- Spanish Chronic Lymphocytic Leukemia Study Group (GELLC). *Br J Haematol*. 2020;190(6):854-63. Epub 2020/06/11. doi: 10.1111/bjh.16748. PubMed PMID: 32519351.
78. Tsimberidou AM, O'Brien S, Khouri I, Giles FJ, Kantarjian HM, Champlin R, et al. Clinical outcomes and prognostic factors in patients with Richter's syndrome treated with chemotherapy or chemoimmunotherapy with or without stem-cell transplantation. *J Clin Oncol*. 2006;24(15):2343-51. Epub 2006/05/20. doi: 10.1200/jco.2005.05.0187. PubMed PMID: 16710033.
 79. Rawstron AC, Bennett FL, O'Connor SJ, Kwok M, Fenton JA, Plummer M, et al. Monoclonal B-cell lymphocytosis and chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med*. 2008;359(6):575-83. Epub 2008/08/09. doi: 10.1056/NEJMoa075290. PubMed PMID: 18687638.
 80. Maitre E, Troussard X. Monoclonal B-cell lymphocytosis. *Best Pract Res Clin Haematol*. 2019;32(3):229-38. Epub 2019/10/06. doi: 10.1016/j.beha.2019.06.002. PubMed PMID: 31585623.
 81. Strati P, Shanafelt TD. Monoclonal B-cell lymphocytosis and early-stage chronic lymphocytic leukemia: diagnosis, natural history, and risk stratification. *Blood*. 2015;126(4):454-62. Epub 2015/06/13. doi: 10.1182/blood-2015-02-585059. PubMed PMID: 26065657; PubMed Central PMCID: PMC4624440.
 82. Melo JV, Catovsky D, Galton DA. The relationship between chronic lymphocytic leukaemia and prolymphocytic leukaemia. I. Clinical and laboratory features of 300 patients and characterization of an intermediate group. *Br J Haematol*. 1986;63(2):377-87. Epub 1986/06/01. PubMed PMID: 3487341.
 83. Ginaldi L, De Martinis M, Matutes E, Farahat N, Morilla R, Catovsky D. Levels of expression of CD19 and CD20 in chronic B cell leukaemias. *J Clin Pathol*. 1998;51(5):364-9. Epub 1998/08/26. doi: 10.1136/jcp.51.5.364. PubMed PMID: 9708202; PubMed Central PMCID: PMC500695.
 84. Matutes E, Owusu-Ankomah K, Morilla R, Garcia Marco J, Houlihan A, Que TH, et al. The immunological profile of B-cell disorders and proposal of a scoring system for the diagnosis of CLL. *Leukemia*. 1994;8(10):1640-5. Epub 1994/10/01. PubMed PMID: 7523797.
 85. Moreau EJ, Matutes E, A'Hern RP, Morilla AM, Morilla RM, Owusu-Ankomah KA, et al. Improvement of the chronic lymphocytic leukemia scoring system with the monoclonal antibody SN8 (CD79b). *Am J Clin Pathol*. 1997;108(4):378-82. Epub 1997/10/10. doi: 10.1093/ajcp/108.4.378. PubMed PMID: 9322589.
 86. Rawstron AC, Kreuzer KA, Soosapilla A, Spacek M, Stehlikova O, Gambell P, et al. Reproducible diagnosis of chronic lymphocytic leukemia by flow cytometry: An European Research Initiative on CLL (ERIC) & European Society for Clinical Cell Analysis (ESCCA) Harmonisation project. *Cytometry B Clin Cytom*. 2018;94(1):121-8. Epub 2017/10/13. doi: 10.1002/cyto.b.21595. PubMed PMID: 29024461; PubMed Central PMCID: PMC5817234.
 87. Buhmann R, Kurzeder C, Rehklau J, Westhaus D, Bursch S, Hiddemann W, et al. CD40L stimulation enhances the ability of conventional metaphase cytogenetics to detect chromosome aberrations in B-cell chronic lymphocytic leukaemia cells. *Br J Haematol*. 2002;118(4):968-75. Epub 2002/08/30. doi: 10.1046/j.1365-2141.2002.03719.x. PubMed PMID: 12199774.
 88. Shanafelt TD, Witzig TE, Fink SR, Jenkins RB, Paternoster SF, Smoley SA, et al. Prospective evaluation of clonal evolution during long-term follow-up of patients with untreated early-stage chronic lymphocytic leukemia. *J Clin Oncol*. 2006;24(28):4634-41. Epub 2006/09/30. doi: 10.1200/jco.2006.06.9492. PubMed PMID: 17008705.
 89. Rai KR, Sawitsky A, Cronkite EP, Chanana AD, Levy RN, Pasternack BS. Clinical staging of chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 1975;46(2):219-234. *Blood*. 2016;128(17):2109. Epub 2016/10/30. doi: 10.1182/blood-2016-08-737650. PubMed PMID: 27789434.
 90. Binet JL, Auquier A, Dighiero G, Chastang C, Piguët H, Goasguen J, et al. A new prognostic classification of chronic lymphocytic leukemia derived from a multivariate survival analysis. *Cancer*. 1981;48(1):198-206. Epub 1981/07/01. doi: 10.1002/1097-0142(19810701)48:1<198::aid-cncr2820480131>3.0.co;2-v. PubMed PMID: 7237385.
 91. Rai KR, Han T. Prognostic factors and clinical staging in chronic lymphocytic leukemia. *Hematol Oncol Clin North Am*. 1990;4(2):447-56. Epub 1990/04/01. PubMed PMID: 2182601.

92. Thompson PA, O'Brien SM, Wierda WG, Ferrajoli A, Stingo F, Smith SC, et al. Complex karyotype is a stronger predictor than del(17p) for an inferior outcome in relapsed or refractory chronic lymphocytic leukemia patients treated with ibrutinib-based regimens. *Cancer*. 2015;121(20):3612-21. Epub 2015/07/22. doi: 10.1002/cncr.29566. PubMed PMID: 26193999; PubMed Central PMCID: PMC4866653.
93. Hallek M, Fischer K, Fingerle-Rowson G, Fink AM, Busch R, Mayer J, et al. Addition of rituximab to fludarabine and cyclophosphamide in patients with chronic lymphocytic leukaemia: a randomised, open-label, phase 3 trial. *Lancet*. 2010;376(9747):1164-74. Epub 2010/10/05. doi: 10.1016/s0140-6736(10)61381-5. PubMed PMID: 20888994.
94. Malcikova J, Smardova J, Rocnova L, Tichy B, Kuglik P, Vranova V, et al. Monoallelic and biallelic inactivation of TP53 gene in chronic lymphocytic leukemia: selection, impact on survival, and response to DNA damage. *Blood*. 2009;114(26):5307-14. Epub 2009/10/24. doi: 10.1182/blood-2009-07-234708. PubMed PMID: 19850740.
95. Yu L, Kim HT, Kasar S, Benien P, Du W, Hoang K, et al. Survival of Del17p CLL Depends on Genomic Complexity and Somatic Mutation. *Clin Cancer Res*. 2017;23(3):735-45. Epub 2016/08/10. doi: 10.1158/1078-0432.Ccr-16-0594. PubMed PMID: 27503198; PubMed Central PMCID: PMC45467311.
96. Fabbri G, Rasi S, Rossi D, Trifonov V, Khiabani H, Ma J, et al. Analysis of the chronic lymphocytic leukemia coding genome: role of NOTCH1 mutational activation. *J Exp Med*. 2011;208(7):1389-401. Epub 2011/06/15. doi: 10.1084/jem.20110921. PubMed PMID: 21670202; PubMed Central PMCID: PMC3135373.
97. Rossi D, Fangazio M, Rasi S, Vaisitti T, Monti S, Cresta S, et al. Disruption of BIRC3 associates with fludarabine chemorefractoriness in TP53 wild-type chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 2012;119(12):2854-62. Epub 2012/02/07. doi: 10.1182/blood-2011-12-395673. PubMed PMID: 22308293.
98. Rossi D, Bruscaggin A, Spina V, Rasi S, Khiabani H, Messina M, et al. Mutations of the SF3B1 splicing factor in chronic lymphocytic leukemia: association with progression and fludarabine-refractoriness. *Blood*. 2011;118(26):6904-8. Epub 2011/11/01. doi: 10.1182/blood-2011-08-373159. PubMed PMID: 22039264; PubMed Central PMCID: PMC3245210.
99. Parikh SA, Shanafelt TD. Prognostic factors and risk stratification in chronic lymphocytic leukemia. *Semin Oncol*. 2016;43(2):233-40. Epub 2016/04/05. doi: 10.1053/j.seminoncol.2016.02.009. PubMed PMID: 27040701.
100. Rossi D, Terzi-di-Bergamo L, De Paoli L, Cerri M, Ghilardi G, Chiarenza A, et al. Molecular prediction of durable remission after first-line fludarabine-cyclophosphamide-rituximab in chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 2015;126(16):1921-4. Epub 2015/08/16. doi: 10.1182/blood-2015-05-647925. PubMed PMID: 26276669; PubMed Central PMCID: PMC4743433.
101. Thompson PA, Tam CS, O'Brien SM, Wierda WG, Stingo F, Plunkett W, et al. Fludarabine, cyclophosphamide, and rituximab treatment achieves long-term disease-free survival in IGHV-mutated chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 2016;127(3):303-9. Epub 2015/10/24. doi: 10.1182/blood-2015-09-667675. PubMed PMID: 26492934; PubMed Central PMCID: PMC4760129.
102. Bulian P, Shanafelt TD, Fegan C, Zucchetto A, Cro L, Nüchel H, et al. CD49d is the strongest flow cytometry-based predictor of overall survival in chronic lymphocytic leukemia. *J Clin Oncol*. 2014;32(9):897-904. Epub 2014/02/12. doi: 10.1200/jco.2013.50.8515. PubMed PMID: 24516016; PubMed Central PMCID: PMC4876311 found at the end of this article.
103. Dal Bo M, Tissino E, Benedetti D, Caldana C, Bomben R, Poeta GD, et al. Functional and Clinical Significance of the Integrin Alpha Chain CD49d Expression in Chronic Lymphocytic Leukemia. *Curr Cancer Drug Targets*. 2016;16(8):659-68. Epub 2016/10/21. doi: 10.2174/1568009616666160809102219. PubMed PMID: 27514846.
104. An international prognostic index for patients with chronic lymphocytic leukaemia (CLL-IPI): a meta-analysis of individual patient data. *Lancet Oncol*. 2016;17(6):779-90. Epub 2016/05/18. doi: 10.1016/s1470-2045(16)30029-8. PubMed PMID: 27185642.

105. Pflug N, Bahlo J, Shanafelt TD, Eichhorst BF, Bergmann MA, Elter T, et al. Development of a comprehensive prognostic index for patients with chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 2014;124(1):49-62. Epub 2014/05/07. doi: 10.1182/blood-2014-02-556399. PubMed PMID: 24797299; PubMed Central PMCID: PMC4260976.
106. Wierda WG, O'Brien S, Wang X, Faderl S, Ferrajoli A, Do KA, et al. Prognostic nomogram and index for overall survival in previously untreated patients with chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 2007;109(11):4679-85. Epub 2007/02/15. doi: 10.1182/blood-2005-12-051458. PubMed PMID: 17299097.
107. Parikh SA. Chronic lymphocytic leukemia treatment algorithm 2018. *Blood Cancer J*. 2018;8(10):93. Epub 2018/10/05. doi: 10.1038/s41408-018-0131-2. PubMed PMID: 30283014; PubMed Central PMCID: PMC6170426 Janssen, AbbVie, and AstraZeneca for clinical studies in which Sameer A. Parikh is a principal investigator. Sameer A. Parikh has also participated in Advisory Board meetings of Pharmacyclics, AstraZeneca, Gilead, and AbbVie (he was not personally compensated for his participation).
108. Shustik C, Mick R, Silver R, Sawitsky A, Rai K, Shapiro L. Treatment of early chronic lymphocytic leukemia: intermittent chlorambucil versus observation. *Hematol Oncol*. 1988;6(1):7-12. Epub 1988/01/01. doi: 10.1002/hon.2900060103. PubMed PMID: 3277904.
109. Montserrat E FM, Estape J, et al. Chronic lymphocytic leukemia treatment: an interim report of PETHEMA trials. *Leuk Lymphoma*. 1991;5:89-92.
110. Dighiero G, Maloum K, Desablens B, Cazin B, Navarro M, Leblay R, et al. Chlorambucil in indolent chronic lymphocytic leukemia. French Cooperative Group on Chronic Lymphocytic Leukemia. *N Engl J Med*. 1998;338(21):1506-14. Epub 1998/05/21. doi: 10.1056/nejm199805213382104. PubMed PMID: 9593789.
111. Chemotherapeutic options in chronic lymphocytic leukemia: a meta-analysis of the randomized trials. CLL Trialists' Collaborative Group. *J Natl Cancer Inst*. 1999;91(10):861-8. Epub 1999/05/26. doi: 10.1093/jnci/91.10.861. PubMed PMID: 10340906.
112. Extermann M, Overcash J, Lyman GH, Parr J, Balducci L. Comorbidity and functional status are independent in older cancer patients. *J Clin Oncol*. 1998;16(4):1582-7. Epub 1998/04/29. doi: 10.1200/jco.1998.16.4.1582. PubMed PMID: 9552069.
113. Dreger P, Schetelig J, Andersen N, Corradini P, van Gelder M, Gribben J, et al. Managing high-risk CLL during transition to a new treatment era: stem cell transplantation or novel agents? *Blood*. 2014;124(26):3841-9. Epub 2014/10/11. doi: 10.1182/blood-2014-07-586826. PubMed PMID: 25301705; PubMed Central PMCID: PMC4276025.
114. Fink AM, Böttcher S, Ritgen M, Fischer K, Pflug N, Eichhorst B, et al. Prediction of poor outcome in CLL patients following first-line treatment with fludarabine, cyclophosphamide and rituximab. *Leukemia*. 2013;27(9):1949-52. Epub 2013/06/22. doi: 10.1038/leu.2013.190. PubMed PMID: 23787395; PubMed Central PMCID: PMC3768112.
115. Tam CS, O'Brien S, Wierda W, Kantarjian H, Wen S, Do KA, et al. Long-term results of the fludarabine, cyclophosphamide, and rituximab regimen as initial therapy of chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 2008;112(4):975-80. Epub 2008/04/16. doi: 10.1182/blood-2008-02-140582. PubMed PMID: 18411418; PubMed Central PMCID: PMC3952498.
116. Rai KR, Freter CE, Mercier RJ, Cooper MR, Mitchell BS, Stadtmauer EA, et al. Alemtuzumab in previously treated chronic lymphocytic leukemia patients who also had received fludarabine. *J Clin Oncol*. 2002;20(18):3891-7. Epub 2002/09/14. doi: 10.1200/jco.2002.06.119. PubMed PMID: 12228210.
117. Elter T, Borchmann P, Schulz H, Reiser M, Trelle S, Schnell R, 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):7024-31. Epub 2005/09/08. doi: 10.1200/jco.2005.01.9950. PubMed PMID: 16145065.
118. Anaissie EJ, Kontoyiannis DP, O'Brien S, Kantarjian H, Robertson L, Lerner S, et al. Infections in patients with chronic lymphocytic leukemia treated with fludarabine. *Ann Intern Med*.

- 1998;129(7):559-66. Epub 1998/10/03. doi: 10.7326/0003-4819-129-7-199810010-00010. PubMed PMID: 9758577.
119. Plunkett W, Gandhi V, Huang P, Robertson LE, Yang LY, Gregoire V, et al. Fludarabine: pharmacokinetics, mechanisms of action, and rationales for combination therapies. *Semin Oncol.* 1993;20(5 Suppl 7):2-12. Epub 1993/10/01. PubMed PMID: 8235690.
120. Rai KR, Peterson BL, Appelbaum FR, Kolitz J, Elias L, Shepherd L, et al. Fludarabine compared with chlorambucil as primary therapy for chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med.* 2000;343(24):1750-7. Epub 2000/12/15. doi: 10.1056/nejm200012143432402. PubMed PMID: 11114313.
121. Steurer M, Pall G, Richards S, Schwarzer G, Bohlus J, Greil R. Purine antagonists for chronic lymphocytic leukaemia. *Cochrane Database Syst Rev.* 2006(3):Cd004270. Epub 2006/07/21. doi: 10.1002/14651858.CD004270.pub2. PubMed PMID: 16856041.
122. Johnson S, Smith AG, Löffler H, Osby E, Juliusson G, Emmerich B, 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):1432-8. Epub 1996/05/25. doi: 10.1016/s0140-6736(96)91681-5. PubMed PMID: 8676625.
123. Leporrier M, Chevret S, Cazin B, Boudjerra N, Feugier P, Desablens B, et al. Randomized comparison of fludarabine, CAP, and ChOP in 938 previously untreated stage B and C chronic lymphocytic leukemia patients. *Blood.* 2001;98(8):2319-25. Epub 2001/10/06. doi: 10.1182/blood.v98.8.2319. PubMed PMID: 11588025.
124. Robak T, Bloński JZ, Kasznicki M, Blasińska-Morawiec M, Krykowski E, Dmoszyńska A, 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):2723-9. Epub 2000/10/07. PubMed PMID: 11023504.
125. Knauf WU, Lissichkov T, Aldaoud A, Liberati A, Loscertales J, Herbrecht R, 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):4378-84. Epub 2009/08/05. doi: 10.1200/jco.2008.20.8389. PubMed PMID: 19652068.
126. Stilgenbauer S. Prognostic markers and standard management of chronic lymphocytic leukemia. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program.* 2015;2015:368-77. Epub 2015/12/08. doi: 10.1182/asheducation-2015.1.368. PubMed PMID: 26637745.
127. Huhn D, von Schilling C, Wilhelm M, Ho AD, Hallek M, Kuse R, et al. Rituximab therapy of patients with B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Blood.* 2001;98(5):1326-31. Epub 2001/08/25. doi: 10.1182/blood.v98.5.1326. PubMed PMID: 11520778.
128. O'Brien SM, Kantarjian H, Thomas DA, Giles FJ, Freireich EJ, Cortes J, et al. Rituximab dose-escalation trial in chronic lymphocytic leukemia. *J Clin Oncol.* 2001;19(8):2165-70. Epub 2001/04/17. doi: 10.1200/jco.2001.19.8.2165. PubMed PMID: 11304768.
129. Teeling JL, Mackus WJ, Wiegman LJ, van den Brakel JH, Beers SA, French RR, et al. The biological activity of human CD20 monoclonal antibodies is linked to unique epitopes on CD20. *J Immunol.* 2006;177(1):362-71. Epub 2006/06/21. doi: 10.4049/jimmunol.177.1.362. PubMed PMID: 16785532.
130. Patz M, Isaeva P, Forcob N, Müller B, Frenzel LP, Wendtner CM, et al. Comparison of the in vitro effects of the anti-CD20 antibodies rituximab and GA101 on chronic lymphocytic leukaemia cells. *Br J Haematol.* 2011;152(3):295-306. Epub 2010/12/16. doi: 10.1111/j.1365-2141.2010.08428.x. PubMed PMID: 21155758.
131. Mössner E, Brünker P, Moser S, Püntener U, Schmidt C, Herter S, et al. Increasing the efficacy of CD20 antibody therapy through the engineering of a new type II anti-CD20 antibody with enhanced direct and immune effector cell-mediated B-cell cytotoxicity. *Blood.* 2010;115(22):4393-402. Epub 2010/03/03. doi: 10.1182/blood-2009-06-225979. PubMed PMID: 20194898; PubMed Central PMCID: PMC2881503.

132. Osterborg A, Dyer MJ, Bunjes D, Pangalis GA, Bastion Y, Catovsky D, et al. Phase II multicenter study of human CD52 antibody in previously treated chronic lymphocytic leukemia. European Study Group of CAMPATH-1H Treatment in Chronic Lymphocytic Leukemia. *J Clin Oncol*. 1997;15(4):1567-74. Epub 1997/04/01. doi: 10.1200/jco.1997.15.4.1567. PubMed PMID: 9193354.
133. Keating MJ, Flinn I, Jain V, Binet JL, Hillmen P, Byrd 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):3554-61. Epub 2002/05/03. doi: 10.1182/blood.v99.10.3554. PubMed PMID: 11986207.
134. Stilgenbauer S, Döhner H. Campath-1H-induced complete remission of chronic lymphocytic leukemia despite p53 gene mutation and resistance to chemotherapy. *N Engl J Med*. 2002;347(6):452-3. Epub 2002/08/09. doi: 10.1056/nejm200208083470619. PubMed PMID: 12167696.
135. Lozanski G, Heerema NA, Flinn IW, Smith L, Harbison J, Webb J, et al. Alemtuzumab is an effective therapy for chronic lymphocytic leukemia with p53 mutations and deletions. *Blood*. 2004;103(9):3278-81. Epub 2004/01/17. doi: 10.1182/blood-2003-10-3729. PubMed PMID: 14726385.
136. Petlickovski A, Laurenti L, Li X, Marietti S, Chiusolo P, Sica S, et al. Sustained signaling through the B-cell receptor induces Mcl-1 and promotes survival of chronic lymphocytic leukemia B cells. *Blood*. 2005;105(12):4820-7. Epub 2005/02/25. doi: 10.1182/blood-2004-07-2669. PubMed PMID: 15728130.
137. Stevenson FK, Krysov S, Davies AJ, Steele AJ, Packham G. B-cell receptor signaling in chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 2011;118(16):4313-20. Epub 2011/08/06. doi: 10.1182/blood-2011-06-338855. PubMed PMID: 21816833.
138. Wiestner A. Emerging role of kinase-targeted strategies in chronic lymphocytic leukemia. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2012;2012:88-96. Epub 2012/12/13. doi: 10.1182/asheducation-2012.1.88. PubMed PMID: 23233565.
139. Okkenhaug K, Vanhaesebroeck B. PI3K in lymphocyte development, differentiation and activation. *Nat Rev Immunol*. 2003;3(4):317-30. Epub 2003/04/02. doi: 10.1038/nri1056. PubMed PMID: 12669022.
140. Hoellenriegel J, Meadows SA, Sivina M, Wierda WG, Kantarjian H, Keating MJ, et al. The phosphoinositide 3'-kinase delta inhibitor, CAL-101, inhibits B-cell receptor signaling and chemokine networks in chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 2011;118(13):3603-12. Epub 2011/08/02. doi: 10.1182/blood-2011-05-352492. PubMed PMID: 21803855; PubMed Central PMCID: PMC34916562.
141. Brown JR, Byrd JC, Coutre SE, Benson DM, Flinn IW, Wagner-Johnston ND, et al. Idelalisib, an inhibitor of phosphatidylinositol 3-kinase p110 δ , for relapsed/refractory chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 2014;123(22):3390-7. Epub 2014/03/13. doi: 10.1182/blood-2013-11-535047. PubMed PMID: 24615777; PubMed Central PMCID: PMC34123414.
142. Herman SE, Gordon AL, Hertlein E, Ramanunni A, Zhang X, Jaglowski S, et al. Bruton tyrosine kinase represents a promising therapeutic target for treatment of chronic lymphocytic leukemia and is effectively targeted by PCI-32765. *Blood*. 2011;117(23):6287-96. Epub 2011/03/23. doi: 10.1182/blood-2011-01-328484. PubMed PMID: 21422473; PubMed Central PMCID: PMC3122947.
143. Burger JA, Tedeschi A, Barr PM, Robak T, Owen C, Ghia P, et al. Ibrutinib as Initial Therapy for Patients with Chronic Lymphocytic Leukemia. *N Engl J Med*. 2015;373(25):2425-37. Epub 2015/12/08. doi: 10.1056/NEJMoa1509388. PubMed PMID: 26639149; PubMed Central PMCID: PMC4722809.
144. Shanafelt TD, Wang XV, Kay NE, Hanson CA, O'Brien S, Barrientos J, et al. Ibrutinib-Rituximab or Chemoimmunotherapy for Chronic Lymphocytic Leukemia. *N Engl J Med*. 2019;381(5):432-43. Epub 2019/08/01. doi: 10.1056/NEJMoa1817073. PubMed PMID: 31365801; PubMed Central PMCID: PMC6908306.
145. Byrd JC, Harrington B, O'Brien S, Jones JA, Schuh A, Devereux S, et al. Acalabrutinib (ACP-196) in Relapsed Chronic Lymphocytic Leukemia. *N Engl J Med*. 2016;374(4):323-32. Epub 2015/12/08.

doi: 10.1056/NEJMoa1509981. PubMed PMID: 26641137; PubMed Central PMCID: PMC4862586.

146. Sher T, Miller KC, Lawrence D, Whitworth A, Hernandez-Ilizaliturri F, Czuczman MS, et al. Efficacy of lenalidomide in patients with chronic lymphocytic leukemia with high-risk cytogenetics. *Leuk Lymphoma*. 2010;51(1):85-8. Epub 2010/01/09. doi: 10.3109/10428190903406806. PubMed PMID: 20055660.

147. Chao DT, Korsmeyer SJ. BCL-2 family: regulators of cell death. *Annu Rev Immunol*. 1998;16:395-419. Epub 1998/05/23. doi: 10.1146/annurev.immunol.16.1.395. PubMed PMID: 9597135.

148. Tsujimoto Y, Finger LR, Yunis J, Nowell PC, Croce CM. Cloning of the chromosome breakpoint of neoplastic B cells with the t(14;18) chromosome translocation. *Science*. 1984;226(4678):1097-9. Epub 1984/11/30. doi: 10.1126/science.6093263. PubMed PMID: 6093263.

149. Souers AJ, Levenson JD, Boghaert ER, Ackler SL, Catron ND, Chen J, et al. ABT-199, a potent and selective BCL-2 inhibitor, achieves antitumor activity while sparing platelets. *Nat Med*. 2013;19(2):202-8. Epub 2013/01/08. doi: 10.1038/nm.3048. PubMed PMID: 23291630.

150. Stilgenbauer S, Eichhorst B, Schetelig J, Coutre S, Seymour JF, Munir T, et al. Venetoclax in relapsed or refractory chronic lymphocytic leukaemia with 17p deletion: a multicentre, open-label, phase 2 study. *Lancet Oncol*. 2016;17(6):768-78. Epub 2016/05/15. doi: 10.1016/s1470-2045(16)30019-5. PubMed PMID: 27178240.

151. Davids MS, Roberts AW, Seymour JF, Pagel JM, Kahl BS, Wierda WG, et al. Phase I First-in-Human Study of Venetoclax in Patients With Relapsed or Refractory Non-Hodgkin Lymphoma. *J Clin Oncol*. 2017;35(8):826-33. Epub 2017/01/18. doi: 10.1200/jco.2016.70.4320. PubMed PMID: 28095146; PubMed Central PMCID: PMC455685.

152. Quinquenel A, Fornecker LM, Letestu R, Ysebaert L, Fleury C, Lazarian G, et al. Prevalence of BTK and PLCG2 mutations in a real-life CLL cohort still on ibrutinib after 3 years: a FILO group study. *Blood*. 2019;134(7):641-4. Epub 2019/06/28. doi: 10.1182/blood.2019000854. PubMed PMID: 31243043.

153. Ding W, LaPlant BR, Call TG, Parikh SA, Leis JF, He R, et al. Pembrolizumab in patients with CLL and Richter transformation or with relapsed CLL. *Blood*. 2017;129(26):3419-27. Epub 2017/04/21. doi: 10.1182/blood-2017-02-765685. PubMed PMID: 28424162; PubMed Central PMCID: PMC492091.

154. Porter DL, Levine BL, Kalos M, Bagg A, June CH. Chimeric antigen receptor-modified T cells in chronic lymphoid leukemia. *N Engl J Med*. 2011;365(8):725-33. Epub 2011/08/13. doi: 10.1056/NEJMoa1103849. PubMed PMID: 21830940; PubMed Central PMCID: PMC3387277.

155. Roessner PM, Seiffert M. T-cells in chronic lymphocytic leukemia: Guardians or drivers of disease? *Leukemia*. 2020;34(8):2012-24. Epub 2020/05/28. doi: 10.1038/s41375-020-0873-2. PubMed PMID: 32457353.

156. Herrmann F, Lochner A, Philippen H, Jauer B, Rühl H. Imbalance of T cell subpopulations in patients with chronic lymphocytic leukaemia of the B cell type. *Clin Exp Immunol*. 1982;49(1):157-62. Epub 1982/07/01. PubMed PMID: 6982129; PubMed Central PMCID: PMC1536649.

157. Man S, Henley P. Chronic lymphocytic leukaemia: the role of T cells in a B cell disease. *Br J Haematol*. 2019;186(2):220-33. Epub 2019/04/05. doi: 10.1111/bjh.15918. PubMed PMID: 30945268.

158. Ramsay AG, Johnson AJ, Lee AM, Gorgün G, Le Dieu R, Blum W, et al. Chronic lymphocytic leukemia T cells show impaired immunological synapse formation that can be reversed with an immunomodulating drug. *J Clin Invest*. 2008;118(7):2427-37. Epub 2008/06/14. doi: 10.1172/jci35017. PubMed PMID: 18551193; PubMed Central PMCID: PMC2423865.

159. Bagnara D, Kaufman MS, Calissano C, Marsilio S, Patten PE, Simone R, et al. A novel adoptive transfer model of chronic lymphocytic leukemia suggests a key role for T lymphocytes in the disease. *Blood*. 2011;117(20):5463-72. Epub 2011/03/10. doi: 10.1182/blood-2010-12-324210. PubMed PMID: 21385850; PubMed Central PMCID: PMC3109718.

160. Catakovic K, Gassner FJ, Ratswohl C, Zaborsky N, Rebhandl S, Schubert M, et al. TIGIT expressing CD4+T cells represent a tumor-supportive T cell subset in chronic lymphocytic leukemia. *Oncoimmunology*. 2017;7(1):e1371399. Epub 2018/01/04. doi: 10.1080/2162402x.2017.1371399. PubMed PMID: 29296521; PubMed Central PMCID: PMC5739567.
161. Os A, Bürgler S, Ribes AP, Funderud A, Wang D, Thompson KM, et al. Chronic lymphocytic leukemia cells are activated and proliferate in response to specific T helper cells. *Cell Rep*. 2013;4(3):566-77. Epub 2013/08/13. doi: 10.1016/j.celrep.2013.07.011. PubMed PMID: 23933259.
162. Jelley-Gibbs DM, Strutt TM, McKinstry KK, Swain SL. Influencing the fates of CD4 T cells on the path to memory: lessons from influenza. *Immunol Cell Biol*. 2008;86(4):343-52. Epub 2008/03/26. doi: 10.1038/icb.2008.13. PubMed PMID: 18362946.
163. Romano M, Fanelli G, Albany CJ, Giganti G, Lombardi G. Past, Present, and Future of Regulatory T Cell Therapy in Transplantation and Autoimmunity. *Front Immunol*. 2019;10:43. Epub 2019/02/26. doi: 10.3389/fimmu.2019.00043. PubMed PMID: 30804926; PubMed Central PMCID: PMC6371029.
164. Appay V, van Lier RA, Sallusto F, Roederer M. Phenotype and function of human T lymphocyte subsets: consensus and issues. *Cytometry A*. 2008;73(11):975-83. Epub 2008/09/12. doi: 10.1002/cyto.a.20643. PubMed PMID: 18785267.
165. Bürgler S, Gimeno A, Parente-Ribes A, Wang D, Os A, Devereux S, et al. Chronic lymphocytic leukemia cells express CD38 in response to Th1 cell-derived IFN- γ by a T-bet-dependent mechanism. *J Immunol*. 2015;194(2):827-35. Epub 2014/12/17. doi: 10.4049/jimmunol.1401350. PubMed PMID: 25505279.
166. Buggins AG, Patten PE, Richards J, Thomas NS, Mufti GJ, Devereux S. Tumor-derived IL-6 may contribute to the immunological defect in CLL. *Leukemia*. 2008;22(5):1084-7. Epub 2007/11/02. doi: 10.1038/sj.leu.2405015. PubMed PMID: 17972945.
167. King C, Tangye SG, Mackay CR. T follicular helper (TFH) cells in normal and dysregulated immune responses. *Annu Rev Immunol*. 2008;26:741-66. Epub 2008/01/05. doi: 10.1146/annurev.immunol.26.021607.090344. PubMed PMID: 18173374.
168. Ahearne MJ, Willmott S, Piñon L, Kennedy DB, Miall F, Dyer MJ, et al. Enhancement of CD154/IL4 proliferation by the T follicular helper (Tfh) cytokine, IL21 and increased numbers of circulating cells resembling Tfh cells in chronic lymphocytic leukaemia. *Br J Haematol*. 2013;162(3):360-70. Epub 2013/05/29. doi: 10.1111/bjh.12401. PubMed PMID: 23710828.
169. Pascutti MF, Jak M, Tromp JM, Derks IA, Remmerswaal EB, Thijssen R, et al. IL-21 and CD40L signals from autologous T cells can induce antigen-independent proliferation of CLL cells. *Blood*. 2013;122(17):3010-9. Epub 2013/09/10. doi: 10.1182/blood-2012-11-467670. PubMed PMID: 24014238.
170. Cha Z, Zang Y, Guo H, Rechlic JR, Olsanova LM, Gu H, et al. Association of peripheral CD4+ CXCR5+ T cells with chronic lymphocytic leukemia. *Tumour Biol*. 2013;34(6):3579-85. Epub 2013/06/29. doi: 10.1007/s13277-013-0937-2. PubMed PMID: 23807677.
171. de Weerd I, Hofland T, de Boer R, Dobber JA, Dubois J, van Nieuwenhuize D, et al. Distinct immune composition in lymph node and peripheral blood of CLL patients is reshaped during venetoclax treatment. *Blood Adv*. 2019;3(17):2642-52. Epub 2019/09/12. doi: 10.1182/bloodadvances.2019000360. PubMed PMID: 31506282; PubMed Central PMCID: PMC6737416 received research funding and honoraria from Roche/Genentech, AbbVie, and Janssen. C.U.N. has received research funding from AbbVie, Janssen, and Acerta, as well as travel support/consultancy fees from Roche, Gilead, Janssen, AbbVie, Novartis, CSL Behring, AstraZeneca, Acerta, and Sunesis. The remaining authors declare no competing financial interests.
172. Hanna BS, Roessner PM, Scheffold A, Jebaraj BMC, Demerdash Y, Öztürk S, et al. PI3K δ inhibition modulates regulatory and effector T-cell differentiation and function in chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia*. 2019;33(6):1427-38. Epub 2018/12/24. doi: 10.1038/s41375-018-0318-3. PubMed PMID: 30573773.
173. Gauthier M, Durrieu F, Martin E, Peres M, Vergez F, Filleron T, et al. Prognostic role of CD4 T-cell depletion after frontline fludarabine, cyclophosphamide and rituximab in chronic lymphocytic

- leukaemia. *BMC Cancer*. 2019;19(1):809. Epub 2019/08/16. doi: 10.1186/s12885-019-5971-z. PubMed PMID: 31412798; PubMed Central PMCID: PMC6694602.
174. Zhang N, Bevan MJ. CD8(+) T cells: foot soldiers of the immune system. *Immunity*. 2011;35(2):161-8. Epub 2011/08/27. doi: 10.1016/j.immuni.2011.07.010. PubMed PMID: 21867926; PubMed Central PMCID: PMC3303224.
 175. Lopez JA, Susanto O, Jenkins MR, Lukyanova N, Sutton VR, Law RH, et al. Perforin forms transient pores on the target cell plasma membrane to facilitate rapid access of granzymes during killer cell attack. *Blood*. 2013;121(14):2659-68. Epub 2013/02/05. doi: 10.1182/blood-2012-07-446146. PubMed PMID: 23377437.
 176. Hassin D, Garber OG, Meiraz A, Schiffenbauer YS, Berke G. Cytotoxic T lymphocyte perforin and Fas ligand working in concert even when Fas ligand lytic action is still not detectable. *Immunology*. 2011;133(2):190-6. Epub 2011/04/27. doi: 10.1111/j.1365-2567.2011.03426.x. PubMed PMID: 21517838; PubMed Central PMCID: PMC3088981.
 177. Youngblood B, Hale JS, Kissick HT, Ahn E, Xu X, Wieland A, et al. Effector CD8 T cells dedifferentiate into long-lived memory cells. *Nature*. 2017;552(7685):404-9. Epub 2017/12/14. doi: 10.1038/nature25144. PubMed PMID: 29236683; PubMed Central PMCID: PMC5965677.
 178. Wherry EJ. T cell exhaustion. *Nat Immunol*. 2011;12(6):492-9. Epub 2011/07/09. doi: 10.1038/ni.2035. PubMed PMID: 21739672.
 179. Elston L, Fegan C, Hills R, Hashimdeen SS, Walsby E, Henley P, et al. Increased frequency of CD4(+) PD-1(+) HLA-DR(+) T cells is associated with disease progression in CLL. *Br J Haematol*. 2020;188(6):872-80. Epub 2019/11/09. doi: 10.1111/bjh.16260. PubMed PMID: 31702049.
 180. Tötterman TH, Carlsson M, Simonsson B, Bengtsson M, Nilsson K. T-cell activation and subset patterns are altered in B-CLL and correlate with the stage of the disease. *Blood*. 1989;74(2):786-92. Epub 1989/08/01. PubMed PMID: 2787679.
 181. Hanna BS, Roessner PM, Yazdanparast H, Colomer D, Campo E, Kugler S, et al. Control of chronic lymphocytic leukemia development by clonally-expanded CD8(+) T-cells that undergo functional exhaustion in secondary lymphoid tissues. *Leukemia*. 2019;33(3):625-37. Epub 2018/09/30. doi: 10.1038/s41375-018-0250-6. PubMed PMID: 30267008.
 182. Palma M, Gentilcore G, Heimersson K, Mozaffari F, Näsman-Glaser B, Young E, et al. T cells in chronic lymphocytic leukemia display dysregulated expression of immune checkpoints and activation markers. *Haematologica*. 2017;102(3):562-72. Epub 2016/12/09. doi: 10.3324/haematol.2016.151100. PubMed PMID: 27927767; PubMed Central PMCID: PMC5394965.
 183. Riches JC, Davies JK, McClanahan F, Fatah R, Iqbal S, Agrawal S, et al. T cells from CLL patients exhibit features of T-cell exhaustion but retain capacity for cytokine production. *Blood*. 2013;121(9):1612-21. Epub 2012/12/19. doi: 10.1182/blood-2012-09-457531. PubMed PMID: 23247726; PubMed Central PMCID: PMC3587324.
 184. Görgün G, Holderried TA, Zahrieh D, Neuberg D, Gribben JG. Chronic lymphocytic leukemia cells induce changes in gene expression of CD4 and CD8 T cells. *J Clin Invest*. 2005;115(7):1797-805. Epub 2005/06/21. doi: 10.1172/jci24176. PubMed PMID: 15965501; PubMed Central PMCID: PMC1150284.
 185. Ramsay AG, Clear AJ, Fatah R, Gribben JG. Multiple inhibitory ligands induce impaired T-cell immunologic synapse function in chronic lymphocytic leukemia that can be blocked with lenalidomide: establishing a reversible immune evasion mechanism in human cancer. *Blood*. 2012;120(7):1412-21. Epub 2012/05/02. doi: 10.1182/blood-2012-02-411678. PubMed PMID: 22547582; PubMed Central PMCID: PMC3423779.
 186. Nunes C, Wong R, Mason M, Fegan C, Man S, Pepper C. Expansion of a CD8(+)PD-1(+) replicative senescence phenotype in early stage CLL patients is associated with inverted CD4:CD8 ratios and disease progression. *Clin Cancer Res*. 2012;18(3):678-87. Epub 2011/12/23. doi: 10.1158/1078-0432.Ccr-11-2630. PubMed PMID: 22190592.
 187. Fenchel K, Bergmann L, Wijermans P, Engert A, Pralle H, Mitrou PS, et al. Clinical experience with fludarabine and its immunosuppressive effects in pretreated chronic lymphocytic leukemias and

- low-grade lymphomas. *Leuk Lymphoma*. 1995;18(5-6):485-92. Epub 1995/08/01. doi: 10.3109/10428199509059649. PubMed PMID: 8528057.
188. Keating MJ, O'Brien S, Lerner S, Koller C, Beran M, Robertson LE, et al. Long-term follow-up of patients with chronic lymphocytic leukemia (CLL) receiving fludarabine regimens as initial therapy. *Blood*. 1998;92(4):1165-71. Epub 1998/08/08. PubMed PMID: 9694704.
189. Ysebaert L, Gross E, Kühlein E, Blanc A, Corre J, Fournié JJ, et al. Immune recovery after fludarabine-cyclophosphamide-rituximab treatment in B-chronic lymphocytic leukemia: implication for maintenance immunotherapy. *Leukemia*. 2010;24(7):1310-6. Epub 2010/05/14. doi: 10.1038/leu.2010.89. PubMed PMID: 20463751.
190. Martínez-Calle N, Hartley S, Ahearne M, Kasenda B, Beech A, Knight H, et al. Kinetics of T-cell subset reconstitution following treatment with bendamustine and rituximab for low-grade lymphoproliferative disease: a population-based analysis. *Br J Haematol*. 2019;184(6):957-68. Epub 2018/12/15. doi: 10.1111/bjh.15722. PubMed PMID: 30548597.
191. Beyer M, Kochanek M, Darabi K, Popov A, Jensen M, Endl E, et al. Reduced frequencies and suppressive function of CD4+CD25hi regulatory T cells in patients with chronic lymphocytic leukemia after therapy with fludarabine. *Blood*. 2005;106(6):2018-25. Epub 2005/05/26. doi: 10.1182/blood-2005-02-0642. PubMed PMID: 15914560.
192. Burger JA, Sivina M, Jain N, Kim E, Kadia T, Estrov Z, et al. Randomized trial of ibrutinib vs ibrutinib plus rituximab in patients with chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 2019;133(10):1011-9. Epub 2018/12/12. doi: 10.1182/blood-2018-10-879429. PubMed PMID: 30530801; PubMed Central PMCID: PMC6405333 from Pharmacyclics LLC. J.A.B. and N.J. are consultants for Janssen Pharmaceuticals, Inc. N.J. and P.T. have served as consultants for AbbVie and Pharmacyclics. J.L., M.C., and F.C. are employees of Pharmacyclics LLC. The remaining authors declare no competing interests.
193. Long M, Beckwith K, Do P, Mundy BL, Gordon A, Lehman AM, et al. Ibrutinib treatment improves T cell number and function in CLL patients. *J Clin Invest*. 2017;127(8):3052-64. Epub 2017/07/18. doi: 10.1172/jci89756. PubMed PMID: 28714866; PubMed Central PMCID: PMC5531425 Pharmacyclics, Merck, and Bristol-Myers Squibb (BMS), and personal fees from Pharmacyclics, BMS, and Janssen, outside the submitted work. J.A. Jones received personal fees and other support from Janssen, Pharmacyclics, and AbbVie, outside the submitted work. L.A. Andritsos received grants from Pharmacyclics during the conduct of the study. F. Awan received grants and personal fees from Pharmacyclics, personal fees from Gilead, and grants from Innate Pharma, outside the submitted work. J.A. Fraietta has a patent for the treatment of cancer using anti-CD19 chimeric antigen receptor licensed to the University of Pennsylvania. C.H. June received grants from Novartis during the conduct of the study and other support from Novartis and Tmunity Therapeutics, outside the submitted work. J.A. Woyach received research funding from Karyopharm Therapeutics, MorphoSys, AbbVie, and Acerta Pharma, outside the submitted work, and is on the advisory board for Janssen. A.J. Johnson has filed a patent on ibrutinib as immune-modulation agent. N. Muthusamy has filed a patent on ibrutinib as an immune-modulation agent. J.C. Byrd has filed a patent on ibrutinib as an immune-modulation agent.
194. Niemann CU, Herman SE, Maric I, Gomez-Rodriguez J, Biancotto A, Chang BY, et al. Disruption of in vivo Chronic Lymphocytic Leukemia Tumor-Microenvironment Interactions by Ibrutinib--Findings from an Investigator-Initiated Phase II Study. *Clin Cancer Res*. 2016;22(7):1572-82. Epub 2015/12/15. doi: 10.1158/1078-0432.Ccr-15-1965. PubMed PMID: 26660519; PubMed Central PMCID: PMC4818677.
195. Herman SE, Gordon AL, Wagner AJ, Heerema NA, Zhao W, Flynn JM, et al. Phosphatidylinositol 3-kinase- δ inhibitor CAL-101 shows promising preclinical activity in chronic lymphocytic leukemia by antagonizing intrinsic and extrinsic cellular survival signals. *Blood*. 2010;116(12):2078-88. Epub 2010/06/05. doi: 10.1182/blood-2010-02-271171. PubMed PMID: 20522708; PubMed Central PMCID: PMC2951855.
196. Martinelli S, Maffei R, Fiorcari S, Quadrelli C, Zucchini P, Benatti S, et al. Idelalisib impairs T-cell-mediated immunity in chronic lymphocytic leukemia. *Haematologica*. 2018;103(12):e598-e601.

- Epub 2018/07/07. doi: 10.3324/haematol.2017.187070. PubMed PMID: 29976737; PubMed Central PMCID: PMC6269319.
197. Lampson BL, Kasar SN, Matos TR, Morgan EA, Rassenti L, Davids MS, et al. Idelalisib given front-line for treatment of chronic lymphocytic leukemia causes frequent immune-mediated hepatotoxicity. *Blood*. 2016;128(2):195-203. Epub 2016/06/02. doi: 10.1182/blood-2016-03-707133. PubMed PMID: 27247136; PubMed Central PMCID: PMC4946200.
 198. Mathew R, Haribhai D, Kohlhapp F, Duggan R, Ellis P, Riehm JJ, et al. The BCL-2-Selective Inhibitor Venetoclax Spares Activated T-Cells during Anti-Tumor Immunity. *Blood*. 2018;132:3704. doi: <https://doi.org/10.1182/blood-2018-99-113134>.
 199. de Weerd I, Hofland T, Dobber J, Dubois J, Eldering E, Mobasher M, et al. First Evidence of Restoration of T and NK Cell Compartment after Venetoclax Treatment. *Blood*. 2018;132:1860. doi: <https://doi.org/10.1182/blood-2018-99-116283>.
 200. Gonzalez-Rodriguez AP, Contesti J, Huergo-Zapico L, Lopez-Soto A, Fernández-Guizán A, Acebes-Huerta A, et al. Prognostic significance of CD8 and CD4 T cells in chronic lymphocytic leukemia. *Leuk Lymphoma*. 2010;51(10):1829-36. Epub 2010/09/18. doi: 10.3109/10428194.2010.503820. PubMed PMID: 20846097.
 201. Palmer S, Hanson CA, Zent CS, Porrata LF, Laplant B, Geyer SM, et al. Prognostic importance of T and NK-cells in a consecutive series of newly diagnosed patients with chronic lymphocytic leukaemia. *Br J Haematol*. 2008;141(5):607-14. Epub 2008/04/04. doi: 10.1111/j.1365-2141.2008.07070.x. PubMed PMID: 18384436; PubMed Central PMCID: PMC3840945.
 202. Taghiloo S, Allahmoradi E, Tehrani M, Hossein-Nataj H, Shekarriz R, Janbabaei G, et al. Frequency and functional characterization of exhausted CD8(+) T cells in chronic lymphocytic leukemia. *Eur J Haematol*. 2017;98(6):622-31. Epub 2017/03/18. doi: 10.1111/ejh.12880. PubMed PMID: 28306177.
 203. Allahmoradi E, Taghiloo S, Tehrani M, Hossein-Nataj H, Janbabaei G, Shekarriz R, et al. CD4+ T Cells are Exhausted and Show Functional Defects in Chronic Lymphocytic Leukemia. *Iran J Immunol*. 2017;14(4):257-69. Epub 2017/12/26. PubMed PMID: 29276179.
 204. Rusak M, Eljaszewicz A, Bołkun Ł, Łuksza E, Łapuć I, Piszcz J, et al. Prognostic significance of PD-1 expression on peripheral blood CD4+ T cells in patients with newly diagnosed chronic lymphocytic leukemia. *Pol Arch Med Wewn*. 2015;125(7-8):553-9. Epub 2015/07/04. doi: 10.20452/pamw.2967. PubMed PMID: 26140546.
 205. Novák M, Procházka V, Turcsányi P, Papajík T. Numbers of CD8+PD-1+ and CD4+PD-1+ Cells in Peripheral Blood of Patients with Chronic Lymphocytic Leukemia Are Independent of Binet Stage and Are Significantly Higher Compared to Healthy Volunteers. *Acta Haematol*. 2015;134(4):208-14. Epub 2015/06/13. doi: 10.1159/000381468. PubMed PMID: 26066608.
 206. Lad DP, Varma S, Varma N, Sachdeva MU, Bose P, Malhotra P. Regulatory T-cells in B-cell chronic lymphocytic leukemia: their role in disease progression and autoimmune cytopenias. *Leuk Lymphoma*. 2013;54(5):1012-9. Epub 2012/09/27. doi: 10.3109/10428194.2012.728287. PubMed PMID: 23009220.
 207. Mpakou VE, Ioannidou HD, Konsta E, Vikentiou M, Spathis A, Kontsioti F, et al. Quantitative and qualitative analysis of regulatory T cells in B cell chronic lymphocytic leukemia. *Leuk Res*. 2017;60:74-81. Epub 2017/08/02. doi: 10.1016/j.leukres.2017.07.004. PubMed PMID: 28759799.
 208. Platsoucas CD, Galinski M, Kempin S, Reich L, Clarkson B, Good RA. Abnormal T lymphocyte subpopulations in patients with B cell chronic lymphocytic leukemia: an analysis by monoclonal antibodies. *J Immunol*. 1982;129(5):2305-12. Epub 1982/11/01. PubMed PMID: 6214590.
 209. Mackus WJ, Frakking FN, Grummels A, Gamadia LE, De Bree GJ, Hamann D, et al. Expansion of CMV-specific CD8+CD45RA+CD27- T cells in B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 2003;102(3):1057-63. Epub 2003/04/12. doi: 10.1182/blood-2003-01-0182. PubMed PMID: 12689926.
 210. Torres HA, Kontoyiannis DP, Aguilera EA, Younes A, Luna MA, Tarrand JJ, et al. Cytomegalovirus infection in patients with lymphoma: an important cause of morbidity and

mortality. Clin Lymphoma Myeloma. 2006;6(5):393-8. Epub 2006/04/28. doi: 10.3816/CLM.2006.n.016. PubMed PMID: 16640816.

211. te Raa GD, Pascutti MF, García-Vallejo JJ, Reinen E, Remmerswaal EB, ten Berge IJ, et al. CMV-specific CD8+ T-cell function is not impaired in chronic lymphocytic leukemia. Blood. 2014;123(5):717-24. Epub 2013/11/20. doi: 10.1182/blood-2013-08-518183. PubMed PMID: 24246502.

212. Wu J, Xu X, Lee EJ, Shull AY, Pei L, Awan F, et al. Phenotypic alteration of CD8+ T cells in chronic lymphocytic leukemia is associated with epigenetic reprogramming. Oncotarget. 2016;7(26):40558-70. Epub 2016/10/26. doi: 10.18632/oncotarget.9941. PubMed PMID: 27302925; PubMed Central PMCID: PMC5130028.

