T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ HASTANESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

KRONİK LENFOSİTİK LÖSEMİ'DE BAFF, APRIL, TACI VE BCMA DÜZEYLERİNİN PROGNOZ ÜZERİNE ETKİSİ

UZMANLIK TEZİ

DR İLAY BERKE MENTEŞE

TEZ DANIŞMANI
DOÇ DR ZEYNEP ARZU YEĞIN

ANKARA
ARALIK 2016

İç Hastalıkları Uzmanlık eğitim sürecim boyunca desteklerini esirgemeyen, üzerimde sayısız emeği olan saygıdeğer hocalarıma,

Birlikte öğrendiğim ve zevkle çalıştığım sevgili çalışma arkadaşlarıma,

İç Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanımıza,

Tezimi hazırlarken hep 'iyi ki' dediğim danışman hocam Sayın Doç Dr Zeynep Arzu Yeğin'e,

Biricik anneme ve babama,

ve Tezimi şevkle hazırlamamdaki en önemli neden olan sevgili eşime

Sevgi, saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

KISALTMALAR.....vi

TABLO LİSTESİ.....xi

ŞEKİL LİSTESİ.....xiii

1. GİRİŞ VE AMAÇ 1

2. GENEL BİLGİLER

2.1. B Lenfosit Yapısı ve Olgunlaşma Süreci.....4

2.1.1. Lenfosit Olgunlaşma Süreci.....5

2.1.2. Klonal Seçim.....8

2.1.3. Aktivasyon.....8

2.2. B Hücreleri ve Plazma Hücrelerinin Efektör Fonksiyonları.....11

2.3. Kronik Lenfositik Lösemi

2.3.1. Tanım ve Epidemiyoloji.....11

2.3.2. Etyoloji

2.3.2.1. Çevresel Faktörler.....13

2.3.2.2. Kalıtsal Faktörler.....14

2.4. Hastalık Biyolojisi.....14

2.4.1. İmmün Yetmezlik.....16

2.4.2. B Hücre Reseptör Yolağının Rolü.....17

2.5. Klinik Bulgular.....17

2.6. Tanısal Değerlendirme.....18

2.6.1. Çevre Kanı Bulguları.....18

2.6.2. İmmünfenotip.....20

2.6.3. Tanıda Kullanılan Diğer Testler.....21

2.7. Moleküler Sitogenetik.....21

2.8. IgV_H Mutasyon Durumu, ZAP70 ve CD38 İfadelenmesi.....22

2.9. Serum Belirteçleri.....23

2.10. Kemik İliği Değerlendirmesi.....23

2.11. Evreleme.....23

2.11.1. Rai Evreleme Sistemi.....24

2.11.2. Binet Evreleme Sistemi.....24

2.12. Prognoz.....25

2.13. Tedavi Endikasyonları.....27

2.14. Genetik.....28

2.15. BAFF.....33

2.16. APRIL.....34

2.17. TACI.....35

2.18. BCMA.....37

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Hastalar.....39

3.2. Kontrol Grubu.....41

3.3. İstatistiksel Analiz.....46

4. BULGULAR......47

4.1. Korelasyonlar.....51

5. TARTIŞMA.....56

6. SONUÇ.....66

7. ÖZET.. 67

8. SUMMARY.....69

9. ÖZGEÇMİŞ.....71

10. KAYNAKÇA.....73

KISALTMALAR

APC	Antijen Sunucu Hücre
APRIL	Proliferasyon İndükleyici Ligand
ATM	Ataksi-Telenjiektazi Mutasyon Geni
B2M	β2 mikroglobulin
BAFF	B Hücresi Aktivasyon Faktörü
BAFFR	B Hücresi Aktivasyon Faktör Reseptörü
BAK	Bcl-2 Homolog Antagonist Öldürücü Molekülü
BCL-2	B-Hücre Lenfoma 2 Molekülü
BCMA	B Hücre Olgunlaştırıcı Antijeni
BCR	B Hücre Reseptörü
BK	Beyaz Küre
BMSC	Kemik İliği Stromal Hücreleri
BTK	Bruton Tirozin Kinaz
CD	İnsan Lökosit Farklılaşma Antijenleri (Cluster of Differentiation)

CD40L	CD40 Ligand
CXCR	C-X-C Kemokin Reseptörü
CXCL	C-X-C Kemokin Ligandı
DAPK	Ölüm İlişkili Protein Kinaz
del	Delesyon
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
ECOG PS	**“**Eastern Cooperative Oncology Group” Performans Skoru
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
FISH	Floresan İn Situ Hibridizasyon
GM	Germinal Merkez
Hb	Hemoglobin
HLA	İnsan Lökosit Antijeni
HSC	Hematopoietik Kök Hücre
Ig	İmmünglobulin
IgV_h	İmmunglobulin Değişken Bölge Ağır Zinciri
IL	İnterlökin

İHA	İmmün Hemolitik Anemi
İTP	İmmun Trombositopeni
KLL	Kronik Lenfositik Lösemi
LDH	Laktat Dehidrogenaz
LKZ	Lenfosit Katlanma Zamanı
LYN	Lck/Yes Novel
MBL	Monoklonal B Hücre Lenfositozu
MCL-1	Myeloid Hücre Lösemi-1
MHC	Majör Histokompatibilite Kompleksi
miRNA	Mikro RNA
MS	Multipl Skleroz
NF- kB	Nükleer Faktör Kappa B
NFAT	Aktive T Hücrelerin Nükleer Faktörü
NK	Doğal Öldürücü Hücreler
NLC	Nurse **(**Hemşire**)** Benzeri Hücreler
PI3K	Fosfatidilinositol-4,5- bifosfat 3-kinaz

PLCγ_2	Fosfolipaz Cγ2
PLL	Prolenfositik Lösemi
Plt	Platelet
RA	Romatoid Artrit
SDF-1	Stromal Hücre Kökenli Faktör-1
sIg	Yüzey İmmünglobulini
SLE	Sistemik Lupus Eritematozus
SLL	Küçük Lenfositik Lenfoma
SMV	Sitomegalovirüs
STAT3	Transkripsiyon 3 Sinyal İleticisi ve Aktivatörü
SYK	Dalak Tirozin Kinazı
TACI	Transmembran Aktivatörü, Kalsiyum Modülatörü ve Siklofilin Ligand Interaktörü
TCL1	T-hücre Lösemi/Lenfoma Protein 1
TCR	T Hücre Reseptörü
TGF-β	Transforme Edici Büyüme Faktörü-β

Th	Yardımcı T Hücresi
Treg	Düzenleyici T Hücresi
TNF	Tümör Nekroz Faktörü
Tp53	Tümör Protein 53
TSK	Toplam Sağkalım
TWEAK	TNF-İlişkili Apopitozun Zayıf Uyarıcısı
XIAP	X-İlişkili Apopitoz İnhibitör Proteini
ZAP70	Zeta Zinciri İlişkili Protein 70
κ	Kappa
λ	Lambda

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. Hümoral ve Hücresel Bağışıklığa Katkıda Bulunan Doğal ve Adoptif Bağışıklığın Başlıca Bileşenleri

Tablo 2. Rai Evreleme Sistemi

Tablo 3. Binet Evreleme Sistemi

Tablo 4. KLL Mikroçevresinin Hücresel Bileşenleri

Tablo 5. Hastaların Genel Özellikleri

Tablo 6. Ortanca BAFF, BCMA, TACI ve APRIL Düzeylerinin Hasta ve Kontrol Grubu Arasında Karşılaştırmalı Değerlendirmesi

Tablo 7. Korelasyon Analiz Sonuçları

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. B Hücre Olgunlaşma Süreci

Şekil 2. T ve B Hücre Oluşum Basamakları

Şekil 3. Antijenik Uyarıya Karşı Hücresel ve Hümoral Bağışıklık Yanıtı

Şekil 4. Yardımcı T Hücre Aracılı B Hücre Aktivasyonu

Şekil 5. Kronik Lenfositik Lösemi Hücresel Gelişim Süreci

Şekil 6. Çevre Kanında Basket Hücreleri

Şekil 7. Kronik Lenfositik Lösemi Mikroçevresi

Şekil 8. BAFF ve APRIL'ın Sağkalım Üzerine Etkileri

Şekil 9. Kronik Lenfositik Lösemi'de Evre (Rai) ve Sağkalım İlişkisi

Şekil 10. Kronik Lenfositik Lösemi'de Evre (Modifiye Rai) ve Sağkalım İlişkisi

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kronik lenfositik lösemi (KLL), çevre kanı, kemik iliği, dalak ve lenf nodlarını tutan yavaş seyirli bir lenfoproliferatif hastalıktır [1, 2]. Batı toplumlarında en sık görülen lösemidir. Kronik lenfositik lösemi tanısı için çevre kanında akım sitometrik olarak CD5, CD19, CD20, CD23 ve yüzey immunglobulini (sIg) ifadelenmesi gösteren mutlak B lenfosit sayısının $\geq 5\times10^{9}$/L olması gerekir [2, 3]. Hastaların çoğu belirtisizdir ve uzun süre tedavi gereksinimleri olmayabilir. Buna karşın bazı özel alt gruplarda hastalık daha hızlı seyir gösterebilir. Semptomatik hastalarda değişik düzeylerde anemi, trombositopeni, lenfadenopati ve organomegali görülebilir. Lenfosit katlanma zamanının altı aydan kısa olması, çok büyük veya hızlı büyüyen lenf nodları, ilerleyici splenomegali, anemi, trombositopeni ve B semptomlarının varlığı tedavi endikasyonları arasındadır. Hastaların %80'inden fazlasında sitogenetik anormallikler bulunmasına karşın, KLL için tek ve özgün bir genetik mutasyon tanımlanmamıştır. Rai veya Binet'e göre ileri evre olması, İmmunglobulin Değişken Bölge Ağır Zinciri (IgV_h) mutasyonunun yokluğu, Zeta Zinciri İlişkili Protein 70 (ZAP70) ve CD38 ifadelenmesi, 11q12 ve 17p delesyonu olumsuz prognostik belirteçler arasındadır [4-7].

Son yıllarda, lösemi mikroçevresinde rol oynayan bazı dış sinyallerin KLL patofizyolojisine katkıda bulunabileceği gösterilmiştir [8, 9]. Neoplastik B hücrelerinin B Hücresi Aktivasyon Faktör Reseptörü (BAFFR), Transmembran Aktivatörü, Kalsiyum Modülatörü ve Siklofilin Ligand İnteraktörü (TACI) ve B Hücre Olgunlaştırıcı Antijeni (BCMA) gibi molekülleri değişken düzeylerde ifade

ettikleri bilinmektedir. Bu reseptörlere B Hücresi Aktivasyon Faktörü (BAFF, aynı zamanda BLyS, TALL-1, zTNF4, ve THANK olarak da bilinir) ve/veya bir proliferasyon indükleyici ligandı [Proliferasyon İndükleyici Ligand (APRIL)] bağlandığında, in vitro ortamda tümör hücresinin apopitozdan korunduğu ve bu vesileyle sağkalımının uzadığı gösterilmiştir. BAFF ve APRIL; Antijen Sunucu Hücre (APC), stromal endotelyal hücreler, Nurse **(**Hemşire) Benzeri Hücreler (NLC) ve/veya malign hücreler tarafından üretilmektedir [10-15].

TACI ve BCMA, BAFF ve APRIL için reseptör görevi görmektedir; APRIL'dan farklı olarak BAFF, BAFFR'ye de bağlanabilir. Kronik lenfositik lösemi hücrelerinde BAFF ve APRIL, BCMA ve TACI üzerinden klasik Nükleer Faktör Kappa B (NF- kB) yolağını aktive eder. BAFF, buna ek olarak, NF-kB2/p100 olarak adlandırılan alternatif NF-kB yolağını da BAFFR'ye bağlanarak uyarır [13, 14, 16, 17].

NF-kB yolağının blokajı normal B hücre ömrünü etkilemez iken, BAFF'ın neoplastik B hücre ömrünü uzatmasını engeller, bu durumda alternatif NF-kB yolağı baskın hale gelir. İlginç olarak, KLL hücreleri değişken oranda TACI ve çok düşük düzeyde BCMA ifade edebilir, fakat normal B hücrelere kıyasla daha düşük yoğunlukta BAFFR ifade eder [10, 12, 14, 15, 18-20]. Bu bulgular, neoplastik KLL hücrelerinin yaşam sürecinde BAFF/APRIL sinyal ağının önemli olabileceğini düşündürmektedir.

Hastalığın görece değişken prognozu, klinik ve laboratuvar özellikleri ve yapılan çalışmalardaki olgu sayısının yetersizliği sebebiyle TACI ifadelenmesinin KLL fizyopatolojisindeki olası rolü bilinmemektedir. Anti-BAFF/APRIL molekülleri kullanılarak uygulanan hedefe yönelik tedaviler B-hücre ilişkili

otoimmün hastalıklarda klinik uygulamaya girmiştir [21, 22]. TACI hedefli tedavilerin B hücre kökenli malignitelerde de terapötik bir hedef olarak kullanılabilme olasılığı nedeniyle, bahsedilen sinyal yolağının KLL fizyopatolojisindeki olası rolünün netleştirilmesi önem arz etmektedir [23-25].

Bu çalışmada, KLL hastalarında BAFF, BCMA, TACI ve APRIL biyo-işaretleyicilerinin prognoz üzerine etkisinin araştırılması amaçlanmıştır. Bu moleküllerin değişken düzeylerde ifadelenmesinin KLL fizyopatolojisi ve prognozu üzerine olabilecek muhtemel etkileri gözönüne alındığında, KLL tedavisinde terapötik hedef olarak kullanılabilecekleri öngörülebilir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. B Lenfosit Yapısı ve Olgunlaşma Süreci

İmmün sistemin ana işlevi enfeksiyonlara karşı korunmanın sağlanmasıdır. Bununla birlikte, immün sistemin tümör hücrelerine karşı mücadeledeki potansiyel rolü üzerinde de çalışılmaktadır. Adoptif/özgün immün sistem fonksiyonları, birincil ve ikincil lenfoid dokuları içeren bir dizi anatomik yapı arasında dolaşan lenfositler tarafından düzenlenir [26, 27]. **(Tablo 1)**

Tablo 1. Hümoral ve Hücresel Bağışıklığa Katkıda Bulunan Doğal ve Kazanılmış Bağışıklığın Başlıca Bileşenleri[26].

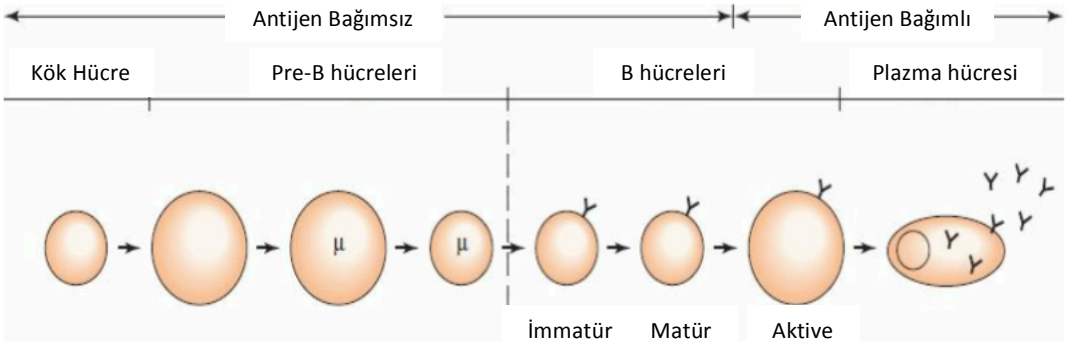
	Hümoral İmmünite	Hücresel İmmünite
Doğal	Kompleman ve nötrofiller	Makrofajlar ve NK hücreler
Adoptif	B hücreleri ve plazma hücrelerinden salgılanan antikorlar	Yardımcı ve sitotoksik T hücreler

Lenfositler özgün morfolojik ve yapısal özelliklere sahip heterojen bir hücre topluluğudur. Lenfosit alt grupları T lenfositler, B lenfositler ve Doğal Öldürücü hücrelerden (NK) oluşur. T lenfositler gelişim süreçlerini timusta tamamlayıp çevre kanı ve diğer lenfoid organlara dağılırlar. T lenfositler hücre-aracılı sitotoksik reaksiyonlar ve gecikmiş hipersensitivite yanıtlarından sorumludur. T lenfositler immün yanıtı düzenleyen sitokinler üreterek B hücre aracılı yanıtta da etkili olurlar. NK enfeksiyöz ajanlara, tümör hücrelerine karşı doğal bağışıklığı sağlar [27-30].

B lenfositler iki önemli işlevi yerine getirir: (1) Yardımcı T Hücrelerine (Th) antijen sunarak immun yanıtın idamesini sağlar, (2) Plazma hücrelerine farklılaşarak antikor üretir.

2.1.1. Lenfosit Olgunlaşma Süreci

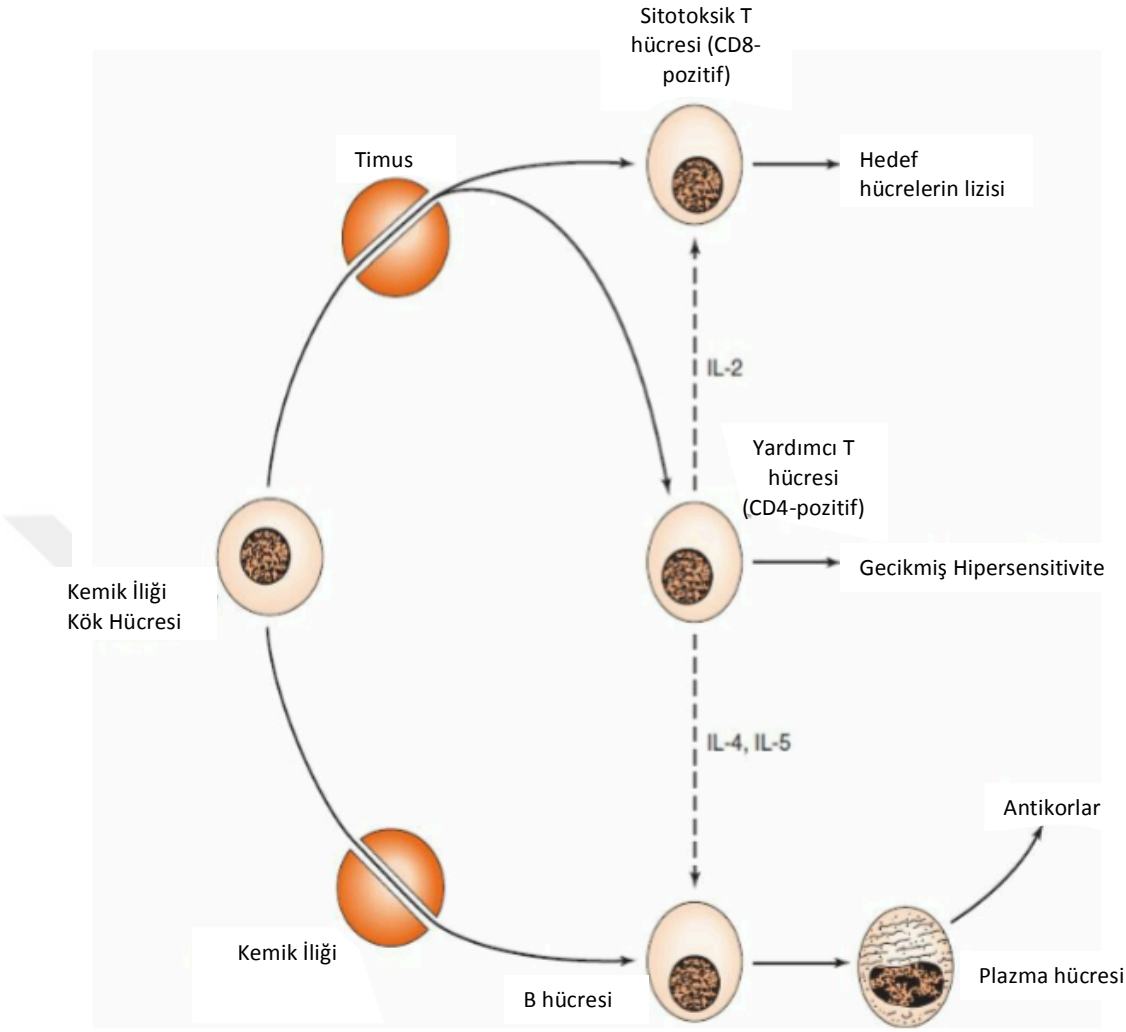
Embriyogenez sırasında, B hücre öncülleri ilk olarak fötal karaciğerde tanınır. 11. haftada erişkin yaşamdaki asıl görev yerleri olan kemik iliğine göç ederler, bu şekilde kemik iliği 17. haftadan itibaren hematopoezin asıl merkezi haline gelir [31, 32]. B lenfositlerin olgunlaşma sürecinde timusun rolü bulunmamaktadır. Prekürsör B lenfositler sIg ve hafif zincirden yoksundur, fakat sitoplazmalarında Ig ağır zincirleri bulundururlar. B lenfosit olgunlaşma süreci iki evreden oluşur: antijen-bağımsız evre, kök hücrelerden ve prekürsör B lenfositlerden oluşurken; antiijen-bağımlı evre B lenfositler antijenle karşılaştıktan sonra oluşan aktive B lenfositleri ve plazma hücrelerini içerir [27, 29, 32-36].



Şekil 1. B Lenfosit Olgunlaşma Süreci [33].

B lenfosit farklılaşma sürecinde ilk aşamada kök hücrelerden sitoplazmalarında μ ağır zincir ifade eden pre B lenfositler oluşur. Yüzey IgM ifadelenmesi ile olgun B lenfositlere dönüşüm başlar. Bu olay antijenden bağımsız olarak gerçekleşir.

Pre B lenfositlerin B lenfositlere farklılaşabilmesi için bir sinyal iletim proteini olan Bruton's tirozin kinaz gereklidir [8, 37, 38]. B lenfositler yüzeylerinde antijen reseptörü olarak görev yapan yüzey IgM bulundurur. Bir pentamer olan dolaşımdaki IgM'nin aksine yüzey IgM bir monomerdir. Yüzeyde bulunan monomerik IgM'nin farklı olarak hücre zarı proteinlerine bağlanan bir transmembran bölgesi vardır. Bazı B lenfositlerde yüzey IgD de antijen reseptörü olarak görev yapabilir. Pre B lenfositler kemik iliğinde, B lenfositler dolaşımda bulunur [29, 30, 32, 33, 35, 39].



Şekil 2. T ve B Lenfosit Oluşum Basamakları [33].

Kemik iliğinde ya da fötal karaciğerde bulunan kök hücreler T ve B lenfositlerin öncül hücreleridir. Kök hücreler timusta T lenfositlere, kemik iliğinde ise B lenfositlere farklılaşırlar. T lenfositler, timusta, yardımcı (CD4-pozitif) ya da sitotoksik (CD8-pozitif) T lenfositlere dönüşürler. Kesikli çizgiler interlökinler tarafından düzenlenen hücre etkileşimlerini göstermektedir.

B lenfositler dolaşımdaki lenfosit havuzunun yaklaşık %30'unu oluşturur. Lenf nodu germinal merkezlerinde, dalak beyaz pulpasında ve Peyer plakları gibi barsak-ilişkili lenfoid dokuda bulunurlar [26, 28, 33, 39-42]. Naif B hücrelerinin

yaşam süresi birkaç gün ile kısıtlı iken, antijenle karşılaşmış olgun B hücrelerinin yaşam süresi B Hücre Reseptörü (BCR) sinyalleriyle belirlenir ve bu hücreler dört haftadan daha uzun süre dolaşımda kalabilir [26, 29, 33, 43].

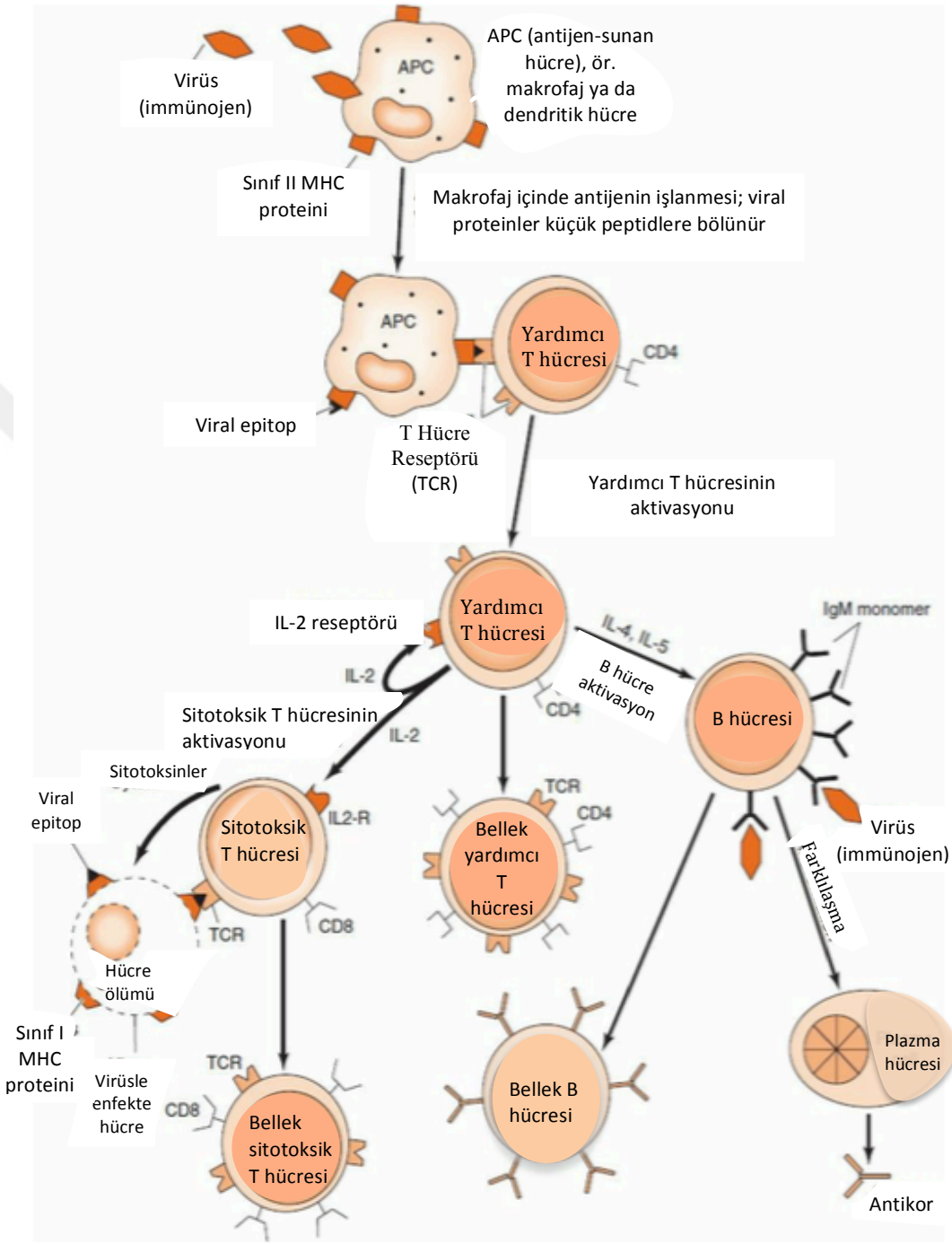
2.1.2. Klonal Seçim

Antijen Ig yüzey reseptörü aracılığıyla B lenfosit tarafından tanınır. Reseptöre bağlandıktan sonra hücresel uyarılma gerçekleşir ve farklı bir hücre klonu oluşturmak üzere çoğalma başlar. Bu seçkin lenfosit grubu kısa bir süre sonra plazma hücrelerine dönüşürler ve antijene özgü antikor sentezi başlatılır.

T lenfositlerde klonal seçim antijenin CD4-pozitif ya da CD8-pozitif T hücrelerin yüzeyinde bulunan özgün reseptörlerle etkileşmesiyle başlar. Antijenik bağlanma özgün hücre klonunun çoğalması için gerekli uyarıyı başlatır [26, 27, 29, 30, 33, 44-48].

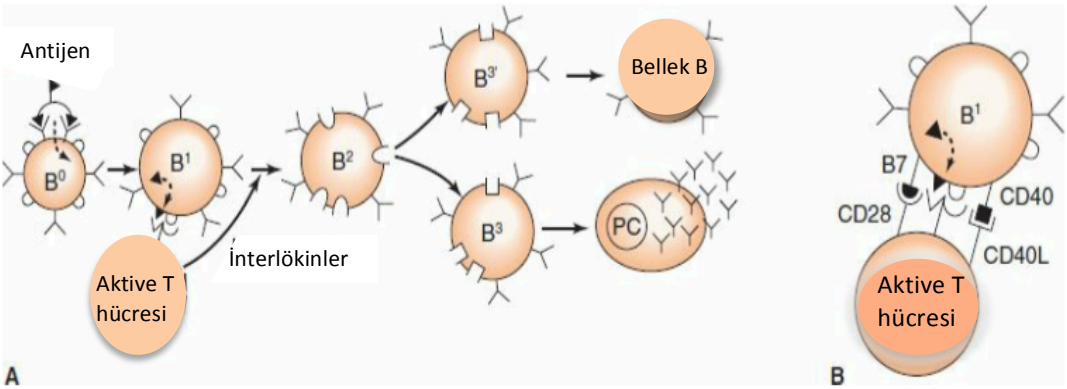
2.1.3 Aktivasyon

Multivalan antijen sIg ve komşu Ig moleküllerine çapraz bağlanır. İmmünglobulinler plak oluşturmak üzere bir araya gelir ve hücre kutbuna göç ederek bir başlık oluşturur. Bu başlıklı maddenin endositozu gerçekleşir, antijen işlenir ve epitoplar yüzeyde sınıf II Majör Histokompatibilite Kompleksi (MHC) proteinleriyle eşlenik şekilde belirir. Bu kompleks bir Th hücre yüzeyindeki antijen reseptörü ile tanınır. T hücre bu aşamadan sonra B hücresinin büyüme ve farklılaşmasını uyaran çeşitli interlökin (IL)'ler (IL-2, IL-4 ve IL-5) üretir [26-30, 44, 46, 49, 50].



Şekil 3. Antijenik Uyarıya Karşı Hücresel ve Hümoral Bağışıklık Yanıtı [33].

B hücre aktivasyonu için T ve B lenfositler arasında bazı eş-uyarıcı etkileşimlerin gerçekleşmesi gerekir: T hücresindeki CD28, B hücresindeki B7 ile ve T hücresindeki CD40 Ligand (CD40L), B hücresindeki CD40 ile etkileşmelidir. CD28-B7 etkileşimi T hücresinin aktive olarak IL üretmesi için; CD40-CD40L etkileşimi IgM'nin IgG ve IgA gibi diğer Ig alt tiplerine dönüşümünün gerçekleşmesi için gereklidir [26, 27, 29, 30, 39, 42, 51].



Şekil 4. Yardımcı T Lenfosit Aracılı B Lenfosit Aktivasyonu [33].

A: B^0, Monomer IgM reseptörüne (Y) multivalan bir antijenin bağlandığı, dinlenme halinde olan B hücresi. Antijen hücre içine alınır ve antijenin bir fragmanı (▲) bir sınıf II molekülüyle (n) birleşik halde hücre yüzeyine döner. Aktive olmuş T hücresindeki reseptör B hücre yüzeyindeki kompleksi tanır ve T hücresi B^1 hücresini B^2 ve B^3 hücrelerine dönüştürmeyi sağlayan IL'ler salgılar. B^2 ve B^3 hücreleri sonradan antikor üreten plazma hücrelerine (PC) ve hafıza B hücrelerine farklılaşırlar.

B: Th aktivasyonunun tamamlanması için B hücresi üzerindeki uyarılabilen protein B7(◡) Th'daki CD28 proteini ile etkileşime girmelidir. Bununla birlikte B hücresinin aktive olarak antikor sentezleyebilmesi için Th yüzeyindeki CD40L B hücresinde bulunan CD40 ile etkileşmelidir.

2.2. B Lenfositler ve Plazma Hücrelerinin Efektör Fonksiyonları

Aktivasyon sürecinin sonunda epitop için özgün olan Ig'i üreten plazma hücreleri oluşur. Plazma hücreleri, birkaç gün boyunca, saniyede binlerce antikor molekülü sentezleyebilme kapasitesine sahiptir. Aktif B hücrelerinin bazıları bellek hücrelerine dönüşebilir. Bunlar uzun süre boyunca sessiz kalabilen fakat antijene yeniden maruziyet durumunda hızlı bir şekilde aktive olabilen hücrelerdir. Çoğu bellek hücresinin yüzeyinde antijen reseptörü olarak görev yapan sIg'i bulunur. Bu hücrelerin varlığı ikincil immün yanıttaki hızlı antikor üretimini açıklamaktadır [26, 27, 29, 33, 42, 47].

2.3. Kronik Lenfositik Lösemi

2.3.1. Tanım ve Epidemiyoloji

Kronik lenfositik lösemi, batı toplumlarında en sık görülen lösemi türlerinden biridir. Küçük olgun B hücre popülasyonunun birikimi gösteren malign bir lenfoid neoplazidir. Uluslararası Kronik Lenfositik Lösemi Çalıştayı (IWCLL) ölçütlerine göre, KLL tanısı için akım sitometrik yöntemle çevre kanında >5000/μL düzeyinde klonal B hücre lenfositozu gösterilmelidir [3, 28, 44].

Kronik lenfositik lösemi, ilk olarak 19.yüzyılda Virchow tarafından lenf nodu büyüklüğü ve lenfositozu olan hastalarda tanımlanmıştır. Bunu izleyen çalışmalar, bu hastalarda dalak ve kemik iliği tutulumunun da olabileceğini göstermiş ve buradan yola çıkılarak "lenfosarkoma" terimi kullanılmaya

başlanmıştır. Sonraki yıllarda yapılan çalışmalarla hastalığın malign ve klonal doğası belirlenmiştir [28].

Amerika Birleşik Devletleri'nde, 1990'larda, KLL insidansı 5.17/100.000 olarak belirlenmiştir. 2014 yılında Amerikan Kanser Topluluğu tarafından ortanca yaşı 72 olan 15720 yeni KLL olgusu kaydedilmiştir [28].

Kronik lenfositik lösemi erkeklerde daha sık olarak görülmektedir [52]. Ortanca görülme yaşı 72'dir. Risk yaşla birlikte artmakta, kadınlarda artan pariteyle birlikte azalmaktadır [53, 54]. Asya toplumlarında daha seyrek görülmektedir. Bu durumun batıda yaşayan Asyalı göçmenlerde de farklılık göstermemesi genetik predispozisyona yatkınlığa işaret etmektedir [55].

Kronik lenfositik lösemi hücreleri, düşük düzeyde IgM veya IgD gibi bir sIg ifade eden, CD5+/CD19+/CD23+ olgun B lenfositlerdir. Hastalığın seyri değişkendir, bazı hastalar tanıdan sonra birkaç ay içerisinde hastalık nedeniyle kaybedilirken, kimi hastalar tedavisiz yıllarca yaşayabilmektedir [44, 56, 57]. Hastalık evreleme sistemi Rai ve Binet tarafından oluşturulmuştur ve prognoz tayininde önemli belirteçlerden biridir [58, 59]. Ancak bu evreleme sistemlerinin, özellikle erken evre hastalarda (Binet A ya da Rai 0–2) prognoz veya sağkalım için bireysel risk tahmininde tek başına kullanılması önerilmemektedir. Lösemi hücrelerinin büyük çoğunluğunun düşük mitotik aktiviteye sahip olmaları nedeniyle, KLL'de konvansiyonel sitogenetiğin klinik anlamı sınırlıdır [60]. Kronik lenfositik lösemide ailevi yatkınlığın olması, genetik komponentin hastalık fizyopatolojisindeki önemini vurgulamaktadır; bu hastaların birinci derece akrabalarında KLL görülme riski 8.5 kat artmıştır [61, 62].

2.3.2. Etyoloji

2.3.2.1. Çevresel Faktörler

Kronik lenfositik lösemi gelişiminde rol oynayan çevresel faktörlerin belirlenmesi için yapılan çalışmaların tümünde, aile öyküsünde hematolojik malignite bulunmasının KLL gelişimi için güçlü bir risk faktörü olduğu gösterilmiştir [28, 62-64]. Uluslararası Lenfoma Epidemiyoloji Kurulu'nun (InterLymph) yaptığı bir çalışmada birinci derece akrabalarda hematolojik malignite bulunması ve hepatit C öyküsünün varlığı KLL gelişimi için risk faktörü olarak tanımlanmıştır. Allerji öyküsü, kan transfüzyonu, güneş ışığı maruziyeti ve sigara, hastalık gelişimi için koruyucu faktörlerdir. Sınırlı sayıda çalışmada, kronik manyetik alan maruziyeti bulunan kişilerin KLL gelişimi açısından risk taşıdığı gösterilmiştir [65]. Radyasyon maruziyeti ile doğrudan bir ilişki gösterilememiştir [28, 66].

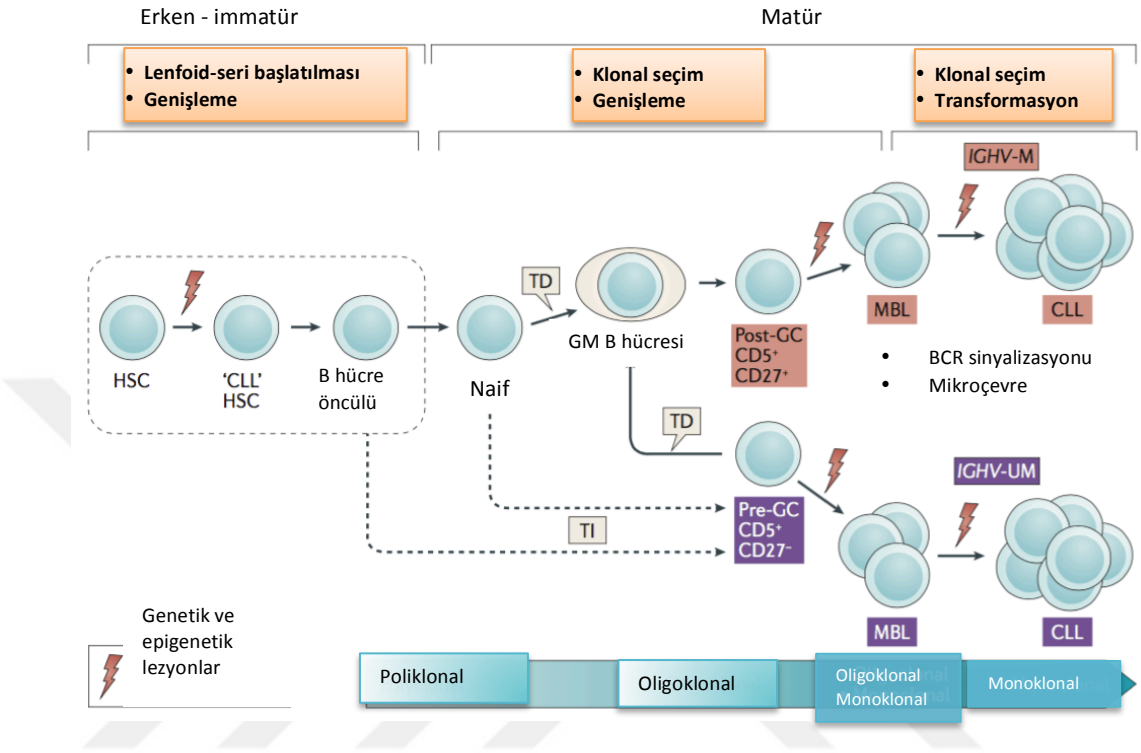
İmmün yetmezliği ya da otoimmün hastalığı bulunanlarda KLL'nin daha sık görüldüğüne dair bilimsel bir kanıt bulunmamaktadır [67]. Kronik inflamatuar, allerjik ve enfeksiyöz durumlarda KLL gelişim riskinde anlamlı artış olmadığı gösterilmiştir [68]. Bununla birlikte solunum yolu enfeksiyonları (pnömoni ve kronik sinüzit), herpes virüs (simplex ve zoster) enfeksiyonları, kronik osteoartrit ve prostatitte KLL riskinin arttığı bilinmektedir. İmmün yetmezlik KLL'nin karakteristik bir bulgusudur, bu nedenle hastalık kendini ilk olarak enfeksiyon tablosu ile gösterebilmektedir [56].

2.3.2.2. Kalıtsal Faktörler

Kronik lenfositik lösemi hastalarının yaklaşık %10'unda birinci veya ikinci derece akrabalarında KLL öyküsü bulunmaktadır. Monoklonal B Hücre Lenfositozu (MBL)'li bireyler ele alındığında bu oran %15'e yükselmektedir [69-71]. Birinci derece akrabalarında düşük dereceli lenfoma öyküsü bulunan hastalarda da KLL riski artmıştır [72]. DAPK (Ölüm İlişkili Protein Kinaz) ve CD57 (LEU7) germline mutasyonları KLL'de ailesel yatkınlıkla ilişkili bulunmuştur [73]. Birçok gen, polimorfizm ve CD5, CD38, Tümör Nekroz Faktörü (TNF) ve İnsan Lökosit Antijeni (HLA) haplotipleri gibi genetik faktörler üzerinde çalışılmış, ancak kesin bir ilişki gösterilememiştir [5, 28, 74-76].

2.4. Hastalık Biyolojisi

Kronik lenfositik lösemi, karmaşık bir biyolojiye ve değişken bir klinik gidişe sahiptir. B lenfosit ailesinden köken alan KLL hücrelerinde CD19 ve CD20 ile birlikte bir bellek hücre belirteci olan CD27 de ifadelenmektedir. Çoğu KLL hücresinin yüzeyinde μ veya D Ig ağır zincirleriyle birlikte kappa (κ) ve lambda (λ) Ig hafif zincirleri de ifadelenir. Bu Ig'ler sıklıkla self-antijenlere karşı reaktif ve polireaktif olup lösemi hücre klonunun yayılım ve sağkalımında rol oynayabilir [28, 77].



Şekil 5. KLL Hücresel Gelişim Süreci [45].

KLL'li donörden alınan Hematopoietik Kök Hücre (HSC)'lerin, immün yetmezlikli farelere ksenotransplantasyonu sonrası, artmış oranda poliklonal pro-B hücresi oluşturabilme ve sonunda MBL'ye benzer özellikler gösteren monoklonal ya da oligoklonal $CD5^+$ B hücre toplulukları yaratabilme kapasitesinin olduğu fikri ileri sürülmüştür. Buna göre KLL, kök hücre evresinden itibaren ortaya çıkabilir. IgV_h mutasyonu (IgV_h-M) pozitif olan KLL'nin post-germinal merkez (GM) $CD5^+CD27^+$ B hücrelerinden köken aldığı düşünülmektedir. Bu hücreler transkripsiyonel olarak bellek B hücrelerine benzerdir ve yüksek olasılıkla GM reaksiyonuna uğrayan $CD5^+CD27^-$ B hücrelerinden oluşmuşlardır. IgV_h bölgesi mutasyonsuz (IgV_h -UM) KLL ise pre-GM $CD5^+CD27^-$ B hücrelerinden köken alıyor gibi görünmektedir, bu hücreler de naif B hücrelerinden ya da öncül B hücrelerinin farklı bir serisinden gelişebilirler. Ek genetik ve epigenetik bozukluklar, B hücre reseptörü (BCR) uyarılması ve mikroçevresel faktörler KLL öncülü MBL'nin ve sonunda da aşikar monoklonal KLL'nin oluşmasına katkı yaparlar. TD, T hücre-bağımlı antijen; TI, T hücre-bağımsız antijen.

Kronik lenfositik lösemi fizyopatolojisinde mikroçevre ve apopitozun etkisi gösterilmiştir. Kronik lenfositik lösemide B-Hücre Lenfoma 2 Molekülü (BCL-2), Myeloid Hücre Lösemi-1 (MCL-1), Bcl-2 Homolog Antagonist Öldürücü Molekülü (BAK) ve X-İlişkili Apopitoz İnhibitör Proteini (XIAP) gibi birçok antiapopitotik proteinin ve NF-κB, Aktive T Hücrelerin Nükleer Faktörü (NFAT) ve Transkripsiyon 3 Sinyal İleticisi ve Aktivatörü (STAT3) gibi transkripsiyon faktörlerinin aşırı ifadelenmesi söz konusudur [78, 79]. Mikroçevrede bulunan NLC ile C-X-C Kemokin Reseptörü (CXCR)4 ve Stromal Hücre Kökenli Faktör-1 (SDF-1) gibi kemokinler de hücre yaşamı üzerine etkilidir [80]. Kronik lenfositik lösemi hücreleri çevre kanı, kemik iliği ve dalak gibi farklı dokularda farklı proliferasyon özellikleri gösterir [81, 82]. Bu hücrelerin in vitro ortamda proliferasyon potansiyelleri yoktur, hücre döngüsünün dinlenme fazında kalır ve rutin kültür şartlarında ise spontan apopitoza uğrarlar. İkincil lenfoid organlarda bulunan stromal hücreler ya da NLC'ler ile hücre kültürü yapıldığında ise, hücre sağkalımının uzadığı görülmüştür. Hücre bölünmesi ve çoğalması için potansiyel bölgeler olan ikincil lenfoid organlarda genellikle diffüz infiltrasyon görülür [83].

2.4.1. İmmün Yetmezlik

Kronik lenfositik lösemide hem hücresel hem de hümoral immun sistem regülasyonu bozulmuştur [84]. Çevre kanındaki Düzenleyici T Hücresi (Treg) sayısının hastalık progresyonu ile ilişkili olduğu gösterilmiştir [85, 86]. Kronik lenfositik lösemi'li hastalarda yapılan T lenfosit çalışmalarında, bu hücrelerin anerjik yapıda olduğu, proliferasyon yeteneklerinin bozulduğu, ancak sitokin

üretim kapasitelerinin korunmuş olduğu gösterilmiştir [87]. Granülositlerde de işlevsel bozukluklar gözlenmektedir. İmmün disregülasyondan esas olarak lösemik B hücreleri sorumludur ve bunu genellikle Transforme Edici Büyüme Faktörü-β (TGF-β) gibi immünsupresif sitokinler üzerinden ya da CD80, CD154 gibi yüzey moleküllerinde azalmış ifadelenmeye neden olarak yapar. Bununla birlikte, mikroçevrenin kendisi de, lenf nodları ve kemik iliğinde immünsupresif nişin oluşmasından sorumludur [88]. Sonuç olarak, immün yetmezlik nedeniyle hastalar başta Herpes Zoster virüs ve Sitomegalovirüs (SMV) gibi viral enfeksiyonlar olmak üzere tüm fırsatçı enfeksiyonlara yatkın hale gelir [89]. B lenfosit gelişimi ve immünoglobulin yapım sürecindeki bozukluklar ilerleyici hipogamaglobulinemiyle sonuçlanabilir. Bu durum KLL hastalarında kapsüllü bakteri enfeksiyonlarında artışa neden olmaktadır [28, 90].

2.4.2. B Hücre Reseptör Yolağının Rolü

B hücre reseptörü, B lenfositlerin gelişim ve olgunlaşmasında tamamlayıcı role sahiptir. B hücre reseptörünün aktivasyonu, KLL hücrelerinin sağkalımı ve proliferasyonu için baş aşamadır [91]. Yüzey Ig heterodimeri BCR'nin esas yapısını oluşturur ve antijen bağımlı/bağımsız sinyal ağı için önemli rol oynar [46, 92, 93]. Lck/Yes Novel (LYN), Fosfatidilinositol-4,5- bifosfat 3-kinaz (PI3K), Dalak Tirozin Kinazı (SYK) ve Bruton Tirozin Kinaz (BTK) gibi bir dizi kinaz bu sinyal iletiminde görev yapar [92]. Bu yolağın aktivasyonu ile Fosfolipaz Cγ2 ($PLC\gamma_2$)'nin fosforilasyonu ve hücre sağkalımını düzenleyen ikincil habercilerin aktivasyonu gerçekleşir [46]. BCR yolağındaki farklı kinazların terapötik hedef

olarak belirlenmesi KLL tedavisinde önemli gelişmelere neden olmuştur. BTK, PI3K ve SYK inhibitörleriyle yapılan çalışmaların erken sonuçları etkinlik ve hasta toleransı açısından umut vadetmektedir. Bu ajanlar tek başına veya diğer ilaçlarla kombinasyon halinde kullanılabilmektedir [94-97].

2.5. Klinik Bulgular

Kronik lenfositik lösemi bir ileri yaş hastalığıdır, ortanca görülme yaşı 72'dir. Klinik bulgular her yaş grubunda benzerdir. Hastaların yaklaşık %70-80'i rutin değerlendirme sırasında tanı almaktadır. Fizik incelemede lenfadenopati ve splenomegali eşlik edebilmektedir. Semptomatik olgularda halsizlik en sık yakınmalardan biridir. Daha az sıklıkta, hasta büyümüş lenf nodları ya da enfeksiyon belirtileri ile başvurabilir. Ateş, terleme ve kilo kaybı gibi belirtiler genellikle ileri evre ve tedaviye dirençli hastalıkta görülebilir [2, 26, 28, 44, 98, 99].

Lenf nodu büyümesi genellikle simetriktir; boyun, aksilla ve inguinal bölgelerde görülebilir. Farklı derecelerde splenomegaliye hastaların 2/3'ünde rastlanır. Belirgin hepatomegali daha nadirdir. Büyümüş hiler, intraabdominal ve retroperitoneal lenf nodları radyolojik olarak görüntülenebilir. Ancak bu tetkiklerin rutin uygulamada yeri yoktur [28].

2.6. Tanısal Değerlendirme

Dünya Sağlık Örgütü 2016 Sınıflamasına göre KLL, lösemik özelliği ile küçük lenfositik lenfomadan ayrılan bir B hücre hastalığıdır [2, 3, 100].

Ayırıcı tanıda saçlı hücreli lösemi, mantle hücreli lenfoma, marjinal zon lenfoma veya folliküler lenfoma gibi lenfoproliferatif hastalıklar düşünülmeli ve dışlanmalıdır. Ayırıcı tanıda tam kan sayımı, çevre kanı yayması ve akım sitometrik inceleme önem taşımaktadır.

2.6.1. Çevre Kanı Bulguları

Kronik lenfositik lösemi tanısı için çevre kanında hastalığa uygun immünfenotipik özelliklere sahip klonal B lenfosit sayısının $\geq 5x10^9/L$ olması gerekmektedir. Dolaşımdaki B lenfositlerin klonalitesi akım sitometri ile gösterilmelidir [2, 44, 101].

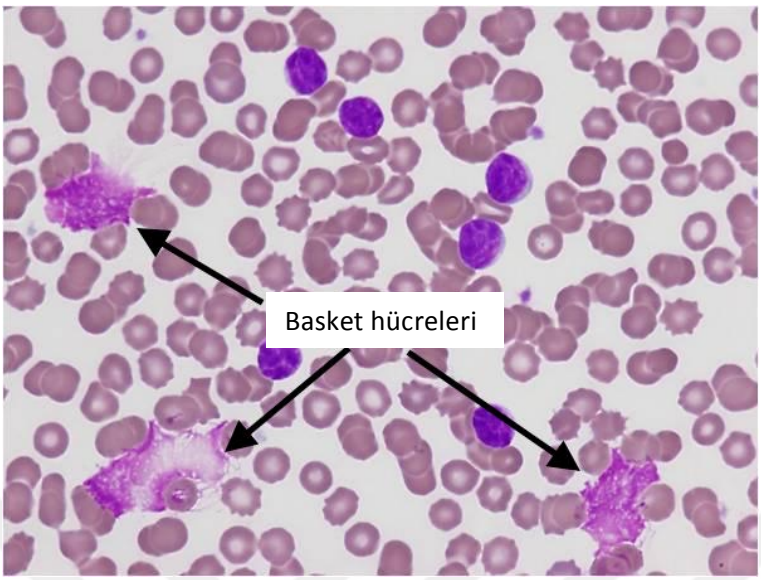
Çevre kanı yaymasındaki KLL lenfositleri tipik olarak küçük, dar sitoplazmalı, çekirdekçiği ayırt edilemeyen ve yoğun çekirdek kromatin yapısına sahip olgun lenfositlerdir. Bu hücreler daha büyük ve atipik hücrelerle ya da prolenfositlerle birlikte görülebilir [3, 102]. Prolenfositlerin çevre kanında %55'ten fazla bulunması durumunda olası tanı prolenfositik lösemidir. Kronik lenfositik lösemide çevre kanında Gumprecht gölgeleri veya basket hücreleri de görülebilir [2].

Çevre kanında klonal B lenfosit sayısı $<5x10^9/L$ iken organomegali, lenfadenopati, sitopeni ve hastalık ilişkili belirtilerin eşlik etmemesi durumu MBL olarak tanımlanır [103]. MBL yıllık %1-2 oranında KLL'ye dönüşebilmektedir [69].

MBL gelişimi için bilinen risk faktörleri; yaş, aile öyküsü, genetik

polimorfizmler, hepatit B, pnömoni, influenza, selülit, üst solunum yolu ve herpes zoster enfeksiyonlarının varlığıdır. MBL'nin KLL'ye dönüşümünde mutasyonsuz IgV_h, CD38 pozitifliği, 17p delesyonu ve B lenfosit sayısındaki artışın rol oynadığı gösterilmiştir [70]. 2010 yılında tüm dünyadan MBL serilerinin kümülatif analizinin gerçekleştirilmesiyle B hücre sayısının bimodal dağılımı olduğu görülmüş, MBL'nin "düşük hücre sayılı MBL" ve "yüksek hücre sayılı MBL" olarak iki ayrı alt grupta değerlendirilmesi gerektiği belirtilmiştir[104]. 2016 yılında yayınlanan Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) Lenfoid Neoplaziler Sınıflaması'nda $<0.5x10^9$/L hücre sayısıyla tanımlanan "düşük hücre sayılı MBL"nin kendi içinde sınırlı bir hastalık olup KLL'den belirgin farklarının bulunduğu ve ek neden bulunmadıkça rutin takip gerektirmediği belirtilmiştir. Buna karşın B hücre sayısının $0.5x10^9$/L ile $5x10^9$/L arasında olduğu "yüksek hücre sayılı MBL"nin KLL Rai evre 0 ile çok benzer genotipik ve fenotipik özelliklere sahip olduğu ve rutin izlem gerektirdiği belirtilmiştir [100].

Küçük Lenfositik Lenfoma (SLL) 'da çevre kanındaki B lenfosit sayısı $5x10^9$/L'nin altındadır, eşlik eden lenfadenopati ve/veya splenomegali mevcuttur. Küçük lenfositik lenfomada tanı lenf nodu biyopsisinin histopatolojik değerlendirmesiyle doğrulanmalıdır [2].



Şekil. 6 [105]

2.6.2. İmmünfenotip

Kronik lenfositik lösemi hücreleri, T hücre antijeni CD5 ile B hücre yüzey antijenleri CD19, CD20 ve CD23'ü birlikte ifade eder. Normal B lenfositlerle karşılaştırıldığında sIg'i, CD20 ve CD79b ifadelenmesi tipik olarak daha düşüktür [106]. Kronik lenfositik lösemideki azalmış CD20 ifadelenmesinden kemik iliği mezenkimal kök hücreleri sorumlu tutulmuştur [107]. Lösemik hücrelerde hafif zincir ifadelenmesi κ ya da λ şeklinde olabilir [2, 69].

B hücreli Prolenfositik Lösemi (PLL)'de ise olguların yaklaşık %50'sinde CD5 ifadelenmesi yoktur, buna karşın CD20 ve sIg'i yüksek düzeyde ifade edilir. Mantle hücreli lenfoma hücreleri B hücre yüzey antijenleri ve CD5 bulundururken, genellikle CD23 negatiftir [2, 108].

2.6.3. Tanıda Kullanılan Diğer Testler

Tanıya yardımcı olmaktan öte, risk ve prognoz tayininde kullanılan parametreler de bulunmaktadır. Ancak KLL hastalarında sadece bu parametrelere dayanılarak tedavi kararının verilmesi önerilmemektedir [2].

2.7. Moleküler Sitogenetik

Kronik lenfositik lösemi olgularının %80'inden fazlasında interfaz FISH (Floresan İn Situ Hibridizasyon) yöntemiyle sitogenetik anormallikler saptanabilmektedir. En sık görülen anormallik 13. kromozomun uzun kolunda görülen delesyondur [del(13q14.1)]. Diğer sık görülen kromozomal anormallikler; 12. kromozomun trizomisi, 11. [del(11q)] ve 6. kromozomun [del(6q)] uzun kolunda ya da 17. kromozomun kısa kolunda görülen delesyonlardır [del(17p)] [101].

Yapılan ileriye dönük klinik çalışmalarda, KLL'de belirli kromozomal anormalliklerin prognostik önemi olduğu gösterilmiştir. 17p delesyonu olumsuz bir prognostik belirteçtir, bu delesyona sahip hastaların alkilleyici ajanlar ve/veya pürin analogları ile uygulanan standart tedaviye dirençli oldukları gösterilmiştir. Buna karşın del(17p) bulunduran hastaların alemtuzumab tedavisine iyi yanıt verebildikleri bilinmektedir [109]. Yapılan geriye dönük bir analizde, del(11q) ya da del(17p) bulunduran KLL hastalarının normal karyotipli ya da tek başına del(13q) bulunduran hastalarla karşılaştırıldığında daha kötü prognoza sahip oldukları gösterilmiştir [110].

2.8. IgV_H Mutasyon Durumu, ZAP70 ve CD38 İfadelenmesi

Kronik lenfositik lösemi hücrelerinde IgV_h ağır zincir genlerinde somatik mutasyon gelişebilir. Mutasyona uğramamış IgV_h geni bulunan hastalar mutasyon bulunanlarla karşılaştırıldığında hastalık seyrinin mutasyon bulundurmayan hastalarda daha kötü olduğu görülmüştür [6]. Buna ek olarak, VH3.21 (değişken ağır zincir 3.21) geninin varlığı IgV_h mutasyon durumundan bağımsız olarak olumsuz bir prognostik belirteç olarak tanımlanmıştır [111]. ZAP70 ve CD38 ifadelenmesi ve mutasyonsuz IgV_h genleri olumsuz prognozla ilişkili bulunmuştur [112-114]. Ancak, ZAP70 ya da CD38 ifadelenmesi ile mutasyonsuz IgV_h genleri arasındaki ilişki net olarak açıklanamamıştır. Kronik lenfositik lösemi tanılı bir hastada tedavi endikasyonu doğduğunda, tek başına birer olumsuz prognostik belirteç olan bu moleküllerin hangisinin birincil olarak tedaviye yanıtı ya da sağkalım olasılığını öngördüğü kesin olarak bilinmemektedir [109, 115]. Olumsuz prognostik belirteçler olmalarına karşın, bu parametrelerin tedavi kararı aşamasında standart uygulamaya girebilmesi için ileri çalışmalara gereksinim bulunmaktadır [6, 113, 116, 117].

2.9. Serum Belirteçleri

Yapılan sınırlı sayıda çalışmada CD23, timidin kinaz ve B2M (β2 mikroglobulin) gibi serum belirteçlerinin KLL hastalarında toplam sağkalımı veya ilerlemesiz sağkalımı öngörebileceği gösterilmiştir [108, 118, 119].

2.10. Kemik İliği Değerlendirmesi

Kronik lenfositik lösemide kemik iliğindeki çekirdekli hücrelerin %30'undan fazlasını lenfoid hücreler oluşturmaktadır. Kemik iliği infiltrasyon tipi tümör yükünü yansıtmakta ve prognostik önem taşımaktadır. Ancak yeni prognostik belirteçlerin gündeme gelmesiyle kemik iliği biyopsisinin prognostik değeri sorgulanmaya başlanmıştır. Tedavisiz izlenmesi öngörülen hastalarda kemik iliği değerlendirmesi yapılması önerilmemektedir. Ancak açıklanamayan sitopenilerde tanısal amaçlı yapılması uygun görülmüştür. Tedavi sonrası sebat eden sitopenilerde hastalık veya tedavi ilişkili nedenlerin ayırıcı tanısı için kemik iliği değerlendirmesi yapılması önerilmektedir [2].

2.11. Evreleme

Kronik lenfositik lösemide iki farklı evreleme sistemi bulunmaktadır; Rai ve Binet evreleme sistemi. Her iki evreleme sistemi de basit, ucuz ve kolay uygulanabilir parametrelere dayanmaktadır. Radyolojik değerlendirme evreleme için gerekli değildir [58, 59].

2.11.1. Rai Evreleme Sistemi

Modifiye Rai sınıflamasında hastalar düşük, orta ve yüksek riskli olarak üç gruba ayrılır. Düşük riskli grupta (Rai 0) çevre kanında ve/veya kemik iliğinde lenfositoz bulunmalıdır. Lenfositoza eşlik eden büyümüş lenf nodu ve splenomegali/hepatomegali varlığında hastalar orta riskli (Rai I-II) olarak değerlendirilir. Yüksek riskli hasta grubu, hastalık ilişkili anemi [Hemoglobin

(Hb) <11 g/dL; Rai III] ya da trombositopeni (Platelet (Plt) <100x10^9/L; Rai IV) varlığını gerektirir [3, 58].

Tablo 2. Rai Evreleme Sistemi

Evre	*Klinik Özellik*	*Risk Durumu (Modifiye Rai)*
0	Lenfositoz, çevre kanında ve/veya kemik iliğinde >%30 lenfoid hücre bulunması	Düşük
I	Evre 0 ve büyümüş lenf nod(ları)	Orta
II	Evre 0-I ve splenomegali ve/veya hepatomegali	Orta
III	Evre 0-II ve Hb <11 g/dl	Yüksek
IV	Evre 0-III ve Plt <100000/uL	Yüksek

2.11.2. Binet Evreleme Sistemi

Evreleme tutulan bölgelerin sayısına (çapı 1 cm'den büyük olan büyümüş lenf nodlarının bulunduğu bölgeler ya da organomegali) ve anemi veya trombositopeni varlığına göre yapılır.

Evreleme için dikkate alınan tutulum bölgeleri

1. Baş ve boyun, Waldeyer halkası dahil (birden fazla büyümüş lenf nodu olsa dahi tek bölge olarak kabul edilir)
2. Aksiller bölge (her iki aksillanın tutulumu tek bölge olarak kabul edilir)
3. Uyluk bölgesi ve yüzeyel femoral bölge (her iki uyluk tutulumu tek bölge kabul edilir)
4. Palpe edilen dalak

5. Palpe edilen karaciğer

Tablo 3. Binet Evreleme Sistemi

Evre	Klinik Özellik
A	Hb ≥10 g/dL, platelet sayısı ≥100 x 10^9 /L ve ≤2 bölge tutulumu
B	Hb ≥10 g/dL, platelet sayısı ≥100 x 10^9 /L ve ≥3 bölge tutulumu
C	Hb <10 g/dL ve/veya platelet sayısı <100 x 10^9 /L, organomegaliye bakılmaksızın

[120]

2.12. Prognoz

Rai ve Binet evreleme sistemleri ile birlikte, yaş, cinsiyet ve performans durumu gibi bir dizi demografik ve klinik özellik KLL'de risk değerlendirmesinin temelini oluşturmaktadır. Klinik özelliklerin yanısıra moleküler ve genetik farklılıklar da prognoz üzerine etkili olabilmektedir. Mutasyonsuz IgV_h [121], CD38, ZAP70 ve CD49 ifadelenmesi [122], B2M [117] ve del11q, del17p [101] gibi genetik anormallikler kötü prognozla ilişkili bulunmuştur. NOTCH1, SF3B1, DDX3X ve Ataksi-Telenjiektazi Mutasyon Geni (ATM) gibi bir dizi tekrarlayan mutasyonun da KLL'de prognoz üzerine etkili olduğu gösterilmiştir [123].

Wierda ve arkadaşlarının çalışmasında, 1981 ve 2004 yılları arasında Teksas Üniversitesi MD Anderson Kanser Merkezi'ne başvuran, daha önce KLL için tedavi almamış 1674 hasta incelenmiştir. Yaş, cinsiyet, B2M düzeyi, lenfosit sayısı, tutulan lenf nodu grubu sayısı ve Rai evresi gibi belirteçlerden oluşan bir

prognostik indeks oluşturulmuştur [118]. Aynı çalışma grubu 2011 yılında tedavisiz izlem süresinin belirlenmesine yönelik yeni bir çok değişkenli model yayınlamıştır. Çalışmaya 2004-2009 yılları arasında MD Anderson Kanser Merkezi'ne başvuran, daha önce tedavi almamış 930 KLL hastası dahil edilmiştir. Bu modelde palpe edilen lenf nodu büyüklüğü, IgV_h mutasyon durumu, FISH kategorisi (11q delesyonu, 17p delesyonu), tutulan lenf nodu grubu sayısı ve Laktat Dehidrogenaz (LDH) düzeyi kullanılmıştır [124]. Pflug ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, Alman KLL Çalışma Grubu'nun 1997-2006 yılları arasında yaptığı 3 randomize kontrollü faz 3 çalışmaya dahil edilen toplam 1948 hasta değerlendirilmiştir. Oluşturdukları prognostik indekste 11q delesyonu varlığı, 17p delesyonu varlığı, serum timidin kinaz düzeyi, B2M düzeyi, mutasyonsuz IgV_h, **"**Eastern Cooperative Oncology Group" Performans Skoru (ECOG PS), cinsiyet ve yaş prognostik belirteçler olarak tanımlanmıştır [125]. 2016 yılında yapılan bir meta-analizde, KLL için yeni bir uluslararası prognostik indeks (CLL-IPI) tanımlanmıştır. Bu çalışmada 1997-2007 arasında yürütülmüş 8 ileriye dönük randomize kontrollü faz 3 çalışmadan elde edilen 3472 hastanın verisi kullanılmıştır. CLL-IPI için 5 değişken belirlenmiştir: Tümör Protein 53 (Tp53) durumu, mutasyonsuz IgV_h, B2M düzeyi, klinik evre ve yaş. CLL-IPI risk değerlendirmesinin standart kılavuzlarda yer alabilmesi için yeni tedavi ajanlarının dahil olduğu ileriye dönük randomize çalışmalarla desteklenmesi gerekmektedir [126].

2.13. Tedavi Endikasyonları

Modifiye Rai sınıflamasına göre orta riskli (Rai I-II) ve yüksek riskli (Rai

III-IV) veya Binet B/C olan hastalar tedavi için potansiyel adaydır, ancak hasta bazında değerlendirme yapılarak ilerleyici ya da semptomatik hastalık oluşuncaya kadar tedavisiz izlenebilirler [99].

Kronik lenfositik lösemide tedavi endikasyonları:

1. Anemi ve/veya trombositopeninin gelişmesi ya da derinleşmesi ile karakterli ilerleyici kemik iliği yetmezliği
2. Masif (kot altında en az 6 cm) veya ilerleyici/semptomatik splenomegali
3. Büyümüş lenf nodları (≥10 cm) ya da ilerleyici/semptomatik lenfadenopati
4. İki aylık sürede %50'den fazla artış gösteren ilerleyici lenfositoz ya da 6 aydan daha kısa olan lökosit katlanma zamanı (LKZ)
5. Kortikosteroidlere ya da diğer standart tedavilere iyi yanıt vermeyen otoimmün anemi ve/veya trombositopeni
6. Konstitüsyonel semptomların varlığı; hastalık ilişkili belirti ve bulgulardan bir veya birkaçının olması:
    a. Son 6 ayda vücut ağırlığının %10 veya daha fazlasının istemsiz kaybı
    b. Belirgin yorgunluk (ör: ECOG performans skorunun 2 veya daha fazla oluşu; günlük aktivitelerini yapamaması);
    c. Herhangi bir enfeksiyon bulgusu olmadan, iki hafta veya daha uzun süre devam eden >38°C ateş
    d. Herhangi bir enfeksiyon bulgusu olmadan bir aydan fazla süredir devam eden gece terlemesi

Hipogamaglobulinemi, monoklonal ya da oligoklonal paraproteinemi tek başına tedavi için endikasyon oluşturmaz.

Kronik lenfositik lösemili hastalar çok yüksek lökosit sayılarıyla başvurabilirler; ancak akut lösemili hastalarda görmeye aşina olduğumuz lökostaz bulguları KLL'li hastalarda nadiren görülür. Nitekim, genetik ve moleküler belirteçlerin varlığı tek başına tedavi endikasyonu oluşturmamaktadır [4].

2.14. Genetik

Kronik lenfositik lösemi hücrelerinin in vitro ortamda uyarılabilmesi ve yeni interfaz FISH tekniklerinin geliştirilmesi sitogenetik anormalliklerin saptanmasını kolaylaştırmıştır [28]. Bu yöntemler ışığında KLL'de en sık görülen sitogenetik anormalliğin hastaların yaklaşık %50'sinde görülen 13q14 delesyonu olduğu gösterilmiştir. Bunu hastaların yaklaşık %15-20'sinde görülen trizomi 12, %10-15'inde görülen 11q22.3 delesyonu ve yaklaşık %7'sinde görülen 6q21 ve 17p13.1 delesyonları izlemektedir [42, 127].

Farklı sitogenetik anormalliklerin KLL fizyopatolojisindeki yerinin aydınlatılması için yapılan çalışmalarda, kromozom 13'ün uzun kolunda meydana gelen delesyonun bir tümör supresör gen olan ARLTS1'in kaybına yol açtığı görülmüştür[128]. Bu bölge mikro RNA (miRNA)-15 ve miRNA-16'yı içeren mikroRNA dizilerini kodlayan genleri içermektedir. Bu kısa, protein kodlamayan, büyüklüğü 21 ile 25 nükleotid arasında değişen miRNA'lar posttranskripsiyonel düzeyde hücre sinyalizasyonunu belirgin olarak etkileyen birçok farklı genin

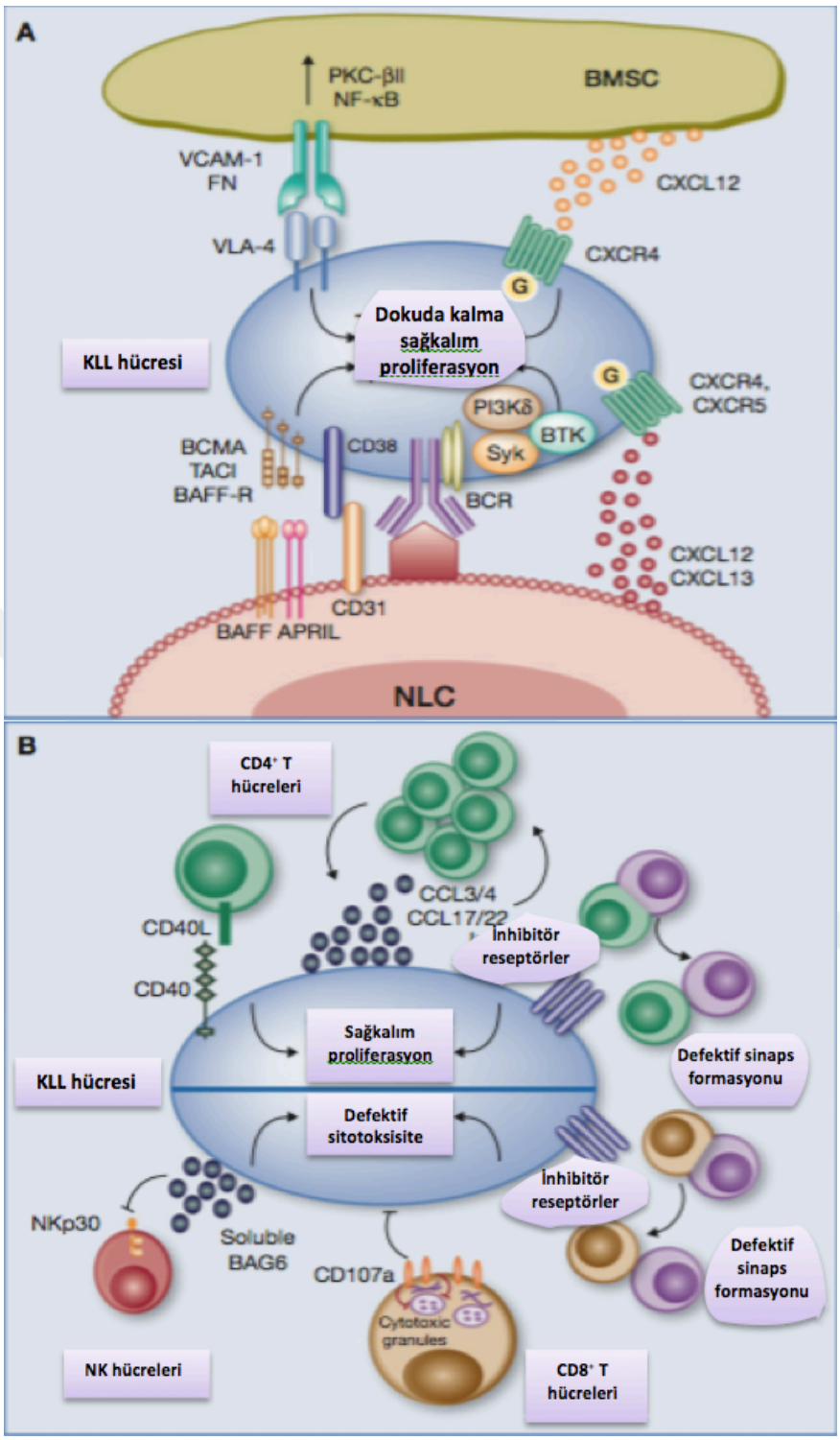
ifadelenmesini düzenler. Ayrıca, KLL hücresinin proliferasyonuyla yakın ilişkili BCL-2 (miRNA-15 ve miRNA-16), MCL-1 (miRNA-29) ve T-hücre Lösemi/Lenfoma Protein 1 (TCL1) (miRNA-29 ve miRNA-181) gibi çeşitli pro ve anti-apopitotik proteinlerin ifadelenmesini de etkiledikleri bilinmektedir [129, 130]. Kronik lenfositik lösemide en çok ifadelenen miRNA olarak kabul edilen miRNA-150'nin BCR sinyalizasyonu ve sonrasındaki sağkalım sinyallerinin regülasyonunda görev yaptığı düşünülmektedir [131]. Kronik lenfositik lösemi patogenezinde miRNA'ların rolünün ve olası terapötik etkilerinin belirlenmesi için birçok çalışma yürütülmektedir [130-132].

Trizomi 12'nin ilerleyici/tekrarlayan hastalık ve Richter dönüşümüyle ilişkili olduğu gösterilmiştir [133]. Trizomi 12 bulunduran hücrelerde sIg, CD19, CD20 ve CD38 ifadelenmesi daha yüksektir [133-135]. 11q22.3 delesyonu olan hastalarda, p53 aktivasyonuna neden olan ve apopitoz ya da hücre tamiriyle sonlanan bir dizi tepkimeden sorumlu olan ATM geninin kaybı söz konusu olabilir [136, 137]. Ayrıca bu hastalarda TCL1 onkogeninin ifadelenmesinin azaltılmasında görevli miRNA-29 ve miRNA-181'de azalma görülür [7]. 11q22.3 delesyonu büyük lenfadenopatilerle seyreden ilerleyici hastalıkla ilişkilidir [101, 138].

17p13.1 delesyonu KLL'li hastaların %10'undan azında görülür ve sıklıkla p53 proteinini kodlayan TP53 geninin delesyonu söz konusudur [139]. 17p delesyonu bulunan hastaların sağkalımı kısadır, tedaviye dirençli ve ilerleyici hastalık görülür [140]. Bu hastalarda ilaç direnci nedeniyle konvansiyonel tedaviler başarısızdır. Richter dönüşüm riski yüksektir. 11q ve 17p delesyonu olan

hastalarda, konvansiyonel tedavilerle karşılaştırıldığında, yeni kuşak kinaz inhibitörlerine yanıt daha iyi olmakla birlikte, ilerlemesiz sağkalım süresi halen oldukça kısadır [38, 141].

Kronik lenfositik lösemi hastalarında saptanan 6q21 delesyonu, 14q32 kromozomu üzerindeki IGH lokusu ve 18q21 kromozomu üzerindeki BCL-2 geni varlığı genellikle ilerleyici ve tekrarlayan hastalıkla ilişkilidir ve mutasyonsuz IgV_h olan hastalarda daha sık gözlemlenir [142, 143].



Şekil 7. Kronik Lenfositik Lösemi Mikroçevresi. A: KLL hücreleri, adezyon molekülleri ve kemokin reseptörleriyle BSMC ve NLC'lerle etkileşirler. Bu etkileşimler, BCR üzerinden sağkalımı ve hücre proliferasyonunu düzenler. **B:** KLL hücresinden salgılanan CCL3 ve CCL4'ü içeren kemokinler yardımıyla, $CD4^+$ T hücreler, KLL hücresinin sağkalımını ve proliferasyonunu desteklemek için mikroçevreye dahil edilir. KLL hücreleri tarafından ifadelenen inhibitör reseptörler KLL hücreleri ve T hücreleri arasında defektif immün sinaps oluşumunu uyarırlar. $CD8^+$ T hücrelerinden sitotoksik granül sekresyonu da defektiftir. KLL hücrelerinden çözünür faktörlerin salınımı NK hücre sitotoksisitesini baskılayarak KLL hücrelerinin bağışıklık sisteminden korunmasına olanak sağlar [144].

Tablo 4. Kronik Lenfositik Lösemi Mikroçevresinin Hücresel Bileşenleri [144]

Hücre Tipi	Normal İmmün Cevapta Fonksiyonu	KLL Mikroçevresinde Fonksiyonu
Kemik İliği Stromal Hücreleri (BMSC)	Hematopoietik kök hücre nişlerinin oluşumu ve hematopoezin regülasyonu; C-X-C Kemokin Reseptörü (CXCL)12 ve diğer çeşitli hematopoietik sitokinlerin sekresyonu	KLL hücrelerinin birikimi; ilaç direnci ve apopitozdan korunma; ve BSMC'lerde KLL hücreleri tarafından uyarılan protein kinaz C-βII'nin (PKC-βII) aktivasyonu
NLC	Bulunmuyor	KLL hücrelerinin birikimi; ilaç direnci ve apopitozdan korunma; CXCL12 ve CXCL13 üretimiyle KLL hücre çekimi; BAFF ve APRIL ifadelenmesi; KLL hücrelerinde BCR ve NF-κB yolağı genlerinin aktivasyonu; in vivo hastalık progresyonu; CD31 yoluyla CD38 eksprese eden hücrelerle etkileşme
$CD4^+$ T hücre / Th	Kazanılmış imün yanıtlar; antijen tanıma; T-antijen sunucu hücre immün sinaps oluşumu; CD40/CD40L etkileşimiyle APC aktivasyonu	İn vivo KLL engrafmanı; KLL hücreleriyle iletişim sonrası defektif immün sinaps oluşumu; $CD40L^+$ $CD4^+$ T hücreler KLL hücrelerinden CCL17 ve CCL22 üretilmesini uyarır; inhibitör reseptörlerin artmış ifadelenmesi
$CD4^+$ $CD25^{yüksek}$ / Treg	$CD4^+$ T hücrelerinin proliferasyonunun ve bunlardan sitokin salınımının inhibisyonu; antitümör immünitenin inhibisyonu	Yüksek $CD4^+$ $CD25^{yüksek}$ Treg oranı KLL hücresinin bağışıklık sisteminden korunmasını sağlayabilir
$CD8^+$ T hücre / Sitotoksik T hücre	Kazanılmış imün yanıtlar; hedef hücreler (ör: kanser hücreleri, virüsle enfekte hücre) tarafından MHC sınıf I moleküllerinde sunulduğunda antijen tanıma; hedef hücrenin apopitozunun uyarılması	KLL hücreleriyle iletişim sonrası defektif immün sinaps oluşumu; bozulmuş sitotoksisite

NK hücre	Doğal immün yanıtlar; hedef hücreler (ör: kanser hücreleri, virüsle enfekte hücre) tarafından MHC sınıf I moleküllerinde sunulduğunda antijen tanıma; hedef hücrenin apopitozunun uyarılması	Azalmış sitotoksisite; NKp30 aktive edici reseptörün düşük ifadelenmesi

2.15. BAFF

BAFF, monosit, makrofaj ve dendritik hücreler gibi doğal bağışıklık sisteminde görev yapan hücrelerde ifadelenen TNF ailesine ait bir sitokindir. Hem çözünür hem de membrana bağlı formları bulunmaktadır [145]. BAFF'ın işlevlerini anlamaya yönelik yapılan ilk çalışmalar, bu sitokinin B hücresinin kaderinin belirlenmesinde kritik öneme sahip olduğunu göstermiştir. BAFF'ın fizyolojik aktivitesinin reseptör aracılı sinyal ağları üzerinden yürüdüğü gösterilmiştir. Bunlar; BAFF-R, TACI ve BCMA'dır. Bu reseptörler B hücrelerinin farklı gelişim evreleri sırasında ifadelenir [13, 146]. İnsanlarda BAFF-R kemik iliği plazma hücreleri hariç diğer B hücreleri üzerinde ifadelenir. BAFF–BAFF-R etkileşiminin B hücresinin sağkalımında rol oynadığı gösterilmiştir. Yüksek BAFF düzeyleri folliküler lenfomada olumsuz prognozla ilişkili bulunmuştur [145, 147]. Sistemik sklerozda tespit edilen yüksek BAFF düzeylerinin cilt sklerozunun şiddetiyle doğrudan ilişkili olduğu gösterilmiştir [148, 149]. Bir başka çalışmada Multipl Myelom (MM) tanılı hastalarda BAFF düzeyleri kontrol grubuna göre 5 kat yüksek bulunmuş ve BAFF ve APRIL'in MM hücre serilerinde büyüme faktörü benzeri görev yapabildiği gösterilmiştir [150]. Yüksek düzeyde BAFF ifadeleyen transgenik farelerde Sistemik Lupus

Eritematozus (SLE) ve Sjögren sendromuna benzer fenotipik özellikler görülür. İnsanlarda BAFF düzeyleri SLE, Sjögren sendromu ve Romatoid Artrit (RA) hastalarında sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldığında belirgin yüksek bulunmuştur [151, 152]. Bununla birlikte immün trombositopeni (İTP) hastalarındaki yüksek serum BAFF düzeylerinin trombositlere karşı oluşmuş self-reaktif B hücre klonlarının ortaya çıkmasında rolünün olabileceği düşünülmüştür [153].

2.16. APRIL

Fizyolojik şartlar altında APRIL B hücre gelişiminde rol oynamaktadır. Eş kökenli reseptörlerine, TACI'ye ve BCMA'ya bağlanmasının ardından, TNF reseptör ilişkili faktörlerin de yardımıyla sinyal hücre içine aktarılır. APRIL'ın hedef hücre yüzeyindeki heparan sülfat proteoglikanlara bağlanarak sinyalizasyonu sağladığı gösterilmiştir [154, 155]. Sağlıklı B hücrelerinde, APRIL sinyalizasyonu CD40L-bağımsız sınıf-değişim rekombinasyonunda, proliferasyonunda ve plazmablastların sağkalımlarının sürdürülmesinde rol oynamaktadır [16, 156]. APRIL'in makrofajlar, stromal hücreler, NLC'lerve KLL hücreleri üzerinde ifadelendiği gösterilmiştir [12, 13, 15, 41, 80]. NLC'ler KLL hücresinden farklılaşmış, KLL hücre yaşamını destekleyen monositlerdir. APRIL hücre zarına bağlı ya da çözünür şekilde bulunabilir. APRIL, TNF-ilişkili apopitozun zayıf uyarıcısı (TWEAK) ile birlikte TWEPRIL (TWEAK - APRIL) adı verilen bir hibrit kopyanın parçası olarak sentezlenebilir, sonrasında bu hibrit TWEAK parçası sayesinde hücre zarına bağlanır [157].

APRIL'in bazı malign hastalıklarla ilişkisi gösterilmiştir. Epitelyal tip over

karsinomu, üretelyal tip mesane karsinomu ve baş-boyun kanserlerinde serum APRIL düzeyleri anlamlı yüksek bulunmuş ve fakat sağkalım ya da tedavi yanıtı üzerine etkisi gösterilememiştir [158, 159]. Şeffaf hücreli renal karsinom'da APRIL düzeyleri tümör evresi ve kısa OS ile ilişkili bulunmuştur [160]. Küçük hücre dışı akciğer karsinomları ve kolorektal kanserde de prognostik öneme sahip olduğu gösterilmiştir [161, 162]. APRIL düzeyi meme kanseri hastalarında da yüksek bulunmuş ve tümör hücrelerinden sentezlenen APRIL'in otokrin ve parakrin yolla tümör yayılımına katkı sağladığı gösterilmiştir. Triple-negatif meme kanseri olgularında yüksek APRIL düzeyinin tümör progresyonuyla ilişkili olduğu rapor edilmiştir [163]. Pankreas kanseri olgularında yapılan bir araştırmada APRIL düzeyinin CEA düzeyinden daha duyarlı, CA19-9 düzeyinden daha özgün olduğu ve APRIL düzeylerinin postoperatif sağkalım ve tümör evresiyle ilişkili olduğu gösterilmiştir [164]. T-hücre lösemi/lenfoma 1A KLL fare modelinde transgenez ile yüksek APRIL ifadelenmesi hastalık şiddeti ile ilişkili bulunmuştur [146]. APRIL transgenik farelerde peritoneal B-1 hücrelerinde hızlanmış proliferasyon gözlenmiştir. Bu farelerde 9 aydan sonra mezenterik lenf nodları ve Peyer plaklarında progresif hiperplazi gelişmekte, mukozal ve kapsüler invazyonu izleyen lenfoid dışı bölgelerde (böbrek, karaciğer gibi) tümör infiltrasyonuyla sonuçlanan tablo gelişmektedir. Bu hücreler farelerde KLL'nin öncül hücreleri olarak değerlendirilmektedir [40, 165].

2.17. TACI

TACI, BAFF ve APRIL'ın reseptörlerinden biridir. İnsanlarda TACI esas olarak $CD27^{+}$ B hücreleri, plazma hücreleri, aktive CD27-germinal merkez dışı

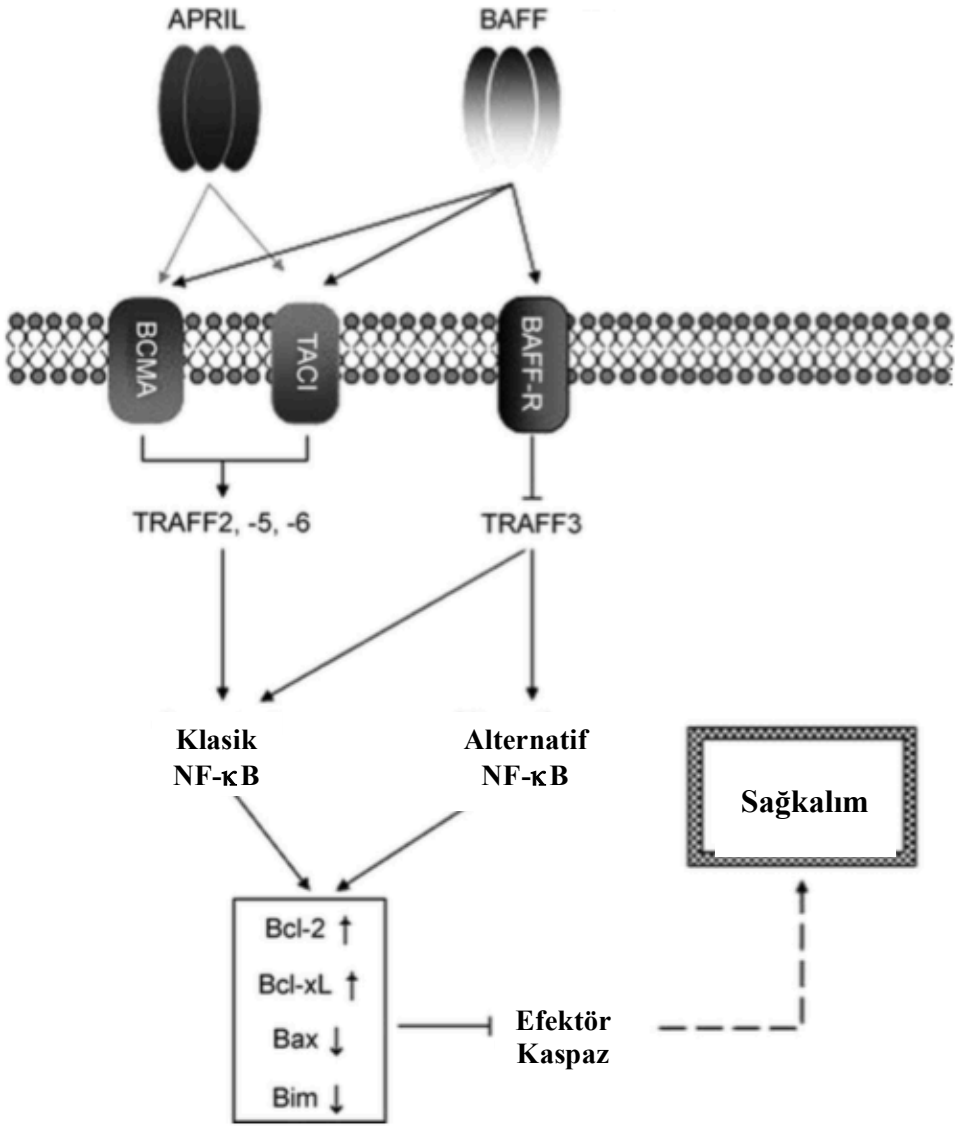
hücrelerin bir kısmı, monositler, dendritik hücreler ve naif B hücrelerinin bir kısmı tarafından oluşturulur. Ek olarak, TACI'nin makrofajlarda da ifadelendiği ve makrofaj sağkalımına aracılık ettiği bildirilmiştir [151].

Bu reseptörün immün yanıtta oluşan birçok olayı etkileyen düzenleyici bir görevi vardır. B hücre çoğalmasını önler [152, 166] ve B hücrelerinde IgG ve IgA sınıf değişim rekombinasyonunu uyarır. TACI ayrıca plazma hücre ömrünü ve farklılaşmasını destekler. TACI'nin bu etkilerini nasıl ortaya çıkardığı belirsizliğini sürdürmektedir; fakat son zamanlarda yapılan bazı çalışmalar bu konuya nispeten mantıklı açıklamalar getirmektedir. Bir çalışmada TACI sinyalizasyonunun BLIMP-1'in devamlı ifadelenmesine yol açtığı ve plazma hücre apopitozunu inhibe ettiği gösterilmiştir [167]. BLIMP-1, B hücrelerinin antikor salgılayan plazma hücrelerine dönüşümünü yöneten bir transkripsiyon faktörüdür. TACI BLIMP-1 ifadelenmesini arttırarak BCL-6 inhibisyonu yoluyla B hücrelerinin klonal çoğalması da engeller. Dolayısıyla TACI eksikliği durumunda hipogammaglobulinemi geliştiği, özellikle polisakkarit antijenlere antikor cevabının azaldığı ve kapsüllü mikroorganizma enfeksiyonlarına yatkınlık geliştiği belirtilmiştir. Kombine Değişken İmmün Yetmezlik (CVID) olgularının %7-21'inde nedenin TACI eksikliği olduğu gösterilmiştir. Diğer yandan TACI eksikliğinde görülen azalmış BLIMP-1 ifadelenmesi sonucunda klonal B hücre çoğalmasının kolaylaştığı belirtilmiştir [168]. Bir başka çalışmada ise TACI'nin folliküler Th ve germinal merkez B hücre topluluğunun büyümesini ve böylece otoimmüniteyi engellediği gösterilmiştir. Öte yandan, antikor üreten hücrelerin sağkalımını düzenlediği ve humoral immünitede önemli rol oynadığı rapor

edilmiştir [169].

2.18. BCMA

BCMA asıl olarak plazma hücrelerinde ifadelenir ve primer görevi kemik iliği plazma hücrelerinin sağkalımının yönetimidir. BAFF ve APRIL'a bağlanarak hücre yaşamını destekleyici sinyaller iletir. Bu nedenle BCMA uzun dönem hümoral bağışıklıktan sorumlu plazma hücrelerinin sağkalımında rol oynar [170]. BCMA ifadelenmesi ayrıca birtakım kanser türleri, otoimmün hastalıklar ve enfeksiyöz hastalıklarla da ilişkilendirilmiştir. Hodgkin lenfomadaki Reed Sternberg hücrelerinin BCMA ve TACI salgılayabildiği ve malign B hücrelerin IL-10 salgısını artırarak tümör-ilişkili myeloid hücrelerden BAFF ve APRIL salınmasını sağladığı gösterilmiştir. BAFF ve APRIL varlığında TACI ve BCMA Reed Sternberg hücrelerine güçlü sağkalım ve büyüme sinyalleri iletir [171]. BCMA düzeyi MM'da da yüksek bulunmuştur [172]. Yapılan bir çalışmada BCMA'nın dolaşımdaki BAFF'ı bağladığı, böylece BAFF'ın B hücreleri ve plazma hücreleri üzerindeki uyarıcı etkilerini engellediği gösterilmiştir. Bunun sonucunda da MM'de poliklonal antikor düzeylerinin azaldığı bildirilmiştir [173]. SLE hastalarında ise BCMA ifadelenmesi kontrollere göre daha düşük bulunmuş ve düşük BCMA ifadelenmesinin ciddi hastalık seyri, glomerulonefrit ve hemolitik anemiyle ilişkili olduğu gösterilmiştir [174]. RA'nın fibroblast benzeri sinoviyositlerinde BCMA ifadelendiği ve APRIL'ın BCMA üzerinden IL-6, TNF-α ve IL-1β üretimini artırdığı görülmüştür [175]. Ayrıca küçük hücre dışı akciğer karsinomlarında da BCMA düzeyi yüksek bulunmuş, olumsuz hastalık sonlanımıyla ilişkili olabileceği belirtilmiştir [176].



Şekil 8. Bu diyagram BAFF ve APRIL'in NF-kb yolağı aktivasyonu yoluyla sağkalımı uyarmak için reseptörleriyle birleştiklerinde ortaya çıkan etkilerini göstermektedir [177]. TRAFF; Tümör nekroz faktörü reseptörü ilişkili faktör. Bcl-2, Bcl-xL, Bax, Bim; antiapoptotik proteinler.

3. Gereç ve Yöntem

Bu araştırma, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Hematoloji Bilim Dalı'nda, Nisan–Kasım 2016 tarihleri arasında yürütülen geriye dönük bir çalışmadır. Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Yerel Etik Kurulu tarafından 28.03.2016 tarihinde değerlendirilerek 185 numaralı karar kapsamında onaylanmıştır. Araştırma bütçesi sorumlu öğretim üyesi tarafından karşılanmıştır.

3.1. Hastalar

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hematoloji Bilim Dalı'nda 1997 - 2013 yılları arasında KLL tanısı konulan ve kan örnekleri "yeni tanı KLL kan havuzunda yer alan" ortanca 48(0-256) ay izlenen 129 hasta çalışmaya dahil edildi. Çalışma grubunda ortanca yaş 64(39-88) yıl iken, erkek/kadın oranı 85/44 idi.

National Cancer Institute Working Group (NCI-WG) 1996 KLL tanı ölçütleri esas alındı:

- Çevre kanında lenfositoz (>5x10^9/L): En az bir aydır devam etmesi gerekmektedir
- Lenfositlerin morfolojik olarak olgun görünümlü olması
- Akım sitometrik incelemede lenfositlerde immünfenotipik olarak aşağıda belirtilen özelliklerin saptanması
    - CD5 ve CD19 ile birlikte CD23 ifadelenmesi
    - Düşük derecede CD20 ve CD79b ifadelenmesi
    - Düşük derecede sIg ifadelenmesi [(IgM +/- (IgD)]

- Her B hücresinin yüzeyinde tek tip hafif zincir ifadelenmesi (κ veya λ)
- CD10, siklin D1 ve FMC7 ifadelenmesinin olmaması

Rai ve Modifiye Rai evreleme sistemlerine göre klinik evreleme ve risk değerlendirmesi yapıldı:

- Düşük risk (Rai 0): Çevre kanı ve/veya kemik iliğinde lenfositoz (>%30) olması
- Orta risk (Rai I-II)
  - Rai evre I: Lenfositoz, herhangi bir bölgede palpe edilen/edilmeyen lenfadenopati(ler)
  - Rai evre II: Lenfositoz, splenomegali ve/veya hepatomegali
- Yüksek risk (Rai III-IV)
  - Rai evre III: Lenfositoz, hastalık ilişkili anemi (Hb <11 gr/dl)
  - Rai evre IV: Lenfositoz, hastalık ilişkili trombositopeni (<100x10^9 /L)

Hastaların dosyaları geriye dönük olarak incelendi. Tanı anındaki lenfosit sayısı/yüzdesi, Hb düzeyi, platelet sayısı, LDH, B2M ve Ig düzeyleri, serum serbest hafif zincir düzeyleri, ZAP70 ve CD38 ifadelenmesi, FISH ile yapılan moleküler incelemeler (13q14 delesyonu, 11q23 delesyonu, 17p13 delesyonu, trizomi 12) ve kemik iliği değerlendirmesi ile ilgili veriler kaydedildi.

Serbest hafif zincir oranı (κ/λ) için normal aralık 0,26-1,65 olarak kabul edildi. Zeta ilişkili protein-70 (ZAP70) akım sitometrik yöntemlerle değerlendirildi. Eşik değer olarak %20 esas alındı. CD38 ifadelenmesi üç renkli

immunfenotiplendirme ile değerlendirildi. Eşik değer olarak %20 esas alındı. Kromozom anormallikleri, interfaz FISH yöntemiyle değerlendirildi. Eşik değerler 11q ve 17p delesyonu için %5, trizomi 12 ve 13q delesyonu için %1 olarak kabul edildi. Sitogenetik farklılıklara göre hasta grubu 3 alt grupta değerlendirildi:

- Düşük risk: Sadece 13q14 delesyonu olan hastalar
- Orta risk: Trizomi 12 olan hastalar
- Yüksek risk: 17p13 veya 11q23 delesyonu olan hastalar

3.2. Kontrol Grubu

Çalışmanın yürütüldüğü tarih aralığında Gazi Üniversitesi İç Hastalıkları Polikliniği'ne başvuran, hipertansiyon, diyabetes mellitus, kronik böbrek hastalığı, kronik kalp hastalığı, hematolojik/non-hematolojik malinite ya da romatolojik hastalık tanısı bulunmayan 26 sağlıklı gönüllü çalışmaya dahil edildi. Gönüllülerden yazılı onam formu alındı. Kontrol grubunda ortanca yaş 51,5(45-78) yıl iken, erkek/kadın oranı 9/17 idi.

Çalışma Yöntemi

Çalışmaya dahil edilen KLL tanılı hastalardan ve kontrol grubundan düz tüpe alınan çevre kanları 4000 rpm'de 10 dakika boyunca santrifüj edildi ve serumları ayrıldı. Analiz yapılıncaya kadar -80°C'de saklandı. Serum BAFF (Human BAFF ELISA Kit 96 wells Boster/USA-EK0063), TACI (Human TNFRSF13B/TACI ELISA Kit 96 wells Boster/USA-EK0986), BCMA (Human

TNFRSF17/BCMA ELISA Kit 96 wells Boster/USA-EK0661) ve APRIL (Human TNFSF13/APRIL ELISA Kit 96 wells Boster/USA-EK0921) düzeyleri Gazi Üniversitesi Hastanesi Erişkin Hematoloji Laboratuvarı'nda Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) yöntemi ile çalışıldı.

BAFF Çalışma Yöntemi:

1. 0.1 mL örnekler ve 0.1 mL standartlar (4000 pg/mL, 2000pg/ml, 1000 pg/ml, 500pg/ml, 250pg/ml, 125 pg/mL, 62,5 pg/mL insan BAFF standart çözeltileri) 96 kuyucuklu levhaya eklendi ve levha 90 dakika 37^0C'de inkübe edildi. Bu aşamada yıkama yapılmadı.
2. 0.1 mL Biyotinli antikorlar eklendi ve levha 60 dakika 37^0C'de inkübe edildi. 0.01 M TBS çözeltisi ile levha 3 kez yıkandı.
3. 0.1 mL ABC çalışma çözeltisi eklendi ve levha 30 dakika 37^0C'de inkübe edildi. 0.01 M TBS çözeltisi ile levha 5 kez yıkandı.
4. 90 ul TMB renk oluşturma reaktifi eklendi ve levha karanlıkta 20-25 dakika 37^0C'de inkübe edildi.
5. 0.1 mL TMB durdurma çözeltisi eklendi ve renk değişimi meydana geldi.
6. Durdurma çözeltisi koyulduktan sonra 30 dakika içinde bir mikrolevha okuyucuda 450 nm'de O.D. absorbans okundu.

   Hesaplama için aşağıdaki formül kullanıldı:

(rölatif $O.D._{450}$) = (Her bir kuyucuğun $O.D._{450}$'si) – (Kör kuyucuğunun $O.D._{450}$'si)

Standart eğri; standart çözeltinin tek tek konsantrasyonlarına (X) karşılık her bir standart çözeltinin rölatif $O.D._{450}$'si (Y) olarak çizildi. Örneklerin BAFF konsantrasyonu standart eğriden değerlendirildi.

TNFRSF13B/TACI Çalışma Yöntemi:

1. 0.1 mL örnekler ve 0.1 mL standartlar (6000 pg/mL, 3000pg/ml, 1500 pg/ml, 750pg/ml, 375pg/ml, 187,5 pg/mL, 93,7 pg/mL insan TACI standart çözeltileri) 96 kuyucuklu levhaya eklendi ve plate 90 dakika 37^0C'de inkübe edildi. Bu aşamada yıkama yapılmadı.
2. 0.1 mL Biyotinli antikorlar eklendi ve levha, 60 dakika 37^0C'de inkübe edildi. 0.01 M TBS çözeltisi ile levha 3 kez yıkandı.
3. 0.1 mL ABC çalışma çözeltisi eklendi ve levha 30 dakika 37^0C'de inkübe edildi. 0.01 M TBS çözeltisi ile levha 5 kez yıkandı.
4. 90 ul TMB renk oluşturma reaktifi eklendi ve levha karanlıkta 20-25 dakika 37^0C'de inkübe edildi.
5. 0.1 mL TMB durdurma çözeltisi eklendi ve renk değişimi meydana geldi.
6. Durdurma çözeltisi koyulduktan sonra 30 dakika içinde bir mikrolevha okuyucuda 450 nm'de O.D. absorbans okundu.

Hesaplama için aşağıdaki formül kullanıldı:

(rölatif $O.D._{450}$) = (Her bir kuyucuğun $O.D._{450}$'si) – (Kör kuyucuğunun $O.D._{450}$'si)

Standart eğri; standart çözeltinin tek tek konsantrasyonlarına (X) karşılık her bir standart çözeltinin rölatif $O.D._{450}$'si (Y) olarak çizildi. Örneklerin TACI konsantrasyonu standart eğriden değerlendirildi.

TNFSF13/APRIL Çalışma Yöntemi:

1. 0.1 mL örnekler ve 0.1 mL standartlar (10,000 pg/mL, 5000pg/ml, 2500 pg/ml, 1250pg/ml, 625pg/ml, 312 pg/mL, 156 pg/mL insan TNFSF13 standart çözeltileri) 96 kuyucuklu levhaya eklendi ve levha 90 dakika 37^0C'de inkübe edildi. Bu aşamada yıkama yapılmadı.
2. 0.1 mL Biyotinli antikorlar eklendi ve levha 60 dakika 37^0C'de inkübe edildi. 0.01 M TBS çözeltisi ile levha 3 kez yıkandı.
3. 0.1 mL ABC çalışma çözeltisi eklendi ve levha 30 dakika 37^0C'de inkübe edildi. 0.01 M TBS çözeltisi ile levha 5 kez yıkandı.
4. 90 ul TMB renk oluşturma reaktifi eklendi ve levha karanlıkta 20-25 dakika 37^0C'de inkübe edildi.
5. 0.1 mL TMB durdurma çözeltisi eklendi ve renk değişimi meydana geldi.
6. Durdurma çözeltisi koyulduktan sonra 30 dakika içinde bir mikrolevha okuyucuda 450 nm'de O.D. absorbans okundu.

Hesaplama için aşağıdaki formül kullanıldı:

(rölatif $O.D._{.450}$) = (Her bir kuyucuğun $O.D._{.450}$'si) – (Kör kuyucuğunun $O.D._{.450}$'si)

Standart eğri; standart çözeltinin tek tek konsantrasyonlarına (X) karşılık her bir standart çözeltinin rölatif $O.D._{.450}$'si (Y) olarak çizildi. Örneklerin APRIL konsantrasyonu standart eğriden değerlendirildi.

TNFRSF17/BCMA Çalışma Yöntemi:

1. 0.1 mL örnekler ve 0.1 mL standartlar (2000 pg/mL, 1000pg/ml, 500 pg/ml, 250pg/ml, 125pg/ml, 62,5 pg/Ml, 31,2 pg/mL insan TNFRSF17 standart çözeltileri) 96 kuyucuklu levhaya eklendi ve levha 90 dakika 37^0C'de inkübe edildi. Bu aşamada yıkama yapılmadı.
2. 0.1 mL Biyotinli antikorlar eklendi ve levha 60 dakika 37^0C'de inkübe edildi. 0.01 M TBS çözeltisi ile levha 3 kez yıkandı.
3. 0.1 mL ABC çalışma çözeltisi eklendi ve levha 30 dakika 37^0C'de inkübe edildi. 0.01 M TBS çözeltisi ile levha 5 kez yıkandı.
4. 90 ul TMB renk oluşturma reaktifi eklendi ve levha karanlıkta 20-25 dakika 37^0C'de inkübe edildi.
5. 0.1 mL TMB durdurma çözeltisi eklendi ve renk değişimi meydana geldi.
6. Durdurma çözeltisi koyulduktan sonra 30 dakika içinde bir mikrolevha okuyucuda 450 nm'de O.D. absorbans okundu.

   Hesaplama için aşağıdaki formül kullanıldı:

(rölatif $O.D._{.450}$) = (Her bir kuyucuğun $O.D._{.450}$'si) – (Kör kuyucuğunun $O.D._{.450}$'si)
Standart eğri; standart çözeltinin tek tek konsantrasyonlarına (X) karşılık her bir standart çözeltinin rölatif $O.D._{.450}$'si (Y) olarak çizildi. Örneklerin BCMA konsantrasyonu standart eğriden değerlendirildi.

3.3. İstatistiksel Analiz

Bu çalışmada elde edilen verilerin değerlendirilmesi SPSS 16.0 (SPSS Inc, Chicago, IL, USA) programı kullanılarak yapıldı. Sürekli değişkenlerin karşılaştırılması için Mann Whitney U/Kruskal Wallis testleri, kategorik değişkenlerin karşılaştırılması için Ki-kare testi kullanıldı. Korelasyon analizinde Spearman testi kullanıldı. Sağkalım analizi için Kaplan Meier testi, sağkalım üzerine olası risk faktörlerinin belirlenmesi için Cox regresyon analizi ve log rank testi kullanıldı. $p<0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışmaya dahil edilen toplam 129 KLL hastasında ortanca yaş 64(39-88) yıl iken, kontrol grubunda 51,5(45-78) yıl idi ($p<0,05$). Erkek/kadın oranı çalışma grubunda 85/44 iken, kontrol grubunda 9/17 olarak değerlendirildi.

Toplam 124 hasta tanı anında Rai ve Modifiye Rai evreleme sistemine göre değerlendirildi. Rai evreleme sistemine göre 60 hasta (%48.4) evre 0, 25 hasta (%20,2) evre I, 26 hasta (%21) evre II, 7 hasta (%5,6) evre III ve 6 hasta (%4,8) evre IV olarak değerlendirildi. Modifiye Rai evreleme sistemine göre değerlendirilen 60 hasta (%48.4) düşük riskli, 51 hasta (%41,1) orta riskli, 13 hasta (%10,5) yüksek riskliydi.

Toplam 118 hastada serum IgG düzeyi ölçüldü, ortanca IgG düzeyi 1030 (288-2880) mg/dl olarak saptandı, 19 hastada (%16,1) IgG düzeyi düşük bulundu. Toplam 119 hastada ölçülen ortanca serum IgA düzeyi 126 (17,6-551) mg/dl olarak saptandı, 24 hastada (%20,2) IgA düzeyi düşük bulundu. Toplam 117 hastada serum IgM düzeyi ölçüldü, ortanca IgM düzeyi 44,9 (4,17-600) mg/dl olarak saptandı, 65 hastada (%55,5) IgM düzeyi düşük bulundu.

Toplam 110 hastada serbest hafif zincir (κ/λ) oranı hesaplandı; ortanca κ/λ oranı 1,395 (0,18-35) olarak değerlendirilirken, hastaların 44'ünde (%40) oranın anormal olduğu görüldü.

Toplam 105 hastaya kemik iliği biyopsisi yapıldı. On dokuz (%18,1) hastada nodüler interstisyel, 36 (%34,3) hastada diffüz interstisyel, 11 (%10,5)

hastada diffüz, 25 (%23,8) hastada interstisyel ve 14 (%13,3) hastada nodüler tutulum gözlendi.

Eşlik eden otoimmun süreç açısından değerlendirilen 125 hastanın 111'inde (%88,8) otoimmun hastalık izlenmez iken, 6 hastada (%4,8) İTP (İmmün Trombositopeni), 6 hastada (%4,8) İHA (İmmün Hemolitik Anemi) ve 2 hastada (%1,6) İTP + İHA birlikteliği izlendi.

Toplam 123 hastada LDH düzeyi ölçüldü; ortanca LDH düzeyi 199,5 (115-679) U/L iken; 19 hastada (%15,4) yüksek olarak değerlendirildi. Toplam 56 hastada B2M düzeyi ölçümü yapıldı. Ortanca B2M düzeyi 1,98 (0,1-17,4) mg/L iken; 17 hastada (%30,4) yüksek olduğu görüldü.

Toplam 123 hastada ölçülen ortanca CD38 yüzdesi %24 (0-92) iken, CD38 ifadelenmesinin 52 hastada (%42,3) pozitif olduğu görüldü. ZAP70 düzeyi 104 hastada ölçüldü. Ortanca ZAP70 yüzdesi %19,4 (0-92) iken, 50 hastada (%48,1) pozitif olarak değerlendirildi.

İnterfaz FISH yöntemi ile 91 hastada moleküler risk değerlendirmesi yapıldı. Toplam 29 hastada (%31,8) normal olarak değerlendirildi. 13q14 delesyonu 28 hastada (%30,8), trizomi 12 13 hastada (%14,3), 17p13 delesyonu 11 hastada (%11,2) ve 11q23 delesyonu 10 hastada (%11) saptandı. Buna göre 28 hasta (%30,8) düşük riskli, 13 hasta (%14,3) orta riskli ve 21 hasta (%23,1) yüksek riskli olarak değerlendirildi.

Çalışma grubunda ortanca ECOG skoru 1(0-2) olarak değerlendirildi. Hastalar ortanca 26(0-201) ay tedavisiz izlendi. Ortanca 48(0-256) ay olarak belirlenen izlem süresi sonundaki OS olasılığı %26,3 olarak hesaplandı.

Tablo 5. Hastaların Genel Özellikleri

	Hasta n= 129	Kontrol Grubu n= 26
Yaş (yıl) [ortanca(aralık)]	64,0 (39,0-88,0)	51,5 (45,0-78,0)
Cinsiyet (erkek/kadın) (n)	85/44	9/17
BK (/uL) [ortanca(aralık)]	25000 (3600-404000)	
Hb (g/dL) [ortanca(aralık)]	13,5 (6,3-17,9)	
Plt (/uL) [ortanca(aralık)]	188100 (7440-429000)	
Lenfosit Oranı (%) [ortanca(aralık)]	76,5 (23,6-97,4)	
Evre (Rai) (n=124) [n(%)]		
Rai 0	60 (%48,4)	
Rai 1	25 (%20,2)	
Rai 2	26 (%21)	
Rai 3	7 (%5,6)	
Rai 4	6 (%4,8)	
Evre (Modifiye Rai) (n=124) [n(%)]		
Düşük risk	60 (%48,4)	
Orta risk	51 (%41,1)	
Yüksek risk	13 (%10,5)	
IgG (mg/dl) [ortanca(aralık)]	1030 (288-2880)	
IgA (mg/dl) [ortanca(aralık)]	126 (17,6-551)	
IgM (mg/dl) [ortanca(aralık)]	44,9 (4,17-600)	
Serbest hafif zincir oranı (κ/λ)	1,395 (0,18-35)	

[ortanca(aralık)]	
Kemik iliği biyopsisi (n=105) [n(%)]	
Nodüler interstisyel	19 (%18,1)
Diffüz intestisyel	36 (%34,3)
Diffüz	11 (%10,5)
İnterstisyel	25 (%23,8)
Nodüler	14 (%13,3)
Otoimmün Hastalık (n=125) [n(%)]	
Yok	111 (%88,8)
İTP	6 (%4,8)
İHA	6 (%4,8)
ITP + İHA	2 (%1,6)
LDH (U/L) [ortanca(aralık)]	119,5 (115-679)
β-2 mikroglobulin (mg/L) [ortanca(aralık)]	1,98 (0,1-17,4)
CD38 (n=123) (%) [ortanca(aralık)]	24 (0-92)
ZAP70 (n=104) (%) [ortanca(aralık)]	19,44 (0-92)
Sitogenetik (FISH) (n=91) [n(%)]	
Negatif	29 (%31,8)
13q14 delesyonu	28 (%30,8)
Trizomi 12	13 (%14,3)
17p13 delesyonu	11 (%12,1)
11q23 delesyonu	10 (%11)

FISH'e göre risk değerlendirmesi (n=62) [n(%)]	
Düşük risk	28 (%30,8)
Orta risk	13 (%14,3)
Yüksek risk	21 (%23,1)
Ortanca ECOG [ortanca(aralık)]	1 (0-2)

BAFF, BCMA ve TACI ölçümleri 129 hasta ve 26 kontrolde, APRIL ölçümü 61 hasta ve 26 kontrolde yapıldı. Ortanca BAFF düzeyi hasta grubunda 0,08(0,05-2,08) ng/ml iken, kontrol grubunda 1,46(0,24-2,95) ng/ml olarak ölçüldü. Ortanca BAFF düzeyi hasta grubunda kontrol grubuna göre anlamlı düşük bulundu ($p<0,001$).

Ortanca BCMA düzeyi hasta grubunda 0,16(0,12-1,93) ng/ml, kontrol grubunda 1,43(0,87-3,03) ng/ml idi. İki grup karşılaştırıldığında BCMA düzeyi hasta grubunda anlamlı düşük bulundu ($p<0,001$).

Ortanca TACI düzeyi hasta ve kontrol grubunda sırasıyla 0,14(0,1-1,07) ng/ml ve 0,28(0,24-0,87) ng/ml olarak değerlendirildi. TACI düzeyi hasta grubunda anlamlı düşük bulundu ($p<0,001$).

Ortanca APRIL düzeyi hasta grubunda 0,28(0,2-5,44) ng/ml iken, kontrol grubunda 0,26(0,24-0,65) ng/ml olarak saptandı. APRIL düzeyi açısından iki grup arasında fark gözlenmedi ($p>0.05$).

Tablo 6. Ortanca BAFF, BCMA, TACI ve APRIL Düzeylerinin Hasta ve Kontrol Grubu Arasında Karşılaştırmalı Değerlendirmesi

	Hasta Grubu	Kontrol Grubu	p değeri
BAFF (ng/ml)	0,08(0,05-2,08)	1,46(0,24-2,95)	p<0,001
BCMA (ng/ml)	0,16(0,12-1,93)	1,43(0,87-3,03)	p<0,001
TACI (ng/ml)	0,14(0,1-1,07)	0,28(0,24-0,87)	p<0,001
APRIL (ng/ml)	0,28(0,2-0,65)	0,26(0,24-0,65)	p=0,089

4.1. KORELASYONLAR

Yapılan korelasyon analizinde;

BAFF ile BCMA arasında (p<0,001; r=0,936)

TACI ile BAFF arasında (p<0,001; r=0,627)

BAFF ile APRIL arasında (p<0,001; r=0,433)

BCMA ile TACI arasında (p<0,001; r=0,734)

BCMA ile APRIL arasında p=0,028; r=0,282)

BCMA ile κ/λ arasında (p=0,029; r=0,208)

TACI ile κ/λ arasında (p=0,011; r=0,241)

LDH ile Rai evre arasında (p=0,035; r=0,191)

Lenfosit oranı ile Rai evre arasında (p<0,001; r=0,319) pozitif korelasyon saptandı.

BAFF ile Rai evre arasında (p=0,008; r=-0,236) ve BCMA ile Rai evre arasında (p=0,042; r=-0,183) ise negatif korelasyon mevcuttu.

Tablo 7. Korelasyon Analiz Sonuçları

Korelasyonlar		
	p değeri	**r değeri**
BAFF-BCMA	<0,001	0,936
TACI-BAFF	<0,001	0,627
BAFF-APRIL	<0,001	0,433
BCMA-TACI	<0,001	0,734
BCMA-APRIL	0,028	0,282
BCMA-κ/λ	0,029	0,208
TACI-κ/λ	0,011	0,241
LDH-Rai evre	0,035	0,191
Lenfosit oranı-Rai evre	<0,001	0,319
BAFF-Rai evre	0,008	-0,236
BCMA-Rai evre	0,042	-0,183

Sağkalım Analizi ve Sağkalım Üzerine Etkili Faktörler:

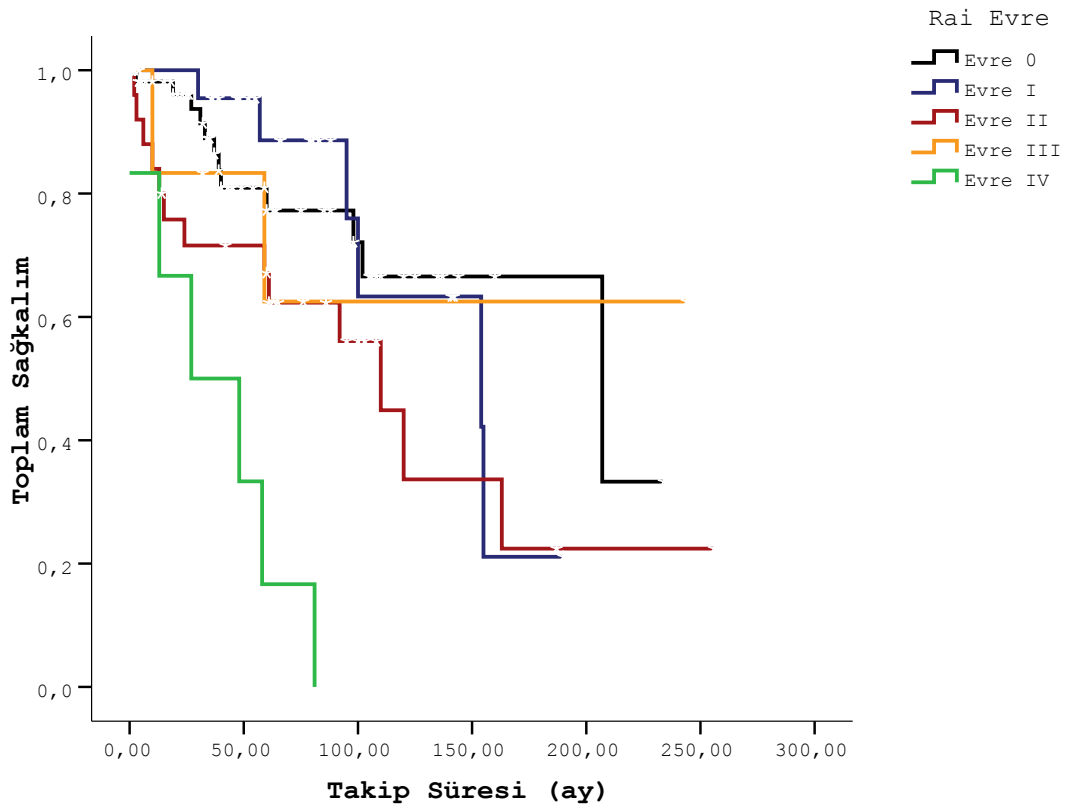
Tek değişkenli analizde; yaş (p=0,001), Rai evre (p=0,001), Modifiye Rai evre (p=0,015), ZAP70 (p=0,056) ve ECOG performans durumu (p=0,008) sağkalım üzerine etkili faktörlerdi.

Çok değişkenli analizde; yaş (p=0,002), Rai evre (p=0,005) ve Modifiye Rai evresinin (p=0,051) sağkalım üzerine olan etkilerinin sebat ettiği gözlendi.

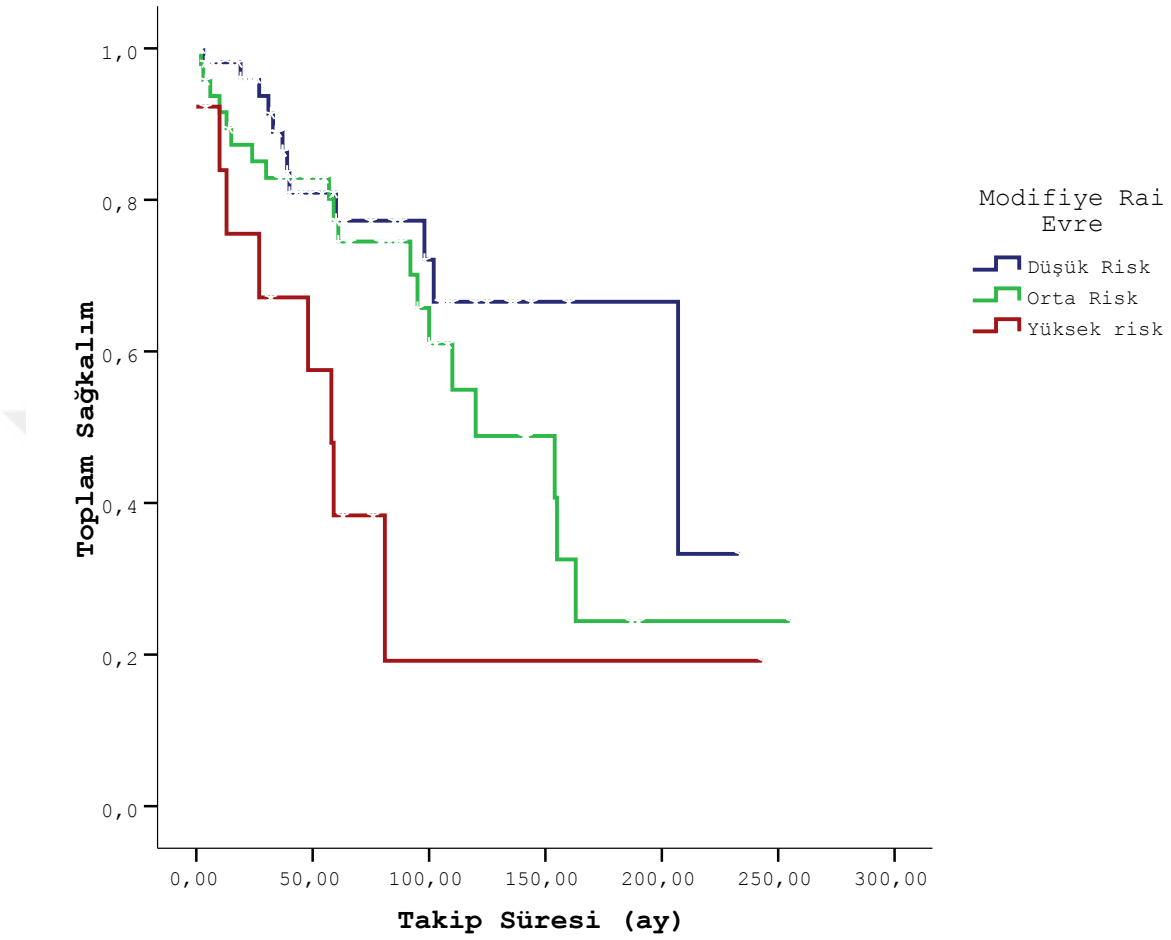
BAFF, BCMA, TACI ve APRIL düzeylerinin; κ/λ normal ve anormal olan hastalar (p>0,05); LDH düzeyi normal ve yüksek olan hastalar (p>0,05); ZAP70 pozitif ve negatif olan hastalar (p>0,05); Rai alt grupları (p>0,05) ve FISH risk grupları (p>0,05) arasında farksız olduğu görüldü.

TACI düzeyi, CD38(+) olan hastalarda CD38(-) olanlara göre daha yüksek bulundu [(0,17(0,1-0,86) vs 0,13(0,1-1,07); p=0,06].

BAFF düzeyi modifiye Rai'a göre düşük riskli olan hastalarda daha yüksek bulundu (p=0,059).



Şekil 9. KLL Hastalarında Evre (Rai) ve Sağkalım İlişkisi (p=0,005)



Şekil 10. KLL Hastalarında Evre (Modifiye Rai) ve Sağkalım İlişkisi (p=0,051)

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada BAFF, APRIL, BCMA ve TACI moleküllerinin KLL biyolojisindeki prognostik öneminin belirlenmesi amaçlandı. Kronik lenfositik lösemi hastalarının tanı anı serum BAFF, BCMA ve TACI düzeyleri sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldığında anlamlı düşük bulundu. BCMA ve TACI düzeyleri ile serum serbest hafif zincir oranı arasında pozitif; BAFF ve BCMA düzeyleriyle Rai evresi arasında negatif korelasyon saptandı. BAFF düzeyinin modifiye Rai'a göre düşük riskli olan hastalarda daha yüksek olduğu gösterildi. Serum TACI düzeyi CD38 pozitif hastalarda daha yüksek bulundu. Kronik lenfositik lösemide tanı anı BAFF, APRIL, BCMA ve TACI düzeylerinin toplam sağkalım üzerine anlamlı etkilerinin olmadığı görüldü.

Kronik lenfositik lösemi, Batı ülkelerinde en sık görülen lösemi türüdür. İmmünfenotipik olarak $CD5^{+}$ $CD19^{+}$, $CD20^{azalmış}$, $CD23^{+}$, $sIgM^{soluk}$ monoklonal B hücrelerinin çevre kanı, kemik iliği ve lenfoid dokularda ilerleyici birikimiyle karakterizedir [44]. Hastalığın seyrinde BCL2 ve MCL1 gibi anti-apopitotik proteinlerin rolü gösterilmekle birlikte mikroçevrede bulunan diğer moleküllerin de hastalığın biyolojisine değişik oranlarda katkıda bulunabileceği düşünülmektedir [178]. Mikroçevrede bulunan BAFF ve APRIL, B hücre farklılaşması ve olgunlaşmasında görev alan TNF ailesi proteinleridir. BAFF, BAFF-R adında spesifik bir reseptöre sahiptir, bununla birlikte TACI ve BCMA da BAFF ve APRIL için reseptör görevi görmektedir [177].

BAFF-R, TACI ve BCMA reseptörleri B hücre yüzeyinde olgunlaşma

sürecinin farklı aşamalarında ifadelenir. BAFF-R, B hücre gelişimi süresince görev yapar ve genç/olgun B lenfosit alt tiplerinin sağkalımını düzenler. İmmunglobulin sentezi sırasında sınıf değişimi rekombinasyonuna katılır [179]. TACI esas olarak marjinal zon lenfositleri ve bellek hücreleri üzerinde ifadelenirken, aktive B ve T hücreleri üzerinde de bulunabilir. T hücre bağımlı ve bağımsız humoral immün yanıt sırasında Ig sınıf değişimi rekombinasyonuna katılır [179]. BCMA olgun B lenfositler üzerinde ifadelenir ve plazma hücresine dönüşüm aşamasında görev yapar [180].

Yapılan in vitro çalışmalarda ortama eklenen BAFF ve APRIL'in lösemik hücreleri apopitozdan koruduğu gösterilmiştir [12, 13, 181]. BAFF ve APRIL, reseptörlerine bağlandıktan sonra, NF-kB ilişkili yolakları aktive ederek hücre sağkalımını uzatırlar.

Murin ve insan normal B hücrelerindeki BAFF ve APRIL ifadelenmesi mikroçevreden gelen dış sinyaller ile düzenlenir. Mikroçevreden gelen sinyaller KLL hücresinin BAFF ve APRIL tarafından uyarılma eşiğini düşürür, bunu CD40+IL4R ile BAFF–APRIL reseptörleri arasındaki ilişki üzerinden yapar. Bunun sonucunda hücre sağkalımı korunur [51].

Kronik lenfositik lösemide risk ve prognoz tayini tedavinin yönlendirilmesi açısından büyük önem taşımaktadır. Terapötik hedef olabilecek yeni biyoişaretleyiciler üzerinde çalışmalar yapılmaktadır. Rossi ve arkadaşlarının yaptığı yeni bir genetik sınıflamada hastalar TP53, BIRC3, NOTCH1 ve SF3B1 mutasyonlarına göre risk gruplarına ayrılmıştır. Yüksek riskli grup TP53 ve/veya

BIRC mutasyonlarını taşıyan, orta riskli grup NOTCH1 ve/veya SF3B1 ve/veya del11q22-q23 mutasyonlarını taşıyan, düşük riskli grup trizomi 12'si bulunan ya da normal sitogenetik özelliklere sahip, çok düşük riskli grup ise sadece del13q14 mutasyonuna sahip hastaları kapsamaktadır. On yıllık sağkalım olasılığı yüksek riskli grupta %29 iken, orta riskli grupta %37, düşük riskli grupta %57, çok düşük riskli grupta ise %69.3 olarak belirlenmiştir [182]. Cortese ve arkadaşlarının yaptığı 364 KLL hastasını içeren bir başka çalışmada ise, NOTCH1 ve SF3B1 mutasyonuna sahip hastaların toplam sağkalımının TP53 mutasyonu bulunduran hastalarla benzer olduğu gösterilmiştir [183]. Bir başka çalışmada KLL'de kapsamlı bir prognostik değerlendirme sistemi geliştirmek adına 23 klinik, biyolojik ve genetik işaretleyici değerlendirmeye alınmıştır. Bu prognostik değerlendirme sistemi, sekiz bağımsız risk faktörünü (yaş, cinsiyet, ECOG performans durumu, 17p delesyonu, timidin kinaz, B2M, mutasyonsuz IgV_h, 11q delesyonu) temel alarak hastaları dört farklı risk grubuna ayırmaktadır. 17p delesyonu olan hastalar "çok yüksek riskli" olarak değerlendirilmiştir. Timidin kinaz ve B2M düzeyleri ikinci sırada önem arz etmektedir. NOTCH1, SF3B1, BIRC3 ve CD49d ifadelenmesi gibi yeni tanımlanan parametrelerin prognostik rollerinin belirlenebilmesi için ileri çalışmalara gereksinim duyulmaktadır [125]. Mevcut prognostik belirteçlerin yorumlanmasındaki zorluklara ek olarak, yeni biyoişaretleyicilerin klinik pratikte uygulanabilirliği ile ilgili bilimsel veri halen oldukça sınırlıdır. Bu nedenle KLL'de tedavi yanıtını öngörebilecek standart belirteçlere gereksinim vardır.

Günümüzde KLL prognozunun belirlenmesinde en sık kullanılan olumsuz

moleküler belirteçler mutasyonsuz IgV_h genleri, ZAP70 ve CD38 ifadelenmesidir [112, 114, 184]. Tedavi yanıtını, hastalıksız ve tedavisiz izlem sürelerini ve toplam sağkalımı öngörebilen yeni moleküllerin bulunması KLL'nin patofizyolojisini ve biyolojisini daha iyi anlayabilmemizi sağlayacaktır.

BAFF, APRIL, TACI ve BCMA ifadelenmesinin KLL fizyopatolojisindeki rolü farklı in vitro çalışmalarda irdelenmiş olmakla birlikte, in vivo etkinliğin belirlenmesine yönelik çalışmalar sınırlıdır [10, 12, 14, 185-193].

Mamara ve arkadaşlarının 94 KLL hastasında yaptığı bir çalışmada, çalışmamıza benzer şekilde, BAFF düzeyleri hastalarda anlamlı düşük tespit edilmiş, ve fakat BAFF düzeyleri ile klinik ve laboratuvar özellikler arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır [185]. Planelles ve arkadaşlarının 95 KLL hastası ve 32 sağlıklı kontrolde; Haiat ve arkadaşlarının 88 KLL hastası ve 18 sağlıklı kontrolde yaptıkları çalışmalarda da benzer şekilde BAFF düzeyi hasta gruplarında anlamlı düşük saptamıştır [187, 188]. Kreuzaler ve arkadaşları ise primer antikor eksiklikleri, kombine değişken immün yetmezlik, SLE ve KLL hastalarını dahil ettikleri heterojen bir grupta yaptıkları çalışmada, KLL hastalarında BAFF düzeylerinin sağlıklı kontrollere göre anlamlı düşük olduğunu göstermişlerdir [193].

Bojarska-Junak ve arkadaşlarının çalışmasında ise 183 KLL hastasında plazma BAFF düzeyi düşük bulunmuş ve çalışmamıza benzer şekilde CD38 ve ZAP70 gibi diğer prognostik belirteçlerle arasında anlamlı bir ilişki

saptanmamıştır, nitekim sağkalım üzerine etkisi de gösterilememiştir. İlginç olarak, KLL hastalarında ölçülen hücre içi BAFF düzeyi, plazma BAFF düzeyinin aksine, yüksek bulunmuştur. Üstelik hücre içi BAFF düzeyi ile CD38 ve ZAP70 arasında kuvvetli bir ilişki saptanmış, sağkalım üzerine de etkili olduğu gösterilmiştir [191]. Buradan yola çıkılarak, BAFF molekülünün serum/plazmada ve hücre içinde farklı etkilere sahip olduğu söylenebilir. BAFF B hücre yüzeyindeki reseptörüne bağlandıktan sonra hücre içine alınmakta ve ana biyolojik işlevini hücre içinde göstermektedir. Bu bilgiler ışığında, hücre içi BAFF düzeyinin prognostik etkisinin daha belirleyici olması beklenebilir. BAFF'ın KLL hücrelerinin sağkalımını hangi mekanizmalarla koruduğu ve hücre içi apopitotik yolaklar üzerine etkisi bilinmemektedir. Cols ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, KLL mikroçevresinde bulunan mikrovasküler endotelyal hücrelerin üzerindeki CD40 ile KLL hücresi üzerinde anormal olarak ifadelenen CD40L'nin etkileşimi sonucunda bu hücrelerin BAFF ve APRIL sentezlediği gösterilmiştir. Bu hücrelerde bulunan inaktif formdaki BAFF ve APRIL, CD40L'nin neden olduğu enzimatik uyarı sonucunda, hücre içinde aktif çözünebilir forma dönüşmektedir [15]. Dolayısıyla, BAFF'ın biyolojik olarak aktif formuna ulaşabilmek, ancak hücre içi molekül düzeyinin ölçülmesiyle mümkün olabilecektir.

Kronik lenfositik lösemide plazma BAFF düzeylerinin yüksek saptandığı tek çalışma Novak ve arkadaşlarının ailesel KLL'li hastalarda yaptıkları çalışmadır [194]. Bu çalışmada ailesel KLL'si bulunan hastalarda plazma BAFF düzeyi sporadik KLL'li hastalara ve sağlıklı kontrollere göre belirgin yüksek

bulunmuştur. BAFF başlatıcı bölgesindeki polimorfizmin bu farklılığa neden olabileceği düşünülmüştür. Literatürdeki ailesel KLL ile ilgili çalışmaların birçoğunda, sporadik KLL ile karşılaştırıldığında, prognostik parametreler ve sağkalımda anlamlı farklılık saptanmazken, Setlur ve arkadaşlarının çalışmasında 11q delesyonunun sporadik, 14q anormalliklerinin ise ailesel KLL olgularında daha yüksek oranda görüldüğü saptanmıştır [195, 196].

Mamara ve arkadaşlarının 94 KLL hastası ve 19 sağlıklı kontrolü dahil ettikleri çalışmalarında, bizim bulgularımızla uyumlu olacak şekilde, TACI düzeyleri hastaların %75'inde kontrol grubuna göre belirgin düşük saptanmıştır. Buna karşın TACI ifadelenmesi ile CD38, ZAP70, IgV_h mutasyonu ve otoimmun belirtiler arasında anlamlı ilişki bulunmamış, OS üzerine de anlamlı etkisi gösterilememiştir [185]. Öte yandan, Bojarska-Junak ve arkadaşlarının 62 KLL'li hasta ve 15 sağlıklı kontrol üzerinde yaptıkları çalışmada TACI düzeylerinin hasta grubunda anlamlı düşük olduğu gösterilmiştir. Aynı zamanda TACI ifadelenmesi ile lökosit sayısı, Rai evresi, CD38 ve ZAP70 arasında negatif korelasyon saptamıştır [18]. Bizim çalışmamızda, TACI düzeylerinin diğer prognostik belirteçlerle anlamlı ilişkisi gösterilememesine karşın, CD38 (+) olan hastalarda negatif olanlara göre daha yüksek saptanmıştır. CD38 B hücresi için bir proliferasyon belirteci olarak kabul edilmektedir. CD38 pozitif hastalarda hücre proliferasyon hızının yüksek olması nedeniyle, aynı hücre grubunda proliferasyona ikincil olarak apopitozun da artması beklenebilir. CD38 (+) hastalardaki yüksek TACI düzeyleri artmış apopitozun göstergesi olabilir [114, 197].

Kyrtsonis ve arkadaşları, 73 KLL hastası ve 15 sağlıklı kontrolle yaptıkları çalışmada çözünür TACI konsantrasyonları hasta grubunda, sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldığında, anlamlı yüksek saptanmıştır [186]. Literatürde, KLL lenfositlerinde TACI ifadelenmesinin arttığını gösteren çalışmalar bulunmakla birlikte, bu çalışma KLL hastalarında yüksek TACI düzeylerinin gösterildiği tek çalışmadır [10, 12, 14]. Aynı çalışmada, TACI düzeylerinin tedavisiz izlem süresi ve Toplam Sağkalım (TSK) üzerine de anlamlı etkisinin olduğu gösterilmiştir. Serum TACI düzeyi ile B2M düzeyi arasında pozitif korelasyon saptanırken; anemi, trombositopeni, Binet evresi ve serbest hafif zincir oranı ile arasında negatif korelasyon gösterilmiştir. Çalışmamızda TACI düzeyleri ile serbest hafif zincir oranı arasında pozitif korelasyon saptanmıştır. Serbest hafif zincir oranının artmış veya azalmış olması baskın olan hafif zincirin tipiyle ilişkilidir, bu nedenle serbest hafif zincir oranıyla olan pozitif veya negatif ilişkinin klinik öneminin olmadığı söylenebilir. Buna karşın, esas olarak normal/anormal hafif zincir oranıyla gösterilecek olası bir korelasyonun prognostik açıdan önemli olabileceği düşünülebilir.

Kronik lenfositik lösemi hastalarında görülen değişken TACI ifadelenmesinin, bu reseptörün B hücre gelişim ve aktivasyonunun negatif düzenleyicisi olması göz önüne alındığında, potansiyel bir öneme sahip olduğu görülmektedir. Yapılan çalışmalarda TACI'nin aktive B lenfositlerde apopitozu tetiklediği gösterilmiştir. TACI (-) farelerde görülen B hücre sayısındaki artış SLE'yi andıran otoimmün bozukluklara neden olmuştur. Ek olarak, TACI (-) farelerde B hücreli lenfoma gelişim riskinin arttığı gösterilmiştir [152, 179, 198].

Multipl myelom hastalarında düşük TACI düzeylerinin kötü prognozla ilişkili olduğu gösterilmiştir [199]. APRIL ve BAFF gibi moleküller de TACI'ye bağlanarak hücre düzeyindeki etkilerini düzenleyebilmektedir. Kronik lenfositik lösemi hastalarındaki düşük serum TACI düzeyleri azalmış apopitoza dair bir belirteç olarak işlev görebilir. Dolaşımda bulunan lenfositler proliferasyon merkezinden uzakta, dolayısıyla düşük proliferasyon potansiyeline sahip hücrelerdir. Düşük TACI düzeyleri, yaşam-ölüm döngüsünün yavaş ve proliferasyon hızının düşük olduğu bu hücre grubunda, ikincil apopitozun da beklenen şekilde azalmış olabileceğini destekleyen bir bulgudur. Dolayısıyla, hücre içi TACI düzeyi ölçümü, bu molekülün biyolojik işleviyle ilgili daha nesnel yorumlar yapabilmemizi sağlayacaktır.

Haiat ve arkadaşlarının 52 KLL hastası ve 18 sağlıklı kontrolü dahil ettikleri çalışmalarında, bizim bulgularımıza benzer şekilde, APRIL düzeylerinin iki grup arasında farklı olmadığı gösterilmiştir [188]. Yapılan bazı çalışmalarda APRIL düzeyi KLL hastalarında kontrol grubuna kıyasla belirgin yüksek saptamış ve yüksek APRIL düzeylerinin sağkalımı olumsuz yönde etkilediğini gösterilmiştir [187], [191]. Çalışmamızda APRIL düzeylerinin hasta ve kontrol grubu arasında anlamlı farklılık göstermemesi sınırlı hasta ve kontrol sayısı ile ilişkilendirilebilir. Bununla birlikte, APRIL molekülünün KLL fizyopatolojisindeki rolü ve prognoz üzerine etkisine dair geniş ve ileriye dönük çalışmalara gereksinim vardır.

Bojarska-Junak ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada BCMA düzeyleri KLL hastalarında, çalışmamıza benzer şekilde, anlamlı düşük saptanmış,

prognostik faktörler ve sağkalım ile ilişkisi gösterilememiştir [191]. Ferrer ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise, BCMA düzeyleri KLL hastalarında anlamlı yüksek bulunmuş, buna ek olarak BCMA düzeylerinin olumsuz sitogenetik özelliklerle ilişkili ve ilerlemesiz sağkalım üzerine olumsuz etkili olduğu gösterilmiştir [51].

Çalışmamızda BAFF ve BCMA düzeyleri ile Rai evresi arasında negatif korelasyon saptanmış ve BAFF düzeylerinin modifiye Rai evresine göre düşük riskli olan grupta daha yüksek olduğu görülmüştür. Bu sonuçların daha geniş hasta grubunda, özellikle molekülün hücre içi aktif formunun ölçümüyle yapılacak çalışmalarla değer kazanacağı kanaatindeyiz.

Bu çalışmada, KLL prognoz tayininde rolü olan belirteçlerden yaş, Rai evresi, modifiye Rai evresi, ZAP70 ve ECOG performans durumunun TSK üzerine anlamlı etkisi tek değişkenli analizde doğrulanırken; yaş, Rai evresi ve modifiye Rai evresinin OS üzerine etkisinin çok değişkenli analizde de devam ettiği gösterildi [98, 200-203].

Mikroçevre ve mikroçevreye ait sinyal yolaklarının KLL patofizyolojisinde etkin bir rol oynadığı ve hastalığın biyolojik davranışı ve klinik seyri açısından belirleyici bir faktör olduğu bilinmektedir [8, 40, 81]. İn vitro ortamda KLL hücrelerini spontan apopitozdan koruyabilen ve in vivo ortamda hücre sağkalımını uzatabileceği düşünülen BAFF, APRIL ve reseptörleri BCMA, TACI ve BAFF-R KLL mikroçevresinde ve B hücre gelişiminde görev alan moleküllerdir. Terapötik hedef olarak belirlenen bu moleküllere karşı çeşitli

monoklonal antikorlar üretilmiştir. Bunlardan Belimumab (BAFF monoklonal antikoru), Atacicept (BAFF ve APRIL için bağlanma bölgeleri içeren bir rekombinant füzyon proteini) ve Blisibimod (BAFF'ın selektif antagonisti) gibi ajanların etkinliği SLE, RA ve Multipl Skleroz (MS) gibi otoimmün hastalıklarda araştırılmıştır [151, 204-206]. Belimumab'ın SLE için FDA onayı bulunurken, diğer ilaçlar henüz faz II-III çalışma aşamasındadır. Bu ajanların KLL'deki etkinliğini araştıran bir çalışma bulunmamaktadır.

Kronik lenfositik lösemi biyolojik ve klinik olarak heterojen bir hastalıktır. Bu heterojen hasta profili nedeniyle, uygulanabilirliği kolay, prognostik ve öngörücü risk değerlendirmelerine gereksinim gün geçtikçe artmaktadır. Tedavi yanıtını, tedavisiz izlem süresini, ilerlemesiz ve toplam sağkalımı öngörebilen yeni moleküllerin keşfiyle KLL patofizyolojisi aydınlatılabilecek ve hedefe yönelik yeni tedavi seçeneklerine olanak sağlanacaktır. Her geçen gün yeni prognostik belirteçler geliştirilmesine karşın, özellikle moleküler düzeyde standart kılavuzlara geçebilmiş bir prognostik değerlendirme sistemi bulunmamaktadır. Bu çalışma KLL mikroçevresinde görev alan bazı biyolojik moleküller ve bilinen prognostik belirteçler arasındaki karmaşık ilişkiye dikkat çekmektedir. Hasta ve kontrol sayısının azlığı, hasta ve kontrol grubu arasındaki yaş uyumsuzluğu çalışmanın sınırlayıcı yönleridir. Serum düzeylerinin aksine, moleküllerin aktif işlevsel formlarını değerlendirmemizi sağlayacak hücre içi düzeylerinin prognoz açısından daha belirleyici olabileceği görüşündeyiz. Her şekilde, bu moleküllerin KLL'deki olası prognostik rolünün belirlenmesi için daha geniş, randomize ve ileriye dönük çalışmalara gereksinim vardır.

6. SONUÇ

Çalışmanın sonuçları aşağıda özetlenmiştir:

1. Kronik lenfositik lösemi hastalarında serum BAFF, BCMA ve TACI düzeylerinin sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldığında anlamlı düşük olduğu gösterildi.
2. Serum TACI düzeyinin CD38 pozitif hastalarda CD38 negatif olanlara göre daha yüksek olduğu gösterildi.
3. Serum BAFF ve BCMA düzeylerinin Rai evresi ile ters ilişkili olduğu saptandı. Bununla birlikte BAFF düzeyinin modifiye Rai'a göre düşük riskli olan hastalarda daha yüksek olduğu gösterildi.
4. Yaş, Rai evresi, Modifiye Rai evresi çok değişkenli analizde sağkalım üzerine etkili belirteçler olarak tanımlandı. BAFF, BCMA, TACI ve APRIL'in sağkalım üzerine anlamlı etkilerinin olmadığı gösterildi.

7. ÖZET

Kronik Lenfositik Lösemi'de BAFF, APRIL, TACI ve BCMA Düzeylerinin Prognoz Üzerine Etkisi

B hücreli kronik lenfositik lösemi (B-KLL) çevre kanı ve kemik iliğinde $CD5^+$ B hücrelerin birikimiyle karakterizedir. Klinik seyir oldukça heterojendir. Kronik lenfositik lösemi biyolojisinde apopitoza direncin önemli rol oynadığı bilinmektedir. Erken tedavi gereksinimi olabilecek yüksek riskli hastaların belirlenmesi için yeni prognostik parametrelerin tanımlanmasına gereksinim vardır.

Tümör nekroz faktörü ailesinin iki proteini BAFF (TNFSF13B) ve APRIL (TNFSF13) ile reseptörleri BAFF-R (TNFRSF13C), TACI (TNFRSF13B) ve BCMA (TNFRSF17) normal B hücrelerinin sağkalımında kritik rol oynarlar. Bu çalışmada 129 KLL hastasında [yaş: 64(39-88); E/K: 85/44] tanı anında ölçülen serum BAFF, APRIL, TACI ve BCMA düzeylerinin KLL prognozu üzerindeki olası etkilerinin gösterilmesi amaçlandı. BAFF, TACI ve BCMA düzeyleri hasta grubunda kontrol grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı düşük tespit edilirken ($p<0.001$), APRIL düzeyi iki grup arasında farksız bulundu ($p>0.05$). BAFF [($p=0,008$; $r=-0,236$)] ve BCMA düzeyleri [($p=0,042$; $r=-0,183$)] ile Rai evresi arasında negatif korelasyon saptandı. BAFF, BCMA, TACI ve APRIL düzeyleri; κ/λ normal ve anormal olan; LDH düzeyi normal ve yüksek olan; ZAP70 pozitif ve negatif olan hastalar arasında; Rai alt grupları arasında; FISH risk grupları arasında farksız bulundu ($p>0,05$). TACI düzeyi CD38 (+) olanlarda negatif olanlara göre daha yüksek bulundu [($p=0,06$; 0,17(0,1-0,86) vs 0,13(0,1-1,07)]. BAFF düzeyi modifiye Rai evresine göre düşük riskli olanlarda daha yüksek

bulundu (p=0,059). Yaş (p=0,002), Rai evresi (p=0,005) ve Modifiye Rai evresi (p=0,051) çok değişkenli analizde sağkalım üzerine etkili faktörlerdi. BAFF, APRIL,TACI ve BCMA düzeylerinin sağkalım üzerine anlamlı etkisi saptanmadı.

BAFF, TACI, BCMA ve APRIL'in KLL prognozu üzerine etkisinin belirlenmesi için kapsamlı ve ileriye dönük çalışmalara gereksinim vardır.

Anahtar kelimeler: Kronik lenfositik lösemi; BAFF; APRIL; BCMA; TACI; Prognoz

8. SUMMARY

Prognostic Significance of Serum BAFF, APRIL, TACI and BCMA Levels in Chronic Lymphocytic Leukemia

B-cell chronic lymphocytic leukemia (B-CLL) is characterized by the accumulation of $CD5^+$ B cells in the peripheral blood and bone marrow. Chronic lymphocytic leukemia has a variable disease course based on certain prognostic parameters. A significant resistance to apoptosis is observed in leukemic cells. Novel prognostic markers and risk assessment models are needed to identify high risk patients who may need early treatment.

The two tumour necrosis factor family proteins BAFF (TNFSF13B) and APRIL (TNFSF13) and their receptors [BAFF-R (TNFRSF13C), TACI (TNFRSF13B), BCMA (TNFRSF17)] play a critical role in the survival of normal B cells. We investigated the impact of serum BCMA, TACI, BAFF and APRIL levels on prognosis in 129 newly diagnosed CLL patients [median age: 64(39-88); M/F: 85/44].

Serum BAFF, TACI and BCMA levels were significantly lower in the patient group ($p<0.001$), while serum APRIL level did not differ significantly between the patient and control groups ($p>0.05$). Serum BCMA [(p=0,029; r=0,208)] and TACI levels [(p=0,011; r=0,241)] were positively correlated with serum free light chain ratio (κ/λ). Additionally, serum BAFF [(p=0,008; r=-0,236)] and BCMA [(p=0,042; r=-0,183)] levels were negatively correlated with Rai stage. Serum TACI level was higher in CD38 positive patients [(p=0,06; 0,17(0,1-0,86) vs 0,13(0,1-1,07)]. Serum BAFF levels were higher in low-risk

patients based on modified Rai staging system (p=0,059). In multivariate analysis, age (p=0,002), Rai stage (p=0,005) and Modified Rai stage (p=0,051) were shown to have significant impact on overall survival. However, serum BAFF, APRIL, TACI and BCMA levels had no impact on survival in CLL patients.

Further large and prospective studies are essential to validate the prognostic role of these particular biomarkers in CLL.

Keywords: Chronic Lymphocytic Leukemia; BAFF; APRIL; BCMA; TACI; Prognosis

9. ÖZGEÇMİŞ

Adı : İlay

Soyadı : Berke Menteşe

Doğum Yeri ve Tarihi : Gaziantep, 25.08.1988

Eğitimi (tarih sırasına göre yeniden eskiye doğru) :

- Uzmanlık Eğitimi: Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi İç hastalıkları Anabilim Dalı (2012 - devam ediyor)
- Üniversite: Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi (ingilizce) (2006 - 2012)
- Ortaöğrenim: Ankara Atatürk Anadolu Lisesi (2002 - 2006)

Yabancı Dili : İngilizce (ileri), fransızca (başlangıç)

Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar: -

Bilimsel Etkinlikleri (aldığı burslar, ödüller, projeleri, yayınları)

- Ozcebe H, Attila S, *Berke I*, Batur H, Buyukkupcu EG, Bektas H, Buyukasik C. *Health Promoting Behaviors and the Expectations for the Environment of the Hospital Administrative Staff.* TAF Prev Med Bull. 2012; 11(6): 707-716. Turkish. doi:10.5455/pmb.1-1328108727
- *Berke İ*, Sucak G, Acar K, İbiş M. *Bortezomib ilişkili Fulminan Hepatit; Hepatit B Endemik Bölgelerde Potansiyel Bir Problem.* Poster bildirisi, 17. Ulusal İç Hastalıkları Kongresi, 2015, PS-303.

- Karaca M, Tural D, Bilgetekin İ, *Berke İ*, Özet A. *Mide Kanserinde Verilen Adjuvan Kemoterapinin Yaşlı Hasta Populasyonunda Etkinliği*. Poster bildirisi. 3. Ulusal İmmüno-Onkoloji Kongresi.
- Karaca M, Tural D, Kocoglu H, Bilgetekin İ, Şahinli H, Yılmaz M, *Berke İ*, Yücel OK, Fetullahoglu Z. *Solid Tümörlü Hastalarda Hepatit B ve C Enfeksiyonu Sıklığı ve SitotoksikKemoterapiye Bağlı Hepatit Reaktivasyon Oranı.* Poster bildirisi. 3. Ulusal İmmüno-Onkoloji Kongresi.

10. KAYNAKÇA

1. Swerdlow, S.H., *WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues*. 2008, Lyon: International Agency for Research on Cancer.
2. Hallek, M., *Chronic lymphocytic leukemia: 2015 Update on diagnosis, risk stratification, and treatment.* Am J Hematol, 2015. **90**(5): p. 446-60.
3. Hallek, M., et al., *Guidelines for the diagnosis and treatment of chronic lymphocytic leukemia: a report from the International Workshop on Chronic Lymphocytic Leukemia updating the National Cancer Institute-Working Group 1996 guidelines.* Blood, 2008. **111**(12): p. 5446-56.
4. Cramer, P. and M. Hallek, *Prognostic factors in chronic lymphocytic leukemia-what do we need to know?* Nat Rev Clin Oncol, 2011. **8**(1): p. 38-47.
5. Aydin, S., et al., *CD38 gene polymorphism and chronic lymphocytic leukemia: a role in transformation to Richter syndrome?* Blood, 2008. **111**(12): p. 5646-53.
6. Kharfan-Dabaja, M.A., et al., *Clinical and therapeutic implications of the mutational status of IgVH in patients with chronic lymphocytic leukemia.* Cancer, 2008. **113**(5): p. 897-906.
7. Dohner, H., 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): p. 2516-22.
8. Burger, J.A., *Nurture versus nature: the microenvironment in chronic lymphocytic leukemia.* Hematology Am Soc Hematol Educ Program, 2011. **2011**: p. 96-103.
9. Theodorou, M., et al., *Identification of a STAT5 target gene, Dpf3, provides novel insights in chronic lymphocytic leukemia.* PLoS One, 2013. **8**(10): p. e76155.
10. Novak, A.J., et al., *Aberrant expression of B-lymphocyte stimulator by B chronic lymphocytic leukemia cells: a mechanism for survival.* Blood, 2002. **100**(8): p. 2973-9.
11. He, B., et al., *Lymphoma B cells evade apoptosis through the TNF family members BAFF/BLyS and APRIL.* J Immunol, 2004. **172**(5): p. 3268-79.
12. Kern, C., et al., *Involvement of BAFF and APRIL in the resistance to apoptosis of B-CLL through an autocrine pathway.* Blood, 2004. **103**(2): p. 679-88.
13. Nishio, M., et al., *Nurselike cells express BAFF and APRIL, which can promote survival of chronic lymphocytic leukemia cells via a paracrine pathway distinct from that of SDF-1alpha.* Blood, 2005. **106**(3): p. 1012-20.
14. Endo, T., et al., *BAFF and APRIL support chronic lymphocytic leukemia B-cell survival through activation of the canonical NF-kappaB pathway.* Blood, 2007. **109**(2): p. 703-10.
15. Cols, M., et al., *Stromal endothelial cells establish a bidirectional crosstalk with chronic lymphocytic leukemia cells through the TNF-*

related factors BAFF, APRIL, and CD40L. J Immunol, 2012. **188**(12): p. 6071-83.
16. Yu, G., et al., *APRIL and TALL-I and receptors BCMA and TACI: system for regulating humoral immunity.* Nat Immunol, 2000. **1**(3): p. 252-6.
17. Ng, L.G., et al., *B cell-activating factor belonging to the TNF family (BAFF)-R is the principal BAFF receptor facilitating BAFF costimulation of circulating T and B cells.* J Immunol, 2004. **173**(2): p. 807-17.
18. Bojarska-Junak, A., et al., *The role of TACI expression in chronic lymphocytic leukemia.* Central European Journal of Immunology, 2011. **36**(1): p. 46-50.
19. Briones, J., et al., *BLyS and BLyS receptor expression in non-Hodgkin's lymphoma.* Exp Hematol, 2002. **30**(2): p. 135-41.
20. Mihalcik, S.A., R.C. Tschumper, and D.F. Jelinek, *Transcriptional and post-transcriptional mechanisms of BAFF-receptor dysregulation in human B lineage malignancies.* Cell Cycle, 2010. **9**(24): p. 4884-92.
21. Fairfax, K., I.R. Mackay, and F. Mackay, *BAFF/BLyS inhibitors: A new prospect for treatment of systemic lupus erythematosus.* IUBMB Life, 2012. **64**(7): p. 595-602.
22. Kim, S.S., K.A. Kirou, and D. Erkan, *Belimumab in systemic lupus erythematosus: an update for clinicians.* Therapeutic Advances in Chronic Disease, 2012. **3**(1): p. 11-23.
23. Kofler, D.M., et al., *Phase 1b trial of atacicept, a recombinant protein binding BLyS and APRIL, in patients with chronic lymphocytic leukemia.* Leukemia, 2012. **26**(4): p. 841-4.
24. Ansell, S.M., et al., *Phase I clinical study of atacicept in patients with relapsed and refractory B-cell non-Hodgkin's lymphoma.* Clin Cancer Res, 2008. **14**(4): p. 1105-10.
25. Guadagnoli, M., et al., *Development and characterization of APRIL antagonistic monoclonal antibodies for treatment of B-cell lymphomas.* Blood, 2011. **117**(25): p. 6856-65.
26. Hoffbrand, A.V., D. Catovsky, and E.G.D. Tuddenham, *Postgraduate haematology*. 5th ed. ed. 2005, Oxford: Blackwell.
27. Delves, P.J. and I.M. Roitt, *The Immune System.* New England Journal of Medicine, 2000. **343**(2): p. 108-117.
28. Kaushansky, K., M.A. Lichtman, and J. Prchal, *Williams hematology*. Ninth edition. ed. 2016, New York ; London: McGraw Hill Education. xxi, 2505 pages.
29. Delves, P.J. and I.M. Roitt, *The Immune System.* New England Journal of Medicine, 2000. **343**(1): p. 37-49.
30. Mesquita Júnior, D., et al., *Sistema imunitário - parte II: fundamentos da resposta imunológica mediada por linfócitos T e B.* Revista Brasileira de Reumatologia, 2010. **50**: p. 552-580.
31. Tavian, M. and B. Peault, *Embryonic development of the human hematopoietic system.* Int J Dev Biol, 2005. **49**(2-3): p. 243-50.
32. Melchers, F., *Checkpoints that control B cell development.* The Journal of Clinical Investigation, 2015. **125**(6): p. 2203-2210.

33. Levinson, W., *Review of medical microbiology and immunology*. Thirteenth edition. ed. 2014, New York ; London: McGraw-Hill Medical. ix, 789 pages.
34. Pieper, K., B. Grimbacher, and H. Eibel, *B-cell biology and development.* Journal of Allergy and Clinical Immunology. **131**(4): p. 959-971.
35. Carsetti, R., M.M. Rosado, and H. Wardmann, *Peripheral development of B cells in mouse and man.* Immunological Reviews, 2004. **197**(1): p. 179-191.
36. Kurosaki, T., H. Shinohara, and Y. Baba, *B Cell Signaling and Fate Decision.* Annual Review of Immunology, 2010. **28**(1): p. 21-55.
37. Mohamed, A.J., et al., *Bruton's tyrosine kinase (Btk): function, regulation, and transformation with special emphasis on the PH domain.* Immunological Reviews, 2009. **228**(1): p. 58-73.
38. Byrd, J.C., et al., *Targeting BTK with ibrutinib in relapsed chronic lymphocytic leukemia.* N Engl J Med, 2013. **369**(1): p. 32-42.
39. LeBien, T.W. and T.F. Tedder, *B lymphocytes: how they develop and function.* Blood, 2008. **112**(5): p. 1570.
40. Chiorazzi, N. and M. Ferrarini, *Cellular origin(s) of chronic lymphocytic leukemia: cautionary notes and additional considerations and possibilities.* Blood, 2011. **117**(6): p. 1781-91.
41. Craxton, A., et al., *Macrophage- and dendritic cell--dependent regulation of human B-cell proliferation requires the TNF family ligand BAFF.* Blood, 2003. **101**(11): p. 4464-71.
42. Greer, J.P. and M.M. Wintrobe, *Wintrobe's clinical hematology*. 12th ed. / editors, John P. Greer ... [et al.]. ed. 2009, Philadelphia ; London: Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins.
43. Stadanlick, J.E. and M.P. Cancro, *BAFF and the plasticity of peripheral B cell tolerance.* Current opinion in immunology, 2008. **20**(2): p. 158-161.
44. Chiorazzi, N., K.R. Rai, and M. Ferrarini, *Chronic lymphocytic leukemia.* N Engl J Med, 2005. **352**(8): p. 804-15.
45. Fabbri, G. and R. Dalla-Favera, *The molecular pathogenesis of chronic lymphocytic leukaemia.* Nat Rev Cancer, 2016. **16**(3): p. 145-62.
46. Pierce, S.K. and W. Liu, *The tipping points in the initiation of B cell signalling: how small changes make big differences.* Nat Rev Immunol, 2010. **10**(11): p. 767-77.
47. *B-cell antigen receptor competence regulates B-lymphocyte selection and survival.* Immunological Reviews, 2000. **176**(1): p. 141-153.
48. Übelhart, R. and H. Jumaa, *Autoreactivity and the positive selection of B cells.* European Journal of Immunology, 2015. **45**(11): p. 2971-2977.
49. Treanor, B., *B-cell receptor: from resting state to activate.* Immunology, 2012. **136**(1): p. 21-27.
50. Harwood, N.E. and F.D. Batista, *New Insights into the Early Molecular Events Underlying B Cell Activation.* Immunity. **28**(5): p. 609-619.
51. Ferrer, G., et al., *B cell activation through CD40 and IL4R ligation modulates the response of chronic lymphocytic leukaemia cells to BAFF and APRIL.* Br J Haematol, 2014. **164**(4): p. 570-8.

52. Cartwright, R.A., K.A. Gurney, and A.V. Moorman, *Sex ratios and the risks of haematological malignancies.* Br J Haematol, 2002. **118**(4): p. 1071-7.
53. Adami, H.O., et al., *Pregnancy and risk of non-Hodgkin's lymphoma: a prospective study.* Int J Cancer, 1997. **70**(2): p. 155-8.
54. Diehl, L.F., L.H. Karnell, and H.R. Menck, *The American College of Surgeons Commission on Cancer and the American Cancer Society. The National Cancer Data Base report on age, gender, treatment, and outcomes of patients with chronic lymphocytic leukemia.* Cancer, 1999. **86**(12): p. 2684-92.
55. Ahn, Y.O., et al., *Incidence estimation of leukemia among Koreans.* J Korean Med Sci, 1991. **6**(4): p. 299-307.
56. Susan O'Brien, J.G.G., *Chronic Lymphocytic Leukemia.* 2008.
57. Baliakas, P., et al., *Prognostic indices in chronic lymphocytic leukaemia: where do we stand how do we proceed?* Journal of Internal Medicine, 2016. **279**(4): p. 347-357.
58. Rai, K.R., et al., *Clinical staging of chronic lymphocytic leukemia.* Blood, 1975. **46**(2): p. 219-34.
59. Binet, J.L., et al., *A clinical staging system for chronic lymphocytic leukemia: prognostic significance.* Cancer, 1977. **40**(2): p. 855-64.
60. Ciszak, L., et al., *CTLA-4 affects expression of key cell cycle regulators of G0/G1 phase in neoplastic lymphocytes from patients with chronic lymphocytic leukaemia.* Clin Exp Med, 2016. **16**(3): p. 317-32.
61. Caporaso, N., G.E. Marti, and L. Goldin, *Perspectives on familial chronic lymphocytic leukemia: genes and the environment.* Semin Hematol, 2004. **41**(3): p. 201-6.
62. Cerhan, J.R. and S.L. Slager, *Familial predisposition and genetic risk factors for lymphoma.* Blood, 2015. **126**(20): p. 2265.
63. Goldin, L.R., et al., *Elevated risk of chronic lymphocytic leukemia and other indolent non-Hodgkin's lymphomas among relatives of patients with chronic lymphocytic leukemia.* Haematologica, 2009. **94**(5): p. 647-53.
64. Wang, S.S., et al., *Family history of hematopoietic malignancies and risk of non-Hodgkin lymphoma (NHL): a pooled analysis of 10 211 cases and 11 905 controls from the International Lymphoma Epidemiology Consortium (InterLymph).* Blood, 2007. **109**(8): p. 3479-88.
65. Floderus, B., et al., *Occupational exposure to electromagnetic fields in relation to leukemia and brain tumors: a case-control study in Sweden.* Cancer Causes Control, 1993. **4**(5): p. 465-76.
66. Richardson, D.B., et al., *Ionizing radiation and chronic lymphocytic leukemia.* Environ Health Perspect, 2005. **113**(1): p. 1-5.
67. Landgren, O., et al., *Patterns of autoimmunity and subsequent chronic lymphocytic leukemia in Nordic countries.* Blood, 2006. **108**(1): p. 292-6.
68. Landgren, O., et al., *Respiratory tract infections and subsequent risk of chronic lymphocytic leukemia.* Blood, 2007. **109**(5): p. 2198-201.
69. Rawstron, A.C., et al., *Monoclonal B-cell lymphocytosis and chronic lymphocytic leukemia.* N Engl J Med, 2008. **359**(6): p. 575-83.

70. Strati, P. and T.D. Shanafelt, *Monoclonal B-cell lymphocytosis and early-stage chronic lymphocytic leukemia: diagnosis, natural history, and risk stratification.* Blood, 2015. **126**(4): p. 454-62.
71. Shanafelt, T.D., et al., *Monoclonal B-cell Lymphocytosis (MBL): Biology, Natural History, and Clinical Management.* Leukemia, 2010. **24**(3): p. 512-520.
72. Kristinsson, S.Y., et al., *Risk of lymphoproliferative disorders among first-degree relatives of lymphoplasmacytic lymphoma/Waldenstrom macroglobulinemia patients: a population-based study in Sweden.* Blood, 2008. **112**(8): p. 3052-6.
73. Raval, A., et al., *Downregulation of death-associated protein kinase 1 (DAPK1) in chronic lymphocytic leukemia.* Cell, 2007. **129**(5): p. 879-90.
74. Perez-Chacon, G., et al., *Polymorphism in the CD5 gene promoter in B-cell chronic lymphocytic leukemia and mantle cell lymphoma.* Am J Clin Pathol, 2005. **123**(5): p. 646-50.
75. Jevtovic-Stoimenov, T., et al., *Polymorphisms of tumor-necrosis factor-alpha - 308 and lymphotoxin-alpha + 250: possible modulation of susceptibility to apoptosis in chronic lymphocytic leukemia and non-Hodgkin lymphoma mononuclear cells.* Leuk Lymphoma, 2008. **49**(11): p. 2163-9.
76. Sellick, G.S., et al., *A high-density SNP genome-wide linkage search of 206 families identifies susceptibility loci for chronic lymphocytic leukemia.* Blood, 2007. **110**(9): p. 3326-33.
77. Karp, M. and K. Giannopoulos, *Antigen stimulation in the development of chronic lymphocytic leukemia.* Postepy Hig Med Dosw (Online), 2013. **67**: p. 1204-13.
78. Liu, Z., et al., *STAT-3 activates NF-kappaB in chronic lymphocytic leukemia cells.* Mol Cancer Res, 2011. **9**(4): p. 507-15.
79. Awan, F.T., et al., *Mcl-1 expression predicts progression-free survival in chronic lymphocytic leukemia patients treated with pentostatin, cyclophosphamide, and rituximab.* Blood, 2009. **113**(3): p. 535-7.
80. Burger, J.A., et al., *Blood-derived nurse-like cells protect chronic lymphocytic leukemia B cells from spontaneous apoptosis through stromal cell-derived factor-1.* Blood, 2000. **96**(8): p. 2655-63.
81. Herishanu, Y., et al., *The lymph node microenvironment promotes B-cell receptor signaling, NF-kappaB activation, and tumor proliferation in chronic lymphocytic leukemia.* Blood, 2011. **117**(2): p. 563-74.
82. Herishanu, Y., et al., *Biology of chronic lymphocytic leukemia in different microenvironments: clinical and therapeutic implications.* Hematol Oncol Clin North Am, 2013. **27**(2): p. 173-206.
83. Messmer, B.T., et al., *In vivo measurements document the dynamic cellular kinetics of chronic lymphocytic leukemia B cells.* J Clin Invest, 2005. **115**(3): p. 755-64.
84. Riches, J.C. and J.G. Gribben, *Immunomodulation and immune reconstitution in chronic lymphocytic leukemia.* Semin Hematol, 2014. **51**(3): p. 228-34.

85. D'Arena, G., et al., *A shorter time to the first treatment may be predicted by the absolute number of regulatory T-cells in patients with Rai stage 0 chronic lymphocytic leukemia.* Am J Hematol, 2012. **87**(6): p. 628-31.
86. Huergo-Zapico, L., et al., *Expansion of NK cells and reduction of NKG2D expression in chronic lymphocytic leukemia. Correlation with progressive disease.* PLoS One, 2014. **9**(10): p. e108326.
87. Riches, J.C., et al., *T cells from CLL patients exhibit features of T-cell exhaustion but retain capacity for cytokine production.* Blood, 2013. **121**(9): p. 1612-21.
88. Jitschin, R., et al., *CLL-cells induce IDOhi CD14+HLA-DRlo myeloid-derived suppressor cells that inhibit T-cell responses and promote TRegs.* Blood, 2014. **124**(5): p. 750-60.
89. Hermouet, S., et al., *Qualitative and quantitative analysis of human herpesviruses in chronic and acute B cell lymphocytic leukemia and in multiple myeloma.* Leukemia, 2003. **17**(1): p. 185-95.
90. Herman, S.E., et al., *Ibrutinib inhibits BCR and NF-kappaB signaling and reduces tumor proliferation in tissue-resident cells of patients with CLL.* Blood, 2014. **123**(21): p. 3286-95.
91. Duhren-von Minden, M., et al., *Chronic lymphocytic leukaemia is driven by antigen-independent cell-autonomous signalling.* Nature, 2012. **489**(7415): p. 309-12.
92. Stevenson, F.K., et al., *B-cell receptor signaling in chronic lymphocytic leukemia.* Blood, 2011. **118**(16): p. 4313-20.
93. Chiorazzi, N. and D.G. Efremov, *Chronic lymphocytic leukemia: a tale of one or two signals?* Cell Res, 2013. **23**(2): p. 182-5.
94. Burger, J.A., *Bruton's Tyrosine Kinase (BTK) Inhibitors in Clinical Trials.* Current Hematologic Malignancy Reports, 2014. **9**(1): p. 44-49.
95. Sinha, S., et al., *Targeted Axl Inhibition Primes Chronic Lymphocytic Leukemia B Cells to Apoptosis and Shows Synergistic/Additive Effects in Combination with BTK Inhibitors.* Clinical Cancer Research, 2015. **21**(9): p. 2115.
96. Hoellenriegel, J., et al., *Selective, novel spleen tyrosine kinase (Syk) inhibitors suppress chronic lymphocytic leukemia B-cell activation and migration.* Leukemia, 2012. **26**(7): p. 1576-1583.
97. Brown, J.R., et al., *Phase I Trial of the Pan-PI3K Inhibitor Pilaralisib (SAR245408/XL147) in Patients with Chronic Lymphocytic Leukemia (CLL) or Relapsed/Refractory Lymphoma.* Clinical Cancer Research, 2015. **21**(14): p. 3160.
98. Rai, K.R. and P. Jain, *Chronic lymphocytic leukemia (CLL)—Then and now.* American Journal of Hematology, 2016. **91**(3): p. 330-340.
99. Hus, I. and J. Rolinski, *Current concepts in diagnosis and treatment of chronic lymphocytic leukemia.* Contemp Oncol (Pozn), 2015. **19**(5): p. 361-7.
100. Swerdlow, S.H., et al., *The 2016 revision of the World Health Organization classification of lymphoid neoplasms.* Blood, 2016. **127**(20): p. 2375-90.

101. Shahjahani, M., et al., *Molecular basis of chronic lymphocytic leukemia diagnosis and prognosis.* Cell Oncol (Dordr), 2015. **38**(2): p. 93-109.
102. Melo, J.V., et al., *The relationship between chronic lymphocytic leukaemia and prolymphocytic leukaemia. IV. Analysis of survival and prognostic features.* Br J Haematol, 1987. **65**(1): p. 23-9.
103. Marti, G.E., et al., *Diagnostic criteria for monoclonal B-cell lymphocytosis.* Br J Haematol, 2005. **130**(3): p. 325-32.
104. Rawstron, A.C., et al., *Different biology and clinical outcome according to the absolute numbers of clonal B-cells in monoclonal B-cell lymphocytosis (MBL).* Cytometry Part B: Clinical Cytometry, 2010. **78B**(S1): p. S19-S23.
105. http://www.stepwards.com/misc/chronic-lymphocytic-leukemia-cll/, *CLL smudge cell image.*
106. Jovanovic, D., et al., *Possible role of CD22, CD79b and CD20 expression in distinguishing small lymphocytic lymphoma from chronic lymphocytic leukemia.* Contemp Oncol (Pozn), 2014. **18**(1): p. 29-33.
107. Marquez, M.E., et al., *Bone marrow stromal mesenchymal cells induce down regulation of CD20 expression on B-CLL: implications for rituximab resistance in CLL.* Br J Haematol, 2015. **169**(2): p. 211-8.
108. Jurisic, V., et al., *Analysis of CD23 antigen expression in B-chronic lymphocytic leukaemia and its correlation with clinical parameters.* Med Oncol, 2008. **25**(3): p. 315-22.
109. Grever, M.R., et al., *Comprehensive assessment of genetic and molecular features predicting outcome in patients with chronic lymphocytic leukemia: results from the US Intergroup Phase III Trial E2997.* J Clin Oncol, 2007. **25**(7): p. 799-804.
110. Lozanski, G., et al., *Alemtuzumab is an effective therapy for chronic lymphocytic leukemia with p53 mutations and deletions.* Blood, 2004. **103**(9): p. 3278-81.
111. Thorselius, M., et al., *Strikingly homologous immunoglobulin gene rearrangements and poor outcome in VH3-21-using chronic lymphocytic leukemia patients independent of geographic origin and mutational status.* Blood, 2006. **107**(7): p. 2889-94.
112. Orchard, J.A., et al., *ZAP-70 expression and prognosis in chronic lymphocytic leukaemia.* Lancet, 2004. **363**(9403): p. 105-11.
113. Kaplan, D., et al., *Prognostic information and biological insights in chronic lymphocytic leukemia by high-resolution immunophenotypic analysis of ZAP70.* Cytometry A, 2014. **85**(9): p. 798-808.
114. Malavasi, F., et al., *CD38 and chronic lymphocytic leukemia: a decade later.* Blood, 2011. **118**(13): p. 3470-8.
115. Byrd, J.C., et al., *Select high-risk genetic features predict earlier progression following chemoimmunotherapy with fludarabine and rituximab in chronic lymphocytic leukemia: justification for risk-adapted therapy.* J Clin Oncol, 2006. **24**(3): p. 437-43.
116. Moreno, C. and E. Montserrat, *New prognostic markers in chronic lymphocytic leukemia.* Blood Rev, 2008. **22**(4): p. 211-9.

117. Montillo, M., et al., *Chronic lymphocytic leukemia: novel prognostic factors and their relevance for risk-adapted therapeutic strategies.* Haematologica, 2005. **90**(3): p. 391-9.
118. Wierda, W.G., et al., *Prognostic nomogram and index for overall survival in previously untreated patients with chronic lymphocytic leukemia.* Blood, 2007. **109**(11): p. 4679-85.
119. Konoplev, S.N., et al., *High serum thymidine kinase 1 level predicts poorer survival in patients with chronic lymphocytic leukemia.* Am J Clin Pathol, 2010. **134**(3): p. 472-7.
120. Binet, J.L., et al., *A new prognostic classification of chronic lymphocytic leukemia derived from a multivariate survival analysis.* Cancer, 1981. **48**(1): p. 198-206.
121. Krober, A., et al., *V(H) mutation status, CD38 expression level, genomic aberrations, and survival in chronic lymphocytic leukemia.* Blood, 2002. **100**(4): p. 1410-6.
122. Gattei, V., et al., *Relevance of CD49d protein expression as overall survival and progressive disease prognosticator in chronic lymphocytic leukemia.* Blood, 2008. **111**(2): p. 865-73.
123. Braggio, E., et al., *Longitudinal genome-wide analysis of patients with chronic lymphocytic leukemia reveals complex evolution of clonal architecture at disease progression and at the time of relapse.* Leukemia, 2012. **26**(7): p. 1698-701.
124. Wierda, W.G., et al., *Multivariable model for time to first treatment in patients with chronic lymphocytic leukemia.* J Clin Oncol, 2011. **29**(31): p. 4088-95.
125. Pflug, N., et al., *Development of a comprehensive prognostic index for patients with chronic lymphocytic leukemia.* Blood, 2014. **124**(1): p. 49-62.
126. International, C.L.L.I.P.I.w.g., *An international prognostic index for patients with chronic lymphocytic leukaemia (CLL-IPI): a meta-analysis of individual patient data.* Lancet Oncol, 2016. **17**(6): p. 779-90.
127. Malek, S., *Molecular biomarkers in chronic lymphocytic leukemia.* Adv Exp Med Biol, 2013. **792**: p. 193-214.
128. Bullrich, F., et al., *Characterization of the 13q14 tumor suppressor locus in CLL: identification of ALT1, an alternative splice variant of the LEU2 gene.* Cancer Res, 2001. **61**(18): p. 6640-8.
129. Mott, J.L., et al., *mir-29 regulates Mcl-1 protein expression and apoptosis.* Oncogene, 2007. **26**(42): p. 6133-40.
130. Yeh, C.H., R. Moles, and C. Nicot, *Clinical significance of microRNAs in chronic and acute human leukemia.* Mol Cancer, 2016. **15**(1): p. 37.
131. Mraz, M., et al., *miR-150 influences B-cell receptor signaling in chronic lymphocytic leukemia by regulating expression of GAB1 and FOXP1.* Blood, 2014. **124**(1): p. 84-95.
132. Palacios, F., et al., *Activation of the PI3K/AKT pathway by microRNA-22 results in CLL B-cell proliferation.* Leukemia, 2015. **29**(1): p. 115-125.
133. Quijano, S., et al., *Association between the proliferative rate of neoplastic B cells, their maturation stage, and underlying cytogenetic abnormalities*

in B-cell chronic lymphoproliferative disorders: analysis of a series of 432 patients. Blood, 2008. **111**(10): p. 5130-41.
134. Quijano, S., et al., *Impact of trisomy 12, del(13q), del(17p), and del(11q) on the immunophenotype, DNA ploidy status, and proliferative rate of leukemic B-cells in chronic lymphocytic leukemia.* Cytometry B Clin Cytom, 2008. **74**(3): p. 139-49.
135. Hjalmar, V., R. Hast, and E. Kimby, *Cell surface expression of CD25, CD54, and CD95 on B- and T-cells in chronic lymphocytic leukaemia in relation to trisomy 12, atypical morphology and clinical course.* Eur J Haematol, 2002. **68**(3): p. 127-34.
136. Chen, C. and S. Puvvada, *Prognostic Factors for Chronic Lymphocytic Leukemia.* Curr Hematol Malig Rep, 2016. **11**(1): p. 37-42.
137. Guarini, A., et al., *ATM gene alterations in chronic lymphocytic leukemia patients induce a distinct gene expression profile and predict disease progression.* Haematologica, 2012. **97**(1): p. 47-55.
138. Rodríguez, D., et al., *Molecular pathogenesis of CLL and its evolution.* International Journal of Hematology, 2015. **101**(3): p. 219-228.
139. Bixby, D., et al., *The pre-clinical development of MDM2 inhibitors in chronic lymphocytic leukemia uncovers a central role for p53 status in sensitivity to MDM2 inhibitor-mediated apoptosis.* Cell Cycle, 2008. **7**(8): p. 971-9.
140. Sellmann, L., et al., *p53 protein expression in chronic lymphocytic leukemia.* Leuk Lymphoma, 2012. **53**(7): p. 1282-8.
141. Stephens, D.M., et al., *Impact of targeted therapy on outcome of chronic lymphocytic leukemia patients with relapsed del(17p13.1) karyotype at a single center.* Leukemia, 2014. **28**(6): p. 1365-8.
142. Cuneo, A., et al., *Chronic lymphocytic leukemia with 6q- shows distinct hematological features and intermediate prognosis.* Leukemia, 2004. **18**(3): p. 476-83.
143. Berkova, A., et al., *Combined molecular biological and molecular cytogenetic analysis of genomic changes in 146 patients with B-cell chronic lymphocytic leukemia.* Neoplasma, 2008. **55**(5): p. 400-8.
144. ten Hacken, E. and J.A. Burger, *Molecular pathways: targeting the microenvironment in chronic lymphocytic leukemia--focus on the B-cell receptor.* Clin Cancer Res, 2014. **20**(3): p. 548-56.
145. Nicoletti, A.M., et al., *Unexpected Potency Differences between B-Cell-Activating Factor (BAFF) Antagonist Antibodies against Various Forms of BAFF: Trimer, 60-Mer, and Membrane-Bound.* J Pharmacol Exp Ther, 2016. **359**(1): p. 37-44.
146. Lascano, V., et al., *Chronic lymphocytic leukemia disease progression is accelerated by APRIL-TACI interaction in the TCL1 transgenic mouse model.* Blood, 2013. **122**(24): p. 3960-3.
147. Li, Y.J., et al., *High APRIL but not BAFF serum levels are associated with poor outcome in patients with follicular lymphoma.* Ann Hematol, 2015. **94**(1): p. 79-88.
148. Brkic, Z., et al., *The interferon type I signature is present in systemic sclerosis before overt fibrosis and might contribute to its pathogenesis*

through high BAFF gene expression and high collagen synthesis. Annals of the Rheumatic Diseases, 2016. **75**(8): p. 1567-1573.
149. Matsushita, T., et al., *Elevated serum BAFF levels in patients with systemic sclerosis: Enhanced BAFF signaling in systemic sclerosis B lymphocytes.* Arthritis & Rheumatism, 2006. **54**(1): p. 192-201.
150. Moreaux, J., et al., *BAFF and APRIL protect myeloma cells from apoptosis induced by interleukin 6 deprivation and dexamethasone.* Blood, 2004. **103**(8): p. 3148.
151. Zhang, Y., et al., *Effect of TACI signaling on humoral immunity and autoimmune diseases.* J Immunol Res, 2015. **2015**: p. 247426.
152. Seshasayee, D., et al., *Loss of TACI causes fatal lymphoproliferation and autoimmunity, establishing TACI as an inhibitory BLyS receptor.* Immunity, 2003. **18**(2): p. 279-88.
153. Emmerich, F., et al., *High-level serum B-cell activating factor and promoter polymorphisms in patients with idiopathic thrombocytopenic purpura.* British Journal of Haematology, 2007. **136**(2): p. 309-314.
154. Hendriks, J., et al., *Heparan sulfate proteoglycan binding promotes APRIL-induced tumor cell proliferation.* Cell Death Differ, 2005. **12**(6): p. 637-48.
155. van Attekum, M., et al., *Macrophage-mediated chronic lymphocytic leukemia cell survival is independent of APRIL signaling.* Cell Death Discov, 2016. **2**: p. 16020.
156. Belnoue, E., et al., *APRIL is critical for plasmablast survival in the bone marrow and poorly expressed by early-life bone marrow stromal cells.* Blood, 2008. **111**(5): p. 2755-64.
157. Pradet-Balade, B., et al., *An endogenous hybrid mRNA encodes TWE-PRIL, a functional cell surface TWEAK-APRIL fusion protein.* EMBO J, 2002. **21**(21): p. 5711-20.
158. Mhawech-Fauceglia, P., et al., *Role of the tumour necrosis family ligand APRIL in solid tumour development: Retrospective studies in bladder, ovarian and head and neck carcinomas.* European Journal of Cancer. **44**(15): p. 2097-2100.
159. Hahne, M., et al., *APRIL, a new ligand of the tumor necrosis factor family, stimulates tumor cell growth.* J Exp Med, 1998. **188**(6): p. 1185-90.
160. Lee, C., et al., *High expression of APRIL correlates with poor prognosis in clear cell renal cell carcinoma.* Pathology - Research and Practice, 2015. **211**(11): p. 824-828.
161. Qian, Z., et al., *High Expression of TNFSF13 in Tumor Cells and Fibroblasts Is Associated With Poor Prognosis in Non–Small Cell Lung Cancer.* American Journal of Clinical Pathology, 2014. **141**(2): p. 226.
162. Wang, G., et al., *APRIL Induces Tumorigenesis and Metastasis of Colorectal Cancer Cells via Activation of the PI3K/Akt Pathway.* PLOS ONE, 2013. **8**(1): p. e55298.
163. García-Castro, A., et al., *APRIL promotes breast tumor growth and metastasis and is associated with aggressive basal breast cancer.* Carcinogenesis, 2015. **36**(5): p. 574-584.

164. Wang, F., et al., *Serum APRIL, a potential tumor marker in pancreatic cancer*, in *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*. 2011. p. 1715.
165. Planelles, L., et al., *APRIL promotes B-1 cell-associated neoplasm.* Cancer Cell. **6**(4): p. 399-408.
166. Sakurai, D., et al., *TACI attenuates antibody production costimulated by BAFF-R and CD40.* Eur J Immunol, 2007. **37**(1): p. 110-8.
167. Tsuji, S., et al., *TACI deficiency enhances antibody avidity and clearance of an intestinal pathogen.* J Clin Invest, 2014. **124**(11): p. 4857-66.
168. Tsuji, S., et al., *TACI deficiency impairs sustained Blimp-1 expression in B cells decreasing long-lived plasma cells in the bone marrow.* Blood, 2011. **118**(22): p. 5832-9.
169. Ou, X., S. Xu, and K.P. Lam, *Deficiency in TNFRSF13B (TACI) expands T-follicular helper and germinal center B cells via increased ICOS-ligand expression but impairs plasma cell survival.* Proc Natl Acad Sci U S A, 2012. **109**(38): p. 15401-6.
170. Coquery, C.M. and L.D. Erickson, *Regulatory roles of the tumor necrosis factor receptor BCMA.* Crit Rev Immunol, 2012. **32**(4): p. 287-305.
171. Chiu, A., et al., *Hodgkin lymphoma cells express TACI and BCMA receptors and generate survival and proliferation signals in response to BAFF and APRIL.* Blood, 2007. **109**(2): p. 729.
172. Oden, F., et al., *Potent anti-tumor response by targeting B cell maturation antigen (BCMA) in a mouse model of multiple myeloma.* Molecular Oncology. **9**(7): p. 1348-1358.
173. Sanchez, E., et al., *Soluble B-Cell Maturation Antigen Mediates Tumor-Induced Immune Deficiency in Multiple Myeloma.* Clinical Cancer Research, 2016. **22**(13): p. 3383.
174. Salazar-Camarena, D.C., et al., *Association of BAFF, APRIL serum levels, BAFF-R, TACI and BCMA expression on peripheral B-cell subsets with clinical manifestations in systemic lupus erythematosus.* Lupus, 2015. **25**(6): p. 582-592.
175. Nagatani, K., et al., *Rheumatoid arthritis fibroblast-like synoviocytes express BCMA and are stimulated by APRIL.* Arthritis & Rheumatism, 2007. **56**(11): p. 3554-3563.
176. Dou, H., et al., *APRIL, BCMA and TACI proteins are abnormally expressed in non-small cell lung cancer.* Oncology Letters, 2016. **12**(5): p. 3351-3355.
177. Ferrer, G., et al., *B cell activator factor and a proliferation-inducing ligand at the cross-road of chronic lymphocytic leukemia and autoimmunity.* Leukemia & Lymphoma, 2009. **50**(7): p. 1075-1082.
178. Caligaris-Cappio, F. and P. Ghia, *Novel Insights in Chronic Lymphocytic Leukemia: Are We Getting Closer to Understanding the Pathogenesis of the Disease?* Journal of Clinical Oncology, 2008. **26**(27): p. 4497-4503.
179. Yan, M., et al., *Activation and accumulation of B cells in TACI-deficient mice.* Nat Immunol, 2001. **2**(7): p. 638-643.
180. Darce, J.R., et al., *Regulated Expression of BAFF-Binding Receptors during Human B Cell Differentiation.* The Journal of Immunology, 2007. **179**(11): p. 7276-7286.

181. Ghamlouch, H., et al., *A Combination of Cytokines Rescues Highly Purified Leukemic CLL B-Cells from Spontaneous Apoptosis In Vitro.* PLOS ONE, 2013. **8**(3): p. e60370.
182. Rossi, D., et al., *Integrated mutational and cytogenetic analysis identifies new prognostic subgroups in chronic lymphocytic leukemia.* Blood, 2013. **121**(8): p. 1403.
183. Cortese, D., et al., *On the way towards a /`CLL prognostic index/': focus on TP53, BIRC3, SF3B1, NOTCH1 and MYD88 in a population-based cohort.* Leukemia, 2014. **28**(3): p. 710-713.
184. Rassenti, L.Z., et al., *ZAP-70 compared with immunoglobulin heavy-chain gene mutation status as a predictor of disease progression in chronic lymphocytic leukemia.* N Engl J Med, 2004. **351**(9): p. 893-901.
185. Mamara, A., et al., *TACI expression and signaling in chronic lymphocytic leukemia.* J Immunol Res, 2015. **2015**: p. 478753.
186. Kyrtsonis, M.C., et al., *Serum soluble TACI, a BLyS receptor, is a powerful prognostic marker of outcome in chronic lymphocytic leukemia.* Biomed Res Int, 2014. **2014**: p. 159632.
187. Planelles, L., et al., *APRIL but not BLyS serum levels are increased in chronic lymphocytic leukemia: prognostic relevance of APRIL for survival.* Haematologica, 2007. **92**(9): p. 1284-5.
188. Haiat, S., et al., *Role of BAFF and APRIL in human B-cell chronic lymphocytic leukaemia.* Immunology, 2006. **118**(3): p. 281-92.
189. Molica, S., et al., *Baff serum level predicts time to first treatment in early chronic lymphocytic leukemia.* Eur J Haematol, 2010. **85**(4): p. 314-20.
190. Saulep-Easton, D., et al., *The BAFF receptor TACI controls IL-10 production by regulatory B cells and CLL B cells.* Leukemia, 2016. **30**(1): p. 163-72.
191. Bojarska-Junak, A., et al., *BAFF and APRIL expression in B-cell chronic lymphocytic leukemia: correlation with biological and clinical features.* Leuk Res, 2009. **33**(10): p. 1319-27.
192. Ferrer, G., et al., *Combined analysis of levels of serum B-cell activating factor and a proliferation-inducing ligand as predictor of disease progression in patients with chronic lymphocytic leukemia.* Leuk Lymphoma, 2011. **52**(11): p. 2064-8.
193. Kreuzaler, M., et al., *Soluble BAFF levels inversely correlate with peripheral B cell numbers and the expression of BAFF receptors.* J Immunol, 2012. **188**(1): p. 497-503.
194. Novak, A.J., et al., *Elevated Serum B-Lymphocyte Stimulator Levels in Patients With Familial Lymphoproliferative Disorders.* Journal of Clinical Oncology, 2006. **24**(6): p. 983-987.
195. Mauro, F.R., et al., *Clinical features and outcome of familial chronic lymphocytic leukemia.* Haematologica, 2006. **91**(8): p. 1117.
196. Setlur, S.R., et al., *Comparison of Familial and Sporadic Chronic Lymphocytic Leukaemia Using High Resolution Array Comparative Genomic Hybridization.* British journal of haematology, 2010. **151**(4): p. 336-345.

197. Burgler, S., *Role of CD38 Expression in Diagnosis and Pathogenesis of Chronic Lymphocytic Leukemia and Its Potential as Therapeutic Target.* 2015. **35**(5): p. 417-432.
198. von Bülow, G.-U., J.M. van Deursen, and R.J. Bram, *Regulation of the T-Independent Humoral Response by TACI.* Immunity. **14**(5): p. 573-582.
199. Moreaux, J., et al., *The level of TACI gene expression in myeloma cells is associated with a signature of microenvironment dependence versus a plasmablastic signature.* Blood, 2005. **106**(3): p. 1021-1030.
200. Molica, S., et al., *A prognostic algorithm including a modified version of MD Anderson Cancer Center (MDACC) score predicts time to first treatment of patients with clinical monoclonal lymphocytosis (cMBL)/Rai stage 0 chronic lymphocytic leukemia (CLL).* International Journal of Hematology, 2014. **100**(3): p. 290-295.
201. Klepfish, A., et al., *Evaluating the impact of age and disease on survival of chronic lymphocytic leukaemia patients by a new method.* International Journal of Clinical Practice, 2009. **63**(11): p. 1601-1603.
202. Parikh, S.A., et al., *Diffuse Large B-Cell Lymphoma (Richter Syndrome) in Patients with Chronic Lymphocytic Leukaemia: A Cohort Study of Newly Diagnosed Patients.* British journal of haematology, 2013. **162**(6): p. 774-782.
203. Shanafelt, T.D., et al., *Age at Diagnosis and the Utility of Prognostic Testing in Patients with Chronic Lymphocytic Leukemia (CLL).* Cancer, 2010. **116**(20): p. 4777-4787.
204. Milo, R., *Therapeutic strategies targeting B-cells in multiple sclerosis.* Autoimmunity Reviews, 2016. **15**(7): p. 714-718.
205. Richez, C., et al., *Atacicept as an investigated therapy for rheumatoid arthritis.* Expert Opinion on Investigational Drugs, 2014. **23**(9): p. 1285-1294.
206. Scheinberg, M.A., C.M. Hislop, and R.S. Martin, *Blisibimod for treatment of systemic lupus erythematosus: with trials you become wiser.* Expert Opinion on Biological Therapy, 2016. **16**(5): p. 723-733.