

KRONİK LENFOSİTİK LÖSEMİ VAKALARINDA HÜCRE YÜZEY ANTİJEN EKSPRESYONLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ

EVALUATION OF CELL SURFACE ANTIGEN EXPRESSIONS IN CASE OF CHRONIC LYMPHOCYTIC LEUKEMIA

Filiz YAVAŞOĞLU¹, Çiğdem ÖZDEMİR², Tülay KÖKEN³

¹Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı Hematoloji Bilim Dalı

²Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Patoloji Ana Bilim Dalı

³Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Ana Bilim Dalı

ÖZET

AMAÇ: İmmünofenotipleme, B hücre malignitesi teşhisi için kritik öneme sahiptir. Bu çalışmada klinik ve morfolojik olarak Kronik Lenfositik Lösemi (KLL) tanısı almış vakalarımızda akım sitometri yöntemi ile hücre yüzey antijen ekspresyon yüzdelerini ve yoğunluklarını değerlendirmeyi amaçladık.

GEREÇ VE YÖNTEM: 33 KLL hastasının (12 kadın / 21 erkek) periferik venöz kanına ait akım sitometri sonuçları geriye dönük incelenmiştir. İlk olarak CD45-Side Scatter grafiği üzerinde lenfositler işaretlendi ve bu popülasyondaki antikör ekspresyon yüzdeleri ve yoğunlukları belirlendi.

BULGULAR: Tüm hastalarda klasik paternde olduğu gibi CD5, CD19, CD20, CD23, CD200 ve CD43 antijen ekspresyonlarının mevcut olduğu görülmüştür. Klasik paternden farklı olarak ekspresyonu beklenmeyen FMC7'nin sekiz hastada ekspresyonu %30'un üzerindedir. Vakaların 6'sı kappa, 15'i lambda monoklonalitesi gösterirken 11 vakada da her iki hafif zincir ekspresyonunun %30'un altında olduğu görüldü. ZAP 70 ekspresyonu üç vakada (%16, %23, %42) rastlanmıştır. Tüm vakaların antijen ekspresyonlarının ortalama yüzdelerine bakıldığında CD5, CD19, Cd20, Cd23, CD200 ve CD43'ün %80'nin üzerinde olduğu görülmektedir.

SONUÇ: KLL tanısında bakılması önerilen yüzey antijen ekspresyonları her vakada tanımlanan kurallara uymayabilir. Bu vakalarda tanı algoritmasına girecek daha spesifik ek hücre markerlarının araştırılmasına ihtiyaç ortaya çıkmaktadır.

ANAHTAR KELİMELER: Kronik lenfositik lösemi, Akım sitometri, Hücre yüzey antijeni

ABSTRACT

OBJECTIVE: Immunophenotyping is critical for the diagnosis of B cell malignancy. In this study, we aimed to evaluate the cell surface antigen expression percentages and densities by flow cytometry method in patients diagnosed with Chronic Lymphocytic Leukemia (CLL) clinically and morphologically.

MATERIAL AND METHODS: Flow cytometry results of peripheral venous blood of 33 CLL patients (12 females / 21 males) were retrospectively analyzed. First, lymphocytes were marked on the CD45-Side Scatter chart and antibody expression percentages and densities in this population were determined.

RESULTS: It was observed that all patients had CD5, CD19, CD20, CD23, CD200 and CD43 antigen expressions as in the classical pattern. Unlike the classical pattern, the expression of FMC7, which is not expected is over 30% in eight patients. While 6 of the cases showed kappa monoclonality, 15 of them showed lambda monoclonality, it was seen that both light chain expressions were below 30% in 11 cases. ZAP 70 expression was found in three cases (16%, 23%, 42%). Looking at the average percentage of antigen expressions of all cases, it is seen that CD5, CD19, CD20, CD23, CD200 and CD43 are above 80%.

CONCLUSIONS: Surface antigen expressions recommended to be checked in the diagnosis of CLL may not follow the rules defined in each case. In these cases, there is a need to search for more specific additional cell markers to enter the diagnostic algorithm.

KEYWORDS: Chronic lymphocytic Leukemia, Flow cytometry, Cell surface antigen

Geliş Tarihi / Received: 27.11.2020

Kabul Tarihi / Accepted: 21.06.2021

Yazışma Adresi / Correspondence: Dr. Öğr. Üyesi Filiz YAVAŞOĞLU

Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı Hematoloji Bilim Dalı

E-mail: drfilizyavasoglu@gmail.com

Orcid No (Sırasıyla): 0000-0002-4017-4668, 0000-0001-8500-0744, 0000-0001-5510-9415

GİRİŞ

Kronik Lenfositik Lösemi (KLL), Dünya Sağlık Örgütü'nün hematopoetik neoplazi sınıflamasında "Mature B cell neoplasm (MBCN)" sınıfında yer almaktadır. KLL'yi bu sınıfta yer alan diğer lenfoproliferatif hastalıklardan ayırmak klinik öneme sahiptir. Bu ayırmada periferik yaymanın değerlendirilmesi, periferdeki lenfositlerin genetik özelliklerinin belirlenmesi ve immunfenotipleme analizleri yardımcı olmaktadır (1). İmmüno-fenotipleme, B hücre malignitesi teşhisi için kritik öneme sahiptir. KLL tanısında immunfenotipleme analizi ile normal B hücresinden farklı olarak KLL hücre yüzeyinde eksprese olan antijenlerin varlığını göstermek hem National Comprehensive Cancer Network (NCCN), hem International Workshop on Chronic Lymphocytic Leukemia (IWCLL) hem de European Society of Medical Oncology (ESMO) nin ortak kararları arasındadır (1 - 3). İmmüno-fenotipleme akım sitometri yöntemi ile yapılabildiği gibi moleküler yöntemler ile de yapılabilmektedir. Ulaşılabilirliğinin daha fazla olması ve daha hızlı sonuç verilebilmesi nedeni ile akım sitometri yöntemi daha fazla tercih edilmektedir. NCCN, akım sitometri analizi ile immüno-fenotipleme için, kappa / lambda, CD19, CD20, CD5, CD23 ve CD10 hücre yüzeyi markırlarının kullanılmasını önermektedir (1). KLL hücreleri, T hücre yüzey antijeni CD5'i ile B hücresi antijenleri CD19, CD20 ve CD23 ü birlikte eksprese eder. Yüzey immüno-globulinleri, CD20 ve CD79b seviyeleri, normal B hücrelerinde bulunanlara kıyasla karakteristik olarak düşüktür. Her bir lösemi hücre klonu ya kappa hafif zincir ya da lambda hafif zincir eksprese eder. Tanı için CD19, CD5, CD20, CD23, kappa ve lambda nın yeterli olduğu yaygın kabul görmektedir. Sınırdaki vakalarda CD43, CD79b, CD81, CD200, CD10 ve ROR1 tanıyı desteklemede yardımcı olabilir (4). Bu çalışmada klinik ve morfolojik olarak KLL tanısı almış vakalarımızda akım sitometri yöntemi ile hücre yüzey antijen ekspresyon yüzdelerini ve yoğunluklarını değerlendirerek, klasik olarak beklenen immunfenotip paterninin hangi oranda görüldüğünü bulmayı amaçladık.

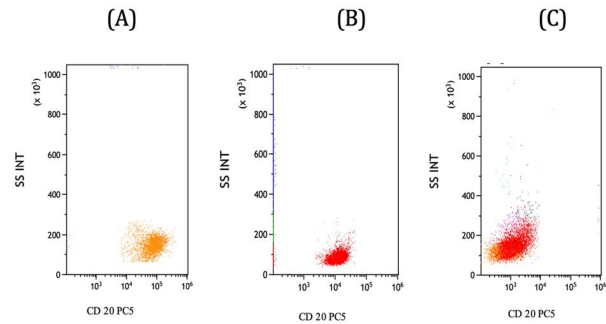
GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi Uygulama ve Araştırma Merkezi Hematoloji kliniğinde, klinik, morfolojik ve im-

munfenotipik bulgular ile tanı almış 33 KLL hastasının (12 kadın / 21 erkek) periferik venöz kanına ait akım sitometri sonuçları geriye dönük incelenmiştir.

Akım Sitometri Analizi

Etilendiamintetraasetik asit (EDTA) içeren tüp- lere alınan periferik venöz kan örnekleri 24 saat içerisinde işleme alınan hastaların sonuçları çalışmaya alınmıştır. KLL immunfenotipleme panelinde yer alan (CD5, CD19, CD20, CD23, CD2, CD200, CD43, FMC7, ZAP-70, kappa ve lambda hafif zincir) antikorların uygulanması ve lysing prosedüründen sonra elde edilen örneklerin okuma sonuçları değerlendirildi. Okumalar Beckman Coulter, (Miami, USA) firmasına ait Navios Ex model cihazında, yine aynı firmaya ait antikorlar kullanılarak gerçekleştirildi. İlk olarak CD45-SSC (yan dağılım) grafiği üzerinde lenfositler işaretlendi. Bu popülasyondaki antikor ekspresyon yüzdeleri ve yoğunlukları belirlendi. Lenfosit popülasyonunda %30 un üzerindeki ekspresyonlar pozitif olarak değerlendirildi (5). Herhangi bir antijenin ekspresyon yoğunluğu hafif, orta, şiddetli olarak kategorize edildi. İncelenecek hücre popülasyondaki antijen yoğunluğunun derecelendirilmesi, benign olarak karşılık gelen değer ile yani uygun negatif bir kontrol ile karşılaştırılarak yapıldı. Zayıf ekspresyon, negatif kontrol ile karşılaştırıldığında hafif artmış, orta şiddette ekspresyon, negatif kontrolden daha parlak ve en az bir logaritmik dekad fazla, parlak ekspresyon ise negatif kontrole göre en az iki logaritmik dekad fazla floresans yoğunluğu olarak tanımlandı (6). Lenfosit popülasyonunun antijen ekspresyon yoğunluğu FSC (ileri dağılım) eksenleri üzerinde logaritmik skalaları kullanılarak belirlendi (**Şekil 1**).



Şekil 1: Hücre yüzey antijenlerinin ekspresyon yoğunluğunun değerlendirilmesi:

(A) Parlak yoğunlukta ekspresyon (B) Orta yoğunlukta ekspresyon (C) Zayıf yoğunlukta ekspresyon

Etik Kurul

Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi Klinik araştırmalar etik kurulunun 2011-KAEK-2 kodlu etik kurul 2020/292 sayılı kararı ile onay alınmıştır.

İstatistiksel Analiz

KLL hücrelerinin yüzeyinde eksprese olan antijenlerin ekspresyon yüzdeleri akım sitometri cihazının verilerinden elde edilmiştir. Bu çalışmada amaç yüzey antijen yoğunluklarının her birinin KLL'de değerlendirilmesi şeklindedir. Karşılaştırma yapacak bir istatistik bu anlamda kullanılmamış, her bir yüzey antijeni için ortalama değer hesaplanmıştır. Ortalamalar excel programı ile hesap edilmiştir.

BULGULAR

Otuz üç vakanın KLL hücrelerinin eksprese ettiği antijen yüzdeleri **Tablo 1** de verilmiştir. Tüm hastalarda klasik patern de olduğu gibi CD5, CD19, CD20, CD23, CD 200 ve CD43 antijen ekspresyonlarının mevcut olduğu görülmektedir. Klasik paternden farklı olarak ekspresyonu beklenmeyen FMC 7'nin sekiz hastada ekspresyonu %30 un üzerindedir. Vakaların 6'sı kappa, 15'i lambda monoklonitesi gösterirken 11 vakada da her iki hafif zincir ekspresyonunun %30'un altında olduğu görüldü. ZAP-70 bir vakada %16 (14. hasta), bir vakada %23 (19. hasta) ve bir vakada da %42 (26. hasta) oranında eksprese etmiştir.

Tablo1: 33 vakanın KLL hücrelerinin eksprese ettiği antijen yüzdeleri

Hasta NO	CD5	CD19	CD20	CD200	CD23	FMC7	slgk	slgl	CD43	ZAP 70
1	97	98	94	97	91	0	2	97	100	0
2	93	80	81	81	80	0	2	70	98	0
3	99	97	92	95	94	30	7	87	100	0
4	93	95	85	95	90	0	0	77	100	0
5	83	54	60	58	56	0	0	20	98	0
6	98	98	93	95	38	52	0	98	100	0
7	93	75	75	76	75	0	3	75	100	0
8	98	98	90	98	98	0	0	82	100	0
9	92	76	70	78	75	0	0	68	100	0
10	98	91	95	96	95	45	0	87	100	0
11	98	98	94	98	98	47	0	98	100	0
12	95	100	100	98	64	82	0	93	51	0
13	94	58	58	64	63	0	3	58	100	0
14	99	98	97	98	98	18	86	0	100	16
15	96	77	78	78	76	0	3	76	100	0
16	99	99	96	96	95	0	0	96	96	0
17	95	84	70	86	81	9	4	87	100	0
18	97	80	90	90	89	32	77	0	100	0
19	94	92	88	93	92	0	23	4	100	23
20	95	86	91	90	90	30	33	0	100	0
21	97	86	76	91	96	0	26	0	100	0
22	91	78	76	79	78	42	25	9	100	0
23	95	78	80	79	79	16	38	0	100	0
24	98	94	85	92	91	0	20	0	98	0
25	96	88	85	86	82	0	85	0	100	0
26	99	98	96	98	97	26	55	0	100	42
27	99	98	97	97	98	23	27	0	100	0
28	88	72	75	80	78	0	0	0	100	0
29	97	88	87	88	87	8	7	5	100	0
30	99	91	90	91	87	0	0	7	100	0
31	94	77	68	73	52	0	0	0	100	0
32	97	89	78	91	89	0	13	0	100	0
33	86	49	62	63	61	0	3	0	98	0

CD (Farklılaşma kümesi), bir grup monoklonal antikor tarafından tanımlanabilir bir farklılaşma aşamasının tanımlayan yüzey işaretleyicisidir.

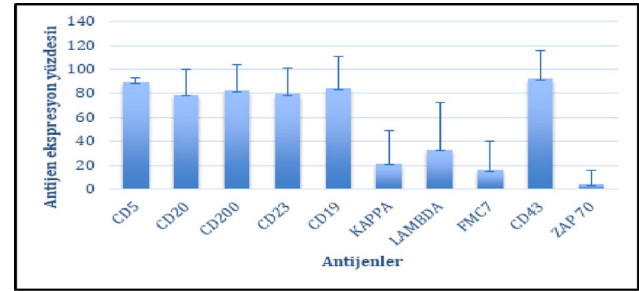
FMC 7: moleküler ağırlığı 105 kDa olan bir transmembran glikoproteindir. Bu antijen CD20 geni tarafından kodlanan bir proteinin özel bir konformasyonudur.

slgk: yüzey immünglobulin kappa

slgl: yüzey immünglobulin lambda

ZAP-70, normalde lenfositlerin yüzey zarını yakınında eksprese edilen bir proteindir.

Tüm vakaların antijen ekspresyonlarının ortalama yüzdelerine bakıldığında CD5, CD19, CD20, CD23, CD200 ve CD43 ün %80'nin üzerinde olduğu (sırası ile %95, %85, %83, %82, %87 ve %98) görülmektedir (**Şekil 2**).



Şekil 2: Tüm vakaların antijen ekspresyonlarının ortalama yüzdeleri

Lenfosit popülasyonunda, FSC ekseninde log skalaları kullanılarak yapılan yoğunluk değerlendirmesinde 3 hastada (%9) CD5, 1 hastada (%3) CD19, 6 hastada (%18) CD23, 7 hastada (%20) CD200'un zayıf olduğu görülmektedir. CD20, 21 vakada zayıf eksprese ederken 12 vakada orta düzeyde eksprese etmiştir. Kappa ve lambda hafif zincir ekspresyonları da klasik paternden farklı olarak 5 vakada zayıf eksprese etmiştir (**Tablo 2**).

Tablo 2: Lenfosit popülasyonunda yoğunluk değerlendirmesi

ANTİJEN	EKSPRESYON YÖĞUNLUĞÜ	%	(n/N)
CD5	Zayıf	9	(3/33)
	Orta	91	(30/33)
	Parlak	0	(0/33)
CD19	Zayıf	3	(1/33)
	Orta	97	(32/33)
	Parlak	0	(0/33)
CD20	Zayıf	64	(21/33)
	Orta	36	(12/33)
	Parlak	0	(0/33)
CD23	Zayıf	18	(6/33)
	Orta	82	(27/33)
	Parlak	0	(0/33)
CD200	Zayıf	21	(7/33)
	Orta	79	(26/33)
	Parlak	0	(0/33)
FMC7	Zayıf	21	(7/33)
	Orta	3	(1/33)
	Parlak	0	(0/33)
slgk	Zayıf	18	(6/33)
	Orta	0	(0/33)
	Parlak	0	(0/33)
slgl	Zayıf	30	(10/33)
	Orta	15	(5/33)
	Parlak	0	(0/33)
CD43	Zayıf	0	(0/33)
	Orta	100	(33/33)
	Parlak	0	(0/33)
ZAP-70	Zayıf	3	(1/33)
	Orta	0	(0/33)
	Parlak	0	(0/33)

CD (Farklılaşma kümesi), bir grup monoklonal antikor tarafından tanımlanabilir bir farklılaşma aşamasının tanımlayan yüzey işaretleyicisidir.

FMC 7: moleküler ağırlığı 105 kDa olan bir transmembran glikoproteindir. Bu antijen CD20 geni tarafından kodlanan bir proteinin özel bir konformasyonudur.

slgk: yüzey immünglobulin kappa

slgl: yüzey immünglobulin lambda

ZAP-70, normalde lenfositlerin yüzey zarını yakınında eksprese edilen bir proteindir.

n: antijeni eksprese eden vaka sayısı

N:Tüm vaka sayısı

TARTIŞMA

Akım sitometrisi ile immünofenotipleme MB-CN'ların özellikle de KLL'nin tanısı ve sınıflandırması için gerekli bir işlemdir (4). Klinik tablo ve tedaviye yanıt KLL ve diğer MBCN arasında farklılık gösterdiğinden, kesin tanı çok önemlidir.

Her ne kadar KLL nispeten spesifik bir immüno-fenotipik profile sahip olsa da bazı antijen ekspresyonlarında farklılıklar görülebilmektedir. Bu çalışmada retrospektif olarak 33 KLL hastasının immunfenotip analizleri değerlendirilerek bu farklılıkları görmeyi amaçladık. B hücreye özgü olarak CD19, CD20 antijen ekspresyonlarını değerlendirdiğimizde CD19'un en güçlü eksprese olan antijen olduğu görüldü. Bu sonuç, KLL immünofenotip analizinde CD19'u en iyi antijenden biri olarak seçen literatür verileri ile uyumludur (4, 7). Düşük CD20 ekspresyonu KLL için karakteristik olarak kabul edilmektedir (8). Hasta grubumuzun %64 ünde CD20 zayıf eksprese ederken %36'sında orta düzeyde eksprese ettiği görüldü. Ivancević ve arkadaşları hastalarının %70'inde zayıf, %21'inde orta, %9'unda da parlak ekspresyonlar gösterdiğini bulmuşlardır (9). Yüksek CD20 ekspresyonu, hem anti-CD20 bazlı tedavilerin değerlendirmesinde hem de iyi prognoz göstergesi olarak değerlendirilmektedir (9, 10).

KLL tanısında CD5 ekspresyonu önemli bir belirteçtir. CD5 normalde T hücrelerinde bulunan bir glikoprotein olmakla birlikte immünooglobulin M (IgM) sekrete eden B-1a olarak bilinen B hücrelerinin (11) yanı sıra regulatory B hücrelerinde de bulunmakla birlikte (12) sağlıklı yetişkinlerin periferik kanındaki B hücrelerinde bulunmaz.

Her ne kadar KLL hastalarında B-hücresi popülasyonları tipik olarak yüksek CD5 ekspresyonuna sahip olsa da %7-%20 sıklıkta CD5 eksprese etmeyen B hücrelerine sahip KLL hastaları bildirilmiştir (13). Bu çalışmada hasta grubumuzun tümünde KLL hücrelerinin CD5 eksprese ettiği, büyük çoğunluğunda da orta yoğunlukta olduğu görüldü. Ülkemizde yapılan başka bir çalışmada Demir ve ark. 124 KLL hasta popülasyonunda 19 hastanın CD5 eksprese etmediğini (%15) göstermişlerdir (14). Bizim hasta grubumuzda olduğu gibi yüksek oranda CD5 ekspresyonu gösteren raporlara da rastlanmaktadır.

Ivancević ve ark. %99 (8), Deneys ve ark. da %98 oranında CD5 ekspresyonu göstermişlerdir (15). KLL identifikasyonunda kullanılan bir diğer marker CD23 dür. Transmembran düşük afiniteli IgE Fc reseptörü olup, IgM ve IgD eksprese eden B lenfositlerinde bulunur. CD23, KLL vakalarının çoğunda eksprese eder (16) ve mantle hücre-

li lenfoma (MCL) ile ayırıcı tanıda güvenilir bir belirteç olarak kabul edilir (17). Ancak MCL'de CD23 ekspresyonu beklenmez. Ancak CD23 eksprese eden MCL vakaları (18) ve CD23 eksprese etmeyen KLL vakaları da bildirilmiştir (19). CD 23 ekspresyon düzeyleri prognoz ile de ilişkilendirilmiş; bazı araştırmacılar, CD23 ekspresyonu seviyesini iyi prognozla ilişkilendirir iken (20), bazı araştırmacılar da kötü prognoz ile ilişkilendirmiştir (21). Çalışmaya alınan tüm vakalarımızda beklendiği gibi CD 23 ekspresyonu görüldü ve bunların büyük çoğunluğu da orta intensitede idi. CD200 (OX2), KLL'yi diğer MBCN'lardan ayırmada kullanılan membran glikoproteinidir.

T hücrelerinde, CD19+ B lenfositlerinde (NK hücreleri hariç), dendritik hücrelerde ve sinir dokusunda eksprese olur (22). Ayrıca myeloma plasma hücrelerinde (23) ve akut miyeloid lösemide de (24) eksprese ettiği rapor edilmiştir.

CD200, Özellikle KLL'yi; MCL'den ayırt etmede diyagnostik öneme sahiptir (25). Pek çok çalışmada olduğu gibi (25 - 26) KLL hastalarımızın tümünün CD200 eksprese ettiği görüldü. FMC7; KLL'yi diğer B hücreli lenfoproliferatif hastalıklardan özellikle de mantle hücreli lenfomadan ayıran bir yüzey antijenidir (5). Literatürde FMC7 negatifliği KLL hastalarında tanı sırasında tipik bir bulgudur. Bazı KLL vakalarında FMC7 ekspresyonunda pozitiflikler de görülebilmektedir (27). Reddy ve arkadaşları (28) 1848 KLL vakasının 286'sında (%15), Delgado ve ark. (2) da 512 KLL vakasının 89'unda (%13), Criel ve arkadaşları da (29) 21 vakanın 11'inde (%52) FMC7 pozitifliği göstermişlerdir. Bu çalışmada da 33 vakanın 8'inde (%24) FMC7 pozitifliği görülmüştür.

B hücre popülasyonunda hafif zincir restriksiyonunun gösterilmesi genellikle monoklonalitenin bir kanıtı olup malinitenin de bir göstergesi olarak kabul edilmektedir. Son dönemde yapılan çalışmalar hem her iki hafif zinciri birlikte eksprese eden (dual) (30) hem de her iki hafif zinciri eksprese etmeyen B hücrelerin malinite işareti olduğunu ortaya koymuştur (31). Bu retrospektif çalışmada KLL vakalarında lambda restriksiyonuna kappa restriksiyonundan daha sık oranda rastlanmıştır. Literatür de ise kappa restriksiyonu daha fazla görülmektedir. Alves ve ark.'larının yaptıkları immunfenotipleme çalışmasında kappa hafif zincir ekspresyonunun

lambda ekspresyonundan daha sık rastlandığını göstermişlerdir (32). Pavia ve ark. ise KLL vakalarının % 86'sının kappa hafif zincir, %14'ünün de lambda hafif zincire sahip bir monoklonal B hücresi proliferasyonuna sahip olduğunu göstermişlerdir (33). Kappa hafif zincir restriksiyonunun daha fazla görüldüğü diğer bir çalışmada da tüm hastaların %54.5 nin kappa, %45.5 inin de lambda monoklonaliteye sahip olduğu gösterilmiştir (34). Bholra ve ark. 42 KLL vakasında yaptıkları çalışmalarında 5 vakanın (%11.9) KLL hücrelerinde her iki hafif zincirin de eksprese etmediğini göstermişlerdir (31). slg'lerin zayıf ekspresyonu KLL tanı kriterlerinden olup çalışmamızda da sadece bir vaka dışında tüm vakalarda zayıf ekspresyon görüldü. Criel ve ark. 111 KLL vakalarının arasında atipik immunfenotipleme gösteren 21 vaka olduğunu bildirmişlerdir. Bu vakaların 6'sında parlak slg ekspresyonu görülmüştür (29). Bir başka çalışmada da 37 vakanın 4'ünde (%10) parlak bulunmuştur (35). KLL hücrelerinde eksprese edilen immünoglobulin ağır zincir değişken bölgelerinde (IgVH) somatik mutasyonların varlığı veya yokluğu, prognostik bilgi sağlar. Mutasyona uğramamış IgVH bölgeleri eksprese eden hastaların sıklıkla progresif hastalığa sahip olduğu, mutasyona uğramış olanların da daha uzun sağ kalım sürelerine sahip olduğu gösterilmiştir (36). Yapılan çalışmalar, ZAP-70'in ekspresyonunun IgVH mutasyon durumunu yansıtılabileceğini göstermiştir (37).

Yaygın olarak ZAP-70 ekspresyonunun KLL hücrelerinin %20 den fazlasında görülmesi pozitif olarak kabul görmektedir (38). Bu çalışmada da %20'nin üzerinde ekspresyon gösteren 2 vaka da (%6) görüldü. Yapılan bir meta analizinde 11 farklı ülkeden çalışmalar değerlendirilmiş ve KLL vakalarında ZAP-70 pozitifliğinin %19.35 ile %59.09 arasında değiştiği gösterilmiştir (39). Bu meta analizinde yer alan çalışmalarda vaka sayılarının yüksek olması ve ırk farklılıklarının olması ZAP70 ekspresyonunda görülen çeşitliliğin sebebi olabilir.

Sonuç olarak KLL tanısında bakılması önerilen yüzey antijen ekspresyonları her vakada tanımlanan klasik kurallara uymaya bilmektedir. Bu vakalarda tanı algoritmasına girecek daha spesifik ek hücre markırlarının araştırılmasına ihtiyaç ortaya çıkmaktadır.

Çalışmanın Kısıtlılığı

Yeni kurulan bir merkez olmamız nedeniyle KLL'li hasta sayımız azdır.

KAYNAKLAR

1. Wierda WG, Byrd JC, Abramson JS, et al. Chronic Lymphocytic Leukemia/Small Lymphocytic Lymphoma, Version 4.2020, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. *J Natl Compr Canc Netw.* 2020;18(2):185-217.
2. Hallek M, Cheson BD, Catovsky D, 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;12(12):5446-56.
3. Eichhorst B, Robak T, Montserrat E, et al. ESMO Guidelines Committee. Chronic lymphocytic leukaemia: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol.* 2015;26(5):78-84.
4. Rawstron AC, Kreuzer KA, Soosapilla A, et al. Reproducible diagnosis of chronic lymphocytic leukemia by flow cytometry: An European Research Initiative on CLL (ERIC) & European Society for Clinical Cell Analysis (ESCCA) Harmonisation project. *Cytometry B Clin Cytom.* 2018;1(1):121-8.
5. Matutes E, Owusu-Ankomah K, Morilla R, et al. The immunological profile of B-cell disorders and proposal of a scoring system for the diagnosis of CLL. *Leukemia.* 1994;8(10):1640-5.
6. Wood BL, Arroz M, Barnett D, et al. 2006 Bethesda International Consensus recommendations on the immunophenotypic analysis of hematolymphoid neoplasia by flow cytometry: optimal reagents and reporting for the flow cytometric diagnosis of hematopoietic neoplasia. *Cytometry B Clin Cytom.* 2007;72(1):14-22.
7. Rawstron A, Böttcher S, Letestu R, et al. Improving efficiency and sensitivity: European Research Initiative in CLL (ERIC) update on the international harmonised approach for flow cytometric residual disease monitoring in CLL. *Leukemia.* 2013;27(1):142-9.
8. Almasri NM, Duque RE, Iturraspe J, et al. Reduced expression of CD20 antigen as a characteristic marker for chronic lymphocytic leukemia. *Am J Hematol.* 1992;40(4):259-63.
9. Ivancević TD, Kurtović NK, Knezević V, et al. The role of immunophenotyping in differential diagnosis of chronic lymphocytic leukemia. *Srp Arh Celok Lek.* 2014;142(3-4):197-203.
10. Fang C, Zhuang Y, Wang L, et al. High levels of CD20 expression predict good prognosis in chronic lymphocytic leukemia. *Cancer Sci.* 2013;104(8):996-1001.

- 11.** Bikah G, Lynd FM, Aruffo AA, et al. A role for CD5 in cognate interactions between T cells and B cells, and identification of a novel ligand for CD5. *Int Immunol* 1998;10(8):1185-96.
- 12.** Lee JH, Noh J, Noh G, et al. IL-10 is predominantly produced by CD19(low)CD5(+) regulatory B cell subpopulation: characterisation of CD19 (high) and CD19(-low) subpopulations of CD5(+) B cells. *Yonsei Med J*. 2011;52(5):851-5.
- 13.** Cartron G, Linassier C, Bremond JL, et al. CD5 negative B-cell chronic lymphocytic leukemia: clinical and biological features of 42 cases. *Leuk Lymphoma*. 1998;31(1-2):209-16.
- 14.** Demir C, Kara E, Ekinci Ö, et al. Clinical and Laboratory Features of CD5-Negative Chronic Lymphocytic Leukemia. *Med Sci Monit*. 2017;23:2137-42.
- 15.** Deneys V, Michaux L, Leveugle P, et al. Atypical lymphocytic leukemia and mantle cell lymphoma immunologically very close: flow cytometric distinction by the use of CD20 and CD54 expression. *Leukemia*. 2001;15(9):1458-65.
- 16.** Sarfati M. CD23 and chronic lymphocytic leukemia. *Blood Cells*. 1993;19(3):591-6.
- 17.** Kilo MN, Dorfman DM. The utility of flow cytometric immunophenotypic analysis in the distinction of small lymphocytic lymphoma/chronic lymphocytic leukemia from mantle cell lymphoma. *Am J Clin Pathol*. 1996;105(4):451-7.
- 18.** Fateh, Numan. Mantle Cell Lymphoma Misdiagnosed as Chronic Lymphocytic Leukemia: Optimization of Diagnostic Approach. *Journal of Clinical & Experimental Oncology*. 2017;(6)1-3.
- 19.** DiRaimondo F, Albitar M, Huh Y, et al. The clinical and diagnostic relevance of CD23 expression in the chronic lymphoproliferative disease. *Cancer*. 2002;94(6):1721-30.
- 20.** Dadmarz R, Cawley JC. Heterogeneity of CLL: high CD23 antigen and alpha IFN receptor expression are features of favourable disease and of cell activation. *Br J Haematol*. 1988;68(3):279-82.
- 21.** Lavabre-Bertrand T, Exbrayat C, et al. CD23 antigen density is related to serum gamma globulin level, bone marrow reticulin pattern, and treatment in B chronic lymphocytic leukemia. *Leuk Lymphoma*. 1994;13(1-2):89-94.
- 22.** Wright GJ, Jones M, Puklavec MJ, et al. The unusual distribution of the neuronal/lymphoid cell surface CD200 (OX2) glycoprotein is conserved in humans. *Immunology*. 2001;102(2):173-9.
- 23.** Moreaux J, Hose D, Reme T, et al. CD200 is a new prognostic factor in multiple myeloma. *Blood*. 2006;108(13):4194-7.
- 24.** Damiani D, Tiribelli M, Raspadori D, et al. Clinical impact of CD200 expression in patients with acute myeloid leukemia and correlation with other molecular prognostic factors. *Oncotarget*. 2015;6(30):30212-221.
- 25.** Palumbo GA, Parrinello N, Fargione G, et al. CD200 expression may help in differential diagnosis between mantle cell lymphoma and B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Leuk Res*. 2009;33(9):1212-16.
- 26.** Sandes AF, de Lourdes Chauffaille M, Oliveira CR, et al. CD200 has an important role in the differential diagnosis of mature B-cell neoplasms by multiparameter flow cytometry. *Cytometry B Clin Cytom*. 2014;86(2):98-105.
- 27.** Delgado J, Matutes E, Morilla AM, et al. Diagnostic significance of CD20 and FMC7 expression in B-cell disorders. *Am J Clin Pathol*. 2003;120(5):754-9.
- 28.** Reddy P, Dabbas B, Gama M, et al. FMC-7 Expression Identifies Phenotypically Atypical Chronic Lymphocytic Leukemia with Distinct Clinical and Molecular Genetic Features. *Blood*. 2012;120 (21): 2478.
- 29.** Criel A, Wlodarska I, Meeus P, et al. Trisomy 12 is uncommon in typical chronic lymphocytic leukaemias. *Br J Haematol*. 1994;87:523-8.
- 30.** Peltomäki P, Bianchi NO, Knuutila S, et al. Immunoglobulin kappa and lambda light chain dual genotype rearrangement in a patient with kappa-secreting B-CLL. *Eur J Cancer Clin Oncol*. 1988;24(7):1233-8.
- 31.** Bholra RK, Das PK, Pradhan S, et al. Multiplexing 8 colors with 12 antibodies in a single lymphoid screening tube by flow cytometry for evaluating suspected chronic lymphoproliferative disorders (CLPD). *J Hematopathol*. 2020;13:13-24.
- 32.** Alves G. VA, Silva L. KF, Albuquerque D. GB, et al. Use of Flow Cytometry to Evaluate the Immunophenotypic Profile of Patients with Chronic Lymphocytic Leukemia from Rio Grande Do Norte State, Brazil. *Blood* 2017;130(1):5325.
- 33.** Paiva A.S, Jardim A.S, Soares V.L, et al. Diagnostic Value of Kappa/Lambda Ratios Determined By Flow Cytometric Analysis of Peripheral Blood and Bone Marrow Specimens in B-Cell Chronic Proliferative Disease. *Blood*. 2018;132:5431.
- 34.** Abdel-Ghafar AA, El Din El Telbany MA, Mahmoud HM, El-Sakhawy YN. Immunophenotyping of chronic B-cell neoplasms: flow cytometry versus immunohistochemistry. *Hematol Rep*. 2012;4(1):e3.
- 35.** Zhou J, Tewari A, Nassiri M, et al. Changes in Antigen Expression in a Follow-up of Chronic Lymphocytic Leukemia/Small Lymphocytic Lymphoma. *J Leuk*. 2015;3:177.
- 36.** Hamblin TJ, Davis Z, Gardiner A, et al. Unmutated Ig VH Genes Are Associated With a More Aggressive Form of Chronic Lymphocytic Leukemia. *Blood*. 1999;94 (6):1848-54.
- 37.** Wiestner A, Rosenwald A, Barry TS, et al. ZAP-70 expression identifies a chronic lymphocytic leukemia subtype with unmutated immunoglobulin genes, inferior clinical outcome, and distinct gene expression profile. *Blood* 2003;101:4944-51.

38. Crespo M, Bosch F, Villamor N, et al. ZAP-70 expression as a surrogate for immunoglobulin-variable-region mutations in chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med.* 2003;348:1764–75.

39. Liu Y, Wang Y, Yang J, Bi Y, Wang H. ZAP-70 in chronic lymphocytic leukemia: A meta-analysis. *Clin Chim Acta.* 2018;483:82-8.