

KRONIČNA LIMFOCITNA LEVKEMIJA

Peter Černelč, Helena Podgornik, Neda Gržinič

Povzetek. Na kronično limfocitno levkemijo (KLL) pomislijo v osnovnem zdravstvu, ko ugotovijo v limfocitozo z več kot $5 \times 10^9/L$ in Gumprechtove sence v razmazu krvi. S pretočnim citometrom potrdimo bolezen z dokazom celic B v krvi. Nadaljnje preiskave odložimo vse do odločitve o začetku zdravljenja, saj se ob napredovanju bolezní zaradi klonske evolucije lahko bolezen spremeni. Bolezen se najpogosteje ugotovi v starosti nad 70 let, ko intenzivni načini zdravljenja niso več možni. Bolnike začnemo zdraviti, ko jim bolezen povzroča težave. Za oceno poteka bolezní in za izbiro zdravljenja naredimo citogetesko preiskavo FISH, kjer prepoznamo bolezen z najbolj neugodnim potekom, kot ga napoveduje dokaz dela kromosoma 17p, ki zahteva intenziven način zdravljenja, pri mlajših bolnikih od 60 let tudi alogensko presaditev krvotvornih matičnih celic, ki omogoča ozdravitev.

UVOD

Kronična limfocitna levkemija (KLL) je opredeljena z limfocitozo z več kot $5 \times 10^9/L$ celic B v krvi. Potrdimo jo z določitvijo celičnih označevalcev CD19+/CD20+ na celicah B, ki imajo receptorje CD5 in CD23 in restrikcijo ene lahke verige ali so brez nje. Limfocite B najdemo pri bolezní tudi v kostnem mozgu, lahko pa tudi v limfatičnem tkivu in vranici (1). Ko ugotovimo kopičenje malih limfocitov B v bezgavkah in kostnem mozgu, ne pa v krvi, govorimo o limfomu malih limfocitov. KLL se pojavlja v družinah. Sorodniki bolnikov s KLL v prvem kolenu imajo trikrat večjo verjetnost kot splošna populacija, da bodo zboleli za KLL. Med sorodniki bolnikov je pogostejša tudi klonska limfocitoza celic B. Gre za stanje, ko pri osebi najdemo v krvi manjši klon celic B z imunofenotipskimi značilnostmi celic B, kot pri KLL (1, 2).

KLL je najpogostejša levkemija odraslih zahodnega sveta, ki pa navkljub napredku v razumevanju njenega nastanka in razvoju novih zdravil še vedno ostaja za večino bolnikov neozdravljiva. Vzrokov za nastanek KLL ne poznamo. Incidenca bolezní je 3–5 na 100.000 prebivalcev letno, pri moških je pogostejša kot pri ženskah. Ker je večina zbolelih odkrita naključno, je pojavnost na splošno podcenjena. Nanjo močno vpliva tudi geografski dejavnik, saj je bolezen npr. znatno redkejša v Aziji (3). V Sloveniji smo ugotovili v letu 2010, po zadnjem objavljenem poročilu Registra raka Republike Slovenije 94 bolnikov s KLL, incidenca je bila 4,7/100.000 (4).

Incidenca KLL se po petdesetem letu starosti strmo večja (5). Razlogov za to je več. Zmanjšuje se tvorba limfocitov B, medtem ko se napake signalizacije B-celičnega receptorja množijo. Splošno pa ima na nastanek raka

vpliv kopičenje reaktivnih kisikovih spojin, ki povzročajo genomsko nestabilnost, zmanjšanje T-celične imunosti in posledično neučinkovito izločanje malignih celic B, ter krajšanje telomer (6, 7). Povprečna starost ob odkritju je pri moških 70 let, pri ženskah 74 let, medtem ko je povprečna starost ob smrti pri moških 74 let, pri ženskah pa 81 let (3).

KLL so dolgo razumeli kot homogeno bolezen, v zadnjem obdobju pa so raziskave pokazale, da gre za morfološko, imunološko in genetsko heterogeno bolezen, kar se odseva tako v njenem poteku kot v odzivu na zdravljenje (8). Klinično je lahko KLL dolgo stabilna s pričakovano življenjsko dobo, ki je skoraj primerljiva s pričakovano, do hitro napredujoče, ki vodi v zgodnjo smrt (3). Tretjina bolnikov preživi več kot 20 let in sploh ne potrebuje zdravljenja. Pri 3–10 % bolnikov bolezen hitro napreduje (Richterjev sindrom), lahko pa preide v prolimfocitno levkemijo. Bolezen lahko spremljajo zapleti, kot avtoimunska hemolitična anemija, avtoimunska trombocitopenija in okužbe.

ZNAČILNOSTI BOLEZNI

Klon limfocitov B se pri KLL razrašča, tako da njihov delež pogosto doseže tudi 99 % vseh mononuklearnih celic v venski krvi. S tem povzročijo zmanjšanje števila normalnih celic imunskega odziva in so neposreden vzrok imunske pomanjkljivosti pri bolnikih s KLL. V nasprotju z večino malignih celic se pri KLL deli le 2–5 % limfocitov B, medtem ko večina celic miruje v fazi G₀ celičnega cikla. Vendar pa imajo te celice znatno daljšo življenjsko dobo (nekaj mesecev) kot normalni limfociti B (nekaj dni). Delno gre to pripisati rastnim dejavnikom mikrookolja, bolj pa pa zmanjšani hitrosti apoptoze, ki jo povzroči tako zmanjšana aktivnost pro-apoptotičnih kot zvečana aktivnost anti-apoptotičnih dejavnikov. Spremenjeno ravnovesje pro- in anti-apoptotičnih dejavnikov, ki je zdaj tudi osrednja tema raziskav novih terapevtskih učinkovin, je posledica nenormalnih genov in proteinov (9).

Doslej niso določili še nobene genetske preureditve, ki bi bila neposredno odgovorna za nastanek KLL, pač pa so zanjo značilne številne različne preureditve. Intersticijska delecija na dolgem kraku kromosoma 13 (40–60 % bolnikov) ima za posledico izgubo področja, ki ne kodira zapisa za protein, pač pa za nekatere mikroRNA (miR-15a, miR-16-1), ki po zaviranju tarčnih genov delujejo kot genski regulatorji. Zveča se izražanje genov za proteina Bcl2 in TCL1. Prvi kot zaviralec apoptoze, drugi pa prek aktivacije proteina NF-κB in inaktivacije proteina BAD, sta močna dejavnika podaljšanega preživetja (10). Mehanizem patogeneze pri drugih pogostejših kromosomskih spremembah je soroden, njihova stična točka pa je protein p53. Delecija na kromosomu 17 (okrog 10 % nezdravljenih bolnikov) vodi v izgubo supresorja tumorja *TP53*, posledično pa proteina p53, ki je glavni mediator apoptoze

pri okvari DNA, in ključni dejavnik zagotavljanja genomske stabilnosti. Gen *ATM* na kromosomu 11 (11q22) nosi zapis za kinazo, ki fosforilira p53, njegova izguba (10 % bolnikov) pa tako vnovič zmanjša apoptozo. Pri trisomiji kromosoma 12 (10–20 % bolnikov) je ključna podvojitev gena *MDM2*, ki pospešuje razgradnjo p53 v proteasomih, s čimer negativno uravnava njegovo aktivnost (9).

Pri večini bolnikov s KLL so dokazali spremenjeno aktivnost signalizacijskih proteinov. Medtem ko je zvečana aktivnost anti-apoptotične PI3K (fosfoino-*tid 3* kinaza), je domala nefunkcionalna pro-apoptotična protein kinaza R. Z receptorjem povezana tirozin kinaza ZAP-70, ki se praviloma izraža na limfocitih B le pri KLL, podaljša njihovo preživetje, tako da okrepi signalizacijo prek površinskih IgM (9, 11).

NAPOVEDNI DEJAVNIKI BOLEZNI

Določitev ustreznih napovednih dejavnikov ni pomembna le za oceno napredovanja bolezni, pač pa je ključna za izbiro ustreznega zdravljenja glede na tveganje posameznega bolnika in biološko ozadje njegove bolezni. Eden od glavnih izzivov pri KLL je določitev optimalnega časa in načina prvega zdravljenja. Zato je opredelitev nekaterih napovednih dejavnikov pomembna ob postavitvi diagnoze, drugih pa predvsem pred začetkom zdravljenja.

Potek bolezni se pri bolnikih znotraj posamezne skupine klinično razvojne stopnje Binetove razvrstitve ABC (Tabela 1), temelječe na zvečanih obodnih bezgavkah, vranici in jetrih ter anemiji ali trombocitopeniji, lahko znatno razlikuje (12, 13). Ob prvi ugotovitvi KLL je 55 % bolnikov na klinični razvojni stopnji A, 32 % na B in 13 % na C (3). Ob prvem zdravljenju je pri vsakodnevni klinični praksi 20 % bolnikov klinično razvojne stopnje A, 36 % stopnje B in 44 % stopnje C. Klinična razvrstitev po Binetu ob prvem pregledu bolnika le orientacijsko napoveduje potek bolezni, za natančnejšo oceno, predvsem pa izbiro zdravljenja, so se v zadnjem desetletju uveljavili številni napovedni dejavniki, temelječi na genetskih, fenotipskih in molekularnih značilnostih levkemičnega klona (14).

Podvojitveni čas limfocitov v enem letu je preprost parameter, ki dobro odseva kinetiko napredovanja bolezni. Krajši od enega leta označuje hitrejši potek bolezni in slabše preživetje (14). Serumska timidin kinaza, beta 2-mikroglobulin in topni CD23 so prav tako povezani s tumorskim bremenom in preživetjem. Med celičnimi označevalci sta napovedno pomembna CD38 in ZAP-70. Napovedni dejavnik, v katerega je bilo usmerjeno zelo veliko raziskav, je mutacijski status gena za težko verigo imunoglobulinov IgV_H. Izražanje ZAP-70 je povezano z nemutiranim statusom IgV_H pa tudi s preureditvami

gena *TP53*. Vsak od teh kazalcev napoveduje neugoden potek bolezni, njihova uporaba pa je še vedno bolj raziskovalna kot rutinska (12).

Tabela 1. Klinične razvojne stopnje kronične limfocitne levkemije po Binetu (1)

| Stopnja | Klinični znaki | Medina preživetja [leta] |
|---------|--|--------------------------|
| A | zvečane bezgavke in/ali drugi organi v manj kot treh področjih,* brez anemije in trombocitopenije v krvi | 12 |
| B | zvečane bezgavke in/ali drugi organi v treh ali več področjih, brez anemije ali trombocitopenije v krvi | 7 |
| C | zvečane bezgavke in ali drugi organi v treh ali več področjih, z anemijo ali trombocitopenijo v krvi | 2–4 |

* Razlikujemo pet enakovrednih območij zvečanih bezgavk in organov: bezgavke v vratu, pazduhah in dimljah, vranica in jetra.

Zanesljivo največjo težo in najširšo uporabo imajo citogenetske preureditve. Napovedno najugodnejša je najdba samo del(13), pri kateri je celokupno preživetje 133 mesecev, medtem ko je pri bolnikih z normalnim kariotipom 111 mesecev. Napovedno vmesna je tako kot normalni kariotip trisomija kromosoma 12 (114 mesecev), medtem ko sta drugi dve preureditvi, ki ju rutinsko tudi v Sloveniji določamo pri vseh bolnikih s KLL, napovedno neugodni. Pri izgubi gena *ATM* (del(11q)) je srednje preživetje 79 mesecev, pri izgubi gena *TP53* (del(17p)) pa le 32 mesecev (2). Delecija gena *ATM* je značilna za t. i. neznačilno KLL in za bolnike z izrazito limfadenopatijo. Navadno se odzivajo na zdravljenje, vendar se bolezen praviloma hitro ponovi. Bolniki z del(17p) imajo vedno hiter potek bolezni, ki je neodzivna na fludarabin. Določitev del(17p) pred zdravljenjem je zato ključna zaradi specifičnega zdravljenja z nekaterimi monoklonskimi protitelesi (13).

V zadnjem obdobju so raziskave z uporabo sekveniranja naslednje generacije prinesle novo znanje o genetski kompleksnosti in heterogenosti KLL. Izpostaviti gre napovedno zelo neugodne mutacije gena *TP53* brez istočasne izgube homolognega alela (okrog 5 % bolnikov) (15). Kot ponavljajoče se so se pokazale mutacije, ki vplivajo na aktivacijo signalizacije prek NOTCH in napake izrezovalno-povezovalnega kompleksa (*spliceosom*) (16). Pri bolnikih s KLL je spremenjen tudi vzorec metilacije DNA, ki je praviloma hipometilirana. Gre torej za možne nove napovedne dejavnike oz. potencialne tarče zdravljenja, katerih napovedni pomen bo treba še potrditi.

UGOTAVLJANJE BOLEZNI

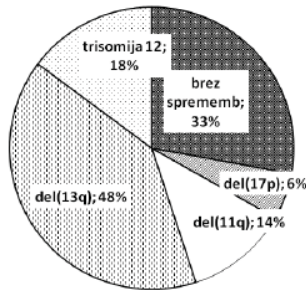
Prvi pogoj za postavitve diagnoze KLL je število limfocitov B v venski krvi, ki mora biti večje od $5 \times 10^9/L$. Prav zato je KLL podvrsta ne-Hodgkinovega limfoma, pri kateri je venska kri ustrezen vzorec za vse preiskave, ki jih opravimo ob postavitvi diagnoze, in histopatološki pregled ni nujen (17). Zdravnik se odloči za punkcijo kostnega mozga za citološki ali histološki pregled, ko spremljajo KLL zapleti s citopenijo, ali pa če želi oceniti stopnjo infiltracije z limfomskimi celicami.

Bolnika navadno pripelje k hematologu krvna slika. Ob postavitvi diagnoze je število limfocitov večje od $10 \times 10^9/L$, pogosto presega tudi $100 \times 10^9/L$. V diferencialni krvni sliki najdemo morfološko »normalne« zrele limfocite, ki pa so mehansko občutljivi, zato pri pripravi krvnega razmaza razpadejo v t. i. Gumprechtove sence. Zaradi infiltracije kostnega mozga z limfociti B imajo bolniki ob odkritju bolezni lahko anemijo, ob napredovanju bolezni pa tudi trombocitopenijo in nevtropenijo. Imunska anemija, trombocitopenija ali nevtropenija se lahko razvijejo kadar koli med potekom bolezni.

Ker je število limfocitov B ključno za postavitve diagnoze, je pretočna citometrija izhodiščna diagnostična preiskava. Pri KLL imajo limfociti B značilen imunofenotip, po katerem se razlikujejo od drugih limfomov B in ki se zapiše takole: CD5+/CD19+/CD20_{šibko}/CD23+/FMC7- (3). Diferencialno diagnostično imunofenotipizacija loči KLL od limfoma plaščnih celic ali spleničnega marginalno-celičnega limfoma. Če pri preiskovancu najdemo klon limfocitov B z značilnim imunofenotipom za KLL, njihova koncentracija pa je manjša od $5 \times 10^9/L$, govorimo o klonski limfocitozi celic B. S pretočno citometrijo določamo tudi izražanje proteina ZAP-70, ki je tehnično zahtevno in zato zaenkrat tudi še ni standardizirano (8).

Dokazane citogenetske preureditve so ena od značilnosti KLL, vrsta in število teh preureditev pa je neodvisni napovedni dejavnik poteka bolezni (1). Čeprav so apoptotične poti pri KLL nenormalne, pa niso okvarjene, zato limfociti B pri KLL zelo hitro odmrejo, če jih gojimo *in vitro* (9). Ta njihova lastnost, po kateri se znatno razlikujejo od večine malignih celic, otežuje standardno citogenetsko preiskavo, ki temelji na analizi metafaznih kromosomov deleče se celice. Odkritje, da dodatek CpG-oligodeoksinukleotida in citokina IL-2 stimulira limfocite B k delitvi *in vitro*, je prispeval k temu, da se je delež bolnikov, kjer najdemo kromosomske preureditve s proganjem kromosomov, približal tistemu, kjer jih odkrijemo z molekularno citogenetsko preiskavo fluorescenčno hibridizacijo *in situ* FISH (18). Z uporabo panelov ustreznih DNA-sond, s katerimi določamo morebitne delecije na dolgem kraku kromosomov 11 ter 13 ter na kratkem kraku kromosoma 17, ter trisomije 12 (del(11q), del(13q), del(17p), +12), odkrijemo kromosomske spremembe pri več kot 80 % bolnikov (19). Slika 1 prikazuje pogostost teh

preureditev pri slovenskih bolnikih s KLL, ki je zelo primerljiva tistim, objavljenim v literaturi.



Slika 1. Pogostost napovedno pomembnih kromosomskih preureditev pri slovenskih bolnikih s kronično limfocitno levkemijo ($n = 444$).

ZDRAVLJENJE

Zelo veliko bolnikov ima ob ugotovitvi KLL malo razširjeno bolezen in nima težav. Teh bolnikov ne zdravimo, ampak jih skrbno spremljamo v hematološki ambulanti in pri izbranem družinskem zdravniku. Če bolezen napreduje in nastanejo težave, napravimo dodatne citogenetske preiskave za izbiro najustrežnejšega zdravljenja in oceno napovedi poteka bolezni. Izbira zdravljenja je odvisna od citogenetskih nepravilnosti, starosti bolnika in njegove fizične zmogljivosti, stopnje razširjenosti bolezni in pridruženih kroničnih bolezni.

Bolnikom, mlajšim od 60 let, brez pridruženih bolezni in z neugodnimi citogenetskimi nepravilnostmi (del(17p), del(11q)), ki napovedujejo hiter potek bolezni, predlagamo program za možnost ozdravitve s kombinacijo intenzivnega zdravljenja z monoklonskim protitelesom alemtuzumabom ali ofatumumabom ter alogensko presaditvijo krvotvornih matičnih celic (APKMC), ki je edini možni način ozdravitve bolezni (20, 21).

Citogenetsko ugodne mlajše bolnike intenzivno zdravimo s kombinacijo zdravil R-FC (rituksimab, fludarabin, ciklofosfamid). Doseči želimo popolno remisijo bolezni pred APKMC. Pri primerjavi učinkovitosti R-FC in rituksimab-bendamustin (R-B) pri skupno 564 bolnikih s KLL brez delecije 17p so dosegli popolno remisijo bolezni pri 47,4 % bolnikov, ki so jih zdravili z R-FC, in 38,1 % tistih, ki so jih zdravili z R-B; po dveh letih opazovanja ni bilo znakov bolezni pri 85 % bolnikov prve skupine (R-FC) in pri 78,2 % bolnikov druge skupine (R-B). Razliki nista bili statistično pomembni (22).

Starejše bolnike, ki iz več razlogov niso kandidati za intenzivno zdravljenje, zdravimo s kombinacijami rituksimab-klorambucil (R-C), rituksimab-bendamustin (R-B) ali rituksimab-fludarabin (R-F). Cilj zdravljenja je zmanjšati tumorsko maso, odpraviti težave in izboljšati kakovost življenja.

Delež posameznih načinov zdravljenja KLL v petih najbolj razvitih evropskih državah je bil v letu 2012/13 naslednji: 59,7 % bolnikov je prejelo rituksimab v kombinacijah z drugimi citostatiki: 23,1 % R-FC, 17,4 % R-B, 16,2 % K, 7,2 % F, 5,8 % R, 5,6 % R-K, 4,0 % K+prednizon, 3,7 % B (23).

NOVA ZDRAVILA ZA ZDRAVLJENJE BOLNIKOV S KRONIČNO LIMFOCITNO LEVKEMIJO

Za zdravljenje bolnikov s KLL potekajo številne klinične raziskave novih, predvsem tarčnih zdravil, ki delujejo po načelu intenzivnega zdravljenja in stremijo k doseganju popolne remisije bolezni ali pa zmanjšanja proliferacije klona limfomskih celic B in bolezni usmeriti v kronični potek, ki potrebuje neprekinjeno zdravljenje. Za prvi način zdravljenja je humano monoklonsko protitelesko obinutuzumab (GA101), ki se kombinira z bendamustinom ali fludarabinom ter ciklofosfamidom. Zdravilo preskušamo že pri bolnikih s KLL na Kliničnem oddelku za hematologijo. Ameriške smernice NCCN za zdravljenje bolnikov s KLL (izdaja 3.3014) so letos vključile obinutuzumab in klorambucil za prvo zdravljenje KLL pri starejših od 70 let, pa tudi pri tistih, kjer zdravljenje s purinskimi analogi ni primerno, ter za mlajše bolnike od 70 let s pridruženimi drugimi boleznimi, kjer drugi intenzivnejši načini zdravljenja niso primerni. Tudi pri bolnikih z del(17p) je ob standarnih načinih zdravljenja možno zdraviti s kombinacijo obinutuzumaba in klorambucila (24).

Selektivna zaviralca kinaz, idelalisib (GS-1101) in ibrutinib, preskušajo kot samostojni zdravili ter v različnih kombinacijah s poznanimi zdravili za KLL. Rezultati so zelo spodbudni, vendar zdravila še niso na voljo za preskušanje pri nas, dogovarjamo pa se, da bi jih pridobili še v tem letu. *Ameriška agencija za zdravila* (FDA) je je 23. julija letos odobrila idelalisib skupaj z rituksimabom za zdravljenje bolnikov s ponovljeno KLL, saj je bila v kombinaciji z rituksimabom 81-odstotna odzivnost na zdravljenje statistično znatno učinkovitejša od rituksimaba z le 13-odstotno odzivnostjo na zdravljenje (25). Ibrutinib kot samostojno zdravilo so *Ameriške smernice NCCN* (izdaja 3.3014) vključile za zdravljenje bolnikov s KLL in del(17p), ko bolezen ni bila odzivna na običajne prve načine zdravljenja ali pa se je ponovila (24). Primerjali so odzivnost na zdravljenje z ibrutinibom in ofatumomabom pri ponovitvi KLL po zdravljenju. Odzivnost na zdravljenje po enoletnem opazovanju je bila statistično pomembno različna: pri ibrutinibu je bila pri 65 % bolnikov, pri ofatumomabu pa le pri 5 % bolnikov (26).

ZAKLJUČKI

Prepoznavna KLL je v osnovnem zdravstvu zelo preprosta, potrditev bolezni v specializiranem hematološkem laboratoriju pa obvezna. Specialne preiskave odložimo, dokler bolezen ne napreduje in bolnik potrebuje zdravljenje. Z njimi določimo način zdravljenja in predvidimo potek bolezni. Slednje je posebej pomembno za mlajše bolnike s KLL z neugodnimi citogenetskimi kazalci, ki so kandidati za ozdravitev z alogensko presaditvijo KMC.

LITERATURA

1. Černelč P. Kronična limfocitna levkemija. In: Košnik M, Mrevlje F, Štajer D, Koželj M, Černelč P. *Interna medicina*. Ljubljana: Littera Picta d.o.o., Slovensko medicinsko društvo 2011: 1312–1321.
2. Watson L, Wyld P, Catovsky D. Disease burden of chronic lymphocytic leukaemia within the European Union. *Eur J Haematol* 2008; 81 (4): 253–8.
3. Dighiero G, Hamblin T.J. Chronic lymphocytic leukaemia. *Lancet* 2008; 371 (9617): 1017–29.
4. Rak v Sloveniji 2010. Ljubljana: Onkološki inštitut Ljubljana, Epidemiologija in register raka, Register raka Republike Slovenije, 2013: 78.
5. Brandt L. Environmental factors and leukaemia. *Med Oncol Tumor Pharmacother* 1985; 2 (1): 7–10.
6. Rozman C, Montserrat E. Chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med* 1995; 333 (16): 1052–7.
7. Signer RA, Montecino-Rodriguez E, Dorshkind K. Aging, B lymphopoiesis, and patterns of leukemogenesis. *Exp Gerontol* 2007; 42 (5): 391–5.
8. Rodríguez-Vicente AE, Díaz MG, Hernández-Rivas JM. Chronic lymphocytic leukemia: a clinical and molecular heterogeneous disease. *Cancer Genet* 2013; 206 (3): 49–62.
9. Chen J, McMillan NA. Molecular basis of pathogenesis, prognosis and therapy in chronic lymphocytic leukaemia. *Cancer Biol Ther* 2008; 7 (2): 174–9.
10. Calin GA, Croce CM. Genomics of chronic lymphocytic leukemia microRNAs as new players with clinical significance. *Semin Oncol* 2006; 33 (2): 167–73.
11. Chen L, Apgar J, Huynh L, Dicker F, Giago-McGahan T, Rassenti L, et al. ZAP-70 directly enhances IgM signaling in chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2005; 105 (5): 2036–41.
12. Letestu R, Levy V, Eclache V, Baran-Marszak F, Vaur D, Naguib D, et al. Prognosis of Binet stage A chronic lymphocytic leukemia patients: the strength of routine parameters. *Blood* 2010; 116 (22): 4588–90.
13. Sellner L, Dietrich S, Dreger P, Glimm H, Zenz T. Can prognostic factors be used to direct therapy in chronic lymphocytic leukemia? *Curr Hematol Malig Rep* 2012; 7 (1): 3–12.
14. Chiorazzi N. Implications of new prognostic markers in chronic lymphocytic leukemia. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2012; 2012: 76–87.
15. Zenz T, Eichhorst B, Busch R, Denzel T, Habe S, Winkler D, et al. TP53 mutation and survival in chronic lymphocytic leukemia. *J Clin Oncol* 2010; 28 (29): 4473–9.
16. Puente XS, Pinyol M, Quesada V, Conde L, Ordonez GR, Villamor N, et al. Whole-genome sequencing identifies recurrent mutations in chronic lymphocytic leukaemia. *Nature* 2011; 475 (7354): 101–5.
17. NCCN Guidelines Version 2.2013

18. Dicker F, Schnittger S, Haferlach T, Kern W, Schoch C. Immunostimulatory oligonucleotide-induced metaphase cytogenetics detect chromosomal aberrations in 80 % of CLL patients: A study of 132 CLL cases with correlation to FISH, IgVH status, and CD38 expression. *Blood* 2006; 108 (9): 3152–60.
19. Döhner H; German CLL study group (GCLLSG). Chronic lymphocytic leukemia. Genetics of chronic lymphocytic leukemia: genomic aberrations and V(H) gene mutation status in pathogenesis and clinical course. *Leukemia* 2002; 16 (6): 993–1007.
20. Abbot BL Chronic Lymphocytic Leukemia: Recent Advances in Diagnoses and Treatment. *The Oncologist* 2006; 11: 21–30.
21. Uptodate. <http://www.uptodate.com/contents/search>. Doseženo: september 2013
22. Eichhorst B, Fink AM, Busch R, et al. Chemoimmunotherapy with fludarabine (F), cyclophosphamide (C), and rituximab (R) (FCR) versus bendamustine and rituximab (BR) in previously untreated and physically fit patients (pts) with advanced chronic lymphocytic leukemia (cll): results of a planned interim analysis of the CLL10 trial, an international, randomized study of the German CLL study group (GCLLSG). In: *Proceeding of 55th Annual Meeting, 7.–10.12.2013 New Orleans, Abstracts book 2013; abstract 526.*
23. Ysebaert L, Yong A, Stilgenbauer S. Treatment patterns of patients with CLL including patterns of rituximab use by clinicians across five European countries: Real world evaluation utilizing ipsos healthcare survey. *Hematology education. 19th Congress of the European hematology association (EHA); 12–15.6.2014. Milano 2014; P 1275.*
24. http://www.nccn.org/professionals/physician_gls/f_guidelines.asp#site
25. Furman RR, Sharman JP, Coutre SE, Cheson BD, Pagel JM, Hillmen P, et al. Idelalisib and rituximab in relapsed chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med* 2014; 370: 997–1007.
26. Byrd JC, Brown JR, O'Brien S, Barrientos JC, Kay NE, Reddy NM, et al. Ibrutinib versus ofatumumab in previously treated chronic lymphoid leukemia. *N Engl J Med* 2014; 17; 371: 213–23.