

Piotr Stelmach, Jerzy Z. Błoński, Tadeusz Robak

Klinika Hematologii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi, Wojewódzki Szpital Specjalistyczny im. M. Kopernika w Łodzi

# Czynniki prognostyczne w przewlekłej białaczce limfocytowej

Prognostic factors in chronic lymphocytic leukemia

## Adres do korespondencji:

Prof. dr hab. n. med. Tadeusz Robak  
Klinika Hematologii  
Uniwersytet Medyczny  
ul. Ciołkowskiego 2, 93-510 Łódź  
Tel.: +48 (42) 689 51 91  
Faks: +48 (42) 689 51 92  
e-mail: robaktad@csk.umed.lodz.pl

## STRESZCZENIE

Przewlekła białaczka limfocytowa jest nowotworem o znacznej heterogenności przebiegu, co utrudnia wybór odpowiedniego czasu i rodzaju leczenia. Dlatego równolegle z poszukiwaniem i wprowadzaniem nowych leków badania nad tą białaczką koncentrują się na poznaniu jej biologii i ustaleniu nowych czynników prognostycznych. Badania te mają również na celu zaproponowanie nowych systemów prognostycznych łączących cechy biologiczne i kliniczne białaczki, ze szczególnym uwzględnieniem wyników badań cytogenetycznych i molekularnych. Celem niniejszego przeglądu piśmiennictwa jest przedstawienie aktualnego stanu wiedzy na temat znaczenia nowych i przydatności tradycyjnych czynników prognostycznych w przewlekłej białaczce limfocytowej.

**Słowa kluczowe:** CD38, czynniki prognostyczne, czynniki biologiczne, geny immunoglobulinowe, przewlekła białaczka limfocytowa, zaburzenia cytogenetyczne, Zap-70, *IgV<sub>H</sub>*, *TP53*, *BIRC3*, *NOTCH1*, *SF3B*

## ABSTRACT

Chronic lymphocytic leukemia (CLL) is a neoplasm with uniquely heterogeneous course, which still makes it difficult to decide about the onset time and the choice of therapy. For this reason recent research on this disease focus simultaneously on understanding its biology, discovering novel prognostic factors and on incorporating new therapeutic agents in the treatment of CLL. These efforts also aim at proposing new prognostic systems which combine clinical and biological aspects of the disease with special consideration of the results of cytogenetic and molecular tests. In this literature review we present the current knowledge about the value of novel and the applicability of traditional prognostic factors in CLL.

**Key words:** CD38, chronic lymphocytic leukemia, prognostic factors, biologic factors, cytogenetic alterations, immunoglobulin abnormalities, Zap-70, *IgV<sub>H</sub>*, *TP53*, *BIRC3*, *NOTCH1*, *SF3B*

Onkol. Prak. Klin. 2014; 10, 6: 322–329

Onkologia w Praktyce Klinicznej  
2014, tom 10, nr 6, 322–329  
Copyright © 2014 Via Medica  
ISSN 1734–3542  
www.opk.viamedica.pl

## Wstęp

Przewlekła białaczka limfocytowa (CLL, *chronic lymphocytic leukemia*) jest klonalną chorobą charakteryzującą się proliferacją i akumulacją małych limfocytów B z ekspresją CD5 [1]. Komórki te występują we krwi, szpiku kostnym, tkance limfatycznej i innych narządach. Przewlekła białaczka limfocytowa jest najczęściej rozpoznawanym typem białaczki w Europie i Ameryce Północnej z 3–4 nowymi zachorowaniami w ciągu roku wśród 100 tys. osób [2, 3]. Choroba ta występuje najczęściej u osób w wieku podeszłym (81% chorych

przekracza 60. rż.), a średnia wieku chorych wynosi 72 lata [4]. Jednak ostatnio coraz częściej obserwuje się zachorowania u ludzi młodszych [2, 3]. Przewlekła białaczka limfocytowa charakteryzuje się wysoce zmiennym i trudnym do przewidzenia przebiegiem klinicznym, co wynika z jej dużej heterogenności biologicznej. Mimo że jest to choroba łagodna, to tylko u około 30% chorych obserwuje się długie, nawet 10–20-letnie przeżycie. U około 30% pacjentów po pewnym czasie trwania występuje progresja CLL i chorzy ci powinni być wówczas leczeni [1]. U pozostałych chorych białaczka wykazuje od początku agresywny przebieg lub wczesną progresję

po zastosowanej terapii [5]. Rokowanie pogarsza się również w przypadku wystąpienia zespołu Richtera (ok. 10% chorych), czyli transformacji CLL do rozlanego chłoniaka z dużych komórek B [6].

Ze względu na kliniczną heterogenność chorych na CLL duże znaczenie ma identyfikacja czynników rokowniczych w prognozowaniu przebiegu choroby oraz w wyborze optymalnej terapii. Obok mających zastosowanie od wielu lat klasyfikacji Rai i Bineta oraz parametrów laboratoryjnych takich jak czas podwojenia limfocytozy i aktywność dehydrogenazy mleczanowej (LDH, *lactate dehydrogenase*) w ostatnich latach wykazano znaczenie rokownicze nowych markerów. Należą do nich zarówno markery oznaczane w surowicy lub krwi, jak i markery genetyczne wykrywane za pomocą specyficznych testów laboratoryjnych, zwłaszcza fluorescencyjnej hybrydyzacji *in situ* (FISH, *fluorescence in situ hybridization*) [7–10].

## Kliniczne zaawansowanie choroby

Rozpoznanie CLL jest stosunkowo łatwe u większości chorych. Wymagana jest obecność limfocytozy powyżej  $5 \times 10^9/l$  z charakterystyczną koekspresją antygenów B-komórkowych (CD19, CD22, CD23) oraz antygeny T-komórkowego CD5 utrzymującej się przynajmniej przez okres 3 miesięcy [1].

Określenie stopnia zaawansowania choroby ma kluczowe znaczenie w wyborze optymalnego czasu rozpoczęcia leczenia. Rai i wsp. oraz niezależnie Binet i wsp. opracowali w latach 70. XX wieku stosowane do dziś klasyfikacje kliniczne [11, 12]. Podstawą ustalenia stopnia zaawansowania choroby jest w nich ocena przedmiotowa węzłów chłonnych, śledziona i wątroby oraz stopnia niedokrwistości i małopłytkowości. Obie klasyfikacje są przydatne w praktyce klinicznej, dając możliwość przewidywania całkowitego czasu przeżycia chorych oraz określenia konieczności włączenia leczenia po rozpoznaniu choroby. Systemy te nie uwzględniają jednak wyników nowoczesnych badań obrazowych oraz możliwej autoimmunologicznej etiologii niedokrwistości i/lub małopłytkowości. Nie stanowią również czynnika prognostycznego dla progresji u chorego we wczesnym stadium zaawansowania, jak również nie pozwalają przewidzieć odpowiedzi na leczenie [9, 10]. W analizach wielowariantowych uwzględniających nowsze czynniki prognostyczne, w tym głównie genetyczne, okresy te nie stanowią niezależnego czynnika rokowniczego. Obecnie systemy Rai i Bineta służą również do klinicznej retrospektywnej prezentacji porównywanych grup oraz odzwierciedlają naturalną historię CLL. Wykazano, że na czas przeżycia chorych na CLL wpływają następujące parametry kliniczne [13]:

— stopień zaawansowania choroby;

- masa guza;
- stan ogólny chorego;
- odsetek prolimfocytów;
- zajęcie narządów pozawęzłowych;
- stężenie hemoglobiny;
- ocena odpowiedzi na pierwszą linię leczenia.

W ostatnim czasie wprowadzono wiele nowszych czynników przydatnych do wyodrębnienia gorzej rokujących chorych w stopniu zaawansowania A wg Bineta. Należą do nich między innymi aktywność kinazy tymidynowej (TK, *thymidine kinase*) w surowicy, liczba limfocytów we krwi, stężenie  $\beta$ 2-mikroglobuliny oraz ekspresja CD38 [13]. Niezależnie od systemów oceny zaawansowania klinicznego CLL, w praktyce klinicznej wykorzystuje się inne parametry aktywności choroby i masy guza nowotworowego, w tym liczbę limfocytów i czas zdwojenia limfocytozy, surowiczą aktywność LDH oraz rodzaj naciekania szpiku kostnego. Na podstawie klasyfikacji klinicznych chorych na CLL można zakwalifikować do grupy niskiego lub wysokiego ryzyka agresywnego przebiegu białaczki (tab. 1).

## Czas podwojenia limfocytozy

Czas podwojenia limfocytozy (LDT, *lymphocyte doubling time*) jest definiowany jako liczba miesięcy, w których podwaja się bezwzględna liczba limfocytów [14, 15]. Krótki LDT koreluje bezpośrednio z wysokim wskaźnikiem proliferacji i z większą agresywnością choroby. Udowodniono, że wskaźnik ten ma niezależną wartość prognostyczną i jest ściśle związany z zaawansowaniem choroby i stopniem nacieczenia szpiku [16]. Czas podwojenia limfocytozy krótszy niż 6 miesięcy wskazuje na aktywną chorobę i jest jednym z kryteriów, które należy uwzględnić, podejmując decyzję o rozpoczęciu leczenia (kryteria wg *European Society for Medical Oncology*) [17].

## Markery surowicze o znaczeniu klinicznym

Markery surowicze, choć nie są specyficzne dla CLL, dobrze odzwierciedlają aktywność i przebieg choroby. Zalicza się do nich stężenie  $\beta$ 2-mikroglobuliny, aktywność TK w surowicy, LDH i stężenie angiopoetyny 2 (Ang-2) [9, 18].

## Stężenie $\beta$ 2-mikroglobuliny

Beta 2-mikroglobulina jest zewnątrzkomórkowym białkiem wchodzącym w skład kompleksu ludzkich antygenów leukocytarnych (HLA, *human leukocyte*

Tabela 1. Klasyczne i nowsze czynniki prognostyczne w przewlekłej białaczce limfocytowej

Czynnik prognostyczny	Niskie ryzyko	Wysokie ryzyko
Czynniki klasyczne		
System Bineta	A	B, C
Naciekanie szpiku kostnego	Nierozlany	Rozlany
Atypowa morfologia	Nie	Tak
Czas zdwojenia limfocytozy	≤ 12 miesięcy	> 12 miesięcy
Nowsze czynniki prognostyczne		
Markery surowicze*	Prawidłowe	Podwyższone
Kariotyp	Prawidłowy, 13q–	11q–, 17p–
CD38	≤ 30%	> 30%
IgV <sub>H</sub>	Zmutowany	Niezmutowany
ZAP-70	Ujemny	Dodatni

\*β2-mikroglobulina, kinaza tymidynowa, sCD23

*antigeny*) klasy I. Białko to złącza się w największym stopniu z limfocytów, dlatego jest obecne w małych ilościach w osoczu i moczu ludzi zdrowych, a w większym stopniu u chorych na CLL [20, 21]. Stężenie β2-mikroglobuliny stanowi marker aktywności procesów nowotworowych, infekcji [w szczególności wirusa Epsteina-Barr (EBV, *Epstein-Barr virus*) i wirusa cytomegalii (CMV, *cytomegalovirus*)] oraz procesów autoimmunologicznych. U chorych na CLL stężenie β2-mikroglobuliny świadczy o wielkości masy guza, stopniu nacieczenia szpiku oraz aktywności proliferacyjnej komórek białaczkowych [20, 21]. Według badania MD Anderson stężenie β2-mikroglobuliny jest niezależnym negatywnym czynnikiem prognostycznym w odniesieniu do osiągnięcia całkowitej remisji, długości czasu przeżycia oraz czasu bez leczenia wśród chorych na CLL leczonych fludarabiną, cyklofosfamidem oraz rytuksymabem [22]. Analizy wielowariantowe, bez uwzględnienia parametrów genetycznych, nie potwierdzają jednak doniesień, że białko to może stanowić samodzielny znamieny czynnik prognostyczny dla czasu przeżycia chorych na CLL [23].

### Stężenie angiopoetyny 2

W kilku badaniach udowodniono potencjalną wartość prognostyczną nasilenia procesów angiogenezy w CLL. Angiopoetyna 2 jest osoczną cytokiną proangiogenną odgrywającą rolę w modulacji angiogenezy podczas wzrostu guza. Cytokina ta jest ligandem dla cząsteczki Tie2 [24]. Podwyższone stężenie Ang-2 koreluje z krótszym czasem przeżycia oraz krótszym czasem do rozpoczęcia leczenia [25]. Opisywana jest też zależność wysokiego stężenia Ang-2 z dużym stopniem zaawansowania choroby, wysokim stężeniem β2-mikroglobuliny, brakiem mutacji IgV<sub>H</sub> oraz niekorzystną cytogenetyką [25].

### Aktywność kinazy tymidynowej

Kinaza tymidynowa bierze udział w syntezie nici DNA i wykazuje istotną korelację z aktywnością proliferacyjną w CLL. Wyniki kilku badań potwierdziły prognostyczne znaczenie aktywności tego enzymu u pacjentów z chorobami limfoproliferacyjnymi. W CLL aktywność TK koreluje nie tylko ze stopniem zaawansowania według klasyfikacji Raia, lecz także z biologią choroby, co pozwala na zróżnicowanie formy indolentnej od agresywnej [26–28]. Wykazano również, że aktywność TK w osoczu może być niezależnym czynnikiem prognostycznym czasu trwania choroby bez progresji i może uzupełnić definicję indolentnej choroby w jej wczesnym okresie [29, 30]. Nie wiadomo jednak, czy aktywność TK może być wykorzystywana do przewidywania czasu trwania odpowiedzi na leczenie oraz czasu przeżycia pacjentów. Raimondo i wsp. badali aktywność TK u 188 pacjentów z progresywną lub zaawansowaną CLL leczonych fludarabiną. Aktywność TK w surowicy była zwiększona u 92% pacjentów i jej stopień korelował z okresem klinicznym choroby i innymi parametrami masy guza (limfocytoza, komórkowość szpiku). Autorzy udowodnili, że aktywność tego enzymu pozwala przewidzieć odpowiedź na leczenie i czas przeżycia pacjentów. U 83% chorych z aktywnością TK poniżej 10 j./l stwierdzono częściową lub całkowitą remisję po podaniu fludarabiny, podczas gdy tylko u 45% chorych z aktywnością TK powyżej 10 j./l stwierdzono odpowiedź na leczenie [31, 32]. W innych badaniach wykazano, że u chorych na CLL aktywność TK w surowicy stanowi niezależny czynnik prognostyczny, w szczególności u chorych z zaawansowaniem A według Bineta. Hallek i wsp. sugerują, że ta grupa chorych powinna być dodatkowo klasyfikowana według aktywności TK [29, 30]. Grupa z TK powyżej 7,1 j./l wykazywała średni czas do progresji około 8 miesięcy (chorzy z zaawansowaniem A wg Bineta, z grupy wysokiego ryzyka), podczas gdy u chorych z aktywnością enzymu poniżej 7,1 j./l czas ten

wynosił 49 miesięcy (chorzy w okresie Binet A z grupy niskiego ryzyka). Autorzy ci wykazali, że tylko trzy parametry mogą być wykorzystane jako niezależne czynniki prognostyczne dla oceny czasu wolnego od progresji (PFS, *progression free survival*): aktywność TK ponad 7,1 j./l, obecność limfadenopatii oraz limfocytoza powyżej  $75 \times 10^9/l$ . Matthews i wsp. porównywali aktywność TK z innymi parametrami związanymi z gorszym rokowaniem: brakiem mutacji części zmiennej genu łańcucha ciężkiego immunoglobulin ( $IgV_H$ ), niekorzystnymi aberracjami chromosomowymi, zwiększoną ekspresją ZAP-70 oraz zwiększoną ekspresją CD38. Oceniano również możliwość wyodrębnienia z grupy niskiego ryzyka chorych, u których prawdopodobieństwo progresji choroby jest większe, oraz z grupy wysokiego ryzyka chorych, którzy mają mniejsze prawdopodobieństwo progresji CLL. Wykazano, że aktywność TK była znacznie większa u chorych bez mutacji  $IgV_H$  oraz z trisomią 12, del11q23 i del17p13. Mediana aktywności TK u chorych z prawidłowym kariotypem wynosiła 7,85 j./l, co sugeruje, że chorzy ci pomimo braku niekorzystnych mutacji chromosomowych mogą się znaleźć w grupie z wyższym ryzykiem progresji. Podobne wyniki uzyskano, uwzględniając stan mutacji  $IgV_H$ . Wykazano, że chorzy z obecnością mutacji oraz aktywnością TK powyżej 8,5 j./l mają znacznie zwiększone ryzyko progresji [33]. Konoplev i wsp. zwracają uwagę, że podobnie do wysokiej ekspresji CD38 i ZAP-70 aktywność TK może pośrednio wskazywać na obecności lub brak mutacji  $IgV_H$  [34]. Magnac i wsp. również oceniali korelację aktywności TK w osoczu z obecnością mutacji  $IgV_H$ . Badając parametry takie jak aktywność LDH, stężenie  $\beta$ 2-mikroglobuliny oraz ekspresję CD38, stwierdzili, że jedynie zwiększona aktywność TK jest niezależnym wykładnikiem braku mutacji [35]. Zależność między wysoką aktywnością TK a klasycznymi oraz nowymi niekorzystnymi czynnikami rokowniczymi opisali również inni autorzy [36].

## Antygeny komórkowe i czynniki genetyczne

Zastosowanie nowych metod w badaniach genetycznych, takich jak FISH, reakcja łańcuchowej polimerazy (PCR, *polymerase chain reaction*) czy techniki mikromacierzy, spowodowały znaczący postęp w poznaniu biologii i heterogenności klinicznej CLL, jak również stworzyły nowe możliwości prognozowania jej przebiegu i wyboru optymalnej terapii tej choroby.

### Ekspresja CD38 i ZAP-70

Metoda cytometrii przepływowej pozwala nie tylko na określenie fenotypu limfocytów białaczkowych w ce-

lach diagnostycznych, ale także oznaczenie antygenów komórkowych o znaczeniu prognostycznym, w tym zwłaszcza CD38 i ZAP-70 (*70-kDa zeta associated protein*) [37–43]. Ekspresja CD38 i ZAP-70 koreluje z obecnością niezmutowanego genu  $IgV_H$  i dlatego zostały one uznane przez wielu autorów za niezależne niekorzystne czynniki prognostyczne dla czasu przeżycia oraz czasu do progresji, a ich ocena może być przydatna w podjęciu decyzji o rozpoczęciu leczenia.

CD38 jest ektoenzymem biorącym udział w adhezji, przekazywaniu sygnałów międzykomórkowych oraz regulacji stężenia wapnia wewnątrzkomórkowego [38]. Wykazano zwiększoną ekspresję CD38 na klonach komórek o wysokiej aktywności proliferacyjnej. Opisywana jest także zależność między ekspresją CD38 na komórkach CLL a wysokim indeksem proliferacyjnym Ki67 oraz większą aktywnością ZAP-70 [39]. Klony CD38 dodatkowo częściej wchodzi w cykl podziału mitotycznego oraz wykazują nadekspresję czynnika wzrostu śródbłonna naczyniowego (VEGF, *vascular endothelial growth factor*). Wysoka ekspresja CD38 wraz ze zwiększoną gęstością naczyń w węzłach chłonnych koreluje z intensywną proliferacją limfocytów oraz dużym ryzykiem progresji choroby [40]. Jako wartość odcięcia związaną z niekorzystnym rokowaniem przyjmuje się ekspresję CD38 na ponad 30% komórek białaczkowych. Jednak niektórzy badacze uznają poziom 7% jako wartość graniczną [38]. Inni autorzy udowadniają nawet, że istotna różnica w przebiegu CLL występuje jedynie między chorymi z zerową ekspresją CD38 w porównaniu z chorymi z ekspresją antygeny na jakimkolwiek odsetku komórek [38, 39]. Ocena ekspresji CD38 jest użytecznym badaniem, ponieważ pozostaje zazwyczaj stabilna w czasie, nawet po podaniu chemioterapii. W niektórych przypadkach rosnąca ekspresja CD38 może poprzedzać progresję choroby.

ZAP-70 jest kinazą tyrozynową związaną z przekazywaniem sygnałów między komórkami T [41]. Wykazano, że ekspresja ZAP-70 poniżej 20% wiąże się z mniejszym prawdopodobieństwem progresji choroby oraz dłuższym czasem przeżycia. W większości laboratoriów badanie ZAP-70 uważa się za dodatnie, gdy przynajmniej 20% komórek CLL ma silniejszy sygnał od sygnału tła [42]. Należy jednak podkreślić, że dotychczas nie ma wystandardyzowanych metod oznaczania ekspresji ZAP-70 u chorych na CLL, co utrudnia szersze wykorzystanie tego czynnika w praktyce klinicznej.

### Mutacje genu kodującego region zmienny łańcucha ciężkiego immunoglobulin

U połowy chorych na CLL komórki nowotworowe wywodzą się z klonu limfocytów pamięci ze zmutowanym

łańcuchem immunoglobulin (Ig), który musiał zetknąć się z centrami rozrodczymi grudek chłonnych. U pozostałych chorych komórki CLL wywodzą się z dziewiczych limfocytów, które nie podlegały nigdy ekspozycji na antygen w centrach rozrodczych, a co za tym idzie, nie dokonała się w nich somatyczna mutacja genów Ig. Analiza mutacji  $IgV_H$  opiera się na metodzie PCR porównującej sekwencję DNA genu  $IgV_H$  białaczkowych limfocytów B z sekwencją komórek macierzystych. Gdy sekwencja DNA różni się w więcej niż 2%, uważa się ją za zmutowaną [42–44]. Stwierdzenie mutacji genu  $IgV_H$  wiąże się z dłuższym czasem do rozpoczęcia leczenia oraz lepszym rokowaniem. Zależność ta nie dotyczy chorych posiadających segment genu  $VH3-21$ , który mimo że należy do grupy mutacji, jest związany z większą częstością dysfunkcji p53 i gorszym przeżyciem [45, 56]. Brak mutacji genu  $IgV_H$  koreluje z wysoką ekspresją CD38 i ZAP-70 oraz niekorzystną cytogenetyką [32]. Analiza czasu przeżycia chorych bez ekspresji ZAP-70 i CD38 z obecnością mutacji genu  $IgV_H$  wykazała średnie przeżycie ponad 13 lat, natomiast czas przeżycia chorych ZAP-70 pozytywnych/CD38 pozytywnych bez mutacji genu  $IgV_H$  wynosił poniżej 5,5 roku [47, 48].

## Anomalie chromosomalne

Prognostyczne znaczenie zaburzeń chromosomalnych ocenianych klasycznymi metodami cytogenetycznymi wykazano już na początku lat 80. XX wieku. Jednak ze względu na bardzo małą aktywność podziałową komórek CLL nie udawało się uzyskać dostatecznej liczby metafaz dla wiarygodnej oceny tych anomalii. Zastosowanie techniki interfazowego FISH pozwoliło jednakże wykrywać wybrane aberracje u większości chorych na CLL, również w spoczynkowych limfocytach. Badanie z użyciem sond do hybrydyzacji *in situ* podczas rozpoznania wykazało występowanie aberracji u około 80% chorych na CLL i inny ich rozkład w porównaniu z klasyczną cytogenetyką [49–51]. U około 55% chorych na CLL podczas rozpoznania choroby występuje del 13q. U około 18% chorych stwierdza się del 11q, u 16% trisomię +12 i u 3–8% chorych — del 17p [49]. Odsetek chorych z delecją 17p wśród pacjentów opornych na chemioterapię wzrasta do 30% [52, 53].

Najczęstszą anomalią cytogenetyczną w CLL jest delecja 13q14. Jej obecność wiąże się bardzo dobrym rokowaniem, gdy jest jedyną mutacją, lepszym niż u chorych z prawidłowym kariotypem [49].

Delecja 17p jest najbardziej niekorzystnym czynnikiem prognostycznym. Obejmuje ona całe ramię p chromosomu 17 albo jest ograniczona do regionu 17p13.1, w którym znajduje się gen  $TP53$ . Mutacja tego genu również stanowi niekorzystny czynnik prognostyczny [53, 55]. Gen ten ma regulujący wpływ na cykl komórkowy

poprzez jego hamowanie oraz umożliwianie naprawy zakumulowanego uszkodzonego DNA lub indukcję apoptozy [55, 56]. Chorzy z del(17p) często mają inne wykładniki gorszego rokowania, w tym niezmutowany gen dla  $IgV_H$ , wysoką ekspresję CD38 oraz ZAP-70 [59, 60]. Wykazano, że częstość delecji 17p wzrasta u chorych w okresie progresji. Delecja ta występuje u 1/3 chorych z zespołem Richtera [61, 62]. Stwierdzono ponadto, że 40% pacjentów opornych na chemioterapię ma zmutowany gen  $TP53$ . U pacjentów z delecją 17p przebieg choroby jest agresywny, odsetek odpowiadających na standardowe leczenie bardzo mały, a czas przeżycia — krótki. W badaniach przeprowadzonych przez Zenza i wsp. wykazano, że żaden z pacjentów z mutacją genu  $TP53$  nie uzyskał całkowitej remisji po leczeniu analogami puryn, a mediana przeżycia wynosiła tylko 29 miesięcy [60].

Delecji 11q23 towarzyszy utrata genu  $ATM$  (*ataxia telangiectasia mutated*). Białko, które jest produktem tego genu, również uczestniczy w procesach regulacji podziału komórkowego oraz procesach naprawy DNA [64]. Chorzy z delecją 11q23 wykazują też gorsze rokowanie i konieczność wczesnego rozpoczęcia leczenia [50, 65]. Anomalia ta częściej występuje u młodych chorych z brakiem mutacji  $IgV_H$  i znaczną limfadenopatią [50].

U chorych z trisomią 12 występują atypowe limfocyty z nieregularnym jądrem komórkowym. W badaniu immunofenotypowym obserwuje się czasem utratę ekspresji CD5 lub ekspresję FMC7. Znaczenie kliniczne trisomii 12 jest dyskusyjne. Wskazuje się raczej na jej pośrednie rokowanie, z dobrą reakcją na leczenie i długim czasem wolnym od progresji [66–68].

## Nowe mutacje genowe

W ostatnim czasie wykryto kilka nowych mutacji genowych, które mają znaczenie rokownicze w CLL. Należą do nich mutacje genów  $NOTCH1$ ,  $SF3B1$  i  $BIRC3$ . Stosując metody sekwencjonowania genów nowych generacji, mutacje  $NOTCH1$  i  $SF3B1$  stwierdzono u 10–15% chorych na CLL [69, 70]. W badaniach zaproponowanych przez grupę *European Research Initiative on chronic lymphocytic leukemia* (ERIC) analizowano 3490 chorych na CLL w okresie rozpoznania i przed rozpoczęciem leczenia pod kątem występowania mutacji genów mogących mieć znaczenie prognostyczne [71]. Mutacja  $BIRC3$  występowała u 2,5% chorych i była powiązana z niezmutowanym genem  $IgV_H$ , del(11q) i trisomią 12.  $NOTCH1$ ,  $SF3B1$  i  $TP53$  identyfikowano głównie u pacjentów z agresywnym przebiegiem choroby. Stwierdzono ponadto korelację występowania tych mutacji z krótszym czasem do rozpoczęcia leczenia u wcześniej nieleczonych chorych w okresie klinicznym A według Bineta. W analizie wielowariancyjnej 774 chorych mutacje

*SF3B1* i *TP53* wspólnie z *del(11q)* i niezmutowanym genem *IgV<sub>H</sub>* pozostawały niezależnymi negatywnymi czynnikami prognostycznymi. Mutacje *TP53* i *SF3B1* miały niekorzystne znaczenie prognostyczne nawet u chorych z niezmutowanym genem *IgV<sub>H</sub>*. W innym badaniu chorzy z mutacją *NOTCH1* wykazywali znamienne krótsze przeżycie po leczeniu fludarabiną i rytuksymabem [72]. Rossi i wsp. proponują wykorzystanie mutacji *TP53*, *BIRC3*, *NOTCH1* i *SF3B* w modelu prognostycznym chorych na CLL [69]. Wyodrębnia się w nim 4 grupy ryzyka: wysokiego — *TP53* i/lub *BIRC3*, pośredniego — *NOTCH1* i/lub *SF3B1*, i/lub *del 11q*, niskiego — trisomia 12 lub prawidłowa cytogenetyka i bardzo niskiego — *del 13q*. W grupie 1273 chorych na CLL udowodniono większą siłę prognostyczną tego modelu w porównaniu z klasycznym modelem cytogenetycznym Dohnera.

## Implikacje kliniczne

W ostatnich latach podjęto próby klinicznego wykorzystania nowych czynników prognostycznych. W 2007 roku grupa z MD Anderson Cancer Center zaproponowała model prognostyczny dla CLL, biorąc pod uwagę wiek chorego, stężenie  $\beta 2$ -mikroglobuliny, limfocytozę, płeć, stopień zaawansowania według Raia oraz liczbę zajętych grup węzłów chłonnych. Ze względu na wartości wymienionych parametrów przyznaje się od 1 do 3 punktów. Sumując punkty, chorych podzielono na 3 grupy ryzyka: niskiego (liczba punktów 1–3), pośredniego (liczba punktów 4–7) i wysokiego (liczba punktów powyżej 8) [15].

Montillo i wsp. dzielą chorych na CLL w okresie A i B według Bineta bez objawów ogólnych na dwie grupy na podstawie oceny 4 czynników prognostycznych, *del11q* lub *del17p*, braku mutacji *IgV<sub>H</sub>*, aktywności TK powyżej 10 j./l oraz czasu podwojenia limfocytozy krótszego niż 12 miesięcy. U chorych z dwoma lub więcej z wyżej wymienionych czynników autorzy sugerują rozpoczęcie leczenia, najlepiej według schematu FCR (fludarabina, cyklofosfamid, rytuksymab). Jednak ze

względów ekonomicznych i metodologicznych bardziej przydatny może być schemat postępowania zaproponowany przez Letestu i wsp. [74]. Autorzy ci wykazali, że ocena aktywności TK może być jednym z kluczowych parametrów klasyfikujących chorych w stadium A według Bineta do grupy wysokiego lub niskiego ryzyka. Sugerują możliwość wcześniejszego włączenia leczenia u części chorych z grupy niskiego ryzyka, u których aktywność TK jest wysoka i istnieje większe prawdopodobieństwo progresji [74].

Na uwagę zasługuje również model rokowniczy zaproponowany niedawno przez Pfluga i wsp. [75]. Badacze analizowali prospektywnie 23 markery prognostyczne u 1948 chorych z 3 randomizowanych badań prowadzonych przez *German CLL Study Group*. Za pomocą modelu wielowariantowej regresji Coxa oceniono wpływ 8 niezależnych czynników prognostycznych dla całkowitego przeżycia, w tym wiek, płeć, stan ogólny według *Eastern Cooperative Oncology Group* (ECOG), *del(17p)*, *del(11q)*, stan mutacji *IgV<sub>H</sub>*, stężenie  $\beta 2$ -mikroglobuliny i aktywność TK w surowicy. Ustalono następującą liczbę punktów dla poszczególnych parametrów: *del(17p)* — 6, stężenie  $\beta 2$ -mikroglobuliny powyżej 3,5 mg/l — 2, aktywność TK ponad 10,0 j./l — 2, wiek ponad 60 lat — 1, płeć męska — 1, stan ogólny według ECOG powyżej 0 — 1, *del(11q)* — 1 i niezmutowany *IgV<sub>H</sub>* — 1 punkt. Opracowano indeks prognostyczny, wyodrębniając 4 kategorie ryzyka: małe (0–2 punkty), pośrednie (3–5 punktów), duże (6–10 punktów) i bardzo duże (11–14 punktów) z malejącym prawdopodobieństwem 5-letniego przeżycia od 95,2% do 18,7% (tab. 2).

## Podsumowanie

Przewlekła białaczka limfocytowa charakteryzuje się dużą heterogennością przebiegu klinicznego i różnorodnym rokowaniem u poszczególnych chorych. W praktyce klinicznej przebieg choroby można przewidywać na podstawie stopnia zaawansowania w chwili rozpoznania, określonego według klasyfikacji Raia lub klasyfikacji

Tabela 2. Prawdopodobieństwo 5-letniego przeżycia chorych na przewlekłą białaczkę limfocytową w zależności od indeksu rokowniczego\* (wg [75])

Ryzyko	Liczba punktów	Prawdopodobieństwo 5-letniego przeżycia chorych z badań Grupy Niemieckiej (%)	Prawdopodobieństwo 5-letniego przeżycia chorych z Kliniki Mayo (%)
Małe	0–2	95,2	95,2
Pośrednie	3–5	86,9	91,4
Duże	6–10	67,6	71,7
Bardzo duże	11–14	18,7	13,6

\*Liczba punktów dla poszczególnych czynników prognostycznych: *del(17p)* — 6, stężenie  $\beta 2$ -mikroglobuliny > 3,5 mg/l — 2, aktywność TK > 10,0 j./l — 2, wiek > 60 lat — 1, płeć męska — 1, stan ogólny wg ECOG > 0 — 1, *del(11q)* — 1 i niezmutowany *IgV<sub>H</sub>* — 1 punkt

Bineta. Jednak w ostatnich latach coraz większego znaczenia nabierają nowsze czynniki prognostyczne, oparte na biologii choroby. Pozwalają one w coraz większym stopniu ocenić ryzyko progresji CLL i ustalić optymalne leczenie. Największe znaczenie ma obecność del 17p i mutacja *TP53*, które pozwalają przewidzieć złą odpowiedź na chemioterapię i konieczność modyfikacji podejścia terapeutycznego już w pierwszej linii leczenia.

*Praca finansowana z grantu Uniwersytetu Medycznego w Łodzi No 503/1-093-01/503-1*

## Piśmiennictwo

- Hallek M., Cheson D., Catovsky D. i wsp. 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: 5446–5456.
- Siegel R., Ma J., Zou Z., Jemal A. Cancer statistics, 2014. *CA Cancer J. Clin.* 2014; 64 (1): 9–29.
- Redaelli A., Laskin B.L., Stephens J.M. i wsp. The clinical and epidemiological burden of chronic lymphocytic leukaemia. *Eur. J. Cancer Care* 2004; 13: 279–267.
- Robak T. Przewlekła białaczka limfocytowa u ludzi starszych. *Acta Haematol. Pol.* 2013; 44 (2): 93–98.
- Dighiero G., Binet J.L. When and how to treat chronic lymphocytic leukemia. *N. Engl. J. Med.* 2000; 343 (24): 1700–1703.
- Robak T., Hus I., Błoński J. i wsp. Rekomendacje diagnostyczne i terapeutyczne dla przewlekłej białaczki limfocytowej w 2014 r. — raport Grupy Roboczej PTHIT oraz PALG–CLL. *Acta Haematol. Pol.* 2014, <http://dx.doi.org/10.1016/j.achaem.2014.07.001>.
- Robak T. New horizons in the treatment of chronic lymphocytic leukemia. *Acta Haematol. Pol.* 2014; 45 (2): 122–131.
- Robak T. Przeciwciała monoklonalne w leczeniu przewlekłej białaczki limfocytowej. Monoclonal antibodies for the treatment of chronic lymphocytic leukemia. *Acta Haematol. Pol.* 2012; 43 (2 PART A): 99–106.
- Cramer P., Hallek M. Prognostic factors in chronic lymphocytic leukemia — what do we need to know? *Nat. Rev. Clin. Oncol.* 2011; 8 (1): 38–47.
- Bazargan A., Tam C.S., Keating M.J. Predicting survival in chronic lymphocytic leukemia. *Expert Rev. Anticancer Ther.* 2012; 12 (3): 393–403.
- Rai K.R., Sawitsky A., Cronkite E.P., Chanana A.D., Levy R.N., Pasternack B.S. Clinical staging of chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 1975; 46 (2): 219–234.
- Binet J.L., Auquier A., Dighiero G. i wsp. A new prognostic classification of chronic lymphocytic leukemia derived from a multivariate survival analysis. *Cancer* 1981; 48 (1): 198–206.
- Elizabeth M., Sagatys M.D., Ling Zhang M.D. Clinical and laboratory prognostic indicators in chronic lymphocytic leukemia. *Cancer Control* 2012; 19 (1): 18–25.
- Montserrat E., Sanchez-Bisono J., Vinolas N. i wsp. Lymphocyte doubling time in chronic lymphocytic leukaemia: analysis of its prognostic significance. *Br. J. Haematol.* 1986; 62 (3): 567–575.
- Molica S., Alberti A. Prognostic value of the lymphocyte doubling time in chronic lymphocytic leukemia. *Cancer* 1987; 60 (11): 2712–2716.
- Geisler C., Ralfkiaer E., Hansen M.M. i wsp. The bone marrow histological pattern has independent prognostic value in early stage chronic lymphocytic leukaemia. *Br. J. Haematol.* 1986; 62 (1): 47–54.
- Eichhorst B., Dreyling M., Robak T., Montserrat E., Hallek M. Chronic lymphocytic leukemia: ESMO clinical practice guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann. Oncol.* 2011; 22 (supl. 6): vi 50–54.
- Van Bockstaele F., Verhasselt B., Philippe J. Prognostic markers in chronic lymphocytic leukemia: a comprehensive review. *Blood Rev.* 2009; 23 (1): 25–47.
- Elizabeth M., Sagatys M.D., Ling Zhang M.D. Clinical and laboratory prognostic indicators in chronic lymphocytic leukemia. *Cancer Control* 2012; 19 (1): 18–25.
- Delgado J., Pratt G., Phillips N. i wsp. Beta2-microglobulin is a better predictor of treatment-free survival in patients with chronic lymphocytic leukaemia if adjusted according to glomerular filtration rate. *Br. J. Haematol.* 2009; 145 (6): 801–805.
- Molica S., Levato D., Cascavilla N., Levato L., Musto P. Clinico-prognostic implications of simultaneous increased serum levels of soluble CD23 and beta2-microglobulin in B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Eur. J. Haematol.* 1999; 62 (2): 117–122.
- Tsimberidou A.M., Wen S., O'Brien S. i wsp. Assessment of chronic lymphocytic leukemia and small lymphocytic lymphoma by absolute lymphocyte counts in 2,126 patients: 20 years of experience at the University of Texas M.D. Anderson Cancer Center. *J. Clin. Oncol.* 2007; 25 (29): 4648–4656.
- Wierda W.G., O'Brien S., Wang X. i wsp. Prognostic nomogram and index for overall survival in previously untreated patients with chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2007; 109 (11): 4679–4685.
- Maisonpierre P.C., Suri C., Jones P.F. i wsp. Angiopoietin-2, a natural antagonist for Tie2 that disrupts in vivo angiogenesis. *Science* 1997; 277 (5322): 55–60.
- Vrbáček F., Smolej L., Vroblova V. i wsp. Angiopoietin-2 mRNA expression is increased in chronic lymphocytic leukemia patients with poor prognostic features. *Hematology* 2010; 15 (4): 210–214.
- Gronowitz J.S., Hagberg H., Kallander C.F., Simonsson B. The use of serum deoxythymidine kinase as a prognostic marker, and in the monitoring of patients with non-Hodgkin's lymphoma. *Br. J. Cancer* 1983; 47 (4): 487–495.
- Suki S., Swan F. Jr, Tucker S. i wsp. Risk classification for large cell lymphoma using lactate dehydrogenase, beta-2 microglobulin, and thymidine kinase. *Leuk Lymphoma* 1995; 18 (1–2): 87–92.
- Kallander C.F., Simonsson B., Hagberg H., Gronowitz J.S. Serum deoxythymidine kinase gives prognostic information in chronic lymphocytic leukemia. *Cancer* 1984; 54 (11): 2450–2455.
- Hallek M., Langenmayer I., Nerl C. i wsp. Elevated serum thymidine kinase levels identify a subgroup at high risk of disease progression in early, non-smoldering chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 1999; 93 (5): 1732–1737.
- Hallek M., Wanders L., Ostwald M. i wsp. Serum beta(2)-microglobulin and serum thymidine kinase are independent predictors of progression-free survival in chronic lymphocytic leukemia and immunocytoma. *Leuk. Lymphoma* 1996; 22 (5–6): 439–447.
- Di Raimondo F., Giustolisi R., Lerner S. i wsp. Retrospective study of the prognostic role of serum thymidine kinase level in CLL patients with active disease treated with fludarabine. *Ann. Oncol.* 2001; 12 (5): 621–625.
- Konoplev S.N., Fritsche H.A., O'Brien S. i wsp. High serum thymidine kinase 1 level predicts poorer survival in patients with chronic lymphocytic leukemia. *Am. J. Clin. Pathol.* 2010; 134 (3): 472–477.
- Matthews C., Catherwood M.A., Morris T.C. i wsp. Serum TK levels in CLL identify Binet stage A patients within biologically defined prognostic subgroups most likely to undergo disease progression. *Eur. J. Haematol.* 2006; 77 (4): 309–317.
- Konoplev S.N., Fritsche H.A., O'Brien S. i wsp. High serum thymidine kinase 1 level predicts poorer survival in patients with chronic lymphocytic leukemia. *Am. J. Clin. Pathol.* 2010; 134 (3): 472–477.
- Magnac C., Porcher R., Davi F. i wsp. Predictive value of serum thymidine kinase level for Ig-V mutational status in B-CLL. *Leukemia* 2003; 17 (1): 133–137.
- Xu W., Cao X., Miao K.R. i wsp. Serum thymidine kinase 1 concentration in Chinese patients with chronic lymphocytic leukemia and its correlation with other prognostic factors. *Int. J. Hematol.* 2009; 90 (2): 205–211.
- Chevallier P., Penther D., Avet-Loiseau H. i wsp. CD38 expression and secondary 17p deletion are important prognostic factors in chronic lymphocytic leukaemia. *Br. J. Haematol.* 2002; 116 (1): 142–150.
- Deaglio S., Vaisitti T., Serra S. i wsp. CD38 in chronic lymphocytic leukemia: from bench to bedside? *Mini Rev. Med. Chem.* 2011; 11 (6): 503–507.
- Damle R.N., Temburni S., Calissano C. i wsp. CD38 expression labels an activated subset within chronic lymphocytic leukemia clones enriched in proliferating B cells. *Blood* 2007; 110 (9): 3352–3359.
- Molica S., Cutrona G., Vitelli G. i wsp. Markers of increased angiogenesis and their correlation with biological parameters identifying high-risk patients in early B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Leuk. Res.* 2007; 31 (11): 1575–1578.
- Wiestner A., Rosenwald A., Barry T.S. i wsp. ZAP-70 expression identifies a chronic lymphocytic leukemia subtype with unmutated immunoglobulin genes, inferior clinical outcome, and distinct gene expression profile. *Blood* 2003; 101 (12): 4944–4951.
- Crespo M., Bosch F., Villamor N. i wsp. ZAP-70 expression as a surrogate for immunoglobulin-variable-region mutations in chronic lymphocytic leukemia. *N. Engl. J. Med.* 2003; 348 (18): 1764–1775.

43. Damle R.N., Wasil T., Fais F. i wsp. Ig V gene mutation status and CD38 expression as novel prognostic indicators in chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 1999; 94 (6): 1840–1847.
44. Hamblin T.J., Davis Z., Gardiner A. i wsp. Unmutated Ig V(H) genes are associated with a more aggressive form of chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 1999; 94 (6): 1848–1854.
45. Lin K., Manocha S., Harris R.J. i wsp. High frequency of p53 dysfunction low level of VH mutation in chronic lymphocytic leukemia patients using the VH3-21 gene segment. *Blood* 2003; 102 (3): 1145–1146.
46. Tobin G., Thunberg U., Johnson A. i wsp. Somatically mutated IgV(H)3-21 genes characterize a new subset of chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2002; 99 (6): 2262–2264.
47. Morilla A., Gonzalez de Castro D., Del Giudice I. i wsp. Combinations of ZAP-70, CD38 and IGHV mutational status as predictors of time to first treatment in CLL. *Leuk. Lymphoma* 2008; 49 (11): 2108–2115.
48. Rosenquist R., Cortese D., Bhoi S., Mansouri L., Gunnarsson R. Prognostic markers and their clinical applicability in chronic lymphocytic leukemia: where do we stand? *Leuk. Lymphoma* 2013; 54 (11): 2351–2364.
49. Dohner H., Stilgenbauer S., Benner A. i wsp. Genomic aberrations and survival in chronic lymphocytic leukemia. *N. Engl. J. Med.* 2000; 343 (26): 1910–1916.
50. Dohner H., Stilgenbauer S., James M.R. i wsp. 11q deletions identify a new subset of B-cell chronic lymphocytic leukemia characterized by extensive nodal involvement and inferior prognosis. *Blood* 1997; 89 (7): 2516–2522.
51. Malcikova J., Smardova J., Rocnova L. i wsp. Monoallelic and biallelic inactivation of TP53 gene in chronic lymphocytic leukemia: selection, impact on survival, and response to DNA damage. *Blood* 2009; 114 (26): 5307–5314.
52. Wawrzyniak E., Kotkowska A., Blonski J.Z. i wsp. Clonal evolution in CLL patients as detected by FISH versus chromosome banding analysis, and its clinical significance. *Eur. J. Haematol.* 2014; 92 (2): 91–101.
53. Stilgenbauer S., Zenz T., Winkler D. i wsp. Subcutaneous alemtuzumab in fludarabine-refractory chronic lymphocytic leukemia: clinical results and prognostic marker analyses from the CLL2H study of the German Chronic Lymphocytic Leukemia Study Group. *J. Clin. Oncol.* 2009; 27 (24): 3994–4001.
54. Zainuddin N., Murray F., Kanduri M. i wsp. TP53 Mutations are infrequent in newly diagnosed chronic lymphocytic leukemia. *Leuk. Res.* 2011; 35 (4): 272–274.
55. Zenz T., Krober A., Scherer K. i wsp. Monoallelic TP53 inactivation is associated with poor prognosis in chronic lymphocytic leukemia: results from a detailed genetic characterization with long-term follow-up. *Blood* 2008; 112 (8): 3322–3329.
56. Krober A., Seiler T., Benner A. i wsp. V(H) mutation status, CD38 expression level, genomic aberrations, and survival in chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2002; 100: 1410–1416.
57. Quesada V., Conde L., Villamor N. i wsp. Exome sequencing identifies recurrent mutations of the splicing factor SF3B1 gene in chronic lymphocytic leukemia. *Nat. Genet.* 2012; 44 (1): 47–52.
58. Parker H., Rose-Zerilli M.J., Parker A. i wsp. 13q deletion anatomy and disease progression in patients with chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia* 2011; 25 (3): 489–497.
59. Dicker F., Herolz H., Schnittger S. i wsp. The detection of TP53 mutations in chronic lymphocytic leukemia independently predicts rapid disease progression and is highly correlated with a complex aberrant karyotype. *Leukemia* 2009; 23 (1): 117–124.
60. Zenz T., Vollmer D., Trbusek M. i wsp. TP53 mutation profile in chronic lymphocytic leukemia: evidence for a disease specific profile from a comprehensive analysis of 268 mutations. *Leukemia* 2010; 24 (12): 2072–2079.
61. Dohner H., Fischer K., Bentz M. i wsp. p53 gene deletion predicts for poor survival and non-response to therapy with purine analogs in chronic B-cell leukemias. *Blood* 1995; 85 (6): 1580–1589.
62. Fenaux P., Preudhomme C., Lai J.L. i wsp. Mutations of the p53 gene in B-cell chronic lymphocytic leukemia: a report on 39 cases with cytogenetic analysis. *Leukemia* 1992; 6 (4): 246–250.
63. National Center for Biotechnology Information USNLoM. The p53 tumor suppressor protein. *Genes and Diseases*. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/bookshelf/br.fcgi?book=gnd&part=thep53tumorsuppressorprotein>. Dostęp: 24 maja 2011.
64. National Center for Biotechnology Information USNLoM. ATM ataxia telangiectasia mutated [Homo sapiens]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/472>. Dostęp: 24 maja 2011.
65. Dohner H., Stilgenbauer S., James M.R. i wsp. 11q deletions identify a new subset of B-cell chronic lymphocytic leukemia characterized by extensive nodal involvement and inferior prognosis. *Blood* 1997; 89 (7): 2516–2522.
66. Juliusson G., Oscier D.G., Fitchett M. i wsp. Prognostic subgroups in B-cell chronic lymphocytic leukemia defined by specific chromosomal abnormalities. *N. Engl. J. Med.* 1990; 323 (11): 720–724.
67. Gunnarsson R., Mansouri L., Isaksson A. i wsp. A ray-based genomic screening at diagnosis and during follow-up in chronic lymphocytic leukemia. *Haematologica* 2011; 96 (8): 1161–1169.
68. Montillo M., Hamblin T., Hallek M., Montserrat E., Morra E. Chronic lymphocytic leukemia: novel prognostic factors and their relevance for risk-adapted therapeutic strategies. *Haematologica* 2005; 90 (3): 391–399.
69. Rossi D., Rasi S., Spina V. i wsp. Integrated mutational and cytogenetic analysis identifies new prognostic subgroups in chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2013; 121 (8): 1403–1412.
70. Puente X.S., Pinyol M., Quesada V. i wsp. Whole genome sequencing identifies recurrent mutations in chronic lymphocytic leukemia. *Nature* 2011; 475 (7354): 101–105.
71. Baliakas P., Hadzidimitriou A., Sutton L.A. i wsp. Recurrent mutations refine prognosis in chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia* 2014. doi: 10.1038/leu.2014.196.
72. Bo M.D., Del Principe M.I., Pozzo F. i wsp. NOTCH1 mutations identify a chronic lymphocytic leukemia patient subset with worse prognosis in the setting of a rituximab-based induction and consolidation treatment. *Ann. Hematol.* 2014 [Epub ahead of print].
73. Wierda W.G., O'Brien S., Wang X. i wsp. Prognostic nomogram and index for overall survival in previously untreated patients with chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2007; 109 (11): 4679–4685.
74. Letestu R., Levy V., Eclache V. i wsp. Prognosis of Binet stage A chronic lymphocytic leukemia patients: the strength of routine parameters. *Blood* 2010; 116 (22): 4588–4590.
75. Pflug N., Jasmin Bahlo J., Shanafelt T.D. i wsp. Development of a comprehensive prognostic index for patients with chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2014; 124 (1): 49–62.