

Kronik Lenfositik Lösemide PD-1/PD-L1 Ekspresyon Düzeyleri ve Prognostik Önemi

Ayfer Gedük¹ , Özgür Mehtap¹ , Elif Birtaş Ateşoğlu² , Pınar Tarkun¹ 
Esra Terzi Demirsoy³ , Meral Uluköylü Mengüç⁴ , Serkan Ünal¹ 
Sinan Mersin¹ , Abdullah Hacıhanefioğlu¹ , Tülin Burhanoğlu⁵ 
Gülçin Gacar⁵ 

¹Kocaeli Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Hematoloji, Kocaeli, Türkiye

²Anadolu Sağlık Merkezi, Hematoloji, Kocaeli, Türkiye

³Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Derince Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Hematoloji, Kocaeli, Türkiye

⁴Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Hematoloji, Bolu, Türkiye

⁵Kocaeli Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Kök Hücre ve Gen Tedavileri Araştırma ve Uygulama Merkezi, Kocaeli, Türkiye

Ayfer GEDÜK, Dr. Öğr. Üyesi

Özgür MEHTAP, Doç. Dr.

Elif BİRTAŞ ATEŞOĞLU, Doç. Dr.

Pınar TARKUN, Prof. Dr.

Esra TERZİ DEMİRSOY, Uz. Dr.

Meral ULUKÖYLÜ MENGÜÇ, Uz. Dr.

Serkan ÜNAL, Arş. Gör.

Sinan MERSİN, Arş. Gör.

Abdullah HACIHANEFİOĞLU, Prof. Dr.

Tülin BURHANOĞLU, Uz. Biyoloji

Gülçin GACAR, Dr. Öğr. Üyesi

İletişim: Ayfer Gedük

Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi, Hematoloji, Kocaeli, Türkiye

Tel: +902623037575

E-Posta: ayfergeduk@hotmail.com

Gönderilme Tarihi : 17 Nisan 2020

Revizyon Tarihi : 22 Haziran 2020

Kabul Tarihi : 22 Ağustos 2020

ÖZET

Amaç: Çalışmamızda, kronik lenfositik lösemide (KLL) programlı hücre ölümü 1 (PD-1) ve programlı hücre ölümü ligandı 1 (PD-L1) ekspresyon düzeylerinin belirlenmesi ve prognoz üzerine etkilerinin değerlendirilmesi amaçlandı.

Hastalar ve yöntemler: Kliniğimizde takip edilmiş ve tanı anında periferik kandan akım sitometrisi çalışılmış 92 hasta bu çalışmaya dahil edildi. Lenfositlerde %20 ve üzeri hücrede PD-1/PD-L1 boyanma varlığı pozitif olarak kabul edildi.

Bulgular: Hastaların ortalama takip süresi 31 (1-114) aydı. PD-1 pozitifliği hastaların 44'ünde (%47.8), PD-L1 pozitifliği ise 8'inde (%8.7) tespit edildi. Tüm kohortta ortalama PD-1 düzeyi 22.13 ± 15.39 , PD-L1 düzeyi ise 8.4 ± 13.12 olarak saptandı. Ortanca genel sağkalıma ulaşamaması birlikte 60. ayda PD-1 pozitif hastaların %69.1'i hayattayken, PD-1 negatif grupta bu oran %79'du ($p=0.723$). Yine 60. ayda PD-L1 pozitif hastaların %75'i hayattayken, PD-L1 negatif grupta bu oran %73.6'ydı ($p=0.849$). PD-1 negatif grupta ilk dizi tedavi sonrası kısmi yanıt ve üstü 18 (%85.7) hastada mevcutken, PD-1 pozitif grupta 10 (%71.4) hastada mevcuttu ($p=0.401$). Ortanca progresyonsuz sağkalım, PD-1 pozitif grupta 16 ay [%95 GA, 10.68-21.31] iken PD-1 negatif grupta 18 ay [%95 GA, 5.23-30.76] olarak tespit edildi ($p=0.432$). PD-1 pozitif hastalarda ikinci dizi tedaviye geçiş süresi 2 (0-25) ay iken, PD-1 negatif hastalarda 7 (0-80) ay olarak tespit edildi ($p=0.372$).

Sonuç: KLL'de periferik kanda lenfositler üzerinde PD-1 ekspresyonu tespit edilmiş olup PD-L1 ekspresyon düzeyi oldukça düşük düzeyde saptandı. PD-1 ve PD-L1 pozitifliğinin prognoz üzerinde net bir etkisi gözlemlenmedi.

Anahtar kelimeler: programlı hücre ölümü 1, programlı hücre ölümü ligandı 1, kronik lenfositik lösemi

PD-1/PD-L1 Expression Levels and Prognostic Significance in Chronic Lymphocytic Leukemia

ABSTRACT

Objectives: In this study, we aimed to evaluate expression levels of programmed cell death 1 (PD-1) and programmed cell death ligand 1 (PD-L1) and the effects on prognosis in chronic lymphocytic leukemia (CLL).

Patients and Methods: 92 patients who had flow cytometry from peripheral blood at the time of diagnosis were included in this study. The presence of PD-1/PD-L1 staining in 20% and above in lymphocytes was considered positive.

Results: The median follow-up was 31 (1-114) months. PD-1 positivity was detected in 44 (47.8%), and PD-L1 positivity in 8 (8.7%) patients. The mean PD-1 level was 22.13 ± 15.39 , and PD-L1 level was 8.4 ± 13.12 in all cohort. Overall survival rates were 69.1% in PD-1⁺ vs 79% in PD-1⁻ groups and 75% in PD-L1⁺ vs 73.6% in the PD-L1⁻ group in the 60th month ($p=0.723$, $p=0.849$ respectively). After first line treatment, partial response or better was observed in 18 (85.7%) patients in the PD-1⁻ group and in 10 (71.4%) patients in the PD-1⁺ group ($p=0.401$). The median progression-free survival was 16 months [95% CI, 10.68-21.31] in the PD-1⁺ group, and 18 months [95% CI, 5.23-30.76] in the PD-1⁻ group ($p=0.432$). In PD-1⁺ patients, time to next treatment was 2 (0-25) months, while in PD-1⁻ patients it was determined as 7 (0-80) months ($p=0.372$).

Conclusion: PD-1 expression was detected on lymphocytes in peripheral blood in CLL; however, the PD-L1 expression level was quite low. There was no clear effect of PD-1 and PD-L1 positivity on prognosis.

Keywords: programmed cell death 1, programmed cell death ligand 1, chronic lymphocytic leukemia



Kronik lenfositik lösemi (KLL) periferik kan, kemik iliği, lenf düğümleri ve dalakta klonal olarak çoğalan ve biriken olgun B hücrelerinden köken alan hematolojik bir malignitedir.(1) Batı ülkelerinde yetişkinler arasındaki en yaygın lösemidir. İnsidans oranı İngiltere ve ABD'de benzerdir ve yılda 100.000 kişi başına 4.9 yeni vaka tespit edilmektedir. İnsidans yaşla birlikte artmaktadır ve ortanca tanı yaşı 74'tür.(2) Tanı periferik kanda çalışılan akım sitometride KLL için tipik immünfenotipin (CD 5/19/20/23, kapa ve lambda) gösterilmesi ile konulabilir. (3)

Programlı hücre ölümü 1 (PD-1) ve programlı hücre ölümü ligandı 1 (PD-L1) yolağı gerek otoimmün toleransın sürdürülmesinde gerekse aşırı immün yanıtların kontrol altına alınmasında önemli rol oynayan immün kontrol mekanizmasıdır. Ancak tümör hücreleri bu mekanizmayı tümöre karşı gelişen bağışıklık yanıtını baskılamak ve bağışıklık sürveyansından kaçınmak için kullanır.(4) PD-1 ön planda aktive T hücreleri, B hücreleri ve doğal öldürücü (NK) hücrelerinde eksprese edilirken, ligandları olan PD-L1 ve programlı hücre ölümü ligandı 2 (PD-L2) ise makrofajlar, dentritik hücreler ve lenfositler gibi immün sistem hücrelerinde ayrıca kanser hücreleri ve kanser mikroçevresinde eksprese edilir. (5-9) PD-1'in ligandına bağlanmasıyla T hücresinin proliferasyon, aktivasyon ve fonksiyonun azalması ve nihayetinde T hücre tükenmesi ile sonuçlanan inhibitör sinyal yolağı aktive olur. (4,6,7)

Son dönemde PD-1 veya PD-L1 blokajı ile yapılan immünoterapilerin gerek metastatik solid tümörlerde gerek Hodgkin lenfoma gibi hematolojik malignitelerdeki etkinliği ortaya konmakla birlikte indolan seyirli lenfomalardaki yeri halen tartışmalıdır.(10-13) Yapılan bir faz 2 çalışmada Richter transformasyonu (RT) gösteren KLL hastalarında etkinlik gösterilmişken, relaps KLL hastalarında hiç yanıt alınamamıştır.(14) Bu noktadan hareketle mevcut çalışmada, KLL hastalarında lenfositler üzerindeki PD-1 ve PD-L1 ekspresyon düzeyini ve prognoz üzerine etkisini göstermek amacıyla, 92 KLL hastasının periferik kandan çalışılmış akım sitometri analizleri ve klinik özellikleri retrospektif olarak değerlendirildi.

Hastalar ve Yöntemler

Bu çalışmada 2010-2017 yılları arasında kliniğimize başvurmuş ve KLL tanısı almış olan hastaların dosyaları hematoloji arşiv sistemi üzerinden retrospektif olarak tarandı. Tanı ve takip parametreleri 2018'de Uluslararası Kronik Lenfositik Lösemi Çalışmayı tarafından yayınlanan revize kriterler esas alınarak belirlendi. Tanı anında periferik

kandan akım sitometrisi çalışılmış ve panelinde rutin PD-1, PD-L1 boyaması bulunan 92 hasta bu çalışmaya dahil edildi. PD-1 ve PD-L1 boyamaları sırasıyla PE Mouse anti-human CD279 ve CD274 (Becton Dickinson) ile yapılmış ve BD FACSCalibur (Becton Dickinson) cihazında en az 10.000 olay sayılarak analiz edilmişti. Lenfositlerde %20 ve üzeri hücrede boyanma varlığı pozitif olarak kabul edildi. Hastaların eşlik eden hastalıkları, tanı anına ait biyokimyasal, hematolojik ve sitogenetik parametreleri (floresan in situ hibridizasyon ile), uygulanan tedavi protokolleri, yanıt durumu, progresyon tarihleri, son kontrol tarihleri tespit edildi. Tanı anında hastalık evrelemesi Rai evreleme sistemi ile yapıldı. Tanı tarihinden ilk dizi tedavi başlangıcına kadar geçen süre (TIT) belirlendi. Progresyonsuz sağkalım (PFS) ilk dizi tedavinin başladığı tarihten hastalık progresyonu veya herhangi bir sebeple ölüme kadar geçen süre olarak tanımlandı. İkinci dizi tedaviye kadar geçen süre (TNT), ilk dizi tedavinin başlangıç tarihinden, progresif hastalık nedeniyle uygulanan alternatif tedavinin başlangıç tarihine kadar geçen süre olarak kabul edildi. Genel sağkalım (OS) tanı tarihinden ölüme kadar geçen süre olarak belirlendi. Ölüm tarihleri merkezi sağlık kayıt sistemi üzerinden tespit edildi. Çalışma protokolü Fakülte Araştırma Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır.

Tüm istatistiksel analizler IBM SPSS for Windows sürüm 20.0 (SPSS, Chicago, IL, ABD) kullanılarak yapıldı. Normallik varsayımını değerlendirmek için Kolmogorov-Smirnov ve Shapiro Wilk testleri kullanıldı. Sürekli değişkenler normal dağılıma bağlı olarak, ortalama \pm standart sapma veya ortanca (minimum-maksimum aralık) olarak sunuldu. Kategorik değişkenler sayım (yüzde) olarak özetlendi. Gruplar arasında sürekli değişkenlerin karşılaştırılması bağımsız örnekler t testi/Mann Whitney U testi ile yapıldı. İki kategorik değişken arasındaki ilişki Ki-kare testi ile incelendi. Normallik varsayımı geçerli olmadığında, değişkenler arasındaki ilişkileri belirlemek için Spearman Korelasyon Analizi kullanıldı. Sağkalım analizi için Log-Rank testi ile Kaplan-Meier yöntemi kullanıldı. Tüm istatistiksel analizler % 5 anlamlılıkla yapıldı ve iki taraflı p değeri <0.05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Bulgular

Çalışmaya 92 hasta dahil edildi. Hastaların 27'si (%29.3) kadındı ve ortanca yaş 66 (38-90) olarak tespit edildi. Hastaların klinik özellikleri Tablo-1'de özetlenmiştir.

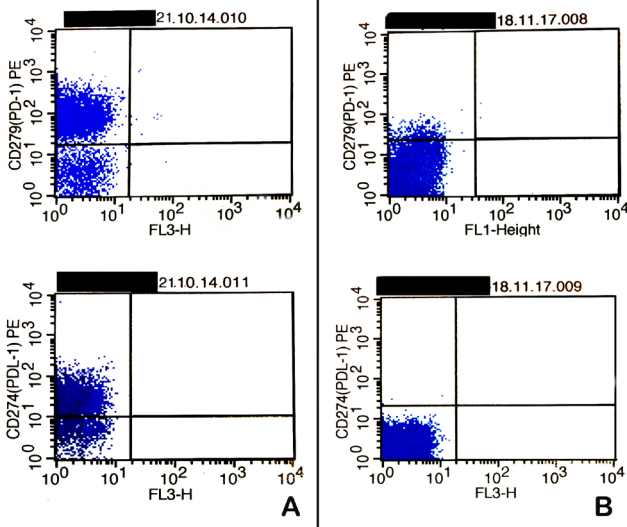
Tablo 1. Hastaların klinik özellikleri	
Özellik	n (%)
Rai Evrelemesi	
0	37 (40.2)
1	19 (20.7)
2	20 (21.7)
3	7 (7.6)
4	9 (9.8)
17p del pozitifliği (n:64)	19 (29.7)
11q del pozitifliği (n:51)	9 (17.6)
t(6,14) pozitifliği (n:46)	0 (0)
t(11,14) pozitifliği (n:48)	1 (2.1)
Kemoterapi alan hastalar	38 (41.3)
Tedavi basamak sayısı	
1	38 (41.3)
2	10 (10.8)
3	6 (6.5)
4	1 (1.1)
Kullanılmış protokoller	
RFC	21 (57.8)
LP	11 (28.9)
RLP	7 (18,4)
RB	7 (18,4)
İbrutinib	3 (7.8)
Obinutuzumab	2 (5.2)
RCHOP	1 (2.6)
İlk dizi tedavi sonrası yanıt	
TY	15 (42.9)
KY	13 (37.1)
SH	4 (11.4)
PH	3 (8.6)
Eşlik eden otoimmün hastalık	
HT	2 (2.2)
ITP	2 (2.2)
HT+ITP	2 (2.2)
OİHA	1 (1.1)
Psöriyazis	1 (1.1)
JRA	1 (1.1)
Richter transformasyonu	3 (3.3)
Kısaltmalar: del, delesyon; RFC, rituksimab, fludarabin, siklofosamid; LP, klorambusil, metilprednisolon; RLP, rituksimab, klorambusil, metilprednisolon; RB, rituksimab, bendamustin; RCHOP, rituksimab, siklofosamid, doksorubusin, vinkristin, metilprednisolon; TY, tam yanıt; KY, kısmi yanıt; SH, stabil hastalık; PH, progresif hastalık; HT, hashimoto tiroiditi; ITP, immün trombositopenik purpura; OİHA, otoimmün hemolitik anemi; JRA, juvenil romatoid artrit	

Hastaların ortanca takip süresi 31 (1-114) aydı. Hastaların ortanca OS'sine ulaşamamış olmakla birlikte 60 aylık takipte %73.3'ü hayattaydı. Kemoterapi almış olmak (60. ayda %60.1'e karşın almayanlarda %82.7) ve tanı anında yüksek Rai evresine sahip olmak (evre 3,4'e karşın evre 0,1,2; 60. ayda %48.2 karşın %78) OS üzerine negatif etkili etmenler olarak saptandı (sırasıyla; $p=0.009$, $p=0.002$). Tedavi ihtiyacı ortaya çıkmış 38 hastanın ortanca TIT'ı 3.5 (0-80) aydı. İlk dizi tedavi sonrası hastaların 22'sinde (%59.4) progresyon saptandı ve ortanca PFS 17 ay [%95 GA, 13.09-20.9] olarak tespit edildi. 2. basamak tedavi almış olan 10 hastanın ortanca TNT'ı 13 (2-65) aydı.

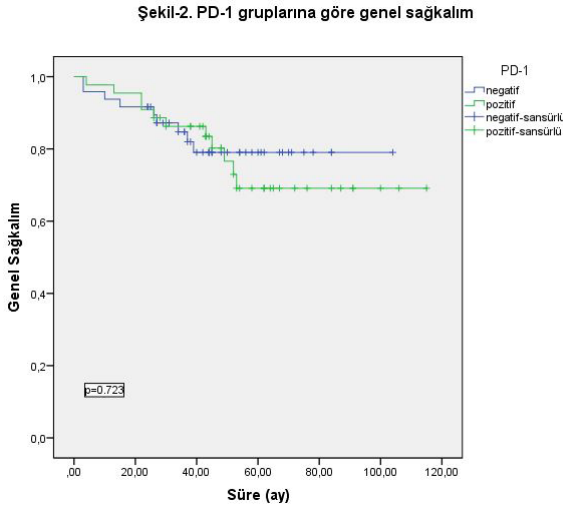
PD-1 pozitifliği hastaların 44'ünde (%47.8), PD-L1 pozitifliği ise sadece 8'inde (%8.7) tespit edildi.(Şekil-1) Tüm hasta grubunda ortalama PD-1 düzeyi 22.13 ± 15.39 , PD-L1 düzeyi ise 8.4 ± 13.12 olarak saptandı. PD-1 ve PD-L1 düzeylerinin biyokimyasal ve hematolojik parametreler ile korelasyonu Tablo-2'de özetlenmiştir.

Tablo 2. PD-1, PD-L1 düzeylerinin klinik parametreler ile korelasyonu

Özellik	PD-1 p	PD-L1 p
Yaş	0.375	-0.354
Kreatinin	0.386	-0.399
Beta 2 mikroglobulin	0.163	-0.375
LDH	0.633	-0.451
Lökosit	0.311	-0.004*
Lenfosit	0.312	-0.004*
Hemoglobin	-0.044*	0.289
Trombosit	-0.754	0.001*
IgA	-0.102	0.047*
IgG	-0.565	0.083
IgM	-0.439	0.097
Zap 70	0.886	0.505
CD38	-0.328	-0.396
*p<0.05; LDH, laktat dehidrogenaz; Ig, immünglobulin		



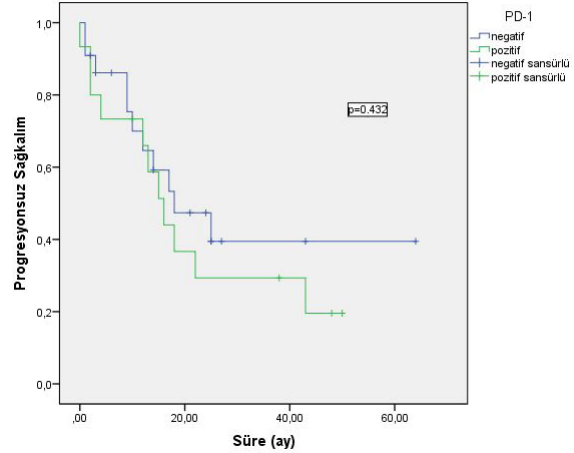
Şekil-1. A. Akım sitometrik analizde lenfositler üzerinde saptanan PD-1/PDL-1 pozitifliği, B. Akım sitometrik analizde lenfositler üzerinde saptanan PD-1/PDL-1 negatifliği



Ortanca OS'ye ulaşamamış olmakla birlikte 60. ayda PD-1 pozitif hastaların %69.1'i hayattayken, PD-1 negatif grupta bu oran %79'du ancak istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p=0.723$) (Şekil-2). PD-1 pozitif grupta hastaların %36.3'ünde (16) tedavi ihtiyacı ortaya çıkarken, PD-1 negatif hastaların %45.8'i (22) tedavi almıştı fakat istatistiksel açıdan anlamlı fark gözlenmedi ($p=0.357$). PD-1 pozitif hastalarda ortanca TIT 2 (0-25) ay iken, PD-1 negatif

hastalarda 7 (0-80) ay olarak tespit edildi, istatistiksel açıdan anlamlılık yoktu ($p=0.372$). PD-1 negatif grupta ilk dizi tedavi sonrası kısmi yanıt ve üstü 18 (%85.7) hastada mevcuttken, PD-1 pozitif grupta 10 (%71.4) hastada mevcuttu ancak yine istatistiksel açıdan fark gözlenmedi ($p=0.401$). Ortanca PFS, PD-1 pozitif grupta 16 ay [%95 GA, 10.68-21.31] iken PD-1 negatif grupta 18 ay [%95 GA, 5.23-30.76] olarak tespit edildi, istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p=0.432$) (Şekil-3). Ortanca TNT, PD-1 pozitif grupta 13 (2-65) ay iken, PD-1 negatif grupta da 13 (2-27) ay olarak saptandı ve istatistiksel anlamlılık yoktu ($p=1$).

Şekil-3. PD-1 gruplarına göre progresyonsuz sağkalım



Ortanca OS'ye ulaşamamış olmakla birlikte 60. ayda PD-L1 pozitif hastaların %75'i hayattayken, PD-L1 negatif grupta bu oran %73.6'ydı ve istatistiksel açıdan anlamlı fark yoktu ($p=0.849$). PD-L1 pozitif hasta grubunda 8 vaka mevcuttu ve hiçbir tedavi almamıştı, bu nedenle tedavi ilişkili analizler yapılamadı.

RT gözlenen 3 hastadan 1 tanesinde PD-1 pozitifliği varken, PD-L1 pozitifliği tespit edilmedi. PD-1 ve PD-L1 gruplarına göre hastalık evresi ve sitogenetik anomaliler değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı, sonuçlar Tablo-3'te özetlenmiştir.

Tablo 3. PD-1 ve PDL-1 gruplarına göre klinik bulguların karşılaştırılması						
Özellik	PD-1 pozitif	PD-1 negatif	p	PD-L1 pozitif	PD-L1 negatif	p
	n(%)	n(%)		n(%)	n(%)	
Rai evresi						
0	22(23.9)	15(16.3)	0.089	5(5.4)	32(34.8)	0.390
1	4(4.3)	15(16.3)		2(2.2)	17(18.5)	
2	9(9.8)	11(12)		0	20(21.7)	
3	4(4.3)	3(3.3)		1(1.1)	6(6.5)	
4	5(5.4)	4(4.3)		0	9(9.8)	
17p delesyonu (n:64)						
Pozitif	8(12.5)	11(17.4)	0.584	3(4.7)	16(25)	0.415
Negatif	24(37.5)	21(32.6)		4(6.2)	41(64.1)	
11q delesyonu (n:51)						
Pozitif	2(3.9)	7(13.7)	0.277	1(1.9)	8(15.7)	0.552
Negatif	19(37.3)	23(45.1)		3(5.9)	39(76.5)	
t(6,14) (n:46)						
Negatif	20(43.5)	26(46.5)	NA	5(10.9)	41(89.1)	NA
t(11,14) (n:48)						
Pozitif	0	1(2.1)	1	0	1(2.1)	1
Negatif	21(43.7)	26(54.2)		6(12.5)	41(85.4)	
Otoimmün hastalık						
Var	5(5.5)	4(4.3)	0.732	1(1.1)	8(8.7)	0.576
Yok	39(42.4)	44(47.8)		7(7.6)	76(82.6)	
p<0.05 istatistiksel olarak anlamlı						

Tartışma

Bu çalışmada KLL hastalarında, periferik kanda lenfositler üzerindeki PD-1 ve PD-L1 ekspresyonu akım sitometrik yöntem ile değerlendirildi. KLL'de, CD4⁺ ve CD8⁺ T lenfositler üzerindeki PD-1 ekspresyonu sağlıklı kişiler ile karşılaştırıldığında daha yüksektir ve artmış CD4⁺PD-1⁺T lenfosit sayısı ileri evre hastalık ile ilişkili bulunmuştur.(15,16) PD-1 ekspresyonu başlıca reaktif lenfositler üzerinde görülmekle birlikte, Xerri ve ark. immünohistokimyasal olarak küçük lenfositik lenfomada (SLL) ve akım sitometrik yöntem ile KLL'de neoplastik B hücreleri üzerindeki PD-1 ekspresyonunu göstermişlerdir. (17) Yine Grzywnowicz ve ark. çalışmasında da PD-1 ekspresyonu 58 hastada akım sitometrik yöntem ile değerlendirilmiş ve sağlıklı gönüllüler ile karşılaştırıldığında CD5⁺CD19⁺ KLL hücresi üzerinde anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. (18) Literatür ile uyumlu olarak çalışmamızda KLL'de lenfositler üzerindeki PD-1 ekspresyonu gösterilmiştir. PD-L1 ekspresyonunun değerlendirildiği çalışmalarda ise çelişkili sonuçlar elde edilmiştir. Reaktif lenf nodu örnekleri ile mukayese edilen KLL/SLL lenf nodu örneklerinde neoplastik B hücreleri üzerinde artmış PD-L1 ekspresyonunun gösterildiği çalışmalar olduğu gibi, ekspresyonun asıl olarak tümör

mikroçevresinde ve özellikle histiyositler üzerinde saptandığı, neoplastik hücrelerde ise çok zayıf olduğunu gösteren çalışmalarda vardır. (14,15,17,19-21) Dolaşımdaki KLL hücreleri üzerinde sağlıklı kontrol ile karşılaştırıldığında akım sitometrik olarak artmış PD-L1 düzeyleri 1 çalışmada gösterilmiş olmakla birlikte 2 çalışmada tersi sonuçlar elde edilmiştir. (15,17,18) Yapmış olduğumuz çalışmada KLL hastalarında periferik kanda lenfositler üzerinde düşük düzeyde PD-L1 ekspresyonu tespit edildi.

Literatürde agresif lenfomalarda, tümör tarafından PD-L1'in artmış ekspresyonunun ve tümörü infiltre eden T hücrelerinde artmış PD-1 ekspresyonu varlığının daha kötü PFS ve OS ile ilişkili bulunduğu çalışmalar mevcuttur. (22-24) İmmünoterapilerin önem kazandığı günümüzde ise birçok kanser tipinde PD-L1 ekspresyonunun varlığı, PD-1 inhibisyonuna klinik yanıt ile ilişkilidir. Tümörü infiltre eden immün hücrelerde artmış PD-L1 ekspresyonu varlığı da daha iyi tedavi yanıtı ve klinik sonuçlarla ilişkili bulunmuştur. (25-28) Ancak indolan seyirli lenfomalarda durum biraz daha kompleksdir. PD-1 ve PD-L1'in

neoplastik hücreler ve tümör mikroçevresi üzerindeki ekspresyon seviyeleri farklı alt tipler arasında değişkenlik gösterir ve PD-1, PD-L1 ekspresyonunun prognostik sonuçları belirsizliğini korumaktadır.

Literatürde PD-1, PD-L1 ekspresyonunun KLL'deki prognostik değerini irdeleyen sınırlı sayıda çalışma vardır. CD4⁺ ve CD8⁺ T hücreleri üzerinde artmış PD-1 ekspresyonunun ve periferik kandaki mononükleer hücrelerde artmış PD-L1 gen ekspresyonunun ileri evre hastalık ile ilişkili olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur.(15,16,29) Ancak başka bir çalışmada CD4⁺PD-1⁺ ve CD8⁺PD-1⁺ hücre sayısının relaps refrakter hastalık ile ilişkisi ortaya konmuş olsada hastalık evresi ile ilişkisi gösterilememiştir.(30) Benzer şekilde Grzywnowicz ve ark.'nın yapmış olduğu 2 çalışmada da PD-1 ve PD-L1 ekspresyonları gerek kantitatif ters transkripsiyon polimeraz zincir reaksiyonu ile gerek akım sitometrik yöntem ile değerlendirildiğinde yaş, cinsiyet, hastalık evresi ve sitogenetik anomaliler ile ilişkili saptanmamıştır.(18,31) Fakat araştırmacı diğer bir çalışmasında immünglobulin ağır zincir mutasyonu olanlarda PD-1 transkriptinin daha yüksek olduğunu ve ZAP-70 fosforilasyonu ile negatif korelasyon gösterdiğini ortaya koymuştur.(32) Çalışmamızda ise PD-1 ve PD-L1 ekspresyonunun KLL'de prognostik faktörler olan Rai evresi, sitogenetik anomaliler, ZAP-70, CD38, laktat dehidrogenaz düzeyinden bağımsız olduğu gözlenmiştir. Fakat PD-1'in hemoglobin ile olan negatif korelasyonu, RAİ evresi ile desteklenmese de dikkat çekicidir.

Ramsay ve ark. iyi prognoza sahip hasta grubu (ortanca sağkalım >10 yıl) ile kıyaslandığında kötü prognozlu hasta grubunda (ortanca sağkalım 38 ay) immünhistokimyasal olarak KLL hücreleri üzerinde artmış PD-L1 ve CD3⁺ T hücreleri üzerinde artmış PD-1 ekspresyonu tespit etmişlerdir. (19) Bununla birlikte literatürde genel sağkalım ve prognoza kadar geçen süre ile ilişkisinin olmadığını gösteren çalışmalarda vardır.(18,33) Diğer bir çalışmada da akım sitometride artmış CD4⁺PD-1⁺ T hücresi sayısı daha kısa TIT ve daha kötü tedavi cevabı ile ilişkili bulunmuştur. (16) Çalışmamızda istatistiksel olarak anlamlı fark olmasada lenfositlerdeki PD-1 pozitifliğinin daha kötü OS, PFS, TIT ve tedavi yanıtı ile birlikte olduğu gözlemlendi. PD-L1'in ise OS üzerine bir etkisi saptanmadı.

Çalışmamızda retrospektif bir değerlendirme yapıldığı için lenfosit alt grupları üzerindeki ekspresyon düzeyleri belirlenememiştir.

Sonuç olarak KLL'de periferik kanda lenfositler üzerinde PD-1 ekspresyonu tespit edilmiş olup PD-L1 ekspresyon düzeyi oldukça düşük düzeyde saptandı. PD-1 ve PD-L1 pozitifliğinin prognoz üzerinde net bir etkisi gözlemlenmedi. Literatür ve çalışmamızın sonuçları birlikte değerlendirildiğinde genel olarak, şu anda KLL'de PD-1 ve PD-L1'in prognostik rolünü destekleyen yeterli kanıt olmadığını düşünmekteyiz.

Kaynaklar

1. Chiorazzi N, Rai KR, Ferrarini M. Chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med.* 2005; 352:804-15.
2. Milne K, Sturrock B, Chevassut T. Chronic Lymphocytic Leukaemia in 2020: the Future Has Arrived. *Curr Oncol Rep.* 2020;22:36.
3. Rawstron AC, Kreuzer KA, Soosapilla A, Spacek M, Stehlikova O, Gambell P, et al. Reproducible diagnosis of chronic lymphocytic leukemia by flow cytometry: An European Research Initiative on CLL (ERIC) & European Society for Clinical Cell Analysis (ESCCA) Harmonisation project. *Cytometry B Clin Cytom.* 2018;94:121-8.
4. Pardoll DM. The blockade of immune checkpoints in cancer immunotherapy. *Nat Rev Cancer.* 2012 ;12:252-64.
5. Dong H, Zhu G, Tamada K, Chen L. B7-H1, a third member of the B7 family, co-stimulates T-cell proliferation and interleukin-10 secretion. *Nat Med.* 1999;5:1365-9.
6. Freeman GJ, Long AJ, Iwai Y, Bourque K, Chernova T, Nishimura H, et al. Engagement of the PD-1 immunoinhibitory receptor by a novel B7 family member leads to negative regulation of lymphocyte activation. *J Exp Med.* 2000;192:1027-34.
7. Latchman Y, Wood CR, Chernova T, Chaudhary D, Borde M, Chernova I, et al. PD-L2 is a second ligand for PD-1 and inhibits T cell activation. *Nat Immunol.* 2001;2:261-8.
8. Keir ME, Butte MJ, Freeman GJ, Sharpe AH. PD-1 and its ligands in tolerance and immunity. *Annu Rev Immunol.* 2008;26:677-704.
9. Okazaki T, Honjo T. PD-1 and PD-1 ligands: from discovery to clinical application. *Int Immunol.* 2007 Jul;19(7):813-24.
10. Hamid O, Robert C, Daud A, Hodi FS, Hwu WJ, Kefford R, et al. Safety and tumor responses with lambrolizumab (anti-PD-1) in melanoma. *N Engl J Med.* 2013;369:134-44.
11. Topalian SL, Hodi FS, Brahmer JR, Gettinger SN, Smith DC, McDermott DF, et al. Safety, activity, and immune correlates of anti-PD-1 antibody in cancer. *N Engl J Med.* 2012;366:2443-54.
12. Brahmer J, Reckamp KL, Baas P, Crinò L, Eberhardt WE, Poddubskaya E, et al. Nivolumab versus Docetaxel in Advanced Squamous-Cell Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med.* 2015;373(2):123-35.
13. Ansell SM, Lesokhin AM, Borrello I, Halwani A, Scott EC, Gutierrez M, et al. PD-1 blockade with nivolumab in relapsed or refractory Hodgkin's lymphoma. *N Engl J Med.* 2015;372(4):311-9.
14. Ding W, LaPlant BR, Call TG, Parikh SA, Leis JF, He R, et al. Pembrolizumab in patients with CLL and Richter transformation or with relapsed CLL. *Blood.* 2017;129:3419-27.
15. Brusa D, Serra S, Coscia M, Rossi D, D'Arena G, Laurenti L, et al. The PD-1/PD-L1 axis contributes to T-cell dysfunction in chronic lymphocytic leukemia. *Haematologica.* 2013;98:953-63.
16. Rusak M, Eljaszewicz A, Bołkun Ł, Łuksza E, Łapuć I, Piszcz J, et al. Prognostic significance of PD-1 expression on peripheral blood CD4⁺ T cells in patients with newly diagnosed chronic lymphocytic leukemia. *Pol Arch Med Wewn.* 2015;125:553-9.

17. Xerri L, Chetaille B, Serriari N, Attias C, Guillaume Y, Arnoulet C, et al. Programmed death 1 is a marker of angioimmunoblastic T-cell lymphoma and B-cell small lymphocytic lymphoma/chronic lymphocytic leukemia. *Hum Pathol.* 2008 ;39:1050-8.
18. Grzywnowicz M, Zaleska J, Mertens D, Tomczak W, Wlasiuk P, Kosior K, et al. Programmed death-1 and its ligand are novel immunotolerant molecules expressed on leukemic B cells in chronic lymphocytic leukemia. *PLoS One.* 2012;7(4):e35178.
19. Ramsay AG, Clear AJ, Fatah R, Gribben JG. Multiple inhibitory ligands induce impaired T-cell immunologic synapse function in chronic lymphocytic leukemia that can be blocked with lenalidomide: establishing a reversible immune evasion mechanism in human cancer. *Blood.* 2012;12:1412-21.
20. Menter T, Bodmer-Haeckl A, Dirnhöfer S, Tzankov A. Evaluation of the diagnostic and prognostic value of PDL1 expression in Hodgkin and B-cell lymphomas. *Hum Pathol.* 2016;54:17-24.
21. Panjwani PK, Charu V, DeLisser M, Molina-Kirsch H, Natkunam Y, Zhao S. Programmed death-1 ligands PD-L1 and PD-L2 show distinctive and restricted patterns of expression in lymphoma subtypes. *Hum Pathol.* 2018 ;71:91-9.
22. Kiyasu J, Miyoshi H, Hirata A, Arakawa F, Ichikawa A, Niino D, et al. Expression of programmed cell death ligand 1 is associated with poor overall survival in patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Blood.* 2015;126:2193-201.
23. Zhang W, Bai JF, Zuo MX, Cao XX, Chen M, Zhang Y, et al. PD-1 expression on the surface of peripheral blood CD4(+) T cell and its association with the prognosis of patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Cancer Med.* 2016;5:3077-84.
24. Keane C, Vari F, Hertzberg M, Cao KA, Green MR, Han E, et al. Ratios of T-cell immune effectors and checkpoint molecules as prognostic biomarkers in diffuse large B-cell lymphoma: a population-based study. *Lancet Haematol.* 2015;2:e445-55.
25. Diggs LP, Hsueh EC. Utility of PD-L1 immunohistochemistry assays for predicting PD-1/PD-L1 inhibitor response. *Biomark Res.* 2017;5:12.
26. Taube JM, Klein A, Brahmer JR, Xu H, Pan X, Kim JH, et al. Association of PD-1, PD-1 ligands, and other features of the tumor immune microenvironment with response to anti-PD-1 therapy. *Clin Cancer Res.* 2014;20:5064-74.
27. Herbst RS, Soria JC, Kowanetz M, Fine GD, Hamid O, Gordon MS, et al. Predictive correlates of response to the anti-PD-L1 antibody MPDL3280A in cancer patients. *Nature.* 2014;515:563-7.
28. Daud AI, Wolchok JD, Robert C, Hwu WJ, Weber JS, Ribas A, et al. Programmed Death-Ligand 1 Expression and Response to the Anti-Programmed Death 1 Antibody Pembrolizumab in Melanoma. *J Clin Oncol.* 2016;34:4102-9.
29. Taghiloo S, Allahmoradi E, Ebadi R, Tehrani M, Hosseini-Khah Z, Janbabaie G, et al. Upregulation of Galectin-9 and PD-L1 Immune Checkpoints Molecules in Patients with Chronic Lymphocytic Leukemia. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2017;18:2269-74.
30. Novák M, Procházka V, Turcsányi P, Papajík T. Numbers of CD8+PD-1+ and CD4+PD-1+ Cells in Peripheral Blood of Patients with Chronic Lymphocytic Leukemia Are Independent of Binet Stage and Are Significantly Higher Compared to Healthy Volunteers. *Acta Haematol.* 2015;134:208-14.
31. Grzywnowicz M, Karczmarczyk A, Skorka K, Zajac M, Zaleska J, Chocholska S, et al. Expression of Programmed Death 1 Ligand in Different Compartments of Chronic Lymphocytic Leukemia. *Acta Haematol.* 2015;134:255-62.
32. Grzywnowicz M, Karabon L, Karczmarczyk A, Zajac M, Skorka K, Zaleska J, et al. The function of a novel immunophenotype candidate molecule PD-1 in chronic lymphocytic leukemia. *Leuk Lymphoma.* 2015;56:2908-13.
33. Korkmaz S, Erdem S, Akay E, Taşdemir EA, Karaman H, Keklik M. Do PD-1 and PD-L2 expressions have prognostic impact in hematologic malignancies? *Turk J Med Sci.* 2019;49:265-271.