

KLL Tedavisi: Genç ve Refrakter Hastalar

Dr. Melih AKTAN

İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Hematoloji Bilim Dalı

Giriş

Kronik lenfositik lösemi (KLL) batı yarımküresinde en sık görülen lösemi tipidir. Bu hastalığın tedavisinde son iki dekatta önemli ilerlemeler kaydedilmiştir. Yakın zamanlara kadar hastalar palyasyon amacıyla tedavi edilmekteydi ve KLL’de şifadan bahsedilmemektedir. Yeni geliştirilen ve daha etkili olan tedavi şekilleri artık bu hastalıkta da kür elde edilebileceğini göstermiştir.

KLL hematolojik maligniteler içinde tanı konulduktan sonra tedavinin bekletilebileceği bir hastalıktır. KLL’li hastaların 1/3’ünde tedavi hiç verilmemekte, 1/3’üne tanı konur konmaz tedavi başlanmakta, 1/3’üne ise hastalıkta ilerleme meydana gelene kadar tedavi verilmemektedir.

Rai Evre 0 veya Binet Evre A hastalarında hastalık ilerleyene kadar tedavi verilmemektedir. Fransız KLL grubunun ve ABD’den CALGB’nin yaptığı çalışmalarda erken evrelerde tedavi yapmanın sağkalımı uzatmadığı, üstelik epitelyal kanserlerin gelişimini arttırarak sağkalımı azalttığı gösterilmiştir. Ancak bu çalışmalarda tedavi vermemekle alkileyici ilaçlar karşılaştırılmıştır. Purin analoglarının erken dönemlerdeki hastalarda sağkalımı uzatıp uzatmadığı henüz bilinmemektedir. Böyle bir çalışma yapıldıktan sonra şu andaki genel eğilim erken dönemdeki hastalara tedavi vermemek tarzındadır. “Smoldering KLL” diye nitelendirilen hastalarda ise progresyon hiç olmamaktadır. Bu hastaların özellikleri şunlardır: Rai Evre 0 veya Binet Evre A, Hb >13 g/dl, perifer kanında mutlak lenfosit sayısı <30.000/mm³, lenfosit sayısının ikiye katlanma zamanı >12 ay.

Ulusal Kanser Enstitüsü Desteğindeki Çalışma Grubunun Tedavi Başlama Kriterleri

Ulusal Kanser Enstitüsü desteğindeki çalışma grubunun 1996 yılında yeniden gözden geçirilmiş KLL rehberinde, Rai Evre III veya IV bile olsa tedavi başlamak için hastalığın aktif (progressif) olduğunun kanıtlanması gerektiği bildirilmektedir. Aktif hastalığın kriterleri şunlardır:

1. Hastalıkla ilgili şu belirtilerden en az biri olmalıdır (bu belirtileri açıklayacak başka bir hastalık olmamalıdır):
 - a. Son 6 ay içinde vücut ağırlığının %10’undan fazla kilo kaybı
 - b. Şiddetli halsizlik (ECOG 2): Hastanın çalışmasını veya günlük aktivitesini engelleyecek derecede.
 - c. Enfeksiyona bağlı olmayan ve iki haftadan fazla süren 38°C ateş
2. İlerleyici kemik iliği yetersizliğinin belirtileri, yani yeni ortaya çıkan veya ağırlaşan anemi ve/veya trombositopeni
3. Steroid tedavisine iyi cevap vermeyen otoimmün hemolitik anemi ve/veya trombositopeni
4. Masif (kosta kavşını 6 cm’den fazla aşan) veya progressif splenomegali
5. Masif (en büyük çapı 10 cm’den büyük) veya progressif lenfadenomegaliler
6. Progressif lenfositoz (son iki ayda %50’den fazla artış veya lenfosit sayısının ikiye katlanma süresinin 6 aydan az olduğunun tesbit edilmesi)

7. Belirgin hipogammaglobulinemi veya paraproteinin ortaya çıkışı; yukarıdaki kriterler olmadıkça tedavi başlamak için kendi başına yeterli değildir.

Rai evrelerine KLLli hastalarda ortanca sağkalım aşağıdaki gibidir: Evre 0 150 aydan fazla, evre I 101 ay, evre II 71 ay, evre III 19 ay, evre IV 19 ay. Binet evrelemesinde ise evre A hastalarının sağkalımı normal polüstasyonla aynı bulunurlen, evre B hastalarda ortanca sağkalım 7 yıl, evre C hastalarda 2 yıldır.

İleri yaştaki hastalar açısından bu sağkalımlar makul gelebilir. Ancak yaş küçüldükçe bu sağkalımlar yetersiz kalmaktadır. Genç hastalarda küratif bir tedaviye ihtiyaç vardır ve günümüz koşullarında da bu mümkündür. Genç hastaların küratif bir tedavi almasının sebebi sadece daha uzun bir sağkalım sağlaması değildir. Hasta yaşı gençleştikçe yoğun tedaviye dayanıklılığı artmakta ve sekonder tıbbi sorunların olma ihtimali azalmaktadır.

Diğer hematolojik malignitelerde olduğu gibi optimal bir tedavi KLL için de henüz bulunmamıştır. Yapılması gereken söz konusu KLLli hasta için olabilecek en iyi tedavi seçeneğini bulmaktır.

KLL tedavisinde öncelikli ilke, hekimlikteki önemli bir ilke olan “öncelikle zarar vermemek”tir. Bu ilke iki temele dayanmaktadır. Birincisi KLLli hastalar ileri yaşlardadır ve muhtemelen KLL dışında bir sebepten hayatlarını kaybedeceklerdir. İkinci ise uygulanan tedaviler sağkalımı uzatmamakta ve hastaların ancak az bir kısmında tam remisyona sağlamaktadır. Ancak son 10 yılda, özellikle purin analogları ve monoklonal antikorlarla yapılan tedavilerde bu durum değişmektedir. KLL ile ilgili önemli bir gözlem hastalığın heterojen oluşudur. Uzun yıllar takip edilen bir çok hastada progresyon meydana gelmemektedir. Hastaların bir kısmında ise daha başlangıçta belirtiler ortaya çıkmakta, kemik iliği yetersizliği, tekrarlayan enfeksiyonlar gelişmekte ve hastalık daha agresif bir forma dönüşmektedir. Hastaları prognostik gruplara ayırmanın ilk örnekleri Rai ve Binet sınıflamalarıdır. Bu sınıflamalar yararlı olmuşlarsa da yeterli değildir. Yeni geliştirilen prognoz faktörleri hastaları daha iyi kategorize etmektedir. Bu faktörler şunlardır: yaş, cinsiyet, beta-2 mikroglobulin, timidin kinaz, solübl CD23 ve son yıllarda ortaya konan immunoglobulin genlerinin mutasyon durumudur. 1999da iki grup araştırmacı immunoglobulin genlerinin mutasyon

durumu hafıza B hücrelerinininkine uyan hastalarda hastalığın iyi seyrettiğini ve agresif form almadığını, immunoglobulin genlerinde mutasyon olmayan hastalarda ise hastalığın progressif olduğunu ve sağkalımın düşük olduğunu göstermişlerdir. Damle ve arkadaşları CD38 ekspresyonu düşük olan hastalarda immunoglobulin genlerinde mutasyon olduğunu ve prognozun iyi olduğunu bildirmişlerdir (1). Daha sonra yapılan çalışmalarda CD38 ekspresyonunun, mutasyon durumu kadar iyi bir prognoz göstergesi olmadığı anlaşılmıştır. Immunoglobulin genlerinde mutasyon olmamasının sebebinin, mutasyonun olmadığı KLLli hastalarda aktivasyonla indüklenen sitidin deaminaz (“activation induced cytidine deaminase [AID]”) enziminin farklı olmasından (“spliced variant”) kaynaklandığı gösterilmiştir (2,3). Bu konu üzerinde şu anda yoğun çalışmalar yapılmaktadır. Son zamanlarda ortaya çıkan bir bulgu da mutasyonun olmadığı hastalarda bir tirozin kinaz olan ZAP70in daha fazla eksprese edildiğidir. ZAP70 diğer prognoz faktörlerinden bağımsız bir prognoz göstergesidir. Normalde B lenfositlerinde değil, T lenfositlerinde eksprese edilen bu tirozin kinaz KLL B lenfositleri tarafından eksprese edilmektedir. Önümüzdeki yıllarda CD38, ZAP70 ve immunoglobulin genlerinin mutasyon durumu ile KLLli hastaları prognostik açıdan daha iyi kategorize etmek mümkün olacaktır.

KLLli hastaların KLL dışı sebeplerden hayatlarının kaybedecekleri düşüncesi abartılı ve yanıltıcı bir düşüncedir. Progressif KLLsi olan hastaların büyük bölümü KLLye bağlı sebeplerden, özellikle de enfeksiyondan ölmektedir (4). Hastalık ilerledikçe immun sistem ve kemik iliği yetersizliği ağırlaşmakta ve enfeksiyonlara eğilim artmaktadır. Bu sebeple progressif KLLsi olan hastalara daha küratif tedavilerin uygulanması gerekmektedir.

KLLde küratif rejimlerin geliştirilmesinde tam remisyona kavramı önemlidir. Tam remisyona tanımı fizik muayene ile hastalık belirtilerinin ortadan kalkması ve kemik iliğinin normalleşmesi vardır. Ulusal Kanseri Enstitüsü desteğindeki çalışma grubunun 1988 yılındaki ilk KLL rehberinde kemik iliğinde lenfoid nodüllerin varlığı tam remisyona tanımı kabul edilmekteydi (5). Ancak bu tip nodülleri varlığının nüks olasılığını arttırdığı daha sonra anlaşılmıştır. Kemik iliği biyopsisi ile remisyona girdiği gösterilen hastalarda bile rezidüel hastalığın varlığını ispatlamak zor değildir (6,7). İmmunofenotiplleme ile CD19 ve CD5'i birlikte eksprese eden hücrelerin

%10'dan fazla olduğu hastalarda remisyonun kısa sürdüğü gösterilmiştir. PCR ile immunoglobulin gen rearanjmanına bakarak kemik iliğinde klonal hücrelerin kalmadığının gösterilmesi (moleküler remisyon)nin ilerdeki KLL çalışmalarında tedavi ile elde edilebilecek amaçlar arasına alma eğilimi vardır.

Kemoterapi

KLLnin yıllardan beri uygulanan tedavisi alkilleyici ilaçlardır (klorambusil veya siklofosfamid). Bunlar kendi başına veya kortikosteroidle birlikte verilir. Ancak kortikosteroidlerin enfeksiyonları arttırma olasılığı vardır. Alkilleyici ilaçlar lenfoma-protokolleri tarzında kombine edilerek verilmiştir: COP, CAD ve CHOP. Bu tedavi şemalarının karşılaştırıldığı çalışmalarda hiç birinin diğerine üstünlüğü bulunmamıştır. Elde edilen cevaplar kısmi remisyon tarzındadır ve %50-%80 dolaylarındadır. Sağkalımın uzadığı gösterilememiştir (8). KLL tedavisindeki ilerleme purin analoglarının devreye girmesiyle olmuştur. Fludarabin ile daha önceden tedavi görmüş hastalarda elde edilen üstün sonuçlar, ilk tedavi olarak fludarabin verilen çalışmalarda da teyid edilmiştir. 2-deoksikloroadenozin (2-dKA-)de KLLde etkili bulunmuştur. Steroid ilavesinin yararı olmamış, hatta tam tersi enfeksiyonları arttırarak zararı olmuştur. Randomize ve kontrollü çalışmalarda fludarabinin tam remisyon ve remisyon süresi bakımından CAP ve klorambusile üstün olduğu gösterilmiştir (9). Keza 2-dKA + prednizolon, klorambusil + prednizoldan daha üstün çıkmıştır. Bu çalışmalardan çıkan sonuç, purin analoglarının KLLde en aktif ilaç olduğudur.

Purin analogları DNA tamirini kuvvetle inhibe. Bu sebeple DNA hasarı yapacak diğer ilaçlarla birlikte denenmiştir: Fludarabin + siklofosfamid (10), fludarabin + siklofosfamid + mitoksantron (11, 12). Bu çalışmalarda elde edilen komplet remisyon oranları, kendi başına fludarabinin kullanıldığı çalışmalardan hafifçe daha yüksektir. Çeşitli kemoterapi protokolleri ile elde edilen neticeler tabloda gösterilmiştir.

Kemoterapi	Hasta sayısı	Tam remisyon(%)	Cevap oranı(%)
Klorambusil	181	3	37
Fludarabin(F)	170	20	70
Fludarabin+Siklofosfamid(FC)	34	35	88
Flu + Rituksimab	51	77	90
Flu+Ritüksimab (Ardışık)	53	28	77
FC+Ritüksimab	202	69	95

Monoklonal Antikorlar

KLL hücrelerinin sitoplazma membranındaki molekülere karşı antikorların geliştirilmesiyle birlikte KLL ve lenfoma tedavilerinde bu monoklonal antikorların kullanıldığı bir çok çalışma başladı. Lenfoid malignitelerde ilk kullanılan monoklonal antikor CD20ye karşı geliştirilen rituksimabtır. KLL lenfositlerinin yüzeyinde foliküler lenfoma ile kıyaslandığında CD20 molekülü daha az bulunur. Bu sebeple ilk çalışmalarda alınan cevaplar cesaretlendirici değildir. Monoklonal antikorlarla elde edilen sonuçlar tabloda gösterilmiştir.

Tedavi	Tedavi Almamış	Tedavi Almış	Doz (4 hafta)	%KR+PR
Ritüksimab	43	-	375 mg/m ² 4/hafta x4	9+49
	6	27	375 mg/m ² 3/hafta x4	3+42
	-	50	500-2250 mg/m ² 4/hafta x4	0+36
Campath	0	93	30 mg 3/hafta x12 hafta IV	2+31
	38	-	30 mg 3/hafta x18 hafta SC	19+68

KLLde rituksimaba cevabı arttırmak için iki yol denenmiştir: Birincisi haftada bir uygulanan dozların arttırılması, ikincisi rutinde kullanılan dozu haftada 3 kez uygulamak. Her iki yaklaşım da cevap oranını %40 kadar arttırmıştır. Yeni çalışmalarda daha önceden tedavi görmemiş KLLli hastalarda rituksimabın cevap oranı ve tam remisyon olasılığını arttırdığını göstermiştir (16).

Bir diğer antikor olan Campath-1H (alemtuzumab) CD52ye bağlanır. CD52 KLL hücrelerinde CD20ye göre daha fazla miktarda bulunur. İlk çalışmalarda ilacın KLLde etkili olduğu gösterilmiştir. Ancak T immun supresyonu sebebiyle oportunistik enfeksiyonlarda belirgin artış gözlenmiştir. CD52 hem B, hem T lenfositlerinde, hem de monositlerde eksprese edilir. İlk çalışmalardan birinde fludarabine dirençli ve daha önce alkilleyici almış hastalarda %33lük bir cevap oranı görülmüştür. Campath-1H perifer kan ve kemik iliğini KLL hücrelerinden temizlemede rituksimabtan daha etkilidir. Campath-1H ilk tedavi olarak ciltaltı uygulanmış ve fludarabine yakın bir cevap oranı elde edilmiştir. Diğer çalışmalarda minimal rezidüel hastalıkta (MRH) da etkili olduğu gösterilmiştir. Bu hastaların çoğunda PCR negatifleşmiştir. MRH için denenilen diğer bir tedavi zevalin isimli monoklonal antikordur. Zevalinin

miyelosupresif etkisi belirgindir. Epratuzumab and anti-HU1D10 gibi monoklonal antikorlar KLLde denenmektedir.

In vitro çalışmalarda rituksimab KLL hücrelerini fludarabin, siklofosfamid gibi kemoterapötik ilaçlara hassaslaştırdığı gösterilmiştir. Ayrıca rituksimab bcl-2 ekspresyonunu azaltmaktadır. Fludarabin de kompleman defans proteinleri olan CD55 and CD59un ekspresyonunu azaltmaktadır. Bu sinerjistik etkiler sebebiyle rituksimab ve fludarabinin birlikte kullanıldığı çalışmalar yapılmaktadır. Cancer and Leukemia Group B (CALGB) birlikte uygulanan fludarabin ve rituksimab ile önce fludarabin, ardından rituksimab uygulamasını karşılaştırmıştır (14). Birlikte uygulanan kolda tam cevap oranı daha fazladır. Ayrıca nötropeni dışında toksisitede artış yoktur.

MD Anderson Kanser Merkezinde tasarlanan FCR protokolünde fludarabin ve siklofosfamid rituksimab ile kombine edilmiştir. FCR protokolünde fludarabin 25 mg/m² dozuyla ilk 3 gün, siklofosfamid 250 mg/m², ilk üç gün, verilmektedir. Rituksimab ise birinci gün 375-500 mg/m² dozuyla verilmektedir. İleri evre veya progresif KLLli ve daha önce tedavi görmemiş 204 hasta çalışmaya alınmıştır. Cevap oranı %95, tam remisyon oranı ise %69dur. Tam remisyondaki hastaların %82sinde kemik iliğinde CD5 + 19 birlikte pozitif hücreler %1in altındadır. Ayrıca hastaların yarısında PCR negatifleşmiştir. Kısmi remisyonlu hastaların bir kısmında kemik iliği tamamen temizlendiği halde sitopeniler devam ettiği için bu hastalar tam remisyon grubuna girememiştir. Bu tedaviyle bazı hastalarda tümör erime sendromu gelişmiştir. Bu sebeple allopurinolle birlikte verilmesi gerekmektedir. Üçüncü ve dördüncü derecelerde nötropeni sıklığı, ancak ciddi enfeksiyon %2 hastada görülmüştür. Tam remisyon oranı ve remisyon süresi, fludarabin ve siklofosfamid kombinasyonuna göre belirgin biçimde üstündür.

Fludarabin ve alemtuzumab kombinasyonu konusunda bilgilerimiz sınırlıdır. İngiltere ve Almanya'da yapılan çalışmalardan tam cevap oranının ve tam remisyon oranının yüksek olduğu bildirilmiştir.

Kök Hücre Nakli

Kök hücre nakli (KHN) KLL tedavisinde uzun yıllardır yeterince yer bulamamıştır. Purin analog-

ları geliştirilmeden önce kemik iliğinden KLL hücrelerinin yeterince temizlenmesi mümkün olmadığından otolog nakil söz konusu değildi. Ayrıca KLLli hastaların ileri yaşta olmaları allojenik nakli mümkün kılmıyordu.

1996da allojeneik KHN yapılmış 54 hasta yayınlanmıştır(17). 27 aylık ortanca takipte 24 hasta hala tam remisyondadır. Diğer çalışmalar-daki hasta sayısı daha düşüktür. Bu çalışmalar uzun sürede %30 - %40 hastaya sağkalım vadetmektedir.

Otolog nakil yapılan hasta sayısı daha fazladır. En büyük hasta sayısı Dana-Farber Enstitüsündendir. Yüzellidört hastanın 6sı tedaviye bağlı olarak hayatını kaybetmiştir. Beş yıllık hastaliksız sağkalım %65dir (18). 14 hastalık otolog KHN çalışmasında 9 hasta MRH negatif olmuştur. Bu dokuz hastanın 2si nüks etmiş, 4ü ise MRH pozitifleşmiştir. MRH negatifleşmeyen 5 hastadan ise 4ü nüks etmiştir. Aynı çalışmadaki 12 allojeneik transplantasyon hastasında ise 3 hasta ölmüş, geri kalan 9 hastadan 8inde MRH negatifleşmiştir.

Diğer allojeneik transplantasyonlarda olduğu gibi KLLde de "graft-versus-leukemia" etkisi görülmektedir. Bu etkiden yararlanmak için non-miyeloablatif allojeneik nakiller (NAN) KLLde giderek daha çok yapılmaktadır. Alman KLL çalışma grubunun NAN yaptığı 30 hastadan 12sinde tam remisyon elde edilmiş olup 8inde MRH negatiftir. Ancak izlem süresi henüz kısadır. Avrupa Kemik İliği Nakli Kayıt Merkezine ("registry") kayıtlı NAN yapılan 77 hastada 3-4 yıllık olaysız sağkalım %50 olarak öngörülmektedir. Uygulanan hazırlık rejimi hastaların çoğunda düşük doz total vücut ışınlaması ve fludarabin + siklofosfamid kombinasyonu biçimindedir (19).

NANlerin geliştirilmesi nakil yaşı 75e çıkarmıştır. MD Anderson Kanser Merkezinde ablatif NANler kıyaslandığında uzun süreli sağkalımın %40lar civarında olduğu gösterilmiştir. Son olarak NAN ile birlikte immunomanipülasyonlar (immunsupresif ilacın kesilmesi, donör lökosit infüzyonu, rituksimab uygulanması) denenmiştir. Bu biçimde tedavi edilen 17 hastada hazırlık rejimi olarak fludarabin 30 mg/m² 3 gün, siklofosfamid 750 mg/m² 3 gün kullanılmıştır. 16 hastada cevap olup bunlardan 12sinde tam remisyon elde edilmiştir (20).

Tedavi Stratejisinin Seçimi

Yeni kemoimmunoterapi rejimlerinin geliştirilmesi, MRH için antikorların kullanılması, olog ve allojeneik, miyeloablatif ve nonmiyeloablatif nakil gibi seçeneklerin artması KLLde tedavi kararını zorlaştırmıştır. Diğer hastalıklarda MRH negatifliği sağlandığında bunun uzun süreli sağkalım anlamına geldiğinin anlaşılması, KLLli hastalarda olabilecek en etkili remisyona indüksiyonu tedavisinin seçiminin uygun bir strateji olacağını düşündürmektedir. MRH negatifliği sağlanan hastalara daha fazla tedavi yapmamalıdır. MRH negatifliği sağlanmadığı takdirde veya negatifken pozitifleştiği takdirde antikor tedavisi veya kök hücre nakli makul gözükmemektedir. Olog kemik iliği nakli küratif izlenimi vermemektedir. “Graft-versus-leukemia” etkisinden yararlanmak için ablatif veya NAN uzun süreli sağkalım için iyi bir seçenektir.

Sonuç

Günümüzde KLL tedavisi palyatif tedaviden küratif tedaviye geçmektedir. Önümüzdeki yıllarda ise çok büyük oranlarda hastada kür sağlanma umudu vardır. Yeni tedavi ajanlarıyla birlikte tedavi stratejilerinin değişimi devam edecektir. Aşı veya gen tedavisi ile yapılacak immun terapiler MRHda umut vadetmektedir. Ayrıca KLLli hastalarda immunoglobulin gen repertuarı çalışmaları, anti-idyotipik antikor tedavilerinin de KLL söz konusu olabileceği umudunu vermektedir.

KLL bir ileri yaş hastalığıdır. Hangi hastaların genç hasta sayılması konusunda bir sınır yoktur. Ayrıca diğer hastalıklarda ve özellikle kemik iliği naklindeki yaş sınırlamaları da yıllar içinde daha ileri yaşlara kaymaktadır. Ayrıca toplumda ortalama yaşam da son dekatlarda giderek artmıştır. Bu eğilimin devam edeceği de şüphesizdir. Geriatrik gelişmeler ileri yaştakilere daha doyumlular yaşam umudu vermektedir. Bu sebeple KLLde 70, hatta 75 yaşındaki hastalara küratif tedavi yapma eğilimi vardır.

Sonuç olarak şu anda en makul gözüken tedavi seçiminin purin analogu ve rituksimab kombinasyonu olduğu, MRH sağlanamayan hastalarda ise monoklonal antikorla tedaviye devam etmek veya NAN yapmak biçimindedir. “Smoldering KLL”li hastalarda tedaviye hemen başlayıp

başlamama sorusunun cevabı henüz bilinmemektedir. Yeni prognoz faktörlerinin devreye girmesi ve çalışmaların uzun süreli sonuçlarının ortaya çıkışı bu soruların cevabını kolaylaştıracaktır (21).

Kaynaklar:

1. Damle RN, Fais F, Wasi T, et al. B-cell patients can be divided into two distinct clinical categories based on CD38 expression and IgV gene mutation status. *Blood*. 1998;92:431a.
2. McCarthy H, Wierda WG, Barron LL, et al. High expression of activation-induced cytidine deaminase (AID) and splice variants is a distinctive feature of poor-prognosis chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 2003;101:4903–4908.
3. Oppezzo P, Vuillier F, Vasconcelos Y, et al. Chronic lymphocytic leukemia B cells expressing AID display dissociation between class switch recombination and somatic hypermutation. *Blood*. 2003;101:4029–4032.
4. Diehl LF, Karnell LH, Menck HR. The National Cancer data base report on age, gender, treatment, and outcomes of patients with chronic lymphocytic leukemia. *Cancer*. 1999;86:2684–2692.
5. Cheson BD, Bennett JM, Rai KR, et al. Guidelines for clinical protocols from chronic lymphocytic leukemia. Recommendations of the National Cancer Institute-sponsored Working Group. *Am J Hematol*. 1988;29:152.
6. Robertson LE, Huh YO, Butler JJ, et al. Response assessment in chronic lymphocytic leukemia after fludarabine plus prednisone: clinical, pathologic, immunophenotypic, and molecular analysis. *Blood*. 1992;80:29–36.
7. Vuillier F, Claisse JF, Vandenvelde C, et al. Evaluation of residual disease in B-cell chronic lymphocytic leukemia patients in clinical and bone-marrow remission using CD5-CD19 markers and PCR study of gene rearrangements. *Leuk Lymphoma*. 1992;7:195–204.
8. French Cooperative Group on Chronic Lymphocytic Leukemia: Is the CHOP regimen a good treatment for advanced CLL? Results from two randomized clinical trials. *Leuk Lymphoma* 13:449, 1994.
9. Rai KR, Peterson BL, Appelbaum FR, et al. Fludarabine compared with chlorambucil as primary therapy for chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med*. 2000;343:1750–1757
10. O'Brien SM, Kantarjian HM, Cortes J, et al. Results of the fludarabine and cyclophosphamide combination regimen in chronic lymphocytic leukemia. *J Clin Oncol*. 2001;19:1414–1420
11. Bosch F, Ferrer A, Lopez-Guillermo A, et al. Fludarabine, cyclophosphamide and mitoxantrone in the treatment of resistant or relapsed chronic lymphocytic leukemia. *Br J Haematol*. 2002;119(4):976–984
12. Bosch F, Ferrer A, Lopez-Guillermo A, Gine E, et al. Fludarabine, cyclophosphamide and mitoxantrone in the treatment of resistant or relapsed chronic lymphocytic leukaemia. *Br J Haematol*. 2002;119(4):976–84.

13. O'Brien SM, Kantarjian HM, Cortes J, et al. Results of the fludarabine and cyclophosphamide combination regimen in chronic lymphocytic leukemia. *J Clin Oncol.* 2001;19:1414-1420.
14. Byrd JC, Peterson BL, Morrison VL, et al. Randomized phase 2 study of fludarabine with concurrent versus sequential treatment with rituximab in symptomatic, untreated patients with B-cell chronic lymphocytic leukemia: results from Cancer and Leukemia Group B 9712 (CALGB 9712). *Blood.* 2003;101:6-14.
15. Keating MJ, Manshouri T, O'Brien S, et al. A high proportion of true complete remission can be obtained with a fludarabine, cyclophosphamide, rituximab combination (FCR) in chronic lymphocytic leukemia. *Blood.* 2003;22:569.
16. Thomas DA, O'Brien S, Giles FJ, et al. Single agent Rituxan in early stage chronic lymphocytic leukemia (CLL). *Blood.* 2001;98:364a.
17. Michallet M, Archimbaud E, Bandini G, et al. HLA-identical sibling bone marrow transplantation in younger patients with chronic lymphocytic leukemia. *Ann Intern Med.* 1996;124(3):311-315.
18. Krackhardt AM, Gribben JG. High-dose therapy and stem cell support in chronic lymphocytic leukemia. In: BD Cheson, ed. *Chronic Lymphoid Leukemias.* Marcel Dekker Inc; 2001:393-415.
19. Dreger P, Brand R, Hansz J, et al. Treatment-related mortality and graft-versus-leukemia activity after allogeneic stem cell transplantation for chronic lymphocytic leukemia using intensity-reduced conditioning. *Leukemia.* 2003;17:841-848.
20. Khouiri IF, Lee MS, Saliba RM, et al. Nonablative allogeneic stem cell transplantation for chronic lymphocytic leukemia: impact of rituximab on immunomodulation and survival. *Exp Hematol.* 2004 Jan;32(1):28-35.
21. Keating MJ, Chiorazzi N, Messmer B, Damle RN, Allen SL, Rai KR, Ferrarini M, Kipps TJ. Biology and treatment of chronic lymphocytic leukemia. *Hematology (Am Soc Hematol Educ Program).* 2003;:153-75.