

Flourescencijska in situ hibridizacija u bolesnika s kroničnom limfocitnom leukemijom

Vidović, Mia

Undergraduate thesis / Završni rad

2022

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Faculty of Medicine Osijek / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Medicinski fakultet Osijek**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:152:266081>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-17**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Medicine Osijek](#)



SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK
PREDDIPLOMSKI SVEUČILIŠNI STUDIJ MEDICINSKO
LABORATORIJSKA DIJAGNOSTIKA

Mia Vidović

FLOURESCENCIJSKA IN SITU
HIBRIDIZACIJA U BOLESNIKA S
KRONIČNOM LIMFOCITNOM
LEUKEMIJOM

Završni rad

Osijek, 2022.

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
MEDICINSKI FAKULTET OSIJEK
PREDDIPLOMSKI SVEUČILIŠNI STUDIJ MEDICINSKO
LABORATORIJSKA DIJAGNOSTIKA

Mia Vidović

FLOURESCENCIJSKA IN SITU
HIBRIDIZACIJA U BOLESNIKA S
KRONIČNOM LIMFOCITNOM
LEUKEMIJOM

Završni rad

Osijek, 2022.

Rad je ostvaren u Zavodu za hematologiju i Kliničkom zavodu za patologiju i sudsku medicinu Kliničkog bolničkog centra Osijek.

Mentor rada: doc. dr. sc. Vlatka Periša, dr. med.

Rad ima 26 listova i 7 tablica.

Prije svega najveću zahvalu dugujem mentorici, doc. dr. sc. Vlatki Periši, koja je svojim znanjem i stručnim savjetima pomogla u izradi ovog završnog rada i pri tome pokazala iznimnu količinu predanosti i strpljenja.

Također želim zahvaliti i prof. Kristini Kralik na nesebično ukazanoj pomoći pri izradi ovog rada.

Želim zahvaliti svojim kolegama koji su mi pružali pomoć i podršku tijekom studiranja.

Posebnu zahvalu dugujem svojim roditeljima i obitelji koji su me bodrili, motivirali i podržavali tijekom mojeg obrazovanja i bez kojih ništa od ovoga ne bi bilo moguće.

SADRŽAJ

1. UVOD	1
1.1. Definicija	1
1.2. Epidemiologija.....	1
1.3. Klinička slika	2
1.4. Dijagnoza.....	2
1.4.1. Laboratorijski nalazi.....	3
1.4.2. Biopsija ili citološka punkcija koštane srži	3
1.4.3. Imunofenotipizacija.....	3
1.5. Liječenje	4
1.6. Flourescencijska in situ hibridizacija	5
1.7. Flourescencijska in situ hibridizacija kod kronične limfocitne leukemije	6
2. CILJ.....	8
3. ISPITANICI I METODE	9
3.1. Ustroj studije.....	9
3.2. Ispitanici	9
3.3. Metode	9
3.4. Statističke metode.....	9
4. REZULTATI.....	11
5. RASPRAVA	18
6. ZAKLJUČAK.....	20
7. SAŽETAK	21
8. SUMMARY	22
9. LITERATURA	23
10. ŽIVOTOPIS	26

POPIS KRATICA

BTK – bruton kinaza

DNK – deoksiribonukleinska kiselina

FCR - fludarabin, ciklofosfamid, rituksimab

FISH – flouescencijska in situ hibridizacija

iwCLL – Međunarodna skupina za kroničnu limfocitnu leukemiju (engl. *The International Workshop on Chronic Lymphocytic Leukemia*)

KB – Klinička bolnica

KBC – Klinički bolnički centar

KLL – kronična limfocitna leukemija

LDH – laktat dehidrogenaza

NHL – ne-Hodgkinov limfom

OS – ukupno preživljenje (engl. *Overall Survival*)

PFS – vrijeme do progresije bolesti (engl. *Progression Free Survival*)

RH – Republika Hrvatska

RNK – ribonukleinska kiselina

SLL – limfom malih stanica (engl. *Small Lymphocytic Lymphoma*)

1. UVOD

1.1. Definicija

Kronična limfocitna leukemija (KLL) pripada u skupinu ne-Hodgkinovih limfoma (NHL), a karakterizirana je pojačanim stvaranjem i nakupljanjem zrelih limfocita u koštanoj srži i perifernoj krvi. U više od 95 % slučajeva radi se o B-limfocitima, dok se u ostatku (< 5 %) radi o T-limfocitima ili NK-stanicama (1). Prema klasifikaciji Svjetske zdravstvene organizacije smatra se da su KLL i limfom malih stanica (SLL) iste bolesti s različitim kliničkim manifestacijama, čija je osnovna razlika u mjestu nastanka (KLL nastaje u koštanoj srži i krvi, dok SLL nastaje u limfnom tkivu). Prilikom morfološke analize razmaza periferne krvi pacijenata oboljelih od KLL vide se mali, homogeni, zreli limfociti koji su karakteristični zbog izrazito krhke stanične membrane što dovodi do čestog pucanja leukemijskih stanica prilikom izrade razmaza. Imunofenotipski leukemijske stanice izražavaju biljeg CD5 i biljege B-stanica CD19, CD20 i CD23 (2). Za postavljanje dijagnoze KLL potrebno je 5×10^9 /L B-limfocita u perifernoj krvi tijekom najmanje 3 mjeseca (2).

1.2. Epidemiologija

KLL je jedna od najčešće dijagnosticiranih vrsta leukemije te se smatra najčešćim tipom leukemije u zapadnom svijetu. Bolest pogađa uglavnom starije osobe, prosječne dobi oko 70 godina, ali oko trećine pacijenata mlađe je od 60 godina u trenutku dijagnoze (3). Prema procjeni Američkog društva za rak u 2021. godini bilo je oko 21 250 novih slučajeva KLL-e te oko 4320 smrtnih slučajeva, a rizik za obolijevanje je nešto veći kod muškaraca nego kod žena (4). Procijenjena incidencija u Sjedinjenim Američkim Državama iznosi 4,9 na 100 000 muškaraca i žena godišnje, a stopa smrtnosti iznosi 1,1 na 100 000 stanovnika (4). U Hrvatskoj više od 42 % leukemija otpada na KLL, a procijenjena incidencija iznosi 2,59 na 100 000 muškaraca te 1,6 na 100 000 žena (5). Pojava KLL razlikuje se i prema određenim geografskim područjima, na zapadu je to najčešći tip bolesti dok je na Dalekom istoku izrazito rijetka, a također se rjeđe pojavljuje i kod osoba koje su se s Dalekog istoka doselile u zapadne zemlje, što govori u prilog tome da genetika ima relativno važnu ulogu u nastanku bolesti.

1.3. Klinička slika

Klinička slika oboljelih od KLL-e mijenja se tijekom vremena što uvelike ovisi o fazi bolesti u kojoj se pacijent nalazi, bolest prati izrazito varijabilan klinički tijek s preživljenjem u rasponu od nekoliko mjeseci pa sve do nekoliko godina. Kod većine bolesnika KLL je asimptomatska bolest i većina slučajeva dijagnosticira se slučajnim nalazom povišenog broja limfocita u perifernoj krvi. Takvi pacijenti nemaju nikakve ili imaju samo minimalne znakove i simptome te ne zahtijevaju gotovo nikakvu terapiju pri dijagnozi. Nasuprot tome, kod nekih slučajeva nastaju simptomi povezani s povećanim brojem malignih stanica u koštanoj srži i perifernoj krvi te ubrzo zahtijevaju terapiju. Pacijenti tada najčešće osjećaju umor tijekom normalne fizičke aktivnosti uzrokovan anemijom zbog infiltracije koštane srži (6). Osim toga neki pacijenti se liječniku mogu javiti zbog simptoma koji su karakteristični za limfom kao na primjer povećani površinski limfni čvorovi, splenomegalija i hepatomegalija koje nastaju zbog infiltracije sekundarnih limfoidnih organa malignim stanicama (6). S napredovanjem bolesti javljaju se manifestacije mijelosupresije i imunodeficijencije, zbog čega su oboljeli blijedi, skloni krvarenju te imaju učestale infekcije (1). U početku dominiraju bakterijske infekcije, a kako bolest napreduje dolazi do sve značajnije hipogamaglobulinemije što uzrokuje teže gljivične i virusne infekcije. B-simptomi (noćno znojenje, gubitak više od 10 % tjelesne težine unutar 6 mjeseci, povišena tjelesna temperatura ($> 38\text{ }^{\circ}\text{C}$) i jaki umor) prisutni su tek u oko 15 % pacijenata (7). Limfadenopatija je jedan od najčešćih nalaza pri pregledu i prisutna je u oko 50 do 90 % oboljelih, ona može biti generalizirana ili lokalizirana. Splenomegalija je drugi najčešći nalaz, a prisutna je u 25 do 55 % bolesnika, također može biti prisutna i hepatomegalija koja je prisutna u oko 15 do 25 % slučajeva.

1.4. Dijagnoza

Dijagnoza KLL-e postavlja se na temelju laboratorijskih nalaza te biopsije ili citološke pretrage koštane srži uz imunofenotipizaciju, citogenetsku i molekularnu analizu. Osim navedenog vrlo je važna anamneza i fizikalni pregled pacijenta. Prilikom postavljanja dijagnoze važno je ustanoviti ima li pacijent stvarno KLL-u, a ne neku drugu limfoproliferativnu bolest koja se može klinički prezentirati kao KLL, kao što je leukemija vlasastih stanica ili limfom marginalne zone (8).

1.4.1. Laboratorijski nalazi

Glavni laboratorijski nalaz bolesnika s KLL-om uključuje leukocitozu (broj leukocita kreće se od 50 do $500 \times 10^9/L$) uz apsolutnu limfocitozu u diferencijalnoj krvnoj slici ($> 5 \times 10^9/L$) (1). Prema Međunarodnoj skupini za KLL-u (iwCLL, engl. The International Workshop on Chronic Lymphocytic Leukemia) za dijagnozu KLL potrebna je prisutnost više od $5 \times 10^9/L$ B-limfocita u perifernoj krvi koja je prisutna najmanje 3 mjeseca (9). Osim ovog karakterističnog laboratorijskog parametra kod oko 20 % pacijenata prisutna je normocitna i normokromna anemija te kod oko 10 % oboljelih umjerena trombocitopenija. Kada je kod pacijenta prisutna autoimuna hemolitička anemija u laboratorijskom nalazu vidljivi su znakovi hemolize, odnosno povišen broj retikulocita, povišen nekonjugirani bilirubin te snižen haptoglobin.

1.4.2. Biopsija ili citološka punkcija koštane srži

U bioptatu koštane srži udio limfocita treba biti veći od 30 % kako bi se mogla postaviti dijagnoza KLL-e (10). Kod analize bioptata koštane srži važno je pregledati kako su limfociti u uzorku raspoređeni, jer je to u korelaciji s agresivnošću bolesti (11):

- Nodularni oblik – maligni limfociti su u nakupinama, s normalnim stanicama i masnoćom između njih (sporo-rastući tip KLL)
- Intersticijski oblik – maligne stanice su pomiješane s normalnim stanicama i masnoćom, ima ih previše ali su ravnomjerno raspoređene (srednja stopa rasta)
- Difuzni oblik – većina stanica su maligne stanice, a celularnost je gotovo 95 do 100 % (agresivni rast KLL)

Sama biopsija koštane srži nije potrebna pri dijagnozi bolesti, no indicirana je u slučajevima kada laboratorijski nalazi nisu dovoljno jasni.

1.4.3. Imunofenotipizacija

Imunofenotipizacija je metoda pomoću koje se u uzorku koštane srži ili periferne krvi otkrivaju antigenska obilježja na površini leukemijskih stanica te na taj način pomaže u diferenciranju staničnog podrijetla. Maligne stanice kod oboljelih od KLL koeksprimiraju površinski antigen CD5 zajedno s antigenima B-stanica CD19, CD20 i CD23, osim toga razine

CD20 i CD79b karakteristično su niske u usporedbi s onima na normalnim B-limfocitima (8). Najnovija istraživanja potvrdila su da je za dijagnozu KLL dovoljno utvrditi markere CD19, CD5, CD20 i CD23, a u nejasnim slučajevima markeri kao što su CD43, CD79b, CD200, CD10, CD81 ili ROR1 mogu pomoći u postavljanju dijagnoze.

1.5. Liječenje

KLL je bolest indolentnog tijeka te zbog toga liječenje nije potrebno odmah u periodu postavljanja dijagnoze, no s obzirom na to velika većina pacijenata u konačnici zahtijeva liječenje. Postupak liječenja KLL započinje se kada su zadovoljeni kriteriji u skladu sa smjernicama iwCLL-a: anemija ($Hb < 110 \text{ g/L}$), trombocitopenija ($< 100 \times 10^9$), limfadenopatija ($> 10 \text{ cm}$), rastuća i/ili bolna splenomegalija ($> 6 \text{ cm}$ pod lijevim rebrenim lukom), te značajna progresija bolesti (12). Prilikom planiranja samog postupka liječenja važno je u obzir uzeti neke parametre kao što su: klinički stadij bolesti, opće stanje bolesnika, dob te je li bolest već bila podvrgnuta terapiji, kako bi odredili sposobnost bolesnika da tolerira agresivnost terapije. U liječenju KLL najčešće se primjenjuje dokazano učinkovita kemoimunoterapija, a ako to nije dovoljno, intenzitet terapije se povećava, uključujući alotransplantaciju matičnih stanica (13).

Specifično liječenje podrazumijeva primjenu kemoterapeutika, a izbor tih lijekova ovisi o dobi bolesnika te o njegovom kondicijskom stanju. Za većinu bolesnika prvu liniju liječenja čini FCR protokol (fludarabin, ciklofosfamid, rituksimab), za njega je dokazano da je puno učinkovitiji od postojećih protokola za liječenje KLL (1). Fludarabin i ciklofosfamid su kemoterapeutski lijekovi, a rituksimab je vrsta ciljanog lijeka protiv raka, to je monoklonsko protutijelo usmjereno protiv CD20 antigena (14). Osim kombinacije ova tri lijeka, u liječenju se može koristiti i ibrutinib i akalabrutinib, inhibitori Bruton kinaze (BTK), koji se najčešće koriste kod odraslih bolesnika s delecijom kromosoma 17p, odnosno mutacijom p53 te kod neliječenih bolesnika kod kojih nije prikladno liječenje na punoj dozi fludarabina. Bruton kinaza (BTK) je kinaza koja omogućuje proliferaciju malignog klona KLL, a ovaj lijek inhibira tu kinazu te dovodi do smanjenja preživljenja KLL stanica.

Venetoklaks je selektivni inhibitor BCL2 puta koji je odgovoran za onkogenezu, progresiju bolesti i rezistenciju za lijekove u mnogim hematološkim neoplazmama. Navedeni lijek ima svoje mjesto u liječenju pacijenata s KLL-om kako u prvoj liniji liječenja tako i u liječenju relapsno/refraktorne KLL-e.

Druga linija liječenja provodi se u slučaju kada bolest nije reagirala na lijekove i terapiju prve linije liječenja te ukoliko je u kratko vrijeme nakon prve linije liječenja došlo do relapsa bolesti. Liječnik odabire slijedeći korak na temelju dobi, općeg stanja te na temelju prve terapije koja je korištena i kako dobro je ona funkcionirala (15). Ovisno o tome kada je došlo do relapsa bolesti, prva linija liječenja može se ponoviti, no u drugoj liniji liječenja na raspolaganju su ofatumumab i obinutuzumab. Ofatumumab i obinutuzumab su humana monoklonska anti-CD20 protutijela koja uništavaju maligne B-limfocite (16). Ta dva lijeka najčešće se primjenjuju u kombinaciji s klorambucilom. Alogena transplantacija koštane srži i matičnih stanica dolazi u obzir samo ako bolesnik ne reagira na navedene lijekove ili se lijekovima ne postiže zadovoljavajući odgovor organizma na bolest.

Nespecifično liječenje provodi se kod bolesnika koji su kao posljedicu KLL razvili autoimunu hemolitičku anemiju i trombocitopeniju te je kod tih bolesnika indicirana primjena kortikosteroida. Također, KLL dovodi do imunosupresije te je korisna primjena imunoglobulina, a pacijentima se preporučuje i redovito cijepljenje protiv gripe.

1.6. Flourescencijska in situ hibridizacija

Tehniku in situ hibridizacije razvili su Joseph Gall i Mary Lou Pardue 1960-ih godina, ona se pokazala kao moćan alat za lociranje specifičnih regija na kromosomima (17).

Flourescencijska in situ hibridizacija (FISH) je najuvjerljivija tehnika za lociranje specifičnih sekvenci genetskog materijala, dijagnozu genetskih bolesti, mapiranje gena, identifikaciju novih onkogeni ili genskih aberacija koje doprinose razvoju različitih vrsta raka. Temelj metode FISH je hibridizacija dvije komplementarne sekvence, što je ujedno i osnovno načelo u molekularnoj genetici. Važna karakteristika ove metode je to da metoda može detektirati specifičnu sekvencu molekule deoksiribonukleinske kiseline (DNK) u metafaznoj ili interfaznoj jezgri. Osnovni princip metode FISH je hibridizacija jezgrine DNK molekule bilo interfaznih stanica ili metafaznih kromosoma, pričvršćenih na predmetno stakalce, s probom nukleinske kiseline koja je komplementarna dijelu genoma kojeg želimo detektirati. Probe koje se koriste mogu biti neizravno označene haptenom, biotinom ili digoksigeninom ili izravno ugradnjom fluorescentnog nukleotida koji se ugrađuje u DNK ili ribonukleinsku kiselinu (RNK). Obilježena proba i ciljna molekula DNK, nakon denaturacije, se miješaju te dolazi do hibridizacije ukoliko obilježena proba odgovara dijelu genoma kojeg želimo detektirati. U slučaju da je proba označena neizravno, za vizualizaciju nefluorescentnog haptena potreban je

dodatni korak enzimskog ili imunološkog načina detekcije. U slučaju izravnog označavanja probe fluorescentni signal se odmah pojavljuje, no bez obzira na to kako je proba označena u oba slučaja rezultati se na kraju vizualiziraju fluorescentnim mikroskopom. Za izravnu detekciju najčešće se koriste fluorescentni nukleotidi: FluoroRed, FluoroBlue, FluoroGreen, Cy3. Što se tiče metode neizravne detekcije, najčešće se koriste protutijela konjugirana s fluorescentnom bojom kao što su FITC, Rhodamin, TexasRed, AMCA. Postoji više različitih FISH tehnika, ovisno o tome što detektiraju i u kojim stanicama, a nastale su zahvaljujući poboljšanju osjetljivosti i specifičnosti izvorne FISH metode. Neke od najvažnijih prednosti FISH metode su: izrazito brza metoda kojom se može analizirati velik broj stanica u kratkom vremenu, može se provesti iz vrlo male količine uzorka te pomoću nje možemo vidjeti i najmanje delecije, inverzije, translokacije ili insercije te sve ostale promjene na genu koje se standardnim analizama ne mogu prikazati. Osnovni i najvažniji nedostatak ove metode je cijena.

1.7. Flouescencijska in situ hibridizacija kod kronične limfocitne leukemije

Metoda FISH donijela je vrlo značajan preokret u određivanju prognoze KLL-e jer se pokazala kao visoko osjetljiva i specifična u dijagnosticiranju genetskih abnormalnosti kod pacijenata oboljelih od KLL u odnosu na konvencionalne citogenetske metode. KLL je bolest s promjenjivim kliničkim tijekom, a razlog zbog kojeg neki pacijenti imaju stabilan tijek, a drugi imaju progresivnu bolest pripisuje se upravo razlikama u genetskim karakteristikama leukemijskih stanica. Stečene genetske aberacije, kao i kod drugih vrsta raka, imaju važnu ulogu u patogenezi KLL, a informacije o njima važne su u donošenju strategije liječenja i praćenju progresije bolesti. KLL je bolest s relativno stabilnim genomom u odnosu na druge hematološke malignitete. Kromosomske abnormalnosti otkrivene su u oko 80 % pacijenata prilikom postavljanja dijagnoze KLL (18). Najčešće kromosomske abnormalnosti koje se uočavaju kod ovih pacijenata su gubitci jednog zahvaćenog kromosoma, kao što su delecije 6q, 11q, 13q ili 17p. Dobitci cijelih kromosoma, kao što je trisomija 12, nešto su rjeđi.

Delecija regije 13q14, pronađena je u više od 50 % pacijenata s KLL, te je najčešća citogenetska abnormalnost ove bolesti, a povezana je s dobrom prognozom (18).

Trisomija 12 prisutna je u oko 10 do 20 % slučajeva i često se pojavljuje kao jedinstvena citogenetska promjena kod ovih pacijenata, osim toga može se povezati s drugim kromosomskim aberacijama kao što su trisomije 18 i 19. Što se tiče prognostičkog značaja

trisomije 12, nije još u potpunosti poznato koliko ova abnormalnost utječe na prognozu. Neke studije pokazuju da je povezana s lošijom prognozom i povećanom proliferacijom malignih stanica, dok su druge pokazale da nije povezana s lošijom prognozom ove bolesti.

Delecija dugog kraka kromosoma 11 otkriva se u 5 do 20 % bolesnika (19). Ove delecije su vrlo varijabilne veličine i u većini slučajeva veće su od 20 megabaza. Kod delecije 11q najčešće se radi o mutaciji ATM gena koji kodira kinazu koja ima ulogu u regulaciji tumor supresorskog gena p53, no tu može biti uključen i velik broj drugih gena, jedan od tih gena je BIRC3 te je ta mutacija najčešće otkrivena kod pacijenata s KLL rezistentnim na fludarabin. S obzirom na kliničku sliku, pacijenti s delecijom 11q najčešće se prezentiraju s višestrukim limfadenopatijama i ova delecija povezana je s lošijim prognostičkim čimbenicima te progresivnim razvojem bolesti.

Delecija 17p nalazi se u otprilike 3 do 8 % bolesnika s KLL-om pri postavljanju dijagnoze (20). Ova delecija je najčešća stečena aberacija koja nastaje kod pacijenata nakon liječenja i to ne samo kod pacijenata liječenih od KLL, nego i kod drugih NHL. Pacijenti s ovom delecijom čine skupinu s najgorim prognostičkim čimbenicima i često su rezistentni na terapiju, što se objašnjava gubitkom TP53 gena. Tumor supresor p53 je fosfoprotein kojeg još nazivamo i čuvarom genoma. Ima važnu ulogu u sprječavanju nastanka tumora jer nakon oštećenja molekule DNK može zaustaviti napredovanje staničnog ciklusa, kako bi se omogućio popravak DNK, ili može dovesti do apoptoze (21). Kod pacijenata s ovom mutacijom, p53 više nije u mogućnosti kontrolirati staničnu proliferaciju što rezultira neučinkovitim DNK popravkom i nastankom nestabilnih stanica.

Metoda FISH i detekcija citogenetskih promjena povezanih s KLL-om dovela je do boljeg i jednostavnijeg razumijevanja tijeka ove bolesti te do razvoja novijih i učinkovitijih terapijskih pristupa.

2. CILJ

Ciljevi ovog istraživanja:

1. Ispitati zastupljenost pojedinih citogenetskih promjena kod novodijagnosticiranih pacijenata s KLL dijagnosticiranom u Kliničkom bolničkom centru (KBC) Osijek
2. Ispitati povezanost citogenetskih promjena kod novodijagnosticiranih pacijenata s KLL s laboratorijskim i demografskim obilježjima

3. ISPITANICI I METODE

3.1. Ustroj studije

Rad je ostvaren kao presječna studija na povijesnim podacima.

3.2. Ispitanici

Ispitanici su pacijenti kojima je u razdoblju od 1. 1. 2017. do 1. 1. 2021. utvrđena dijagnoza KLL-e u KBC Osijek. Iz istraživanja su isključeni pacijenti kojima pri postavljanju dijagnoze nije učinjena FISH analiza.

3.3. Metode

Iz medicinskih zapisa Zavoda za hematologiju KBC Osijek prikupljeni su podatci o demografskim, kliničkim i inicijalnim laboratorijskim obilježjima (vrijednost eritrocita, hemoglobina, leukocita, trombocita, limfocita, širine distribucije eritrocita, laktat dehidrogenaze, C-reaktivnog proteina, serumska koncentracija albumina i β 2-mikroglobulina) novodijagnosticiranih pacijenata s KLL-om. Podatci arhive Zavoda za hematologiju KBC Osijek korišteni su u svrhu identificiranja pacijenata koji ispunjavaju kriterije za uključivanje u istraživanje. Iz medicinskih zapisa Kliničkog zavoda za patologiju i sudsku medicinu prikupljeni su rezultati FISH analize novodijagnosticiranih pacijenata s KLL.

3.4. Statističke metode

Kategorički podatci predstavljeni su apsolutnim i relativnim frekvencijama. Razlike među kategoričkim varijablama testirane su χ^2 testom, a po potrebi Fisherovim egzaktnim testom. Normalnost raspodjele numeričkih varijabli testirana je Shapiro – Wilkovim testom. Numerički podatci opisani su medijanom i granicama interkvartilnog raspona zbog raspodjela koje ne slijede normalnu. Za testiranje razlika numeričkih varijabli između dvije nezavisne skupine ispitanika korišten je Mann – Whitneyev U test. Sve P vrijednosti su dvostrane. Razina značajnosti je postavljena na $\text{Alpha} = 0,05$. Za analizu podataka korišten je statistički program

MedCalc® *Statistical Software version 20.026 (MedCalc Software Ltd, Ostend, Belgium; <https://www.medcalc.org>; 2022) i SPSS (IBM Corp. Released 2015. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 23.0. Armonk, NY: IBM Corp.).*

4. REZULTATI

Istraživanje je provedeno na 61 ispitaniku od kojih je 37 (61 %) muškaraca i 24 (39 %) su žene. Medijan dobi ispitanika je 69 godina u rasponu od 35 do 85 godina, a dob kod dijagnoze je medijana 67 godina u rasponu od 33 do 83 godine.

FISH test je napravljen kod svih bolesnika, a kod 33 (54 %) bolesnika su nađene citogenetske promjene, a od citogenetskih promjena, po 14 (23 %) bolesnika ima del 13q14.3 ili trisomija 12, del ATM se bilježi kod 9 (15 %) bolesnika, del p53 ima 5 (8 %) bolesnika, a samo se kod jednog (2 %) nalazi monosomija 12 (Tablica 1).

Tablica 1. Osnovna obilježja bolesnika

Spol	
Muškarci	37 (61 %)
Žene	24 (39 %)
Dob (godine)	69 (63 – 78)
[Medijan (interkvartilni raspon)]	
Dob kod dijagnoze (godine)	67 (60 – 75)
[Medijan (interkvartilni raspon)]	
FISH* testom nađene citogenetske promjene	33 (54 %)
Citogenetske promjene	
del 13q14.3	14 (23 %)
trisomija 12	14 (23 %)
del ATM	9 (15 %)
del p53	5 (8 %)
monosomija 12	1 (2 %)

*Flourescencijska in situ hibridizacija

Nema značajnih razlika u raspodjeli bolesnika prema spolu i prisutnoj citogenetskoj promjeni (Tablica 2).

Tablica 2. Raspodjela bolesnika prema spolu i citogenetskoj promjeni

	Broj (%) bolesnika u odnosu na spol			<i>P</i> *
	Muškarci	Žene	Ukupno	
del 13q14.3				
ne	29 (78)	18 (75)	47 (77)	0,76
da	8 (22)	6 (25)	14 (23)	
trisomija 12				
ne	28 (76)	19 (79)	47 (77)	0,75
da	9 (24)	5 (21)	14 (23)	
del ATM				
ne	32 (86)	20 (83)	52 (85)	0,73 [†]
da	5 (14)	4 (17)	9 (15)	
del p53				
ne	34 (92)	22 (92)	56 (92)	> 0,99 [†]
da	3 (8)	2 (8)	5 (8)	
monosomija 12				
ne	36 (97)	24 (100)	60 (98)	> 0,99 [†]
da	1 (3)	0 (0)	1 (2)	

* χ^2 test; [†]Fisherov egzaktni test

Nema značajnih razlika u dobi i biokemijskim pokazateljima s obzirom na prisutnost citogenetskih promjena del 13q14.3, del ATM i del p53 (Tablica 3, Tablica 4, Tablica 5).

Tablica 3. Razlike u dobi i biokemijskim pokazateljima u odnosu na prisutnu del 13q14.3.

	Medijan (interkvartilni raspon) del 13q14.3		P*
	Ne (n = 47)	Da (n = 14)	
Dob (godine)	69 (63 - 79)	72,5 (60,5 - 76,5)	0,81
Dob kod postavljanja dg	66 (60 - 75)	69,5 (57,5 - 73,25)	0,71
E [†]	4,55 (3,83 - 4,98)	4,37 (3,86 - 4,76)	0,45
Hg [‡]	140 (111 - 148)	130,5 (112 - 143)	0,38
L [§]	28,1 (16,8 - 45,8)	27,8 (18,05 - 117)	0,41
Ly	20,26 (11,15 - 35,24)	22,31 (12,74 - 110,1)	0,33
Tr [¶]	176 (151 - 225)	159,5 (82,75 - 211,25)	0,19
RDW ^{**}	14 (13,5 - 15,25)	15,7 (13,8 - 17,9)	0,08
LDH ^{††}	188 (164 - 264)	170 (147,5 - 186,75)	0,06
CRP ^{‡‡}	1,55 (0,88 - 5,15)	1,8 (1,03 - 4,78)	0,86
Albumin	44,15 (43,4 - 45,98)	41,7 (39,4 - 46,78)	0,56
β2-mikroglobulin	2,21 (1,79 - 3,37)	2,55 (2,44 - 3,31)	0,42

*Mann Whitney U test; †broj eritrocita; ‡vrijednost hemoglobina; §broj leukocita; ||broj limfocita; ¶broj trombocita; **širina distribucije eritrocita; ††vrijednost laktat dehidrogenaze; ‡‡vrijednost C-reaktivnog proteina

Tablica 4. Razlike u dobi i biokemijskim pokazateljima u odnosu na prisutnu del ATM.

	Medijan (interkvartilni raspon)		<i>P</i> *
	del ATM		
	Ne (n = 52)	Da (n = 9)	
Dob (godine)	69 (62,25 - 78,75)	69 (65 - 76,5)	0,65
Dob kod postavljanja dg	67 (59 - 75)	67 (61,5 - 74)	0,72
E [†]	4,55 (3,83 - 4,96)	4,31 (3,89 - 4,65)	0,61
Hg [‡]	135 (112,5 - 148)	134 (111 - 142,5)	0,56
L [§]	28,75 (18,4 - 58,95)	22,9 (13,3 - 30,65)	0,24
Ly	21,91 (12,64 - 50,93)	20,09 (7,83 - 23,91)	0,34
Tr [¶]	179,5 (148 - 230,25)	153 (99 - 180,5)	0,05
RDW ^{**}	14,45 (13,5 - 15,93)	14,35 (13,58 - 16,3)	0,83
LDH ^{††}	184 (155,5 - 239,5)	178 (150 - 236,5)	0,79
CRP ^{‡‡}	1,5 (0,85 - 4,85)	2,2 (1,65 - 17,4)	0,30
Albumin	44,2 (41,25 - 46,23)	43,3 (32,4 - 45,45)	0,14
β2-mikroglobulin	2,45 (1,81 - 3,02)	3,31 (n = 1)	-

*Mann Whitney U test; †broj eritrocita; ‡vrijednost hemoglobina; §broj leukocita; ||broj limfocita; ¶broj trombocita; **širina distribucije eritrocita; ††vrijednost laktat dehidrogenaze; ‡‡vrijednost C-reaktivnog proteina

Tablica 5. Razlike u dobi biokemijskim pokazateljima u odnosu na prisutnu del p53.

	Medijan (interkvartilni raspon)		<i>P</i> *
	del p53		
	Ne (n = 56)	Da (n = 5)	
Dob (godine)	68 (62,25 - 77,75)	75 (71,5 - 82,5)	0,06
Dob kod postavljanja dg	65 (59 - 74)	70 (69 - 80)	0,07
E [†]	4,54 (3,84 - 4,96)	4,41 (3,71 - 4,59)	0,45
Hg [‡]	137,5 (112 - 147,75)	132 (118 - 138,5)	0,60
L [§]	27,5 (16,83 - 50,3)	30,7 (24,9 - 206,75)	0,20
Ly	20,32 (11,5 - 42,63)	24,56 (18,08 - 193,88)	0,22
Tr [¶]	177 (139,25 - 216,25)	161 (142 - 228)	0,67
RDW ^{**}	14,45 (13,53 - 15,73)	14,65 (13,53 - 18,4)	0,71
LDH ^{††}	184 (156 - 233)	236,5 (130,5 - 335,75)	> 0,99
CRP ^{‡‡}	1,5 (0,88 - 5,48)	3 (1,88 - 3,15)	0,33
Albumin	44,2 (41,4 - 46,75)	42,2 (40,15 - 44,18)	0,28
β2-mikroglobulin	2,45 (1,81 - 2,96)	4,17 (n = 1)	-

*Mann Whitney U test; †broj eritrocita; ‡vrijednost hemoglobina; §broj leukocita; ||broj limfocita; ¶broj trombocita; **širina distribucije eritrocita; ††vrijednost laktat dehidrogenaze; ‡‡vrijednost C-reaktivnog proteina

Kod bolesnika s citogenetskom promjenom trisomija 12, značajno su više vrijednosti laktat dehidrogenaze (LDH) u odnosu na one bolesnike koji nemaju trisomiju 12 (Mann Whitney U test, $P = 0,01$) (Tablica 6).

Tablica 6. Razlike u dobi i biokemijskim pokazateljima u odnosu na prisutnu trisomiju 12

	Medijan (interkvartilni raspon)		P^*
	trisomija 12		
	Ne (n = 47)	Da (n = 14)	
Dob (godine)	68 (63 - 75)	76,5 (61,5 - 80)	0,21
Dob kod postavljanja dg	65 (60 - 71)	74,5 (58,25 - 78)	0,15
E [†]	4,44 (3,87 - 4,97)	4,61 (3,71 - 4,81)	0,85
Hg [‡]	134 (112 - 148)	137,5 (115,25 - 144,25)	0,89
L [§]	28,3 (16,9 - 61,2)	27,1 (18,75 - 36,23)	0,72
Ly	20,38 (11,15 - 52,02)	19,03 (13,11 - 29,37)	0,78
Tr [¶]	178 (138 - 225)	173,5 (147,75 - 196)	0,70
RDW ^{**}	14,6 (13,55 - 15,75)	14,3 (13,5 - 17,9)	0,69
LDH ^{††}	175 (150,5 - 210)	234 (179 - 303,5)	0,01
CRP ^{‡‡}	1,7 (0,9 - 3,8)	1,5 (0,95 - 11,45)	0,89
Albumin	44,2 (41 - 46,08)	44,1 (40,1 - 47,8)	0,99
β2-mikroglobulin	2,25 (1,78 - 3,49)	2,49 (2,36 - 2,84)	0,37

*Mann Whitney U test; [†]broj eritrocita; [‡]vrijednost hemoglobina; [§]broj leukocita; ^{||}broj limfocita; [¶]broj trombocita; ^{**}širina distribucije eritrocita; ^{††}vrijednost laktat dehidrogenaze; ^{‡‡}vrijednost C-reaktivnog proteina

Razlike u dobi i biokemijskim pokazateljima u odnosu na prisutnu monosomiju 12 nisu dokazane, jer samo jedan bolesnik ima tu citogenetsku promjenu (Tablica 7).

Tablica 7. Razlike u dobi i biokemijskim pokazateljima u odnosu na prisutnu monosomiju 12

	Medijan (interkvartilni raspon) monosomija 12	
	Ne (n = 60)	Da (n = 1)
Dob (godine)	69 (63 - 78)	59
Dob kod postavljanja dg	67,5 (60,25 - 74,75)	56
E*	4,54 (3,88 - 4,93)	1,18
Hg [†]	135 (112,5 - 146,5)	53
L [‡]	27,5 (17 - 50,3)	422,4
Ly [§]	20,32 (12,57 - 42,63)	418,18
Tr	175,5 (144 - 216,25)	64
RDW [¶]	14,3 (13,5 - 15,7)	30,5
LDH**	183,5 (154 - 233,5)	246
CRP ^{††}	1,6 (0,9 - 4,85)	1,4
Albumin	44,1 (40,8 - 45,98)	47,25
β2-mikroglobulin	2,45 (1,81 - 2,96)	7,85

*broj eritrocita; [†]vrijednost hemoglobina; [‡]broj leukocita; [§]broj limfocita; ^{||}broj trombocita; [¶]širina distribucije eritrocita; **vrijednost laktat dehidrogenaze; ^{††}vrijednost C-reaktivnog proteina

5. RASPRAVA

U ovom istraživanju obuhvaćen je 61 ispitanik kojemu je u periodu od 1. 1. 2017. do 1. 1. 2021. dijagnosticirana KLL na Zavodu za hematologiju Klinike za unutarnje bolesti KBC Osijek, a s ciljem otkrivanja zastupljenosti pojedinih citogenetskih promjena te njihove povezanosti s laboratorijskim obilježjima. U istraživanje su uključeni samo oni pacijenti kojima je za vrijeme postavljanja dijagnoze učinjena FISH analiza.

FISH analiza značajno je doprinijela u dijagnostici te praćenju i predviđanju prognoze pacijenata oboljelih od KLL, a otkako se primjenjuje u svakodnevnoj rutinskoj dijagnostici, istraživači su uočili male, ali značajne razlike među pacijentima s različitim citogenetskim promjenama.

Uočeno je da je bolest učestalija kod muškaraca nego kod žena s obzirom da je bolest dijagnosticirana kod 61 % muškaraca, što potkrepljuje činjenicu Američkog društva za rak da je bolest nešto učestalija kod muškaraca. Medijan dobi ispitanika je 69 godina, u rasponu od 35 do 85 godina te 67 godina kod postavljanja dijagnoze, u rasponu od 33 do 83 godine, što ide u prilog dosad poznatim podacima da je prosječna dob kod postavljanja dijagnoze 70 godina. Što se tiče prisutnosti pojedinih citogenetskih promjena i njihove raspodjele prema spolu, tu nisu uočene značajne razlike.

U ovom istraživanju citogenetske promjene nađene su kod 54 % pacijenata. Najčešće prisutne promjene bile su delecija regije 13q14.3 te trisomija 12 nađene u 23 % pacijenata. Nakon njih slijedi delecija ATM nađena u 15 % bolesnika, zatim delecija p53 prisutna kod njih 8 % te monosomija 12 koja je nađena u samo jednog bolesnika (2 %). Prema dosad objavljenim istraživanjima citogenetske promjene najčešće se nalaze kod otprilike 80 % bolesnika FISH analizom, a u oko 50 % njih konvencionalnim citogenetskim metodama, što nam daje do znanja da je FISH puno osjetljivija i specifičnija pretraga (18, 20, 22). Najčešća citogenetska promjena koja je nađena u objavljenim istraživanjima definitivno je delecija 13q, a za njom prema učestalosti slijede trisomija 12, delecija ATM te delecija p53 (18, 20). Ovakav poredak učestalosti citogenetskih promjena vidljiv je i u ovom istraživanju i ovi rezultati gotovo ne odstupaju od svjetskih rezultata u objavljenim istraživanjima. Do sada je u Republici Hrvatskoj (RH) istraživana zastupljenost citogenetskih promjena u Kliničkoj bolnici (KB) Merkur. U njihovom istraživanju citogenetske promjene nađene su kod 28,6 % pacijenata što je skoro duplo manje nego u ovom istraživanju, a gotovo troduplo manje u odnosu na već poznata istraživanja. Najčešća promjena kod njih bila je delecija 13q14.3, zatim delecija p53, a delecija

ATM i trisomija 12 nađene su kod samo jednog pacijenta. Kod praćenja zastupljenosti ovih promjena vidi se različit poredak prema učestalosti promjena u KBC Osijek i već poznatim svjetskim istraživanjima i u KB Merkur, što ostavlja pitanje jesu li navedene promjene povezane s demografskim obilježjima ili različitim načinima liječenja.

Prilikom ispitivanja povezanosti između inicijalnih laboratorijskih parametara navedenih u tablicama s citogenetskim promjenama nisu uočene značajne razlike u laboratorijskim parametrima u odnosu na prisutnu citogenetsku promjenu. Najvažnije što je pritom uočeno je da su kod pacijenata s prisutnom trisomijom 12 značajno više vrijednosti laktat dehidrogenaze (LDH) u odnosu na pacijente koji nemaju navedenu citogenetsku promjenu. U objavljenim istraživanjima od svih laboratorijskih varijabli koje su ispitivali samo su koncentracija hemoglobina i koncentracija LDH statistički značajno korelirale s citogenetskim abnormalnostima (23, 24). Koncentracija hemoglobina bila je značajno snižena kod pacijenata s citogenetskim promjenama povezanim s lošijim ishodom bolesti, a to su del ATM i del p53, što nije uočeno u ovom istraživanju (23). Osim toga, del ATM i del p53 također su često povezane s trombocitopenijom što u ovom istraživanju nije slučaj te s eritrocitopenijom, koja također nije uočena u ovom istraživanju kod pacijenata s ovim citogenetskim promjenama. Također još neka istraživanja pokazala su značajnu razliku u koncentraciji LDH kod pacijenata s prisutnom trisomijom 12, tako je u jednom istraživanju uočeno da je trisomija 12 povezana s lošijom prognozom i ishodom bolesti, a biomarker povezan sa smanjenim ukupnim preživljenjem (OS) i vremenom do progresije (PFS) je visoka koncentracija LDH (25). LDH kod pacijenata s trisomijom 12 vrlo je važan prognostički biljeg, a s obzirom da je njegovo određivanje danas vrlo jednostavno trebalo bi ga određivati u svakodnevnoj kliničkoj praksi. U budućim istraživanjima bilo bi korisno ispitati ishode liječenja kod pacijenata s trisomijom 12 koji imaju povišenu koncentraciju LDH i onih koji imaju normalne vrijednosti LDH.

Ovo istraživanje provedeno je kako bi se ispitala zastupljenost pojedinih citogenetskih promjena kod pacijenata u KBC-u Osijek te kako bi se ispitalo postoji li povezanost inicijalnih laboratorijskih parametara s nalazom određene citogenetske promjene. Uočeno je da incidencija citogenetskih promjena slijedi raspodjelu kakva je i u dosad poznatim svjetskim istraživanjima te da se razlikuje od raspodjele u KB Merkur. Osim toga, uočena je i povećana koncentracija LDH kod pacijenata s trisomijom 12 što je također dokazano i u dosad objavljenim istraživanjima. No, u ovo istraživanje uključen je relativno mali broj pacijenata i otkriveno je vrlo malo citogenetskih promjena. U svrhu dobivanja što značajnih rezultata istraživanje bi trebalo provesti kroz duži vremenski period te uključiti veći broj ispitanika.

6. ZAKLJUČAK

Na temelju provedenog istraživanja i dobivenih rezultata izvedeni su slijedeći zaključci:

1. U razdoblju od 1. 1. 2017. do 1. 1. 2021. 61 osobi dijagnosticirana je kronična limfocitna leukemija. Kod 33 pacijenta (54 %) prisutna je citogenetska promjena.
2. KLL je češće dijagnosticirana u muškaraca.
3. Najčešće prisutne citogenetske promjene kod pacijenata s KLL-om u KBC-u Osijek su delecija 13q14.3 i trisomija 12.
4. Najrjeđe prisutna citogenetska promjena kod pacijenata s KLL-om u KBC-u Osijek je monosomija 12.
5. Citogenetske promjene podjednako su prisutne i kod žena i kod muškaraca.
6. Pacijenti s trisomijom 12 imaju značajno više vrijednosti LDH u odnosu na pacijente koji nemaju trisomiju 12.

7. SAŽETAK

UVOD: Kronična limfocitna leukemija (KLL) maligna je bolest karakterizirana pojačanim stvaranjem i nakupljanjem zrelih limfocita u koštanoj srži i perifernoj krvi. Flourescencijska in situ hibridizacija (FISH) donijela je vrlo velik preokret u dijagnostici KLL te je dovela do boljeg i jednostavnijeg razumijevanja tijeka ove bolesti i razvoja učinkovitijih terapijskih postupaka.

CILJEVI ISTRAŽIVANJA: ispitati zastupljenost citogenetskih promjena kod novodijagnosticiranih pacijenata s KLL dijagnosticiranom u Kliničkom bolničkom centru Osijek, ispitati povezanost citogenetskih promjena kod novodijagnosticiranih pacijenata s KLL s laboratorijskim i demografskim obilježjima.

NACRT STUDIJE: presječna studija na povijesnim podacima

ISPITANICI I METODE: Iz medicinskih zapisa prikupljeni su podatci o demografskim, kliničkim i inicijalnim laboratorijskim obilježjima te rezultati FISH analize novodijagnosticiranih pacijenata. Navedeni podatci korišteni su u svrhu identificiranja pacijenata koji ispunjavaju kriterije za uključivanje u istraživanje.

REZULTATI: U razdoblju od 1. 1. 2017. do 1. 1. 2021. 61 osobi dijagnosticirana je kronična limfocitna leukemija. Kod 33 pacijenta (54 %) prisutna je citogenetska promjena, po 14 (23 %) bolesnika ima del 13q14.3 ili trisomiju 12, del ATM se bilježi kod 9 (15 %) bolesnika, del p53 ima 5 (8 %) bolesnika, a samo se kod jednog (2 %) nalazi monosomija 12. Nema značajnih razlika u raspodjeli prema spolu i citogenetskoj promjeni, u biokemijskim pokazateljima s obzirom na del 13q14.3, del ATM, del p53 i monosomiju 12. Pacijenti s trisomijom 12 imaju značajno više vrijednosti laktat dehidrogenaze.

ZAKLJUČAK: Najčešće prisutne citogenetske promjene kod pacijenata s KLL-om u KBC-u Osijek su delecija 13q14.3 i trisomija 12. Pojavnost citogenetskih promjena slijedi raspodjelu kakva je i u dosad objavljenim svjetskim istraživanjima.

KLJUČNE RIJEČI: citogenetske promjene; FISH; kronična limfocitna leukemija

8. SUMMARY

Fluorescence in situ hybridization in patients with chronic lymphocytic leukemia

INTRODUCTION: Chronic lymphocytic leukemia is a malignant disease characterized by increased production and accumulation of mature lymphocytes in the bone marrow and peripheral blood. Fluorescence in situ hybridization has brought a very big turnaround in the CLL diagnosis and led to a better and simpler understanding of the course of this disease and the development of effective therapeutic procedures.

OBJECTIVES: to examine the prevalence of cytogenetic changes in newly diagnosed patients with CLL diagnosed at the Clinical Hospital Center Osijek, to examine the association of cytogenetic changes in newly diagnosed patients with CLL with laboratory and demographic characteristics.

STUDY DESIGN: A cross-sectional study on historical data.

PARTICIPANTS AND METHODS: Demographic, clinical, and initial laboratory features data were collected from medical records, as well as the results of FISH analysis of newly diagnosed patients. These data were used to identify patients who meet the criteria for involvement in research.

RESULTS: In the period from 1. 1. 2017. to 1. 1. 2021. 61 people were diagnosed with chronic lymphocytic leukemia. In 33 patients (54 %) there is a cytogenetic change, 14 (23 %) patients have del 13q14.3 or trisomy 12, del ATM is recorded in 9 (15 %) patients, del p53 has 5 (8 %) patients, and only one (2 %) has monosomy 12. There are no significant differences in distribution by sex and cytogenetic change in biochemical parameters with respect to del 13q14.3, del ATM, del p53, and monosomy 12, patients with trisomy 12 have significantly higher lactate dehydrogenase levels.

CONCLUSION: The most common cytogenetic changes in patients with CLL at the Osijek Clinical Hospital are deletion 13q14.3 and trisomy 12. The occurrence of cytogenetic changes follows the distribution as in the published world studies.

KEY WORDS: cytogenetic changes; FISH; chronic lymphocytic leukemia

9. LITERATURA

1. Mihić D, Mirat J, Včev A. Interna medicina. 1. izd. Osijek: Medicinski fakultet Osijek; 2021.
2. Hallek M, Cheson DB, Catovsky D, Caligaris-Cappio F, Dighiero G, Dohner H i sur. International Workshop on Chronic Lymphocytic Leukemia. Guidelines for the diagnosis and treatment of chronic lymphocytic leukemia: a report from International Workshop on Chronic Lymphocytic Leukemia updating the National Cancer Institute - Working Group 1996 guidelines. *Blood*. 2008;111(12):5446-56.
3. Byrd CJ, Stilgenbauer S, Flinn WI. Chronic Lymphocytic Leukemia. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2004;2004(1):163-183.
4. American Cancer Society. Key Statistics for Chronic Lymphocytic Leukemia. Dostupno na: <https://www.cancer.org/cancer/chronic-lymphocytic-leukemia/about/key-statistics.html>
Datum pristupa: 24. 3. 2022.
5. Novak I, Jakšić O, Kulis T, Batinjan K, Znaor A. Incidence and mortality trends of leukemia and lymphoma in Croatia, 1988-2009. *Croat Med J*. 2012;53:115-23.
6. Ghia P, Ferreri J.M.A, Caligaris-Cappio F. Chronic lymphocytic leukemia. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*. 2007;64:234-46.
7. Pangalis GA, Vassilakopoulos TP, Dimopoulou MN, Siakantaris MP, Kontopidou FN, Angelopoulou MK. B-chronic lymphocytic leukemia: practical aspects. *Hematol Oncol*. 2002;20(3):103-146.
8. Hallek M, Cheson DB, Catovsky D, Caligaris-Cappio F, Dighiero G, Dohner H i sur. IwCLL guidelines for diagnosis, indications for treatment, response assessment, and supportive management of CLL. *Blood*. 2018;131(25):2745-60.
9. Hallek M. Chronic lymphocytic leukemia: 2020 update on diagnosis, risk, stratification and treatment. *Am J Hematol*. 2019;94:1266-87.
10. Rozman C, Montserrat E, Rodriguez-Fernandez JM, Ayats R, Vallespi T, Parody R i sur. Bone marrow histologic pattern - the best single prognostic parameter in chronic lymphocytic leukemia: a multivariate survival analysis of 329 cases. *Blood*. 1984;64:642-8.
11. CLL Society. Basic Guide to the Bone Marrow Report of a Patient with CLL and SLL.

Dostupno na adresi: <https://cillsociety.org/2017/01/basic-guide-bone-marrow-report-patient-cll-sll/>

Datum pristupa: 7. 4. 2022.

12. Krečak I, Bašić-Kinda S, Dujmović D, Hude I. Fludarabin, ciklofosfamid i rituksimab (FCR) u liječenju bolesnika s kroničnom limfocitnom leukemijom (KLL): Iskustvo Kliničkog bolničkog centra Zagreb. *Liječnički Vjesnik*. 2017; 139:210-15.
13. Jakšić B, Pejša V, Ostojić-Kolonić S, Kardum-Skelin I, Bašić Kinda S, Cocha B i sur. Guidelines for diagnosis and treatment of chronic lymphocytic leukemia. *KROHEM B-CLL*. 2018.
Dostupno na adresi: https://www.krohem.hr/wp-content/uploads/2018/05/KROHEM_CLL_GUIDELINES-_v1_2013-1.pdf
Datum pristupa: 7. 4. 2022.
14. Cancer Research UK. Fludarabine, cyclophosphamide and rituximab (FCR).
Dostupno na adresi: <https://www.cancerresearchuk.org/about-cancer/cancer-in-general/treatment/cancer-drugs/drugs/fcr>
Datum pristupa: 7. 4. 2022.
15. Healthline. What If My Cancer Comes Back? Second-Line Treatment for Chronic Lymphocytic Leukemia.
Dostupno na adresi: <https://www.healthline.com/health/cll/second-line-therapy>
Datum pristupa: 8. 4. 2022.
16. Drugbank Online. Ofatumumab.
Dostupno na adresi: <https://go.drugbank.com/drugs/DB06650>
Datum pristupa: 8. 4. 2022.
17. Shakoori AR. Fluorescence In Situ Hybridization (FISH) and Its Applications. *Chromosome Structure and Aberrations*. 2017;343-67.
18. Puiggros A, Blanco G, Espinet B. Genetic abnormalities in chronic lymphocytic leukemia: where we are and where we go. *Biomed Res Int*. 2014;2014:435983.
19. Marasca R, Maffei R, Martinelli S, Fiorcari S, Bulgarelli J, Debbia G i sur. Clinical heterogeneity of de novo 11q deletion chronic lymphocytic leukaemia: prognostic relevance of extent of 11q deleted nuclei inside leukemic clone. *Hematol Oncol*. 2013;31:88-95.
20. Dohner H, Stilgenbauer S, Benner A, Leupolt E, Krober A, Bullinger L i sur. Genomic Aberrations and Survival in Chronic Lymphocytic Leukemia. *N Engl J Med*. 2000;343:1910-16.

21. Soussi T. The p53 tumor suppressor gene: from molecular biology to clinical investigation. *Ann N Y Acad Sci.* 2000;910:121-37.
22. Kiefer Y, Schulte C, Tiemann M, Bullerdiek J. Chronic lymphocytic leukemia-associated chromosomal abnormalities and miRNA deregulation. *Appl Clin Genet.* 2012;5:21-8.
23. Srinivasan KV, Naseem S, Varma N, Lad DP, Malhotra P. Genomic alterations in chronic lymphocytic leukemia and their correlation with clinics-hematological parameters and disease progression. *Blood Res.* 2020;55:131-38.
24. Li H, Xiong W, Liu H, Yi S, Yu Z, Liu W i sur. Serum LDH level may predict outcome of chronic lymphocytic leukemia patients with a 17p deletion: a retrospective analysis of prognostic factors in China. *Chin J Cancer Res.* 2017; 29(2):156-165.
25. Autore F, Strati P, Innocenti I, Corrente F, Trentin L, Cortelezzi A i sur. Elevated Lactate Dehydrogenase Has Prognostic Relevance in Treatment-Naive Patients Affected by Chronic Lymphocytic Leukemia with Trisomy 12. *Cancers (Basel).* 2019;11(7):896.

10. ŽIVOTOPIS

Osobni podatci:

Ime i prezime: Vidović Mia

Datum rođenja: 13.11.2000.

Adresa: Jakova Gotovca 41, 31400 Đakovo

E-mail: mia.vidovic18@gmail.com

Mobitel: 099 3509 422

Obrazovanje:

2007. – 2015. Osnovna škola Josipa Antuna Čolnića Đakovo

2015. – 2019. Gimnazija Antuna Gustava Matoša Đakovo

2019. – 2022. Medicinski fakultet Osijek, Preddiplomski sveučilišni studij Medicinsko
laboratorijska dijagnostika

Nagrade:

Dekanova nagrada za uspješnost u studiranju u akademskoj 2020./2021. godini.

Članstva:

Hrvatska udruga studenata medicinsko laboratorijske dijagnostike – CMLDSA

Aktivnosti

Tjedan mozga 2021.

OSCON – 2020., 2021., 2022.