

## ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ REVIEW

# Β-χρονία λεμφική λευχαιμία Νεότερα δεδομένα

Η Β-χρονία λεμφική λευχαιμία (ΧΛΛ) αποτελεί το συνηθέστερο τύπο λευχαιμίας στο δυτικό κόσμο. Οι έρευνες των τελευταίων ετών έχουν βοηθήσει στην καλύτερη κατανόηση της βιολογίας της νόσου. Έτσι, η νόσος διακρίνεται σε δύο υποτύπους ανάλογα με την ύπαρξη ή την απουσία μεταλλάξεων στην υπερμεταβλητή περιοχή του γονιδίου της ανοσοσφαιρίνης (*IGH*), με διαφορές μεταξύ τους που καλύπτουν όλη την πορεία της νόσου, ξεκινώντας από την προέλευση του κακοήθους κυττάρου και την παθογένεια, μέχρι τη βιολογική του συμπεριφορά. Η πλέον χαρακτηριστική διαφορά είναι η σημαντικά χειρότερη πρόγνωση του μη μεταλλαγμένου τύπου. Χαρακτηριστικό της νόσου είναι η κλινική ετερογένεια, με την επιβίωση να ποικίλλει για τους ασθενείς από μήνες έως πολλά χρόνια. Η ετερογένεια αυτή σχετίζεται με τους ποικίλους παθογενετικούς μηχανισμούς που επιδρούν σε ένα αρχικό Β-κύτταρο μνήμης και περιλαμβάνουν τον αντιγονικό ερεθισμό των Β-κυττάρων, χρωμοσωμικές ανωμαλίες και γονιδιακές μεταλλάξεις, καθώς και επιδράσεις του εξωτερικού μικροπεριβάλλοντος που αδρανοποιούν τους αποπτωτικούς μηχανισμούς των κυττάρων. Η πρόγνωση είναι αρκετά δυσχερής για ασθενείς στα αρχικά στάδια της νόσου, γεγονός το οποίο καθιστά αναγκαία την ανεύρεση εύχρηστων δεικτών που θα διακρίνουν έγκαιρα την επιθετική νόσο. Εκτός από την ταυτοποίηση του *IGH* ως μεταλλαγμένου ή μη, διαδικασία ανέφικτη για πολλά περιφερικά κέντρα, προτείνεται η μέτρηση του βιολογικού παράγοντα ZAP-70 (zeta-associated protein of 70 kDa). Υψηλά επίπεδα ZAP-70 εκκρίνονται από Β-κύτταρα, κυρίως του μη μεταλλαγμένου τύπου ΧΛΛ, και σχετίζονται με επιθετικότερη νόσο και μικρότερο χρόνο επιβίωσης. Η μέτρηση του ZAP-70 αναμένεται να αποκτήσει κεντρικό ρόλο σε συνδυασμό με άλλους προγνωστικούς παράγοντες, με τελικό στόχο τη διαπίστωση του κατάλληλου χρόνου έναρξης θεραπείας. Εκτός από την αξιολόγηση διαφορετικών χημειοθεραπευτικών σχημάτων, η έρευνα προσανατολίζεται και στη δυνατότητα της μεταμόσχευσης μυελού, με την ελπίδα να επιτευχθεί και ίαση.

### 1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η Β-χρονία λεμφική λευχαιμία (ΧΛΛ) χαρακτηρίζεται από την προοδευτική μονοκλωνική αύξηση του αριθμού των Β-λεμφοκυττάρων, τα οποία αθροίζονται στους λεμφικούς ιστούς, στο μυελό και στο αίμα. Ορίζεται με βάση το χαρακτηριστικό ανοσοφαινότυπο των Β-κυττάρων, ο οποίος είναι CD5+, CD19+, CD23+, FMC7-, ενώ οι δείκτες CD20, CD79b/CD22 και οι επιφανειακές ανοσοσφαιρίνες ανευρίσκονται σε χαμηλά επίπεδα με ασθενή έκφραση.<sup>1</sup>

Πρόκειται για το συνηθέστερο τύπο λευχαιμίας στο δυτικό κόσμο καλύπτοντας ~30% του συνόλου των λευχαιμιών, ενώ είναι σπάνια στην Ασία. Η επίπτωσή της στις ΗΠΑ ανέρχεται σε 3,35–3,69/100.000 για τους άνδρες και

1,61–1,92 για τις γυναίκες. Το 80% των ασθενών είναι >60 ετών, με μέσο όρο ηλικίας προσβολής τα 69,6 έτη.<sup>2</sup> Το οικογενειακό ιστορικό ΧΛΛ ή άλλης λεμφοϋπερπλαστικής νόσου αποτελεί ισχυρό παράγοντα κινδύνου και ισχύει στο 10% των περιπτώσεων, αυξάνοντας έτσι τον κίνδυνο για τους πρώτου βαθμού συγγενείς νοσοούντων κατά 30 φορές.<sup>3</sup> Ασθενείς με την οικογενή μορφή είναι κατά μέσο όρο 10 χρόνια νεότεροι από εκείνους με τη σποραδική, ενώ τα προσβληθέντα παιδιά τους νοσούν 15–20 χρόνια νωρίτερα από τους γονείς.<sup>4–6</sup> Επίσης, έχει περιγραφεί σε ποσοστό 13,5% υποκλινική μορφή της νόσου μεταξύ των συγγενών πρώτου και δεύτερου βαθμού (μονοκλωνική Β-λεμφοκυττάρωση), δηλαδή ανίχνευση λεμφοκυττάρων στο αίμα με τον τυπικό ανοσοφαινότυπο, χωρίς να μπορεί

ΑΡΧΕΙΑ ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ 2008, 25(1):60–72  
ARCHIVES OF HELLENIC MEDICINE 2008, 25(1):60–72

Ε. Τζουρά,  
Π. Ρούσου

Γ' Παθολογική Κλινική, Πανεπιστήμιο  
Αθηνών, Νοσοκομείο «Σωτηρία», Αθήνα

B-chronic lymphocytic leukemia –  
latest developments

Abstract at the end of the article

### Λέξεις ευρετηρίου

Βιολογία  
Θεραπεία  
Παθογένεια  
Προγνωστικοί δείκτες  
Χρονία λεμφική λευχαιμία

Υποβλήθηκε 30.11.2006  
Εγκρίθηκε 24.1.2007

να γίνει πρόβλεψη για τη μετάπτωση σε νόσο.<sup>7,8</sup>

## 2. ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ

Η πλέον σημαντική πληροφορία των τελευταίων ετών σχετικά με τη βιολογία της νόσου είναι η διάκρισή της σε δύο υποτύπους, με διαφορές μεταξύ τους τόσο καθοριστικές, ώστε να ορίζουν σχεδόν διαφορετική νόσο. Η διάκριση γίνεται ανάλογα με την ύπαρξη ή την απουσία μεταλλάξεων στην υπερμεταβλητή περιοχή του γονιδίου της ανοσοσφαιρίνης (*IGH*), που αφορά στο τμήμα εκείνο στο γονιδίωμα του λεμφοκυττάρου από το οποίο συντίθεται η περιοχή του ειδικού αντισώματος που έρχεται σε άμεση επαφή με το αντιγόνο. Ο ανασυνδυασμός αυτού του γονιδίου είναι που δημιουργεί μοναδικά αντισώματα και, επομένως, μοναδικούς κλώνους ενεργοποιημένων Β-λεμφοκυττάρων. Όταν λοιπόν η αλληλουχία βάσεων του γονιδίου αυτού στα κύτταρα της νόσου διαφέρει >2% σε σύγκριση με το αντίστοιχο γονίδιο των κυττάρων της βλαστικής σειράς (πρώιμα κύτταρα), το γονίδιο θεωρείται μεταλλαγμένο.<sup>9</sup>

Οι διαφορές μεταξύ των δύο υποτύπων καλύπτουν όλη την πορεία της νόσου, αρχίζοντας από την προέλευση του κακοήθους κυττάρου και την παθογένεια, μέχρι τη συμπεριφορά του κυττάρου και τα μετρήσιμα βιολογικά του παράγωγα. Η πλέον χαρακτηριστική διαφορά είναι η σημαντικά χειρότερη πρόγνωση του μη μεταλλαγμένου τύπου, διαπίστωση η οποία καθιέρωσε έκτοτε τη μελέτη των βιολογικών παραμέτρων της νόσου χωριστά και συγκριτικά για τους δύο τύπους.<sup>10</sup>

### 2.1. Προέλευση του παθολογικού κυττάρου

Στην επιφάνεια των παθολογικών Β-κυττάρων εκφράζεται το μόριο CD5, το οποίο μόνο σ' ένα ποσοστό ~20% εκφράζεται στα φυσιολογικά Β-λεμφοκύτταρα των δευτερευόντων λεμφικών οργάνων των ενηλίκων (π.χ. λεμφαδένες). Αυτό οδήγησε στη σκέψη, μήπως τα κύτταρα της ΧΛΛ προκύπτουν από τα παραπάνω. Η μελέτη των CD5+ φυσιολογικών Β-λεμφοκυττάρων αποκαλύπτει ότι πρόκειται για κύτταρα του μανδύα που παράγουν χαμηλής συγγένειας (πολυαντιδρώντα) μη ειδικά αντισώματα, όπως και IgM αυτοαντισώματα. Τα τελευταία είναι ανιχνεύσιμα και σε φυσιολογικά άτομα, καθώς και σε ασθενείς με αυτοάνοσες διαταραχές (όπως ρευματοειδή αρθρίτιδα, συστηματικό ερυθηματώδη λύκο) ή με ΧΛΛ.<sup>11</sup>

Όμως, τα κύτταρα της ΧΛΛ δεν είναι δυνατόν να προέρχονται από τα παραπάνω, επειδή οι πρόγονοί τους έχουν έλθει σε επαφή με ειδικά αντιγόνα. Όταν συγκρίνονται τα παθολογικά κύτταρα με άωρα Β-κύτταρα, κύτταρα της

βλαστικής σειράς, CD5+ Β-κύτταρα και κύτταρα μνήμης, ομοιάζουν περισσότερο στα τελευταία, εξού και ο κοινός δείκτης CD27.<sup>12</sup> Επομένως, η έκφραση του CD5 είναι δευτερογενής αλλαγή, που μάλλον οφείλεται στην κακοήθη εξεργασία ή σε κυτταρική ενεργοποίηση.

Από αυτό το κύτταρο μνήμης προκύπτουν οι δύο τύποι ΧΛΛ, μια ομάδα δηλαδή με μεταλλάξεις στο γονίδιο της IgV και μια χωρίς. Παρότι παλαιότερα είχε θεωρηθεί ότι οι κλώνοι χωρίς μεταλλάξεις προέρχονται από άωρο κύτταρο, γεγονός που θα εξηγούσε και την κακοθέστερη εξέλιξη αυτού του τύπου,<sup>10</sup> έχει πλέον φανερό ότι τα κύτταρα ΧΛΛ όλων των ασθενών, ανεξάρτητα από μεταλλάξεις, επιδεικνύουν στοιχεία ενεργοποίησης και επαφής με αντιγόνα.<sup>13</sup> Η μεταξύ τους διαφορά έγκειται μάλλον στη χρονική στιγμή επαφής με το αντιγόνο στην πορεία εξέλιξης του παθογενετικού μηχανισμού της νόσου.

### 2.2. Αντιγονικός ερεθισμός

Οι υποδοχείς των Β-κυττάρων σε πολλούς ασθενείς έχουν συχνά δομικές ομοιότητες μεταξύ τους.<sup>14</sup> Αυτό σημαίνει ότι συνδέουν και όμοια αντιγόνα, τα οποία παίζουν ρόλο στην παθογένεια. Έτσι, σε κάποιες περιπτώσεις η ομοιότητα εντοπίζεται στη μεταβλητή περιοχή της βαριάς αλυσίδας<sup>15</sup> και σε άλλες στις μεταβλητές περιοχές της βαριάς και της ελαφράς αλυσίδας, στα σημεία υποδοχής του αντιγόνου. Περίπου το 10% όλων των περιπτώσεων νόσου μπορεί να ταξινομηθεί σε κατηγορία κοινών υποδοχέων, αλλά αυτό το φαινόμενο αφορά πολύ περισσότερο στο μη μεταλλαγμένο τύπο, όπου το ποσοστό ανέρχεται στο 20%.<sup>16</sup> Γι' αυτές τις περιπτώσεις μπορεί να λεχθεί ότι συγκεκριμένα αντιγόνα επάγουν τον πολλαπλασιασμό των λευχαιμικών κυττάρων, χωρίς να έχει διευκρινιστεί ακόμα αν πρόκειται για ιούς, βακτήρια, περιβαλλοντικά αντιγόνα ή και αυτοαντιγόνα.

### 2.3. Συσσώρευση και πολλαπλασιασμός

Η κακοήθεια της νόσου έχει αποδοθεί παραδοσιακά στη συσσώρευση των παθολογικών κυττάρων. Ο μέχρι πρόσφατα προτεινόμενος μηχανισμός συσσώρευσης, ότι δηλαδή ο ενδογενής μηχανισμός απόπτωσης είναι ελαττωματικός, δεν υποστηρίζεται από τα σύγχρονα δεδομένα, επειδή τα ίδια κύτταρα *in vitro* υφίστανται αυτόματη απόπτωση.<sup>17</sup> Υπεύθυνο πλέον για τη συσσώρευση θεωρείται το εξωτερικό μικροπεριβάλλον, του οποίου οι επιδράσεις συντηρούν τα κύτταρα εν ζωή. Τα στοιχεία του εξωτερικού μικροπεριβάλλοντος που ενοχοποιούνται γι' αυτή τη λειτουργία είναι:

*Γειτονικά κύτταρα:* Τα κύτταρα της ΧΛΛ έρχονται σε επαφή με διάφορα άλλα κύτταρα κατά την περιφορά τους

στο λεμφικό σύστημα. Στρωματικά κύτταρα του μυελού μπορούν να συντηρήσουν καλλιέργειες κυττάρων ΧΛΛ, χωρίς τη χρήση εξωγενών αυξητικών παραγόντων.<sup>18</sup> Ειδικά μονοκύτταρα αλληλεπιδρούν με τα κύτταρα της ΧΛΛ, καθώς τα πρώτα προϋποθέτουν τα δεύτερα για να εξελιχθούν στην ειδική μορφή των “nurse-like cells”, και με τη σειρά τους προστατεύουν τα λευχαιμικά κύτταρα από την αυτόματη απόπτωση στην καλλιέργεια.<sup>19</sup> Επίσης, η ανακατανομή των πληθυσμών των Τ-λεμφοκυττάρων στους ασθενείς με ΧΛΛ και η παραγωγή σημάτων επιβίωσης από αυτά δημιουργεί ένα προστατευτικό περιβάλλον για τα Β-κύτταρα στο μυελό και τους λεμφαδένες.<sup>20,21</sup> Οι αλλαγές αυτές στα Τ-λεμφοκύτταρα φαίνεται να προκαλούνται από την άμεση επαφή τους με τα παθολογικά Β-λεμφοκύτταρα.<sup>22</sup>

*Σήματα επιβίωσης (survival signals):* Ενεργοποιούν υποδοχείς της κυτταρικής μεμβράνης. Τέτοια είναι κυτταροκίνες, όπως IL-4, INF- $\alpha$ , INF- $\gamma$ , που εκκρίνονται από τα Τ-κύτταρα.<sup>23</sup> Σημαντική είναι η οικογένεια κυτταροκινών TNF (παραγόντες νέκρωσης όγκων), που εκκρίνονται επίσης από τα Τ-κύτταρα και επιδρούν στον κυτταρικό υποδοχέα CD40.<sup>24</sup> Χημειοκίνες, όπως ο SDF-1, εκκρίνονται από τα στρωματικά κύτταρα.<sup>25</sup> Τα nurse-like cells εκκρίνουν APRIL/BAFF, ένα ομόλογο του BlyS/BAFF, που προάγει την επιβίωση.<sup>26</sup> Κάποια από αυτά όμως παράγονται από τα ίδια τα Β-κύτταρα, δημιουργώντας ένα αυτόνομο αυτοκρινές σύστημα, όπως συμβαίνει με την έκφραση από έναν κλώνο Β-κυττάρων ταυτόχρονα του υποδοχέα CD40 και του CD40L.<sup>27</sup>

Τελικά, τα παραπάνω –μεταξύ άλλων– ευδώνουν τα αντι-αποπτωτικά γονίδια *BCL-2*,<sup>28</sup> *survivin*<sup>29</sup> και *MCL-1*.<sup>30</sup>

Ρόλο στην κακοήθεια της νόσου παίζει όμως και ο υπέρμετρος πολλαπλασιασμός ορισμένων κλώνων. Τα κύτταρα της ΧΛΛ έχουν αρκετά έντονο ρυθμό πολλαπλασιασμού, ο οποίος κυμαίνεται από 0,1 έως >1% του κλώνου ανά ημέρα.<sup>31</sup> Στους ασθενείς εκείνους που έχουν απολέσει την ευαισθησία στον αντι-πολλαπλασιαστικό (anti-proliferative) παράγοντα TGF- $\beta$ , ο ρυθμός πολλαπλασιασμού είναι ακόμα μεγαλύτερος.<sup>32,33</sup> Με δεδομένο ότι ο μέσος αριθμός κυττάρων σ' έναν ασθενή είναι  $10^{12}$ , καθημερινά παράγονται  $10^9$ – $10^{10}$  νέα λευχαιμικά κύτταρα. Σε αυτό το έδαφος προκύπτουν νέες μεταλλάξεις, που μπορούν να προσδώσουν στη νόσο επιθετικότερο χαρακτήρα. Κατ' επέκταση, υποστηρίζεται ότι η αυξημένη αναλογία νέων λευχαιμικών κυττάρων δείχνει την επιθετικότητα της νόσου καλύτερα από τον απόλυτο αριθμό λεμφοκυττάρων ή το μέγεθος των λεμφαδένων, καθώς τα τελευταία δείχνουν περισσότερο την ισορροπία μεταξύ κυτταρικού πολλαπλασιασμού και θανάτου, απ' ό,τι τη δυνατότητα νέων επικίνδυνων μεταλλάξεων. Σ' αυτό συνηγορεί και το ότι τα τελομερή, τα οποία ως γνωστόν βραχύνονται με κάθε κυτταρική διαίρεση, είναι μικρότερα

στο DNA των ασθενών με επιθετικότερη νόσο.<sup>34</sup>

### 3. ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ

Στο 50% των περιπτώσεων δεν υπάρχει κανένα σύμπτωμα κατά την αρχική διάγνωση. Η υποψία τίθεται με τυχαία ανεύρεση μεμονωμένης λεμφοκυττάρωσης στο αίμα ή διαπίστωση λεμφαδενοπάθειας ή και σπληνομεγαλίας κατά την κλινική εξέταση. Όταν υπάρχει συμπτωματολογία, αυτή θα αφορά σε καταβολή, λεμφαδενοπάθεια, λοιμώξεις (βακτηριακή πνευμονία) και σπάνια πυρετό ή απώλεια βάρους.

Σημαντικές είναι οι όψιμες κλινικές εκδηλώσεις της νόσου, οι οποίες οφείλονται στην ανοσοανεπάρκεια λόγω υπογαμμασφαιραιμίας. Επίσης, παρατηρούνται διαταραχές στη λειτουργία των Τ-λεμφοκυττάρων, του συμπληρώματος και των ουδετεροφίλων. Το αποτέλεσμα όλων αυτών των μεταβολών μαζί με την επιβάρυνση της θεραπείας (χημειοθεραπεία) έχει ως συνέπεια την προσβολή από τυπικές βακτηριακές και ευκαιριακές λοιμώξεις, οι οποίες υποτροπιάζουν σ' ένα ποσοστό 80%. Τελικά, η σήψη είναι η κύρια αιτία θανάτου.

Συχνή είναι και η εμφάνιση αυτοάνοσων διαταραχών, ειδικά του αιμοποιητικού, και η επίπτωση είναι υψηλότερη σε αυτούς που έχουν υποβληθεί σε θεραπεία. Τα αυτοαντισώματα που παράγονται κατευθύνονται συνήθως εναντίον DNA, ιστονών, κυτταροσκελετικών πρωτεϊνών, ερυθρών κυττάρων, αιμοπεταλίων και άλλων κυτταρικών στόχων.<sup>35</sup>

Κατά τη διάγνωση της ΧΛΛ ανευρίσκεται Coombs (+) αυτοάνοση αιμολυτική αναιμία στο 2% των ασθενών. Τελικά, ένα ποσοστό μεταξύ 7,7–35% θα αναπτύξει αυτοάνοση αιμολυτική αναιμία με την εξέλιξη της νόσου.<sup>36</sup> Περίπου το 90% των ασθενών αυτών έχει IgG αντιερυθροκυτταρικά αντισώματα, ενώ οι υπόλοιποι έχουν IgM. Τα αντι-ερυθροκυτταρικά αντισώματα είναι συνήθως θερμά, πολυκλωνικά IgG, τα οποία παράγονται πιθανότατα από μη κακοήγη Β-λεμφοκύτταρα,<sup>35,36</sup> αν και έχουν περιγραφεί και IgG αντισώματα με σύσταση ελαφρών αλύσεων αντίστοιχη του λευχαιμικού κλώνου,<sup>37</sup> γεγονός το οποίο υποδηλώνει εκτεταμένη διαταραχή του ανοσιακού συστήματος. Ως πιθανός παθογενετικός μηχανισμός προτείνεται η διαταραχή του συστήματος Fas, το οποίο φυσιολογικά παίζει ρόλο στην απομάκρυνση των αυτοαντιδρώντων Β-λεμφοκυττάρων. Όντως, έχει περιγραφεί για τη ΧΛΛ αρνητική ή ασθενής έκφραση του υποδοχέα Fas<sup>38</sup> και αντίσταση στην κυτταροτοξική οδό όπου διαμεσολαβεί το Fas.<sup>39</sup>

Η αναιμία που εμφανίζεται στη ΧΛΛ μπορεί να οφείλεται και σε άλλους παθογενετικούς μηχανισμούς, όπως

η διήθηση του μυελού, ο υπερσπληνισμός, η ανεπάρκεια αιμοποιητικών παραγόντων, η απώλεια αίματος, ή να έχει και τη μορφή αναιμίας χρόνιας νόσου.

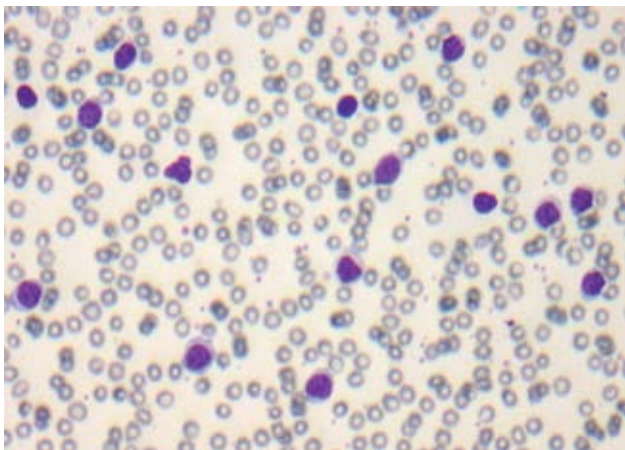
Πιο σπάνια, συνοδά φαινόμενα αυτοανοσίας είναι η αυτοάνοση θρομβοπενία και η απλασία της ερυθράς σειράς, ενώ εκτός αιμοποιητικού μπορεί να εμφανιστεί νεφρωσικό σύνδρομο, αγγειοοίδημα και παρανεοπλασματική πέμφιγα.<sup>40</sup>

#### 4. ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΑ ΕΥΡΗΜΑΤΑ

##### 4.1. Λεμφοκύτταρα

Ο ελάχιστος αριθμός λεμφοκυττάρων που απαιτείται για τη διάγνωση είναι  $5 \times 10^9/L$ . Η μέση τιμή κατά τη διάγνωση είναι  $30 \times 10^9/L$  και ο αριθμός αυτός μπορεί να αυξηθεί με την εξέλιξη της νόσου έως και  $500 \times 10^9/L$ . Στις μισές περιπτώσεις, ο αριθμός των λεμφοκυττάρων διπλασιάζεται μέσα σε ένα έτος. Σε κάποιες περιπτώσεις εμφανίζονται κυκλικές μεταβολές του αριθμού, ενώ σε άλλες ο αριθμός των λεμφοκυττάρων μένει σταθερός για χρόνια. Η τιμή αυτή μπορεί να αυξάνεται από κατεστραμμένους πυρήνες που κυκλοφορούν στο αίμα, αλλά διακρίνονται στην επίστρωση.<sup>41</sup>

Η μορφολογία των λεμφοκυττάρων μοιάζει με εκείνη των φυσιολογικών. Έχουν μικρό ή μεσαίο μέγεθος, συμπαγώνη χρωματίνη, δυσδιάκριτους πυρηνίσκους και αυξημένη αναλογία πυρήνα προς κυτταρόπλασμα (εικ. 1). Σπάνια διακρίνονται έγκλειστα στο κυτταρόπλασμα, ποικίλων σχημάτων. Εκτός από αυτά τα τυπικά κύτταρα της ΧΛΛ, μπορεί να παρατηρηθούν και μορφολογικές παραλλαγές, που είναι τα προλεμφοκύτταρα, τα κύτταρα με εντομή και μεγάλα κύτταρα με άφθονο κυτταρόπλασμα. Η ύπαρξη



**Εικόνα 1.** Β-λεμφοκύτταρα στη χρόνια λεμφική λευχαιμία σε επίχρισμα περιφερικού αίματος (May Grunwald-Giemsa,  $\times 200$ ).

μορφολογικών παραλλαγών κατέστησε απαραίτητη την ταξινόμηση της ΧΛΛ σε υποκατηγορίες:<sup>42</sup>

- *Κλασική ΧΛΛ:* Μικρά κύτταρα συνιστούν  $>90\%$  του πληθυσμού. Ο κλασικός τύπος καλύπτει το  $80\%$  της ΧΛΛ
- *ΧΛΛ/ΠΛ (προλεμφοκυτταρική λευχαιμία):* Ποσοστό  $11-54\%$  του πληθυσμού είναι προλεμφοκύτταρα
- *Άτυπη ΧΛΛ:* Υπάρχουν  $>5\%$  κύτταρα με εντομή και προλεμφοκύτταρα  $<10\%$ .

##### 4.2. Μυελός και λεμφαδένες

Η βιοψία μυελού δείχνει τον τύπο της διήθησης. Μπορεί να είναι διάμεση, σπάνια οζώδης, συχνότερα μικτή (διάμεση και οζώδης) ή διάχυτη, που έχει και τη χειρότερη πρόγνωση. Η διήθηση των λεμφαδένων είναι διάχυτη.<sup>43</sup>

##### 4.3. Ανοσοφαινότυπος

Ο προσδιορισμός του ανοσοφαινότυπου είναι καθοριστικός για την αναγνώριση των λεμφοκυττάρων, άρα για τη διάγνωση, τη διαφορική διάγνωση και σε ορισμένες περιπτώσεις και για την πρόγνωση. Με τον προσδιορισμό του ανοσοφαινότυπου διευκρινίζεται η νόσος που προέρχεται από Τ-λεμφοκύτταρα, τα οποία έχουν τον επιφανειακό δείκτη CD7. Πρόκειται για ένα ποσοστό  $<1\%$  στο σύνολο των περιπτώσεων ΧΛΛ, αν και υποστηρίζεται ότι πρόκειται για μορφή προλεμφοκυτταρικής λευχαιμίας.<sup>44</sup>

Ο χαρακτηριστικός ανοσοφαινότυπος των Β-κυττάρων είναι CD5+, CD19+, CD23+, FMC7-, ενώ οι δείκτες CD20, CD79b/CD22 και οι επιφανειακές ανοσοσφαιρίνες ανευρίσκονται σε χαμηλά επίπεδα με ασθενή έκφραση. Οι δείκτες CD19 και CD20 είναι τυπικοί για Β-λεμφοκύτταρα, όχι όμως και ο CD5, όπως συζητείται στο κεφάλαιο προέλευσης του κυττάρου. Ο CD23 είναι δείκτης ενεργοποίησης και, καθώς υφίσταται αυτόματη πρωτεόλυση, παράγει αυξημένα επίπεδα CD23 στον ορό, τα οποία είναι ενδεικτικά της προόδου της νόσου.<sup>45</sup> Ο CD79b είναι συστατικό του συμπλέγματος αντιγόνου-υποδοχέα στην επιφάνεια των Β-λεμφοκυττάρων. Ο FMC7 ανευρίσκεται αρνητικός στο  $84\%$  των ασθενών και είναι δείκτης προλεμφοκυτταρικής λευχαιμίας και λευχαιμίας εκ τριχωτών κυττάρων.<sup>46</sup> Ο CD38 είναι μια ακόμη σημαντική επιφανειακή πρωτεΐνη και συνδυάζεται με δυσμενή πρόγνωση, όπως συζητείται στο αντίστοιχο κεφάλαιο.

#### 5. ΔΙΑΓΝΩΣΗ-ΔΙΑΦΟΡΙΚΗ ΔΙΑΓΝΩΣΗ

Για τη διάγνωση χρησιμοποιούνται τα εξής κριτήρια:

- Λεμφοκύτταρα στο περιφερικό αίμα  $>5 \times 10^9/L$  με  $<55\%$  να είναι άτυπα

- Χαρακτηριστικός ανοσοφαινότυπος. Το κριτήριο αυτό πληρούται όταν, σύμφωνα με τον **πίνακα 1**,<sup>7</sup> επιτυγχάνεται score 4 ή 5
- Μυελός οστών: Διήθηση με λεμφοκύτταρα >30%.

Η διάγνωση συνήθως τίθεται εύκολα μετά από μικροσκοπική εξέταση αίματος και καθορισμό του ανοσοφαινότυπου. Η διαφορική διάγνωση γίνεται από καλοήθεις καταστάσεις που συνοδεύονται από αντιδραστική λεμφοκυττάρωση, κυρίως λοιμώξεις, και από άλλες αιματολογικές διαταραχές. Η διαφορική διάγνωση της ΧΛΛ από άλλες αιματολογικές κακοήθειες με βάση τη μελέτη του ανοσοφαινότυπου φαίνεται στον **πίνακα 2**.

## 6. ΣΤΑΔΙΟΠΟΙΗΣΗ

Η σταδιοποίηση της νόσου γίνεται σύμφωνα με τα συστήματα Rai<sup>47</sup> (**πίν. 3**) και Binet<sup>48</sup> (**πίν. 4**). Τα συστήματα αυτά, παρότι ωφέλιμα και ευρέως χρησιμοποιούμενα, αδυνατούν να κάνουν επιτυχή πρόγνωση για ασθενείς πρώτου σταδίου.

**Πίνακας 1.** Διάγνωση-Σύστημα βαθμολόγησης (scoring system).

Δείκτης	Ένταση δείκτη	Score	Ένταση δείκτη	Score
Επιφανειακή ανοσοσφαιρίνη CD5	Ασθενής +	1	Ισχυρή -	0
CD23	+	1	-	0
CD22/CD79b	Ασθενής	1	Ισχυρή	0
FMC7	-	1	+	0

+: Παρών, -: Απών

**Πίνακας 2.** Ανοσοφαινότυποι της χρόνιας λεμφικής λευχαιμίας (ΧΛΛ) και άλλων διαταραχών Β-κυττάρων.

Νόσος	smlg	CD5	CD23	CD79b	FMC7	Score
ΧΛΛ	Ασθενής	++	++	-	-/+	4-5
Β-ΠΛΛ	+++	-/+	++	++	+	0-1
Λευχαιμία τριχρωτών κυττάρων	+++	-	-	+	+++	0-1
Λέμφωμα από κύτταρα μανδύα	++	++	-	++	++	1-2
Οζώδες λέμφωμα	++	-/+	-/+	++	++	0-1
Λέμφωμα σπλήνα	++	-/+	+/-	++	++	0-1
Μακροσφαιριναιμία Waldenström	++	-	-	+	+	0

Β-ΠΛΛ: Β-προλεμφοκυτταρική λευχαιμία  
 -: Απών, -/+ : Συνήθως απών, +/- : Συνήθως παρών, + έως +++ : Βαθμός έκφρασης, smlg: Επιφανειακή ανοσοσφαιρίνη  
 Διασκευή από πίνακα στο: Johnston JB. Chronic lymphocytic leukemia. In: Greer JP, Foerster J, Lukens JN, Rodgers GM, Paraskevas F, Glader BE (eds) *Wintröbe's clinical hematology*. 11th ed. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 2003:2429-2463

Η επιβίωση των ασθενών αυτών ποικίλλει σημαντικά, με κάποιους να μην αποκλίνουν σημαντικά από το αναμενόμενο προσδόκιμο για υγείς και κάποιους να πεθαίνουν σύντομα μετά από τη διάγνωση. Αυτή η διαφοροποίηση υποδηλώνει την ετερογένεια της νόσου και, επομένως, την ανάγκη για εξατομικευμένη θεραπεία. Ως εκ τούτου, η σύγχρονη έρευνα έχει επικεντρωθεί στην κατανόηση του παθοφυσιολογικού μηχανισμού, με στόχο αφενός την ακριβέστερη πρόγνωση και αφετέρου την καλύτερη θεραπευτική προσέγγιση για κάθε τύπο της νόσου.

## 7. ΠΡΟΓΝΩΣΗ

Όπως αναφέρθηκε, τα υπάρχοντα συστήματα ταξινόμησης της νόσου, Rai και Binet, δεν εξασφαλίζουν επιτυχή πρόγνωση για ασθενείς πρώτου σταδίου. Η κλινική εικόνα και τα εργαστηριακά ευρήματα είναι αμβληχρά στα πρώτα

**Πίνακας 3.** Σταδιοποίηση χρόνιας λεμφικής λευχαιμίας κατά Rai.

Στάδιο	Περιγραφή	Επιβίωση
0	Λεμφοκυττάρωση	>10 χρόνια
I	+ λεμφαδενοπάθεια	9 χρόνια
II	+ σπληνομεγαλία +/- λεμφαδενοπάθεια	7 χρόνια
III	+ αναιμία +/- λεμφαδενοπάθεια ή σπληνομεγαλία	5 χρόνια
IV	+ θρομβοπενία +/- αναιμία +/- σπληνομεγαλία +/- λεμφαδενοπάθεια	5 χρόνια

Όπου: Λεμφοκυττάρωση: Επίπεδα λεμφοκυττάρων >5×10<sup>9</sup>/L για >4 εβδομάδες  
 Αναιμία: Επίπεδα αιμοσφαιρίνης <11 g/dL  
 Θρομβοπενία: Αιμοπετάλια <100×10<sup>9</sup>/L

**Πίνακας 4.** Σταδιοποίηση χρόνιας λεμφικής λευχαιμίας κατά Binet.

Στάδιο	Μετρήσεις αίματος	Προσβεβλημένες περιοχές	Επιβίωση
A	Hb >10 g/dL Αιμοπετάλια >100×10 <sup>9</sup> /L	<3	>10 χρόνια
B	Hb >10 g/dL Αιμοπετάλια >100×10 <sup>9</sup> /L	>3	7 χρόνια
C	Hb <10 g/dL ή Αιμοπετάλια >100×10 <sup>9</sup> /L ή και τα δύο	Όποιος αριθμός	5 χρόνια

Προσβεβλημένες περιοχές: Λεμφαδένες τραχηλικοί και κεφαλικοί, μασχαλιαίοι, βουβωνικοί, σπλήνας, ήπαρ

στάδια και, επομένως, δεν μπορούν να εκφράσουν τη δυνητικά επιθετική νόσο. Έτσι, απαιτούνται επιπρόσθετοι δείκτες. Εκτός από τη διάκριση σε μεταλλαγμένο IgVH και μη, που αναφέρθηκε ήδη ως ο σημαντικότερος δείκτης, διερευνάται ο ρόλος των χρωμοσωμικών ανωμαλιών και πολλών ακόμα παραγόντων.

### 7.1. Χρωμοσωμικές ανωμαλίες

Οι χρωμοσωμικές ανωμαλίες ανευρίσκονταν σε περισσότερους από τους μισούς ασθενείς με την κλασική κυτταρογενετική,<sup>49</sup> ενώ με τη μέθοδο FISH (fluorescence *in situ* hybridization) ανευρίσκονται σε >80% των περιπτώσεων.<sup>50</sup> Καθεμιά από αυτές, αλλά και ο συνδυασμός τους, έχει συσχετιστεί με διαφορετική πρόγνωση, χειρότερη πάντως απ' ό,τι στο φυσιολογικό καρυότυπο.<sup>51</sup> Οι σημαντικότερες είναι οι εξής:

- Εξάλειψη στο 13q14: Εμφανίζεται νωρίς, με συχνότητα >50%. Περιλαμβάνει το γονίδιο του ρετινοβλαστώματος (*RB1*), ελεγκτή του κυτταρικού κύκλου.<sup>52</sup> Είναι η καλοηθέστερη ανωμαλία, καθώς δεν μεταβάλλει την επιβίωση σε σύγκριση με την πλήρη απουσία ανωμαλιών και συνδυάζεται συχνότερα με το μεταλλαγμένο τύπο ΧΛΛ
- Εξάλειψη στο 11q22-23: Περιλαμβάνει το γονίδιο αταξίας-τηλεαγγειεκτασίας (*ATM*)<sup>53</sup>
- Εξάλειψη στο 17p13: Περιλαμβάνει το γονίδιο *TP53*. Όπως και το *ATM*, ρυθμίζει την απάντηση στη βλάβη του γενετικού υλικού, ενώ η εξάλειψή τους συνδυάζεται με αντοχή στη χημειοθεραπεία. Αυτές οι εξαιρέσεις είναι συχνές στο μη μεταλλαγμένο τύπο ΧΛΛ με τη δυσμενέστερη πρόγνωση, ενώ συχνά οι εν λόγω ασθενείς παρουσιάζουν έντονη συμπτωματολογία, με εκσεσημασμένη σπληνομεγαλία και λεμφαδενοπάθεια, νυκτερινές εφιδρώσεις και απώλεια βάρους
- Τρισωμία 12: Περιλαμβάνει το γονίδιο *MDM2*. Η τρισωμία 12 μειώνει τα επίπεδα ελεύθερου p53<sup>54</sup> και ανευρίσκεται συχνότερα στις παραλλαγές της νόσου και, συγκεκριμένα, στη ΧΛΛ/ΠΛ, όπου εκτός των τυπικών μικρών κυττάρων υπάρχει και πληθυσμός προλεμφοκυττάρων 11–54%, και στην «άτυπη» ΧΛΛ, όπου υπάρχει ποσοστό >15% κυττάρων με εντομή και <10% προλεμφοκυττάρων
- Εξάλειψη στο 6q21,<sup>50</sup> αντιμετάθεση t(1;6)(p35,3, p25,2)<sup>55</sup>
- Διάφορες εξαλείψεις, όπως για παράδειγμα στις θέσεις 13q14,3,<sup>56</sup> 17p13, Χp11,3, 9q22,1,<sup>57</sup> μπορεί να επηρεάζουν την έκφραση γονιδίων microRNA. Τα γονίδια microRNA δρουν ρυθμιστικά σε μετα-μεταγραφικό επίπεδο και η

μεταβολή της έκφρασης ορισμένων από αυτά (microRNA signature) έχει συσχετιστεί με το χρόνο που μεσολαβεί από τη διάγνωση έως την έναρξη θεραπείας.<sup>58</sup>

Οι εκάστοτε χρωμοσωμικές ανωμαλίες τείνουν να συνδυάζονται με τον έναν ή τον άλλο τύπο ΧΛΛ και ταυτόχρονα αποτελούν ανεξάρτητο προγνωστικό παράγοντα. Καθώς οι ελλείψεις των συγκεκριμένων γονιδίων φέρουν μεταβολές σε μόρια που επηρεάζουν τον κυτταρικό κύκλο, την απόπτωση και τη μεταφορά μηνυμάτων μέσω του υποδοχέα των Β-κυττάρων, φαίνεται ότι παίζουν ρόλο στην παθογένεια της νόσου.<sup>59</sup>

### 7.2. ZAP-70

Το ZAP-70 (zeta-associated protein of 70 kDa) είναι ένας πολύ σημαντικός δείκτης, που μπορεί να αντικαταστήσει, όσον αφορά στην πρόγνωση, τη διάκριση σε μεταλλαγμένο και μη μεταλλαγμένο τύπο. Πρόκειται για κυτταροπλασματική κινάση της τυροσίνης, με ρόλο στη μεταβίβαση σημάτων από τον Τ υποδοχέα. Εκφράζεται λοιπόν φυσιολογικά από Τ-λεμφοκύτταρα και κύτταρα φυσικούς φονείς, και όχι από Β-λεμφοκύτταρα. Ωστόσο, υψηλά επίπεδα ZAP-70 εκκρίνονται από Β-κύτταρα του μη μεταλλαγμένου τύπου ΧΛΛ και σχετίζονται με επιθετικότερη νόσο και μικρότερο χρόνο επιβίωσης.<sup>60,61</sup> Η έρευνα των Rassenti et al<sup>62</sup> προχώρησε ένα βήμα πιο πέρα, δείχνοντας ότι, παρά τη συσχέτιση της πρωτεΐνης με το μη μεταλλαγμένο τύπο, η πρώτη αποτελεί ισχυρότερο προγνωστικό παράγοντα από εκείνον. Σύμφωνα με την παραπάνω μελέτη, σε 164 ασθενείς με μη μεταλλαγμένο τύπο ZAP-70-θετικοί ήταν το 71%, ενώ σε 143 με μεταλλαγμένο τύπο ZAP-70-θετικοί ήταν το 17%. Συγκρίνοντας τις ομάδες κατά τον τύπο, η διαφορά στην επιδείνωση της νόσου δεν ήταν στατιστικά σημαντική ( $P=0,07$ ): 2,8 χρόνια κατά μέσο όρο έναντι 4,2 χρόνια από τη διάγνωση στην έναρξη θεραπείας. Συγκρίνοντας όμως κατά το ZAP-70, ανευρίσκεται στατιστικά πολύ σημαντική διαφορά ( $P<0,001$ ) μεταξύ των 11 και 7,1 ετών. Με δεδομένο μάλιστα ότι η μέτρηση της πρωτεΐνης στον ορό είναι πιο εύκολη και οικονομική διαδικασία από την αναγνώριση του γονιδίου *IGVH*, το ZAP-70 αποκτά πλέον πρωτεύοντα ρόλο στο σχεδιασμό θεραπευτικής προσέγγισης για τον ασθενή.

### 7.3. CD38

Η έκφραση του CD38 στην επιφάνεια των Β-λεμφοκυττάρων αποτελεί ανεξάρτητο αρνητικό προγνωστικό παράγοντα, παρόλο που συνήθως συνδυάζεται με μη μεταλλαγμένο τύπο και υψηλές τιμές ZAP-70. Η θετικότητα του δείκτη ορίζεται ως έκφραση σε >30% των κυττάρων.<sup>63</sup> Πολλοί

ερευνητές προτείνουν το συνδυασμό των δεικτών CD38 και ZAP-70 ως τον ιδανικότερο.<sup>64</sup>

#### 7.4. LPL/ADAM29

Σε πρόσφατη μελέτη αναγνωρίστηκε υπερέκφραση των LPL (lipoprotein lipase) και ADAM29 (a disintegrin and metalloproteinase domain 29) γονιδίων στο μη μεταλλαγμένο και το μεταλλαγμένο τύπο ΧΛΛ, αντίστοιχα. Η διερεύνηση της προγνωστικής αξίας του λόγου των mRNAs τους, L/A, έδειξε ότι αποτελεί ανεξάρτητο προγνωστικό παράγοντα. Στο 80% των ασθενών τους, όπου βρέθηκαν ταυτόχρονα θετικά ή αρνητικά τα L/A και ZAP-70, αυτά επέτρεπαν σχεδόν απόλυτη εκτίμηση (99%) του τύπου της νόσου, μη μεταλλαγμένου ή μεταλλαγμένου, αντίστοιχα.<sup>65</sup>

#### 7.5. Άλλοι προγνωστικοί παράγοντες

Άλλοι γνωστοί προγνωστικοί παράγοντες είναι ο χρόνος διπλασιασμού των λεμφοκυττάρων,<sup>66</sup> ο τύπος διήθησης του μυελού (ο διάχυτος έχει τη χειρότερη πρόγνωση),<sup>67</sup> καθώς και εργαστηριακές παράμετροι, όπως τα επίπεδα στον ορό β<sub>2</sub>-μικροσφαιρίνης,<sup>68</sup> διαλυτού CD23 (sCD23),<sup>69</sup> κινάσης θυμιδίνης.<sup>70</sup> Μένει λοιπόν να εξακριβωθεί ποιος συνδυασμός εξετάσεων θα δίνει το ακριβέστερο αποτέλεσμα πρόγνωσης, με τη δυνατότητα, βέβαια, της ευρείας χρησιμοποίησης.

## 8. ΘΕΡΑΠΕΙΑ

Παρά την πρόοδο που έχει συντελεστεί στην κατανόηση των παθοφυσιολογικών μηχανισμών της νόσου και στην αποκάλυψη προγνωστικών παραγόντων, η ΧΛΛ παραμένει νόσος χωρίς ίαση. Θεραπευτικός στόχος προς το παρόν είναι η υποστροφή της νόσου, πλήρης και μακροχρόνια κατά το δυνατόν. Στην κλινική πράξη, ο θεράπων ιατρός καλείται να επιλέξει μεταξύ των διαθέσιμων θεραπευτικών δυνατοτήτων λαμβάνοντας υπόψη τη φυσική κατάσταση του ασθενούς, τους επιβαρυντικούς παράγοντες και το στάδιο Rai ή Binet (εικ. 2).

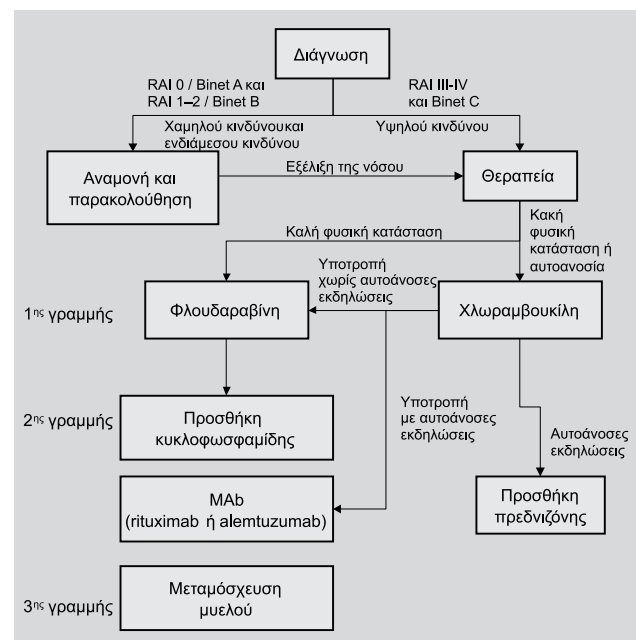
Ασθενείς στη σταθερή, αδρανή φάση της νόσου, χαμηλού κινδύνου ή σταδίου A Binet δεν λαμβάνουν θεραπεία, καθώς η επιβίωση μπορεί και να μειωθεί με τη χημειοθεραπεία, λόγω των επιπλοκών.

Για τη θεραπεία 1ης γραμμής συνιστάται φλουδαραβίνη ή χλωραμβουκίλη. Η μονοθεραπεία με φλουδαραβίνη, ανάλογο πουρίνης, έχει αποδειχθεί αποτελεσματικότερη από άλλα συμβατικά χημειοθεραπευτικά σχήματα, όπως το CHOP (κυκλοφωσφαμίδη, δοξορουβικίνη, βινκριστίνη,

πρεδνιζόνη)<sup>71</sup> και το CAP (κυκλοφωσφαμίδη, δοξορουβικίνη, πρεδνιζόνη).<sup>72</sup> Στη σύγκρισή της με τη χλωραμβουκίλη επιτυγχάνει καλύτερη ανταπόκριση βραχυπρόθεσμα, δεν αποδεικνύεται όμως βελτίωση στην επιβίωση.<sup>73</sup> Έτσι, η χλωραμβουκίλη παραμένει χρήσιμη, ειδικά για ασθενείς που δεν έχουν καλή φυσική κατάσταση (performance status), όπως αυτή ορίζεται με βάση την κάθαρση της κρεατινίνης και άλλους δείκτες, όπως το “cumulative illness rating scale score” (CIRS score).<sup>74</sup>

Για ασθενείς σε καλή φυσική κατάσταση δικαιολογείται και η χρήση των σχημάτων FC (φλουδαραβίνη, κυκλοφωσφαμίδη)<sup>75</sup> ή FCR (φλουδαραβίνη, κυκλοφωσφαμίδη, rituximab),<sup>76-78</sup> τουλάχιστον σε ερευνητικά πρωτόκολλα, καθώς έχουν ήδη πολύ ενθαρρυντικά αποτελέσματα. Το rituximab είναι μονοκλωνικό αντίσωμα έναντι του CD20 και, ενώ όταν χορηγείται μόνο του δεν έχει σημαντική δράση, σε συγχορήγηση με χημειοθεραπεία δρα συνεργικά. Ένα ακόμη μονοκλωνικό αντίσωμα, το alemtuzumab (ή Campath-1H, ανασυνδυασμένο αντίσωμα έναντι του CD52), έχει δραστηριότητα σε ασθενείς με επιβαρυντικούς γενετικούς παράγοντες, όπως εξαλείφει στα χρωμοσώματα 11 και 17 και μεταλλάξεις του p53.<sup>79,80</sup> Έχει ήδη εγκριθεί για θεραπεία 2ης γραμμής, αλλά μελετάται επιπρόσθετα η ωφέλεια χορήγησής του εξαρχής σε ασθενείς με τους παραπάνω γενετικούς χαρακτήρες.

Για θεραπεία 2ης γραμμής συνιστάται η φλουδαραβίνη, μόνη ή σε σχήμα με κυκλοφωσφαμίδη και μονοκλωνικό αντίσωμα. Οι ασθενείς αναπτύσσουν σταδιακά αντίσταση



Εικόνα 2. Θεραπευτικός αλγόριθμος στη χρόνια λεμφική λευχαιμία.

στη φλουδαραβίνη και όταν συμβεί αυτό, η μέση επιβίωση υπολογίζεται σε <math>< 1</math> έτος. Σε περιπτώσεις αντίστασης στη φλουδαραβίνη, το σχήμα FCR (φλουδαραβίνη, κυκλοφωσφamide, rituximab) είχε ποσοστά ανταπόκρισης και πλήρους υποστροφής 58% και 6%, αντίστοιχα,<sup>76</sup> το alemtuzumab είχε αντίστοιχα ποσοστά 33% και 2%,<sup>81</sup> ενώ υπάρχουν και ενδείξεις για ακόμα καλύτερη δράση του alemtuzumab σε συνδυασμό με φλουδαραβίνη.<sup>82,83</sup>

Η θεραπευτική αντιμετώπιση σε ασθενείς με υπογαμμασφαιριναιμία και συχνά επεισόδια σήψης συμπληρώνεται με προφυλακτική χορήγηση γ-σφαιρίνης και αντιβιοτικών. Η αντιμετώπιση των αυτοάνοσων εκδηλώσεων της νόσου γίνεται με πρεδνιζόνη, 1–2 mg/kg/ημέρα. Σχετική μελέτη πέτυχε μερική ανταπόκριση (δηλαδή αύξηση της Hb >12 g/dL) στο 84% των ασθενών και πλήρη ανταπόκριση (δηλαδή μη ανιχνεύσιμο αντιερυθροκυτταρικό αντίσωμα) στο 70%.<sup>84</sup> Καθώς η μακροχρόνια θεραπεία με στεροειδή προκαλεί τα γνωστά προβλήματα των ευκαιριακών λοιμώξεων, των γαστρεντερικών διαταραχών, του φαρμακογενούς σακχαρώδους διαβήτη και της οστεοπόρωσης, οι ασθενείς χρήζουν κατά περίπτωση προφυλακτικής αντιβίωσης, H<sub>2</sub> ανταγωνιστών, υπογλυκαιμικής αγωγής και διφωσφονικών. Γι' αυτό, είναι σημαντική η προσπάθεια σταδιακής μείωσης των στεροειδών έως διακοπής τους σε 2–3 μήνες. Σε υποτροπή ή μη απόκριση στα στεροειδή χορηγείται ενδοφλεβίως ανοσοσφαιρίνη και εναλλακτικά έχουν δοκιμαστεί η κυκλοσπορίνη<sup>85</sup> και το rituximab.<sup>86</sup> Η σπληνική ακτινοβολή ή η σπληνεκτομή έχει θέση σε επώδυνη σπληνομεγαλία ή επίμονη κυτταροπενία που δεν απαντά στη χημειοθεραπεία.

Η αναιμία των ασθενών αντιμετωπίζεται παραδοσιακά με τη χημειοθεραπεία. Στην περίπτωση όμως που η αναιμία οφείλεται σε διήθηση του μυελού ή πρόκειται για αναιμία χρόνιας νόσου, η χορήγηση ερυθροποιητίνης επιτυγχάνει την αύξηση του αιματοκρίτη.<sup>87</sup> Έχει βρεθεί ότι η χορήγηση r-HuEPO (recombinant human erythropoietin) σε ασθενείς σταδίου Binet C ή Rai III μπορεί να μειώσει το στάδιο λόγω διόρθωσης της αναιμίας, με συνέπεια τη χρονική παράταση της έναρξης της χημειοθεραπείας.<sup>88</sup>

Η μεταμόσχευση μυελού δεν προβλέπεται ως καθιερωμένη θεραπευτική προσέγγιση, προσφέρει όμως δυνητικά ίαση και έτσι μελετάται για τους νεότερους ασθενείς που έχουν επιβαρυντικούς προγνωστικούς παράγοντες (δηλαδή μη μεταλλαγμένο τύπο ΧΛΛ και εξαλείψεις στα χρωμοσώματα 17 και 11), οι οποίοι δεν αναμένεται να ωφεληθούν από την κλασική χημειοθεραπεία και ταυτόχρονα μπορούν να υπομείνουν μια τέτοια επιθετική θεραπεία. Η αυτόλογη μεταμόσχευση έχει χαμηλή θνητότητα (~10%)

και πετυχαίνει μακροχρόνια υποστροφή, αλλά όχι ίαση. Συνοδεύεται όμως από υψηλή επίπτωση ευκαιριακών λοιμώξεων και δευτεροπαθών κακοηθειών, όπως μυελοδυσπλαστικό σύνδρομο και οξεία μυελογενή λευχαιμία.<sup>89</sup> Στην επιτυχία της μεταμόσχευσης παίζει ρόλο η πρώιμη παρέμβαση και το χαμηλό φορτίο νόσου, ενώ ορισμένοι ασθενείς ίσως ωφελούνται στη φάση εδραίωσης μετά από την πρώτη πλήρη ή μερική υποστροφή. Ζητήματα όπως η επιλογή των ασθενών και η κατάλληλη στιγμή συλλογής των προγονικών αιμοποιητικών κυττάρων δεν είναι ακόμα διασαφηνισμένα. Πάντως, οι ασθενείς με μη μεταλλαγμένο IgVH έχουν χειρότερη πρόγνωση και με την αυτόλογη μεταμόσχευση,<sup>90</sup> όχι όμως με την αλλογενή.<sup>91</sup>

Η αλλογενής μεταμόσχευση έχει καλύτερη ανταπόκριση, αλλά και μεγαλύτερη τοξικότητα, με θνητότητα ~40%, που αποδίδεται κατά το ήμισυ περίπου στη νόσο μοσχεύματος κατά ξενιστή (GVHD).<sup>92</sup> Το πλεονέκτημα αυτής της μεθόδου είναι η δυνατότητα εφαρμογής της νόσου μοσχεύματος κατά λευχαιμίας, που απαιτεί την έγχυση λευκοκυττάρων του δότη μετά από τη μεταμόσχευση. Οι λεπτομέρειες της εφαρμογής μελετώνται.

Τελευταία, δοκιμάζονται παραλλαγές της μεταμόσχευσης μυελού, όπως η μη μυελοαφανιστική (non-myeloablative) τεχνική, με υψηλές προσδοκίες. Με τη μέθοδο αυτή, χρησιμοποιούνται μικρότερες δόσεις των μυελοκατασταλτικών φαρμάκων και ακολουθεί η αλλογενής μεταμόσχευση, ώστε να δράσει το μόσχευμα κατά των λευχαιμικών κυττάρων. Αναμένεται να βρει εφαρμογή σε ασθενείς μεγαλύτερης ηλικίας, που αποτελούν και την πλειονότητα.<sup>93–95</sup>

Νέα φάρμακα σχεδιάζονται και δοκιμάζονται, τα οποία έχουν διαφορετικούς μοριακούς στόχους. Τέτοια είναι η φλαβοπριδόλη (αναστολέας κινάσης),<sup>96</sup> το Ontak (IL-2 receptor ligand immunotoxin denileukin diftitox),<sup>97,98</sup> πολλά μονοκλωνικά αντισώματα (έναντι των HLA-DR,<sup>99</sup> του υποδοχέα TRAIL<sup>100</sup> κ.ά.) και ο αναστολέας του Hsp90 (heat shock protein 90, μόριο-συνόδος της πρωτεΐνης ZAP).<sup>101</sup> Με την εξαίρεση του Ontak, που βρίσκεται στη φάση 2 των κλινικών δοκιμών, τα υπόλοιπα βρίσκονται σε πολύ πρώιμα στάδια δοκιμών. Εναλλακτική θεραπευτική προσέγγιση αποτελεί η γονιδιακή θεραπεία, με στόχο την ενεργοποίηση του CD40<sup>102</sup> υποδοχέα, που είναι θεραπευτικός στόχος σε αρκετές αιματολογικές κακοήθειες.<sup>103</sup> Ενδιαφέρον έχει και η μελέτη εμβολιασμού με λευχαιμικά κύτταρα ή συστατικά τους για τη θεραπεία ασθενών που έχουν ανοσιακή επάρκεια, γεγονός που προϋποθέτει να μην έχουν λάβει ακόμη σχήμα φλουδαραβίνης ή alemtuzumab, ή τουλάχιστον να έχει παρέλθει ικανό χρονικό διάστημα από τη θεραπεία.<sup>104,105</sup>



## ABSTRACT

### B-chronic lymphocytic leukemia – latest developments

E. TZOURA, P. ROUSSOU

3rd University Department of Medicine, University of Athens, "Sotiria" Hospital, Athens, Greece

*Archives of Hellenic Medicine* 2008, 25(1):60–72

B-chronic lymphocytic leukemia (CLL) is the most common type of leukemia in western countries. Research during the last two decades has contributed to better understanding of the biology of the disease. Two subtypes of CLL have been identified, according to the presence or absence of somatic hypermutations of the variable region of the immunoglobulin (*IgV*) gene. The differences cover the entire course of the disease, including the cellular origin and behavior and the pathophysiology. The most striking difference between the two subtypes is the poorer prognosis of the unmutated form. CLL is a clinically heterogeneous disease with a survival estimate ranging from months to many years. Its heterogeneity reflects the diversity of pathogenic mechanisms that act upon the B-memory cell, including the antigenic stimulation of B-cells, chromosomal abnormalities and gene mutations, and down-regulation of the apoptotic pathways due to survival signals from the tissue microenvironment. No accurate prognosis can be made for patients in the first stages of disease, which creates the need for prognostic markers that enable timely identification of aggressive forms. Apart from the detection of *IgV* mutations, a procedure that cannot be performed in many peripheral health centers, testing for zeta-associated protein of 70 kDa (ZAP-70) is highly recommended. CLL B-cells, especially those of the unmutated type, express high levels of ZAP-70, indicative of aggressive disease and shorter survival. ZAP-70 testing, combined with other prognostic factors, is expected to play a central role in patient management. Current clinical trials are evaluating chemotherapeutic combination regimens and are also testing the feasibility of bone marrow transplantation, in the hope of accomplishing cure.

**Key words:** Biology, Chronic lymphocytic leukemia, Pathogenesis, Prognostic factors, Treatment options

## Βιβλιογραφία

- MATUTES E, POLLIACK A. Morphological and immunophenotypic features of chronic lymphocytic leukemia. *Rev Clin Exp Hematol* 2000, 4:22–47
- 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
- ISHIBE N, SGAMBATI MT, FONTAINE L, GOLDIN LR, JAIN N, WEISSMAN N ET AL. Clinical characteristics of familial B-CLL in the National Cancer Institute Familial Registry. *Leuk Lymphoma* 2001, 42:99–108
- WIERNIK PH, ASHWIN M, HU XP, PAIETTA E, BROWN K. Anticipation in familial chronic lymphocytic leukemia. *Br J Haematol* 2001, 113:407–414
- HORWITZ M, GOODE EL, JARVIK GP. Anticipation in familial leukaemia. *Am J Hum Genet* 1996, 59:990–998
- YUILLE MR, HOULSTON RS, CATOVSKY D. Anticipation in familial chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia* 1998, 12:1696–1698
- RAWSTRON AC, YUILLE MR, FULLER J, CULLEN M, KENNEDY B, RICHARDS SJ ET AL. Inherited predisposition to CLL is detectable as subclinical monoclonal B-lymphocyte expansion. *Blood* 2002, 100:2289–2290
- MARTI GE, RAWSTRON AC, GHIA P, HILLMEN P, HOULSTON RS, KAY N ET AL. Diagnostic criteria for monoclonal B-cell lymphocytosis. *Br J Haematol* 2005, 130:325–332
- CHIORAZZI N, RAI KR, FERRANINI M. Chronic lymphocytic leukemia; mechanisms of disease. *N Engl J Med* 2005, 352:804–815
- HAMBLIN TJ, DAVIS Z, GARDINER A, OSCIER DG, STEVENSON FK. Unmutated *IgV(H)* genes are associated with a more aggressive form of chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 1999, 94:1848–1854
- DONO M, CERRUTI G, ZUPO S. The CD5+ B-cell. *Int J Biochem Cell Biol* 2004, 36:2105–2111
- KLEIN U, TU Y, STOLOVITZKY GA, MATTIOLI M, CATTORETTI G, HUSON H ET AL. Gene expression profiling of B cell chronic lymphocytic leukemia reveals a homogeneous phenotype related to memory B cells. *J Exp Med* 2001, 194:1625–1638
- DAMLE RN, GHIOTTO F, VALETTO A, ALBESIANO E, FAIS F, YAN XJ ET AL. B-cell chronic lymphocytic leukemia cells express a surface membrane phenotype of activated, antigen-experienced B lymphocytes. *Blood* 2002, 99:4087–4093
- FAIS F, GHIOTTO F, HASHIMOTO S, SELLARS B, VALETTO A, ALLEN SL ET AL. Chronic lymphocytic leukemia B cells express restricted sets of mutated and unmutated antigen receptors. *J Clin Invest* 1998, 102:1515–1525
- GHOTTO F, FAIS F, VALETTO A, ALBESIANO E, HASHIMOTO S, DONO M ET AL. Remarkably similar antigen receptors among a sub-

- set of patients with chronic lymphocytic leukemia. *J Clin Invest* 2004, 113:1008–1016
16. MESSMER BT, ALBESIANO E, EFREMOV DG, GHIOTTO F, ALLEN SL, KOLITZ J ET AL. Multiple distinct sets of stereotyped antigen receptors indicate a key role for antigen in promoting chronic lymphocytic leukemia. *J Exp Med* 2004, 200:519–525
  17. COLLINS RJ, VERSCHUER LA, HARMON BV, PRENTICE RL, POPE JH, KERR JF. Spontaneous programmed death (apoptosis) of B-chronic lymphocytic leukaemia cells following their culture *in vitro*. *Br J Haematol* 1989, 71:343–350
  18. PANAYIOTIDIS P, JONES D, GANESHAGURU K, FORONI L, HOFFBRAND AV. Human bone marrow stromal cells prevent apoptosis and support the survival of chronic lymphocytic leukaemia cells *in vitro*. *Br J Haematol* 1996, 92:97–103
  19. TSUKADA N, BURGER JA, ZVAIFLER NJ, KIPPS TJ. Distinctive features of “nurse-like” cells that differentiate in the context of chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2002, 99:1030–1037
  20. SERRANO D, MONTEIRO J, ALLEN SL, KOLITZ J, SCHULMAN P, LICHTMAN SM ET AL. Clonal expansion within the CD4+CD57+ and CD8+CD57+ T cell subsets in chronic lymphocytic leukemia. *J Immunol* 1997, 158:1482–1489
  21. REZVANY MR, JEDDI-TEHRANI M, OSTERBORG A, KIMBY E, WIGZELL H, MELLSTEDT H. Oligoclonal TCRBV gene usage in B-cell chronic lymphocytic leukemia: Major perturbations are preferentially seen within the CD4 T-cell subset. *Blood* 1999, 94:1063–1069
  22. GORGUN G, HOLDERRIED TA, ZAHRIEH D, NEUBERG D, GRIBBEN JG. Chronic lymphocytic leukemia cells induce changes in gene expression of CD4 and CD8 T cells. *J Clin Invest* 2005, 115:1797–1805
  23. KIAII S, CHOUDHURY A, MOZAFFARI F, KIMBY E, OSTERBORG A, MELLSTEDT H. Signaling molecules and cytokine production in T cells of patients with B-cell chronic lymphocytic leukemia (B-CLL): Comparison of indolent and progressive disease. *Med Oncol* 2005, 22:291–302
  24. GRDISA M. Influence of CD40 ligation on survival and apoptosis of B-CLL cells *in vitro*. *Leuk Res* 2003, 27:951–956
  25. BURGER JA, KIPPS TJ. Chemokine receptors and stromal cells in the homing and homeostasis of chronic lymphocytic leukemia B cells. *Leuk Lymphoma* 2002, 43:461–466
  26. NISHIO M, ENDO T, TSUKADA N, OHATA J, KITADA S, REED JC ET AL. Nurse-like cells express BAFF and APRIL, which can promote survival of chronic lymphocytic leukemia cells via a paracrine pathway distinct from that of SDF-1alpha. *Blood* 2005, 106:1012–1020
  27. YOUNES A, SNELL V, CONSOLI U, CLODI K, ZHAO S, PALMER JL ET AL. Elevated levels of biologically active soluble CD40 ligand in the serum of patients with chronic lymphocytic leukaemia. *Br J Haematol* 1998, 100:135–141
  28. BUSKE C, GOGOWSKI G, SCHREIBER K, RAVE-FRANK M, HIDDEMANN W, WORMANN B. Stimulation of B-chronic lymphocytic leukemia cells by murine fibroblasts, IL-4, anti-CD40 antibodies, and the soluble CD40 ligand. *Exp Hematol* 1997, 25:329–337
  29. GRANZIERO L, GHIA P, CIRCOSTA P, GOTTARDI D, STROLA G, GEUNA M ET AL. Survivin is expressed on CD40 stimulation and interfaces proliferation and apoptosis in B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2001, 97:2777–2783
  30. KITADA S, ANDERSEN J, AKAR S, ZAPATA JM, TAKAYAMA S, KRAJEWSKI S ET AL. Expression of apoptosis-regulating proteins in chronic lymphocytic leukemia: Correlations with *in vitro* and *in vivo* chemoresponses. *Blood* 1998, 91:3379–3389
  31. MESSMER BT, MESSMER D, ALLEN SL, KOLITZ JE, KUDALKAR P, CESAR D ET AL. *In vivo* measurements document the dynamic cellular kinetics of chronic lymphocytic leukemia B cells. *J Clin Invest* 2005, 115:755–764
  32. DECOTEAU JF, KNAUS PI, YANKELEV H, REIS MD, LOWSKY R, LODISH HF ET AL. Loss of functional cell surface transforming growth factor beta (TGF-beta) type 1 receptor correlates with insensitivity to TGF-beta in chronic lymphocytic leukemia. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997, 94:5877–5881
  33. SCHIEMANN WP, ROTZER D, PFEIFER WM, LEVI E, RAI KR, KNAUS P ET AL. Transforming growth factor-beta (TGF-beta)-resistant B cells from chronic lymphocytic leukemia patients contain recurrent mutations in the signal sequence of the type I TGF-beta receptor. *Cancer Detect Prev* 2004, 28:57–64
  34. DAMLE RN, BATLIWALLA FM, GHIOTTO F, VALETTA A, ALBESIANO E, SISON C ET AL. Telomere length and telomerase activity delineate distinctive replicative features of the B-CLL subgroups defined by immunoglobulin V gene mutations. *Blood* 2004, 103:375–382
  35. KIPPS TJ, CARSON DA. Autoantibodies in chronic lymphocytic leukemia and related systemic autoimmune disease. *Blood* 1993, 81:2475–2487
  36. HAMBLIN TJ, OSCIER DG, YOUNG BJ. Autoimmunity in chronic lymphocytic leukaemia. *J Clin Pathol* 1986, 39:713
  37. STHOEGER ZM, STHOEGER D, SHTALRID M, SINGLER E, GELTNER D, BERREBI A. Mechanism of autoimmune hemolytic anemia in chronic lymphocytic leukemia. *Am J Hematol* 1993, 43:259–264
  38. KAMIHIRA S, YAMADA Y, HIRAKATA Y, TSURUDA K, SUGAHARA K, TOMONAGA M ET AL. Quantitative characterization and potential function of membrane Fas/APO-1 (CD95) receptors on leukemic cells from chronic B and T lymphoid leukemias. *Br J Haematol* 1997, 99:858–865
  39. PANAYIOTIDIS P, GANESHAGURU K, FORONI L, HOFFBRAND AV. Expression and function of the FAS antigen in B chronic lymphocytic leukemia and hairy cell leukemia. *Leukemia* 1995, 9:1227–1232
  40. JOHNSTON JB. Chronic lymphocytic leukemia. In: Greer JP, Foerster J, Lukens JN, Rodgers GM, Paraskevas F, Glader BE (eds) *Wintrobe's clinical hematology*. 11th ed. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 2003:2429–2463
  41. MAURO FR, FOA R, GIANNARELLI D, CORDONE I, CRESCENZI S, PESCARMONA E ET AL. Clinical characteristics and outcome of young chronic lymphocytic leukemia patients: A single institution study of 204 cases. *Blood* 1999, 94:448–454
  42. BENNETT JM, CATOVSKY D, DANIEL MT, FLANDRIN G, GALTON DA, GRALNICK HR ET AL. Proposals for the classification of chronic (mature) B and T lymphoid leukemias. French-American-British (FAB) Cooperative Group. *J Clin Pathol* 1989, 42:567–584
  43. ROZMAN C, MONTERRAT E, RODRIGUEZ-FERNANDEZ JM, AYATS R, VALLESPI T, PARODY R ET AL. Bone marrow histologic pattern—the best single prognostic parameter in chronic lymphocytic leukemia: A multivariate survival analysis of 329 cases. *Blood*

- 1984, 64:642–648
44. HOYER JD, ROSS CW, LI CY, WITZIG TE, GASCOYNE RD, DEWALD GW ET AL. True T-cell chronic lymphocytic leukemia: A morphologic and immunophenotypic study of 25 cases. *Blood* 1995, 86:1163–1169
  45. Di RAIMONDO F, ALBITAR M, HUH Y, O'BRIEN S, MONTILLO M, TEDESCHI A ET AL. The clinical and diagnostic relevance of CD23 expression in the chronic lymphoproliferative disease. *Cancer* 2002, 94:1721–1730
  46. GEISLER CH, LARSEN JK, HANSEN NE, HANSEN MM, CHRISTENSEN BE, LUND B ET AL. Prognostic importance of flow cytometric immunophenotyping of 540 consecutive patients with B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 1991, 78:1795–1802
  47. RAI KR, SAWITSKY A, CRONKITE EP, CHANANA AD, LEVY RN, PASTERNAK BS. Clinical staging of chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 1975, 46:219–234
  48. BINET JL, AUQUIER A, DIGHIERO G, CHASTANG C, PIGUET H, GOASGUEN J ET AL. A new prognostic classification of chronic lymphocytic leukemia derived from a multivariate survival analysis. *Cancer* 1981, 48:198–206
  49. JULIUSSON G, OSCIER DG, FITCHETT M, ROSS FM, STOCKDILL G, MACKIE MJ ET AL. Prognostic subgroups in B-cell chronic lymphocytic leukemia defined by specific chromosomal abnormalities. *N Engl J Med* 1990, 323:720–724
  50. DOHNER H, STILGENBAUER S, BENNER A, LEUPOLT E, KROBER A, BULLINGER L ET AL. Genomic aberrations and survival in chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med* 2000, 343:1910–1916
  51. STILGENBAUER S, DOHNER H. Molecular genetics and its clinical relevance. *Hematol Oncol Clin North Am* 2004, 18:827–848
  52. STILGENBAUER S, DOHNER H, BULGAY-MORSCHER M, WEITZ S, BENTZ M, LICHTER P. High frequency of monoallelic retinoblastoma gene deletion in B-cell chronic lymphoid leukemia shown by interphase cytogenetics. *Blood* 1993, 81:2118–2124
  53. AUSTEN B, POWELL JE, ALVI A, EDWARDS I, HOOPER L, STARCZYNSKI J ET AL. Mutations in the ATM gene lead to impaired overall and treatment-free survival that is independent of IGVH mutation status in patients with B-CLL. *Blood* 2005, 106:3175–3182
  54. HAIDAR MA, EL-HAJJ H, BUESO-RAMOS CE, MANSHOURIT, GLASSMAN A, KEATING MJ ET AL. Expression profile of MDM-2 proteins in chronic lymphocytic leukemia and their clinical relevance. *Am J Hematol* 1997, 54:189–195
  55. MICHAUX L, WLODARSKA I. Translocation t(1;6)(p35.3;p25.2): A new recurrent aberration in “unmutated” B-CLL. *Leukemia* 2005, 19:77–82
  56. CALIN GA, DUMITRU CD, SHIMIZU M, BICHI R, ZUPO S, NOCH E ET AL. Frequent deletions and down-regulation of micro-RNA genes miR15 and miR16 at 13q14 in chronic lymphocytic leukemia. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002, 99:15524–15529
  57. CALIN GA, LIU CG. MicroRNA profiling reveals distinct signatures in B cell chronic lymphocytic leukemias. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004, 101:11755–11760
  58. CALIN GA, FERRACIN M, CIMMINO A, DI LEVA G, SHIMIZU M, WOJCIK SE ET AL. A microRNA signature associated with prognosis and progression in chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med* 2005, 353:1793–1801
  59. KIENLE DL, KORZ C. Evidence for distinct pathomechanisms in genetic subgroups of chronic lymphocytic leukemia revealed by quantitative expression analysis of cell cycle, activation, and apoptosis-associated genes. *J Clin Oncol* 2005, 23:3780–3792
  60. CRESPO M, BOSCH F, VILLAMOR N, BELLOSILLO B, COLOMER D, ROZMAN M ET AL. ZAP-70 expression as a surrogate for immunoglobulin-variable-region mutations in chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med* 2003, 348:1764–1775
  61. ORCHARD JA, IBBOTSON RE, DAVIS Z, WIESTNER A, ROSENWALD A, THOMAS PW ET AL. ZAP-70 expression and prognosis in chronic lymphocytic leukemia. *Lancet* 2004, 363:105–111
  62. RASSENTI LZ, HUYNH L, TOYTL, CHEN L, KEATING MJ, GRIBBEN JG ET AL. ZAP-70 compared with immunoglobulin heavy-chain gene mutation status as a predictor of disease progression in chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med* 2004, 351:893–901
  63. DAMLE RN, WASIL T, FAIS F, GHIOTTO F, VALETTO A, ALLEN SL ET AL. IgV gene mutation status and CD38 expression as novel prognostic indicators in chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 1999, 94:1840–1847
  64. DeI GIUDICE I, MORILLA A, OSUJI N, MATUTES E, MORILLA R, BURFORD A ET AL. zeta-chain associated protein 70 and CD38 combined predict the time to first treatment in patients with chronic lymphocytic leukemia. *Cancer* 2005, 104:2124–2132
  65. OPPEZZO P, VASCONCELOS Y, SETTEGRANA C, JEANNEL D, VUILLIER F, LEGARFF-TAVERNIER M ET AL. The LPL/ADAM29 expression ratio is a novel prognosis indicator in chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2005, 106:650–657
  66. MONTSERRAT E, SANCHEZ-BISONO J, VINOLAS N, ROZMAN C. Lymphocyte doubling time in chronic lymphocytic leukemia: Analysis of its prognostic significance. *Br J Haematol* 1986, 62:567–575
  67. MONTSERRAT E, MARQUES-PEREIRA JP, GALLART MT, ROZMAN C. Bone marrow histopathologic patterns and immunologic findings in B-chronic lymphocytic leukemia. *Cancer* 1984, 54:447–451
  68. MOLICA S, LEVATO D, CASCAVILLA N, LEVATO L, MUSTO P. Clinico-prognostic implications of simultaneous increased serum levels of soluble CD23 and beta2-microglobulin in B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Eur J Haematol* 1999, 62:117–122
  69. SARFATI M, CHEVRET S, CHASTANG C, BIRON G, STRYCKMANS P, DELESPESE G ET AL. Prognostic importance of serum soluble CD23 level in chronic lymphocytic leukaemia. *Blood* 1996, 88:4259–4264
  70. HALLEK M, LANGENMAYER I, NERL C, KNAUF W, DIETZFELBINGER H, ADORF D ET AL. Elevated serum thymidine kinase levels identify a subgroup at high risk of disease progression in early, non-smoldering chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 1999, 93:1732–1737
  71. LEPORRIER M, CHEVRET S, CAZIN B, BOUDJERRA N, FEUGIER P, DESABLENS B ET AL. Randomized comparison of fludarabine, CAP, and ChOP in 938 previously untreated stage B and C chronic lymphocytic leukemia patients. *Blood* 2001, 98:2319–2325
  72. JOHNSON S, SMITH AG, LOFFLER H, OSBY E, JULIUSSON G, EMMERICH B ET AL. Multicentre prospective randomised trial of fludarabine versus cyclophosphamide, doxorubicin, and prednisone (CAP) for treatment of advanced-stage chronic lymphocytic leukemia. The French Cooperative Group on CLL. *Lancet* 1996, 347:1432–1438

73. RAI KR, PETERSON BL, APPELBAUM FR, KOLITZ J, ELIAS L, SHEPHERD L ET AL. Fludarabine compared with chlorambucil as primary therapy for chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med* 2000, 343:1750–1757
74. EXTERMANN M, OVERCASH J, LYMAN GH, PARR J, BALDUCCI L. Comorbidity and functional status are independent in older cancer patients. *J Clin Oncol* 1998, 16:1582–1587
75. EICHHORST BF, BUSCH R, HOPFINGER G, PASOLD R, HENSEL M, STEINBRECHER C ET AL. Fludarabine plus cyclophosphamide versus fludarabine alone in first-line therapy of younger patients with chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2006, 107:885–891
76. WIERDA W, O'BRIEN S, WEN S, FADERL S, GARCIA-MANERO G, THOMAS D ET AL. Chemoimmunotherapy with fludarabine, cyclophosphamide, and rituximab for relapsed and refractory chronic lymphocytic leukemia. *J Clin Oncol* 2005, 23:4070–4078
77. KEATING MJ, O'BRIEN S, ALBITAR M, LERNER S, PLUNKETT W, GILES F ET AL. Early results of a chemoimmunotherapy regimen of fludarabine, cyclophosphamide, and rituximab as initial therapy for chronic lymphocytic leukemia. *J Clin Oncol* 2005, 23:4079–4088
78. WIERDA W, O'BRIEN S, FADERL S, FERRAJOLI A, WANG X, DO KA ET AL. A retrospective comparison of three sequential groups of patients with recurrent/refractory chronic lymphocytic leukemia treated with fludarabine-based regimens. *Cancer* 2006, 106:337–345
79. STILGENBAUER S, DOHNER H. Campath-1H-induced complete remission of chronic lymphocytic leukemia despite *p53* gene mutation and resistance to chemotherapy. *N Engl J Med* 2002, 347:452–453
80. LOZANSKI G, HEEREMA NA, FLINN IW, SMITH L, HARBISON J, WEBB J ET AL. Alemtuzumab is an effective therapy for chronic lymphocytic leukemia with *p53* mutations and deletions. *Blood* 2004, 103:3278–3281
81. KEATING MJ, FLINN I, JAIN V, BINET JL, HILLMEN P, BYRD J ET AL. Therapeutic role of alemtuzumab (Campath-1H) in patients who have failed fludarabine: Results of a large international study. *Blood* 2002, 99:3554–3661
82. ELTER T, BORCHMANN P, SCHULZ H, REISER M, TRELLE S, SCHNELL R ET AL. Fludarabine in combination with alemtuzumab is effective and feasible in patients with relapsed or refractory B-cell chronic lymphocytic leukemia: Results of a phase II trial. *J Clin Oncol* 2005, 23:7024–7031
83. KENNEDY B, RAWSTRON A, CARTER C, RYAN M, SPEED K, LUCAS G ET AL. Campath-1H and fludarabine in combination are highly active in refractory chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2002, 99:2245–2247
84. MAURO FR, FOA R, CERRETTI R, GIANNARELLI D, COLUZZI S, MANDELLI F ET AL. Autoimmune hemolytic anemia in chronic lymphocytic leukemia: Clinical, therapeutic, and prognostic features. *Blood* 2000, 95:2786–2792
85. CORTES J, O'BRIEN S, LOSCERTALES J, KANTARJIAN H, GILES F, THOMAS D ET AL. Cyclosporin A for the treatment of cytopenia associated with chronic lymphocytic leukemia. *Cancer* 2001, 92:2016–2022
86. D'ARENA G, LAURENTI L, CAPALBO S, D'ARCO AM, De FILIPPI R, MARCACCIO G ET AL. Rituximab therapy for chronic lymphocytic leukemia-associated autoimmune haemolytic anemia. *Am J Hematol* 2006, 81:598–602
87. LUDWIG H, RAI K, BLADE J, DAMMACCO F, DEGOS L, ITRI L ET AL. Management of disease-related anemia in patients with multiple myeloma or chronic lymphocytic leukemia: Epoetin treatment recommendations. *Hematol J* 2002, 3:121–130
88. PANGALIS GA, SIAKANTARIS MP, ANGELOPOULOU MK, VASSILAKOPOULOS TP, DIMOPOULOU MN, KYRTSONIS MC ET AL. Downstaging Rai stage III B-chronic lymphocytic leukemia patients with the administration of recombinant human erythropoietin. *Haematologica* 2002, 87:500–506
89. GRIBBEN JG, ZAHRIEH D, STEPHANS K, BARTLETT-PANDITE L, ALYEA EP, FISHER DC ET AL. Autologous and allogeneic stem cell transplantations for poor-risk chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2005, 106:4389–4396
90. RITGEN M, LANGE A, STILGENBAUER S, DOHNER H, BRETSCHER C, BOSSE H ET AL. Unmutated immunoglobulin variable heavy-chain gene status remains an adverse prognostic factor after autologous stem cell transplantation for chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2003, 101:2049–2053
91. RITGEN M, STILGENBAUER S, VON NEUHOFF N, HUMPE A, BRUGGMANN M, POTT C ET AL. Graft-versus-leukemia activity may overcome therapeutic resistance of chronic lymphocytic leukemia with unmutated immunoglobulin variable heavy-chain gene status: implications of minimal residual disease measurement with quantitative PCR. *Blood* 2004, 104:2600–2602
92. MICHALLET M, ARCHIMBAUD E, BANDINI G, ROWLINGS PA, DEEG HJ, GAHRTON G ET AL. HLA-identical sibling bone marrow transplantation in younger patients with chronic lymphocytic leukemia. European Group for Blood and Marrow Transplantation and the International Bone Marrow Transplant Registry. *Ann Intern Med* 1996, 124:311–315
93. KHOURI IF, KEATING M, KORBLING M, PRZEPIORKA D, ANDERLINI P, O'BRIEN S ET AL. Transplant-lite: Induction of graft-versus-malignancy using fludarabine-based non-ablative chemotherapy and allogeneic blood progenitor-cell transplantation as treatment for lymphoid malignancies. *J Clin Oncol* 1998, 16:2817–2824
94. SORROR ML, MARIS MB, SANDMAIER BM, STORER BE, STUART MJ, HEGENBART U ET AL. Hematopoietic cell transplantation after non-myeloablative conditioning for advanced chronic lymphocytic leukemia. *J Clin Oncol* 2005, 23:3819–3829
95. DREGER P, BRAND R, MILLIGAN D, CORRADINI P, FINKE J, LAMBERTENGGHI DELILIERI G ET AL. Reduced-intensity conditioning lowers treatment-related mortality of allogeneic stem cell transplantation for chronic lymphocytic leukemia: A population-matched analysis. *Leukemia* 2005, 19:1029–1033
96. BYRD JC, PETERSON BL, GABRILOVE J, ODENIKE OM, GREVER MR, RAI K ET AL. Treatment of relapsed chronic lymphocytic leukemia by 72-hour continuous infusion or 1-hour bolus infusion of flavopiridol: Results from cancer and leukemia group B study 19805. *Clin Cancer Res* 2005, 11:4176–4181
97. FRANKEL AE, FLEMING DR, HALL PD, POWELL BL, BLACK JH, LEFTWICH C ET AL. A phase II study of DT fusion protein denileukin diftiox in patients with fludarabine-refractory chronic lymphocytic leukemia. *Clin Cancer Res* 2003, 9:3555–3561
98. FRANKEL AE, SURENDRANATHAN A, BLACK JH, WHITE A, GANJOO K, CRIPE LD. Phase II clinical studies of denileukin diftiox

- tox diphtheria toxin fusion protein in patients with previously treated chronic lymphocytic leukemia. *Cancer* 2006, 106:2158–2164
99. CARLO-STELLA C, Di NICOLA M, TURCO MC, CLERIS L, LAVAZZA C, LONGONI P ET AL. The anti-human leukocyte antigen-DR monoclonal antibody 1D09C3 activates the mitochondrial cell death pathway and exerts a potent antitumor activity in lymphoma-bearing non-obese diabetic/severe combined immunodeficient mice. *Cancer Res* 2006, 66:1799–1808
100. KAUFMANN SH, STEENSMA DP. On the TRAIL of a new therapy for leukemia. *Leukemia* 2005, 19:2195–2202
101. CASTRO JE, PRADA CE, LORIA O, KAMAL A, CHEN L, BURROWS FJ ET AL. ZAP-70 is a novel conditional heat shock protein 90 (Hsp90) client: Inhibition of Hsp90 leads to ZAP-70 degradation, apoptosis, and impaired signaling in chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2005, 106:2506–2512
102. WIERDA WG, CANTWELL MJ, WOODS SJ, RASSENTI LZ, PRUSSAK CE, KIPPS TJ. CD40-ligand (CD154) gene therapy for chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2000, 96:2917–2924
103. ADAMS GP, WEINER LM. Monoclonal antibody therapy of cancer. *Nat Biotechnol* 2005, 23:1147–1157
104. SPANER DE, HAMMOND C, MENA J, FODEN C, DEABREU A. A phase I/II trial of oxidized autologous tumor vaccines during the “watch and wait” phase of chronic lymphocytic leukemia. *Cancer Immunol Immunother* 2005, 54:635–646
105. WAHL U, NOSSNER E, KRONENBERGER K, GANGNUS R, POHLA H, STAEGE MS ET AL. Vaccination against B-cell chronic lymphocytic leukemia with trioma cells: Preclinical evaluation. *Clin Cancer Res* 2003, 9:4240–4246

*Corresponding author:*

P. Roussou, 3rd Department of Medicine, “Sotiria” Hospital, 152 Messogheion Ave., GR-115 27 Athens, Greece  
e-mail: gpp@hol.gr