مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی سمنان- جلد ۹، شماره۱ (پیاپی ۲۵) ، پائیز ۱۳۸۶

(مقاله مروری)

بیولوژی، تشخیص و درمان لوسمی مزمن لنفوسیت B

پرویز کوخائی* (Ph.D)
دانشگاه علوم پزشکي سمنان، دانشکده پزشکي، گروه میکروبیولوژي و ایمنولوژي

چکیده

در دو دهه گذشته پیش‌رفت قابل ملاحظه‌ای در زمینه شناسایی پاتوفیزیولوژی بیماری Chronic Lymphosytic Leukemia (CLL) به دست آمد. پیش‌رفت ابزارهای تشخیصی موجب شناسایی بیماری در تعداد زیادی از بیماران بدون علامت شد. با بررسی‌های دقیق‌تر CLL بر مبنای تمایل به پیش‌رفت سریع و یا عدم پیش‌رفت سریع بیماری به دو گروه با پیش آگهی خوب و بد تقسیم شد.

CLL قبلاً به عنوان بیماری غیر قابل درمان افراد مسن در نظر گرفته می‌شد. از آنجائی که اکثر بیماران با بیماری CLL و نه به واسطه آن می‌میرند، درمان‌ها بر علامت درمانی توسط داروهایی مانند کلرآمبوسیل متمرکز بوده است. این داروها درمان قطعی بیماری نمی‌باشند، حتی در صورتی که زودتر از موعد مناسب به بیماران داده شود دوره زندگی بیمار را کوتاه‌تر نیز می‌کند.

در این مقاله سعی شده است ضمن بررسی اپیدمیولوژی و تشخیص بیماری، عوامل موثر در پیش آگهی CLL تشریح شود. همچنین در باره درمان‌های مختلف ازقبیل شیمی درمانی و منوکلونال آنتی‌بادی به اختصار بحث شده است.

واژه‌های کلیدی: لوسمی ، لنفوسیت B، پیش آگهی

اپیدمیولوژی و شیوع

B-CLL شايع‌ترين نوع لوسمي بالغين در دنياي غرب بوده ۴۰% لوسمي‌هاي افراد بالاي ۶۵ سال را تشكيل مي دهد [۱]. ميانگين بروز سالانه آن حدود پنج در صد هزار است و با افزايش سن، شيوع آن بيش‌تر مي‌شود. اين بيماري در موارد نادري در افراد كمتر از ۴۰ سال ديده مي‌شود. بيماري بيش‌تر در اروپا، شمال آمريكا و استراليا شايع بوده و كمتر در آسيا ديده مي‌شود و در هند، چين و ژاپن نادر است [۲،۳،۴]. مردان شانس ابتلا بيشتري نسبت به زنان دارند. نسبت مردان مبتلا به زنان مبتلا ۱/۷ مي باشد. اگر چه سن، نژاد و سابقه خانوادگي ابتلا به بدخيمي‌هاي خوني يك فاكتور خطر براي اين بيماري به حساب مي آيد ولي علت اصلي بيماري ناشناخته است [۳،۵] مطالعه عوامل محيطي و شغلي، دخالت عواملي مانند تشعشعات راديواكتيو، ميدان مغناطيسي، ويروس‌ها و سموم حشره‌كش افزايش ابتلا به بيماري را رد مي كند، اگر چه ابتلا به بيماري در كشاورزان بيش‌تر ديده مي شود. [۵،۶].

افزايش شانس ابتلا به بيماري CLL در خانواده‌هاي داراي يك بيمار CLL بيش از هر بدخيمي خوني ديگر است. اين موضوع دلالت به نقش احتمالي زمينه ژنتيك و HLA در بروز B-CLL دارد [۷،۸]. در سال ۱۹۲۹ براي اولين بار Dameshek بيماري CLL را در دوقلوهاي همسان گزارش نمود كه هر دو همزمان به بيماري مبتلا شده بوده‌اند. فرزند پسر

* تلفن: ۳۳۵٤۱٦۲- ۰۲۳۱ نمابر: ۳۳۵٤۱٦۱- ۰۲۳۱ Email: parviz.kokhaei@ki.se
تاریخ دریافت: ۱۳۸۶/۱۱/۲۸ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۶/۱۲/۱۲

يكي از دوقلوها نيز در سني مشابه والد خود به CLL مبتلا شد [۹]. گسترش يك كلون سلولي B بيان كننده مارکر CD5 و CD19 در ۳/۵% از افراد مسن با شمارش نرمال لنفوسيت‌هاي خون محيطي ديده شده است [۱۰]. اين لنفوسيتوز با مارکر CD5 را لنفوسيتوز با اهميت ناشناخته Clonal Lymphocytosis Of Undetermined Significance (CLUS) مي‌نامند كه در خانواده‌هاي داراي يك بيماري CLL بيش‌تر ديده مي‌شود (حدود ۱۳%) [۱۱]. بعضي از اين افراد داراي اختلالات سيتوژنتيك (حذف 13q14) مي‌باشند كه در فاز اوليه بيماري ديده مي‌شود. اين موضوع نشان دهنده ارتباط عوامل ژنتيك با اين بيماري است [۲].

مشخصات بالینی

مشخصه CLL وجود لنفوسيت‌هاي منوكلونال B با شاخص CD23و CD5 با ظاهري طبيعي است. ولي اين سلول‌ها در عملكرد، مشابه سلول‌هاي B نرمال بالغ نيستند. سلول‌هاي توموري در خون، مغز استخوان، غدد لنفاوي، طحال و كبد تجمع پيدا مي‌كنند. سلول‌هاي B توموري مقادير كمي از IgM و IgD و CD21 و CD22 و CD79b را در سطح خود بيان مي‌كنند [۱۲]. حدود ۹۹% سلول‌هاي توموري در مرحلهG0 يا اوايل G1 از سيكل سلولي مي‌باشند [۱۳]. نقص در آپپتوز موجب تجمع سلول‌هاي توموري شده، پيش‌رفت بيماري را به دنبال دارد. يافته‌هاي جديد علاوه بر نقص آپپتوز بيان‌گر تكثير سلول‌هاي توموري نيز مي‌باشد [۱٤].

سير باليني بيماري B-CLL متنوع است. بعضي از اين بيماران وضعيت پايداري دارند (حتي تا پايان عمر) و نياز به درمان ندارند، در حالي كه بعضي ديگر از بيماران سريعاً پيش‌رفت مي‌كنند و علي‌رغم درمان، مي‌ميرند. بنابراين جستجو براي يافتن استراتژي‌هاي درماني جديد كاملاً ضروري به نظر مي‌رسد. همچنين معرفي عوامل باليني تعيين كننده‌ي پيش آگهي بيماري ضروري است. تعدادي از بيماران در موقع تشخيص بيماري بدون علامت هستند. علائم بيماري شامل عرق شبانه، كاهش وزن، خستگي و تب مي باشند. حدوداً ۴۰-۳۰% بيماران اختلال فيزيكي خاصي در هنگام تشخيص بيماري ندارند. شايع‌ترين اختلالات فيزيكي به ترتيب لنفادنوپاتي و سپس اسپلنومگالي است در صورتي كه هپاتومگالي كم‌تر شايع است. لنفادنوپاتي مي‌تواند متمركز يا منتشر باشد [۱۵]، هر چند در روند پيش‌رفت بيماري لنفادنوپاتي منتشر در اكثر بيماران ديده مي‌شود. تشخيص CLL معمولاً بر مبناي شاخص‌هاي كلاسيك تعيين شده توسط كنگره بين المللي CLL (IWCLL) و انستيتو ملي سرطان (NCI) مي‌باشد. لنفوسيتوز با بيش از/L ۵×۱۰^{۹} همراه با وجود لنفوسيت‌هاي كوچك با ظاهر طبيعي و مشخصات ايمنوفنوتيپي خاص معرف CLL مي‌باشد. مشخصات ايمنوفنوتيپي CLL وجود سلول‌هاي B با مارکر $CD19^{+}$، $CD5^{+}$، $CD23^{+}$، FMC^{-}و بيان كم CD79b/CD22 و مقدار كم ايمنوگلبولين سطحي مي باشد [۲].

رتبه‌بندی بالینی

اولين سيستم رتبه‌بندي باليني بيماري CLL توسط Binet و همكاران پيشنهاد شده است [۱٦]. سيستم ديگر رتبه‌بندي باليني توسط Rai و همكاران ارائه شده است [۱۷]. فاز اوليه بيماري (Binet A و Rai 0)، متوسط (Binet B و Rai I/II) و فاز پيشرفته بيماري(Binet C و Rai III/ IV) ناميده مي‌شوند كه بر مبناي طبقه‌بندي آن ميزان درگيري سيستم لنفاوي، شدت كم خوني و ترمبوسيتوپني، مي‌باشد (جدول ۱). برآورد مدت زمان زندگي بعد از تشخيص بيماري (Survival) به ترتيب بيش از ۱۰ سال و ۷- ۵ سال و ۳-۱سال مي‌باشد. اين دو سيستم طبقه بندي بيماري CLL محدوديت‌هاي دارد.

۱- وضعيت مغز استخوان فقط برمبناي ميزان هموگلوبين و ميزان پلاكت سنجيده مي‌شود و جنسيت بيمار لحاظ نمي‌شود.

۲- اين دو سيستم در مورد پيش آگهي زمان و ميزان پيش‌رفت بيماري براي بيماران در فاز اوليه بيماري اطلاعات چنداني نمي‌دهد. از آنجائي كه ٦۰% بيماران به هنگام تشخيص در مراحل اوليه بيماري مي‌باشند، بعضي از علائم باليني، هم‌سنگ سيستم Binet در تعيين روند پيش‌رفت بيماري مي‌باشند.

جدول ۱. سیستمهاي Staging باليني و اهميت پيش آگهي آ ا در بيماري CLL

Binet classification			Rai classification				Median overall survival
Stage	Definition	% of patients	Risk group	Stage	Definition	% of patients	
A	< 3 lymphoid areas	60	Low	0	Lymphocytosis only	30	> 10 yrs
B	> 3 lymphoid areas	30	Intermediate	I	Lymphadenopathy	25	5-7 yrs
				II	Hepato- or splenomegaly ± lymphadenopathy	25	
C	Hemoglobin < 100 g/L or Platelets < 100 x 10^9/L	10	High	III	Hemoglobin < 100 g/L	10	1-3 yrs
				IV	Platelets < 100 x 10^9/L	10	

از جمله لنفوسيتوز بيش از$L/ ۱۰^۹ ×۳۰$، هموگلوبين كمتر از ۱۲۰g/L ، عدم انتشار بيماري در غدد لنفاوي، وضعيت مغز استخوان و زمان طولاني دو برابر شدن شمارش لنفوسيتي از اين جمله‌اند [۱۹، ۱۸]. معهذا ۱۰% بيماراني كه علائمي به نفع وضعيت ثابت و پايدار دارند در طول ۵ سال اول بيماري دچار پيش‌رفت بيماري مي‌شوند. اين موضوع بيان‌گر عدم قطعيت مشخصه‌هاي جاري در پيش‌بيني روند باليني پيش‌رفت بيماري است.

عوامل پيش‌آگهی

عوامل پيش آگهی كلاسيک

تعيين Stage باليني هنوز به عنوان متداول‌ترين عامل پيش‌آگهي مدت زندگي (Survival) در CLL مي‌باشد. در بين متغيرهاي باليني، سن، جنس، وضعيت فعاليت بيمار همچنين عوامل آزمايشگاهي كه نشان دهنده ميزان توده تومور يا پيش‌رفت بيماري است مانند LDH سرم، الگو پراكنش سلول‌هاي توموري در مغز استخوان، زمان دو برابر شدن توده تومور حائز اهميت هستند. بعلاوه ساير فاكتورهاي مهم سرمي از قبيل CD23 محلول در سرم، β2 ميكروگلوبولين، تايمدين كيناز و فاكتورهاي ژنتيكي تومور مثل اختلال ژن P53 ، همچنين وضعيت موتاسيون ژن VH قابل توجه مي باشند [۲۰].

ساير عوامل دخيل در پيش آگهی:

وضعيت موتاسيون ژن **VH**

به طور كلاسيك CLL به عنوان بيماري لنفوسيت B بكر(naive) (لنفوسيت بالغي كه هنوز با آنتي‌ژن در غدد لنفاوي برخورد نداشته است) در نظر گرفته مي‌شود. (Pre-germinal centers disease). كاوش‌هاي اخير نشان داده كه ۵۰% از بيماران CLL داراي هايپرموتاسيون سوماتيك در ناحيه VH زنجيره‌هاي سبك و سنگين هستند [۲۱]. اين اطلاعات نشان مي‌دهد CLL دو نوع متفاوت بدخيمي است كه از سلول B منشعب مي‌شود. يكي از لنفوسيت‌هاي B بكر قبل از حضور سلول B در مراكز زاياي غدد لنفاوي (Unmutated) و ديگري بعد از حضور سلول B در مركز زاياي غدد لنفاوي كه

اصطلاحاً Mutated ناميده مي‌شود [۲۲]. ولي مطالعات Microarray مبين منشا يكسان هر دو نوع CLL از سلول‌هاي خاطره است [۲۳]. دو مطالعه مجزا كه به طور هم‌زمان در سال ۱۹۹۹ منتشر شد نشان داد كه هايپرموتاسيون سوماتيك در ناحيه VH حدوداً در نصف بيماران CLL وجود دارد. موضوع مهم‌تر اين كه، نبود موتاسيون سوماتيك عامل مهم پيش آگهي بيماري مي‌باشد [۲۳،۲٤] . چندين مطالعه ديگر از جمله تيمي از سوئد اين يافته‌ها را تائيد نمود [۲۵،۲٦]. بنابراين بيماران CLL بر مبناي وجود يا عدم وجود موتاسيون در ناحيه VH ژن ايمنوگلوبولين كلون توموري به دو گروه با پيش آگهي خوب و بد تقسيم مي‌شوند.

تفاوت ۲% توالي ژن ايمنوگلوبولين به عنوان مرز تعيين وجود موتاسيون پذيرفته شد. اين مرز ۲% براي حذف تاثير بالقوه تفاوت‌هاي آلليك و پلي‌مورفيسم‌هاي شناسايي نشده در نظر گرفته شده است [۲۸،۲۷]. مطالعات ديگري تفاوت ۳% يا ۵% توالي ژن ايمنوگلوبولين را به عنوان حد تشخيص بيماران با موتاسيون يا بدون موتاسيون در نظر گرفته اند [۳۰ و ۲۹]. بعضي مشخصات بيماران با موتاسيون ناحيه VH و بدون موتاسيون در جدول شماره ۲ خلاصه شده است [۳۰].

جدول۲. مشخصات مولكولي، فنوتيپي، باليني بيماران با موتاسيون ژن VH و بيماران بدون موتاسيون ژن VH

خصوصيت	بيماران CLL با موتاسيون	بيماران CLL بدون موتاسيون
موتاسيون ژن VH	بيشتر از ۲%	كمتر از ۲%
جنس	M=F	M>F
سن در هنگام بروز بيماري	مشابه نوع بدون موتاسيون	مشابه نوع با موتاسيون
پيش آگهي	خوب	بد
نياز به درمان	غير معمول	معمولاً نياز دارند
زمان مورد نياز براي دو برابر شدن جمعيت سلولي	بيش از ۱۲ ماه	كمتر از ۱۲ ماه
ماركر فعاليت	CD71+ / CD62L+	CD38+ / CD69+
بيان CD38	كم	زياد
بيان ZAP-70	كم	زياد
طول تلومر	متنوع	يك دست و كوتاه
فعاليت تلومراز	كم	زياد
سيگنالينگ BCR	منفي	مثبت
فراواني حذف 13q14	%۵۰	%۲۶
فراواني حذف 11q23	%۴	%۲۷
فراواني حذف 17q13 يا 11q23	%۷	%۳۵
فراواني تريزومي ۱۲	%۱۵	%۱۹
ژن VH متداول	VH3-21	VH31-69

در جدول۲ اطلاعات جامع‌تري نيز از انتخاب ژن‌هاي VH خاص توسط كلون‌هاي مختلف CLL ارائه شده است. اين اطلاعات نشان مي‌دهد كه سلول‌هاي توموري تمايل به انتخاب ژن‌هاي VH خاصي را نسبت به ساير ژن‌ها دارند. ژن‌هايي نظير VH3-21، VH3-07، VH4-34،VH1-69 بيشتر توسط كلون توموري انتخاب مي‌شوند. حدود ۲۵% بيماران بدون موتاسيون CLL داراي VH1-69 مي‌باشند در حالي كه ژن VH3-21 بيش‌تر در بيماران داراي موتاسيون ديده مي‌شود. اين در حالي است كه VH3-21 عموماً با پيش آگهي بد بيماري همراه است [۲٦]. در مواردي VH1-69 با مشخصات بازآرائي غير متعارفي ديده مي شود از جمله اينكه در اين خانواده، VH ژن هاي خاصي از مجموعه ژن‌هاي D و J ديده مي‌شود و طول CD3 طويل‌تر از معمول است. اين خصيصه VH1-69 را از VH1-69 هاي معمولي متمايز مي‌كند [۳۳] اين يافته‌ها موجب ارائه اين تئوري شد كه ممكن است يك اپي توپ آنتي ژنيك در ايجاد CLL دخالت داشته باشد و انتخاب اجزاء D و J خاص براي ايجاد افينيتي بيش‌تر براي آن اپي توپ مخصوص مي‌باشد[۲٦]. يافته‌هاي جديد در بيماران داراي VH3-21 Ig [۲۵،۲٦،۳٤] اين تئوري را تائيد مي‌كند [۳۵]. اما نوع و منشاء چنين آنتي‌ژن و آنتي‌ژن CLL، فعلاً نامعلوم است. اين آنتي‌ژن مي‌تواند يك اتوآنتي‌ژن باشد [۲٦].

Zeta - associated protein-70 (ZAP-70)

از آنجائي كه تعيين سكانس ژن IgVH به لحاظ تكنيكي مشكل بوده و زمان بر مي‌باشد، جستجوي يك ماركر جايگزين ضروري به نظر مي‌رسد. ZAP-70 يك پروتئين همراه با زنجير ζ گيرنده لنفوسيت T مي‌باشد كه موجب انتقال پيام از TCR به سلول T مي‌شود. اين پروتئين منحصراً در لنفوسيت T و NK بيان مي‌شود. سلول‌هاي نرمال B مولكول ZAP-70 را بيان نمي‌كنند. ميزان زياد mRNA، ZAP-70 در سلول‌هاي توموري CLL مشاهده شده است [۳٦]. همچنين بروز پروتئين ZAP-70 در تست وسترن‌بلات [۳۷] و فلوسايتومتري [۳۸] گزارش شده است. بروز ZAP-70، بيش‌تر در بيماران CLL فاقد موتاسيون ديده مي‌شود [٤۱-۳۹]. اين موضوع با پيش آگهي بد همراه است، اما اطلاعات جديد بيان‌گر نتايج متناقض در ۲۳% بيماران مي‌باشد. در حال حاضر گروهي متشكل از تيم‌هاي تحقيقاتي اروپايي يك روش استاندارد فلوسايتومتري براي اندازه گيري ZAP-70 را جستجو مي‌كنند، لذا براي استفاده از اين ماركر در كلينيك بايد منتظر نتايج كار اين گروه بود [٤۱].

CD38:

CD38 انساني يك گليكوپروتئين غشايي است. دومين ناحيه‌ي خارج سلولي CD38 به عنوان اكتوآنزيم عمل مي‌كند و cADP-Ribos را سنتز مي‌كند. CD38 يك عامل كليدي در تنظيم ميزان Ca^{2+} درون سيتوپلاسمي است. واكنش CD38 با آنتي‌بادي منوكلونال موجب تحريك و تمايز در سلول‌هاي T، B و NK مي‌شود [۲۳]. حضور CD38 در سطح سلول‌هاي B در بيماران CLL بيان‌گر پيش آگهي بد بيماري است. لذا مي‌توان CD38 را به عنوان يك شاخص جايگزين بررسي موتاسيون ژن VH به كاربرد [۴۲]. افزايش بيش از ۳۰% مولكول CD38 به عنوان ميزان حد ميزه پيش آگهي بد مطرح شده است و اين موضوع استفاده از CD38 را در بيماران مختلف دچار مشكل مي‌كند و به همين دليل كاربرد آن بيشتر در حد تحقيقات است و در كلينيك به كار نمي رود.

اختلالات كرموزومي

چون بخش كوچكي از سلول‌هاي توموري در فاز S تقسيم سلولي مي‌باشند استفاده از تكنيك سينوژنتيك در CLL دشوار است. حدود ۲۰% بيماران كاريوتايپ نرمال دارند [٤۳]. روش‌هاي متداول موجود در ۵۰-٤۰% بيماران اختلالات كرموزومي را نشان مي‌دهند [٤٤].

با استفاده از تكنيك Fluorescence In situ Hybridization (FISH) اختلالات كرموزومي در ۸۰% بيماران مشاهده شده است. در يك مطالعه بر روي ۳۰۰ بيمار [٤۵] اختلالات كروموزومي مطالعه شده به ترتيب شيوع عبارتند از: حذف 13q (در ۵۵% بيماران) و حذف 11q (در ۱۸% بيماران) و تريزومي ۱۲(در ۱٦% بيماران). همچنين حذف

17P فقط در ۷% بیماران دیده شد که در این اختلال با پیش آگهي بد و حذف (q6) (٦%) همراه است. بیماري با حذف 17p و 11q شدیدتر از گروه‌هاي دیگر مي‌باشد و بیماران با حذف 17p کوتاه‌ترین زمان انتظار قبل از درمان را دارند (۹ ماه) و بیش‌ترین زمان انتظار قبل از درمان در بیماران با حذف 13q دیده مي‌شود (۹۲ ماه) . میانگین دوره زندگي در گروه‌هاي با حذف 17p، 11q، تریزومي 12q، کاریوتایپ نرمال و حذف 13q به عنوان تنها اختلال به ترتیب ۱۳۳، ۱۱۱، ۱۱٤، ۷۹، ۳۲ ماه است [۲٤].

اختلال دیگر در ژن P53 که یك ژن سرکوبگر تومور بوده و بر روي کرموزوم $17p_{13}$ قرار دارد دیده مي‌شود. این ژن در ۱۰% بیماران CLL دچار موتاسیون مي‌شود. این پدیده با ترانس فرمیشن ریشتر (Richter's transformation) که موجب مقاومت به شیمي درماني مي‌شود همراه است [۲٤، ٤٦]. این موتاسیون ظاهراً مقاومت به درمان آنتي‌بادي منوکلونال ایجاد نمي‌کند [٤۳].

تلومرها

تلومرها توالي تکراري TTAGGG (6-12Kbp) در انتهاي کرموزوم‌هاي یوکاریوتي هستند که موجب محافظت انتهاي کرموزوم‌ها از صدمه دیدن ومانعت از اتصال انتهاي کرموزوم‌ها به هم‌دیگر مي‌شود. تلومر کوتاه موجب ناپایداري ژنتیکي شده و احتمال سرطان را افزایش مي‌دهد. فعالیت آنزیم تلومراز موجب افزایش طول تلومر شده و در اکثر بدخیمي‌ها از جمله CLL حائز اهمیت است [٤۷]. انتهاي پاياني تلومر یك زنجیره از DNA تك رشته‌اي تشکیل مي‌شود که در انتهاي '3 آن ممکن است این رشته به شکل حلقه درآمده که آن را لوپ یا حلقه T مي‌نامند [٤۸]. علاوه بر این توالي تکرار شونده در انتهاي کرموزوم تعداد متنوعي از پروتئین‌هاي مختلف در انتهاي تلومرهاي پستانداران به عنوان تنظیم کننده‌ي عملکرد تلومر تجمع پیدا مي‌کنند [۹]. از جمله این پروتئین‌ها Telomeric Repeat Binding Factor I TRAF I و TRAF II به ناحیه دو رشته اي تلومر متصل شده و نقش مهمي در تنظیم تلومر دارد [٤۹].

رابطه طول تلومر و فعالیت آنزیم تلومراز در سلول‌هاي توموري CLL و اهمیت این موضوع در پیش آگهي بیماري به خصوص در ارتباط با وضعیت موتاسیون ژن VH مورد بررسي قرار گرفته است. این مطالعات مبین فعالیت بیش‌تر تلومراز در بیماران بدون موتاسیون نسبت به بیماران داراي موتاسیون و افراد نرمال مي‌باشد [۵۰]. این مطلب توسط مطالعه دیگري که رابطه وجود موتاسیون در ژن VH و طول تلومر را بررسي کرده است تائید شد [۵۱]. Bechter و همکاران نشان دادند که طول کوتاه تلومر و فعالیت زیاد تلومراز با دوره کوتاه زندگي در این بیماران ارتباط مستقیم دارد [۵۲]. این در حالي است که مطالعه Verstovek و همکاران موضوع عکس آن را نشان مي‌دهد و بر عدم امکان تکیه بر استفاده از آنزیم تلومراز به عنوان یك عامل پیش آگهي دلالت دارد [۹٤]. مطالعه دیگري نشان مي‌دهد بیماران CLL را به لحاظ پیش آگهي بر مبناي طول تلومر مي‌توان به دو گروه تقسیم نمود [۵٤]. Tckirkov و همکاران نشان دادند که میزان بروز mRNA آنزیم نسخه بردار معکوس در ساختمان تلومر انساني Human Telomerase Reverse Transcriptase (hTERT) در سلول‌هاي تك هسته‌اي خون محیطي این بیماران به طور معني‌داري با طول زمان زندگي این بیماران مرتبط است. بروز ژن hTERT یك عامل پیش آگهي به تنها و در ارتباط به وضعیت موتاسیون ژن VH مي‌باشد [٤۷، ۵۵،۵٦].

اختلالات ایمنولوژیک ناشی از بیماری CLL

۱. هیپوگاما گلوبولینمی

شایع‌ترین اختلال ایمنولوژیك در بیماران CLL هیپوگاما گلوبولینمي است (۸% بیماران در زمان تشخیص این اختلال را نشان مي‌دهند). همچنین اتوآنتي‌بادي علیه پروتئین‌هاي هیستوني و DNA، سیتواسکلتون و گلبول‌هاي قرمز دیده مي‌شود [۱۵]. هیپوگاما گلوبولینمي عامل افزایش احتمال عفونت‌هاي باکتریایي و ویروسي شده که عامل ٦۰% مرگ و میر در این بیماران است [۵٦]. شیوع هیپوگاما گلوبولینمي در ۵ سال اول بیماري افزایش یافته و به ٤۰% مي‌رسد و در ۱۰

سال اول بيماري به ٦٥% مي رسد [١٥]. استفاده از دوز بالاي IVIg براي كاهش خطر عفونت‌هاي باكتريايي در اين بيماران داراي اهميت است [٥٧].

٢. خود ايمنی

بيماري در فاز پيش‌رفت خود عموماً اختلالات خود ايمني را به همراه دارد از جمله اين اختلالات كم خوني هموليتيك خود ايمن(AIHA) و ترمبوسيتوپني مي‌باشد [٥٨]. اين موارد در ٢٠-١٠% بيماران ديده مي‌شود [٦٠، ٥٩]. اگرچه مكانيسم دقيق اين اختلالات معلوم نيست ولي احتمالاً به هم خوردن تعادل زيرگروه‌هاي جمعيتي سلول‌هاي T در اثر درمان ممكن است در ايجاد اين شرايط دخيل باشد [٦٣-٢٢]. گزينه‌هاي درماني اختلال اتوايميون ترمبوسيتوپني و AIHA عبارتند از كورتيكواستروئيدها و اسپلنوكتومي، رتوكسي‌مب (آنتي‌بادي منوكلونال ضد CD20) و در موارد مقاوم به درمان‌هاي مذكور المتوزومب (anti CD52)مي‌باشد [٦٤].

ترانس فرميشن ريشتر

١٥% بيماران CLL وارد مرحله ترانس فرميشن شده بيماري سريعاً پيش‌رفت كرده كه اصطلاحاً لوسمي پرولیمفوسيتيك Pro lymphocytic Leukemia (PLL) نام دارد.

در اين مرحله پرولنفوسيت‌هاي خون محيطي افزايش مي‌يابد (بيش از ٥٥%) كه ريشتر سندرم Richter Syndrome (RS) ناميده مي‌شود كه نوعي لنفوم مي‌باشد. سندرم ريشتر در ١٠% - ٥% موارد CLL [١٥، ٦٥، ٦٦] پيش مي‌آيد. پيش آگهي اين حالت بد بوده به درمان مقاوم است. ميانگين زندگي اين بيماران ٨-٥ ماه است [٦٧]. در حال حاضر آزمايشي جهت تشخيص بيماراني كه به اين فاز وارد خواهند شد موجود نيست [١٥]. كاهش طولاني مدت سلول‌هاي T در اثر درمان با anti CD52 ظاهراً خطر ابتلا به اين فاز از بيماري را افزايش مي‌دهد [٦٦]. احتمالاً RS ناشي از بازفعالي ويروس EBV مي‌باشد كه معمولاً در بيماراني كه ضعف سيستم ايمني دارند ديده مي‌شود.

درمان B-CLL

اميد به حيات در بيماران CLL بدون پيش آگهي بد تقريباً معادل افراد نرمال هم سن خود مي‌باشد، در حالي كه در بيماران با پيش‌رفت سريع اميد به حيات بيش‌تر از ٢ سال نيست. اين شواهد بيان‌گر اين است كه بيماران CLL در مراحل اوليه بيماري نياز به درمان نخواهند داشت تا هنگامي كه بيماري وارد فاز پيش‌رفت شود. موارد استثناء براي اين قاعده، بيماران با اختلال سيتوژنيك يا موتاسيون مي‌باشد. اين اختلال دلالت بر پيش آگهي بد بيماري دارد.تحقيقات در زمينه زمان تصميم گيري براي شروع درمان در مراحل اوليه يا مراحل بعدي در حال انجام است [٦٨].

تصميم‌گيري براي شروع درمان در صورت وجود يكي از شرايط زير اتخاذ مي شود. a) علائم ناشي از بيماري، b) كم خوني پيش رونده يا ترمبوسيستني، c) آمي يا ترمبوسيتوپني اتوايمن، d) لنفوآدنوپايي، e) اسپلنومگالي، f) زمان كوتاه دو برابر شده تعداد لنفوسيت‌هاي خون محيطي، g) افزايش ابتلاء به عفونت‌هاي باكتريايي [٧٠ و٦٩].

براي ساليان متمادي عوامل الكيله كننده مانند كلرآمبوسيل خوراكي به تنهايي يا همراه با كورتيكواسترئيدها براي درمان CLL استفاده شده است، اين درمان در ٧٠-٤٠% بيماراني كه قبلاً درمان نشده بودند پاسخ خوبي داده است (Objective response). بودي كامل مطابق تعريف NCI به ندرت ديده مي‌شود. شيمي درماني‌هاي سنگين‌تر آثار درماني تر را موجب شده است ولي طول عمر را افزايش نداده است [٧١-٧٣].

آنالوگ‌هاي پورين گزينه‌هاي جديد درمان هستند. فلودارابين به طور گسترده مورد بررسي واقع شده OR در افرادي كه به كلروآمبوسيل جواب نداده يا بعد از درمان با كلروآمبوسيل دچار عود شده‌اند ٧٠-٣٠% بوده است. در بيماران CLL درمان شده OR براي اين دارو بيش از ٨٠% بوده و CR حدود ٣٠- ٢٥%گزارش شده است [٧٤].

تحقيقات نشان داده كه فلودارابين همراه با سيكلوفسفاميد موثرتر از فلودارابين به تنهايي است. در اين تحقيق OR بيش

از ۹۰% و CR ۲۵% تا ۳۰% بوده است. زمان مورد نیاز به درمان مجدد نیز در صورت استفاده از سیکلوفسفامید بیش‌تر بوده است [۷۵و۷٦]. به همین دلیل ترکیب فلودارابین و سیکلوفسفامید به عنوان اولین درمان استاندارد در CLL مطرح است.

Rituximab (anti CD20) و Alemtuzumab (antiCD52) دو آنتي‌بادي منوكلونال هستند كه در چندين سال گذشته براي درمان بدخيمي‌هاي لنفوسيتي استفاده شده است، در يك كار آزمايي باليني فاز II آنتي‌بادي تركيبي (كايمريك antiCD20 (Chimeric همراه با فلودارابين به بيماران CLL داده شد. اين رژيم درماني نتايج تري نسبت به فلودارابين تنها نشان داد [۷۷] . بررسي جديد از مركز تحقيقاتي M.D اندرسون گوياي CR تر در صورت اضافه شدن سيكلوفسفاميد به عنوان اولين گزينه درماني در CLL هست علاوه بر اين در موارد عود استفاده از اين دارو نيز نتايج تري را موجب شده است [۷۹ و۷۸]. تحقيقات بيش‌تر براي نتيجه‌گيري قطعي در اين خصوص ضروري به نظر مي‌رسد.

CD52 به مقدار زياد در سطح بيش از ۹۵% لنفوسيت‌هاي B و T مونوسيت‌ها و ماكروفاژها بروز پيدا مي‌كند. اين شاخص در سطح گرانولوسيت‌ها، اريتروسيت‌ها، پلاكت‌ها و سلول‌هاي بنيادي مغز استخوان ديده مي‌شود [۸۰]. آلمتوزومب (anti CD52) يك آنتي‌بادي انساني است كه عليه شاخص CD52 مي‌باشد [۸۱]. مكانيسم‌هاي تخريب سلولي كه antiCD52 به واسطه آن عمل مي‌كند عبارتند از فعال سازي كمپلمان، سيتوتوكسيته با واسطه آنتي بادي (ADCC) [۸۲ و۸۳]. با استفاده تنها از anti CD52 در درمان، ميزان OR ۳۰ – ٤۰% در بيماران پيشرفته ديده شد [۸۵ ،۸٤]. پاسخ به اين درمان در بخش‌هاي مختلف بدن يك‌سان نيست. خون ومغز استخوان در ۳۰% بيماران به خوبي از سلول‌هاي سرطاني پاكسازي شده ولي لنفادنوپاتي فقط در معدودي از بيماران از بين مي‌رود. نتايج اميدوار كننده تر درمان با اين دارو زماني است كه به عنوان اولين گزينه درماني در بيماران CLL بكار گرفته شود. در اين بيماران OR حدود ۸۰% گزارش شده است [۸٦]. وقتي اين آنتي بادي همراه با فلودارابين در يك كارآزمايي باليني فاز II به كار رفت نتايج قابل قبولي بدست آمد [۸۷]. مطالعه ديگري در حال انجام است كه نقش anti CD52 را به عنوان يك درمان مكمل بعد از شيمي درماني بررسي مي‌كند.

نقش سلول های T در CLL

وجود اختلال در عملكرد سيستم ايمني بيماران CLL [۸۸] به همراه افزايش ميزان لنفوسيت‌هاي T (برابر ۴-۲/۵) [۸۹] مبين دخالت سول‌هاي T در پاتولوژي بيماري CLL مي‌باشد. ميزان توليد درون سلولي IFN-γ، IL-4 در سلول‌هاي T، $CD4^+$، $CD8^+$ به نحو معني‌داري نسبت به افراد نرمال بالاتر مي‌باشد. شمارش تعداد سلول‌هاي CD4 T توليد كننده IL-4 بيانگر افزايش مطلق آ ا نسبت به افراد نرمال مي‌باشد [۹۰]. به نظر مي‌رسد عملكرد ناقص سلول‌هاي T منجر به ايجاد يك محيط ظريف شيميايي براي حمايت و نگهداري از سلول‌هاي توموري مي‌گردد [۸۹]. سلول‌هاي توموري جدا شده از غدد لنفاوي (نه خون محيطي) به طور پيوسته mRNA كيموكاين‌هاي جذب كننده سلول‌هاي T از جمله CLL17 و CLL22 را بيان مي‌كنند [۹۱].

تحريك سلول‌هاي توموري از طريق CD40 موجب بيان كيموكاين‌هاي CLL22 در سطح RNA مي‌شود كه اين كيموكاين موجب جذب سلول‌هاي T مي‌شود. اين مشاهده بيان‌گر اين موضوع است كه سيگنال‌هاي فيزيولوژيك موجود در محيط اطراف سلول‌هاي توموري (از جمله CD4 T) موجب افزايش بقاي سلول‌هاي توموري مي‌شود [۳۰] . تعدادي از ساينوكاين‌ها از جمله IL-4، IFN-γ، IL-8، TNF-a،IL-13 اثر تحريك كننده داشته و موجب افزايش بقاي سلول‌هاي توموري در آزمايشگاه مي‌شود [۹۳،۹٤]. IL-4 مي‌تواند موجب رشد سلول‌هاي توموري در in vivo شود [۹٤]. بخش‌هايي از سلول‌هاي توموري كه تكثير مي‌يابند و تامين كننده سلول‌هاي توموري در حال گسترش در خون محيطي مي‌باشند، در مجاورت سلول‌هاي T در غدد لنفاوي و مغز

استخوان قرار دارند كه اصطلاحاً فوليكول‌هاي كاذب نام دارند (Pseudo-Follicles) [١٤]. فوليكول‌هاي كاذب حاوي سلول‌هاي B توموري مي‌باشند كه Bcl-2 را همراه با Ki-67 بيان مي‌كنند. اين سلول‌ها با سلول‌هاي T با مارکر $CD4^+$ و CD154+ (CD40L) و همچنين تعدادي سلول فوليكولار دندرتيك احاطه شده‌اند. اين سلول‌هاي احاطه كننده ممكن است در رشد و تكثير سلول‌هاي توموري دخالت داشته باشند [٩٦ ، ٩٥].

MicroRNA

ميكرو RNA (Micro RNA) يك گروه از RNA هاي كوچك (nt 24-19) غير كد شونده به پروتئين هستند. اين نوع از RNAها در ارگانيسم‌هاي متنوعي شناسايي شده اند. مولكول اوليه سازنده Micro RNA (Pre mi RNA) حدود چندين كيلو باز بوده كه در هسته سنتز مي‌شوند. بعد از پردازش اوليه در هسته به RNA هايي با طول 70-100 nt تبديل گرديده كه Pre mic RNA نام دارد. اين مولكول به سيتوپلاسم منتقل شده توسط مكانيسمي به نام Dicer به قطعات كوچك تر تبديل مي‌شوند. اين قطعات ريز Micro RNA مي‌توانند به انتهاي '3 مولكول‌هاي mRNA در سيتوپلاسم متصل و از ترجمه آن‌ها به پروتئين جلوگيري يا موجب تجزيه mRNA شود. تا كنون بيش از ١٠٠٠ نوع Micro RNA مختلف در پستانداران شناسايي شده است. دو نوع miR-15a miR-16-1 در سول‌هاي $CD5^+$ B در سطح بالايي بيان مي‌شود در حالي كه به علت حذف 13q14.3 ميزان اين Micro RNA در سلول‌هاي CLL بسيار پائين است.

يافته‌هاي اخير بيانگر ارتباط بيش‌تر بيماري CLL با زمينه ژنتيكي بيمار را نشان مي‌دهد. در اين بيماري تغييرات عمده اي در Micro RNA اتفاق مي‌افتد. بيماران با پيش آگهي خوب دچار كاهش بروز ژن miR-15a، miR16-1 مي‌شوند كه ژن كد كننده آن‌ها بر روي كرموزوم 13q14.3 قرار دارد. اين دو Micro RNA موجب كاهش بيان ژن Bcl-2 در مرحله بعد از نسخه برداري مي‌شوند. از طرف ديگر بيماران CLL كه داراي ژن IgVH بدون موتاسيون يا مقادير زياد ZAP-70 مي‌باشند، مقادير زياد TCLI را بيان مي‌كنند كه اين مسئله خود ناشي از بيان مقادير كم miR-29 و miR-181 مي باشد. استفاده از اين RNA هاي كوچك در درمان CLL در آينده محتمل به نظر مي رسد [٩٧].

تشكر وقدردانی

از زحمات دوست و همكار ارجمندم آقاي بيژن صديقي مقدم در ويرايش متن مقاله سپاسگزارم، همچنين قدردان زحمات سركار خانم مريم نجاريان بابت تايپ مقاله هستم.

منابع

[1] Kokhaei P, Rezvany M.R, Virving L, Choudhury A, Rabbani H, Osterborg A, and et al. Dendritic cells loaded with apoptotic tumour cells induce a stronger T-cell response than dendritic cell-tumour hybrids in B-CLL. Leukemia 2003 May; 17 (5): 894-899.

[2] Herishanu Y, and Polliack A. Chronic lymphocytic leukemia: a review of some new aspects of the biology, factors influencing prognosis and therapeutic options. Transfus Apher Sci. 2005 Feb; 32 (1):85-97.

[3] Adami J, Gridley G, Nyren O, Dosemeci M, Linet M, Glimelius B, and et al. Sunlight and non-Hodgkin's lymphoma: a population-based cohort study in Sweden. Int J Cancer. 1999 Mar 1; 80(5):641-645.

[4] Diehl LF, Karnell LH, and Menck HR. The American College of Surgeons Commission on Cancer and the American Cancer Society. The National Cancer Data Base report on age, gender, treatment, and outcomes of patients with chronic lymphocytic leukemia. Cancer 1999 Dec 15; 86(12):2684-2692.

[5] Goldin LR, Pfeiffer RM, Li X, and Hemminki K. Familial risk of lymphoproliferative tumors in families of patients with chronic lymphocytic leukemia: results from the Swedish Family-Cancer Database. Blood. 2004 Sep 15; 104(6):1850-1854.

[6] Flodin U, Fredriksson M, Persson B, and Axelson O. Chronic lymphatic leukaemia and engine exhausts, fresh wood, and DDT: a case-referent study. Br J Ind Med. 1988 Jan; 45(1):33-38.

[7] Sakai A, Marti GE, Caporaso N, Pittaluga S, Touchman JW, Fend F, and et al. Analysis of expressed immunoglobulin heavy chain genes in familial B-CLL. Blood. 2000 Feb 15;95(4):1413-1419.

[8] Marti GE, Carter P, Abbasi F, Washington GC, Jain N, Zenger VE, and et al. B-cell monoclonal lymphocytosis and B-cell abnormalities in the setting of familial B-cell chronic lymphocytic leukemia. Cytometry B Clin Cytom. 2003 Mar; 52(1):1-12.

[9] Dameshek W H, and Arbor B, Chronic lymphatic leukemia in twin brothers aged fifty-six: JAMA; 1929.

[10] Rawstron AC, Green MJ, Kuzmicki A, Kennedy B, Fenton JA, Evans PA, and et al. Monoclonal B lymphocytes with the characteristics of "indolent" chronic lymphocytic leukemia are present in 3.5% of adults with normal blood counts. Blood. 2002 Jul 15; 100(2):635-639.

[11] Rawstron AC, Yuille MR, Fuller J, Cullen M, Kennedy B, Richards SJ, and et al. Inherited predisposition to CLL is detectable as subclinical monoclonal B-lymphocyte expansion. Blood. 2002 Oct 1; 100(7):2289-2290.

[12] Kokhaei P, Choudhury A, Mahdian R, Lundin J, Moshfegh A, Osterborg A, and et al. Apoptotic tumor cells are superior to tumor cell lysate, and tumor cell RNA in induction of autologous T cell response in B-CLL. Leukemia. 2004 Nov; 18(11):1810-1815.

[13] Alfarano A, Indraccolo S, Circosta P, Minuzzo S, Vallario A, Zamarchi R, and et al. An alternatively spliced form of

CD79b gene may account for altered B-cell receptor expression in B-chronic lymphocytic leukemia. Blood. 1999 Apr 1; 93(7):2327-2335.

[14] Messmer BT, Messmer D, Allen SL, Kolitz JE, Kudalkar P, Cesar D, and et al. In vivo measurements document the dynamic cellular kinetics of chronic lymphocytic leukemia B cells. J Clin Invest. 2005 Mar; 115(3):755-764.

[15] Pangalis GA, Vassilakopoulos TP, Dimopoulou MN, Siakantaris MP, Kontopidou FN, and Angelopoulou MK. B-chronic lymphocytic leukemia: practical aspects. Hematol Oncol. 2002 Sep; 20(3):103-146.

[16] Binet JL, Auquier A, Dighiero G, Chastang C, Piguet H, Goasguen J, and et al. A new prognostic classification of chronic lymphocytic leukemia derived from a multivariate survival analysis. Cancer. 1981 Jul 1; 48(1):198-206.

[17] Rai KR, Sawitsky A, Cronkite EP, Chanana AD, Levy RN, and Pasternack BS. Clinical staging of chronic lymphocytic leukemia. Blood 1975 Aug; 46(2):219-234.

[18] Montserrat E, and Rozman C, Chronic lymphocytic leukaemia: prognostic factors and natural history. Baillieres Clin Haematol. 1993 Dec;6(4):849-866.

[19] Zwiebel JA, and Cheson BD, Chronic lymphocytic leukemia: staging and prognostic factors. Semin Oncol. 1998 Feb; 25(1):42-59.

[20] Montillo M, Hamblin T, Hallek M, Montserrat E, and Morra E. Chronic lymphocytic leukemia: novel prognostic factors and their relevance for risk-adapted therapeutic strategies. Haematologica. 2005 Mar; 90(3):391-399.

[21] Schroeder HW, Jr., and Dighiero G. The pathogenesis of chronic lymphocytic leukemia: analysis of the antibody repertoire. Immunol Today. 1994 Jun; 15(6):288-294.

[22] Klein U, Tu Y, Stolovitzky GA, Mattioli M, Cattoretti G, Husson H, and et al. Gene expression profiling of B cell chronic lymphocytic leukemia reveals a homogeneous phenotype related to memory B cells. J Exp Med. 2001 Dec 3; 194(11):1625-1638.

[23] Damle RN, Wasil T, Fais F, Ghiotto F, Valetto A, Allen SL, and et al. Ig V gene mutation status and CD38 expression as novel prognostic indicators in chronic lymphocytic leukemia. Blood. 1999 Sep 15; 94(6):1840-1847.

[24] Hamblin TJ, Davis Z, Gardiner A, Oscier DG, and Stevenson FK. Unmutated Ig V(H) genes are associated with a more aggressive form of chronic lymphocytic leukemia. Blood. 1999 Sep 15; 94(6):1848-1854.

[25] Tobin G, Thunberg U, Johnson A, Thorn I, Soderberg O, Hultdin M, and et al. Somatically mutated Ig V(H) 3-21 genes characterize a new subset of chronic lymphocytic leukemia. Blood. 2002 Mar 15; 99(6):2262-2264.

[26] Tobin G, and Rosenquist R. Prognostic Usage of VH Gene Mutation Status and Its Surrogate Markers and the Role of Antigen Selection in Chronic Lymphocytic Leukemia. Med Oncol. 2005; 22(3):217-228.

[27] Oscier DG, Thompsett A, Zhu D, and Stevenson FK. Differential rates of somatic hypermutation in V(H) genes among subsets of chronic lymphocytic leukemia defined by chromosomal abnormalities. Blood. 1997 Jun 1; 89(11):4153-4160.

[28] Kokhaei P, Palma M, Mellstedt H, Choudhury A. Biology and treatment of chronic lymphocytic leukemia. Ann Oncol. 2005; 16 Suppl 2:ii113-123.

[29] Krober A, Seiler T, Benner A, Bullinger L, Bruckle E, Lichter P, and et al. V(H) mutation status, CD38 expression level, genomic aberrations, and survival in chronic lymphocytic leukemia. Blood. 2002 Aug 15; 100(4):1410-1416.

[30] Lin K, Sherrington PD, Dennis M, Matrai Z, Cawley JC, and Pettitt AR. Relationship between p53 dysfunction, CD38 expression, and IgV(H) mutation in chronic lymphocytic leukemia. Blood. 2002 Aug 15; 100(4):1404-1409.

[31] Hillmen P, and Witzig TE. Therapeutic strategies in lymphoid malignancies: an immunotherapeutic approach. Oxford: Clinical; 2005.

[32] Tobin G, Thunberg U, Johnson A, Eriksson I, Soderberg O, Karlsson K, and et al. Chronic lymphocytic leukemias utilizing the VH3-21 gene display highly restricted Vlambda2-14 gene use and homologous CDR3s: implicating recognition of a common antigen epitope. Blood. 2003 Jun 15; 101(12):4952-4957.

[33] Fais F, Ghiotto F, Hashimoto S, Sellars B, Valetto A, Allen SL, and et al. Chronic lymphocytic leukemia B cells express restricted sets of mutated and unmutated antigen receptors. J Clin Invest. 1998 Oct 15; 102(8):1515-1525.

[34] Ghia P, Stamatopoulos K, Belessi C, Moreno C, Stella S, Guida G, and et al. Geographic patterns and pathogenetic implications of IGHV gene usage in chronic lymphocytic leukemia: the lesson of the IGHV3-21 gene. Blood. 2005 Feb 15; 105(4):1678-1685.

[35] Falt S, Merup M, Tobin G, Thunberg U, Gahrton G, Rosenquist R, and et al. Distinctive gene expression pattern in VH3-21 utilizing B-cell chronic lymphocytic leukemia. Blood. 2005 Jul 15; 106(2):681-689.

[36] Rosenwald A, Alizadeh AA, Widhopf G, Simon R, Davis RE, Yu X, and et al. Relation of gene expression phenotype to immunoglobulin mutation genotype in B cell chronic lymphocytic leukemia. J Exp Med. 2001 Dec 3; 194(11):1639-1647.

[37] Sup SJ, Domiati-Saad R, Kelley TW, Steinle R, Zhao X, and Hsi ED. ZAP-70 expression in B-cell hematologic malignancy is not limited to CLL/SLL. Am J Clin Pathol. 2004 Oct; 122(4):582-587.

[38] Durig J, Nuckel H, Cremer M, Fuhrer A, Halfmeyer K, Fandrey J, and et al. ZAP-70 expression is a prognostic factor in chronic lymphocytic leukemia. Leukemia. 2003 Dec; 17(12):2426-2434.

[39] Crespo M, Bosch F, Villamor N, Bellosillo B, Colomer D, Rozman M, and et al. ZAP-70 expression as a surrogate for immunoglobulin-variable-region mutations in chronic lymphocytic leukemia. N Engl J Med. 2003 May 1; 348(18):1764-1775.

[40] Orchard JA, Ibbotson RE, Davis Z, Wiestner A, Rosenwald A, Thomas PW, and et al. ZAP-70 expression and prognosis in chronic lymphocytic leukaemia. Lancet. 2004 Jan 10; 363(9403):105-111.

[41] Rassenti LZ, Huynh L, Toy TL, Chen L, Keating MJ, Gribben JG, and 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 Aug 26; 351(9):893-901.

[42] Ibrahim S, Keating M, Do KA, O'Brien S, Huh YO, Jilani I, and et al. CD38 expression as an important prognostic factor in B-cell chronic lymphocytic leukemia. Blood. 2001 Jul 1; 98(1):181-186.

[43] Stilgenbauer S, Bullinger L, Lichter P, and Dohner H. Genetics of chronic lymphocytic leukemia: genomic aberrations and V(H) gene mutation status in pathogenesis and clinical course. Leukemia. 2002 Jun; 16(6):993-1007.

[44] Juliusson G, Oscier DG, Fitchett M, Ross FM, Stockdill G, Mackie MJ, and et al. Prognostic subgroups in B-cell chronic lymphocytic leukemia defined by specific chromosomal abnormalities. N Engl J Med. 1990 Sep 13; 323(11):720-724.

[45] Dohner H, Stilgenbauer S, Benner A, Leupolt E, Krober A, Bullinger L, and et al. Genomic aberrations and survival in chronic lymphocytic leukemia. N Engl J Med. 2000 Dec 28; 343(26):1910-1916.

[46] Byrd JC, Stilgenbauer S, and Flinn IW. Chronic lymphocytic leukemia. Hematology (Am Soc Hematol Educ Program). 2004:163-183.

[47] Tchirkov A, Chaleteix C, Magnac C, Vasconcelos Y, Davi F, Michel A, and et al. hTERT expression and prognosis in B-chronic lymphocytic leukemia. Ann Oncol. 2004 Oct; 15(10):1476-1480.

[48] Hahn WC. Role of telomeres and telomerase in the pathogenesis of human cancer. J Clin Oncol. 2003 May 15; 21(10):2034-2043.

[49] Broccoli D, Smogorzewska A, Chong L, and de Lange T. Human telomeres contain two distinct Myb-related proteins, TRF1 and TRF2. Nat Genet. 1997 Oct; 17(2):231-235.

[50] Damle RN, Batliwalla FM, Ghiotto F, Valetto A, Albesiano E, Sison C, and et al. Telomere length and telomerase activity delineate distinctive replicative features of the B-CLL subgroups defined by immunoglobulin V gene mutations. Blood. 2004 Jan 15; 103(2):375-382.

[51] Hultdin M, Rosenquist R, Thunberg U, Tobin G, Norrback KF, Johnson A, and et al. Association between telomere length and V(H) gene mutation status in chronic lymphocytic leukaemia: clinical and biological implications. Br. J. Cancer. 2003 Feb 24; 88(4):593-598.

[52] Bechter OE, Eisterer W, Pall G, Hilbe W, Kuhr T, and Thaler J. Telomere length and telomerase activity predict survival in patients with B cell chronic lymphocytic leukemia. Cancer Res. 1998 Nov 1; 58(21):4918-4922.

[53] Verstovsek S, Giles FJ, O'Brien S, Faderl S, Kantarjian HM, Keating MJ, and et al. Telomerase activity is not a prognostic

[73] Kimby E, Bjorkholm M, Gahrton G, Glimelius B, Hagberg H, Johansson B, and et al. Chlorambucil/prednisone vs. CHOP in symptomatic low-grade non-Hodgkin's lymphomas: a randomized trial from the Lymphoma Group of Central Sweden. Ann Oncol. 1994; 5 Suppl 2:67-71.

[74] Kalil N, and Cheson BD. Management of chronic lymphocytic leukaemia. Drugs Aging. 2000 Jan; 16(1):9-27.

[75] Daniel Catovsky SR, Peter Hillmen Early Results from LRF CLL4: A UK Multicenter Randomized Trial. Session Type: Oral Session. ASH meeting abstract. 2005.

[76] Eichhorst BF, Busch R, Hopfinger G, Pasold R, Hensel M, Steinbrecher C, and et al. Fludarabine plus cyclophosphamide versus fludarabine alone in first line therapy of younger patients with chronic lymphocytic leukemia. Blood. 2006 vol 107, No 3 885-891.

[77] Byrd JC, Rai K, Peterson BL, Appelbaum FR, Morrison VA, Kolitz JE, and et al. Addition of rituximab to fludarabine may prolong progression-free survival and overall survival in patients with previously untreated chronic lymphocytic leukemia: an updated retrospective comparative analysis of CALGB 9712 and CALGB 9011. Blood. 2005 Jan 1; 105(1):49-53.

[78] Keating MJ, O'Brien S, Albitar M, Lerner S, Plunkett W, Giles F, and et al. Early results of a chemoimmunotherapy regimen of fludarabine, cyclophosphamide, and rituximab as initial therapy for chronic lymphocytic leukemia. J Clin Oncol. 2005 Jun 20;23(18):4079-4088.

[79] Wierda W, O'Brien S, Wen S, Faderl S, Garcia-Manero G, Thomas D, and et al. Chemoimmunotherapy with fludarabine, cyclophosphamide, and rituximab for relapsed and refractory chronic lymphocytic leukemia. J. Clin. Oncol. 2005 Jun 20; 23(18):4070-4078.

[80] Ginaldi L, De Martinis M, Matutes E, Farahat N, Morilla R, Dyer MJ, and et al. Levels of expression of CD52 in normal and leukemic B and T cells: correlation with in vivo therapeutic responses to Campath-1H. Leuk Res. 1998 Feb; 22(2):185-191.

[81] Waldmann H, and Hale G. CAMPATH: from concept to clinic. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci. 2005 Sep 29; 360(1461):1707-1711.

[82] Nuckel H, Frey UH, Roth A, Duhrsen U, and Siffert W. Alemtuzumab induces enhanced apoptosis in vitro in B-cells from patients with chronic lymphocytic leukemia by antibody-dependent cellular cytotoxicity. Eur J Pharmacol. 2005 May 9; 514(2-3):217-224.

[83] Golay J, Manganini M, Rambaldi A, and Introna M. Effect of alemtuzumab on neoplastic B cells. Haematologica. 2004 Dec; 89(12):1476-1483.

[84] Osterborg A, Dyer MJ, Bunjes D, Pangalis GA, Bastion Y, Catovsky D, and et al. Phase II multicenter study of human CD52 antibody in previously treated chronic lymphocytic leukemia. European Study Group of CAMPATH-1H Treatment in Chronic Lymphocytic Leukemia. J Clin Oncol. 1997 Apr; 15(4):1567-1574.

[85] Keating MJ, Flinn I, Jain V, Binet JL, Hillmen P, Byrd J, and et al. Therapeutic role of alemtuzumab (Campath-1H) in patients who have failed fludarabine: results of a large international study. Blood. 2002 May 15; 99(10):3554-3561.

[86] Lundin J, Kimby E, Bjorkholm M, Broliden PA, Celsing F, Hjalmar V, and et al. Phase II trial of subcutaneous anti-CD52 monoclonal antibody alemtuzumab (Campath-1H) as first-line treatment for patients with B-cell chronic lymphocytic leukemia (B-CLL). Blood. 2002 Aug 1; 100(3):768-773.

[87] Elter T, Borchmann P, Schulz H, Reiser M, Trelle S, Schnell R, and 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 Oct 1; 23(28):7024-7031.

[88] Aniruddha C, Mosolits. S, Kokhaei. P, Hansson. L, Palma. M, and Mellstedt aHk. Clinical Results of Vaccine Therapyfor Cancer: Learning from Historyfor Improving the Future. Advances in CANCER RESEARCH. 2006:147-202.

[89] Mellstedt H, and Choudhury A. T and B cells in B-chronic lymphocytic leukaemia: Faust, Mephistopheles and the pact with the Devil. Cancer Immunol Immunother. 2005 May 19.

[90] Kiaii S, Choudhury A, Mozaffari F, Kimby E, Osterborg A, and 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(3):291-302.

factor in chronic lymphocytic leukemia. Leuk Res. 2004 Jul; 28(7):707-711.

[54] Grabowski P, Hultdin M, Karlsson K, Tobin G, Aleskog A, Thunberg U, and et al. Telomere length as a prognostic parameter in chronic lymphocytic leukemia with special reference to VH gene mutation status. Blood. 2005 Jun 15; 105(12):4807-4812.

[55] Kokhaei p, Marzia P, Lotta H, Österborg A, Ha°kan M, and Aniruddha C. Telomerase (hTERT 611–626) serves as a tumor antigen in B-cell chronic lymphocytic leukemia and generates spontaneously antileukemic, cytotoxic T cells. Experimental Hematology 2007; 35: 297–304.

[56] Molica S. Infections in chronic lymphocytic leukemia: risk factors, and impact on survival, and treatment. Leuk Lymphoma. 1994 Apr; 13(3-4):203-214.

[57] Rozman C, Montserrat E, and Vinolas N. Serum immunoglobulins in B-chronic lymphocytic leukemia. Natural history and prognostic significance. Cancer. 1988 Jan 15; 61(2):279-283.

[58] Kokhaei p, Abdalla AO, Lotta H, Eva Mikaelsson, Manfred K, Anton H, and et al. Expression of Erythropoietin Receptor and In vitro Functional Effects of Epoetins in B-Cell Malignancies. Clin Cancer Res 2007; 13(12):3536-3544.

[59] Engelfriet CP, Overbeeke MA, and von dem Borne AE. Autoimmune hemolytic anemia. Semin Hematol. 1992 Jan; 29(1):3-12.

[60] Hamblin TJ, Oscier DG, and Young BJ. Autoimmunity in chronic lymphocytic leukaemia. J Clin Pathol. 1986 Jul; 39(7):713-716.

[61] Rodon P, Breton P, Courouble G. Treatment of pure red cell aplasia and autoimmune haemolytic anaemia in chronic lymphocytic leukaemia with Campath-1H. Eur J Haematol. 2003 May; 70(5):319-321.

[62] Efremov DG, Ivanovski M, Siljanovski N, Pozzato G, Cevreska L, Fais F, and et al. Restricted immunoglobulin VH region repertoire in chronic lymphocytic leukemia patients with autoimmune hemolytic anemia. Blood. 1996 May 1; 87(9):3869-3876.

[63] Pritsch O, Maloum K, Dighiero G. Basic biology of autoimmune phenomena in chronic lymphocytic leukemia. Semin Oncol. 1998 Feb; 25(1):34-41.

[64] Lundin J, F. Celsing, C. Karlsson, and Osterborg A. Treatment of Refractory Autoimmune Hemolytic Anemia in B-CLL with Alemtuzumab (Humanized CD52 MAb). ASH abstract Poster Session 218-III. 2005.

[65] M. Richter. Generalised reticular sarcoma of lymph nodes associated with lymphatic leukemia Am J Pathol. 1928;4 285–291.

[66] C. Karlsson SN, Lundin J, Kimby E, Mellstedt H, Sander B, Porwit-MacDonald A, and Osterborg A. Alemtuzumab as first-line therapy in b-cell chronic lymphocytic leukemia (B-cll): long-term follow-up of clinical effects, infectious complications, and risk of Richter transformation (RT)EHA abstract. EHA abstract. 2004.

[67] Tsimberidou AM, and Keating MJ. Richter syndrome: biology, incidence, and therapeutic strategies. Cancer. 2005 Jan 15;103(2):216-28.

[68] Palma. M, Kokhaei. P, J. Lundin A, Choudhury H, & M, sterborg AO. The biology and treatment of chronic lymphocytic leukemia. Annals of Oncology 17 (Supplement 10). 2006;17(10): x144–x54.

[69] Cheson BD, Bennett JM, Rai KR, Grever MR, Kay NE, Schiffer CA, and et al. Guidelines for clinical protocols for chronic lymphocytic leukemia: recommendations of the National Cancer Institute-sponsored working group. Am J Hematol. 1988 Nov; 29(3):152-163.

[70] Cheson BD, Bennett JM, Grever M, Kay N, Keating MJ, O'Brien S, and et al. National Cancer Institute-sponsored Working Group guidelines for chronic lymphocytic leukemia: revised guidelines for diagnosis and treatment. Blood. 1996 Jun 15; 87(12):4990-4997.

[71] Leukemia FCGoCL. Is the CHOP regimen a good treatment for advanced CLL? Results from two randomized clinical trials. Leuk Lymphoma. 1994 May; 13(5-6):449-456.

[72] Hansen MM, Andersen E, Christensen BE, Christiansen I, Geisler C, Kristensen D, and et al. CHOP versus prednisolone + chlorambucil in chronic lymphocytic leukemia (CLL): preliminary results of a randomized multicenter study. Nouv Rev Fr Hematol. 1988;30(5-6):433-436.

[91] Ghia P, Strola G, Granziero L, Geuna M, Guida G, Sallusto F, and et al. Chronic lymphocytic leukemia B cells are endowed with the capacity to attract CD4+, CD40L+ T cells by producing CCL22. Eur J Immunol. 2002 May; 32(5):1403-1413.

[92] Dancescu M, Rubio-Trujillo M, Biron G, Bron D, Delespesse G, and Sarfati M. Interleukin 4 protects chronic lymphocytic leukemic B cells from death by apoptosis and upregulates Bcl-2 expression. J Exp Med. 1992 Nov 1;176(5):1319-1326.

[93] Tangye SG, and Raison RL. Human cytokines suppress apoptosis of leukaemic CD5+ B cells and preserve expression of bcl-2. Immunol Cell Biol. 1997 Apr; 75(2):127-135.

[94] Lundin J, Kimby E, Bergmann L, Karakas T, Mellstedt H, and Osterborg A. Interleukin 4 therapy for patients with chronic lymphocytic leukaemia: a phase I/II study. Br. J. Haematol. 2001 Jan; 112(1):155-160.

[95] Caligaris-Cappio F. Role of the microenvironment in chronic lymphocytic leukaemia. Br. J. Haematol. 2003 Nov; 123(3):380-388.

[96] Granziero L, Ghia P, Circosta P, Gottardi D, Strola G, Geuna M, and et al. Survivin is expressed on CD40 stimulation and interfaces proliferation and apoptosis in B-cell chronic lymphocytic leukemia. Blood. 2001 May 1; 97(9):2777-2783.

[97] George A. Calin, Yuri Pekarsky, and Croce CM. The role of microRNA and other non-coding RNA in the pathogenesis of chronic lymphocytic leukemia Best Practice & Research Clinical Haematology 2007;20(3).