

ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ



026000200113



ΔΔ
610
KAY
2003

A

231

ΕΠΙΣΤΗΜΟΛΟΓΙΑ

ΕΠΙΣΤΗΜΟΛΟΓΙΑ

ΕΠΙΣΤΗΜΟΛΟΓΙΑ

ΕΠΙΣΤΗΜΟΛΟΓΙΑ

ΕΠΙΣΤΗΜΟΛΟΓΙΑ

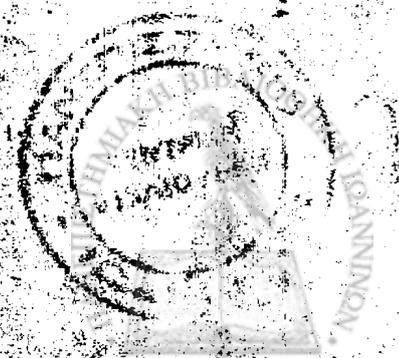
ΕΠΙΣΤΗΜΟΛΟΓΙΑ
ΕΠΙΣΤΗΜΟΛΟΓΙΑ

ΕΠΙΣΤΗΜΟΛΟΓΙΑ

ΕΠΙΣΤΗΜΟΛΟΓΙΑ

ΕΠΙΣΤΗΜΟΛΟΓΙΑ

ΕΠΙΣΤΗΜΟΛΟΓΙΑ



616
ΚΑΥ
2003
511/626
Α. ΕΙΣ. 59 200...4



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ
ΤΟΜΕΑΣ ΠΑΘΟΛΟΓΙΑΣ

ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ
Διευθυντής: Καθηγητής Ε. Β. Τσιάνος

ΠΡΟΓΝΩΣΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΣΤΗ ΧΡΟΝΙΑ ΛΕΜΦΟΓΕΝΗ ΛΕΥΧΑΙΜΙΑ

ΕΛΕΝΗ Δ. ΚΑΨΑΛΗ
ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΟΣ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2003



Η έγκριση της διδακτορικής διατριβής από την Ιατρική Σχολή του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων δεν υποδηλώνει την αποδοχή των γνώμων του συγγραφέα (Νόμος 5343/32, άρθρο 202, παράγραφος 2)



Ορισμός τριμελούς συμβουλευτικής επιτροπής : 16-6-1998

Ορισμός του θέματος: 29-6-1998

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή

Επιβλέπων :

Κωνσταντίνος Α. Μπουραντάς Αναπληρωτής Καθηγητής Παθολογίας-Αιματολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Μέλη :

Κωνσταντίνος Σεφεριάδης Αναπληρωτής Καθηγητής Βιολογικής Χημείας, Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Ιωάννης Γεωργίου Λέκτορας Μαιευτικής & Γυναικολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Ημερομηνία κατάθεσης διδακτορικής διατριβής 2-12-2003

Πρόεδρος Ιατρικής Σχολής
Επαμεινώνδας Τσιάνος Καθηγητής Παθολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Επταμελής Εξεταστική Επιτροπή

Κωνσταντίνος Α. Μπουραντάς Καθηγητής Παθολογίας-Αιματολογίας, Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Κωνσταντίνος Σεφεριάδης Καθηγητής Βιολογικής Χημείας, Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Ιωάννης Γεωργίου Αναπληρωτής Καθηγητής, Ιατρικής Γενετικής Μαιευτικής & Γυναικολογίας Κλινικής, Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
Σταύρος Κωνσταντόπουλος Καθηγητής Πνευμονολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Νίκη Αγνάντη Καθηγήτρια Παθολογικής Ανατομίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Σταυρούλα Τσιάρα Επίκουρη Καθηγήτρια Παθολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Λεωνίδας Χρήστου Επίκουρος Καθηγητής Παθολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Βαθμός Διατριβής : Άριστα

Η Γραμματέας της Σχολής

Ευαγγελία Τσαγγαλά



ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Οφείλω να εκφράσω τις θερμές μου ευχαριστίες στον επιβλέποντα Καθηγητή Παθολογίας - Αιματολογίας της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, κ. Κωνσταντίνο Μπουραντά, που μου έδωσε τη δυνατότητα και με καθοδήγησε στην εκπόνηση αυτής της διατριβής ανοίγοντάς μου ερευνητικούς ορίζοντες, επαγωγικές σκέψεις και στρατηγικές στον τομέα της Αιματολογίας.

Επίσης, σημαντική ήταν η επιστημονική συμβολή των άλλων μελών της τριμελούς επιτροπής, του Καθηγητή Βιολογικής Χημείας κ. Κωσταντίνου Σεφεριάδη και του Αναπληρωτή Καθηγητή κ. Ιωάννη Γεωργίου στην ολοκλήρωση της εργασίας.

Ιδιαίτερες ευχαριστίες θέλω να εκφράσω στον Διευθυντή του Αιματολογικού Εργαστηρίου κ. Νικόλαο Κολαίτη για την καθοδήγηση του στην οργάνωση των αποτελεσμάτων και την στατιστική ανάλυση αυτών.

Θέλω να ευχαριστήσω θερμά τον συνάδελφο κ. Γεώργιο Βαρθολομάτο, Επιστημονικό υπεύθυνο της Μονάδας Μοριακής Βιολογίας του Αιματολογικού Εργαστηρίου, ο οποίος με την επιστημονική του κατάρτιση, και τον ιδιαίτερο τρόπο να σε ενθαρρύνει τις δύσκολες στιγμές της ερευνητικής δουλειάς, συνέβαλε αποφασιστικά στην πραγματοποίηση της εργασίας.

Η βοήθεια της παρασκευάστριας κ. Λαμπρινής Κεφάλα στη συλλογή των δειγμάτων ήταν καθοριστική και την ευχαριστώ θερμά. Σημαντική ήταν και η βοήθεια της γραμματέας κ. Βίκης Μάνου στην διεκπεραίωση διοικητικών θεμάτων και στην οποία εκφράζω τις ευχαριστίες μου.



ΠΡΩΤΟ ΒΙΒΛΙΟ

Α. ΕΠΙΣΤΗΜΗ ΑΝΘΡΩΠΙΝΗΣ

Στους γονείς μου

Μεταφρασμένη

Από τον

Επιπλέον της Μεταφρασμένης

Μεταφρασμένης

Ονόματι

Μεταφρασμένης

Από τον

Επίπλέον

Από τον

Πίνακας Περιεχομένων

Σελ.

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

A. ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΑΝΟΣΟΛΟΓΙΑΣ	2
Μηχανισμοί άμυνας	2
Λεμφικά όργανα	5
Πρωτογενή Λεμφικά Όργανα	5
Μυελός των Οστών	5
Θύμος	6
Δευτερογενή Λεμφικά Όργανα	8
Λεμφαδένες	8
Σπλήνας	11
Λεμφικός ιστός των βλεννογόνων	14
Αμυδαλές	15
Φυσιολογική δομή, ανάπτυξη και λειτουργία λεμφοκυττάρων	
Clusters of Clusters differentiation	15
B-Λεμφοκύτταρα	16
Ανοσοφαινοτυπικές αλλαγές κατά τα αρχικά στάδια της διαφοροποίησης των B κυττάρων	24
Πλασματοκύτταρα	28
Ανοσοσφαιρίνες	30
T-Λεμφοκύτταρα	32
Ανάπτυξη T-λεμφοκυττάρων	37
Μεγάλα Κοκκιώδη Λεμφοκύτταρα (Large Granular Lymphocytes)	43
Κύτταρα Φυσικοί Φονείς (Natural Killer cells, NK)	43
Ανοσολογική απάντηση	44
B. ΚΥΤΤΑΡΙΚΟΣ ΚΥΚΛΟΣ ΚΑΙ ΑΠΟΠΤΩΣΗ	48
Γ. ΑΡΧΗ ΚΥΤΤΑΡΟΜΕΤΡΙΑΣ ΡΟΗΣ	52
Δ. ΧΡΟΝΙΑ ΛΕΜΦΟΓΕΝΗΣ ΛΕΥΧΑΙΜΙΑ	58
Διαγνωστικά κριτήρια ΧΛΛ	60



ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η Χρόνια Λεμφογενής Λευχαιμία είναι πιο συχνή μορφή λευχαιμίας στον Δυτικό Κόσμο. Η πρώτη περιγραφή της έγινε από τον Turk το 1903, πρόκειται δηλαδή για ένα νόσημα που είναι γνωστό τα τελευταία εκατό χρόνια.

Στην διάρκεια των ετών αυτών έγιναν σημαντικές ανακαλύψεις σχετικά με την παθογένεια του νοσήματος και την θεραπευτική αντιμετώπιση. Παρόλα αυτά η Χρόνια Λεμφογενής Λευχαιμία είναι ένα λεμφοϋπερπλαστικό νόσημα το οποίο δεν θεραπεύεται και παρουσιάζει μεγάλη ποικιλία στην κλινική πορεία .

Τα τελευταία χρόνια η χρησιμοποίηση της κλινικής σταδιοποίησης , όπως ορίστηκε από τους Rai και Binet έδωσε τη δυνατότητα να υπάρξει μια προγνωστική εκτίμηση των ασθενών από τη στιγμή της διάγνωσης .

Η ετερογένεια όμως της νόσου ποικίλει σημαντικά, ακόμη και για ασθενείς που ανήκουν στο ίδιο στάδιο.

Από τη στιγμή που δεν υπάρχει θεραπευτική αντιμετώπιση που να οδηγεί στην ίαση και ταυτόχρονα υπάρχουν ενδείξεις πως η πρόωρη χορήγηση χημειοθεραπείας μπορεί να μειώσει την επιβίωση, προκύπτει επιτακτική η ανάγκη να υπάρχουν στοιχεία για τον ασθενή που να δίνουν με αρκετή ακρίβεια πληροφορίες για την πορεία του.

Έχουν γίνει πολλές μελέτες όπου διάφοροι παράγοντες που θεωρήθηκαν προγνωστικοί συσχετίστηκαν με την Χρόνια Λεμφογενή Λευχαιμία. Από τους σημαντικότερους παραμένει η κλινική σταδιοποίηση και ακολουθούν διάφοροι άλλοι που προκύπτουν είτε από εξετάσεις της καθημερινής πράξης, όπως η μορφολογία των λεμφοκυττάρων, είτε από πιο πολύπλοκες μεθόδους όπως ο καρυότυπος, που γίνονται μόνο μέσα στα πλαίσια ορισμένων πρωτοκόλλων.

Σήμερα η μελέτη του ανοσοφαινότυπου στα αιματολογικά νοσήματα, με τη χρήση της κυτταρομετρίας ροής, είναι αναπόσπαστο τμήμα της διαγνωστικής προσέγγισης. Οι πληροφορίες που δίνονται πλέον δεν αφορούν μόνο τη διάγνωση, αλλά μπορούν να δώσουν και στοιχεία για την ανταπόκριση στη θεραπεία π.χ. με τη μορφή της υπολοιπόμμενης νόσου. Ταυτόχρονα προγνωστικοί παράγοντες μπορούν να ενσωματωθούν στον ανοσοφαινότυπο. Η κυτταρομετρία ροής είναι μια μέθοδος που πλέον μπορεί να εφαρμοσθεί στην τυπική εργαστηριακή εκτίμηση των ασθενών με αιματολογικό νόσημα .

Η παρούσα μελέτη έχει σαν στόχο την αξιολόγηση παραγόντων που σχετίζονται με την πρόγνωση των ασθενών με Χρόνια Λεμφογενή Λευχαιμία και μπορούν εύκολα



ΕΠΙΧΕΙΡΗΣΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ

Το παρόν έγγραφο περιγράφει τις διαδικασίες και τα κριτήρια για την επιλογή των υποψηφίων για την πρόσληψη προσωπικού. Η επιλογή θα βασιστεί στην αξιολόγηση των αιτήσεων, των πτυχίων και των πειραματικών ερωτηματολογίων.

ΜΕΛΕΤΗΜΕΝΟΙ

Η επιλογή των υποψηφίων θα γίνει με βάση τα ακόλουθα κριτήρια:

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

- Εμπειρία
- Πτυχία
- Εξέταση
- Μηνιαίο
- Ετήσιο

Το παρόν έγγραφο περιγράφει τις διαδικασίες και τα κριτήρια για την επιλογή των υποψηφίων για την πρόσληψη προσωπικού. Η επιλογή θα βασιστεί στην αξιολόγηση των αιτήσεων, των πτυχίων και των πειραματικών ερωτηματολογίων.

Το παρόν έγγραφο περιγράφει τις διαδικασίες και τα κριτήρια για την επιλογή των υποψηφίων για την πρόσληψη προσωπικού. Η επιλογή θα βασιστεί στην αξιολόγηση των αιτήσεων, των πτυχίων και των πειραματικών ερωτηματολογίων.

Το παρόν έγγραφο περιγράφει τις διαδικασίες και τα κριτήρια για την επιλογή των υποψηφίων για την πρόσληψη προσωπικού. Η επιλογή θα βασιστεί στην αξιολόγηση των αιτήσεων, των πτυχίων και των πειραματικών ερωτηματολογίων.

Το παρόν έγγραφο περιγράφει τις διαδικασίες και τα κριτήρια για την επιλογή των υποψηφίων για την πρόσληψη προσωπικού. Η επιλογή θα βασιστεί στην αξιολόγηση των αιτήσεων, των πτυχίων και των πειραματικών ερωτηματολογίων.

ΕΠΙΧΕΙΡΗΣΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ

Το παρόν έγγραφο περιγράφει τις διαδικασίες και τα κριτήρια για την επιλογή των υποψηφίων για την πρόσληψη προσωπικού. Η επιλογή θα βασιστεί στην αξιολόγηση των αιτήσεων, των πτυχίων και των πειραματικών ερωτηματολογίων.



A. ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΑΝΟΣΟΛΟΓΙΑΣ

Το Ανοσοποιητικό Σύστημα αποτελείται από κύτταρα και μόρια με ειδική δράση κατά των λοιμώξεων. Η αντίδραση κατά ενός μικροοργανισμού περιλαμβάνει δύο μέρη, πολύ διαφορετικά μεταξύ τους :

- A. την φυσική ανοσία , που είναι πάντα η ίδια ανεξάρτητα με το πόσες φορές έχει εισβάλει ο λοιμογόνος παράγοντας, και
- B. την ειδική ανοσία η οποία βελτιώνεται μετά από επανειλημμένες εκθέσεις στην λοίμωξη(Delves,Roit,2000)

ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΑΜΥΝΑΣ

1. Η Φυσική Ανοσία (ή μη ειδική, ή χαμηλής ειδικότητας)

Υπεύθυνα για την Φυσική Ανοσία είναι μια ποικιλία κυττάρων και μορίων, η παρουσία των οποίων είναι απαραίτητη για τη ζωή. Τα κύρια κύτταρα είναι:

- Μακροφάγα
- Πολυμορφοπύρρηνα ουδετερόφιλα
- Κύτταρα φυσικοί φονείς(NK cells)
- Μαστοκύτταρα
- Ηωσινόφιλα
- Βασεόφιλα

Τα μακροφάγα μαζί με τα ουδετερόφιλα πολυμορφοπύρρηνα αναγνωρίζουν και απομακρύνουν ξένο ή επιβλαβές υλικό μέσω μιας διαδικασίας που ονομάζεται φαγοκυττάρωση. Επιπλέον τα κύτταρα αυτά εκκρίνουν μια ποικιλία μορίων όπως αντιοικικές ιντερφερόνες , την αντιβακτηριδιακή λυσοζύμη και άλλες ουσίες που οδηγούν το ήπαρ να απελευθερώσει τις πρωτεΐνες οξείας φάσεως.

Τα μακροφάγα μαζί με τα ηπατικά κύτταρα οδηγούν στην ενεργοποίηση των πρωτεϊνών του συμπληρώματος, το οποίο με πολλούς τρόπους εξουδετερώνει τα βακτηρίδια. Οι πρωτεΐνες του συμπληρώματος μαζί με τα μαστοκύτταρα αλληλεπιδρούν και αυξάνουν την ροή του αίματος και την αγγειακή διαβατότητα και έτσι εμφανίζονται τα σημεία της φλεγμονής.

Τα κύτταρα φυσικοί φονείς (natural killer cells) που αποτελούν μέρος της πρώιμης αντίδρασης στους ιούς θεωρείται πως ανήκουν στο σύστημα της φυσικής ανοσίας γιατί εμφανίζουν τα ίδια χαρακτηριστικά της γρήγορης απάντησης και της μικρής ειδικότητας. Στην κατηγορία των κυττάρων φυσικής ανοσίας περιλαμβάνονται ακόμη τα ηωσινόφιλα, τα βασεόφιλα και τα μαστοκύτταρα.

Η φλεγμονώδης απάντηση έχει ως στόχο να προσελκύσει τα απαραίτητα κύτταρα και μόρια μέσω της αιματικής ροής. Οι πρωτεΐνες οξείας φάσης θα περιορίσουν την βλάβη και τις τοξίνες.

2. Η Ειδική Ανοσία

Το σύστημα της ειδικής ανοσίας χαρακτηρίζεται από ειδικότητα, ποικιλία, μνήμη και ικανότητα να αναγνωρίζει τα κύτταρα και τα μόρια του οργανισμού από τα ξένα μόρια. Στην ειδική ανοσία λαμβάνουν μέρος τα Β, Τ λεμφοκύτταρα και ειδικά μακροφάγα γνωστά ως αντιγονοπροσυναστικά κύτταρα (antigen presenting cells, APC). Τα κύτταρα αυτά επικοινωνούν μεταξύ τους με πρωτεΐνες που ονομάζονται κυτταροκίνες. Όταν το ανοσολογικό σύστημα αναγνωρίζει μια ουσία ως ξένη τότε ξεκινά μια πολύπλοκη διαδικασία που έχει ως αποτέλεσμα:

α. την παραγωγή ανοσοσφαιρινών ή αντισωμάτων (χυμική ανοσία) που ενώνονται με το αντιγόνο

β. την παραγωγή ειδικών κυττάρων που μπορούν να καταστρέψουν ξένα κύτταρα ή μεταλλαγμένα κύτταρα του ίδιου οργανισμού π.χ. καρκινικά, (κυτταρική ανοσία). Μερικά από τα κύτταρα που ανήκουν σε αυτή την κατηγορία, όπως τα T-λεμφοκύτταρα αναγνωρίζουν και καταστρέφουν μόνα τους το κύτταρο-στόχο, ενώ άλλα όπως τα B-λεμφοκύτταρα απελευθερώνουν μόρια που ονομάζονται αντισώματα τα οποία ενώνονται με τον στόχο και τον οδηγούν στην καταστροφή μέσω μηχανισμών της φυσικής ανοσίας όπως τα μακροφάγα, το συμπλήρωμα κ. λ. π. Τα γονίδια που κωδικοποιούν τα μόρια αναγνώρισης (αντισώματα) μπορούν να εμφανίσουν πολλές μεταλλάξεις και συνδυασμούς με ασυνήθιστη ταχύτητα. Έτσι ο οργανισμός μπορεί να προσαρμοστεί με τον καλύτερο τρόπο προς τις επαναλαμβανόμενες λοιμώξεις.

Η απάντηση της ειδικής ανοσίας χρειάζεται περισσότερο χρόνο από εκείνον της μη ειδικής, και μπορεί να πάρει μέρες ή ακόμη και εβδομάδες για να γίνει αποτελεσματική. Η βραδύτητα αυτή μπορεί να αποτελεί μειονέκτημα αλλά τα λεμφοκύτταρα που μετατρέπονται σε κύτταρα μνήμης επιτρέπουν την γρήγορη απάντηση στην λοίμωξη και έτσι η δευτερογενής ειδική ανοσία μπορεί να είναι το ίδιο γρήγορη με την φυσική ανοσία.. Τα χαρακτηριστικά γνωρίσματα της ειδικής ανοσίας είναι η ειδικότητα και η μνήμη που αναπτύσσονται με μηχανισμούς που περιλαμβάνουν τα λεμφοκύτταρα. Το ανοσολογικό σύστημα μπορεί να αναγνωρίσει μακρομόρια του οργανισμού και δεν αναπτύσσει ανοσολογική απάντηση εναντίον τους. Η κατάσταση αυτή ονομάζεται ανοσολογική ανοχή. Ο μηχανισμός της βασίζεται στη καταστροφή ή αποδιοργάνωση κυττάρων που θα μπορούσαν να στραφούν κατά του οργανισμού. Κατά την εμβρυική ανάπτυξη όταν ένα λεμφοκύτταρο συναντήσει μια ουσία με την οποία αντιδρά τότε είτε πεθαίνει (clonal deletion) ώστε να μην δημιουργηθεί κλώνος, είτε αποδιοργανώνεται (clonal anergy) ώστε να μην μπορεί να οδηγήσει σε ανοσολογική απάντηση. Ένα από τα μειονεκτήματα της ειδικής ανοσίας είναι πως η ισορροπία της μπορεί εύκολα να ανατραπεί και στραφεί κατά του ίδιου του οργανισμού. Έτσι εμφανίζονται τα διάφορα αυτοάνοσα νοσήματα.

Φαγοκυττάρωση

Είναι σημαντική στην αντιμετώπιση λοιμώξεων, χρειάζεται όμως την βοήθεια του συμπληρώματος και των αντισωμάτων για να είναι αποτελεσματική.

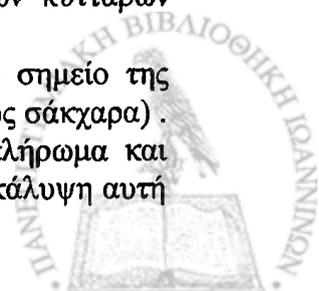
Τα σημαντικότερα φαγοκυτταρικά κύτταρα είναι :

A. Τα **μονοπύρρηνα μακροφάγα**, που παράγονται στον μυελό των οστών και κυκλοφορούν ως μονοπύρρηνα για 24 ώρες. Έπειτα εγκαθίστανται στους ιστούς ως μακροφάγα όπου μπορούν να ζήσουν για μήνες ή χρόνια.

B. Το **ουδετερόφιλο πολυμορφοπύρρηνο** που επίσης παράγεται στον μυελό των οστών και κυκλοφορεί για 4-5 ημέρες. Πηγαίνει στους ιστούς για να αντιμετωπίσει λοιμώξεις, ιδίως από βακτηρίδια και μύκητες.

Τα μακροφάγα βρίσκονται σχεδόν σε όλα τα όργανα, και ιδίως στο ήπαρ, τους πνεύμονες, τον σπλήνα και τον μυελό των οστών. Το ήπαρ περιέχει περίπου το 90% όλου του πληθυσμού των μακροφάγων με την μορφή των κυττάρων Kupffer που βρίσκονται στα κολποειδή.

Τα μακροφάγα και τα πολυμορφοπύρρηνα μετακινούνται προς το σημείο της βλάβης όπου αναγνωρίζουν μόρια πάνω στους οργανισμούς (συνήθως σάκχαρα). Οι μικροοργανισμοί μπορεί επίσης να είναι καλυμμένοι από συμπλήρωμα και αντισώματα για τα οποία υπάρχουν υποδοχείς στα φαγοκύτταρα. Η κάλυψη αυτή



των μικροβίων ονομάζεται οψωνοποίηση. Τα φαγοκύτταρα ενδοκυτταρώνουν τα ξένα κύτταρα και με τη βοήθεια λυσοσωμάτων που περιέχουν ελεύθερες ρίζες οξυγόνου και διάφορες τοξικές πρωτείνες, τα καταστρέφουν.

Συμπλήρωμα

Μαζί με τις πρωτείνες των συστημάτων πήξεως, ινοδύλωσης και κινίνης, οι πρωτείνες του συμπλήρωματος είναι οι πιο σημαντικές στην αντιμετώπιση της λοίμωξης. Το συμπλήρωμα περιλαμβάνει 20 πρωτείνες.

Το τρίτο στοιχείο του συμπλήρωματος (C3) είναι το κέντρο του συστήματος. Βρίσκεται στον ορό (1g/l) και η ενεργοποίηση του έχει έντονες συνέπειες. Οδηγεί στην οψωνοποίηση και την φαγοκυττάρωση των μικροοργανισμών, στην δημιουργία του μεμβρανικού συμπλέγματος(membrane attack complex) που οδηγεί στη λύση του κυττάρου, και προάγει την φλεγμονή έλκοντας και ενεργοποιώντας πολυμορφοπύρηνα και μαστοκύτταρα.

Η αντίδραση οξείας φάσης

Η λοίμωξη ή η βλάβη ενεργοποιεί διάφορους μηχανισμούς όπως αυτούς που ρυθμίζουν την θερμοκρασία, το ισοζύγιο αζώτου και τα επίπεδα διαφόρων πρωτεϊνών. Κάποιες από τις πρωτείνες αυτές μειώνονται όπως η αλβουμίνη, ενώ άλλες αυξάνονται σημαντικά και είναι γνωστές ως πρωτείνες οξείας φάσης, ενώ έχουν σαν στόχο τον περιορισμό της βλάβης (π.χ. αναστολείς πρωτεολυτικών ενζύμων, παράγοντες πήξης) ή την μείωση της βακτηριδιακής τοξικότητας. Στην τελευταία κατηγορία ανήκει η C αντιδρώσα πρωτεΐνη (CRP). Πρόκειται για πενταμερές μόριο που ενώνεται με τα φωσφολιπίδια των βακτηριδίων, ενεργοποιεί το συμπλήρωμα και προάγει την φαγοκυττάρωση.

Η σύνθεση των πρωτεϊνών οξείας φάσεως γίνεται στο ήπαρ μέσω της επίδρασης κυτταροκινών (IL-6) που παράγουν τα μακροφάγα. Πρωτείνες οξείας φάσεως είναι το ινωδογόνο, η α1-αντιθρυψίνη, το συμπλήρωμα, η απτοσφαιρίνη, η φερριτίνη, η CRP

Ιντερφερόνες(IFN)

Πρόκειται για ομάδα πρωτεϊνών που συντίθενται από διάφορα κύτταρα μετά την επίδραση ιογενών λοιμώξεων. Διακρίνονται σε ιντερφερόνες α, β, γ. Οι ιντερφερόνες α και β είναι παρόμοια μόρια και συντίθενται από τα μακροφάγα, ινοβλάστες νωρίς μετά από μια ιογενή λοίμωξη και θεωρούνται μέρος της φυσικής ανοσίας. Η IFN γ είναι δομικά διαφορετική, συντίθεται από τα T-λεμφοκύτταρα σαν μέρος της ειδικής ανοσίας και έχει και άλλες δράσεις εκτός από την αντι ιοική

Φλεγμονή

Σε όλο τον συνδετικό ιστό και κυρίως στο δέρμα, πνεύμονες και έντερο υπάρχουν μαστοκύτταρα, τα κοκκία των οποίων περιέχουν ισταμίνη και άλλα μόρια που δρουν στο τοίχωμα των αγγείων. Τα κύτταρα αυτά απελευθερώνοντας τα κοκκία τους μετά από οποιαδήποτε βλάβη (τραυματισμός, έγκαυμα, τοξίνες) βοηθούν στο να ξεκινήσει η οξεία φλεγμονώδης απάντηση. Έτσι αυξάνεται η αιματική ροή και ξεκινά η διαδικασία περιορισμού της βλάβης. Το συμπλήρωμα (C3q, C5a), διάφορα ένζυμα των πολυμορφοπυρήνων και ορισμένα αντισώματα επιδρούν στα μαστοκύτταρα έτσι ώστε να συμβάλουν και αυτά στη φυσική και ειδική ανοσία. Το ίδιο ισχύει και για τα βασεόφιλα του αίματος. Η εικόνα εγκαύματος ή φλεγμονής από σταφυλόκοκκο όπου το δέρμα είναι κόκκινο, θερμό

και επώδυνο είναι τυπικό παράδειγμα φλεγμονής. Τα σημεία αυτά εμποδίζουν την επέκταση της βλάβης. Μερικές φορές βέβαια η παρουσία της φλεγμονώδους εξεργασίας γίνεται από μόνη της επικίνδυνη π.χ. όταν συμβαίνει σε περιορισμένη περιοχή όπως οι αεραγωγοί ή ο εγκέφαλος ή οδηγεί σε καταστροφή ιστών π.χ. ρήξη σκωληκοειδούς απόφυσης . Όταν για κάποιο λόγο η φλεγμονή διαρκεί μεγάλο χρονικό διάστημα τότε ανευρίσκονται παθολογοανατομικά ευρήματα.

ΛΕΜΦΙΚΑ ΟΡΓΑΝΑ

Διακρίνονται σε πρωτογενή και δευτερογενή.

Τα πρωτογενή λεμφικά όργανα είναι ο μυελός των οστών και ο θύμος, τα δευτερογενή ο σπλήνας, οι λεμφαδένες, οι πλάκες Peyer στο έντερο και ο δακτύλιος Waldayer (αμυγδαλές και αδenoειδείς εκβλαστήσεις). Στο έμβρυο πρωτογενές λεμφικό όργανο είναι το ήπαρ.

Τα δευτερογενή όργανα είναι οι λεμφαδένες, ο σπλήνας, οι αμυγδαλές, ο λεμφικός ιστός των βλενογόννων.

Η διάκριση αυτή υποδηλώνει δύο σημαντικά στάδια στη διαφοροποίηση των λεμφοκυττάρων: το στάδιο που δεν εξαρτάται από την παρουσία αντιγόνου και το αντιγονοεξαρτώμενο στάδιο. (Lee et al. 1999)

Τα πρωτογενή λεμφικά όργανα που προηγούνται στην οντογέννηση των δευτερογενών δημιουργούν το κατάλληλο περιβάλλον για την ανεξάρτητη αντιγόνου ανάπτυξη των λεμφοκυττάρων από τα ανώριμα προγονικά κύτταρα. Στο τέλος της διαδικασίας αυτής απελευθερώνονται ανοσοϊκανά λεμφοκύτταρα τα οποία μετακινούνται προς ειδικές περιοχές των δευτερογενών λεμφικών οργάνων. Εκεί βρίσκεται το κατάλληλο μικροπεριβάλλον που ελκύει τα λεμφοκύτταρα με ειδικότητα κατά συγκεκριμένων αντιγόνων, οδηγεί στην τελική λεμφοκυτταρική διαφοροποίηση και διανέμει τα αποτελεσματικά κύτταρα ή τα παράγωγα τους στον οργανισμό.

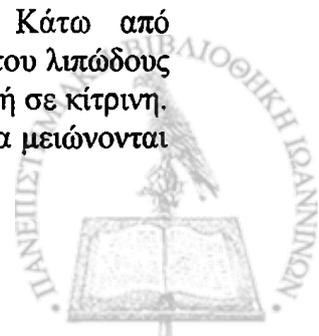
Πρωτογενή Λεμφικά Όργανα

Μυελός των Οστών (Μ.Ο.)

Είναι το κύριο αιμοποιητικό όργανο στον άνθρωπο και στηρίζει την διαφοροποίηση όλων των κυττάρων του αίματος , αν και σε μερικές περιπτώσεις η διαφοροποίηση δεν είναι πλήρης όπως για τα T-λεμφοκύτταρα και τα μονοκύτταρα που φθάνουν στην τελική διαφοροποίηση εκτός Μ.Ο.

Αποτελείται ιστολογικά από δύο τμήματα : ένα εξωαγγειακό (όπου γίνεται η αιμοποίηση) και ένα αγγειακό από ευρεία φλεβικά τμήματα γνωστά ως κολποειδή. Τα αγγεία αυτά τροφοδοτούνται με αίμα από την τροφοφόρο αρτηρία και το περισοτικό δίκτυο τριχοειδών. Τα κολποειδή είναι ακτινωτά τοποθετημένα και τελικά καταλήγουν σε μεγαλύτερα , κεντρικώς τοποθετημένα κολποειδή τα οποία εξέρχονται από το ίδιο τμήμα των τροφοφόρων αγγείων. Το τοίχωμα των κολποειδών αποτελείται από ενδοθηλιακή στοιβάδα, βασική μεμβράνη και έξω χιτώνα (adventitia).

Τα κύτταρα του έξω χιτώνα διαθέτουν προσεκβολές που δημιουργούν δίκτυο, τα κενά του οποίου καταλαμβάνονται από αιμοποιητικά κύτταρα. Κάτω από συγκεκριμένες συνθήκες τα κύτταρα αυτά διογκώνονται λόγω αύξησης του λιπώδους ιστού και η μακροσκοπική εμφάνιση του Μ.Ο. μετατρέπεται από ερυθρή σε κίτρινη. Σε καταστάσεις αυξημένων απαιτήσεων αιμοποίησης τα λιπώδη κύτταρα μειώνονται σε μέγεθος, επιτρέποντας την επέκταση του αιμοποιητικού ιστού.



Ο αιμοποιητικός ιστός έχει συγκεκριμένη τοποθέτηση των αιμοποιητικών κυττάρων Έτσι τα μεγακαρουκύτταρα βρίσκονται κοντά στα κύτταρα του έξω χιτώνα και οδηγούν τα αιμοπετάλια απ ευθείας στα κολποειδή. Τα ερυθροκύτταρα παράγονται κοντά στα κολποειδή δημιουργώντας ερυθροβλαστικές νησίδες, ενώ η κοκκιοποίηση εντοπίζεται σε απόσταση από τον τοίχο των κολποειδών με διάχυτο τρόπο ή μερικές φορές σε διακριτές νησίδες.

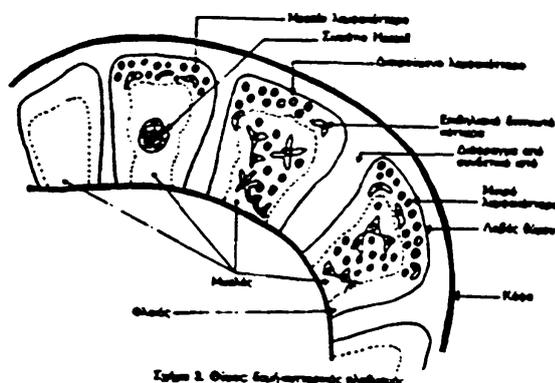
Οι ενδείξεις που υπάρχουν από τις τεχνικές σήμανσης είναι πως τα λεμφοκύτταρα δημιουργούνται προς τη περιφέρεια του Μ.Ο. και μετακινούνται προς το κέντρο. Τα Β-λεμφοκύτταρα αποκτούν την μεμβρανική ανοσοσφαιρίνη(Ig) στον εξωαγγειακό χώρο και δεν αποθηκεύονται στον Μ.Ο. παρά για σύντομο χρονικό διάστημα πριν την απελευθέρωση τους στην κυκλοφορία . Λεμφικά οξίδια δεν διακρίνονται στον φυσιολογικό Μ.Ο. Ανώριμα κύτταρα φυσιολογικά δεν απελευθερώνονται στο αίμα άρα η έξοδος των κυττάρων από το εξωαγγειακό τμήμα είναι εκλεκτική.

Ο Μ.Ο. μοιάζει με τον ερυθρό πολφό του σπλήνα , διαφέρει στο ότι η κυκλοφορία στον Μ.Ο. είναι κλειστή(Gardner et al,2001)

Θύμος

Πρόκειται για λεμφοεπιθηλιακό όργανο που βρίσκεται στο πρόσθιο μεσοθωράκιο . Αποτελείται από δύο λοβούς που χωρίζονται σε λοβίδια και αποτελούν την βασική ανατομική μονάδα του θύμου. Ο θύμος καλύπτεται από ινώδη κάψα από την οποία ινώδεις ταινίες (trabaculae) διαπερνούν το παρέγχυμα δημιουργώντας λοβίδια .Τα λοβίδια έχουν δύο διαφορετικές περιοχές : την περιφερική περιοχή (φλοιός)(που διαιρείται στον εξωτερικό ή υποκάψιο φλοιό και τον εσωτερικό φλοιό)και την κεντρική περιοχή (μυελός). Σε χρώσεις αιματοξυλίνης – ηωσίνης ο φλοιός βάφεται σκούρος μπλέ ως ιώδης λόγω των λεμφοκυττάρων (80-85%), ενώ ο μυελός φαίνεται ηωσινόφιλος λόγω των επιθηλιακών κυττάρων.

30 Μ.Ι. Χατζηγεωργίου: Ιστοική Ανατομία



Σχίσμα 2. Θύμος επιθηλιακών κυττάρων.

Ο ανατομικός διαχωρισμός αντιπροσωπεύει διαφορετικό λειτουργικά μικροπεριβάλλον. Ο υποκάψιος φλοιός περιέχει μεγάλους , διαιρούμενους βλάστες, ενώ ο έσω φλοιός αποτελείται κυρίως από μη διαιρούμενα μικρά λεμφοκύτταρα και ο μυελός περιέχει κυρίως μεσαιού μεγέθους θυμοκύτταρα..

Μη-λεμφικά κυτταρικά στοιχεία

1.Επιθηλιακά κύτταρα : εμφανίζουν μεγάλη ετερογένεια ίσως λόγω διαφορετικής προέλευσης. Στο φλοιό τα επιθηλιακά κύτταρα έχουν κυτταροπλασματικές προεκβολές έως 25μm και ονομάζονται δενδριτικά επιθηλιακά όργανα



Χαρακτηριστικό τους γνώρισμα είναι η παρουσία τονοϊνιδίων και δεσμοσωμάτων, που ρυθμίζουν την θυμική τους διαφοροποίηση μέσω κυτταρικών αλληλεπιδράσεων στην επιφάνεια τους. Η αλληλεπίδραση μεταξύ των θυμοκυττάρων και επιθηλιακών κυττάρων στον έξω φλοιό έχει ως αποτέλεσμα την δημιουργία λεμφοεπιθηλιακών συμπλεγμάτων με το όνομα nursing cells. Τα συμπλέγματα αυτά αποτελούνται από μεγάλα αθροίσματα λεμφοκυττάρων που περιβάλλονται από κυτταρική μεμβράνη και φαίνεται πως βρίσκονται στο κυτταρόπλασμα επιθηλιακών κυττάρων.

Στον μυελό τα επιθηλιακά κύτταρα δεν έχουν προσεκβολές και ονομάζονται epithelioid ή spatulate (σπαθοειδή) επιθηλιακά κύτταρα, περιέχουν κοκκία και προφανώς έχουν εκκριτική λειτουργία. Άλλη ποικιλία επιθηλιακών κυττάρων που λέγονται squamoid (λεπιδοειδή) βρίσκονται αποκλειστικά στον μυελό και πιθανώς δημιουργούν τα σωματία Hassal.

Τα σωματία Hassal είναι συμπαγή ή κυστικά και η προέλευση τους αποτελεί αντικείμενο διαφωνιών όπως και η λειτουργία τους. Μερικοί θεωρούν ότι τα σωματία Hassal αποτελούν συσσωματώματα νεκρών λεμφοκυττάρων ή εναπομείνοντα τμήματα επιθηλιακών κυττάρων των μυελικών αδένων.

2.Μακροφάγα : βρίσκονται σε όλο τον θύμο. Οδηγούν τα θυμοκύτταρα σε ωρίμανση. Απομακρύνουν θυμοκύτταρα που πεθαίνουν στον θύμο.

3.Interdigitating Dendritic Cells : βρίσκονται στον μυελό του θύμου και προέρχονται από τον μυελό των οστών. Ανήκουν στην οικογένεια των interdigitating dendritic cells που βρίσκονται στην T-εξαρτώμενη περιοχή των περιφερικών λεμφικών οργάνων.

4.Μυοειδή κύτταρα: υπάρχουν στον εμβρυικό θύμο αλλά η παρουσία τους μετέπειτα αμφισβητείται. Ίσως προέρχονται από μεσεγχοματικά ή επιθηλιακά κύτταρα.

Λεμφικά κύτταρα.

Αποτελούν το 80-85% των κυττάρων του φλοιού και 15% των κυττάρων του μυελού του θύμου. Στον έξω φλοιό τα λεμφοκύτταρα είναι μεγάλα βλαστικά κύτταρα με έντονο μπλέ κυτταρόπλασμα που πολλαπλασιάζονται έντονα. Προέρχονται από τα προθυμοκύτταρα του Μ.Ο. που μεταναστεύουν στον υποκάψιο φλοιό. Καθώς ωριμάζουν μετακινούνται προς τον εν τω βάθει φλοιό που περιέχει μικρά μη-διαιρούμενα λεμφοκύτταρα. Τα θυμοκύτταρα του μυελού είναι μεσαίου μεγέθους και θεωρούνται μεταναστευτικά κύτταρα.

Αγγείωση του Θύμου

Αρχικά η θυμική καταβολή του οργάνου στο έμβρυο είναι ανάγγεια. Τα αγγεία διαπναιώνουν τον θύμο στις 12-14 εβδομάδες της κύησης. Οι θυμικές αρτηρίες αποτελούν κλάδους της κατώτερης θυρεοειδικής, της έσω μαστικής και της περικαρδιοφρενικής, εισέρχονται στον θύμο από τους γύρω ιστούς, πηγαίνουν στον μυελό και διακλαδίζονται σε αρτηριόλια, που διεισδύουν στον εν τω βάθει φλοιό. Τριχοειδή από αρτηριόλια διατρέχουν τον υποκάψιο φλοιό, δημιουργούν αναστομώσεις και επιστρέφουν στον φλοιό, όπου δημιουργούν φλεβίδια..

Η διάταξη αυτή πιθανώς εξυπηρετεί τον μηχανισμό ανταλλαγής, για να μειωθεί η συγκέντρωση των ουσιών, που βρίσκονται στα απαγωγά τριχοειδή. Τα αγγεία επικαλύπτονται από επιθηλιακά κύτταρα και συνδετικό ιστό που βρίσκεται σε συνέχεια με την κάψα. Μια σειρά από στρώματα διακρίνονται από τον αυλό των αγγείων από μέσα προς τα έξω: ενδοθήλιο, αγγειακή βασική μεμβράνη, μεσεγχοματικό περιαγγειακό διάστημα (ίνες κολλαγόνου, ινοβλάστες, μακροφάγα), επιθηλιακή βασική μεμβράνη, επιθηλιακό κυτταρικό συγκύτιο. Τα στρώματα αυτά αποτελούν το φραγμό αίματος -θύμου.



Από την εφηβεία ξεκινά σταδιακή ατροφία του θύμου που χαρακτηρίζεται από απώλεια φλοιικών λεμφοκυττάρων και ατροφία επιθηλιακών κυττάρων και αντικατάσταση από λίπος που προέρχεται από μεσεγχυματικά κύτταρα που βρίσκονται στον συνδετικό ιστό περιαγγειακά και στην κάψα. Στην ηλικία 40-45 ετών έχει αντικατασταθεί περισσότερο από 50% του θύμου από λιπώδη ιστό που βρίσκεται όμως στο εξωπαρεγχυματικό διαμέρισμα που διαχωρίζεται από το λεμφοεπιθηλιακό σύστημα. Ο ρυθμός της ατροφίας επηρεάζεται από το stress και άλλους παράγοντες.

Σε αντίθεση με την χρόνια ατροφία ως αποτέλεσμα της ηλικίας, ο θύμος μπορεί να ατροφήσει οξείως ως αποτέλεσμα stress. Ενέσεις γλυκοκορτικοειδών μπορούν να εξαφανίσουν έως 75% των θυμοκυττάρων εντός 2-3 ημερών. Τα θυμοκύτταρα του φλοιού είναι ευαίσθητα στην κορτιζόνη ενώ εκείνα του μυελού είναι ανθεκτικά..

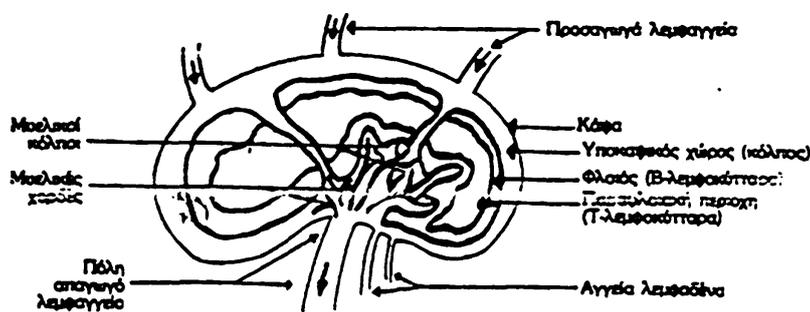
Δευτερογενή Λεμφικά Όργανα

Λεμφαδένες

Οι λεμφαδένες αποτελούν όργανα με οβάλ σχήμα και μέγεθος από λίγα mm έως ένα 1 cm. Βρίσκονται στις βάσεις των άκρων, στο μεσοθωράκιο, οπισθοπεριτοναϊκά και κατά μήκος των αγγείων. Περιβάλλονται από ινώδη κάψα από την οποία δοκίδες διατιτράινουν το παρέγχυμα και δημιουργούν ένα υποστηρικτικό ινώδες δίκτυο. Τα αγγεία εισέρχονται και εξέρχονται των λεμφαδένων από την πύλη.

Διακρίνονται δύο περιοχές: ο περιφερικός φλοιός και ο κεντρικός μυελός. Ο φλοιός υποδιαιρείται στον υποκάψιο φλοιό και τον εν τω βάθει φλοιό. Το υποστηρικτικό δίκτυο του λεμφαδένα αποτελείται από δοκίδες κολλαγόνου και λίγες ελαστικές ίνες. Δημιουργείται έτσι ένα δίκτυο σαν σφουγγάρι με ίνες που αναστομώνονται και διακλαδίζονται. Το δίκτυο αυτό δεν προσφέρει μόνο υποστήριξη στα κολποειδή αλλά επιβραδύνει και τη ροή της λέμφου αυξάνοντας τις πιθανότητες φαγοκυττάρωσης από τα μακροφάγα που βρίσκονται στα κολποειδή.

Το δίκτυο διαιρεί τον λεμφαδένα σε δύο τμήματα: το ένα αποτελείται από συμβατικά αγγειακά κανάλια, τα κολποειδή που έχουν λίγα κύτταρα και ταχεία ροή και όπου διευκολύνεται η λεμφική κυκλοφορία. Το άλλο τμήμα μπορεί να θεωρηθεί ως αγγειακό τμήμα με ιδιαίτερα χαρακτηριστικά, επικαλύπτεται από ινοβλάστες, περιέχει πολλά κύτταρα και έχει μειωμένη ροή. Σε αυτό το τμήμα δημιουργείται η ανοσολογική απάντηση μέσω κυτταρικών αλληλεπιδράσεων. Και τα δύο τμήματα επικοινωνούν μέσω πόρων με τον υποκάψιο κόλπο (Lee et al, 1999)



Σχήμα 4. Λεμφαδένα



Κυτταρικά τμήματα: Τα λεμφοκύτταρα είναι τα πιο άφθονα κύτταρα στους λεμφαδένες. Στο φλοιό τοποθετούνται σε ομάδες δημιουργώντας τα λεμφοζίδια (follicles). Όταν το λεμφοζίδιο αποτελείται από μικρά ομοιόμορφα λεμφοκύτταρα, τότε πρόκειται για πρωτογενές λεμφοζίδιο. Όταν περιέχει στο κέντρο του ωχρά, ελαφρά χρωματισμένα, βλαστοειδή κύτταρα με ευχρωματικό πυρήνα, τότε πρόκειται για δευτερογενές λεμφοζίδιο. Η κεντρική ζώνη του δευτερογενούς λεμφοζιδίου είναι το βλαστικό κέντρο (germinal center) και αποτελεί το χαρακτηριστικό της αντιγονικής διέγερσης. Στα δευτερογενή λεμφοζίδια τα κύτταρα που περιβάλλουν το βλαστικό κέντρο αποτελούν το μανδύα (mantle –crescent)

Τα λεμφοκύτταρα μεταξύ των λεμφοζιδίων είναι κατανεμημένα διάχυτα. Η περιοχή που διαχωρίζει τον φλοιό από τον μυελό είναι ο εν τω βάθει φλοιός ή παραφλοιός και περιέχει στενά «πακεταρισμένα» λεμφοκύτταρα..

Η ιστολογική κατανομή των λεμφοκυττάρων στον λεμφαδένα αντιστοιχεί σε διαφορετικές λειτουργίες από διαφορετικές τάξεις λεμφοκυττάρων: τα λεμφοζίδια καταλαμβάνονται από Β λεμφοκύτταρα και αντιπροσωπεύουν σημεία έντονης δραστηριότητας κατά τη χυμική ανοσολογική απάντηση (δημιουργία αντισωμάτων). Στο βλαστικό κέντρο υπάρχουν δύο είδη λεμφοκυττάρων: οι κεντροβλάστες (χωρίς εντομή, noncleaved), που είναι μεγάλα και ενεργοποιημένα Β κύτταρα και τα κεντροκύτταρα (με εντομή, cleaved) που είναι μικρά και προέρχονται από τους κεντροβλάστες.

Οι κεντροβλάστες βρίσκονται στο κάτω άκρο του βλαστικού κέντρου (dark zone) και τα κεντροκύτταρα στο άνω άκρο (light zone).

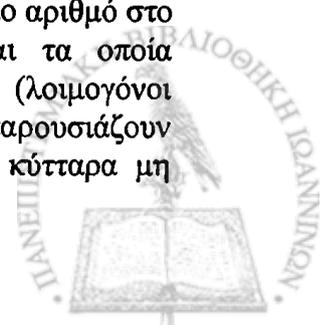
Στο βλαστικό κέντρο υπάρχει υποπληθυσμός Τ-κυττάρων που είναι CD4+, CD45RO+, CD57+ και ανήκουν στην TH2 υπομάδα. Αυτά τα Τ-κύτταρα είναι σημαντικά για να ξεκινήσει η αλληλεπίδραση μεταξύ Τ και Β λεμφοκυττάρων για τη δημιουργία αντισωμάτων. Ένας μεγάλος αριθμός Β-λεμφοκυττάρων που δεν επιλέγονται για σύνθεση αντισωμάτων (ή δημιουργία κυττάρων μνήμης) αποπίπτουν και απομακρύνονται από μακροφάγα γνωστά ως tingible body macrophages.

Στο μανδύα του λεμφοζιδίου τα μικρά λεμφοκύτταρα δείχνουν μορφολογικά όμοια, όμως λειτουργικά και φαινοτυπικά διαφέρουν. Ένας μικρός αριθμός είναι μικρά λεμφοκύτταρα μη αντιγονικά διεγερμένα που προέρχονται από τον μυελό των οστών, είναι ανοσοϊκανά και εκφράζουν IgM ή IgA ανοσοσφαιρίνες. Μερικά από τα Β λεμφοκύτταρα του μανδύα εκφράζουν το αντιγόνο CD5.

Ο εν τω βάθει φλοιός ή παραφλοιός αποτελείται από Τ-κύτταρα που υφίστανται αλλαγές κατά την κυτταρική ανοσία. Στον παραφλοιό δημιουργούνται μερικές φορές οζίδια από δενδριτικά (interdigitating dendritic cells) και Τ-κύτταρα.

Στον μυελό τα κύτταρα είναι τοποθετημένα σε δοκίδες (medullary cords) και αποτελούνται από λεμφοκύτταρα, μακροφάγα και πλασματοκύτταρα.

Η λειτουργία των λεμφοκυττάρων καθορίζεται από τις αλληλεπιδράσεις με άλλα κύτταρα. Κυρίαρχη θέση έχουν τα μακροφάγα, που βρίσκονται σε μεγάλο αριθμό στο τοίχωμα των κολλοειδών και στις πυκνές λεμφικές περιοχές και τα οποία φαγοκυτταρώνουν και απομακρύνουν γρήγορα ξένα σώματα (λοιμογόνοι παράγοντες). Τα μακροφάγα επιπλέον επεξεργάζονται αντιγόνα και τα παρουσιάζουν στα Τ-λεμφοκύτταρα. Η αντιγονοπαρουσίαση γίνεται και από άλλα κύτταρα μη φαγοκυτταρικά που ονομάζονται δενδριτικά ή D κύτταρα.



Τα follicular dendritic cells (FDC) βρίσκονται στα λεμφοζύδια, έχουν πυρήνα με ανώμαλο σχήμα και μακριές κυτταροπλασματικές προσεκβολές (δενδρίτες). Δεν φαγοκυτταρώνουν και κατακρατούν τα αντιγόνα για μεγάλο χρονικό διάστημα. Είναι κύτταρα αντιγονοπαρουσιαστικά και πιθανώς οδηγούν τα Β κύτταρα στα λεμφοζύδια. Λαμβάνουν επίσης μέρος στην δημιουργία λεμφοκυττάρων -μήμης και την διατήρηση παραγωγής αντισωμάτων. Έχουν περιγραφεί 2 τύπου FDC ένας με filiform (νηματοειδή) και ένας με beaded (κομβολογοειδείς) δενδρίτες. Τα FDC αλληλεπιδρούν με τα Β-λεμφοκύτταρα μέσω προσκολλητικών μορίων όπως το ICAM-1 (CD11a/ CD54) ,καί VCAM (CD106) που αλληλεπιδρούν με τους ligands (συνδέτες) LFA-1 (CD11a/CD18 ή α2β2 integrin) και VLA-4 στην επιφάνεια των Β-λεμφοκυττάρων. Το δίκτυο των FDC μπορεί να διαταραχθεί στην αγγειοβλαστική λεμφαδενοπάθεια, στο AIDS και στη νόσο του Hodgkin.

Ένα άλλο κύτταρο του στρώματος που ανήκει στα D κύτταρα είναι το interdigitating dendritic cell (IDC). Βρίσκεται στον παραφλοιό και εκτείνει πολλές κυτταροπλασματικές προσεκβολές που περιβάλλουν τα Τ-κύτταρα. Δεν φαγοκυτταρώνει και ίσως είναι υπεύθυνο για την εντόπιση του Τ-κυττάρου στον παραφλοιό των λεμφαδένων. Με το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο έχουν αναδειχθεί στενές συνδέσεις ανάμεσα στα IDC και τα Τ-κύτταρα που γίνονται ακόμη πιο εμφανείς μετά την αντιγονική διέγερση που προκαλεί έντονη κυτταρική ανοσία. Τα IDC είναι S100+ και CD1a+ . Τα παραφλοιώδη Τ-οζύδια αποτελούνται από Τ-κύτταρα (κυρίως CD4+) , μεγάλο αριθμό IDC και ενδοθηλιακά φλεβίδια. Είναι σημαντικά στη δημιουργία Τ-κυττάρων ειδικών για συγκεκριμένα αντιγόνα. Τα Τ-οζύδια βρίσκονται δίπλα από τα Β-οζύδια δημιουργώντας τα ' σύνθετα οζύδια ' .

Εμφανή Τ-οζύδια ανιχνεύονται στην δερματοπαθητική λεμφαδενοπάθεια στην οποία μεγάλος αριθμός κυττάρων Langerhans μεταναστεύουν από τις περιοχές του δέρματος που φλεγμαίνει. Παρόμοιες αλλαγές παρατηρούνται στους λεμφαδένες που αποχετεύουν περιοχές Τ-λεμφομάτων του δέρματος.

ΑΓΓΕΙΩΣΗ

1.Λεμφαγγεία : τα προσαγωγά λεμφαγγεία διαπντράινουν την κάψα και αποχετεύουν τη λέμφο στον υποκάψιο κόλπο. Τα φλοιώδη κολποειδή ξεκινάνε από τον υποκάψιο κόλπο ,οδεύουν κατά μήκος των δοκίδων και φθάνουν στον μυελό όπου γίνονται μυελικά κολποειδή. Τελικά τα κολποειδή δημιουργούν τα απαγωγά λεμφαγγεία που εξέρχονται από την πύλη του λεμφαδένα.

2.Αγγεία : η αρτηρία εισέρχεται στον λεμφαδένα από την πύλη δημιουργώντας αρτηριόλια τα οποία φθάνουν στον φλοιό και δημιουργούν τριχοειδή. Τα τριχοειδή καταλήγουν στα φλεβίδια (venules) που εκτείνονται από τον φλοιό στον μυελό και εξέρχονται από την πύλη ως φλέβες. Τα φλεβίδια που συνδέονται άμεσα με τα τριχοειδή διαθέτουν χαρακτηριστικά ενδοθηλιακά κύτταρα , ψηλά και τετράγωνα.. Τα φλεβίδια αυτά (High endothelial venules, HEV) είναι τα σημεία όπου τα λεμφοκύτταρα μεταναστεύουν από την κυκλοφορία στην λεμφικά κυκλοφορία.

Τα υψηλά ενδοθηλιακά κύτταρα έχουν άφθονο κυτταρόπλασμα και η ενδοαυλική τους επιφάνεια επικαλύπτεται από στρώμα αποτελούμενο από ινώδες και κοκκιώδες υλικό. Το στρώμα ενδεχομένως να στέλνει μηνύματα στα λεμφοκύτταρα να διασχίσουν το ενδοθήλιο. Το ύψος του ενδοθηλίου και η μεταβολική του δραστηριότητα επηρεάζεται από τον αριθμό των κυκλοφορούντων Τ-λεμφοκυττάρων . Τα λεμφοκύτταρα μεταναστεύουν διαμέσου του HEV.

ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΚΕΣ ΑΛΛΑΓΕΣ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΑΝΟΣΟΛΟΓΙΚΗ ΑΠΑΝΤΗΣΗ

Μέσω των προσαγωγών λεμφαγγείων τα αντιγόνα εισέρχονται στον υποκάψιο κόλπο και καταλήγουν σε δύο περιοχές των λεμφαδένων στον μυελό , εντός των μακροφάγων και στον φλοιό στην μεμβράνη των FDC .Κατά την χυμική απάντηση

έντονη αυξητική δραστηριότητα παρατηρείται στο κέντρο του βλαστικού κέντρου 1-2 ημέρες μετά την ανοσοποίηση. Στις 72 ώρες μεγάλα κύτταρα παρατηρούνται στο βλαστικό κέντρο. Τα κύτταρα αυτά έχουν διάφορα ονόματα αλλά για να αποφευχθεί η σύγχυση ονομάζονται κεντροβλάστες. Καθώς το ενδοπλασματικό τους δίκτυο αυξάνεται τα κύτταρα ονομάζονται πλασμαβλάστες. Την πέμπτη μέρα παρατηρείται αύξηση των tingible body macrophages που δίνουν στο λεμφοζίδιο την εικόνα

« έναστρου ουρανού». Πρόκειται για μακροφάγα που έχουν φαγοκυτταρώσει πυρηνικά υπολείμματα λεμφοκυττάρων και πλασματοκυττάρων. Οι ανοσοβλάστες (ή κεντροβλάστες) λόγω του έντονα βασεόφιλου κυτταροπλάσματος καθορίζουν μια ιστολογική περιοχή γνωστή ως dark zone και καθώς ωριμάζουν (ανοσοκύτταρα ή κεντροκύτταρα) καταλαμβάνουν την light zone. Στο λεμφοζίδιο υπάρχει μικρός αριθμός πλασματοκυττάρων.

Τα βλαστικά κέντρα είναι ο τόπος παραγωγής πλασματοκυττάρων και κυττάρων μνήμης. Όταν τα αντιγόνα προκαλούν κυρίως κυτταρική ανοσία η δραστηριότητα εντοπίζεται στον παραφλοιό που είναι περιοχή T-λεμφοκυττάρων.

ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ: Οι λεμφαδένες λειτουργούν ως φίλτρο μέσω του δικτύου και των κολλοειδών που διαθέτουν φαγοκύτταρα (μακροφάγα). Εάν η λειτουργία ως φίλτρου αποτύχει να ελέγξει την φλεγμονή ο λεμφαδένας γίνεται εστία μετάδοσης της λοίμωξης.

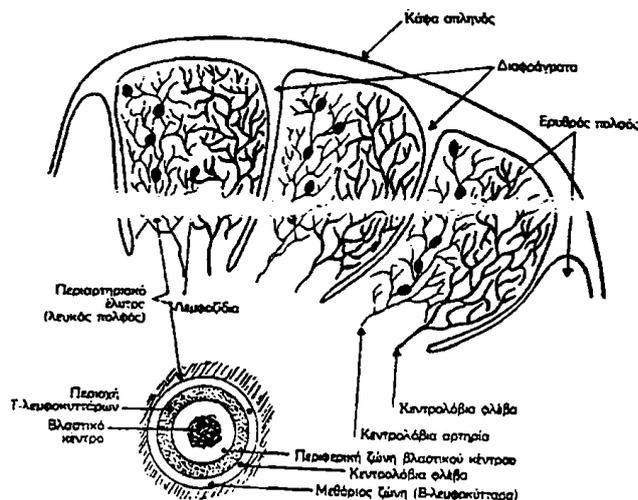
Οι λεμφαδένες αποτελούν επίσης σημεία σημαντικών ανοσολογικών λειτουργιών που βασίζονται σε σημαντικές αλληλεπιδράσεις ανάμεσα στα λεμφοκύτταρα και τα άλλα κύτταρα. Είναι σημείο παραγωγής αντισωμάτων και T-κυτταρικής ανοσίας. Και οι δύο απαντήσεις μεταφέρονται από τον λεμφαδένα σε απομακρυσμένες περιοχές για να ελεγχθεί η λοίμωξη ή άλλη βλάβη (Gardner et al, 2001)

ΣΠΛΗΝΑΣ

Ο σπλήνας, το μεγαλύτερο λεμφικό όργανο, βρίσκεται κάτω από τα αριστερά ημιδιάφραγμα μπροστά από τον αριστερό νεφρό και σε θέση που αντιστοιχεί εξωτερικά στην 9^η, 10^η και 11^η πλευρά.

Το βάρος του είναι 150-200 γραμμάρια και οι διαστάσεις του φθάνουν το μήκος του τα 12 εκατοστά, το πλάτος του τα 7, και το πάχος 3-4 εκατοστά. Περιβάλλεται από ινοελαστική κάψα και εξωτερικά από το σπλαχνικό περιτοναίο.

Η διαφραγματική (έξω) επιφάνεια του σπλήνα έρχεται σε επαφή με το διάφραγμα, ενώ η σπλαγχνική (έσω) επιφάνεια υποδιαιρείται σε δύο μικρότερες, τη πρόσθια ή γαστρική και στην οπίσθια ή νεφρική. Στην γαστρική επιφάνεια βρίσκεται η πύλη του σπλήνα, δηλαδή το σημείο στο οποίο εισέρχονται τα αγγεία και τα νεύρα του οργάνου.



Σχίμα 6. Σπλην



Δομή και λειτουργία του σπλήνα

Η λειτουργία του σπλήνα δεν περιλαμβάνει μόνο τη δημιουργία αντισωμάτων και τον πολλαπλασιασμό των T και B λεμφοκυττάρων αλλά αποτελεί και 'φίλτρο' του αίματος κατακρατώντας γηρασμένα ερυθρά.

Στην εμβρυική ζωή αποτελεί αιμοποιητικό όργανο, λειτουργία που μπορεί να ξαναεμφανίσει στους ενήλικες κάτω από ορισμένες συνθήκες.

Οι ινώδεις ταινίες που ξεκινάνε από την κάψα οδηγούν τα αγγεία μέσα και έξω από το σπληνικό παρέγχυμα. Ιστολογικά πρόκειται για μια τρισδιάστατη δομή από δικτυωτές ίνες και δικτυωτά κύτταρα. Το μεσοδιάστημα του δικτύου καταλαμβάνεται από φλεβικά κολποειδή, δοκίδες με αγγεία και το σπληνικό παρέγχυμα. Σε τομές ο σπλήνας εμφανίζει γκρίζες περιοχές που περιβάλλονται από ερυθρές : οι πρώτες αντιστοιχούν στον λευκό πλφώ και οι δεύτερες στον ερυθρό.

Αγγειακή Δομή του σπλήνα

Η σπληνική αρτηρία διακλαδίζεται μετά την είσοδο της από την πύλη του σπληνός. Κλάδοι αυτών των αγγείων, οι ακτινωτές αρτηρίες οδηγούνται μέσα στο σπλήνα, μέσω των ινώδων δοκίδων που συνεχώς μικραίνουν σε μέγεθος. Όταν οι αρτηρίες έχουν μέγεθος μικρότερο από 0.2mm τότε δεν περιβάλλονται από ινώδεις δοκίδες. Ο έξω χιτώνας αυτών των αγγείων γίνεται πιο χαλαρής υφής και διηθείται από λεμφοκύτταρα, την περιαρτηριακή λεμφική θήκη (periarterial lymphatic sheath, PALS). Επειδή το αγγείο βρίσκεται στο κέντρο του PALS ονομάζεται κεντρική αρτηρία. Στο τελικό άκρο της κεντρικής αρτηρίας δεν υπάρχει λεμφοκυτταρικό περιβλημα και η αρτηρία διακλαδίζεται σε πολλούς μικρούς παράλληλους κλάδους γνωστούς ως θυσανοφόρες αρτηρίες που εισέρχονται στον ερυθρό πλφώ. Οι θυσανοφόρες αρτηρίες έχουν τρεις περιοχές : 1. το αρτηριόλιο του πλφού, 2. το ελυτροφόρο αρτηριόλιο (παχυσμένη περιοχή που περιβάλλεται από μακροφάγα), 3. το τελικό αρτηριακό τριχοειδές.

Αν και είναι γνωστό πως τα τελικά αρτηριακά τριχοειδή διοχετεύουν το αίμα στα σπληνικά κολποειδή, ο τρόπος δεν είναι επαρκώς διευκρινισμένος και υπάρχουν τρεις θεωρίες για την κυκλοφορία στο σπλήνα :

1. κλειστή κυκλοφορία, 2. ανοιχτή κυκλοφορία, 3. συνδυασμός.

Σύμφωνα με τη θεωρία της κλειστής κυκλοφορίας το ενδοθήλιο των τελικών αρτηριακών τριχοειδών συνεχεται με το ενδοθήλιο του φλεβικού κόλπου. Κατά τη θεωρία της ανοιχτής κυκλοφορίας τα τελικά αρτηριακά τριχοειδή σταματάνε πριν φθάσουν τα φλεβικά τριχοειδή και το αίμα διηθείται μέσω του ερυθρού πλφού στα κολποειδή. Άλλοι ερευνητές πιστεύουν πως μερικά αγγεία συνδέονται με τα κολποειδή, ενώ άλλα καταλήγουν ανοιχτά στον ερυθρό πλφώ, υποδηλώνοντας έτσι πως υπάρχει συνδυασμός ανοιχτού και κλειστού συστήματος κυκλοφορίας. Τα σπληνικά κολποειδή οδηγούν σε μικρές φλέβες του πλφού που αποτελούν κλάδους μεγαλύτερων φλεβών που οδηγούν τελικά στη σπληνική φλέβα.

Λευκός Πλφός και Οριακή Ζώνη

Η δομή του λευκού πλφού είναι στενά συνδεδεμένη με την κεντρική αρτηρία. Η κεντρική αρτηρία περιβάλλεται από PALS που αποτελούνται από T λεμφοκύτταρα. Συχνά εντός των PALS βρίσκονται λεμφοζίδια που αποτελούνται από B λεμφοκύτταρα. Εντός του λεμφοζιδίου μπορεί να υπάρχει βλαστικό κέντρο (αντιγονική διέγερση). Τα PALS και τα λεμφοζίδια αποτελούν τον λευκό πλφώ.

Ο λευκός πλφός περιβάλλεται από την οριακή ζώνη (marginal zone) που είναι 100μm σε πλάτος και διαχωρίζει τον ερυθρό από τον λευκό πλφώ. Αποτελείται από πλασματοκύτταρα, T και B λεμφοκύτταρα, μακροφάγα και interdigitating dendritic cells (αντιγονοπαρουσιαστικά). Πολλά μικρά αγγειακά κανάλια (marginal sinuses) βρίσκονται στην οριακή ζώνη, ιδίως γύρω από λεμφοζίδια. Λεπτά αγγεία που

προέρχονται από τα κεντρικά αρτηριόλια, περνούν τον ερυθρό πολφό και οδηγούν το αίμα στα κανάλια. Επειδή τα διαστήματα ανάμεσα στα επιθηλιακά κύτταρα αυτών των κολποειδών μπορεί να είναι ως 2-3 μm, στο σημείο αυτό κύτταρα, αντιγόνα και οποιαδήποτε ουσία έχει την πρώτη επαφή με το παρέγχυμα του σπληνός. Έτσι συμβαίνουν στην οριακή ζώνη τα παρακάτω γεγονότα :

1. Τα αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα (APC) ελέγχουν το αίμα 'ψάχνοντας' για αντιγόνα .
2. Τα μακροφάγα στρέφονται κατά μικροοργανισμών που βρίσκονται στο αίμα
3. Τα Β και Τ λεμφοκύτταρα που βρίσκονται στην κυκλοφορία εισέρχονται στον λευκό πολφό.
4. Τα λεμφοκύτταρα έρχονται σε επαφή με τα interdigitating dendritic cells , εάν αναγνωρίσουν σύμπλεγμα επίτοπο -MHC τότε ξεκινούν την ανοσολογική απάντηση εντός του σπληνός.
5. Τα Β λεμφοκύτταρα αναγνωρίζουν και αντιδρούν σε αντιγόνα μη εξαρτώμενα από το θύμο (όπως πολυσακχαρίτες του βακτηριακού τοιχώματος)

Ερυθρός Πολφός

Μοιάζει στη δομή με ένα σφουγγάρι, δηλαδή τα κενά αποτελούν τα κολποειδή και το υλικό του σφουγγαριού αντιστοιχεί στις σπληνικές χορδές.

Το ενδοθήλιο των σπληνικών κολποειδών είναι ιδιαίτερο γιατί έχει ατρακτοειδή δομή και συχνά υπάρχουν κενά μεταξύ των κυττάρων . Τα κολποειδή περιβάλλονται από δικτυωτές ίνες που έχουν κατακόρυφη διάταξη προς τον επιμήκη άξονα του κολποειδούς και περιβάλλονται με τη σειρά τους από βασική μεμβράνη.

Οι σπληνικές χορδές αποτελούνται από χαλαρό δίκτυο ινών τα μεσοδιαστήματα των οποίων διαπερνώνται από εξαγγειωμένο αίμα . Οι δικτυώτες ίνες περικλείονται από αστεροειδή δικτυοκύτταρα που διαχωρίζουν τις ίνες κολλαγόνου τύπου III από το αίμα, αποτρέποντας την επαφή των αιμοπεταλίων με το κολλαγόνο (που αποτελεί την έναρξη της πήξης). Τα μακροφάγα είναι άφθονα στην περιοχή των κολποειδών

Ιστοφυσιολογία του σπλήνα

Όταν το αίμα εισέρχεται στα κολποειδή της οριακής ζώνης έρχεται σε επαφή με μια περιοχή πλούσια σε μακροφάγα.. Τα κύτταρα αυτά θα φαγοκυτταρώσουν αιματογενή αντιγόνα, βακτηρίδια και οποιαδήποτε ξένα ουσία. Οτιδήποτε δεν παγιδευτεί στην οριακή ζώνη θα απομακρυνθεί στον ερυθρό πολφό, στην περιφέρεια των σπληνικών κολποειδών.

Στον λευκό πολφό δημιουργούνται λεμφοκύτταρα ως απάντηση σε αντιγονική πρόκληση. Β κύτταρα μνήμης και πλασματοκύτταρα δημιουργούνται στα λεμφοζίδια ενώ Τ- κύτταρα διαφόρων υποκατηγοριών στα PALS . Τα νεοσχηματισμένα Β και Τ κύτταρα εισέρχονται στα οριακά κολποειδή και πηγαίνουν στο σημείο της αντιγονικής πρόκλησης ή γίνονται μέρος των λεμφοκυττάρων της κυκλοφορίας. Κάποια πλασματοκύτταρα παραμένουν στην οριακή ζώνη, δημιουργούν αντιγόνα και τα ελευθερώνουν στα οριακά κολποειδή. Τα περισσότερα πλασματοκύτταρα όμως μεταναστεύουν στον μυελό των οστών και απελευθερώνουν τα αντισώματα στα κολποειδή του μυελού.

Τα διαλυτά αιματογενή αντιγόνα αδρανοποιούνται από αντισώματα, ενώ βακτηρίδια οψωνοποιούνται και καταστρέφονται από μακροφάγα ή ουδετερόφιλα. Κύτταρα που έχουν προσβληθεί από ιούς καταστρέφονται από κυτταροτοξικά κύτταρα στα PALS του λευκού πολφού.

Γηρασμένα αιμοπετάλια φαγοκυτταρώνονται από μακροφάγα τα οποία 'ελέγχουν' και τα ερυθρά καθώς αυτά περνούν από τις σπληνικές χορδές ανάμεσα στα ενδοθηλιακά κύτταρα, προς τα κολποειδή. Τα πιο γηρασμένα ερυθρά χάνουν την ευελιξία τους (όπως και τα ερυθρά που έχουν μολυνθεί από το πλασμάδιο της



ελονοσίας) και δεν μπορούν να διέλθουν μεταξύ των ενδοθηλιακών κυττάρων και φαγοκυττάρων από τα μακροφάγα. Τα φαγοκύτταρα 'ελέγχουν' την επιφάνεια των ερυθρών και τα καταστρέφουν με τους παρακάτω τρόπους :

1. Τα γηρασμένα ερυθρά χάνουν υπολείμματα σιαλικού οξέως από τα επιφανειακά τους μακρομόρια εκθέτοντας μόρια γαλακτόζης.
2. Τα μόρια γαλακτόζης ευοδώνουν την φαγοκυττάρωση
3. Τα ερυθρά φαγοκυττάρωνονται από τα μακροφάγα
4. Η αιμοσφαιρίνη καταβολίζεται σε αίμη και σφαιρίνη
5. Η σφαιρίνη αποσυντίθεται σε αμινοξέα
6. Μόρια σιδήρου μεταφέρονται στο μυελό των οστών από την τρανσφερρίνη και χρησιμοποιούνται για τη δημιουργία νέων ερυθρών
7. Η αίμη μετατρέπεται σε χολερυθρίνη και απομακρύνεται στο ήπαρ από τη χολή
8. Τα μακροφάγα φαγοκυττάρωνουν επίσης κατεστραμμένα ή δυσλειτουργικά αιμοπεταλία και ουδετερόφιλα .

Στο δεύτερο τρίμηνο της κύησης ο σπλήνας συμμετέχει ενεργά στην αιμοποίηση. Μετά τη γέννηση όμως η αιμοποίηση γίνεται μόνο στο μυελό των οστών αλλά ο σπλήνας μπορεί να ξαναγίνει αιμοποιητικό όργανο κάτω από ορισμένες συνθήκες.

ΛΕΜΦΙΚΟΣ ΙΣΤΟΣ ΤΩΝ ΒΛΕΝΝΟΓΟΝΩΝ

(Mucosa Associated Lymphoid Tissue-MALT)

Ο λεμφικός ιστός που σχετίζεται με βλεννογόνους αποτελείται από τοπικές διηθήσεις λεμφοκυττάρων και λεμφοζιδίων στον βλεννογόνο του γαστρεντερικού , αναπνευστικού, και ουροποιητικού συστήματος. Τα πιο αντιπροσωπευτικά παραδείγματα είναι εκείνα που σχετίζονται με τον βλεννογόνο του εντέρου, των βρόγχων και των αμυγδαλών.

A. Λεμφικός ιστός του εντέρου(gut- associated lymphoid tissue)

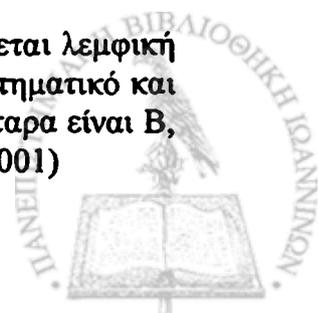
Αποτελείται από λεμφικά οζίδια κατά μήκος του γαστρεντερικού σωλήνα. Τα οζίδια βρίσκονται μακριά το ένα από το άλλο, εκτός από τη περιοχή του ειλεού όπου δημιουργούνται ομάδες γνωστές ως πλάκες Peyer . Αυτές αποτελούνται από οζίδια Β κυττάρων που περιβάλλονται από Τ κύτταρα και αρκετά αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα.

Αν και ο ειλεός καλύπτεται από απλό κυλινδρικό επιθήλιο, οι περιοχές που βρίσκονται σε επαφή με τα λεμφοζίδια επικαλύπτονται από πλακώδη κύτταρα γνωστά ως Μ κύτταρα (Microfold cells). Τα Μ κύτταρα συλλαμβάνουν τα αντιγόνα και τα μεταφέρουν στα μακροφάγα των πλακών Peyer. Οι πλάκες Peyer δεν έχουν προσαγωγή λεμφαγγεία αλλά έχουν απαγωγό δίκτυο. Μικρά αρτηριόλια δημιουργούν τριχοειδικό δίκτυο που καταλήγει σε HEV. Τα λεμφοκύτταρα που θα πάνε στις πλάκες Peyer έχουν υποδοχείς ειδικούς για το HEV του λεμφικού ιστού του εντέρου.

B.Λεμφικός ιστός των βρόγχων (bronchus associated lymphoid tissue- BALT)

Παρόμοια με τις πλάκες του Peyer εντοπίζεται στο τοίχωμα των βρόγχων ιδίως εκεί όπου βρόγχοι και βρογχόλια διχάζονται.Το επιθήλιο που καλύπτει τα λεμφοζίδια αλλάζει από ψευδοπολυστιβαδωτό κυλινδρικό κροσσωτό με λαγηνοειδή κύτταρα σε Μ κύτταρα.

Δεν υπάρχουν προσαγωγή λεμφαγγεία αν και έχει αποδειχθεί πως γίνεται λεμφική απαγωγή. Το πλούσιο, αγγειακό δίκτυο του BALT υποδηλώνει τον συστηματικό και γενικευμένο ρόλο στην ανοσολογική διαδικασία. Τα περισσότερα κύτταρα είναι Β, αν και υπάρχουν Τ και αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα(Gardner et al,2001)



ΑΜΥΓΔΑΛΕΣ

Είναι συσσωρεύσεις λεμφικού ιστού που περιβάλλονται ατελώς από κάψα και βρίσκονται στην είσοδο του φάρυγγα. Βρίσκονται στην περιοχή όπου εισέρχονται αντιγόνα από τον αέρα και την τροφή.

1. Παρίσθμιές Αμυγδαλές

Βρίσκονται στα σύνορα της στοματική κοιλότητας και του φάρυγγα. Το επιφανειακό του τμήμα επικαλύπτεται από πολύστιβο πλακώδες μη κερατινοποιημένο επιθήλιο που δημιουργεί 10-12 κρύπτες στο παρέγχυμα. Συχνά στις κρύπτες παραμένουν υπολείμματα τροφών, αποπίπτοντα επιθηλιακά κύτταρα, λευκοκύτταρα, βακτηρίδια.

Το παρέγχυμα αποτελείται από αρκετά λεμφοζίδια, μερικά με βλαστικά κέντρα, υποδηλώνουν την παρουσία Β λεμφοκυττάρων.

2. Φαρυγγικές αμυγδαλές

Βρίσκονται στην οροφή του ρινοφάρυγγα. Αντί για κρύπτες έχουν επιμήκεις αναδιπλώσεις που ονομάζονται πτυχές. Στη βάση των πτυχών υπάρχουν πόροι οροβλεννογόνων αδένων. Η επιφάνεια του καλύπτεται από ψευδοπολύστιβο κροσσωτό κυλινδρικό επιθήλιο με ενδιάμεσα πλακώδες.

Το παρέγχυμα των φαρυγγικών αμυγδαλών αποτελείται από λεμφοζίδια μερικά από τα οποία έχουν βλαστικά κέντρα. Όταν οι αμυγδαλές αυτές φλεγμαίνουν ονομάζονται αδενοειδείς.

3. Γλωσσικές αμυγδαλές

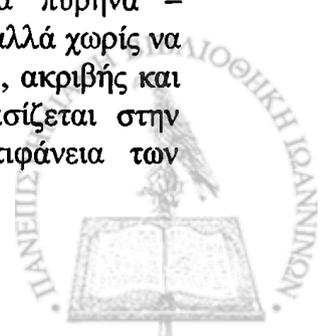
Βρίσκονται στην άνω επιφάνεια του οπισθίου 1/3 της γλώσσας. Είναι αρκετές και επικαλύπτονται από πολύστιβο πλακώδες μη κερατινοποιημένο επιθήλιο. Η κάτω επιφάνεια διαχωρίζεται από τον υποκείμενο συνδετικό ιστό. Κάθε αμυγδαλή έχει μια κρύπτη στη βάση της οποίας υπάρχει πόρος μικρού σιαλογόνου αδένου.

Το παρέγχυμα των γλωσσικών αμυγδαλών αποτελείται από λεμφοζίδια τα οποία συχνά έχουν βλαστικά κέντρα (Gardner et al, 2001)

3. ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΗ ΔΟΜΗ - ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΚΑΙ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΩΝ – CLUSTERS OF DIFFERENTIATION

Στο έμβρυο η λεμφοποίηση ξεκινά στον εμβρυικό ασκό και στην συνέχεια τα κύρια λεμφοποιητικά όργανα είναι ο σπλήνας και το ήπαρ. Μετά τη γέννηση των ρόλο αυτό αναλαμβάνουν ο θύμος και ο μυελός των οστών. Το αρχέγονο κύτταρο των λεμφοκυττάρων προέρχεται από το πολυδύναμο αρχέγονο κύτταρο του μυελού των οστών και διαιρείται χωρίς την επίδραση αντιγονικού ερεθισμού αλλά με τη δράση μη ειδικών κυτταροκινών.

Τα λεμφοκύτταρα αποτελούν μια ετερογενή ομάδα με διαφορές μεταξύ τους όσον αφορά την προέλευση, το χρόνο ζωής, τις περιοχές όπου εγκαθίστανται στα διάφορα λεμφικά όργανα, την επιφανειακή δομή και λειτουργία. Μερικά μορφολογικά χαρακτηριστικά όπως το μέγεθος, η κοκκίωση και η αναλογία πυρήνα – πρωτοπλάσματος διαφοροποιούν τους λεμφοκυτταρικούς πληθυσμούς αλλά χωρίς να αποδεικνύουν τη προέλευση και τη λειτουργία τους. Η πιο σημαντική, ακριβής και ποιοτική μέθοδος που σήμερα χρησιμοποιείται στο εργαστήριο βασίζεται στην αναγνώριση ορισμένων γλυκοπρωτεϊνών που βρίσκονται στην επιφάνεια των



λεμφοκύτταρων και ονομάζονται δείκτες (markers). Δύο σημαντικές ανακαλύψεις οδήγησαν στην χρήση των δεικτών στην καθημερινή εργαστηριακή χρήση

1. η ανακάλυψη των μονοκλωνικών αντισωμάτων και
2. της μεθόδου της κυτταρομετρίας ροής.

Μορφολογία των λεμφοκυτταρων

Οπτικό Μικροσκόπιο

Τα λεμφοκύτταρα στα αίμα είναι μικρά (10 μ m ή και μικρότερα) και δεν περιέχουν κοκκία. Υπάρχουν μεγαλύτερα λεμφοκύτταρα με το όνομα Μεγάλα Κοκκιώδη Λεμφοκύτταρα (Large Granular Lymphocytes, LGL) γιατί περιέχουν αρκετά κοκκινοϊώδη (αζουρόφιλα) κοκκία που διαφέρουν από εκείνα των μυελοκυττάρων γιατί είναι μυελοϋπεροξειδάση (MPO) αρνητικά.

Στο αίμα ασθενών με ιογενείς λοιμώξεις μπορεί να κυκλοφορούν ενδιάμεσες μορφές λεμφοκυττάρων που ονομάζονται λεμφοκυτταροειδή πλασματοκύτταρα και αντιπροσωπεύουν μορφολογικά στάδια αντιγονικώς διαφοροποιημένων λεμφοκυττάρων.

Ηλεκτρονικό Μικροσκόπιο

Το μικρό λεμφοκύτταρο (6-9 μ m) εμφανίζει διπλή κυτταρική μεμβράνη με ελάχιστες μικρολάχνες (microvilli) εκτός από την περιοχή του ουροποδίου. Η συσκευή Golgi είναι μικρή και βρίσκεται κοντά στην εντομή του πυρήνα. Δεν υπάρχει οργανώμενο ενδοπλασματικό δίκτυο. Ελεύθερα ριβοσώματα είναι εμφανή, καθώς και μιτοχόνδρια. Ο κυτταροσκελετός αποτελείται από μικροσωλήνες και μικροϊνίδια.

Ο πυρήνας καλύπτεται από διπλή μεμβράνη που συγκολλάται στα σημεία των πυρηνικών πόρων. Η διπλή ετεροχρωματίνη δημιουργεί συμπυκνώματα κυρίως κοντά στη μεμβράνη. Ένα πυρήνιο είναι συνήθως εμφανές.

Το μεσαίο λεμφοκύτταρο είναι μεγαλύτερο επειδή περιέχει περισσότερο κυτταρόπλασμα. Η χρωματίνη είναι πιο χαλαρή και ενώνεται λιγότερο με την πυρηνική μεμβράνη. Η συσκευή Golgi είναι πιο ανεπτυγμένη. Το κυτταρόπλασμα περιέχει αρκετά πολυριβοσώματα και αρκετό ενδοπλασματικό δίκτυο.

Οι λεμφοβλάστες είναι μεγαλύτερα κύτταρα (8-12 μ m) με χαλαρή χρωματίνη και μεγάλο πυρήνιο με δικτυωτή εμφάνιση. Το κυτταρόπλασμα περιέχει πολλά πολυριβοσώματα, αλλά σπανίζουν δεξαμενές ενδοπλασματικού δικτύου.

B-Λεμφοκύτταρα

Στάδια ανάπτυξης των B λεμφοκυττάρων

Τα B λεμφοκύτταρα είναι τα μόνα κύτταρα ικανά να συνθέτουν ανοσοσφαιρίνες (Ig), που παραμένουν συνδεδεμένες στην κυτταρική μεμβράνη (mIg) στο ήρεμο λεμφοκύτταρο. Κάθε κύτταρο μπορεί να έχει από 50.000 έως 150.000 μόρια ανοσοσφαιρινών στην επιφάνεια του.

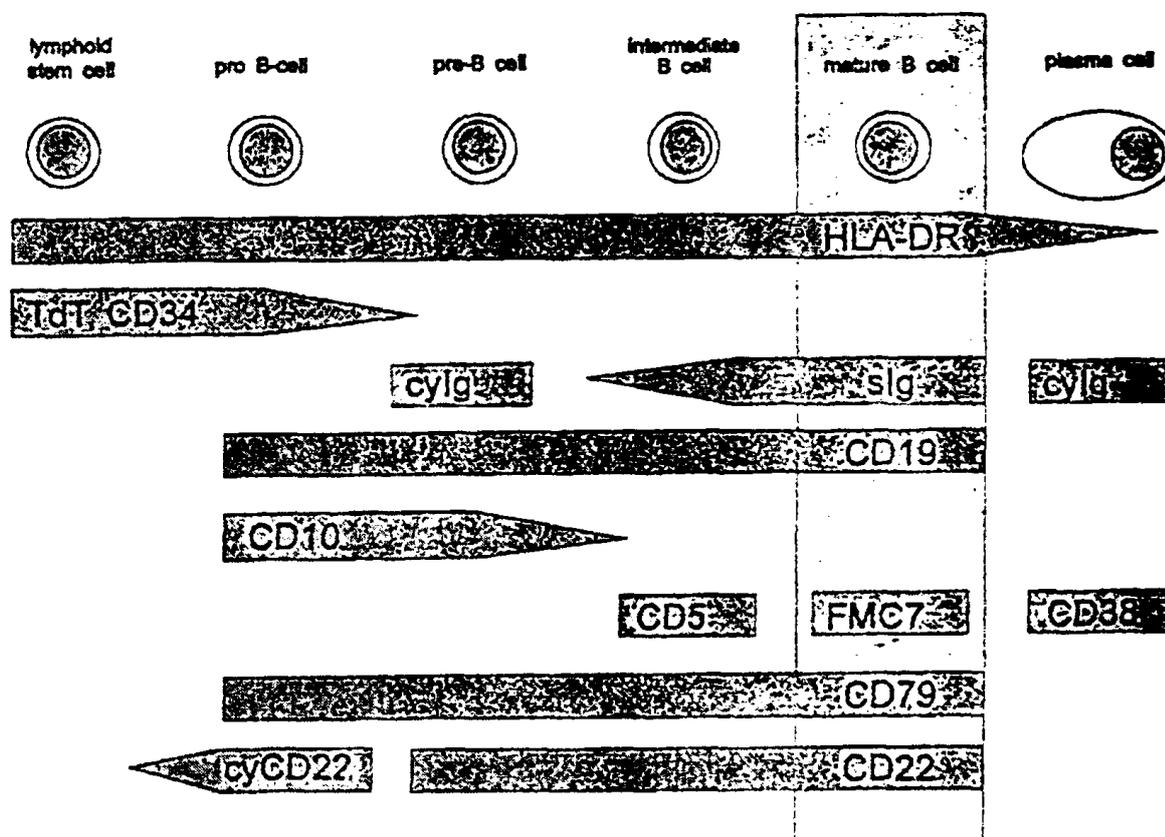
Η ανίχνευση κυτταροπλασματικών ανοσοσφαιρινών αποτελεί τον πιο χαρακτηριστικό γνώρισμα των B λεμφοκυττάρων σε προχωρημένα στάδια διαφοροποίησης.

Στα πρώτα στάδια ανάπτυξης του B λεμφοκυττάρου (pre-B) ανιχνεύεται μόνο κυτταροπλασματική IgM βαρεία αλυσίδα. Καθώς το κύτταρο διαφοροποιείται διατηρεί την ικανότητα να συνθέτει μόνο μια τάξη Ig, διαδικασία που είναι γνωστή ως αποκλεισμός ισότυπου. Επίσης συνθέτει μόνο έναν τύπο ελαφράς αλυσίδας.

Τα B λεμφοκύτταρα μπορούν να αναγνωρισθούν με ακρίβεια με την χρήση μονοκλωνικών αντισωμάτων. Κάποια από τα αντισώματα αυτά είναι ειδικά για τα B κύτταρα ενώ άλλα ανιχνεύονται και σε άλλα κύτταρα (Lee et al, 1999)

Ο ανοσοφαινότυπος των Β λεμφοκυττάρων περιλαμβάνει τους παρακάτω επιφανειακούς δείκτες.

B-cell development



Σχηματική απεικόνιση της ανάπτυξης των Β λεμφοκυττάρων

CD5

Δομή: Είναι πρωτεΐνη μοριακού βάρους 67k D, που βρίσκεται σε μικρό πληθυσμό Β λεμφοκυττάρων. Η εξωκυττάρια περιοχή περιέχει τρεις περιοχές πλούσιες σε κυστεΐνη. Το γονίδιο βρίσκεται στο χρωμόσωμα 11q13.

Κατανομή: Θυμοκύτταρα, Τ-κύτταρα στο περιφερικό αίμα και σε μικρό πληθυσμό Β λεμφοκυττάρων που ανιχνεύονται κυρίως στην εμβρυική ζωή και στην Β-ΧΛΛ.

Λειτουργία: Πολλαπλασιασμός, ενεργοποίηση και έκκριση κυτταροκινών από τα Τ κύτταρα. Αποτελεί τον συνδέτη του CD72.

CD10 (CALLLA)

Δομή: Τύπου II διαμεμβρανική πρωτεΐνη της οποίας το αμινοτελικό άκρο βρίσκεται ενδοκυττάρια. Η εξωκυττάρια περιοχή έχει 12 κυστεΐνες που δημιουργούν δισουλφιδικούς δεσμούς απαραίτητους για την ενζυμική δραστηριότητα. Γονίδιο στο χρωμόσωμα 3q21.

Κατανομή: Κατανέμεται στα Β λεμφοκύτταρα (στο προ-Β στάδιο και έπειτα στο βλαστικό κέντρο) και στα ουδετερόφιλα. Σε μη αιμοποιητικούς ιστούς νεφρά (ψηκτροειδής παρυφή), λείες μυϊκές ίνες, μυοεπιθήλιο, εγκέφαλος, επιδιδυμίδα,



πλακούντας, κύτταρα γλοιωμάτων, όγκοι βλαστικών κυττάρων.

Λειτουργία: Το CD10 είναι μία ουδέτερη ενδοπεπτιδάση, γνωστή ως μεταλλοενδοπεπτιδάση ή εγκεφαλίναση. Έχει ειδικότητα για α αμινομάδες υδρόφοβών αμινοξέων. Έχει ως υπόστρωμα βιολογικώς σημαντικά πεπτίδια αγγειοτενσίνη, βραδυκινίνη, εγκεφαλίνες, ωκυτοκίνη κλπ. Το CD10 πιθανώς ρυθμίζει την ανάπτυξη των Β λεμφοκυττάρων απενεργοποιώντας ένα πεπτίδιο που διεγείρει τον πολλαπλασιασμό και την διαφοροποίηση τους κατά τα πρώτα στάδια ανάπτυξης.

CD19

Δομή: Μέλος της οικογένειας Ig με δύο Ig περιοχές (C 2) και μια μικρότερη εξωκυττάρια περιοχή. Η κυτταροπλασματική περιοχή είναι υψηλά φορτισμένη και περιέχει αρκετές περιοχές που δυνητικά μπορούν να φωσφορυλιωθούν. Το γονίδιο εδράζεται στο χρωμόσωμα 16p11.2.

Κατανομή: Το CD19 ευρίσκεται στα Β κύτταρα, αλλά όχι στα πλασματοκύτταρα. Επίσης ανιχνεύεται στα δενδριτικά κύτταρα του βλαστικού κέντρου. Αποτελεί ίσως τον μόνο δείκτη που εκφράζεται σε όλη τη διάρκεια της ζωής του Β-λεμφοκυττάρου.

Λειτουργία: Σχηματίζει μαζί με τα CD21, CD81, Leu-13 σύμπλεγμα μετάδοσης μηνύματος που οδηγεί σε φωσφορυλίωση τυροσίνης, ενεργοποίηση φωσφολυτάσης C (PCL), κινητοποίηση ασβεστίου και ανακύκλωση της ινοσιτόλης των φωσφολιπιδίων. Όταν το αντιγόνο παρουσιάζεται στα Β λεμφοκύτταρα συνδεδεμένο με το συμπλήρωμα, τότε το CD19 ενώνεται με το CD21 και την επιφανειακή ανοσοσφαιρίνη.

CD20

Δομή: Φωσφοπρωτεΐνη που διαπερνά την κυτταρική μεμβράνη 4 φορές αλλά δεν είναι μέλος της υπεροικογένειας των διαμεμβρανικών 4 (TM4SF ή tetraspan). Η αλληλουχία της είναι παρόμοια της β αλυσίδας του FcR-I (που βρίσκεται στα μαστοκύτταρα). Δημιουργεί δομές καναλιών. Γονίδιο στο χρωμόσωμα 11q12.

Κατανομή: Στα Β λεμφοκύτταρα αλλά όχι στα πλασματοκύτταρα.

Λειτουργία: Ρύθμιση της ενεργοποίησης και πολλαπλασιασμού των Β λεμφοκυττάρων. Ρυθμίζει την ροή του ασβεστίου διαμέσου της μεμβράνης πιθανότατα δημιουργώντας κανάλια ασβεστίου. Το μονοκλωνικό αντίσωμα αντί-CD20 διατηρεί αυξημένο το ενδοκυττάριο Ca⁺⁺ που εμποδίζει την μετάβαση από την φάση G1 στην S.

CD21

Δομή: Η εξωκυττάρια περιοχή αποτελείται από 15-16 περιοχές ελέγχου του συμπληρώματος (60-70 αμινοξέα που λέγονται short consensus repeats ή SCR).

Κατανομή: βρίσκεται στα ώριμα Β λεμφοκύτταρα αλλά εξαφανίζεται γρήγορα με την ενεργοποίηση του κυττάρου, στα δενδριτικά κύτταρα στα οζώδη κέντρα και σε υποπληθυσμό των θυμοκυττάρων.

Λειτουργία: υποδοχέας του τμήματος C3d και C3dg και του ιού Epstein-Barr. Οι δύο αυτοί συνδέτες συνδέονται σε διαφορετικά σημεία. Το γονίδιο του CD21 ανήκει σε ομάδα γονιδίων που ρυθμίζουν την ενεργοποίηση του συμπληρώματος (regulation of complement activation gene cluster, RCA), που κωδικοποιεί επίσης πρωτεΐνες σύνδεσης για τα κλάσματα του συμπληρώματος C3 και C4.

Το CD21 είναι μέρος του συμπλέγματος CD19, CD81, Leu13. Ρυθμίζει την ενεργοποίηση των Β λεμφοκυττάρων και τον πολλαπλασιασμό.

Αποτελεί ακόμη υποδοχέα της IFN-α. Ενώνεται με το CD23 μέσω αντίδρασης που απαιτεί την παρουσία ασβεστίου. Η σημασία αυτής της αλληλεπίδρασης δεν είναι

γνωστή. Το CD21 ρυθμίζει τον πολλαπλασιασμό των Β κυττάρων παρουσία αντιγόνου καθώς και την μεταφορά μηνυμάτων ανεξαρτήτως παρουσίας αντιγόνου.

CD22

Δομή: Είναι φωσφογλυκοπρωτεΐνη που ανήκει στην υπερ-οικογένεια των Ig. Περιγράφονται δύο μορφές CD22a και CD22b. Η εξωκυττάρια δομή της α μορφής έχει 5 Ig περιοχές (4C και μία U) και της β μορφής 7 περιοχές (6C και μία U) . Ανήκει στην οικογένεια του καρκινοεμβρυϊκού αντιγόνου (CEA) μαζί με την γλυκοπρωτεΐνη που σχετίζεται με την μυελίνη (myelin associated glycoprotein) και το CD33. Το γονίδιο που κωδικοποιεί την πρωτεΐνη εδράζεται στο χρωμόσωμα 19p.

Κατανομή : κατανέμεται στα ώριμα Β λεμφοκύτταρα και στο κυτταρόπλασμα των προ-Β λεμφοκυττάρων. Η έκφραση χάνεται μετά την ενεργοποίηση. Εκφράζεται ειδικά στην περιοχή του μανδύα (mantle zone) αλλά όχι στο βλαστικό κέντρο. Ενώ τα φυσιολογικά προ-Β λεμφοκύτταρα είναι αρνητικά για την επιφανειακή έκφραση CD22, τα λευχαιμικά προ- Β κύτταρα την εκφράζουν έντονα.

Λειτουργία : Το CD22 μεταβιβάζει μηνύματα και είναι επίσης προσκολλητικό μόριο. Η κυτταροπλασματική περιοχή είναι ανάλογη του υποδοχέα αντιγόνων των Β και Τ κυττάρων και φωσφορυλιώνεται. Ως αποτέλεσμα ενεργοποιεί πρωτεϊνικές κινάσες όπως η p72src , ευδοτώντας την μεταβίβαση μηνυμάτων. Λειτουργεί επίσης ως λεκτίνη με συνδέτες CD75, CD75RO, δηλαδή σαν προσκολλητικό μόριο.

CD23

Δομή : Είναι μεμβρανική πρωτεΐνη τύπου II. Το εξωκυττάριο τμήμα περιέχει δομή C τύπου. Υπάρχουν δύο μορφές CD23a και CD23b.

Κατανομή : Μόνο τα Β λεμφοκύτταρα εκφράζουν το CD23a. Το CD23b είναι άφθονα κατανεμημένο(NK, ηωσινόφιλα, αιμοπετάλια, δενδριτικά). Η IL-4 οδηγεί στην έκφραση αυτής της μορφής. Το CD23 εκφράζεται στο 90% των κυττάρων της ΧΑΛ.

Λειτουργία : Χαμηλής συγγένειας υποδοχέας της IgE. Παίρνει μέρος στην μεταβίβαση μηνυμάτων. Το CD23 υπάρχει και σε διαλυτή μορφή.

CD24

Δομή: Πρόκειται για σιαλογλυκοπρωτεΐνη που συνδέεται με την κυτταρική μεμβράνη με άγκυρα GPI (glycophosphatidylinositol)

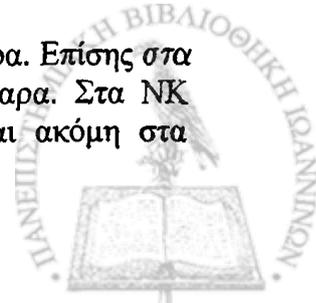
Κατανομή : ανιχνεύεται σε όλα τα στάδια διαφοροποίησης των Β λεμφοκυττάρων , αλλά με ένταση που σταδιακά μειώνεται καθώς προχωρά η διαφοροποίηση και χάνεται ή εκφράζεται πολύ ασθενώς στα πλασματοκύτταρα. Υπάρχει ακόμη στα μονοκύτταρα και στα κοκκιοκύτταρα.

Λειτουργία : μετάδοση μηνυμάτων και πιθανώς ρόλος στη διαφοροποίηση και τον πολλαπλασιασμό των Β κυττάρων.

CD25 (TAC antigen, α-αλυσίδα του υποδοχέα της IL-2)

Δομή : Γλυκοπρωτεΐνη, η α-αλυσίδα του υποδοχέα της IL-2 που ενώνεται με χαμηλή συγγένεια με την IL-2. Μη-ομοιοπολική σύνδεση με β-υποομάδα για σύνδεση υψηλής συγγένειας με IL-2. Ο πλήρης υποδοχέας της IL-2 περιέχει και μια τρίτη υποομάδα γνωστή ως γc που είναι κοινή σε υποδοχείς αρκετών κυτταροκινών. Το γονίδιο εδράζεται στο χρωμόσωμα 10p15.

Κατανομή : ενεργοποιημένα Τ και Β λεμφοκύτταρα και στα μονοκύτταρα. Επίσης στα προγονικά κύτταρα της μυελικής σειράς και στα ολιγοδενδροκύτταρα. Στα NK εμφανίζεται μόνο μετά από ενεργοποίηση από την IL-2. Βρίσκεται ακόμη στα



κύτταρα της Β-ΧΛΛ και με αυξημένη πυκνότητα στα κύτταρα της λευχαιμίας από τριχωτά.

Λειτουργία :Μαζί με τις δύο άλλες αλυσίδες συνδέει την IL-2. Η μεταβίβαση του μηνύματος περιλαμβάνει συσχέτιση της β-αλυσίδας με πρωτεϊνικές κινάσες της Src οικογένειας και της γc αλυσίδας με τις πρωτεϊνικές κινάσες JAK-1 και JAK-3.

CD38

Δομή :διαμεμβρανική πρωτεΐνη τύπου II. Είναι ομόλογη της κυκλάσης adenosine diphosphate-ribose ενζύμου που συμμετέχει στην σύνθεση της κυκλικής ADP-ριβόζης, ενός ενδογενούς δεύτερου αγγελιοφόρου που ρυθμίζει την μετακίνηση του ενδοκυττάρου ασβεστίου.

Κατανομή :Κατανέμεται στα Τ και Β λεμφοκύτταρα, ΝΚ κύτταρα, μυελικά κύτταρα και μονοκύτταρα. Ανευρίσκεται με ιδιαίτερα αυξημένη πυκνότητα στα πλασματοκύτταρα. Εμφανίζεται στα πρώιμα μυελικά κύτταρα με αυξανόμενη συχνότητα καθώς η έκφραση του CD34 μειώνεται. Το all trans retinoid acid (ATRA) μεταβολίτης της βιταμίνης Α και σημαντικός παράγοντας διαφοροποίησης στην οξεία προμυελοκυτταρική λευχαιμία, οδηγεί στην έκφραση του CD38.

Λειτουργία :Συμβάλει στην ενεργοποίηση και τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων. Επάγει την έκκριση IL-1, TNF-α, GM-CSF από τα λεμφοκύτταρα. Ο ρόλος του στην ενεργοποίηση και τον πολλαπλασιασμό μπορεί να σχετίζεται με τη σύνθεση (από το nicotinamide adenine dinucleotide, NAD) της κυκλικής ADP-ριβόζης (δεύτερου αγγελιοφόρου). Φαίνεται πως το CD38 είναι μόριο με πολλές λειτουργίες. Σχετίζεται με την επιφανειακή Ig, το σύμπλεγμα CD19 και το CD16.

CD40

Δομή : Είναι μέλος της οικογένειας TNF (Tumor Necrosis Factor)

Κατανομή :Κατανέμεται στα Β λεμφοκύτταρα, στα δενδριτικά, στα δενδριτικά κύτταρα του οζώδους κέντρου, στα αιμοποιητικά προγονικά κύτταρα, στα επιθηλιακά κύτταρα και σε καρκινικά κύτταρα.

Λειτουργία : Είναι πολύ σημαντικό μόριο στην ενεργοποίηση Τ κυττάρων μέσω των Β κυττάρων. Η σύνδεση του με διάφορα μόρια οδηγεί στον έντονο πολλαπλασιασμό των Β κυττάρων. Η προσθήκη IL-4 ή IL-3 οδηγεί στην έκκριση IgE, ενώ της IL-10 οδηγεί στην έκκριση IgM, IgG και η προσθήκη TGF-β σε έκκριση IgA. Είναι σημαντικό μόριο στη δημιουργία Β κυττάρων μνήμης κατά τις αντιδράσεις στο βλαστικό κέντρο. Όταν υπάρχει μετάλλαξη του CD40 συνδέτη τότε δημιουργείται το σύνδρομο X-linked hyper IgM.

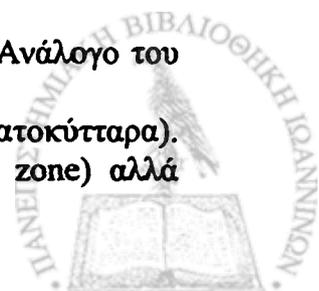
Το CD40 εκφράζεται και σε κακοήθη νοσήματα των Β κυττάρων. Στα φυσιολογικά λεμφικά όργανα ανιχνεύεται στο πρωτογενές λεμφοζίδιο, στο μανδύα, και στο βλαστικό κέντρο του δευτερογενούς λεμφοζιδίου.

Η μεταβίβαση μηνυμάτων μέσω του CD40 διαφέρει ανάλογα με το στάδιο της διαφοροποίησης. Τα ήρεμα Β λεμφοκύτταρα εισέρχονται σε κυτταρικό κύκλο, τα κύτταρα της Β-ΧΛΛ αυξάνονται, μερικά Β λεμφώματα οδηγούνται σε απόπτωση, ενώ στο βλαστικό κέντρο αποτρέπεται η απόπτωση των Β κυττάρων.

CD72

Δομή : Τύπου II διαμεμβρανική πρωτεΐνη με την μορφή ομοδιμερούς. Ανάλογο του CD23.

Κατανομή : Ανευρίσκεται στα Β λεμφοκύτταρα (εκτός από τα πλασματοκύτταρα). Ιδιαίτερα έντονη είναι η έκφραση του δείκτη στον μανδύα (mantle zone) αλλά ασθενέστερη στο βλαστικό κέντρο.



Λειτουργία :αποτελεί συνδέτη για το CD5. Ίσως παίρνει μέρος στην προσκόλληση και στη μετάδοση μηνυμάτων ρυθμίζοντας τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ T και B λεμφοκυττάρων.

CD77

Δομή : ανήκει στα ουδέτερα γλυκοσφιγγολιπίδια. Αντιγόνο της ομάδας αίματος Pk (φυσιολογική προγονική ουσία για τη σύνθεση του αντιγόνου)

Κατανομή:Κατανέμεται στα B κύτταρα βλαστικού κέντρου, ενδεχομένως τα φυσιολογικά αντίστοιχα των κυττάρων του λεμφώματος Burkitt (αποτελεί δείκτη του λεμφώματος). Στα δενδριτικά κύτταρα των λεμφοζιδίων και στο ενδοθήλιο.

Λειτουργία : είναι ο υποδοχέας για λεκτίνες και της τοξίνης της Escherichia coli. Η έκφραση του CD77 συσχετίζεται με κύτταρα που οδηγούνται στην απόπτωση.

CD79 a και CD79b

Δομή : Υπάρχουν δύο πεπτίδια το CD79a ή Iga και το CD79b ή Igb. Είναι μέλη της IgSF και δημιουργούν με δισουλφιδικό δεσμό ετεροδιμερές που σχετίζεται με την IgM στα B κύτταρα ώστε να δημιουργηθεί το σύμπλεγμα του υποδοχέα των B κυττάρων (BCR).

Κατανομή : B λεμφοκύτταρα. Εκφράζεται πριν την κυτταροπλασματική μ αλυσίδα.

Λειτουργία : Μετάδοση μηνύματος του BCR . Υπόστρωμα των PTKs. Η σύνδεση BCR έχει ως αποτέλεσμα την φωσφορυλίωση τυροσίνης στην Iga και Igb.

Το ετεροδιμερές Iga και Igb λειτουργεί ως μεταφορέας του IgM στην επιφάνεια του κυττάρου.

CD80

Δομή:Μέλος της οικογένειας των ανοσοσφαιρινών(IgGF). Γνωστό ως B7-1.Το γονίδιο βρίσκεται στο χρωμόσωμα 3q13.3

Κατανομή: ανευρίσκεται στα ενεργοποιημένα B κύτταρα, μονοκύτταρα, αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα και σε μερικά ενεργοποιημένα T λεμφοκύτταρα.

Λειτουργία : αλληλεπιδρά με το CD28 και μεταφέρει μήνυμα στο T κύτταρο. Η οδός B7-1/ CD28 είναι σημαντική στην ανάπτυξη TH2 κυττάρου. Η καταστολή της συνδιέργεσης ίσως είναι σημαντική στη μεταμόσχευση και τα αυτοάνοσα νοσήματα.

CD86 (B7-2)

Δομή : IgGF μέλος με 2 Ig- like περιοχές (C2 και V). Η ενδοκυττάρια περιοχή περιέχει τρεις περιοχές για φωσφορυλίωση πρωτεϊνικής κινάσης C .

Κατανομή : όπως η B7-1 . Εμφανίζεται πιο γρήγορα από το B 7-1 στο ενεργοποιημένο B λεμφοκύτταρο. Η IL-4 και INF-γ αυξάνουν την έκφραση.

Λειτουργία : ενεργοποίηση T κυττάρων. Μαζί με το B7-1 οδηγεί προς δημιουργία TH1 σε σχέση με TH2.

Άλλοι δείκτες των B λεμφοκυττάρων

Υποδοχείς Fc :

Μόρια στην επιφάνεια B κυττάρων που μπορούν να συνδέσουν το Fc τμήμα των ανοσοσφαιρινών (IgG) είναι γνωστά ως υποδοχείς Fc. Με τα μονοκλωνικά αντισώματα έχουν διαχωρισθεί τρεις ομάδες FcR για τις IgG : FCR I (CD64), FCR II (CD32), FCR III (CD16).



Ο FCR I βρίσκεται αποκλειστικά στα μονοκύτταρα και μακροφάγα. Οι άλλοι υποδοχείς βρίσκονται σε διάφορα αιμοποιητικά κύτταρα. Τα Β κύτταρα έχουν FCR ειδικούς για τις ανοσοσφαιρίνες IgM, IgA, IgE(CD23).

Υποδοχείς συμπληρώματος :

Υποδοχείς για τα προϊόντα διάσπασης του τρίτου στοιχείου του συμπληρώματος (C3) CR1 (CD35), CR2 (CD21), CR3 (CD11b) CR4 (CD11c)

HLA τάξεως II ή Ia αντιγόνα:

Τα αντιγόνα τάξεως II εκφράζονται κυρίως στα Β κύτταρα και στα μονοκύτταρα αλλά και σε μερικά πρώιμα προγονικά κύτταρα της μυελικής σειράς.

Φυσιολογικά υπάρχει έκφραση μόνο στα Β κύτταρα και στα μονοκύτταρα αλλά όταν τα Τ κύτταρα ενεργοποιηθούν εκφράζουν και αυτά αντιγόνα ιστοσυμβατότητας τάξεως II.

Δεν αποτελούν από μόνα τους ειδικό δείκτη των Β κυττάρων αλλά χρησιμοποιούνται σε συνδυασμό με άλλους δείκτες.

Οντογένεση

Το αρχέγονο πολυδύναμο κύτταρο δημιουργεί όλες τις αιμοποιητικές σειρές, συμπεριλαμβανομένων των Τ και Β λεμφοκυττάρων. Η αλληλεπίδραση μεταξύ του περιβάλλοντος με τα αρχέγονα κύτταρα (stem cell) είναι σημαντική για την κατεύθυνση της διαφοροποίησης. Έτσι το μικροπεριβάλλον του θύμου οδηγεί στη δημιουργία των Τ λεμφοκυττάρων ενώ του μυελού των οστών στη δημιουργία Β λεμφοκυττάρων και κυττάρων της μυελικής σειράς.

Η διαφοροποίηση των Β λεμφοκυττάρων διακρίνεται σε δύο μεγάλα στάδια: στο πρώιμο στάδιο που είναι ανεξάρτητο αντιγόνου και στο δεύτερο (τελικό) στάδιο που εξαρτάται από την παρουσία αντιγόνου.

Πρώιμο στάδιο διαφοροποίησης:

Η αλληλεπίδραση μεταξύ κυττάρων του στρώματος, του μυελού των οστών και των αρχέγονων κυττάρων θα οδηγήσει στην ανάπτυξη Β λεμφοκυττάρων. Το στρώμα του μυελού των οστών αποτελείται από κύτταρα όπως ενδοθηλιακά, κύτταρα δικτύου, ινοβλάστες και λιπώδη κύτταρα.

Υπάρχουν ενδείξεις αλληλεπίδρασης μεταξύ κυττάρων στρώματος και αρχέγονων κυττάρων. Αλληλεπιδράσεις υπάρχουν ακόμη μεταξύ εξωκυττάριας ουσίας (extracellular matrix) και αρχέγονων κυττάρων, κυρίως με τις πρωτεογλυκάνες (ιδίως θεική χονδροτίνη).

Η αλληλεπίδραση μεταξύ των κυττάρων περιλαμβάνει επαφή μέσω μορίων προσκόλλησης (cell adhesion molecules, CAM) ή κυτταροκινών.

Μόρια που οδηγούν στην προσκόλληση των Β προγονικών κυττάρων στα κύτταρα του στρώματος είναι: το CD34, το CD44, η ιντεγκρίνη VLA-4 (CD45d/CD29 ή α4β).

Το CD34 ανιχνεύεται στα αρχέγονα κύτταρα, στα κύτταρα του στρώματος και στα ενδοθηλιακά κύτταρα. Πρόκειται για διαμεμβρανική γλυκοπρωτεΐνη που είναι έντονα Ο-γλυκοζυλιωμένη και περιέχει δεσμούς με άτομα θείου και μοιάζει με σιαλομουκίνη.

Ο υποδοχέας του CD34 είναι η L-selectin (CD62L) που εκφράζεται σε μερικά προγονικά κύτταρα.

Το VLA-4 στα προγονικά Β κύτταρα οδηγεί στην προσκόλληση του στα κύτταρα του στρώματος που εκφράζουν το VCAM-1(CD106).



Λειτουργία : αποτελεί συνδέτη για το CD5. Ίσως παίρνει μέρος στην προσκόλληση και στη μετάδοση μηνυμάτων ρυθμίζοντας τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ T και B λεμφοκυττάρων.

CD77

Δομή : ανήκει στα ουδέτερα γλυκοσφιγγολιπίδια. Αντιγόνο της ομάδας αίματος Pk (φυσιολογική προγονική ουσία για τη σύνθεση του αντιγόνου)

Κατανομή: Κατανέμεται στα B κύτταρα βλαστικού κέντρου, ενδεχομένως τα φυσιολογικά αντίστοιχα των κυττάρων του λεμφώματος Burkitt (αποτελεί δείκτη του λεμφώματος). Στα δένδριτικά κύτταρα των λεμφοζιδίων και στο ενδοθήλιο.

Λειτουργία : είναι ο υποδοχέας για λεκτίνες και της τοξίνης της *Escherichia coli*. Η έκφραση του CD77 συσχετίζεται με κύτταρα που οδηγούνται στην απόπτωση.

CD79 a και CD79b

Δομή : Υπάρχουν δύο πεπτίδια το CD79a ή Iga και το CD79b ή Igβ. Είναι μέλη της IgSF και δημιουργούν με δυσουλφιδικό δεσμό ετεροδιμερές που σχετίζεται με την IgM στα B κύτταρα ώστε να δημιουργηθεί το σύμπλεγμα του υποδοχέα των B κυττάρων (BCR).

Κατανομή : B λεμφοκύτταρα. Εκφράζεται πριν την κυτταροπλασματική μ αλυσίδα.

Λειτουργία : Μετάδοση μηνύματος του BCR . Υπόστρωμα των PTKs. Η σύνδεση BCR έχει ως αποτέλεσμα την φωσφορυλίωση τυροσίνης στην Iga και Igβ.

Το ετεροδιμερές Iga και Igβ λειτουργεί ως μεταφορέας του IgM στην επιφάνεια του κυττάρου.

CD80

Δομή: Μέλος της οικογένειας των ανοσοσφαιρινών (IgGF). Γνωστό ως B7-1. Το γονίδιο βρίσκεται στο χρωμόσωμα 3q13.3

Κατανομή: ανευρίσκεται στα ενεργοποιημένα B κύτταρα, μονοκύτταρα, αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα και σε μερικά ενεργοποιημένα T λεμφοκύτταρα.

Λειτουργία : αλληλεπιδρά με το CD28 και μεταφέρει μήνυμα στο T κύτταρο. Η οδός B7-1/ CD28 είναι σημαντική στην ανάπτυξη TH2 κυττάρου. Η καταστολή της συνδιέργεσης ίσως είναι σημαντική στη μεταμόσχευση και τα αυτοάνοσα νοσήματα.

CD86 (B7-2)

Δομή : IgGF μέλος με 2 Ig- like περιοχές (C2 και V). Η ενδοκυττάρια περιοχή περιέχει τρεις περιοχές για φωσφορυλίωση πρωτεϊνικής κινάσης C .

Κατανομή : όπως η B7-1 . Εμφανίζεται πιο γρήγορα από το B 7-1 στο ενεργοποιημένο B λεμφοκύτταρο. Η IL-4 και INF-γ αυξάνουν την έκφραση.

Λειτουργία : ενεργοποίηση T κυττάρων. Μαζί με το B7-1 οδηγεί προς δημιουργία TH1 σε σχέση με TH2.

Άλλοι δείκτες των B λεμφοκυττάρων

Υποδοχείς Fc :

Μόρια στην επιφάνεια B κυττάρων που μπορούν να συνδέσουν το Fc τμήμα των ανοσοσφαιρινών (IgG) είναι γνωστά ως υποδοχείς Fc. Με τα μονοκλωνικά αντισώματα έχουν διαχωρισθεί τρεις ομάδες FcR για τις IgG : FCR I (CD64), FCR II (CD32), FCR III (CD16).



Ο FCR I βρίσκεται αποκλειστικά στα μονοκύτταρα και μακροφάγα. Οι άλλοι υποδοχείς βρίσκονται σε διάφορα αιμοποιητικά κύτταρα. Τα Β κύτταρα έχουν FCR ειδικούς για τις ανοσοσφαιρίνες IgM, IgA, IgE(CD23).

Υποδοχείς συμπληρώματος :

Υποδοχείς για τα προϊόντα διάσπασης του τρίτου στοιχείου του συμπληρώματος (C3) CR1 (CD35), CR2 (CD21), CR3 (CD11b) CR4 (CD11c)

HLA τάξεως II ή Ia αντιγόνα:

Τα αντιγόνα τάξεως II εκφράζονται κυρίως στα Β κύτταρα και στα μονοκύτταρα αλλά και σε μερικά πρώιμα προγονικά κύτταρα της μυελικής σειράς.

Φυσιολογικά υπάρχει έκφραση μόνο στα Β κύτταρα και στα μονοκύτταρα αλλά όταν τα Τ κύτταρα ενεργοποιηθούν εκφράζουν και αυτά αντιγόνα ιστοσυμβατότητας τάξεως II.

Δεν αποτελούν από μόνα τους ειδικό δείκτη των Β κυττάρων αλλά χρησιμοποιούνται σε συνδυασμό με άλλους δείκτες.

Οντογένεση

Το αρχέγονο πολυδύναμο κύτταρο δημιουργεί όλες τις αιμοποιητικές σειρές, συμπεριλαμβανομένων των Τ και Β λεμφοκυττάρων. Η αλληλεπίδραση μεταξύ του περιβάλλοντος με τα αρχέγονα κύτταρα (stem cell) είναι σημαντική για την κατεύθυνση της διαφοροποίησης. Έτσι το μικροπεριβάλλον του θύμου οδηγεί στη δημιουργία των Τ λεμφοκυττάρων ενώ του μυελού των οστών στη δημιουργία Β λεμφοκυττάρων και κυττάρων της μυελικής σειράς.

Η διαφοροποίηση των Β λεμφοκυττάρων διακρίνεται σε δύο μεγάλα στάδια: στο πρώιμο στάδιο που είναι ανεξάρτητο αντιγόνου και στο δεύτερο (τελικό) στάδιο που εξαρτάται από την παρουσία αντιγόνου.

Πρώιμο στάδιο διαφοροποίησης:

Η αλληλεπίδραση μεταξύ κυττάρων του στρώματος, του μυελού των οστών και των αρχέγονων κυττάρων θα οδηγήσει στην ανάπτυξη Β λεμφοκυττάρων. Το στρώμα του μυελού των οστών αποτελείται από κύτταρα όπως ενδοθηλιακά, κύτταρα δικτύου, ινοβλάστες και λιπώδη κύτταρα.

Υπάρχουν ενδείξεις αλληλεπίδρασης μεταξύ κυττάρων στρώματος και αρχέγονων κυττάρων. Αλληλεπιδράσεις υπάρχουν ακόμη μεταξύ εξωκυττάριας ουσίας (extracellular matrix) και αρχέγονων κυττάρων, κυρίως με τις πρωτεογλυκάνες (ιδίως θευική χονδροτίνη).

Η αλληλεπίδραση μεταξύ των κυττάρων περιλαμβάνει επαφή μέσω μορίων προσκόλλησης (cell adhesion molecules, CAM) ή κυτταροκινών.

Μόρια που οδηγούν στην προσκόλληση των Β προγονικών κυττάρων στα κύτταρα του στρώματος είναι : το CD34, το CD44, η ιντεγκρίνη VLA-4 (CD45d/CD29 ή α4β).

Το CD34 ανιχνεύεται στα αρχέγονα κύτταρα, στα κύτταρα του στρώματος και στα ενδοθηλιακά κύτταρα. Πρόκειται για διαμεμβρανική γλυκοπρωτεΐνη που είναι έντονα Ο-γλυκοζυλιωμένη και περιέχει δεσμούς με άτομα θείου και μοιάζει με σιαλομουκίνη.

Ο υποδοχέας του CD34 είναι η L-selectin (CD62L) που εκφράζεται σε μερικά προγονικά κύτταρα.

Το VLA-4 στα προγονικά Β κύτταρα οδηγεί στην προσκόλληση του στα κύτταρα του στρώματος που εκφράζουν το VCAM-1(CD106).



Η ανάπτυξη των Β κυττάρων κατευθύνεται από ένα δίκτυο κυτταροκινών των κυττάρων του στρώματος, οι οποίες είτε παράγονται συνεχώς, είτε κάτω από την επίδραση άλλων κυττάρων όπως Τ-κυττάρων και μονοκυττάρων.

Η IL-7 παίζει σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη των Β λεμφοκυττάρων. Άμεσα οδηγεί στον πολλαπλασιασμό των προγονικών Β κυττάρων και αυξάνει την έκφραση του CD19. Ο SCF (stem cell factor) δρά συνεργικά με την IL-7.

Για τη λειτουργία του ώριμου Β λεμφοκυττάρου είναι σημαντική η επιφανειακή έκφραση του μορίου της ανοσοσφαιρίνης (Ig) που έχει ρόλο υποδοχέα αντιγόνου.

Στα πρώτα στάδια διαφοροποίησης τρεις ομάδες γονιδίων προετοιμάζουν την έκφραση του Ig. Η πρώτη ομάδα είναι τα recombination activating genes RAG-1, RAG-2. Η δεύτερη ομάδα είναι η αναπληρώτρια ελαφρά αλυσίδα (surrogate light chain), ένα σύμπλεγμα που αποτελείται από τα προϊόντα δύο γονιδίων: VpreB και λ5. Στην τρίτη ομάδα ανήκουν τα γονίδια mb-1 και B-29 και τα πολυπεπτιδικά τους προϊόντα Iga και Igβ δημιουργούν τμήμα του υποδοχέα του Β κύτταρου (BCR).

Το πρώιμο στάδιο ανάπτυξης αποτελείται από 2 ή 3 στάδια.

Τα προγονικά (pro-B ή pre-pre B) είναι τα πιο ανώριμα κύτταρα με τα γονίδια Ig σε κληρονομική διαμόρφωση (germ line configuration).

Στο επόμενο στάδιο (pre-B) διακρίνονται δύο επιμέρους στάδια:

Το pre-B I όπου και οι δύο IgH loci βρίσκονται σε DHJH ανασυνδυασμένη μορφή και το late -pre-B (pre-B-II) στο οποίο έχει συμβεί VHDHJH αναδιάταξη και περιέχει ενδοκυτταροπλασματική μ αλυσίδα.

Είναι εμφανές πως τα pro-B και τα pre-B I κύτταρα εκφράζουν στην επιφάνειά τους Ig υποδοχείς που κωδικοποιούνται από γονίδια που μεταγράφονται μόνο σε αυτό το στάδιο ανάπτυξης. Τα γονίδια VpreB και λ5 κωδικοποιούν πρωτείνες που συνθέτουν την αναπληρωματική ελαφρά αλυσίδα (L) η οποία εκφράζεται στην επιφάνεια του κυττάρου μόνο στο ατώτερο στάδιο του pre-B συσχετιζόμενη με την κυτταροπλασματική έκφραση της μ.

Ο ρόλος της L παραμένει υποθετικός. Ίσως οδηγεί στην επιβίωση των pre-B κυττάρων που έχουν πραγματοποιήσει επιτυχείς αναδιατάξεις των VDJ.

Η αναδιάταξη των τόπων (loci) των L αλυσίδων θα επιτρέψει την έκφραση της επιφανειακής IgM η οποία αρχικά είναι λειτουργικά ανώριμη αλλά ωριμάζει με την επιφανειακή έκφραση της IgD. Πρώτα γίνεται αναδιάταξη των κ ελαφρών αλυσίδων και στη συνέχεια αν και τα δύο κ αλληλία δεν οδηγήσουν σε παραγωγική αναδιάταξη τότε θα γίνει αναδιάταξη των λ αλυσίδων.

Φυσιολογικά τα κ+ Β λεμφοκύτταρα έχουν τα λ γονίδια σε κληρονομική διάταξη (germ-like configuration), ενώ τα λ+ Β λεμφοκύτταρα έχουν κ γονίδια που δεν έχουν αναδιαταχθεί λειτουργικά ή έχουν διαγραφεί. Το παραπάνω μοντέλο έχει αμφισβητηθεί από θεωρία στοχαστικού μηχανισμού αναδιάταξης των ελαφρών αλυσίδων.

Μεταγραφική ρύθμιση της ανάπτυξης των Β κυττάρων

Η μεταγραφή γονιδίων ειδικών για τη σειρά ή το στάδιο της διαφοροποίησης ρυθμίζεται από μεταγραφικούς παράγοντες (transcription factors). Οι μεταγραφικοί παράγοντες ενώνονται σε περιοχές που ρυθμίζουν την έκφραση των γονιδίων και είναι απαραίτητοι για να ξεκινήσει η RNA πολυμεράση την μεταγραφή.

Μεταγραφικοί παράγοντες που παίζουν ρόλο στη διαφοροποίηση των Β κυττάρων είναι:

1. Η Β-cell specific activator protein BSAP. Κωδικοποιείται από το γονίδιο PAX-5 στο χρωμόσωμα 9p13. Ενώνεται με τον υποκινητή (promoter) ειδικών Β γονιδίων όπως λ5 και VpreB, Blk, CD19.



2. NFκB , μεταγραφικός παράγοντας που παίζει ρόλο στην έκφραση του γονιδίου της κ αλυσίδας. Ενεργοποιείται από πολλούς παράγοντες όπως κυτταροκίνες (TNF-α), ιούς, μιτογόνα, U ακτινοβολία και ελεύθερες ρίζες O₂. Η ενεργοποίηση του NFκB προκαλεί την ενεργοποίηση γονιδίων που κωδικοποιούν πρωτεΐνες, όπως οι πρωτεΐνες οξείας φάσης, οι φλεγμονώδεις κυτταροκίνες και τα προσκολλητικά μόρια. Η ενεργοποίηση του αναστέλλεται από την IL-1, τα γλυκοκορτικοειδή, τα σαλικυκλικά και την ανοσοκατασταλτική αγωγή. Παθολογική ενεργοποίηση ίσως να συμβαίνει σε αυτοάνοσα νοσήματα και στην ογκογένεση.
3. Οικογένεια πρωτεϊνών ICAROS: τα ομόζυγα μεταλλαγμένα ποντίκια δεν αναπτύσσουν λεμφαδένες ή πλάκες Peyer.

Ανοσοφαινοτυπικές αλλαγές κατά τα αρχικά στάδια της διαφοροποίησης των B κυττάρων.

Η μελέτη του ανοσοφαινότυπου των προγονικών B κυττάρων είναι δύσκολη λόγω του μικρού αριθμού αυτών των κυττάρων.

Η χρήση λευχαιμικών κυττάρων με την υπόθεση πως ανταποκρίνονται σε στάδια της φυσιολογικής B διαφοροποίησης δεν μπορεί να δώσει αξιόπιστα αποτελέσματα γιατί τα λευχαιμικά κύτταρα εμφανίζουν ασύγχρονη αντιγονική έκφραση.

Έτσι έχουν χρησιμοποιηθεί κύτταρα φυσιολογικού μυελού οστών, εμβρυικού μυελού και εμβρυικού ήπατος.

Το πρώιμο στάδιο της B διαφοροποίησης περιλαμβάνει: το pro-B (pre-pre), το pre-BI και pre-BII.

Στο στάδιο αυτό το κύτταρο εκφράζει το πυρηνικό ένζυμο TdT (terminal deoxynucleotidyl transferase). Πρόκειται για DNA πολυμεράση που καταλύει την επιμήκυνση των πολυνουκλεονικών αλυσίδων χωρίς υπόστρωμα..

Το CD24 εκφράζεται στα πολύ αρχικά στάδια της διαφοροποίησης. Το CD24 στα αρχικά στάδια ίσως να ανιχνεύεται και στα T κύτταρα. Τα pre B κύτταρα έχουν ανιχνευθεί και στην εμβρυική ζωή, αρχικά στο ήπαρ (8^η εβδ) και έπειτα στον μυελό των οστών (12^η εβδ). Το μικρό pre-B κύτταρο είναι ο άμεσος πρόγονος του ώριμου B κυττάρου και εκφράζει επιφανειακή IgM στο τέλος του πρώτου τριμήνου. Στους ενήλικες τα pre-B βρίσκονται στον μυελό των οστών και αποτελούν το 0.7% των εμπύρηνων κυττάρων. Μόνο μικρός αριθμός ανιχνεύεται στα περιφερικά λεμφικά όργανα.

Στην τελική φάση του pre-B το CD34 και TdT έχουν εξαφανισθεί και η έκφραση που CD10 μειώνεται και το κύτταρο ξεκινά να εκφράζει το CD22 και αργότερα το CD20.

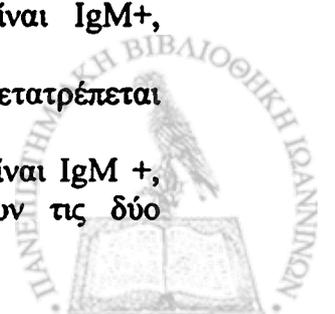
Το ώριμο B λεμφοκύτταρο

Το χαρακτηριστικό του ώριμου B λεμφοκυττάρου είναι η παρουσία της επιφανειακής ανοσοσφαιρίνης. Αρχικά εκφράζεται η IgM.

Στην εμβρυική ζωή τα IgM + κύτταρα (που είναι κυρίως CD5+) αποικίζουν τους λεμφαδένες και τοποθετούνται στα πρωτογενή λεμφοζύδια μετά την 16^η έως την 20^η εβδομάδα της κύησης. Στις 13 εβδομάδες τα περισσότερα B κύτταρα είναι IgM+, IgD+ και έπειτα προστίθεται η IgG ή IgA.

Ο τριπλός αυτός φαινότυπος διατηρείται ως τη γέννηση και έπειτα μετατρέπεται στον απλό φαινότυπο του ενήλικα κατά τους πρώτους μήνες της ζωής.

Στη ηλικία των 10 εβδομάδων όλα τα B λεμφοκύτταρα του σπλήνα είναι IgM +, IgD+ ενώ στον μυελό των οστών μόνο το 30-40% συνεκφράζουν τις δύο



ανοσοσφαιρίνες. Η ωρίμανση του Β λεμφοκυττάρου σημαίνει και αλλαγή στην πυκνότητα των δύο ιστύπων από IgM high, IgD- σε IgM high IgD low και τελικά σε IgM low IgD high.

Η έκφραση της IgM συνοδεύεται με την εμφάνιση νέων δεικτών. Το CD21 βρίσκεται σε περισσότερα του 90% των λεμφοκυττάρων σε ηρεμία. Η ενεργοποίηση οδηγεί στην ταυτόχρονη απώλεια CD21 και CD22, ενώ εμφανίζεται το CD23.

Η IL-4 και η EBV (Epstein-Barr Virus) nuclear antigen 2 ((EBNA-2) αυξάνουν την έκφραση του CD23, ενώ η δράση της IL-4 μειώνεται από την INF- γ . Το CD24 μειώνεται καθώς το Β λεμφοκύτταρο ωριμάζει. Το CD45 ποικίλει με την ωρίμανση του Β λεμφοκυττάρου. Υπάρχει μικρή έκφραση στα άωρα προγονικά κύτταρα στον μυελό των οστών, αυξάνει καθώς προχωρεί η διαφοροποίηση του Β λεμφοκυττάρου και μειώνεται στα τελικά στάδια της διαφοροποίησης καθώς τα πλασματοκύτταρα είναι CD45 αρνητικά.

Τελική διαφοροποίηση

Τα περιφερικά λεμφικά όργανα είναι τα σημεία όπου γίνεται η τελική διαφοροποίηση των Β κυττάρων κάτω από την επίδραση των Τ κυττάρων και των κυτταροκινών, καθώς τα αντιγόνα παγιδεύονται από τα δενδριτικά κύτταρα.

Τα αντιγόνα παγιδεύονται στους τοπικούς λεμφαδένες στα λεμφοζύδια από τα follicular dendritic cells (FDC) και στο μυελό από τα μακροφάγα.

Το αντιγόνο που παγιδεύεται από το δενδριτικό κύτταρο παραμένει στην επιφάνεια των κυτταροπλασματικών προσεκβολών δημιουργώντας το δίκτυο δέσμευσης αντιγόνου (antigen retaining reticulum).

Υπάρχουν δύο είδη FDC, ένα με νηματοειδείς δενδρίτες και ένα με κομβολογοειδείς δενδρίτες.

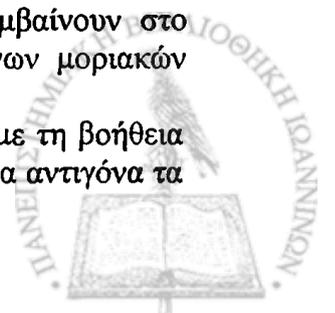
Μικρός αριθμός Β βλαστών που έχουν ενεργοποιηθεί σε εξωζώδες Τ εξαρτώμενες περιοχές εγκαθίστανται εντός των οζιδίων τρεις ημέρες περίπου μετά την ανοσοποίηση και διεγείρουν την αντίδραση του βλαστικού κέντρου (germinal center)

Η αυξημένη μιτωτική δραστηριότητα έχει ως αποτέλεσμα την δημιουργία αρκετών χιλιάδων Β βλαστών που γεμίζουν τον χώρο γύρω από τους δενδρίτες. Όταν το δίκτυο των FDC γεμίσει με τους βλάστες αυτοί μετακινούνται προς τον ένα πόλο του δικτύου και δημιουργούν την σκοτεινή ζώνη (dark zone) του βλαστικού κέντρου η οποία στον λεμφαδένα βρίσκεται προς την Τ περιοχή. Στο στάδιο αυτό οι βλάστες ονομάζονται κεντροβλάστες, συνεχίζουν να πολλαπλασιάζονται (εκφράζουν το πυρηνικό αντιγόνο Ki67) και δεν εκφράζουν ή την εκφράζουν πολύ ασθενώς την επιφανειακή ανοσοσφαιρίνη (Ig). Το δίκτυο των FDC στην περιοχή αυτή είναι λεπτό και αρνητικό για CD23. Στη συνέχεια οι κεντροβλάστες δημιουργούν τα κεντροκύτταρα τα οποία μετακινούνται προς μια πυκνή FDC ζώνη (CD23+) γνωστή ως apical light zone. Η ζώνη αυτή διαχωρίζεται από τη σκοτεινή ζώνη με την basal light zone επίσης πυκνή σε FDC αλλά CD23-. Τα FDC εκφράζουν CD21 και CD54 καθώς και άλλα μόρια. Εντός του οζώδους μανδύα (follicular mantle) υπάρχει λεπτή, εξωτερική ζώνη με FDC CD23- που περιέχει Τ κύτταρα και μερικούς Β λεμφοβλάστες.

Στο βλαστικό κέντρο τα Β λεμφοκύτταρα οδηγούν σε κλωνική αύξηση, αλλαγή έκφρασης ισότυπου ανοσοσφαιρίνης Ig (isotype switching) και σωματική μετάλλαξη (somatic mutation).

Οι πολύπλοκες κυτταρικές και μοριακές αλληλεπιδράσεις που συμβαίνουν στο βλαστικό κέντρο έγιναν εν μέρει κατανοητές με τη χρήση μοντέρνων μοριακών τεχνικών και παραδοσιακών ιστολογικών τεχνικών (Lee et al, 1999)

Η διαφοροποίηση Β κυττάρων ειδικών προς κάποιο αντιγόνο γίνεται με τη βοήθεια τουλάχιστον δύο ειδών κυττάρων: τα FDC και τα Τ κύτταρα ειδικά για αντιγόνα τα



οποία μεταναστεύουν στο λεμφοζίδιο και δημιουργούν μια μικρή αλλά σημαντική ομάδα. Οι κυτταρικές αλληλεπιδράσεις γίνονται μέσω πολλών μοριακών ομάδων. Εκτός της μεμβρανικής Ig και του TCR που εξασφαλίζουν την ειδικότητα, το CD40 και ο συνδέτης του, καθώς και το CD28 και το B7-2 είναι ιδιαίτερης σημασίας.

Το CD40 μια δια μεμβρανική πρωτεΐνη και μέλος της οικογένειας υποδοχέων TNF- α εκφράζεται στα B λεμφοκύτταρα του βλαστικού κέντρου και στα FDC. Αλληλεπιδρά με μια πρωτεΐνη γνωστή ως CD40-ligand. Το CD40-L δεν εκφράζεται στα ήρεμα T-λεμφοκύτταρα αλλά εμφανίζεται αρχικά στα CD4+ T μια έως δύο ώρες μετά την ενεργοποίηση.

Η αναστολή της αλληλεπίδρασης CD40- CD40L (με anti-CD40 αντίσωμα) κατά τη διάρκεια της ανοσοποίησης σταματά την παραγωγή αντισωμάτων, τη δημιουργία πλασματοκυτταρικών εστιών, τη δημιουργία βλαστικού κέντρου και την παραγωγή κυττάρων μνήμης.

Η συγγενής ανοσοανεπάρκεια γνωστή ως X-linked hyper IgM syndrome φανερώνει την σημασία της αλληλεπίδρασης CD40-CD40L. Το σύνδρομο που χαρακτηρίζεται από φυσιολογική ή αυξημένη συγκέντρωση IgM και σημαντικά μειωμένες τις IgG και IgA συνοδεύεται από υποτροπιάζουσες λοιμώξεις, κυκλική ουδετεροπενία, ασυνήθη ευαισθησία στην Pneumocystis carinii. Φαίνεται πως προκύπτει από σημειακή μετάλλαξη στο γονίδιο του CD40-L.

Η αλληλεπίδραση CD40-CD40L αυξάνει την έκφραση του B7 (CD80) στα B κύτταρα και έτσι την επιπλέον ενεργοποίηση των B κυττάρων.

Η συνενεργοποίηση αυτή περιορίζεται στα δενδριτικά κύτταρα, μακροφάγα και B κύτταρα και συνδέεται με την έκφραση του CD80. Άρα η αλληλεπίδραση μεταξύ B-7 CD28/CTLA-4 θα οδηγήσει σε επιπλέον αύξηση της ενεργοποίησης των T κυττάρων και αυξημένη απελευθέρωση κυτταροκινών.

Οι επιπτώσεις των παραπάνω αλληλεπιδράσεων είναι η δημιουργία κλώνου κυττάρων, αλλαγής τάξεως Ig, δημιουργία B κυττάρων μνήμης και ωρίμανσης της συγγένειας του αντισώματος προς το αντιγόνο.

Το πολλαπλασιαζόμενο B λεμφοκύτταρο εμφανίζει αυξημένο αριθμό σωματικών μεταλλάξεων οι οποίες οδηγούν σε ανταλλαγές νουκλεοτιδίων στις αναδιαταγμένες μεταβλητές (variable) περιοχές και στις παρακείμενες αλληλουχίες.

Υπάρχουν 4 εκδοχές για τα αν αυτές οι σωματικές μεταλλάξεις αυξάνουν την συγγένεια του αντισώματος για το αντιγόνο, δεν την αλλάζουν καθόλου, ή την μειώνουν ή οδηγούν σε αυτοάνοση αντίδραση.

Τα κύτταρα που έχουν υποστεί υπερμεταλλάξεις μετατρέπονται σε κεντροκύτταρα και μετακινούνται από την dark zone στην apical zone όπου υπάρχει μια διαδικασία επιλογής. Όσα έχουν μετατραπεί σε αυτοαντιδραστικά ή έχουν μειωμένη συγγένεια οδηγούνται σε απόπτωση είτε αυτομάτως ή μετά από την αναγνώριση τους από T κύτταρα. Τα κεντροκύτταρα με αυξημένη συγγένεια διαφεύγουν της απόπτωσης και αποκτούν ακόμη μεγαλύτερη συγγένεια, διαδικασία που ήταν γνωστή ως affinity maturation. Τα κύτταρα αυτά θα διαφοροποιηθούν τελικά σε πλασματοκύτταρα ή B κύτταρα μνήμης.

Η επιβίωση των κεντροκυττάρων επιτυγχάνεται με την αύξηση της έκφρασης της πρωτεΐνης Bcl-2 και επιπλέον αποτρέπεται από διάφορα ερεθίσματα όπως ο υποδοχέας αντιγόνου, η αλληλεπίδραση CD40-CD40L, CD23 και IL-1 α .

Επιφανειακή Ανοσοσφαιρίνη(Ig)

Η επιφανειακή ανοσοσφαιρίνη αποτελεί τον υποδοχέα του αντιγόνου στην επιφάνεια των B λεμφοκυττάρων. Η πρώτη ανοσοσφαιρίνη που ανιχνεύεται είναι η IgM, η



οποία δεν έχει την πενταμερή δομή της εκκρινόμενης μορφής αλλά αποτελείται από δύο μονάδες.

Ο δεύτερος ισότυπος που εμφανίζεται είναι η IgD με την μορφή του πλήρους μορίου με 4 αλυσίδες ή σαν μισό μόριο.

Οι επιφανειακές ανοσοσφαιρίνες μαζί με τα αντιγόνα ιστοσυμβατότητας είναι διαμεμβρανικές πρωτείνες.

Σύμπλεγμα υποδοχέα αντιγόνου B κυττάρου:

Η επιφανειακή ανοσοσφαιρίνη (Ig) στα B λεμφοκύτταρα δημιουργεί σύμπλεγμα μαζί με διάφορα στοιχεία : υπάρχει η δομή αναγνώρισης (recognition structure) επιφανειακή Ig , και η δομή μετάδοσης (transducer structure) (ετεροδιμερές από δύο πολυπεπτιδικές αλυσίδες Iga/β). Η επιφανειακή Ig συνδέεται με το αντιγόνο μέσω των ειδικών σημείων αντιγονικής σύνδεσης. Η κυτταροπλασματική ουρά της IgM δεν μπορεί να μεταδώσει μηνύματα. Υπάρχουν δύο άλλες πολυπεπτιδικές αλυσίδες οι Iga και Igβ που σχετίζονται με την μεμβρανική IgM .Οι αλυσίδες αυτές κωδικοποιούνται από τα γονίδια mb-1 και B-29. Η κυτταροπλασματική ουρά αυτών των πρωτεϊνών περιλαμβάνει συγκεκριμένη αλληλουχία αμινοξέων γνωστή ως antigen receptor homology motif-1 (ARH-1) ή antigen recognition activation motif. Η ίδια αλληλουχία βρίσκεται και σε άλλες αλυσίδες όπως οι γ, δ, ζ αλυσίδες του CD3. Ονομάζεται πλέον Immunoreceptor Tyrosine Activation Motif (ITAM).

Η διαμεμβρανική περιοχή της Cμ είναι απαραίτητη για τη σύνθεση του Iga/ Ig β ετεροδιμερούς και αποτελεί περιοχή υψηλής σταθερότητας του μορίου Ig.

Τα γονίδια mb-1 και B-29 είναι ενεργά μόνο στην B σειρά και εκφράζονται ακόμη και πριν την συναρμολόγηση του V γονιδίου. Στα κύτταρα του μυελώματος εκφράζεται μόνο το B-29 και όχι το mb-1 , και έτσι δεν εκφράζεται η IgM στα πλασματοκύτταρα . Άρα είναι απαραίτητη η παρουσία του συμπλέγματος IgM και Iga /Ig β για την έκφραση της επιφανειακής IgM .

Ο υποδοχέας του B κυττάρου (B-cell receptor,BCR) σχετίζεται με την Src οικογένεια πρωτεϊνών κινάσης τυροσίνης (PTK) που περιλαμβάνουν τις fyn, lck, lyn, blk, syk. Σε κατάσταση ηρεμίας οι PTK ενώνονται στο μη φωσφορυλιωμένο ARH-1 της Iga. Η σύνδεση αντιγόνου με τον υποδοχέα ενεργοποιεί την p72 syk έτσι ώστε ενεργοποιούνται τα μέλη της Src και φωσφορυλιώνονται στο τμήμα ITAM. Αυτή η φωσφορυλίωση είναι από τις πιο πρώιμες επιπτώσεις της σύνδεσης του BCR . Μεταλλάξεις στα υπολείμματα των αμινοξέων που φωσφορυλιώνονται μπλοκάρουν την μετάδοση των μηνυμάτων.

Χαρακτηριστικό της ενεργοποίησης των B κυττάρων μέσω του BCR είναι η πολλαπλότητα των κινάσων τυροσίνης που χρησιμοποιούνται και οι οποίες ενεργοποιούν διαφορετικούς δρόμους. Τουλάχιστον 3 δρόμοι ενεργοποιούνται. Ένας περιλαμβάνει ενεργοποίηση της φωσφατιδυλοϊνσιτόλης 4,5 διφωσφορικής ειδικής φωσφολιπάσης C (PLC-γ) που οδηγεί στην υδρόλυση της 1,4,5 τριφωσφορικής ινσιτόλης (InsP3) και διαγλυκερόλης GAC. Τα μόρια αυτά έχουν δράση 2^{ου} αγγελιοφόρου και απελευθερώνουν Ca⁺⁺ από ενδοκυττάρια αποθήκες και ενεργοποιούν την πρωτεϊνική κινάση C. Ο δεύτερος δρόμος περιλαμβάνει τη χαμηλού μοριακού βάρους πρωτεΐνη G p21ras που ενεργοποιεί την microtubule associated protein kinase 2 (MADK) η οποία φωσφορυλιώνει c-zyn . Ο τρίτος δρόμος ενεργοποιεί την κινάση φωσφατιδυλ-ινσιτόλη-3 (PI-3k), ένζυμο που φωσφορυλιώνει τον δακτύλιο ινσιτόλης των φωσφολιπιδίων ινσιτόλης.



Ενεργοποίηση Β κυττάρων μέσω βοηθητικών δομών

Πολλά άλλα επιφανειακά μόρια λαμβάνουν μέρος στη μετάδοση μηνυμάτων στα Β κύτταρα. Το σύμπλεγμα υποδοχέα CD19/21/TAPA ενεργοποιεί πρωτεϊνικές κινάσες που συνδέονται με το CD19.

Η σύνδεση με τον BCR οδηγεί σε γρήγορη φωσφορυλίωση του CD22.

Η ενεργοποίηση των Β λεμφοκυττάρων γίνεται και μέσω της δράσης διαφόρων κυτταροκινών, όπως :

- IL-4: η IL-4 ενώνεται με τον διαμεμβρανικό υποδοχέα (IL-4R). Οι κινάσες που συνδέονται με τον IL-4R ανήκουν σε ομάδα γνωστή ως Janus kinases (JAKS). Ο μηχανισμός με τον οποίο η IL-4 ρυθμίζει την μεταγραφή των γονιδίων περιλαμβάνει μια οικογένεια μεταγραφικών παραγόντων γνωστών ως STATs (signal transducers and activators of transcription).
- IL-5 : η ενεργοποίηση μέσω IL-5 περιλαμβάνει την φωσφορυλίωση κινασών όπως PI-3 κινάση, Vav και Shc πρωτεΐνες εκ των οποίων οι δύο τελευταίες τουλάχιστον περιλαμβάνονται στην ενεργοποίηση του δρόμου RAS.
- IL-6 : είναι κυτταροκίνη με πολλές δράσεις ανάμεσα στις οποίες και η τελική διαφοροποίηση των Β κυττάρων. Η IL-6 συνδέεται με τον υποδοχέα της (IL-6R) . Ο IL-6R σχετίζεται με την πρωτεΐνη gp 130 η οποία μετατρέπεται σε διμερές όταν η IL-6 ενώνεται με τον υποδοχέα. Η πρωτεΐνη gp130 είναι κοινή και για άλλους υποδοχείς κυτταροκινών και ξεκινά την μετάδοση του μηνύματος . Τα διμερή gp130 οδηγούν στην ενεργοποίηση JAK κινασών και της STAT-3 καθώς και του μεταγραφικού παράγοντα NF-IL-6.

Πολυκλωνική ενεργοποίηση

Μερικές ουσίες μπορούν να ενεργοποιήσουν τα Β λεμφοκύτταρα ανεξάρτητα από την αντιγονική τους ειδικότητα. Η απάντηση σε αυτές τις ουσίες περιλαμβάνει όλους τους Β κλώνους και έτσι αυτές οι ουσίες ονομάζονται polyclonal B activators (PBA).

Στις ουσίες αυτές περιλαμβάνονται: δομές μικροβίων όπως LPS, PPD, σταφυλοκοκκική πρωτεΐνη Α, στρεπτολυσίνη Ο , πνευμονοκοκκικός πολυσακχαρίτης ΙΙΙ, δεξτράνες , pokweed mitogen (PWM).

Πλασματοκύτταρα

Αποτελούν απογόνους των Β λεμφοκυττάρων και διακρίνονται μορφολογικά από άλλα κύτταρα. Είναι στρογγυλά ή οβάλ κύτταρα με έκκεντρο πυρήνα και χρωματίνη τοποθετημένη με τέτοιο τρόπο ώστε να δίνει την εικόνα 'τροχού'. Έχουν μέγεθος 5 έως 30 μm. Υπάρχει καλά καθορισμένη περιτυρητική ζώνη που περιέχει την συσκευή Golgi. Το κυτταρόπλασμα είναι έντονα βασεόφιλο λόγω του μεγάλου περιεχομένου με ριβονουκλεοπρωτεΐνη. Το καλά οργανωμένο ενδοπλασματικό δίκτυο εμφανίζει μερικές φορές διάταξη των δεξαμενών και έτσι δημιουργούνται τα σωμάτια Russell. Τα σωμάτια αυτά αποτελούνται από ανοσοσφαιρίνες. Μερικά πλασματοκύτταρα βάφονται ερυθρά έως μωβ αντί για μπλε και είναι γνωστά ως 'φλογοκύτταρα' (flaming plasma cells). Ο χρωματισμός αυτός αποδίδεται στην συσσώρευση εντός του ενδοπλασματικού δικτύου ανοσοσφαιρίνης με αυξημένο περιεχόμενο σε υδατάνθρακες .

Κάτω από συγκεκριμένες συνθήκες τα πλασματοκύτταρα περιέχουν μεγάλες ποσότητες ομοιογενούς υλικού που διατείνει το κύτταρο και χρωματίζεται γκρι ή κόκκινο. Τα κύτταρα αυτά ονομάζονται θησαυροκύτταρα.



Τα φλογοκύτταρα πιθανώς αποτελούν τα αρχικά στάδια των θησαυροκυττάρων . Φαίνεται πως αυτά τα δύο κύτταρα δημιουργούνται από διαταραχές στην έκκριση ανοσοσφαιρινών. Τα κύτταρα Mott που θεωρούνται πλασματοκύτταρα με πολλαπλά σωματία Russell μπορούν ακόμη να προέλθουν από πλήρη ή μερικό αποκλεισμό της έκκρισης της ανοσοσφαιρίνης. Στο μη εκκριτικό μυέλωμα συχνά τα κύτταρα μοιάζουν με θησαυροκύτταρα ή φλογοκύτταρα.

Το πιο ανώριμο πλασματοκύτταρο είναι η πλασμαβλάστη . Ο πυρήνας του έχει διασπασμένη χρωματίνη και μεγάλο πυρήνιο. Το ενδοπλασματικό δίκτυο είναι αραιό και το κυτταρόπλασμα γεμάτο ομάδες πολυριβοσωμάτων. Καθώς το κύτταρο ωριμάζει η χρωματίνη δημιουργεί συσσωρεύσεις και το ενδοπλασματικό δίκτυο επεκτείνεται . Το τυπικό λεμφοκύτταρο έως να γίνει πλασματοκύτταρο περνά από ενδιάμεσα στάδια. Τα στάδια αυτά είναι πιο εμφανή σε ασθενείς με πλασματοκυτταρικές δυσκρασίες ή ανοσολογικά νοσήματα με υπεργαμμασφαιριναιμία. Παρόμοια κύτταρα (Turk) υπάρχουν μερικές φορές σε ασθενείς με ιογενείς λοιμώξεις συμπεριλαμβανομένης της λοιμώδους μονοπυρήνωσης.

Βιοσύνθεση ανοσοσφαιρινών

Η μεγαλύτερη ποσότητα ανοσοσφαιρίνης συντίθεται σε ριβοσώματα κοντά στη μεμβράνη. Οι ελαφρές (L) και βαριές (H) αλυσίδες συντίθενται ξεχωριστά . Οι μεν βαρείες σε μεγάλα (270-300 S) πολυριβοσώματα, οι ελαφρές σε μικρότερα (190-200S). Σε φυσιολογικές συνθήκες οι ελαφρές αλυσίδες συντίθενται σε περίσσεια.

Μετά την ξεχωριστή σύνθεση οι ελαφρές και βαριές αλυσίδες συνδυάζονται για τον σχηματισμό του πλήρους ανοσοσφαιρινικού μορίου. Ο συνδυασμός των βαριών αλυσίδων γίνεται μόνο μεταξύ αλυσίδων της ίδιας τάξης. Η γλυκοζυλίωση ολοκληρώνεται στο σύστημα Golgi . Οι ενήλικες συνθέτουν περίπου 2-3g ανοσοσφαιρινών καθημερινά.

Υποπληθυσμοί B λεμφοκυττάρων

Ανιχνεύεται υποπληθυσμός B λεμφοκυττάρων που εκφράζει το αντιγόνο CD5 που συνήθως υπάρχει στα T κύτταρα.

Τα CD5+B κύτταρα αποτελούν μικρό υποπληθυσμό των φυσιολογικών B κυττάρων, και τον παθολογικό πληθυσμό της ΧΛΛ.

Είναι φαινοτυπικά όμοια με τα CD5-αλλά είναι μεγαλύτερα . Βρίσκονται σε αυξημένο αριθμό στην εμβρυική και νεογνική περίοδο (50% όλων των IgM+ κυττάρων) αλλά μειώνονται σημαντικά μετά τη γέννηση και ανιχνεύονται σε μικρό αριθμό στα δευτερογενή λεμφικά όργανα κατά την ενήλικη ζωή.

Κατά τη γέννηση τα B κύτταρα του ομφαλίου λώρου είναι στην πλειοψηφία τους CD5+, αλλά στην ενήλικη ζωή αποτελούν λιγότερο του 10% των B κυττάρων στον σπλήνα, λεμφαδένες και περιφερικό αίμα. Τα CD5+ κύτταρα έχουν μια ιδιαίτερη ικανότητα πολλαπλασιασμού και δημιουργούν αυτόματα κυτταρικές σειρές όταν υπάρχει c-myc πολλαπλασιασμός.

Υπάρχουν δύο απόψεις για την προέλευση των CD5+ B κυττάρων. Σύμφωνα με την πρώτη τα κύτταρα αυτά ανήκουν σε διαφορετική σειρά από αυτή άλλων B κυττάρων.

Εμφανίζονται νωρίς κατά τη οντογέννηση και στους ενήλικες υπάρχουν κυρίως στην περιτοναϊκή και υπεζωκοτική κοιλότητα και αυτοανανεώνονται, δηλαδή δεν προκύπτουν από προγονικά κύτταρα.

Σύμφωνα με τη δεύτερη θεωρία τα CD5+ προέρχονται από τα ίδια κύτταρα με τα υπόλοιπα B κύτταρα.



Τα CD5 + θεωρούνται πηγή αυτό-αντισωμάτων. Έχει διαπιστωθεί σε ασθενείς με ρευματοειδή αρθρίτιδα, Sjogren και σκληρόδερμα, αυξημένος αριθμός CD5+.

Αυξημένος αριθμός υπάρχει και στον μυελό των οστών μετά από μεταμόσχευση.

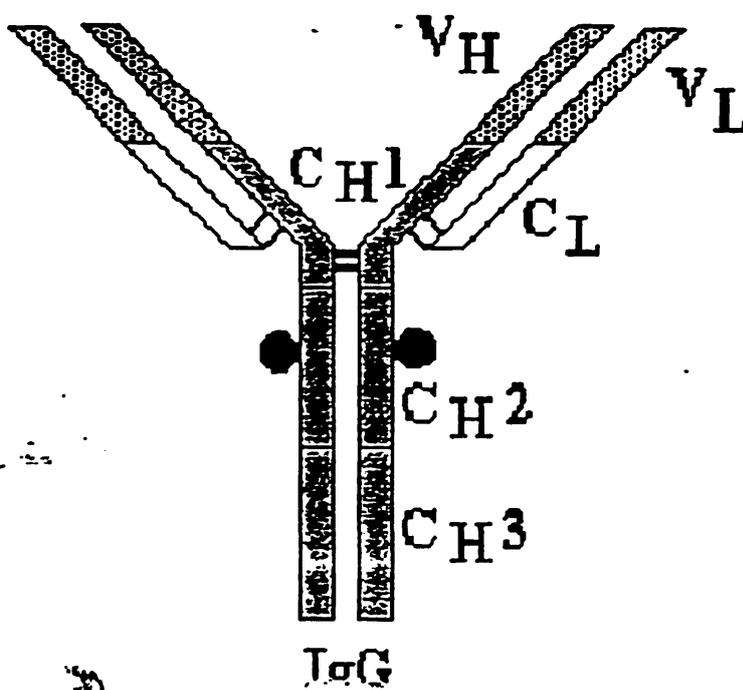
Το 95% των ασθενών με ΧΛΛ εκφράζουν το CD5 στα λευχαιμικά του κύτταρα.

Τα CD5+ κύτταρα κατά μια άποψη συνθέτουν αυτοαντισώματα όπως ψυχροσυγκολλητίνες, αντισώματα κατά κυτταροσκελετικών στοιχείων και ρευματοειδή παράγοντα, αλλά σύμφωνα με μια άλλη άποψη τα αντισώματα αυτά είναι πολυδραστικά.

Ανοσοσφαιρίνες

Πρόκειται για ετερογενή ομάδα γλυκοπρωτεϊνών ικανών να αδρανοποιούνε αντιγόνα (συμπεριλαμβανομένων και των ιών) και να ενεργοποιούνε μια εξωκυττάρια απάντηση. Αυτή περιλαμβάνει φαγοκυττάρωση από μακροφάγα ή ουδετερόφιλα ή και την ενεργοποίηση του συστήματος του συμπληρώματος.

Το πλασματοκύτταρο είναι το κύτταρο όπου γίνεται η σύνθεση των ανοσοσφαιρινών. Διακρίνονται 5 υποτάξεις ή ισότυποι ανοσοσφαιρινών: IgG, IgA, IgM, IgD, IgE. Η ανοσοσφαιρίνη IgG αποτελεί το 80% των ανοσοσφαιρινών του ορού και αποτελείται από τέσσερις υποομάδες (IgG1, IgG2, IgG3, IgG4). Η IgA εμφανίζει 2 υποομάδες (IgA1, IgA2) και αποτελεί την κύρια ανοσοσφαιρίνη των εκκρίσεων του γαστρεντερικού, ενώ οι IgD και IgE παίρνουν μέρος σε αντιδράσεις αλώτερης υπερευαισθησίας.



Σχηματική παράσταση μορίου ανοσοσφαιρίνης



Δομή ανοσοσφαιρινών :

Κάθε ανοσοσφαιρίνη έχει σχήμα Y και αποτελείται από δύο μακριά ταυτόσημα πολυπεπίδια (55-70 kilodalton) γνωστά ως βαριές αλυσίδες και δύο πιο κοντά ταυτόσημα πολυπεπίδια 25 kd γνωστά ως ελαφρές αλυσίδες. Οι τέσσερις αλυσίδες ενώνονται μεταξύ τους με δισουλφιδικούς δεσμούς και μη-ομοιοπολικούς δεσμούς έτσι ώστε το στέλεχος του Y να αποτελείται μόνο από βαριές αλυσίδες ενώ τα άκρα από ελαφρά και βαριά αλυσίδα.

Τα αμινοτελικά άκρα στην περιοχή των βαριών και ελαφρών αλυσίδων είναι οι περιοχές όπου ενώνεται ο επίτοπος των αντιγόνων. Έτσι κάθε αντίσωμα έχει την ικανότητα να συνδέεται με δύο ταυτόσημους επίτοπους.

Το ένζυμο παπαΐνη χωρίζει το μόριο του αντισώματος σε 3 περιοχές : στο Fc τμήμα που αποτελείται από το στέλεχος του Y και περιέχει ίσα τμήματα από τις δύο βαριές αλυσίδες και στα δύο Fab τμήματα που αποτελούνται από το υπόλοιπο τμήμα της βαριάς αλυσίδας και από ολόκληρη την ελαφρά αλυσίδα.

Η αλληλουχία των αμινοξέων για το τμήμα Fc είναι σταθερή για κάθε τάξη ανοσοσφαιρινών. Η αλληλουχία των αμινοξέων για την περιοχή Fab είναι μεταβλητή έτσι ώστε να υπάρχει ειδικότητα του αντισώματος για συγκεκριμένο αντιγόνο. Κάθε αντίσωμα είναι ειδικό για συγκεκριμένο επίτοπο. Υπάρχουν στοιχεία πως κάθε άτομο έχει 10^6 έως 10^9 διαφορετικά αντισώματα, το καθένα ειδικό για συγκεκριμένο αντιγόνο. Κάθε αντίσωμα προέρχεται από κύτταρα του ίδιου κλώνου, δηλαδή υπάρχουν 10^6 έως 10^9 κλώνοι.

Μικρός αριθμός ανοσοσφαιρινών που συντίθεται από τα B λεμφοκύτταρα βρίσκεται στη μεμβράνη τους όπου λειτουργεί ως υποδοχέας αντιγόνου. Οι ανοσοσφαιρίνες αυτές διαφέρουν λίγο από τα αντισώματα γιατί έχουν τμήματα για σύνδεση με την κυτταρική μεμβράνη.

Χαρακτηριστικά ανοσοσφαιρινών

IgA : κυκλοφορεί στο αίμα ως διμερές ή μονομερές και αποτελεί ποσοστό 10-15% των ανοσοσφαιρινών. Δεν διαπερνά τον πλακούντα, ενώνεται προσωρινά με τα επιθηλιακά κύτταρα κατά την έκκριση. Ονομάζεται και εκκριτικό αντιγόνο γιατί ανιχνεύεται στα δάκρυα, το σάλιο, στον αυλό του εντέρου και στη ρινική κοιλότητα ως διμερές. Οι μονάδες του διμερούς ενώνονται μεταξύ τους με την πρωτεΐνη J που παράγεται από τα πλασματοκύτταρα και προστατεύεται από την πρωτεόλυση από ένα εκκριτικό στοιχείο που παράγουν τα επιθηλιακά κύτταρα. Η IgA δρά εναντίων αντιγόνων και μικροοργανισμών στον αυλό του εντέρου, την ρινική κοιλότητα, τον κόλπο και στους επιπεφυκότες. Εκκρίνεται και στο γάλα και παρέχει παθητική ανοσία στο νεογνό. Στο αίμα κυκλοφορεί ως μονομερές και βοηθά τα ηωσινόφιλα στο αναγνωρίζουν και να καταστρέφουν παράσιτα.

IgD : αποτελεί λιγότερο του 1% των ανοσοσφαιρινών στην κυκλοφορία, δεν διαπερνά τον πλακούντα και ενώνεται με την κυτταρική μεμβράνη των B λεμφοκυττάρων. Είναι επιφανειακή ανοσοσφαιρίνη, βοηθά τα B λεμφοκύτταρα να αναγνωρίσουν το αντιγόνο και να διαφοροποιηθούν προς πλασματοκύτταρα.

IgE : αποτελείται από μια μονάδα και βρίσκεται στο αίμα σε ποσοστό λιγότερο του 1%. Δεν διαπερνά τον πλακούντα. Ενώνεται με τα μαστοκύτταρα και τα βασεόφιλα. Καθώς αρκετές ανοσοσφαιρίνες της κυτταρικής μεμβράνης ενώνονται με αντιγόνα η IgE οδηγεί στην αποκοκκίωση των βασεόφιλων και των μαστοκυττάρων με συνέπεια την απελευθέρωση ουσιών όπως η ισταμίνη και η ηπαρίνη. Τα ηωσινόφιλα και τα



ουδετερόφιλα απελευθερώνουν χημειοτακτικούς παράγοντες και λευκοτριένες. Η IgE οδηγεί στην έκλυση αντιδράσεων υπερευαισθησίας και βοηθά τα ηωσινόφιλα να καταστέψουν παράσιτα.

IgG : αποτελεί το μεγαλύτερο ποσοστό των ανοσοσφαιρινών στην κυκλοφορία (80%) και αποτελείται από μια μονάδα. Ενώνεται με τα μακροφάγα και τα ουδετερόφιλα. Διαπερνά τον πλακούντα και εκκρίνεται στο μητρικό γάλα. Δρά στον καταρράκτη του συμπλήρωματος, έχει δράση οψωίνης δηλαδή επικαλύπτει μικροοργανισμούς και διευκολύνει την φαγοκυτταρώση τους από μακροφάγα και ουδετερόφιλα καθώς αυτά τα κύτταρα έχουν υποδοχείς για το Fc τμήμα της ανοσοσφαιρίνης. Παίρνει μέρος επίσης στην κυταροτοξικότητα μέσω αντισώματος (antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity) από ενεργοποιημένα NK κύτταρα.

IgM : βρίσκεται στα αίμα σε ποσοστό 5-10% του συνόλου των ανοσοσφαιρινών και αποτελείται από πέντε μονάδες. Δεν διαπερνά τον πλακούντα. Βρίσκεται στην μεμβράνη των B λεμφοκυττάρων ως μονομερές. Η δομή του πενταμερούς ενώνεται με J πρωτεΐνες. Η IgM είναι η πρώτη ανοσοσφαιρίνη που συντίθεται κατά την αρχική ανοσολογική απάντηση. Ενεργοποιεί τα σύστημα του συμπλήρωματος.

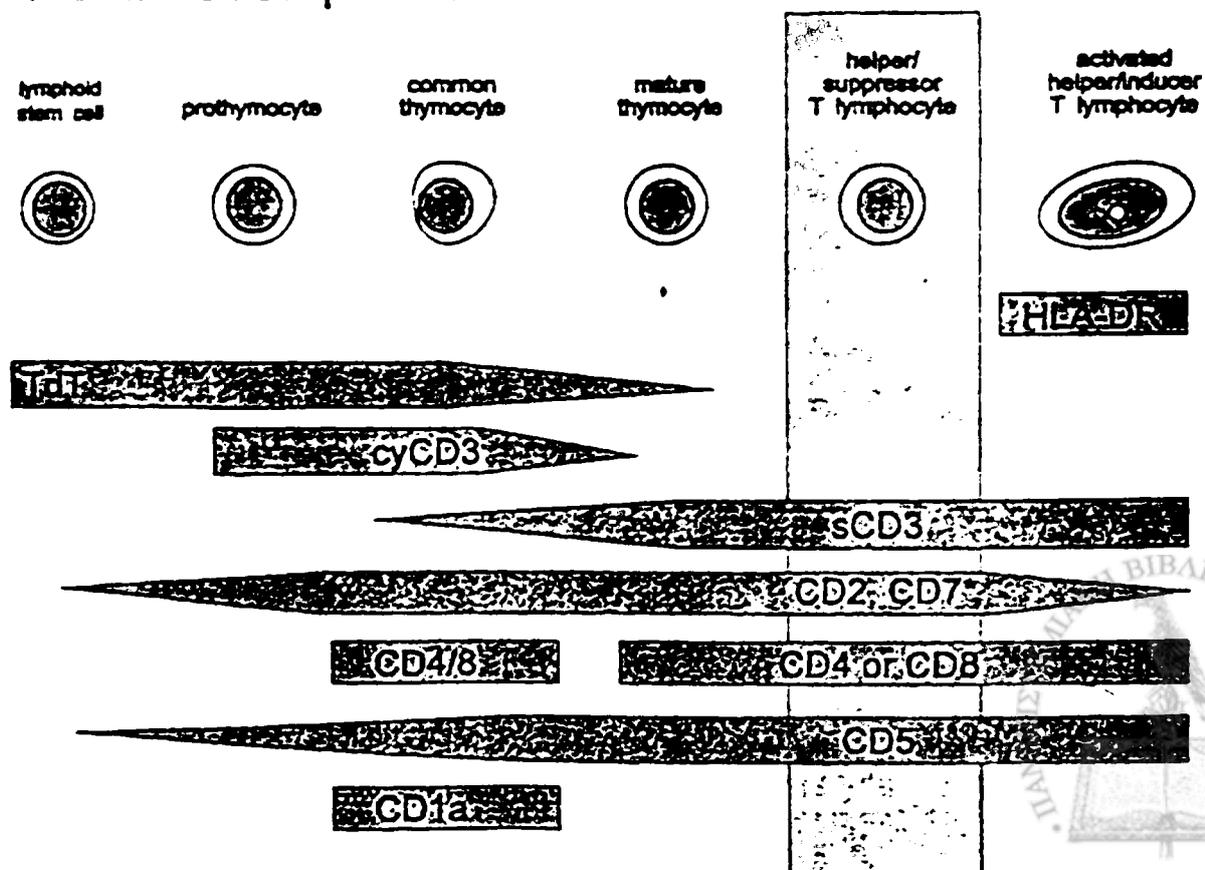
T-Λεμφοκύτταρα

Επιφανειακοί κυτταρικοί δείκτες

Με τη χρήση των μονοκλωνικών αντισωμάτων μπορούν να ανιχνευθούν ειδικά T-κυτταρικά αντιγόνα. Έτσι διαχωρίζονται λειτουργικά διαφορετικοί υποπληθυσμοί.

Τα ανώριμα T λεμφοκύτταρα (θυμοκύτταρα) και τα ενεργοποιημένα T-κύτταρα εκφράζουν δείκτες που δεν υπάρχουν στα ήρεμα T κύτταρα. Οι δείκτες αυτοί χρησιμοποιούνται στην εκτίμηση των ασθενών με λευχαιμία, λοίμωξη ή αυτοάνοσο νόσημα.

T-cell development



CD1

Κωδικοποιείται από 5 γονίδια (CD1A-CD1E) που βρίσκονται στο χρωμόσωμα 1 και οδηγούν στη σύνθεση 5 πρωτεϊνών (CD1a-CD1e). Οι πρωτεΐνες CD1 υπάγονται σε 2 κατηγορίες : ομάδα 1 (CD1a,b,c και αντιγόνα διαφοροποίησης θυμοκυττάρων) και ομάδα 2 (CD1d, e) . Οι διαφορές μεταξύ τους οφείλονται σε διαφορετικά αμοινοξέα.

Η δομή των CD1 πρωτεϊνών θυμίζει αυτή των πρωτεϊνών MCH τάξεως I . Πρόκειται για ετεροδιμερή μιας βαρείας αλυσίδας (CD1a-e) και μιας ελαφράς υποομάδας που είναι η β2 μικροσφαιρίνη.

Οι βαρείες αλυσίδες του CD1 δημιουργούν συμπλέγματα με άλλες πρωτεΐνες . Η CD1a δημιουργεί συμπλέγματα με μία ή περισσότερες CD8a αλυσίδες στα θυμοκύτταρα , σχετίζεται ακόμη με HLA τάξεως I όπως και με την CD1b και CD1c.

Η ομάδα 1 του CD1 μορίου εκφράζεται στα διπλοθετικά θυμοκύτταρα που βρίσκονται στο φλοιό του θύμου. Η πλειοψηφία των CD1+ θυμοκυττάρων θα πεθάνουν εντός του θύμου(αρνητική επιλογή) και έτσι αντιπροσωπεύουν το αδιέξοδο της θυμικής διαφοροποίησης. Η ομάδα 1 εκφράζεται επίσης στα δένδριτικά κύτταρα και αρχικά εντοπίστηκε στα κύτταρα Langerhans της επιδερμίδας. Μετά από επίδραση GM-CSF ή IL-3 το CD1a εκφράζεται στα μονοκύτταρα. Τα Β κύτταρα του μανδύα των λεμφοζιδίων εκφράζουν το CD1c, όπως και η πλειοψηφία των κυττάρων του ομφαλίου λώρου. Παιδιά με σοβαρή συνδυασμένη ανοσοανεπάρκεια (severe combined immunodeficiency) εκφράζουν στα Β κύτταρα το CD1c .

Η παρουσία των μορίων της ομάδας 2 δεν είναι σταθερή στα θυμοκύτταρα. Το CD1d ανιχνεύεται στα εντερικά επιθηλιακά κύτταρα, τα επιθηλιακά κύτταρα των σπληναρίων και τα ηπατοκύτταρα.

Η λειτουργία των πρωτεϊνών της ομάδας 1 είναι η παρουσίαση του αντιγόνου με μηχανισμό ανάλογο εκείνου που χρησιμοποιούν τα MHC μόρια.

Οι CD1 πρωτεΐνες παρουσιάζουν κυρίως μη πεπτιδικά ξένα αντιγόνα, όπως τα οξέα που υπάρχουν στα λιπίδια του Mycobacterium tuberculosis. Η δράση τους πάντως δεν έχει διευκρινισθεί πλήρως.

CD2

Δομή : πρόκειται για γλυκοπρωτεΐνη που εκφράζεται νωρίς κατά τη διαφοροποίηση των T κυττάρων και υπάρχει σε όλα τα ώριμα λεμφοκύτταρα. Αποτελείται από εξωκυττάριο, διαμεμβρανικό και ενδοκυττάριο τμήμα. Παρουσιάζει δομικές ομοιότητες με άλλα μόρια όπως το CD48 και το CD58 και αποτελεί ξεχωριστή οικογένεια εντός της υπερ-οικογένειας των ανοσοσφαιρινών . Το γονίδιο αυτών των πρωτεϊνών βρίσκεται στο χρωμόσωμα 1. Η εξωκυττάρια περιοχή αποτελείται από 4 Ig περιοχές (δύο V και δύο C) ενώ η κυτταροπλασματική ουρά από τρία υπολείμματα σερίνης που δυνητικά μπορεί να φωσφορυλιωθούν.

Η οικογένεια CD2 εμφανίζει ομοιότητες με την οικογένεια του καρκινοεμβρυικού αντιγόνου (CEA).

Λειτουργία : το CD2 συμμετέχει σε λειτουργία προσκόλλησης και ενεργοποίησης. Ο φυσικός συνδέτης του είναι το CD58 (lymphocyte function antigen 3 , LFA -3) το οποίο εκφράζεται ευρέως στα αιμοποιητικά κύτταρα και σε άλλους ιστούς. Η σύνδεση του CD2 με το LFA-3 βοηθά την προσκόλληση των T κυττάρων στα αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα και οδηγεί τον υποδοχέα του T λεμφοκυττάρου (TCR) στην κατάλληλη απόσταση ώστε να αλληλεπιδρά με τα συμπλέγματα MCH



πεπτιδία. Το CD2 σχετίζεται χαλαρά με τον TCR και έτσι ίσως συμμετέχει στην ενεργοποίηση των T κυττάρων.

Κατανομή: βρίσκεται στα βοηθητικά T κύτταρα, στα μονοκύτταρα (με μικρότερη πυκνότητα), στα αιμοποιητικά αρχέγονα κύτταρα, στα δενδριτικά κύτταρα και στα ενεργοποιημένα ηωσινόφιλα.

CD3

Δομή Σύμπλεγμα 5 πρωτεϊνών που συνδυάζεται πάντα με τον υποδοχέα (T cell receptor, TCR) στην επιφάνεια των T λεμφοκυττάρων. Τρεις από τις πρωτεΐνες αυτές ανήκουν στην Ig υπερ-οικογένεια και αποτελούν το CD3 : CD3γ, CD3δ, CD3ε. Δύο άλλες πρωτεΐνες (όχι Ig) ,οι αλυσίδες ζ και η συνδυάζονται με το CD3 είτε ως ομοδιμερή ζ-ζ, είτε ως ετεροδιμερή ζ-η. Οι αλυσίδες αυτές αποτελούνται από μακριές κυτταροπλασματικές ομάδες με περιοχές όπου μπορεί να γίνει φωσφορυλίωση, άρα είναι σημαντικές για την αλληλεπίδραση με κινάσες τυροσίνης (PTK) για τη μετάδοση μηνυμάτων. Περιοχές αναγνώρισης από αντιγόνο : οι α και β (ή γ και δ) αλυσίδες του TCR. Τα γονίδια για τα CD3 γ, δ και ε βρίσκονται στο χρωμόσωμα 11q23 και για τη ζ αλυσίδα στο χρωμόσωμα 1q22.

Κατανομή Βρίσκεται στα θυμοκύτταρα (δυπλό θετικό στάδιο) και στα ώριμα T λεμφοκύτταρα, όπως και στο κυτταρόπλασμα των ανώριμων T λεμφοκυττάρων.

Λειτουργία Μετάδοση μηνυμάτων.

CD4

Πρόκειται για γλυκοπρωτεΐνη που αποτελείται από μια πολυπεπτιδική αλυσίδα που έχει τέσσερις εξωκυττάριας Ig-like περιοχές, μια διαμεμβρανική περιοχή και μια μακριά κυτταροπλασματική περιοχή με τρία υπολείμματα σερίνης τα οποία μπορούν να φωσφορυλιωθούν.

Στις Ig like περιοχές (D1-D4) έχουν εντοπισθεί σημεία με τα οποία το CD4 ενώνεται με το MHC. Το CD4 αλληλεπιδρά με τα μόρια MHC τάξεως II. Το CD4 δρά ως προσκολλητικό μόριο και έτσι ενισχύει τη συγγένεια σύνδεσης με τον TCR.

Στα κυτταροτοξικά CD4+ T κύτταρα το CD4 ενδυναμώνει τη δημιουργία συμπλέγματος ανάμεσα στο κύτταρο και το στόχο. Η μεταφορά μηνυμάτων μέσω του CD4 γίνεται μέσω της κινάσης της τυροσίνης p56 lck, μέλος της src οικογένειας κινασών τυροσίνης.

Το γονίδιο του CD4 βρίσκεται στο χρωμόσωμα 12. Το CD4 αποτελεί υποδοχέα του HIV. Το μόριο CD4 ενώνεται με το καρβοξυλικό άκρο της γλυκοπρωτεΐνης gp120 του εξωτερικού φακέλου του ιού. Φαίνεται πως απαιτείται παρουσία συν- υποδοχέα ώστε ο ιός HIV να εισέλθει στα κύτταρα.

CD5

Το μόριο αυτό εκφράζεται στα ώριμα T κύτταρα και τα περισσότερα θυμοκύτταρα και σε υποπληθυσμό B κυττάρων. Αποτελείται από εξωκυττάρια, διαμεμβρανική και κυτταροπλασματική περιοχή. Το CD5 οδηγεί στην ενεργοποίηση και τον πολλαπλασιασμό των T κυττάρων με την έκκριση της IL-2 και την έκφραση IL-2 υποδοχέων. Προάγει τη δραστηριότητα κινάσης τυροσίνης και την ενεργοποίηση της PKC. Το CD5 σχετίζεται με τον TCR και άλλους υποδοχείς που βρίσκονται στα φυσιολογικά T κύτταρα και είναι μέλος μεγάλων μοριακών συμπλεγμάτων που συμμετέχουν στην ενεργοποίηση των T κυττάρων. Ο συνδέτης του CD5 είναι το CD72 που εκφράζεται στα B κύτταρα.



CD7

Πρωτεΐνη που ανήκει στην Ig υπερ-οικογένεια γιατί η εξωκυττάρια περιοχή έχει ένα Ig-like τμήμα. Το γονίδιο της βρίσκεται στο χρωμόσωμα 17. Ανιχνεύεται στην πλειοψηφία των T-λεμφοκυττάρων του περιφερικού αίματος και των θυμοκυττάρων. Θεωρήθηκε από τους πιο πρώιμους T δείκτες, όμως σήμερα είναι γνωστό πως υπάρχει και στα προγονικά κύτταρα της μυελικής σειράς καθώς και στα προγονικά των B λεμφοκυττάρων. Έχει ανιχνευθεί σε περιπτώσεις οξέων λευχαιμιών μαζί με άλλους δείκτες της μυελικής σειράς ή επί απουσίας άλλων δεικτών ειδικών για κάποια σειρά θεωρείται πως αντιπροσωπεύει stem cell λευχαιμία. Άρα μπορεί να θεωρηθεί δείκτης αδιαφοροποίητου αιμοποιητικού κυττάρου.

Η λειτουργία του δεν είναι σαφής. Αυξάνει την προσκολλητικότητα των T κυττάρων μέσω των ιντεγκρινών β1 και β2. Ίσως είναι βοηθητικό μόριο στην ενεργοποίηση των T λεμφοκυττάρων. Άμεσα συμμετέχει στην ενεργοποίηση των γ/δ+ T κυττάρων και στην προσκόλληση των NK κυττάρων στην φμπρονεκτίνη.

CD8

Η δομή του εξαρτάται από το είδος και τον ιστό. Υπάρχουν δυο πολυπεπτιδικές αλυσίδες : CD8α και CD8β. Στα τρωκτικά το CD8 είναι ετεροδιμερές. Στον άνθρωπο είναι ομοδιμερές σε ορισμένες υποκατηγορίες TCR -γ/δ και NK κύτταρα και συνεκφράζεται με ετεροδιμερές στα περιφερικά T κύτταρα και στα θυμοκύτταρα. Είναι μέλος της υπερ- οικογένειας Ig.

Το γονίδιο CD8α βρίσκεται κοντά στο βραχύ σκέλος του χρωμοσώματος 2 , κοντά στην περιοχή των κ αλυσίδων . Ίσως να προέρχονται από κοινό προγονικό γονίδιο. Το γονίδιο CD8β βρίσκεται κοντά στο α γονίδιο.

Το μόριο CD8 συνδέεται ειδικά με μόρια MHC τάξεως I .Αν και τα MCH μόρια είναι πολυμορφικά το CD8 συνδέεται με τα περισσότερα από αυτά άρα συνδέεται με την μονομορφική περιοχή του μορίου MHC τάξης I .

Το CD8 και ο TCR ενώνονται σε διαφορετικό, μη αλληλοκαλυπτόμενο σημείο του ίδιου μορίου HLA τάξεως I. Το CD8 έχει δράση συν-υποδοχέα για TCR και η αλληλεπίδραση του με το πεπτίδιο HLA είναι σημαντική για την κυτταροτοξική δράση . Στην αλληλεπίδραση αυτή ο TCR αυξάνει την συγγένεια σύνδεσης του CD8 με το HLA τάξης I , η οποία επί απουσίας της είναι μικρή και ανιχνεύεται μόνο σε υψηλές συγκεντρώσεις του CD8.

Κατανομή : Θυμοκύτταρα, T κύτταρα (κυτταροτοξικά) και σε υποληθυσμό των NK κυττάρων (ιδίως των CD57)

CD25

Όπως στα B λεμφοκύτταρα

CD27

Βρίσκεται στα T κύτταρα (CD4 και CD8) και στα θυμοκύτταρα του μυελού του θύμου. Μέλος της οικογένειας των υποδοχέων TNF (περιλαμβάνονται 2 τύποι TNF υποδοχέων το CD30, CD40 και το αντιγόνο Fas (CD45).

Ο συνδέτης του CD27 είναι το CD70 που είναι πρωτεΐνη τύπου II. Το CD27 σχετίζεται με κυτταρική ενεργοποίηση και διαφοροποίηση και η έκφραση του αυξάνεται όταν ενεργοποιούνται μέσω TCR «αθώα» T λεμφοκύτταρα (CD45RA). Μετά από ενεργοποίηση των κυττάρων και μετατροπή του φαινότυπου σε CD45RO το κύτταρο αυξάνει την έκφραση του CD27 και τελικά μετατρέπεται σε CD27(-). Τα CD4 + CD27- T κύτταρα είναι καλά διαφοροποιημένα T βοηθητικά κύτταρα που εκκρίνουν σημαντικά ποσά IL-4, IL-5 και INF-γ.



Η σύνδεση του CD27 με το CD70 προκαλεί δεύτερο σήμα για την ενεργοποίηση των T κυττάρων, το οποίο ίσως είναι σημαντικό για την ποικιλία και την ανοσολογική απάντηση και την ρύθμιση της κυτταρικής επιβίωσης. Κατά την ενεργοποίηση απελευθερώνεται διαλυτή μορφή η οποία ανιχνεύεται σε μεγάλα ποσά στον ορό των ασθενών με λεμφοϋπερπλαστικά νοσήματα.

CD28

Ανήκει στην υπερ-οικογένεια Ig. Το γονίδιο βρίσκεται στο χρωμόσωμα 2. Το CD28 εκφράζεται στο 94% των CD4 και στο 50% των CD8 κυττάρων και στα πλασματοκύτταρα.

Συνδέεται με το CD80 (B7) που εκφράζεται στα ενεργοποιημένα B λεμφοκύτταρα και σε άλλα αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα. Η IFN- γ οδηγεί στην έκφραση B7 στα μονοκύτταρα και εμφανίζεται και στα T κύτταρα όταν ενεργοποιούνται. Κατά την παρουσίαση του αντιγόνου είναι απαραίτητη η σύνδεση του TCR αλλά απαιτείται και δεύτερο σήμα για την ενεργοποίηση και την έκκριση λεμφοκινών. Το σήμα αυτό προέρχεται από το CD28 και τους συνυποδοχείς του. Η συνδιέγερση αυτή αυξάνει την έκκριση της IL-1a, IL-2 και INF- γ .

Το CD28 σχετίζεται με την κινάση PI-3, σημαντική για τη σύνθεση DNA και ενώνεται με άλλους υποδοχείς, όπως οι PDGF-R, CSF-1, c-kit.

Η σύνδεση του CD28 στα CD4+ κύτταρα από αντί-CD28 αντίσωμα οδηγεί σε ανάπτυξη TH2 κυττάρων. Ενδεχομένως η συνδιέγερση του B7-1 οδηγεί προς TH-1 κύτταρα ενώ του B7-2 προς TH2 αλλά δεν είναι επιβεβαιωμένο πλήρως.

CD40L (CD154)

Πρωτεΐνη τύπου II με σημαντική ομολογία με τον TNF- α . Βρίσκεται σε ενεργοποιημένα T-κύτταρα. Ο σημαντικός ρόλος της ένωσης CD40-CD40L στην χυμική ανοσία έγινε εμφανής στο σύνδρομο ανοσοανεπάρκειας με υπερ-IgM που προκαλείται από σημειακή μετάλλαξη στο γονίδιο Xq24-24 που κωδικοποιεί την CD40L.

CD52 (CAMPATH-1H)

Δομή: έντονα γλυκοζυλιωμένη μικρή πρωτεΐνη (μόνο 12 αμινοξέα) με άγκυρα GPI
Κατανομή: Βρίσκεται στα B και T λεμφοκύτταρα (εκτός από τα πλασματοκύτταρα), στα κοκκιοκύτταρα και στα ηωσινόφιλα (όχι στα ερυθρά και στα αιμοπετάλια). Πολύ υψηλή πυκνότητα στα λεμφοκύτταρα (4.5×10^5 μόρια / κύτταρο)

Λειτουργία: Αντισώματα κατά του CD52 έχουν χρησιμοποιηθεί για τη θεραπεία λεμφικών νεοπλασμάτων, αυτοανόσων διαταραχών και στην μεταμόσχευση του μυελού των οστών. Οδηγούν σε λύση μέσω του συμπληρώματος λόγω της άφθονης έκφρασης του CD52.



Ενζυμικοί Δείκτες

1.Κυτταροπλασματικά ένζυμα

Ο πιο αξιόπιστος T- δείκτης είναι η α -naphthylacid esterase (ANAE) . Πρόκειται για λυσοσωματικό ένζυμο που βρίσκεται στην συσκευή Golgi.

Η χαρακτηριστική αντίδραση των T- λεμφοκυττάρων είναι μια έντονη κηλιδώδης, καλά περιγεγραμμένη χρώση σε αντίθεση με τη διάχυτη ή διεσπασμένη εικόνα των B λεμφοκυττάρων και μονοκυττάρων.

2.Ένζυμα με κυτταροπλασματική και πυρηνική εντόπιση

Η TdT εντοπίζεται τόσο στον πυρήνα όσο και στο κυτταρόπλασμα. Το ένζυμο αυτό προσθέτει τριφωσφορικά δεοξυνουκλεοτίδια στο 3'- υδροξυλικό άκρο πολυνουκλεοτιδίων χωρίς να χρειάζεται υπόστρωμα. Διαφέρει από τις DNA πολυμεράσες γιατί χρειάζεται μόνο μια αλυσίδα DNA για να ξεκινήσει την προσθήκη νουκλεοτιδίων.

Η TdT εκφράζεται στον θύμο και η ενζυμική της δραστηριότητα μειώνεται στα δύο πρώτα χρόνια της ζωής ενώ έπειτα αυξάνεται και παραμένει υψηλή έως την εφηβεία. Στα φυσιολογικά παιδιά το 60-85% των θυμοκυττάρων στον φλοιό είναι TdT+ , ενώ μόνο το 3-5% των θυμοκυττάρων του μυελού είναι θετικά.

Το ένζυμο ανιχνεύεται ακόμη και σε κάποια κύτταρα του μυελού των οστών ,που ενδεχομένως να αντιπροσωπεύουν τα προγονικά κύτταρα των θυμοκυττάρων.

Η TdT χρησιμοποιείται ευρέως στην ανοσοφαινοτυπική διάγνωση των λευχαιμιών καθώς σε περιπτώσεις Οξείας Λεμφοβλαστικής Λευχαιμίας το 50% των βλαστών είναι TdT +, αν και ανιχνεύεται και σε περιπτώσεις μη-ΟΛΛ . Μερικές φορές συνεκφράζεται στους βλάστες μαζί με την μυελοϋπεροξειδάση.

Μορφολογία

Σε χρώση Giemsa ή Wright το T λεμφοκύτταρο έχει διάμετρο 5-8 μ m με αυξημένη αναλογία πυρήνα/ κυτταροπλάσματος. Ο πυρήνας είναι ιώδης με σφιχτά συνδεδεμένη χρωματίνη και το κυτταρόπλασμα δημιουργεί λεπτό δακτύλιο με ανοιχτό μπλέ χρώμα. Στο κυτταρόπλασμα υπάρχουν λίγα όργανα όπως μιτοχόνδρια και μικρή συσκευή Golgi.

ΑΝΑΠΤΥΞΗ Τ ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΩΝ

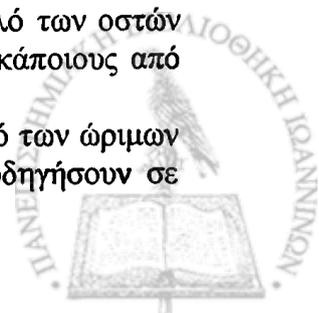
1.Προθυμικό Στάδιο

Τα προγονικά T λεμφοκύτταρα κατά την εμβρυική ζωή προέρχονται από το ήπαρ ενώ στην ενήλικη ζωή από τον μυελό των οστών.

Το ένζυμο TdT δεν εκφράζεται στα εμβρυικά κύτταρα. Η θυμική καταβολή εμφανίζεται περίπου στις 40 ημέρες κύησης και αποικίζεται από λεμφοκύτταρα στις 70-75 ημέρες. Κατά την εμβρυική ζωή προγονικά κύτταρα από τον λεκιθικό ασκό και το ήπαρ μεταναστεύουν στον θύμο ανάμεσα στις 6 και 22 εβδομάδες κύησης. Τα κύτταρα είναι CD3, CD4, CD8 αρνητικά , αλλά περιέχουν το CD3 ενδοκυττάρια. Τα T προγονικά κύτταρα είναι CD34+ και ασθενώς θετικά στο CD7.

Μετά τη γέννηση τα προγονικά T κύτταρα προέρχονται από τον μυελό των οστών και εκφράζουν το CD34. Το 2% των CD34 + κυττάρων εκφράζουν κάποιους από τους T δείκτες , ιδίως CD7, CD2 και το CD5.

Διαπιστώθηκε πως τα CD34+CD7+ κύτταρα οδηγούν στον σχηματισμό των ώριμων T κυττάρων, αν και σε καλλιέργειες τα CD34+CD7+ μπορούν να οδηγήσουν σε



δημιουργία μυελικών κυττάρων, άρα το CD7 εκφράζεται και σε φυσιολογικά προγονικά μυελικά κύτταρα. Έτσι ίσως εξηγείται και η έκφραση του σε περιπτώσεις οξείας μυελογενούς λευχαιμίας.

Η παρουσία πρώιμων προγονικών μυελικών κυττάρων σε μικρό αριθμό στον θύμο ίσως να σημαίνει πως τα CD34 + κύτταρα (χωρίς δέσμευση προς κάποια σειρά) αποικίζουν τον θύμο, ο οποίος είναι το μόνο μέρος όπου συμβαίνει ωρίμανση προς την κατεύθυνση του T λεμφοκυττάρου(Lee et al,1999).

2.Θυμικό Στάδιο

α αλληλεπιδράσεις μεταξύ θυμοκυττάρων και στρώματος

Το μικροπεριβάλλον του θύμου παίζει σημαντικό ρόλο στη διαφοροποίηση των T λεμφοκυττάρων. Η θυμική καταβολή αναπτύσσεται από το τρίτο βραγχιακό τόξο.

Καθώς προχωρά η ωρίμανση του θυμοκυττάρου διεγείρει την επέκταση των μυελικών επιθηλιακών κυττάρων, τα οποία με τη σειρά τους οδηγούν τα T κύτταρα στην τελική διαφοροποίηση.

Για την ανάπτυξη των μυελικών επιθηλιακών κυττάρων απαιτείται η παρουσία του πλήρους συμπλέγματος TCR/CD3 και αλληλεπίδραση μεταξύ θετικών (CD4+ και CD8+) TCR/ αβ+ κυττάρων.

Τα προγονικά κύτταρα των T λεμφοκυττάρων μεταναστεύουν στον θύμο κάτω από την επίδραση χημειοτακτικών παραγόντων όπως η β2 - μικροσφαιρίνη. Αρχικά βρίσκονται στην μυελοφλοιική περιοχή ή υποκάψια , αλλά το ακριβές σημείο εισόδου δεν έχει ακόμη διευκρινισθεί.

Τα stem cells διαπερνούν το αγγειακό τοίχωμα χρησιμοποιώντας προσκολλητικά μόρια όπως το CD44 και αβ integrins. Το θυμικό στρώμα είναι πολύ ετερογενές και αποτελείται από επιθηλιακά κύτταρα, μακροφάγα και interdigitating dendritic cells.

Τα επιθηλιακά κύτταρα διαχωρίζονται σε 6 ομάδες (clusters I-IV)

- I. υποκάψιος τύπος : παράγει τις περισσότερες από τις θυμικές ορμόνες και είναι MHC αρνητικός.
- II. Οι τύποι 2,3,4 βρίσκονται στον φλοιό και εκφράζουν έντονα τα μόρια τάξεως II MHC αλλά ασθενώς τα τάξεως I . Είναι μεταβολικά ενεργα και παράγουν κυτταροκίνες.Δημιουργούν κυτταροπλασματικές προσεκβολές επικοινωνώντας με τα γειτονικά επιθηλιακά κύτταρα μέσω δεσμοσωμάτων και δημιουργούν συγκοίτιο. Μερικά περιβάλλουν θυμοκύτταρα και δημιουργούν τα θυμικά nurse cells. Η δομή αυτή είναι σημαντική για την επιλογή των T κυττάρων. Αν και στη δομή αυτή περιβαλλονται κυρίως CD4+CD8+ κύτταρα , έχουν αναφερθεί και μόνο CD4+.
- III. Οι τύποι 5 και 6 έχουν μικρές κυτταροπλασματικές προσεκβολές και πολλά εκκριτικά οργάνια.

Τα interdigitating dendritic cells του μυελού εκφράζουν MHC μόρια τάξεως II .

Η εξωκυττάρια ουσία είναι επίσης σημαντική στο μικροπεριβάλλον του θύμου. Αποτελείται από κολλαγόνες ίνες, ρεϊτικουλίνη, γλυκοζαμινογλυκάνες και γλυκοπρωτείνες. Η εξωκυττάρια ουσία υποστηρίζει την ανάπτυξη θυμοκυττάρων, επιθηλιακών κυττάρων και αλληλεπιδράσεων μεταξύ των κυττάρων.

Προγονικά κύτταρα T λεμφοκυττάρων και διαφοροποίηση

Τα προγονικά κύτταρα των T λεμφοκυττάρων στον θύμο χαρακτηρίζονται από απουσία δεικτών ιδίως των CD4και CD8 και ονομάζονται διπλά αρνητικά .Είναι μεγάλα κύτταρα που βρίσκονται σε μίτωση και εντοπίζονται στον υποκάψιο φλοιό .



Το CD34 εκφράζεται στο πιο ανώριμο θυμοκύτταρο. Τα κύτταρα αυτά συνεκφράζουν το CD7 και άλλους δείκτες όπως το CD2, CD5, CD71 και ένα μέρος από αυτά είναι CD10 (+). Η πλειοψηφία των CD34 είναι τριπλά αρνητικά (TN, triple negative) για τα CD3, CD4 και CD8, αν και λίγα εκφράζουν ασθενώς το CD4. Η έκφραση του CD1 ξεκινά όταν το κύτταρο είναι ακόμη τριπλά αρνητικό. Το CD1 απουσιάζει από τα πιο ανώριμα και από τα πιο ώριμα θυμοκύτταρα και περιφερικά T κύτταρα. Καθώς τα κύτταρα μετατρέπονται από τριπλά αρνητικά σε διπλά θετικά περνάνε από ενδιάμεσα στάδια κατά τα οποία εκφράζουν κατά σειρά τα CD1, CD4 και τελικά τα CD8 και CD3, πριν αποκτήσουν τον τυπικό ανοσοφαινότυπο του φλοιού θυμοκυττάρου που είναι CD3+, CD4+, CD8+, CD1+. Κατά τη διαδικασία της διαφοροποίησης το CD34 σταδιακά εξαφανίζεται και η ένταση έκφρασης του CD7 μειώνεται.

Τα πρώτα στάδια της ανάπτυξης των T λεμφοκυττάρων ρυθμίζονται από μια σειρά σημείων ελέγχου. Τα σημεία αυτά εξαρτώνται από το μικροπεριβάλλον του θύμου. Τα σημεία αυτά είναι κατά σειρά εμφάνισης : η έκφραση της α αλυσίδας της IL-2, η αναδιάταξη των γονιδίων των TCR- β και γ, η εμφάνιση της TCR-γδ σειράς, η έκφραση της διμερούς μορφής της β αλυσίδας του TCR και τελικά η έκφραση των CD4, CD8 και TCR-αβ. Στο στάδιο του διπλού θετικού κυττάρου τα κύτταρα υπόκεινται σε θετική επιλογή. Εάν ο TCR και ο CD8 περιβάλουν ένα πεπτιδικό σύμπλεγμα τάξεως I, τότε η έκφραση του CD4 μειώνεται. Αντίθετα όταν το πεπτιδικό σύμπλεγμα είναι τάξεως II τότε μειώνεται έκφραση του CD8.

Η τελική ωρίμανση είναι σταδιακή και αργή έως την ανάπτυξη του μονοθετικού T λεμφοκυττάρου.

Οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ των θυμοκυττάρων και των κυττάρων του στρώματος γίνονται με άμεση επικοινωνία (προσκολλητικά μόρια) και μεσολαβητές (κυτταροκίνες και θυμικές ορμόνες).

Σημαντικό ρόλο παίζει η IL-7 που παράγεται συνεχώς από τα επιθηλιακά κύτταρα και προάγει τον πολλαπλασιασμό των τριπλών αρνητικών θυμοκυττάρων. Τα CD34 κύτταρα παρουσία IL-7 εμφανίζουν το CD4 και το CD8 αλλά παραμένουν CD3 και TCR αρνητικά, δηλαδή χρειάζονται και άλλα ερεθίσματα για να δημιουργήσουν τα CD3+CD4+ CD8+ κύτταρα.

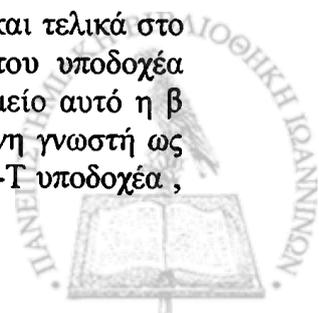
Άλλες κυτταροκίνες όπως οι IL-2, IL-1, IL-4 φαίνεται πως παίζουν ρόλο στην διαφοροποίηση των θυμοκυττάρων.

Επιλογή των T λεμφοκυττάρων

Προγονικά αιμοποιητικά κύτταρα μεταναστεύουν καθημερινά στον θύμο. Τα γονίδια του TCR των κυττάρων αυτών βρίσκονται σε κληρονομική διαμόρφωση (germ-line). Στο θύμο τα κύτταρα αυτά θα μετατραπούν σε πλήρως ώριμα T λεμφοκύτταρα. Το πιο σημαντικό γεγονός σε αυτή τη διαδικασία είναι η αναδιάταξη του γονιδίου του TCR.

Για να γίνει κατανοητή η διαφοροποίηση θεωρούμε πως υπάρχουν τρία φαινοτυπικά στάδια στην ενδοθυμική διαφοροποίηση: απουσία έκφρασης CD4, CD8 (διπλά αρνητικά), συνέκφραση των CD4, CD8 (διπλά θετικά) και έκφραση μόνο του CD4 ή CD8 (απλά θετικά).

Η διαφοροποίηση οδηγείται από τα διπλό αρνητικό στο διπλό θετικό και τελικά στο απλό θετικό στάδιο. Η αναδιάταξη του γονιδίου της β αλυσίδας του υποδοχέα συμβαίνει στα τελικά στάδια του διπλού αρνητικού σταδίου. Στο σημείο αυτό η β αλυσίδα είναι σημαντική γιατί δημιουργεί ετεροδιμερή με μια πρωτεΐνη γνωστή ως pre-Tα αλυσίδα. Το ετεροδιμερές αυτό δημιουργεί ένα σύμπλεγμα προ-T υποδοχέα,



που μεταφέρει μηνύματα στο ανώριμο διπλό αρνητικό θυμοκύτταρο. Τα σήματα αυτά οδηγούν στην ανάπτυξη του T κυττάρου και έτσι θα δημιουργηθούν πολλά CD4+CD8+ κύτταρα.

Τα διπλοθετικά κύτταρα έχουν χρόνο ζωής περίπου 3.5 ημέρες και θα οδηγηθούν στην απόπτωση εκτός αν η αλληλεπίδραση με το περιβάλλον μειώσει ή αυξήσει την επιβίωση τους.

Η μετάβαση από το διπλοθετικό στο απλοθετικό στάδιο απαιτεί την έκφραση του TCR/ αβ. Οι αναδιάταξεις του γονιδίου του υποδοχέα γίνονται με στοχαστική διαδικασία, έτσι ώστε κάποιοι υποδοχείς είναι χρήσιμοι (δηλαδή ικανοί να αναγνωρισουν αντιγόνα σε συνδυασμό με μόρια MHC), μερικοί είναι επιβλαβείς (αναγνωρίζουν αντιγόνα του οργανισμού) και μερικοί άχρηστοι. Η επιλογή των χρήσιμων κυττάρων γίνεται μέσω θετικής επιλογής ενώ τα βλαβερά κύτταρα καταστρέφονται μέσω αρνητικής επιλογής. Η θετική επιλογή σώζει τα κύτταρα από τον προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο, ενώ τα υπόλοιπα κύτταρα θα οδηγηθούν σε απόπτωση.

Η θετική επιλογή είναι μοναδική ιδιότητα των επιθηλιακών κυττάρων του θύμου και απαιτεί την παρουσία μορίων MHC.

Από τη δεξαμενή των διπλοθετικών κυττάρων θα πρέπει να επιλεγούν όχι μόνο τα χρήσιμα κύτταρα αλλά να δημιουργηθούν δύο ώριμοι πληθυσμοί T λεμφοκυττάρων.

Σήμερα θεωρείται πως η διαδικασία αυτή γίνεται στοχαστικά, δηλαδή σταματά τυχαία είτε η έκφραση του CD4 ή του CD8 και ακολουθεί θετική επιλογή.

Η θετική επιλογή εξαρτάται από την συγγένεια του TCR για το σύμπλεγμα MHC/ πεπτιδίο, τη συγκέντρωση του πεπτιδίου και την παρουσία άλλων μορίων.

Τα κύτταρα με υποδοχέα που έχει αυξημένη συγγένεια για τα αντιγόνα του οργανισμού οδηγούνται σε αρνητική επιλογή ενώ εκείνα με μειωμένη συγγένεια σε θετική επιλογή.

Μερικές περιπτώσεις σοβαρής συνδυασμένης ανοσοανεπάρκειας έχουν συνδυασθεί με αδυναμία έκφρασης της πρωτεΐνης ZAP- 70 που είναι κινάση τυροσίνης των T κυττάρων, υπογραμμίζοντας έτσι την σημασία της στην ανάπτυξη των T κυττάρων.

Η σύνδεση με τον TCR οδηγεί, είτε στην ώριμανση του T κυττάρου, είτε στην απόπτωση, και αυτές οι δύο εντελώς αντίθετες κατευθύνσεις εξαρτώνται από την ενεργοποίηση διαφορετικών οδών. Τα περισσότερα θυμοκύτταρα θα οδηγηθούν στην απόπτωση και θα φαγοκυττάρωθουν από τα μακροφάγα. Τα γλυκοκορτικοειδή οδηγούν εύκολα τα ανώριμα θυμοκύτταρα σε απόπτωση (Lee et al, 1999)

Ανάπτυξη T κυττάρων εκτός Θύμου

Το εντερικό επιθήλιο φαίνεται πως έχει την ικανότητα να στηρίζει την ανάπτυξη T κυττάρων ανεξαρτήτως του θύμου. Τα πρώτα κύτταρα που προέρχονται από το εντερικό επιθήλιο είναι γδ+ και έπειτα μετατρέπονται σε αβ+

3. Μεταθυμικό στάδιο

Όταν τα T λεμφοκύτταρα αφήσουν τον θύμο θα μεταναστεύσουν σε συγκεκριμένες περιοχές των δευτερογενών λεμφικών οργάνων. Στους λεμφαδένες η περιοχή αυτή είναι ο παραφλοιός (ή εν τω βάθει φλοιός) και στον σπλήνα η περιοχή γύρω από τα αρτηριόλια (περι-αρτηριολιακή λεμφική θήκη).



Η ενεργοποίηση των T κυττάρων μετατρέπει τον φαινότυπο από CD45RA σε CD45RO. Τα κύτταρα αυτά έχουν μειωμένα επίπεδα Bcl-2, άρα η Bcl-2 μπορεί να ρυθμίζει την μνήμη των T κυττάρων και την ομοιότητα.

Η διάρκεια ζωής των T κυττάρων διακρίνεται σε βραχεία (λιγότερο από 2 εβδομάδες) και μακρά (περισσότερο από δύο εβδομάδες).

Γονίδια του υποδοχέα των T λεμφοκυττάρων

Υπάρχουν τέσσερα γονίδια για τον TCR. Το α που βρίσκεται στο χρωμόσωμα 14, το β και γ που βρίσκονται στο χρωμόσωμα 7 και το γονίδιο δ επίσης στο χρωμόσωμα 14.

Εμφανίζουν παρόμοια οργάνωση με τα γονίδια των ανοσοσφαιρινών. Αποτελούνται από μεταβλητές (variable, V) και σταθερές περιοχές (constant, C). Η μεταβλητή περιοχή αποτελείται από τρία τμήματα (V,J,D) για τα β και δ γονίδια , αλλά μόνο δύο τμήματα (V,J) για τα α και γ γονίδια.

Η ποικιλία του TCR γονιδίου προέρχεται από τις αναδιατάξεις μεταξύ V,J τμημάτων. Σε αντίθεση με τις ανοσοσφαιρίνες στους TCR δεν συμβαίνουν σωματικές υπερμεταλλάξεις.

Το σύμπλεγμα TCR αβ

Αποτελείται από δύο υποομάδες. Η μια υπομάδα είναι έντονα πολυμορφική και μοναδική για κάθε T λεμφοκύτταρο και παίρνει μέρος στην αναγνώριση του αντιγόνου. Η άλλη ομάδα είναι ταυτόσημη σε όλα τα T κύτταρα και συμμετέχει στην μετάφορα μηνυμάτων που οδηγούν στην ενεργοποίηση των T κυττάρων.

Ο υποδοχέας σχετίζεται με το CD4 και CD8 που παίζουν ρόλο συν-υποδοχέα και με μια διαμεμβρανική φωσφατάση τυροσίνης.

Σημείο σύνδεσης αντιγόνου

Πρόκειται για ετεροδιμερές που αποτελείται από α και β αλυσίδα . Τα ετεροδιμερή ενώνονται μεταξύ τους με δισουλφιδικούς δεσμούς και βρίσκονται στην κυτταρική μεμβράνη την οποία και διαπερνούν. Το εξωκυττάριο τμήμα τους μοιάζει με το τμήμα Fab των ανοσοσφαιρινών και η άνω περιοχή των δύο αλυσίδων αποτελεί το τμήμα σύνδεσης του αντιγόνου. Τα μόρια MHC ενώνονται με το ετεροδιμερές αβ. Συνήθως τα αντιγόνα παρουσιάζονται στον υποδοχέα συνδεδεμένα με μόρια MHC , αν και μερικά υπερ-αντιγόνα δεν απαιτούν την παρουσία μορίου MHC για να συνδεθούν.

Μετάδοση μηνύματος

Οι αβ αλυσίδες έχουν μικρά κυτταροπλασματικά τμήματα για να μεταφέρουν μηνύματα στο εσωτερικό του κυττάρου. Η διαδικασία αυτή πραγματοποιείται μέσω πέντε άλλων πρωτεϊνών που ονομάζονται όλες μαζί CD3. Οι πρωτεΐνες αυτές ονομάζονται ε, γ, δ, ζ και η.

Τα CD4 και CD8 έχουν ρόλο συν-υποδοχέα στην μεταφορά μηνυμάτων.

Το CD45 (κοινό λευκοκυτταρικό αντιγόνο) είναι σημαντικό στην ενεργοποίηση των T κυττάρων γιατί ενεργοποιεί κινάσες τυροσίνης που συνδέονται με τον TCR και τους συνυποδοχείς του.

T-λεμφοκύτταρα γδ

Τα γδ T λεμφοκύτταρα βρίσκονται στα δευτερογενή λεμφικά όργανα και αποτελούν το 1-5% του συνόλου των T λεμφοκυττάρων. Αναγνωρίζουν το μόριο CD1c και όχι



μόρια MHC τάξεως I και II όπως τα αβ Τ κύτταρα. Είναι ικανά να αναγνωρίσουν τα μυκοβακτηρίδια χωρίς προηγούμενη έκθεση. Σημαντική είναι η κυτταρολυτική τους δραστηριότητα. Παράγουν μια σειρά από σημαντικές κυτταροκίνες όπως : IFN- γ , TNF- α , IL-2, IL-4.

Μορφολογικά μοιάζουν με τα μεγάλα κοκκίωδη λεμφοκύτταρα και περιέχουν αρκετά κοκκία στο κυτταρόπλασμα που αποτελούν πρωτογενή λυσοσωμάτια. Τα περισσότερα από τα γδ Τ κύτταρα δεν έχουν επιφανειακά CD4, CD8. Αποτελούν το 1-10% των CD3+ λεμφοκυττάρων.

Τ λεμφοκύτταρα αβ

Ο πληθυσμός αυτών των λεμφοκυττάρων είναι ετερογενής και αποτελείται κυρίως από δύο ομάδες : CD4 και CD8

A. CD4 και η θεωρία TH1/TH2

Τα CD4+ Τ αλληλεπιδρούν με τα μακροφάγα (ή άλλα αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα) και εκκρίνουν κυτταροκίνες. Η ενεργοποίηση αυτή με την σειρά της ενισχύει την αντιμικροβιακή δράση των μακροφάγων. Οι αλληλεπιδράσεις αυτές γίνονται είτε με άμεση επαφή των κυττάρων είτε μέσω κυτταροκινών .

Τα CD4+ Τ κύτταρα διακρίνονται στις κατηγορίες TH1 και TH2. Τα TH1 παράγουν IFN- γ , IL-2, TNF- β , ενώ τα TH2 παράγουν IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-13, και τα δύο είδη κυττάρων παράγουν IL-3, TNF- α , GM-CSF.

Τα TH1 προστατεύουν έναντι ενδοκυττάρων μικροοργανισμών αυξάνοντας την κυτταρική ανοσία (ενεργοποίηση μακροφάγων) ενώ τα TH2 προστατεύουν από λοιμώξεις από εξωκυττάρους οργανισμούς (παραγωγή αντισωμάτων).

Η TH1 απάντηση εκτός από προστασία έναντι συγκεκριμένων λοιμώξεων προκαλεί και ιστική βλάβη, ενώ η TH2 απάντηση προστατεύει από τη ιστική βλάβη μέσω των ιντερλευκινών IL-2, IL-4 που περιορίζουν την παραγωγή INF- γ .

Η TH2 απάντηση κυριαρχεί σε αλλεργικές καταστάσεις , μέσω της αύξησης της IgE (από την IL-4) και της ηωσινοφιλίας (IL-5).

B. CD8 Τ κύτταρα : διαφοροποίηση και λειτουργία

Τα CD8 αναγνωρίζουν μέσω του υποδοχέα τους (TCR) αντιγόνα συνδεδεμένα με μόρια MHC τάξεως I. Μετά την επίδραση του αντιγόνου το CD8 θα μετατραπεί σε κυτταροτοξικό κύτταρο.

Κύτταρα που οδηγούν στην παραγωγή κυτταροτοξικών Τ λεμφοκυττάρων είναι κυρίως αλλογενή κύτταρα, κύτταρα που έχουν προσβληθεί από ιούς, καρκινικά κύτταρα και κύτταρα μετά από δράση χημικών ουσιών. Τα αντιγόνα των αλλογενών κυττάρων που δημιουργούν κυτταροτοξικά κύτταρα είναι τα αντιγόνα του συστήματος ιστοσυμβατότητας I και II. Όταν τα αντιγόνα δεν ανήκουν στο παραπάνω σύστημα τότε θα πρέπει να παρουσιάζονται στα κυτταροτοξικά κύτταρα σε συνδυασμό με μόρια MHC τάξεως I. Αυτή η ιδιότητα των κυτταροτοξικών λεμφοκυττάρων είναι γνωστή ως περιορισμός MHC τάξεως I.

Τα CD4 κύτταρα βοηθούν στη δημιουργία Τ κυτταροτοξικών λεμφοκυττάρων. Η λύση των κυττάρων –στόχων από τα κυτταροτοξικά είναι ανεξάρτητη της παρουσίας του συμπληρώματος ή των αντισωμάτων. Γίνεται μέσω έγχυσης κυτταροτοξικών κοκκίων στα κύτταρα –στόχους. Κύρια ουσία των κοκκίων αυτών είναι η perforin. Ένας δεύτερος τρόπος δράσης των κυτταροτοξικών κυττάρων είναι η λύση των κυττάρων –στόχων μέσω ενεργοποίησης του μηχανισμού της απόπτωσης (μέσω του μορίου Fas που εκφράζεται στα κύτταρα-στόχους).

Όταν το κύτταρο καταστραφεί τότε το κυτταροτοξικό Τ κύτταρο θα ψάξει για τον επόμενο στόχο.



Μεγάλα Κοκκιώδη Λεμφοκύτταρα (Large Granular Lymphocytes)

Είναι μεγάλα κύτταρα με ωχρό, μπλέ κυτταρόπλασμα και αυξημένη αναλογία κυτταροπλάσματος – πυρήνα. Χαρακτηρίζονται από παρουσία αζουρόφιλων κοκκίων στο κυτταρόπλασμα τους. Αποτελούν το 2-6% των λευκών αιμοσφαιρίων στο περιφερικό αίμα και το 10-15% των λεμφοκυττάρων. Είναι μεγαλύτερα από τα τυπικά λεμφοκύτταρα (διάμετρος 10-12 μm), με περισσότερο κυτταρόπλασμα με κοκκία. Η κατανομή της α -ναφθυλ όξινης εστεράσης είναι παρόμοια με εκείνης στα μονοκύτταρα και δεν μοιάζει με την κατανόμη της στα T λεμφοκύτταρα (σαν κουκίδα).

Τα μεγάλα κοκκιώδη λεμφοκύτταρα είναι φαινοτυπικά και λειτουργικά ετερογενή. Μερικά είναι CD56+, CD3-, CD8-, TCR- και τα περισσότερα είναι CD16+ (80-90%). Άλλα είναι CD57+, CD3+, CD8+, TCR $\alpha\beta$ +. Και οι δύο κατηγορίες είναι κυτταροτοξικές αλλά μόνο τα CD56+ είναι τα κύτταρα φυσικοί φονείς (NK, natural killer cells), ενώ τα CD57+ είναι T κύτταρα χωρίς MHC περιορισμό.

Έχουν περιγραφεί νοσήματα που αφορούν και τους δύο πληθυσμούς.

Κύτταρα Φυσικοί Φονείς (Natural Killer cells, NK)

Αρχικά περιγράφηκαν με βάση την ικανότητα τους να καταστρέφουν καρκινικά κύτταρα αιμοποιητικής προέλευσης απουσία προηγούμενης διέγερσης. Έπειτα με τη χρήση μονοκλωνικών αντισώματων διαπιστώθηκε πως αποτελούν ξεχωριστό πληθυσμό κυτταροτοξικών λεμφοκυττάρων με διάφορες δραστηριότητες (δράση έναντι καρκινικών κυττάρων, ρύθμιση αιμοποίησης).

Τα προγονικά τους κύτταρα έχουν εντοπισθεί στον θύμο αλλά και στον μυελό των οστών. Η κυτταροτοξική τους δραστηριότητα εμφανίζεται όταν εκφράζεται το αντιγόνο CD56. Η IL-2 ενισχύει την κυτταροτοξική τους δράση. Τα NK παράγουν διάφορες κυτταροκίνες ιδίως IFN- γ , GM-SCF, TNF- α , IL-3, IL-8. Η IL-12 είναι το κύριο ερέθισμα για την παραγωγή IFN- γ .

CD56

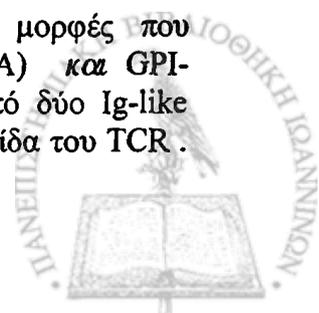
Δομή: αποτελεί ισομορφή του νευρικού μορίου προσκόλλησης (N-CAM). Η εξωκυττάρια περιοχή έχει 5 Ig-like περιοχές (C2) και δύο περιοχές τύπου φιμπρονεκτίνης III. Υπάρχουν διάφορες ισομορφές που προκύπτουν από εναλλακτική ωρίμανση του RNA. Το ανθρώπινο N-CAM –120 έχει σύνδεση GPI με τη μεμβράνη. Ποικιλίες προκύπτουν ακόμη από το βαθμό της σύνδεσης και τον τρόπο φωσφορυλίωσης και από τους δεσμούς θείου που αναπτύσσονται.

Κατανομή: βρίσκεται στα κύτταρα NK (όχι στα B και Τα λεμφοκύτταρα), επίσης στους νευρώνες, αστροκύτταρα, κύτταρα Schwann. Επίσης στα κύτταρα του μυελώματος και στα περιφερικά CD19 B που μπορεί να αντιπροσωπεύουν κλωνικά κύτταρα.

Λειτουργία: Μεσολαβεί στην ομόφιλη προσκόλληση και την ανάπτυξη του νευρικού συστήματος. Ο ρόλος του στην λειτουργία των NK είναι αντιφατικός.

CD16

Δομή: αποτελεί χαμηλής συγγένειας υποδοχέα του IgG. Δύο μορφές που κωδικοποιούνται από 2 γονίδια: διαμεμβρανική μορφή (Fc γ RIIIA) και GPI-συνδεδεμένη (Fc γ RIIIB). Η εξωκυττάρια περιοχή δημιουργείται από δύο Ig-like περιοχές (C). Συσχετίζεται με την γ -αλυσίδα του FcR-I και την ζ -αλυσίδα του TCR. Το γονίδιο του βρίσκεται στο χρωμόσωμα 1q23.



Κατανομή : Στα NK , μακροφάγα, μονοκύτταρα (Fcγ RIIIA) και στα ουδετερόφιλα (Fcγ RIIIB) . Δεν βρίσκεται στα ουδετερόφιλα των ασθενών με Παροξυσμική Νυχτερινή Αιμοσφαιρινουρία (PNH).

Λειτουργία: Στα NK κύτταρα είναι απαραίτητο για την κυτταροτοξικότητα μέσω αντισώματος (ADCC). Ο ρόλος στην φαγοκυττάρωση παραμένει αντιφατικός. Συμμετάχει στην μεταβίβαση μηνυμάτων στα κύτταρα NK με αύξηση του ασβεστίου και υδρόλυση των παραγώγων της φωσφοινοσιτόλης.

Βιολογική σημασία των NK κυττάρων

1. Φυσική ανοσία : Τα NK είναι από τα πιο σημαντικά κύτταρα της φυσικής ανοσίας . Στρέφονται κατά κυττάρων που έχουν μολυνθεί από ιούς.

2. Ρύθμιση ειδικής ανοσίας : αυξάνουν την απάντηση των Β και Τ λεμφοκυττάρων εκκρίνοντας IFN-γ. Η IFN- γ δρα στα μακροφάγα και αυξάνει την αντιγονοπαρουσιαστική τους λειτουργία. Δρά επίσης στην Τ κυτταρική διαφοροποίηση οδηγώντας σε TH1 απάντηση.

NK και νεοπλασματα

Τα NK επιτηρούν στον οργανισμό για παρουσία καρκινικών κυττάρων ή κυττάρων που έχουν προσβληθεί από ιούς.

Κάποιες καρκινικές ουσίες φαίνεται πως μειώνουν τη δραστηριότητα των NK κυττάρων. Μειωμένη δραστηριότητα των NK έχει παρατηρηθεί πριν από υποτροπή λευχαιμίας, σε γυναίκες με καρκίνο μαστού και μεταστάσεις στους επιχώριους λεμφαδένες, καθώς και σε ασθενείς με λέμφωμα.

Ανοσολογική απάντηση

Η λειτουργία του ανοσολογικού συστήματος βρίσκεται κάτω από γονιδιακό έλεγχο. Τα γονίδια που ελέγχουν τις ανοσολογικές λειτουργίες βρίσκονται σε χρωμοσωματική περιοχή που ονομάζεται **σύμπλεγμα μείζονος ιστοσυμβατότητας (Major Histocompatibility Complex, MHC)**. Στον άνθρωπο τα αντιγόνα που κωδικοποιούνται από το σύστημα αυτό έχουν ονομαστεί **Human Leukocytes Antigens (HLA)**. Το γονίδιο τους βρίσκεται στο βραχύ σκέλος του χρωμοσώματος 6 με μήκος 4000kb . Το σύμπλεγμα χωρίζεται σε τρεις περιοχές :

1. τάξη I που βρίσκεται σε τελικό άκρο του βραχέως σκέλους
2. τάξη II που βρίσκεται πιο κοντά στο κεντρομερικό άκρο
3. τάξη III , που βρίσκεται ανάμεσα στις δύο παραπάνω περιοχές.

Η περιοχή τάξης I περιλαμβάνει τα γονίδια A, B και C. Τα μόρια που κωδικοποιούνται από τα γονίδια αυτά είναι ετεροδιμερή μιας βαρειάς αλυσίδας ή α αλυσίδας και μιας ελαφράς αλυσίδας που ονομάζεται β2- μικροσφαιρίνη και η οποία κωδικοποιείται από γονίδιο στο χρωμόσωμα 15. Η α αλυσίδα εμφανίζει τρεις εξωκυττάριας περιοχές α1, α2, α3. Συγκεκριμένα αμινοξέα στην α3 αλυσίδα είναι σημαντικά για την αλληλεπίδραση με το CD8 (Delves, Roit, 2000)

Η β2- μικροσφαιρίνη είναι σημαντική στην μεταφορά της α αλυσίδας στην επιφάνεια του κυττάρου. Έρχεται σε επαφή με όλες τις εξωκυττάριας περιοχές της α αλυσίδας. Εκφράζεται σε όλα τα κύτταρα και μικρά ποσά ανιχνεύονται στο πλάσμα. Λόγω χαμηλού μοριακού βάρους διηθείται στα νεφρικά σπειράματα , αλλά επαναροφάται από τα νεφρικά σωληνάκια και στη συνέχεια καταβολίζεται. Σε ασθενείς με νεφρική νόσο υπάρχουν μεγάλα ποσά β2-μικροσφαιρίνης στα ούρα. Ανιχνεύεται σε αυξημένα ποσά και σε ασθενείς με λεμφοϋπερπλαστικά νοσήματα και στο πολλαπλό μυέλωμα.

Τα μόρια τάξεως I χαρακτηρίζονται από μεγάλη πολυμορφία και εκφράζονται σε όλους τους ιστούς.

Η περιοχή τάξεως II περιλαμβάνει τα γονίδια που ονομάζονται D και χωρίζονται σε υποομάδες DR, DQ και DP. Η ομάδα αυτή κωδικοποιεί γλυκοπρωτείνες που ρυθμίζουν τις κυτταρικές αλληλεπιδράσεις κατά την ανοσολογική απάντηση. Οι πρωτείνες αυτές ονομάζονται Ia αντιγόνα (Immune response antigens) και εκφράζονται με αυξημένη συχνότητα στα B λεμφοκύτταρα, σε υποπληθυσμούς μακροφάγων και σε δενδριτικά κύτταρα. Στα T λεμφοκύτταρα ανιχνεύονται σε μικρές ποσότητες σε συνθήκες ενεργοποίησης είτε in vitro είτε σε ορισμένες παθήσεις. Πάντως τα T λεμφοκύτταρα μπορούν να αποκτήσουν Ia αντιγόνα ενδεχομένως από τα μακροφάγα. Κύτταρα που διεγείρονται από την IFN- γ , όπως τα ενδοθηλιακά κύτταρα και τα αστροκύτταρα εκφράζουν Ia αντιγόνα.

Τα αντιγόνα αυτά αποτελούνται από 2 α και 2 β αλυσίδες που ενώνονται μεταξύ τους από μια τρίτη αλυσίδα I (invariant)

Η συναρμολόγηση αυτών των αλυσίδων γίνεται στο ενδοπλασματικό δίκτυο και σταθεροποιείται με την βοήθεια πρωτεϊνών που ονομάζονται chaperons.

Τα μόρια τάξεως II χαρακτηρίζονται από μεγάλη πολυμορφία.

Επεξεργασία και παρουσίαση των αντιγόνων

Η ενεργοποίηση των λεμφοκυττάρων από διάφορα αντιγόνα προϋποθέτει την επεξεργασία και παρουσίαση του αντιγόνου από άλλα κύτταρα (αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα).

Τα αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα φαγοκυτταρώνουν, καταβολίζουν και επεξεργάζονται αντιγόνα, συνδέουν τους επίτοπους των αντιγόνων με μόρια MHC II και παρουσιάζουν αυτό το σύμπλεγμα στα T λεμφοκύτταρα.

Τα περισσότερα αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα προέρχονται από τα μακροφάγα και ανήκουν στο σύστημα μονοκυττάρων-μακροφάγων.

Στα αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα ανήκουν τα μακροφάγα, τα δενδριτικά κύτταρα (όπως τα κύτταρα Langerhans στην επιδερμίδα και στο στοματικό βλενογόνο) και δύο τύποι που δεν ανήκουν στο παραπάνω σύστημα (B λεμφοκύτταρα και επιθηλιακά κύτταρα του θύμου).

Τα αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα συνθέτουν και απελευθερώνουν κυτταροκίνες, όπως η IL-1, IL-6, IL-12, TNF- α .

Αλληλεπιδράσεις μεταξύ λεμφοκυττάρων

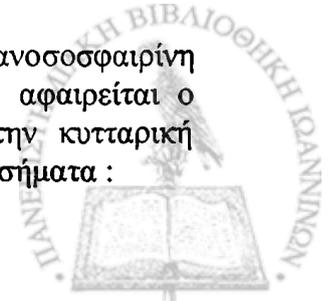
Η αποτελεσματική ανοσολογική απάντηση προϋποθέτει την αλληλεπίδραση των λεμφοκυττάρων. Η διαδικασία αυτή ρυθμίζεται από την αναγνώριση επιφανειακών μορίων, εάν δεν γίνει κάτι τέτοιο δεν συμβαίνει ανοσολογική απάντηση. Όταν γίνεται αναγνώριση των επιφανειακών αντιγόνων τότε τα λεμφοκύτταρα πολλαπλασιάζονται και διαφοροποιούνται. Η έναρξη αυτών των δύο απαντήσεων ονομάζεται ενεργοποίηση. Απαιτούνται δύο σήματα για την ενεργοποίηση :

1. Αναγνώριση του αντιγόνου (ή του αντιγονικού επίτοπου)
2. Αναγνώριση ενός δεύτερου συν-διεγερτικού σήματος το οποίο μπορεί να προέρχεται από κυτταροκίνη ή από μόριο που βρίσκεται στην κυτταρική μεμβράνη.

Χυμική απάντηση μέσω βοηθητικών T κύτταρων (TH2 cells)

Τα B λεμφοκύτταρα απαντούν σε αντιγόνα μόνο κάτω από την επίδραση βοηθητικών T2 κυττάρων (εκτός αν πρόκειται για θυμο-ανεξάρτητα αντιγόνα).

Όταν το B κύτταρο συνδέσει κάποιο αντιγόνο στην επιφανειακή του ανοσοσφαιρίνη τότε το σύμπλεγμα αντιγόνου-ανοσοσφαιρίνης ενδοκυτταρώνεται, αφαιρείται ο επίτοπος και συνδέεται με μόριο MHC II και παρουσιάζεται στην κυτταρική επιφάνεια στα TH2 κύτταρα. Στη συνέχεια θα πρέπει να υπάρξουν δύο σήματα :



A. το T κύτταρο θα πρέπει να αναγνωρίσει όχι μόνο τον επίτοπο με τον υποδοχέα του (TCR), αλλά και το μόριο MHC II με το μόριο CD4

B. ο υποδοχέας του CD40 θα πρέπει να συνδεθεί με το μόριο CD40 στα B κύτταρα.

Εάν και τα δύο παραπάνω μηνύματα ολοκληρωθούν, τότε το B κύτταρο ενεργοποιείται και πολλαπλασιάζεται. Κατά τον πολλαπλασιασμό, το T λεμφοκύτταρο απελευθερώνει τις κυτταροκίνες IL-4, IL-5, IL-6 και IL-10. Οι τρεις πρώτες οδηγούν τα νέα B κύτταρα να διαφοροποιηθούν προς κύτταρα μνήμης και πλασματοκύτταρα, ενώ η IL-10 αναστέλλει τον πολλαπλασιασμό των TH1 κυττάρων (Gardner et al, 2001)

Εξουδετέρωση κυττάρων προσβεβλημένων από ιούς μέσω TH1 βοηθητικών λεμφοκυττάρων

Προκειμένου τα T κυτταροτοξικά κύτταρα να αντιμετωπίσουν κύτταρα που έχουν μολυνθεί από ιούς θα πρέπει να λάβουν μηνύματα από TH1 λεμφοκύτταρα. Πριν όμως γίνει αυτό το TH1 λεμφοκύτταρο θα πρέπει να ενεργοποιηθεί από αντιγονοπαρουσιαστικό κύτταρο που θα φέρει τον κατάλληλο επίτοπο.

A. Ο υποδοχέας (TCR) και το μόριο CD4 του TH1 λεμφοκυττάρου θα πρέπει να αναγνωρίσουν το σύμπλεγμα επίτοπου- MHC II στην επιφάνεια του αντιγονοπαρουσιαστικού κυττάρου. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα να εκφραστεί στην επιφάνεια του αντιγονοπαρουσιαστικού κυττάρου το μόριο B7.

B. Το μόριο CD28 του TH1 ενώνεται με το B7.

Το TH1 κύτταρο ενεργοποιείται και απελευθερώνει IL-2, IFN- γ , και TNF. Η IFN- γ θα οδηγήσει στην ενεργοποίηση και πολλαπλασιασμό των κυτταροτοξικών κυττάρων εφόσον συμβαίνουν τα παρακάτω :

A. ο υποδοχέας (TCR) και το μόριο CD8 του κυτταροτοξικού αναγνωρίζουν το σύμπλεγμα MHC II - επίτοπος στο αντιγονοπαρουσιαστικό κύτταρο. Το μόριο CD28 θα πρέπει να ενωθεί με το μόριο B7.

B. Η IL-2 που θα ελευθερώνεται από τα TH1 κύτταρα ενώνεται με τον υποδοχέα της στο κυτταροτοξικό κύτταρο.

Ετσι ακολουθεί ενεργοποίηση του κυτταροτοξικού κυττάρου το οποίο πολλαπλασιάζεται. Τα κύτταρα αυτά αναζητούν κύτταρα που έχουν μολυνθεί ενώνοντας τον TCR και το CD8 με τον επίτοπο και το MHC II των μολυσμένων κυττάρων. Η καταστροφή του κυττάρου- στόχου μπορεί να γίνει με τους παρακάτω τρόπους :

1. η ένωση αυτή παρουσία ασβεστίου οδηγεί στην απελευθέρωση των perforins, που είναι ομάδα γλυκοπρωτεϊνών που μοιάζουν με το τμήμα C9 του συμπληρώματος. Οι περφορίνες επικάθονται στην μεμβράνη του κυττάρου και δημιουργούν πορους. Οι πόροι αυτοί γίνονται τόσο μεγάλοι που το κύτταρο δεν μπορεί πλέον να διατηρήσει την κυτταροπλασματική του ακαιρεότητα και τελικά νεκρώνεται.
2. από το κοκκία των κυτταροτοξικών κυττάρων απελευθερώνονται granzymes. Πρόκειται για ένζυμα που εισέρχονται δια των πορων που έχουν δημιουργήσει οι περφορίνες και οδηγούν το κύτταρο σε απόπτωση.
3. η ένωση των δύο κυττάρων (κυτταροτοξικού και κυττάρου -στόχου) οδηγεί τον συνδέτη του Fas στο κυτταροτοξικό να συνδεθεί με το Fas (CD95) στη μεμβράνη του κυττάρου -στόχου. Όταν ενωθεί συγκεκριμένος αριθμός αυτών των παραγόντων τότε οι πρωτεΐνες Fas ενεργοποιούν τον καταρράκτη της απόπτωσης.



Υπάρχουν μερικά αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα που οδηγούν απευθείας στην ενεργοποίηση των κυτταροτοξικών T λεμφοκυττάρων, τα οποία δεν απαιτούν την παρουσία T βοηθητικών κυττάρων, αλλά εκκρίνουν IL-2 και αυτοενεργοποιούνται.

Καταστροφή βακτηριδίων από τα μακροφάγα με τη βοήθεια TH1 λεμφοκυττάρων

Τα βακτηρίδια που φαγοκυτταρώνονται από μακροφάγα πολλαπλασιάζονται μέσα στα φαγοσωμάτια γιατί τα μακροφάγα δεν μπορούν να τα καταστρέψουν εκτός αν τα βοηθήσουν τα TH1 κύτταρα.

1. ο TCR και το CD4 στο TH1 κύτταρο πρέπει να αναγνωρίσει το σύμπλεγμα MHC II- επιτόπου στην επιφάνεια του μακροφάγου.
2. το TH1 εκφράζει υποδοχείς IL-2 στην επιφάνεια του και εκκρίνει IL-2 και έτσι αυτό-ενεργοποιείται.

Το ενεργοποιημένο TH1 πολλαπλασιάζεται και τα νέα κύτταρα έρχονται σε επαφή με τα μακροφάγα που έχουν μολυνθεί από τα βακτηρίδια.

1. γίνεται πάλι αναγνώριση του MHC II- επιτόπου από τον TCR και το CD4 και το TH1 εκκρίνει IFN γ .
2. η IFN γ ενεργοποιεί το μακροφάγο, το οποίο εκφράζει υποδοχείς TNF- α στην επιφάνεια του και εκκρίνει TNF- α .

Όταν ο TNF- α και η IFN γ ενώνονται με τους υποδοχείς στους στα μακροφάγα, τότε οδηγούν τα μακροφάγα στην παραγωγή ριζών οξυγόνου, και έτσι καταστρέφονται τα βακτηρίδια.

In vitro blast transformation

Η ενεργοποίηση των λεμφοκυττάρων επιτυγχάνεται – εκτός από την παρουσία ειδικών αντιγόνων- με μη ειδικό τρόπο από ουσίες που ομαδικά ονομάζονται μιτογόνα. Η ενεργοποίηση αυτή ονομάζεται βλαστική μεταμόρφωση. Ο όρος μιτογόνο αναφέρεται σε όλες τις ουσίες που προκαλούν κυτταρική διαίρεση μέσω μίτωσης. Τα πιο συχνά χρησιμοποιούμενα μιτογόνα είναι λεκτίνες φυτικής προέλευσης που ενώνονται με υδατάνθρακες. Οι λεκτίνες έχουν ειδικότητα για B ή T-λεμφοκύτταρα και μερικές και για τα δύο. Η φυτοαιμαγλουτινίνη (PHA) από το φασόλι *Phaseolus vulgaris* ενεργοποιεί τα T-λεμφοκύτταρα, ενώ το μιτογόνο rockweed (PWM) από τη ρίζα του *Phytolacca Americana*, προκαλεί έκκριση Ig από τα B κύτταρα, παρουσία T κυττάρων.

Το πρώτο βήμα στην ενεργοποίηση των λεμφοκυττάρων είναι η σύνδεση με τον κατάλληλο υποδοχέα. Εντός ωρών από την σύνδεση των μιτογόνων αυξάνει η σύνθεση των πρωτεϊνών που φθάνει στο μέγιστο εντός 48 έως 72 ωρών. Η αυξημένη σύνθεση DNA που αποτελεί το χαρακτηριστικό της ενεργοποίησης του λεμφοκυττάρου ξεκινά στις 36 ώρες και φθάνει στο μέγιστο στις 48 έως και τις 72 ώρες.



Β. Κυτταρικός κύκλος και Απόπτωση

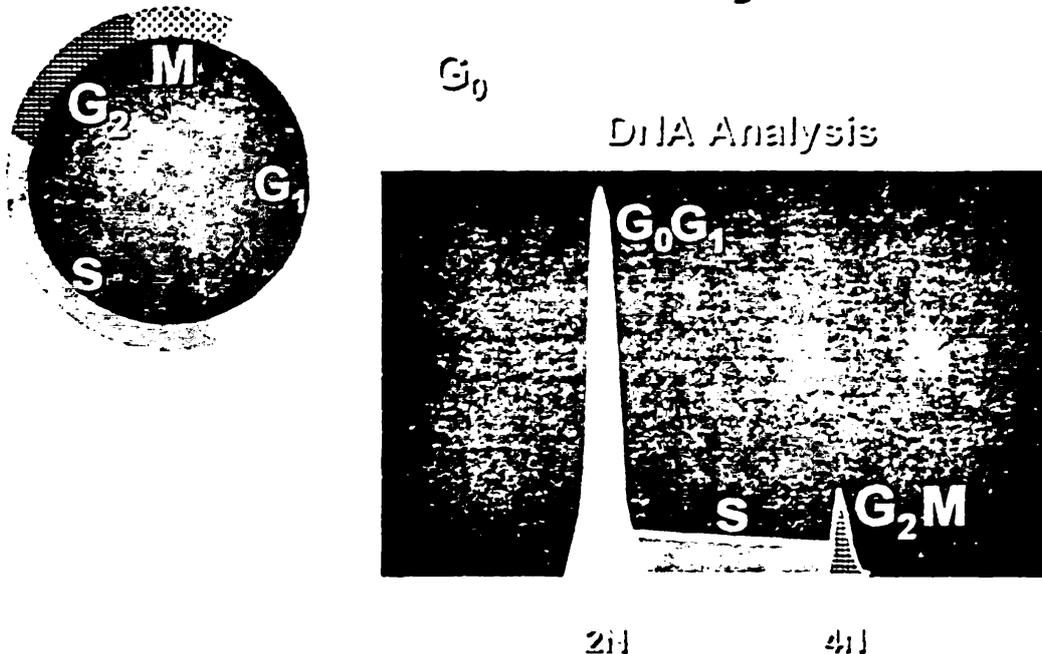
Ο κυτταρικός κύκλος αποτελεί τον θεμελιώδη τρόπο με τον οποίο πολλαπλασιάζονται όλοι οι οργανισμοί. Περιλαμβάνει τον πολλαπλασιασμό του περιεχομένου και τη διαίρεση του κυττάρου.

Ο ανθρώπινος οργανισμός δημιουργεί εκατομμύρια κύτταρα κάθε λεπτό ώστε να διατηρηθεί στη ζωή.

Στη διαδικασία της διαίρεσης υπάρχουν κοινά χαρακτηριστικά ανάμεσα σε όλα τα κύτταρα. Τα χαρακτηριστικά αυτά περιλαμβάνουν τον αναδυπλασιασμό του DNA που οδηγεί σε αναδυπλασιασμό των χρωμοσωμάτων και περίπλοκες κυτταροπλασματικές και πυρηνικές διαδικασίες που θα πρέπει να συντονίζονται μεταξύ τους σε κάθε κυτταρικό κύκλο.

Μετά την διαπίστωση της ύπαρξης του κυτταρικού κύκλου, κυρίως με την παρατήρηση των χρωμοσωμάτων στο οπτικό μικροσκόπιο και της μέτρησης ενσωμάτωσης ραδιενεργών στοιχείων στο DNA, είναι πλέον γνωστό πως υπάρχει σύστημα ελέγχου του κυτταρικού κύκλου. Πρόκειται για ομάδα πρωτεϊνών που εμφανίστηκαν πριν από ένα δισεκατομμύριο χρόνια και έχουν διατηρηθεί έως σήμερα (Alberts et al, 1993)

Normal Cell Cycle



Γενική στρατηγική του κυτταρικού κύκλου.

Η διάρκεια του κυτταρικού κύκλου ποικίλει σημαντικά ανάμεσα στα διάφορα είδη κυττάρων.

Η μίτωση είναι η διαδικασία διαίρεσης του πυρήνα που οδηγεί στη διαίρεση του κυττάρου. Η πυρηνική μεμβράνη διασπάται, το περιεχόμενο του πυρήνα συμπυκνώνεται σε ορατά χρωμοσώματα, τα μικροσωληνάρια του κυττάρου δημιουργούν την μιτωτική άτρακτο, η οποία θα διαχωρίσει τα χρωμοσωματά. Η μίτωση διαιρείται στις παρακάτω φάσεις: πρόφαση, μετάφαση, ανάφαση και



τελόφαση. Υπάρχει μικρής διάρκειας παύση μεταξύ μετάφασης και ανάφασης όπου τα διπλασιασμένα χρωμοσώματα τοποθετούνται στην άτρακτο έτοιμα να διαχωρισθούν. Στην ανάφαση τα χρωμοσώματα κινούνται προς τους πόλους της ατράκτου. Στο τέλος της μίτωσης το κύτταρο έχει διαιρεθεί σε δύο κύτταρα. Η διάρκεια της μίτωσης είναι περίπου μία ώρα στα περισσότερα κύτταρα.

Ανάμεσα σε δύο μιτώσεις μεσολαβεί η μεγαλύτερης διάρκειας φάση που ονομάζεται ενδιάμεση φάση (interphase). Δεν είναι περίοδος ηρεμίας όπως είχε αρχικά διατυπωθεί, όπου απλώς μεγαλώνει το μέγεθος του κυττάρου, αλλά περιλαμβάνει σημαντικές διεργασίες για τη διαίρεση, που συμβαίνουν με συγκεκριμένη σειρά και τον διπλασιασμό του DNA.

Αναδιπλασιασμός του DNA συμβαίνει σε ένα μικρό χρονικό τμήμα της ενδιάμεσης φάσης, στη διάρκεια της φάσης S (=synthesis).

Το διάστημα μεταξύ ολοκλήρωσης της μίτωσης (M) και της έναρξης σύνθεσης DNA ονομάζεται φάση G1 (G=gap). Το διάστημα μεταξύ τέλους της σύνθεσης DNA και της έναρξης της μίτωσης ονομάζεται φάση G2. Οι φάσεις G1 και G2 παρέχουν επιπλέον χρόνο για την ανάπτυξη του κυττάρου. Κατά τη φάση G1 το κύτταρο έλεγχει το περιβάλλον του και το μέγεθός του και αν ο χρόνος είναι κατάλληλος προχωρά στο επόμενο βήμα που είναι ο διπλασιασμός του DNA και η ολοκλήρωση ενός κύκλου διαίρεσης. Κατά τη φάση G2 υπάρχει ένα διάστημα ασφαλείας που επιτρέπει στο κύτταρο να 'επιβεβαιώσει' τον πλήρη διπλασιασμό του DNA πριν ξεκινήσει η μίτωση.

Οι φάσεις G1, S, G2, M είναι οι τυπικές υποδιαιρέσεις ενός κυτταρικού κύκλου. Τα περισσότερα κύτταρα είναι προσαρμοσμένα σε αυτή τη διαδικασία.

Ο τυπικός κυτταρικός κύκλος διαρκεί 12 ώρες ή και περισσότερο γιατί το κύτταρο απαιτεί χρόνο για να αναπτυχθεί πριν διαιρεθεί.

Η διάρκεια των φάσεων του κυτταρικού κύκλου ποικίλει αλλά οι μεγαλύτερες μεταβολές παρατηρούνται στη φάση G1.

Τα κύτταρα που βρίσκονται σε φάση G1 εάν δεν έχουν δεσμευτεί στον διπλασιασμό του DNA, μπορεί να σταματήσουν τη διαδικασία του κυτταρικού κύκλου και να εισέλθουν σε μια ειδική φάση ανάπαυσης που ονομάζεται G0, όπου μπορούν να παραμείνουν για ημέρες, εβδομάδες ή ακόμη και χρόνια πριν ξαναρχίσουν τον πολλαπλασιασμό.

Ο βραχύτερος ευκαρυωτικός κυτταρικός κύκλος συμβαίνει στα πρώιμα εμβρυονικά κύτταρα αμέσως μετά τη γονιμοποίηση, όπου το γιγαντιαίο ωάριο θα πρέπει να διαιρεθεί σε πολλά μικρά κύτταρα όσο το δυνατόν πιο γρήγορα. Σε αυτούς του κύκλους δεν υπάρχει ανάπτυξη, οι φάσεις G1, G2 έχουν περικοπεί και ο χρόνος μεταξύ δύο διαιρέσεων είναι μεταξύ 8-60 λεπτών (Alberts et al, 1993)

Σε ποια φάση του κυτταρικού κύκλου βρίσκεται το κύτταρο

Το έναυσμα για να εισέλθει ένα κύτταρο στον κυτταρικό κύκλο θα δοθεί από τα παρακάτω ερεθίσματα:

1. μηχανική δύναμη, 2. βλάβη στον ιστό (π.χ. ισχαιμία), 3. κυτταρικός θάνατος. Όλοι αυτοί οι παράγοντες οδηγούν στην απελευθέρωση συνδετών (ligands) που είναι αυξητικοί παράγοντες οι οποίοι με έμμεσο τρόπο θα οδηγήσουν στην έκφραση πρωτο-ογκογονιδίων. Η έκφραση των πρωτο-ογκογονιδίων βρίσκεται κάτω από αυστηρή ρύθμιση. Οι μεταλλάξεις στα πρωτο-ογκογονίδια δίνουν στα κύτταρα την δυνατότητα να ξεφύγουν από τον έλεγχο και να πολλαπλασιάζονται χωρίς περιορισμό. Αυτά τα μεταλλαγμένα γονίδια ονομάζονται ογκογονίδια.

Κύτταρα σε φάση S μπορούν να αναγνωρισθούν εάν τους χορηγηθούν σεσημασμένα μόρια θυμιδίνης, ουσίας που χρησιμοποιείται αποκλειστικά για τη σύνθεση DNA. Η σήμανση μπορεί να είναι ραδιενεργή, συνήθως ^3H -θυμιδίνη, ή χημική με την μορφή

της βρωμοδεοξουριδίνης (Brd-U), τεχνητό ανάλογο της θυμιδίνης. Οι πυρήνες των κυττάρων που έχουν προσλάβει το σεσημασμένο συστατικό αναγνωρίζονται με αυτοραδιογραφία ή με χρώση με αντι-Brd-U αντίσωμα.

Η τυπική εικόνα ενός πληθυσμού αυξανόμενων κυττάρων που πολλαπλασιάζονται ταχέως, αλλά ασύγχρονα περιλαμβάνει έναν πληθυσμό αντίστοιχο του 30% στη φάση S μια δεδομένη στιγμή.

Από το τμήμα των κυττάρων που έχουν σημαθεί (labeling index) μπορεί να υπολογισθεί η διάρκεια της φάσης S σαν κλάσμα ολόκληρου του κύκλου. Ομοίως από το κλάσμα των κυττάρων σε μίτωση (mitotic index) μπορεί να υπολογισθεί η διάρκεια της φάσης M σαν κλάσμα ολόκληρου του κύκλου.

Άλλος τρόπος υπολογισμού των κυττάρων που βρίσκονται σε κύκλο είναι η μέτρηση του περιεχομένου τους σε DNA που διπλασιάζεται σε φάση S (κυτταρομετρία ροής).

Ο έλεγχος του κυτταρικού κύκλου

Ο έλεγχος του κυτταρικού κύκλου βρίσκεται κάτω από ρύθμιση διαδικασιών ανάδρομης ρύθμισης (feedback) σε κριτικά σημεία του κύκλου.

Το σύστημα ελέγχου είναι ένα βιοχημικό σύστημα που λειτουργεί κυκλικά και αποτελείται από αλληλοεπιδρώντες πρωτεΐνες που προάγουν και συντονίζουν την διαδικασία που διπλασιάζει και διαιρεί το κυτταρικό περιεχόμενο.

Στον τυπικό κυτταρικό κύκλο το σύστημα ελέγχου ρυμίζεται από 'φρένα' που μπορούν να σταματήσουν τον κύκλο σε συγκεκριμένα σημεία ελέγχου (checkpoints). Στα σημεία αυτά ανάδρομα σήματα που μεταφέρουν πληροφορίες για την διαδικασία μπορούν να την καθυστερήσουν ή να την σταματήσουν.

Τα 'φρένα' είναι σημαντικά γιατί επιτρέπουν το σύστημα ελέγχου να ρυθμιστεί και από σήματα από το περιβάλλον, που συνήθως δρουν στα σημεία ελέγχου G1, G2 checkpoints.

Ο μηχανισμός ελέγχου του κυτταρικού κύκλου βασίζεται σε πρωτεΐνη-κινάση

Ο μηχανισμός ελέγχου του κυτταρικού κύκλου βασίζεται σε δύο οικογένειες πρωτεϊνών -κλειδιά.

1. πρωτεϊνικές-κινάσες εξαρτώμενες από κυκλίνη (cyclin -dependent protein kinases, cdk) : προάγουν τη διαδικασία του κυτταρικού κύκλου φωσφορυλιώνοντας συγκεκριμένες πρωτεΐνες σε σημεία που περιέχουν σερίνη ή θρεονίνη.
2. κυκλίνες , ενώνονται με τις cdk και ελέγχουν την ικανότητα τους να φωσφορυλιώνουν τις κατάλληλες πρωτεΐνες στόχους.

Η κυκλική συναρμολόγηση, ενεργοποίηση και αποσυρναμολόγηση των συμπλεγμάτων κυκλίνης- cdk είναι τα βασικά γεγονότα που καθοδηγούν τον κυτταρικό κύκλο. Οι κυκλίνες ονομάζονται έτσι γιατί εμφανίζουν έναν κύκλο σύνθεσης και αποδόμησης σε κάθε κυτταρικό κύκλο.

Υπάρχουν δύο κύριες τάξεις κυκλίνης :

- μιτωτικές κυκλίνες : ενώνονται με cdk στη φάση G2 και χρειάζονται για την είσοδο του κυττάρου στη μίτωση.
- G1 κυκλίνες : ενώνονται με τις cdk στη φάση G1 και χρειάζονται για την έναρξη της φάσης S

Στα θηλαστικά υπάρχουν τουλάχιστον δύο διαφορετικές cdk πρωτεΐνες, μια για κάθε σημείο ελέγχου.

Τα γεγονότα που οδηγούν το κύτταρο στη μίτωση είναι τα παρακάτω :

Η μιτωτική κυκλίνη συσσωρεύεται σταδιακά κατά τη φάση G2 και ενώνεται με την cdk δημιουργώντας το σύμπλεγμα M-phase promoting factor (MPF) . Το σύμπλεγμα αρχικά είναι ανενεργό αλλά μέσω δράσης άλλων ενζύμων που το φωσφορυλιώνουν και το αποφωσφορυλιώνουν, μετατρέπεται σε δραστική μορφή. Η τελική



ενεργοποίηση του MFP είναι 'εκρηκτική', μάλλον μέσω μηχανισμών θετικού feedback όπου το ενεργό MPF ενεργοποιεί ένζυμα που το ενεργοποιούν. Το MPF αδρανοποιείται εξίσου ξαφνικά με την αποσύνθεση της μιτωτικής κυκλίνης στο όριο μετάφασης- ανάφασης και επιτρέπει στο κύτταρο να εξέλθει από τη μίτωση.

Κάθε βήμα ενεργοποίησης ή αδρανοποίησης της cdk σημαίνει μετάθεση στον κυτταρικό κύκλο και προφανώς επιδρά στον κυτταρικό κύκλο, ξεκινώντας αντιδράσεις που τελικά οδηγούν στην επόμενη διαδικασία.

Ο μηχανισμός που ελέγχει το G1-checkpoint είναι λιγότερο κατανοητός από αυτόν του G2-checkpoint αλλά φαίνεται πως οι αρχές είναι ουσιαστικά ίδιες: η συναρμολόγηση ενός συμπλέγματος cdk-G1κυκλίνης οδηγεί το κύτταρο να περάσει το σημείο G2-checkpoint και να οδηγηθεί στον διπλασιασμό του DNA. Τα επακόλουθα γεγονότα που προκαλούνται από την ενεργοποίηση cdk στα G1 και G2 checkpoints είναι εντελώς διαφορετικά. Οι συγκεκριμένες πρωτεΐνες που φωσφορυλιώνονται από την ενεργοποιημένη cdk πρωτεΐνη εξαρτώνται από την κυκλίνη που βρίσκεται στο σύμπλεγμα (Alberts et al, 1993)

Απόπτωση

Είναι ο μηχανισμός με τον οποίο ο οργανισμός μπορεί να δημιουργήσει συγκεκριμένες ιστολογικές δομές, να απαλλαγεί από άχρηστες δομές, να ελέγξει τον αριθμό των κυττάρων και απομακρύνει μη λειτουργικά ή βλαβερά κύτταρα.

Η απόπτωση είναι ο προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος. Ρυθμίζεται από συγκεκριμένα γονίδια που κωδικοποιούν μια οικογένεια ενζύμων, γνωστών ως κασπάσες (caspases). Τα ένζυμα αυτά αποδομούν ρυθμιστικές και δομικές πρωτεΐνες στον πυρήνα και το κυτταρόπλασμα.

Η απόπτωση μπορεί να ξεκινήσει από δύο εναλλακτικές οδούς:

1. την εξογενή οδό που έχει ως υποδοχείς "θανάτου" τον υποδοχέα του TNF και τον FAS και ενδεχομένως άλλους, η σύνδεση των οποίων οδηγεί στην ενεργοποίηση της κασπάσης -8.
2. την μιτοχονδριακή ή ενδογενή οδό που ξεκινά από μέλη της οικογένειας BCL-2 και οδηγεί στην αλλαγή της διαπερατότητας του μιτοχονδρίου και την απελευθέρωση του κυττοχρώματος C το οποίο μαζί με τον παράγοντα apoptotic protease-activating factor-1 (APAF-1) ενεργοποιεί την κασπάση 9.

Οι κασπάσες 8 και 9 (υποκινητές) ενεργοποιούν στη συνέχεια τις κασπάσες 3, 6, 7 (εκτελεστές) οι οποίες επιδρούν σε υπόστρωμα που μετέχει στη ρύθμιση του κυτταρικού θανάτου.

Κατά τη διαδικασία της απόπτωσης παρατηρούνται συγκεκριμένες μορφολογικές διαταραχές στα κύτταρα. Τα αποπτωτικά κύτταρα συρρικνώνονται και αποκόπτονται από τα γειτονικά. Η χρωματίνη συμπυκνώνεται προς την πυρηνική μεμβράνη, ο πυρήνας κομματιάζεται. Η απώλεια της κυτταρικής μεμβράνης παρατηρείται in vitro. In vivo τα αποπτωτικά κύτταρα εγκοιλώνονται από τα γειτονικά τους ή τα μακροφάγα ενώ η κυτταρική μεμβράνη είναι ακόμη ακέραιη.

Στην κυτταρική νέκρωση ο πυρήνας και η μεμβράνη ρίγνυνται, τα μιτοχόνδρια γίνονται οίδηματώδη και το κύτταρο διογκώνεται.

Οι μεταβολές στις πρωτεΐνες των παραπάνω οδών μπορούν να οδηγήσουν στην ανάπτυξη όγκων. Επιπλέον η καταστολή της απόπτωσης βοηθά στη συσσώρευση και άλλων ογκογόνων διαταραχών που τελικά οδηγούν σε μη ελεγχόμενο πολλαπλασιασμό (Gitendra et al, 1999)



Η οικογένεια πρωτεϊνών BCL-2

Το γονίδιο BCL-2 κωδικοποιεί μια πρωτεΐνη 26 K Da που αναστέλλει την ξναρξη της απόπτωσης μέσω της μιτοχονδριακής οδού. Η BCL-2 είναι μια οικογένεια μορίων που ρυθμίζουν την απόπτωση και περιλαμβάνει αντιαποπτωτικές (BCL-2, BCL-XL, MLL-1) και προαποπτωτικές (BAX, BAK, BLL-Xs) πρωτεΐνες. Η αποπτωτική ή μη αποπτωτική κατάσταση φαίνεται πως οφείλεται στα σχετικά επίπεδα των μελών των δύο κατηγοριών.

Η ΧΛΛ αποτελεί παράδειγμα νεοπλάσματος όπου υπάρχει διαραραχή στον μηχανισμό που ελέγχει την απόπτωση. Υπάρχει αυξημένη έκφραση των BCL-2 και MLL-1 (Lundin et al,2002)

Γ.Αργή κυτταρομετρίας Ροής

Η κυτταρομετρία ροής (Flow Cytometry, FC) είναι μια τεχνική αυτοματοποιημένης κυτταρικής ανάλυσης που επιτρέπει την μέτρηση μεμονωμένων σωματιδίων (κυττάρων, πυρήνων, χρωμοσωμάτων κ.λ.π.) καθώς διέρχονται σε νηματική ροή από ένα σταθερό σημείο όπου προσπίπτει μια ακτίνα LASER(Μαλισσόβας,1999)

Τα κύτταρα ή σωματίδια που πρόκειται να αναλύθουν έχουν συνδεδεθεί με φθορίζουσες χρωστικές. Η μέτρηση και καταγραφή γίνεται με βάση τον εκπεμπόμενο φθορισμό και τη σκέδαση του φωτός. Τα στοιχεία αυτά κατευθύνονται στους ανιχνευτές όπου θα μετατραπούν σε ηλεκτρικά σήματα. Τα σήματα αυτά με την κατάλληλη προετοιμασία θα διοχευθούν σε ηλεκτρονικό υπολογιστή, ο οποίος τα επεξεργάζεται και τα παρουσιάζει.

Σε κάθε κύτταρο ή σωματίδιο γίνεται μέτρηση της κοκκίωσης, του μεγέθους ή άλλων χαρακτηριστικών που έχουν σημαθεί με φθορίζουσες χρωστικές. Τα δεδομένα που προκύπτουν από τις μετρήσεις θα ταξινομήσουν το υπό εξέταση υλικό σε σύνολα και υποσύνολα και θα γίνει η στατιστική επεξεργασία του(McArthy et al,2001)

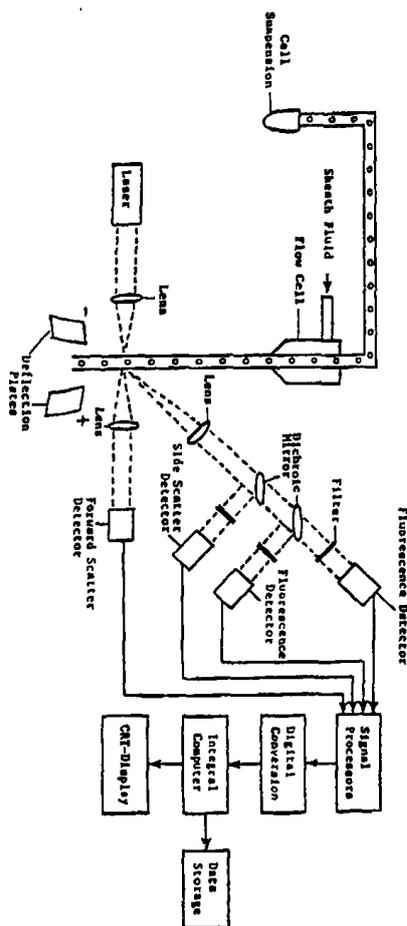
Περιγραφή του Κυτταρομετρητή Ροής

Ο Κυτταρομετρητής ροής αποτελείται από τρία συστήματα (σχήμα1) :

1. Σύστημα Ροής
2. Οπτικό Σύστημα
3. Σύστημα ανίχνευσης, επεξεργασίας και μετατροπής σε ηλεκτρικό σήμα.



Σχήμα 1: Σχέδιο ενός τυπικού κυτταρομετρητή ροής



Σύστημα Ροής

Πρόκειται για υδραυλικό σύστημα, όπου τα κύτταρα ή τα σωματίδια ρέουν το ένα μετά το άλλο μπροστά από ακτίνα LASER (Light Amplification of Stimulated Emission of Radiation), απορροφώντας τα από το εναιώρημα εργασίας. Το δείγμα εισάγεται στο κέντρο του καναλιού, στο οποίο ρέει ένα αδρανές υλικό (sheath fluid). Το κανάλι είναι σχεδιασμένο κατά τέτοιο τρόπο ώστε το δείγμα να ρέει κατά μήκος του κεντρικού του άξονα και να περιβάλλεται από αδρανές υλικό, χωρίς όμως να αναμιγνύεται με αυτό, δηλαδή σαν να βρίσκεται μέσα σε μια θήκη (sheath). Το κανάλι βρίσκεται στο θάλαμο ροής (flow chamber). Ανάλογα με τις ρυθμίσεις επιτυγχάνεται και η υδροδυναμική εστίαση, έτσι ώστε το κύτταρο ή σωματίδιο να έρχεται σε επαφή με την ακτίνα LASER με προσέγγιση $+ 1 \mu m$.

Οι θάλαμοι διακρίνονται στις παρακάτω κατηγορίες, ανάλογα με την υδροδυναμική τους αρχή. α). θάλαμοι νηματικής ροής (Luminaar flow) και β). θάλαμοι στροβιλώδους ορίου (turbulent boundary). Διακρίνονται επίσης σε θαλάμους ανάλυσης (analytical chambers) για μετρήσεις σκέδασης και φθορισμού και σε θαλάμους διαλογής (sorting chambers) όταν διαθέτουν σύστημα διαλογής κυττάρων ή σωματιδίων.

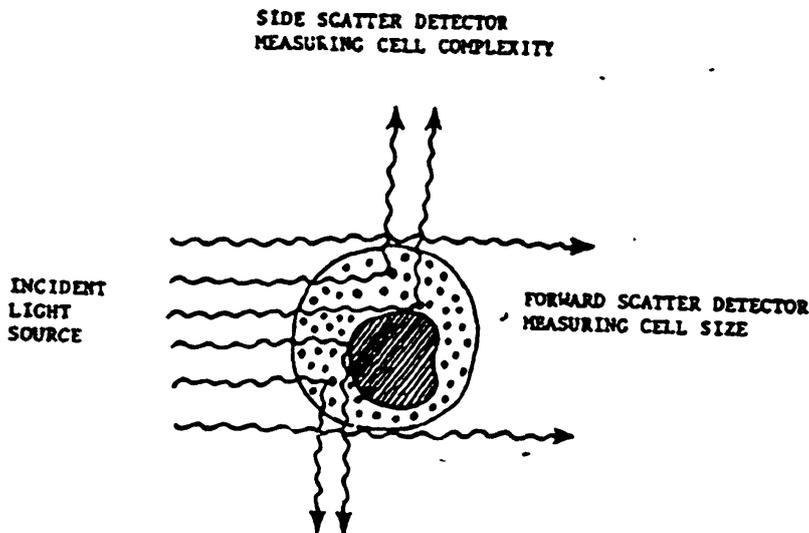
Οπτικό Σύστημα

Είναι το σύστημα που συλλέγει τα φωτεινά σήματα που εκπέμπονται από τα κύτταρα ή τα σωματίδια όταν προσπίπτει επάνω τους η φωτεινή δέσμη της



λυχνίας. Γίνεται έπειτα ανάλυση της συλλεγόμενης ακτινοβολίας, η οποία αντιστοιχεί στη σκέδαση του φωτός και στον εκπεμπόμενο φθορισμό καθορισμένης έντασης με βάση το φθοριόχρωμα.

Η σκέδαση του φωτός δημιουργείται όταν το κύτταρο ή το σωματίδιο δέχεται την κάθετη προς τη διεύθυνση ροής δέσμη της λυχνίας. Η ακτινοβολία που προσπίπτει στο κύτταρο ή το σωματίδιο απορροφάται κατά ένα μέρος από αυτό και κατά το υπόλοιπο σκεδάζεται προς όλες τις κατευθύνσεις. Η ακτινοβολία που σκεδάζεται στην κατεύθυνση της προέκτασης (ευθεία γραμμή) της ακτίνας LASER, με γωνία 1-20°, ονομάζεται πρόσθια σκαδαζόμενη ακτινοβολία (Forward Light Scatter, FSC) και είναι ανάλογη του μεγέθους του κυττάρου ή του σωματιδίου. Η ακτινοβολία που σκεδάζεται σε κατεύθυνση κάθετη προς τον άξονα της ακτίνας LASER, με γωνία 90°, ονομάζεται κάθετη ή πλάγια σκαδαζόμενη ακτινοβολία (Right Angle Scatter ή Side Scatter, SSC) και είναι ανάλογη προς την κοκκίωση του κυτταροπλάσματος του κυττάρου (Σχήμα 2).



Σχήμα 2: Σχηματική ανάλυση κυττάρου ως προς την κοκκίωση (SSC) και το μέγεθος του (FSC).

Κατά την προετοιμασία του δείγματος τα κύτταρα ή τα σωματίδια θα σημανθούν με φθορίζουσες ουσίες (ισοθειοκυανική φλουορεσκεΐνη, τετραμεθυλοροδαμίνη, R-φυκοερυθρίνη, και άλλες) οι οποίες είναι προσδεδεμένες στα μονοκλωνικά αντισώματα. Τα φθοριόχρωμα αυτά διεγείρονται από την προσπίπτουσα ακτινοβολία (διεγείρουσα) και στην συνέχεια εκπέμπουν ακτινοβολία μεγαλύτερου μήκους κύματος της διεγείρουσας, το οποίο είναι χαρακτηριστικό για κάθε φθοριόχρωμα.

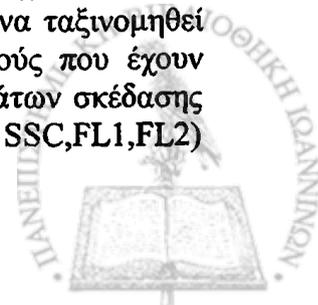


Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται τα φάσματα εκπομπής των φθοριοχρωμάτων FITC, PE και PerCP που είναι συνδεδεμένα με τα περισσότερα αντισώματα που κυκλοφορούν στο εμπόριο.

ΦΘΟΡΙΟΧΡΩΜΑ	Excitation maxine (nm)	Emission maximun (nm)
R-φυκοερυθρίνη R-PE (κόκκινο)	495, 550	575
Ισοθειοκυανική Φλουορεσκεΐνη FITC (πράσινο)	495	530
Τετραμεθυλοροδαμίνη	543	570
Texas Red	596	620
Περιδινούχος χλωροφύλλη- Α πρωτεΐνη PerCP	490	677

Από τα παραπάνω φθοριοχρώματα η FITC παρουσιάζει μέγιστη απορρόφηση και διεγείρεται στα 495 nm και η PE στα 495nm και 550nm. Laser αργού διεγείρει και τις δύο χρωστικές εκπέμποντας ακτινοβολία μήκους κύματος 488 nm. Η FITC εκπέμπει μέγιστο φθορισμό FL1 στα 520 nm (πράσινος φθορισμός) και η PE εκπέμπει μέγιστο φθορισμό FL2 στα 575 nm (κόκκινος φθορισμός). Οι δύο φθορισμοί αναλύονται και μετρούνται με κατάλληλο σύστημα κατόπτρων (διχροϊκών) και φίλτρων, που είναι τοποθετημένα στην πορεία της φωτεινής δέσμης, τα μεν κάτοπτρα υπο γωνία 45° ενώ τα φίλτρα τοποθετημένα κάθετα

Οι χρωστικές PE, FITC συνδέονται με κατάλληλα μονοκλωνικά ή πολυκλωνικά αντισώματα που αναγνωρίζουν συγκεκριμένα αντιγόνα της κυτταρικής μεμβράνης ή του κυτταροπλάσματος. Έτσι υπάρχει η δυνατότητα να ανιχνευθούν τα συγκεκριμένα αντιγόνα στα μετρούμενα κύτταρα και στην συνέχεια να ταξινομηθεί το κάθε κύτταρο σε υποπληθυσμούς σύμφωνα με τους συνδυασμούς που έχουν σχεδιαστεί. Με την ολοκλήρωση των μετρήσεων των φωτεινών σημάτων σκέδασης και φθορισμού, αντιστοιχεί σε κάθε κύτταρο μια τετράδα τιμών (FSC, SSC, FL1, FL2)



η οποία μας δίνει τα δεδομένα για το μέγεθος, την κοκκίωση και τον βαθμό συνέκφρασης των δύο αντιγόνων.

Σύστημα ανίχνευσης, επεξεργασίας και μετατροπής σε ηλεκτρονικό σήμα

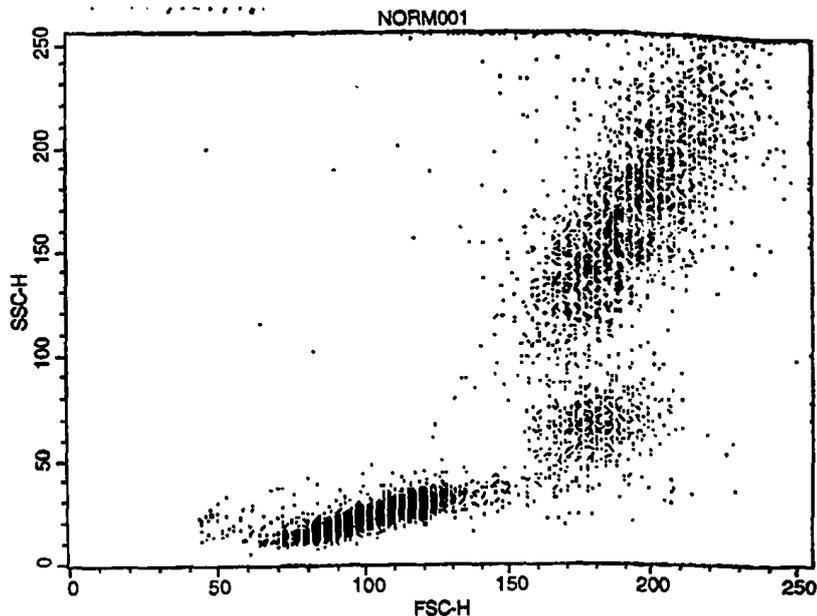
Δύο συστήματα ανίχνευσης των φωτεινών δεδομένων που προέρχονται από τη σκέδαση και το φθορισμό, χρησιμοποιούνται στους κυτταρομετρητές . Α. οι φωτοдиодοι (PIN diodes) και Β. οι φωτοπολλαπλασιαστές (photomultiplier tubes, PMTs). Οι PMTs έχουν ευαισθησία στις μετρήσεις FSC και SSC, ενώ παρουσιάζουν μειωμένη ευαισθησία στον φθορισμό. Οι PMTs διαθέτουν μεγαλύτερη ευαισθησία στις μετρήσεις FSC και SCC αλλά και στο φθορισμό. Το παλμικό σήμα που παράγεται μένει στην έξοδο για 15-120 μsec . Το χρονικό αυτό διάστημα ονομάζεται νεκρός χρόνος και κατά τη διάρκεια του δεν καταγράφονται άλλα σήματα στο σύστημα. Αυτό επηρεάζει κυρίως τη διαλογή και σε μικρότερο βαθμό την αναλυτική ικανότητα του κυτταρομετρητή.

Το παλμικό σήμα αναλύεται ως προς το ύψος, το πλάτος και την επιφάνεια, δίνοντας έτσι πληροφορίες για το μέγεθος, την κοκκίωση και τον φθορισμό των κυττάρων ή των σηματοδίων. Η επεξεργασία μπορεί να γίνει είτε γραμμικά, είτε λογαριθμικά μετά από χρήση ενισχυτή (amplifier). Έτσι ενισχύονται τα ασθενή σήματα και περιορίζονται οι ενδείξεις που αντιστοιχούν σε ισχυρά σήματα και όλες οι τιμές λαμβάνονται στην ίδια κλίμακα. Τα δυαδικά αυτά σήματα μεταβιβάζονται στη μνήμη ηλεκτρονικού υπολογιστή και ακολουθούν οι ανάλογες επεξεργασίες των δεδομένων.

Τα δεδομένα παρουσιάζονται με διάφορους τρόπους όπως τα Κυτταρογράμματα (Dot Plot) τα οποία σχετίζουν δύο παραμέτρους και χρησιμοποιούνται ευρήτατα. Στο σχήμα 3 παρουσιάζεται κυτταρόγραμμα που απεικονίζει το μέγεθος και την κοκκίωση των κυττάρων του περιφερικού αίματος. Διακρίνονται οι τρεις κύριοι υποπληθυσμοί των λευκών : λεμφοκύτταρα, πολυμορφοπύρηνα και μονοκύτταρα.

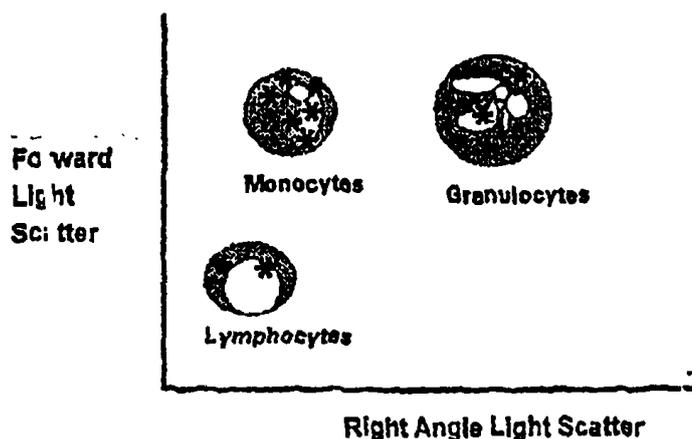
Στα κυτταρογράμματα ανάλογα με τα δεδομένα που δίνονται στις συντεταγμένες παίρνουμε την κοκκίωση στον άξονα των χ και το μέγεθος των κυττάρων στον άξονα των ψ ή το αντίστροφο. Το κυτταρόγραμμα μπορεί να παρουσιάσει την ένταση φθορισμού της έκφρασης του παν-λευκοκυτταρικού αντιγόνου CD45 FITC και του CD14 PE.





Σχήμα 3: Κυτταρόγραμμα ως προς το μέγεθος FSS (άξονας X) και την κοκκίαση SSC(άξονας Ψ), μετά από λύση των ερυθρών αιμοσφαιρίων περιφερικού αίματος. Διακρίνονται οι τρεις βασικοί υποπληθυσμοί των λευκοκυττάρων

Morphologic Analysis



Σχήμα 4: Σχηματική απεικόνιση των τριών πληθυσμών των λεμφοκυττάρων περιφερικού αίματος ως προς SSC, FSC

Άλλοι τρόποι παρουσίασης και επεξεργασίας των αποτελεσμάτων είναι τα παρακάτω διαγράμματα :

- Α. κατανομής συχνοτήτων ή ιστόγραμμα
- Β. ισοψών καμπυλών
- Γ. ισομετρικών καμπυλών
- Δ. όψης διαμαντιού



Τα διαγράμματα αυτά δίνουν τη δυνατότητα ανάλυσης και του μικρότερου παθολογικού ή μη πληθυσμού. Με τη χρήση προγραμμάτων στατιστικής ανάλυσης και τη δυνατότητα οριοθέτησης ορισμένων περιοχών στο κυτταρόπλασμα (gate) υπάρχει η δυνατότητα να εξαχθούν συμπεράσματα για την δεδομένη περιοχή.

Δ. ΧΡΟΝΙΑ ΛΕΜΦΟΓΕΝΗΣ ΛΕΥΧΑΙΜΙΑ

Ορισμός:

Η πρώτη αναφορά σε μια ξεχωριστή νοσολογική οντότητα με το όνομα Χρόνια Λεμφογενής Λευχαιμία (ΧΛΛ) ανήκει στον Turk ο οποίος το 1903 περιέγραψε τα διαγνωστικά κριτήρια της νόσου αλλά και τις διαφορές της από τα άλλα λεμφώματα.

Οι Minot και Isaacs το 1924 περιέγραψαν λεπτομερώς την κλινική εικόνα της ΧΛΛ, όμως η πλήρης παθοφυσιολογική περιγραφή έγινε το 1966 σχεδόν ταυτόχρονα από δύο ανεξάρτητους ερευνητές, τους Galton και Dameshek οι οποίοι τόνισαν το κύριο χαρακτηριστικό της ΧΛΛ που είναι η προοδευτική συσσώρευση λειτουργικά ανεπαρκών λεμφοκυττάρων.

Έτσι σήμερα η ΧΛΛ χαρακτηρίζεται από τη συσσώρευση μη πολλαπλασιαζομένων, μορφολογικά ώριμων λεμφοκυττάρων –αλλά λειτουργικά ανεπαρκών– στο αίμα, τον μυελό των οστών, στους λεμφαδένες και στον σπλήνα. Πρόκειται κυρίως για Β λεμφοκύτταρα, ενώ σπάνια (<2%) προέρχεται από Τ.

Επιδημιολογία

Η ΧΛΛ αποτελεί την πιο συχνή μορφή λευχαιμίας στην Β.Αμερική και στην Ευρώπη (ποσοστό 25-30% όλων των λευχαιμιών). Περίπου 10.000 νέες περιπτώσεις ανά χρόνο διαγιγνώσκονται στις Ηνωμένες Πολιτείες. Αν και αποτελεί νόσημα της προχωρημένης ηλικίας με συχνότητα > 20 ανά 100.000 πληθυσμό άνω των 70 ετών, η νόσος διαγιγνώσκεται με αυξημένη συχνότητα σε νεότερες ηλικιακές ομάδες και δεν θεωρείται ασυνήθης σε ασθενείς ηλικίας 35 ετών. Η μέση ηλικία στη διάγνωση είναι τα 55 χρόνια.

Η ΧΛΛ εμφανίζεται συχνότερα στους άνδρες με αναλογία ανδρών/ γυναικών 1.7:1. Η ΧΛΛ είναι σπάνια στην Ιαπωνία, Κίνα, και σε άλλες Ασιατικές χώρες, ενώ ο λόγος αυτής της γεωγραφικής διαφοράς δεν είναι γνωστός.

Αιτιολογία- Παθογένεια

Παρότι η αιτιολογία της ΧΛΛ παραμένει άγνωστη έχει γίνει προσπάθεια με διάφορες μελέτες να συσχετισθεί με διάφορους παράγοντες.

Περιβαλλοντικοί παράγοντες

Η έκθεση σε φάρμακα, χημικές ουσίες ή ιονίζουσα ακτινοβολία δεν φαίνεται να συσχετίζεται με την εμφάνιση ΧΛΛ, αν και φαίνεται πως αγρότες, εργάτες ελαστικών και όσοι έρχονται σε επαφή με άσβεστο εμφανίζουν αυξημένες πιθανότητες να αναπτύξουν ΧΛΛ (Faugue et al, 1994, Rozman et al, 1995)

Κληρονομικοί παράγοντες

Αυξημένες πιθανότητες να εμφανίσουν ΧΛΛ (ή άλλα λεμφουπεπλαστικά νοσήματα) εμφανίζουν οι συγγενείς πρώτου βαθμού ασθενών με ΧΧΛ. Μελέτες σε συγγενείς αποκάλυψαν διαταραχές του ανοσολογικού τους συστήματος, ανεπάρκειες ανοσοσφαιρινών και αυτοάνοσα νοσήματα. Δεν φαίνεται όμως να υπάρχει συσχέτιση με το σύστημα HLA.



Ανοσοφαινοτυπικές μελέτες στο αίμα υγιών εθελοντών διαπίστωσαν πως σε ποσοστό έως 3.5% ανιχνεύεται μικρός αριθμός μονοκλωνικών Β λεμφοκυττάρων με ανοσοφαινότυπο συμβατό με ΧΛΛ (Rawstron et al,2002). Μελετήθηκαν και συγγενείς πρώτου βαθμού ασθενών με ΧΛΛ και διαπιστώθηκε πως αρκετοί εμφανίζουν μονοκλωνικούς πληθυσμούς Β κυττάρων που ενδεχομένως σημαίνουν μια οικογενή προδιάθεση για εμφάνιση λεμφώματος (Rawstron et al,2002,Pritsch et al,1999).

Έχουν περιγραφεί πρόσφατα περιπτώσεις οικογενούς ΧΛΛ(Farnhout et al 1997).Στην οικογενετή εμφάνιση της ΧΛΛ δεν φαίνεται να υπάρχει συσχέτιση της επίπτωσης με μεταλλάξεις του γονιδίου αταξίας -τηλαγγειεκτασίας (Α-Τα),που αναφέρεται πως είναι μεταλλαγμένο στο 22% των περιπτώσεων σποραδικής ΧΛΛ.(Yuile et al, 2002)

Στην ΧΛΛ ενώ υπάρχει προοδευτική παραγωγή και συσσώρευση λευχαιμικών λεμφοκυττάρων δεν υπάρχει αύξηση του ρυθμού παράγωγής τους . Με τις αρχικές τους παρατηρήσεις οι Galton και Damshek πρότειναν πως η αυξημένη επιβίωση των λεμφοκυττάρων ήταν αποτέλεσμα της λειτουργικής τους ανεπάρκειας.

Κυτταρογενετικοί παράγοντες

Τα ογκογονίδια είναι γονίδια που μπορούν να οδηγήσουν τα κύτταρα στα οποία εισέρχονται σε ανεξέλεγκτο πολλαπλασιασμό. Ανακαλύφθηκαν αρχικά σε ρετροϊούς αλλά αντιστοιχούν στα πρωτο-ογκογονίδια που βρίσκονται σε όλα τα ευκαρυωτικά κύτταρα. Τα πρωτο-ογκογονίδια κωδικοποιούν πρωτείνες που καθιστούν τα φυσιολογικά κύτταρα ικανά να ανταποκρίνονται σε πολύπλοκα εξωκυττάρια μηνύματα που οδηγούν σε πολλαπλασιασμό. Από τις μέχρι τώρα μελέτες καμία δεν μπόρεσε να συσχετίσει την ΧΛΛ με συγκεκριμένα ογκογονίδια. (Fague et al,1994).

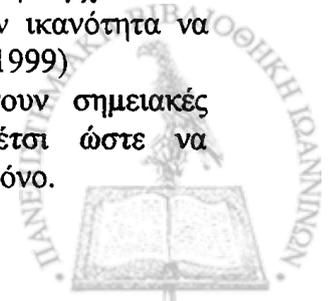
Τα λεμφοκύτταρα στην ΧΛΛ εμφανίζουν χαμηλό δείκτη πολλαπλασιασμού , γεγονός που καθιστά δυσχερή την έρευνα για χρωμοσωμικές διαταραχές με τις συμβατικές μεθόδους. Βρίσκονται στο φάση G0 και δεν εμφανίζουν αυτόματες μιτώσεις in vitro. Παρόλα αυτά είναι ήδη γνωστό πως τουλάχιστον το 50% των περιπτώσεων εμφανίζει χρωμοσωμικές διαταραχές, ποσοστό που πιθανότατα να είναι μεγαλύτερο. Οι σημερινές τεχνικές FISH, PCR μπορούν να δώσουν πιο εύκολα πληροφορίες για τις χρωμοσωμικές διαταραχές στην ΧΛΛ, που σε μερικές περιπτώσεις μπορεί να φθάνουν το 80%.

. Η τεχνική FISH αποδείχθηκε η πιο αποτελεσματική στην ανίχνευση της τρισωμίας 12. Οι διαταραχές στο χρωμόσωμα 12 συνδυάζονται με αυξημένο αριθμό προλεμφοκυττάρων και χειρότερη πρόγνωση.

Η ΧΛΛ αποτελεί κλασσικό παράδειγμα ανθρώπινου καρκίνου που προέρχεται από διαταραχές στον προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο(απόπτωση). Τα λευχαιμικά κύτταρα φαίνεται πως έχουν σταματήσει στη φάση G0 του κυτταρικού κύκλου.

Το παθολογικό κύτταρο της ΧΛΛ είναι ένα μικρό Β λεμφοκύτταρο που μοιάζει φαινοτυπικά με τα λεμφοκύτταρα που υπάρχουν στον μανδύα των δευτερογενών λεμφοζιδίων . Είναι χαρακτηριστική η έκφραση του CD5 σε αυτά τα κύτταρα , μαζί με ελάχιστα ποσά μονοκλωνικής ανοσοσφαιρίνης στην επιφάνεια τους.Οι ανοσοσφαιρίνες αυτές έχουν δράση έναντι αντιγόνων του οργανισμού και συχνά συμπεριφέρονται ως ρευματιδής παράγοντας. Οι παραπάνω παρατηρήσεις οδήγησαν στην υπόθεση πως η Β-ΧΛΛ είναι ένα νεοπλασματικό νόσημα που προέρχεται από κύτταρα του μανδύα με αυτοάνοση δραστηριότητα που έχουν την ικανότητα να παράγουν πολυδραστικά φυσικά αυτοάντισώματα.(Caligaris-Cappio, 1999)

Στο βλαστικό κέντρο των δευτερογενών λεμφοζιδίων συμβαίνουν σημειακές μεταλλάξεις στην μεταβλητή περιοχή των ανοσοσφαιρινών έτσι ώστε να δημιουργηθούν αντισώματα με την μεγαλύτερη σύγγενεια για το αντιγόνο.



Υπάρχουν αναφορές όπου έχει μελετηθεί η μεταβλητή περιοχή των γονιδίων των ανοσοσφαιρινών στα κύτταρα της ΧΛΛ και έχουν διαπιστωθεί τα εξής :στις μισές περίπου περιπτώσεις των περιστατικών της νόσου υπάρχουν σωματικές μεταλλάξεις, άρα πρόκειται για ένα λεμφοκύτταρο μνήμης που έχει έρθει σε επαφή με αντιγόνο στο βλαστικό κέντρο, ενώ στις υπόλοιπες περιπτώσεις δεν ανιχνεύονται μεταλλάξεις, δηλαδή η νόσος προέρχεται από αθώο λεμφοκύτταρο που δεν έχει έρθει σε επαφή με αντιγόνο. Διαπιστώθηκε ακόμη πως τα μη μεταλλαγμένα κύτταρα εμφανίζουν εντονότερη έκφραση του CD38. Έτσι προκύπτει μια φαινοτυπική / μοριακή κατάταξη της ΧΛΛ, που χαρακτηρίζεται ήδη κλινικά από ετερογένεια στην πορεία της.

Αν και η ΧΛΛ αποτελεί παράδειγμα νεοπλάσματος που προέρχεται από διαταραχές στον προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο (απόπτωση) και τα λευχαιμικά κύτταρα φαίνεται πως έχουν σταματήσει την φάση G0 του κυτταρικού κύκλου, παρόλα αυτά εκφράζουν μόρια στην επιφάνεια τους που κάτω από άλλες συνθήκες θα υποδήλωναν ενεργοποίηση, όπως το CD23 και το CD27. Επίσης έχει διαπιστώθει πως παράγονται και εκκρίνονται κυτταρικές όπως η IFN-γ και ο TNF-β. Το λεμφοκύτταρο όμως παράμενει αδρανές στα περισσότερα μιτογόνα που προκαλούν πολλαπλασιασμό των φυσιολογικών Β λεμφοκυττάρων. Ενδεχομένως το σύμπλεγμα του υποδοχέα του Β κυττάρου (BCR) να παίζει κάποιο ρόλο.

Ο υποδοχέας αποτελείται από την επιφανειακή ανοσοσφαιρίνη (slg) και το ετεροδιμερές Iγα/Iγβ(CD79a/CD79b). Στα κύτταρα της ΧΛΛ το τμήμα CD79b απουσιάζει στις περισσότερες των περιπτώσεων. Το ίδιο συμβαίνει και σε άλλα επιφανειακά μόρια (όπως το CD22) που ενισχύουν το σήμα μέσω του υποδοχέα και απουσιάζουν ή εκφράζονται πολύ ασθενώς στην επιφάνεια των κυττάρων.

Το 90 % των ασθενών εμφανίζουν αυξημένα επίπεδα της πρωτεΐνης Bcl-2 (προαποπτωτική δράση).

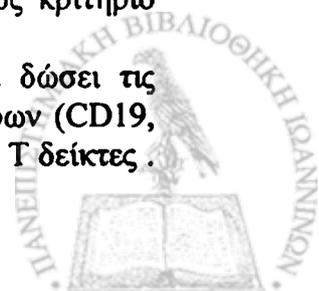
Από μελέτες που έγιναν in vitro διαπιστώθηκε πως το μικροπεριβάλλον του μυελού των οστών είναι πολύ σημαντικό για την αναστολή της απόπτωσης των παθολογικών λεμφοκυττάρων. Ιδιαίτερο ρόλο φαίνεται πως παίζουν τα κύτταρα του στρώματος. Η επαφή των λεμφοκυττάρων με τα κύτταρα του στρώματος τα προστατεύει από τη διαδικασία της απόπτωσης. (Panayiotidis et al, 1996, Lagneaux et al, 1998).

Διαγνωστικά κριτήρια ΧΛΛ

Η ομάδα μελέτης (working group) του National Cancer Institute πρότεινε τα παρακάτω κριτήρια για τη διάγνωση της ΧΛΛ (Cheson et al, 1996).

1. Περιφερικό αίμα : απαιτείται η παρουσία απόλυτης λεμφοκυττάρωσης, τουλάχιστον $5 \times 10^9 / L$ με μορφολογία ώριμων κυττάρων αν και συχνά παρατηρούνται μικτές μορφές (δηλαδή πιο μεγάλα και άτυπα λεμφοκύτταρα, με εντομή, ή προλεμφοκύτταρα). Αριθμός προλεμφοκυττάρων έως 55% είναι συμβατός με ΧΛΛ, ενώ η παρουσία τους σε μεγαλύτερο ποσοστό σημαίνει προλεμφοκυτταρική λευχαιμία ή εκτροπή της ΧΛΛ προς αυτή τη μορφή. Η παρουσία της λεμφοκυττάρωσης για διάστημα τουλάχιστον 4 εβδομάδων απαιτείται ως κριτήριο μόνο όταν η διάγνωση δεν είναι σίγουρη.

Η ανοσοφαινοτυπική εξέταση του περιφερικού αίματος θα πρέπει να δώσει τις παρακάτω πληροφορίες : τα λεμφοκύτταρα εκφράζουν δείκτες Β κυττάρων (CD19, CD20, CD23) ταυτόχρονα με τον Τ δείκτη CD5, ενώ απουσιάζουν άλλοι Τ δείκτες.



Τα λεμφοκύτταρα εκφράζουν μονοκλωνική κ ή λ ελαφρά αλυσίδα, με μειωμένη ένταση επιφανειακή ανοσοσφαιρίνης (sIg).

2. Μυελόγραμμα και Βιοψία Οστού

Αν και δεν απαιτούνται πλέον για τη διάγνωση της ΧΛΛ, ο μυελός των οστών είναι ένα από τα κύρια σημεία που καταλαμβάνονται από τα παθολογικά λεμφοκύτταρα και θα πρέπει να αξιολογείται η συμμετοχή του. Θα πρέπει να εμφανίζει διήθηση από λεμφοκύτταρα τουλάχιστον 30%. Η βιοψία οστού δίνει πληροφορίες για τον τρόπο διήθηση (οζώδης, διάμεσος, διάχυτος) που έχουν προγνωστική σημασία και ταυτόχρονα εκτιμάται η ερυθρά σειρά και τα μεγακαρυοκύτταρα.

3. Ανοσοφαινότυπος

Θεωρείται πλέον απαραίτητος για τη διάγνωση της ΧΛΛ και την διαφορική διάγνωση από άλλα λεμφουπερπλαστικά νοσήματα.

4. Μοριακή βιολογία/κυτταρογενετική

Προσφέρει σημαντικές πληροφορίες όσον αφορά την πρόγνωση αλλά δεν αποτελεί εξέταση ρουτίνας λόγω του κόστους.

Η διάγνωση της ΧΛΛ βασίζεται στον συνδυασμό των μορφολογικών ευρημάτων από το περιφερικό αίμα και συγκεκριμένων στοιχείων που προκύπτουν από τον ανοσοφαινότυπο. Οι Matutes et al, 1994 δημιούργησαν έναν συνδυασμό ανοσοφαινοτυπικών ευρημάτων που επιτρέπει τον διαχωρισμό των λεμφοκυτταρώσεων που οφείλονται σε ΧΛΛ από άλλες αιτίες όπως η λευχαιμική φάση των Non-Hodgkin Λεμφωμάτων (30-35% των περιπτώσεων λεμφοκυττάρωσης). Ο τυπικός ανοσοφαινότυπος της ΧΛΛ περιλαμβάνει ασθενή έκφραση μονοκλωνικής ανοσοσφαιρίνης επιφάνειας (SmIg), θετικό CD5, θετικό CD23, και αρνητική ή ασθενή έκφραση FMC7 και CD79b (ή CD22).

ΔΕΙΚΤΕΣ	ΧΛΛ	ΒΑΘΜΟΛΟΓΙΑ	NHL	ΒΑΘΜΟΛΟΓΙΑ
SmIg	Ασθενής έκφραση	1	Έντονη έκφραση	0
CD5	ΘΕΤΙΚΟ	1	ΑΡΝΗΤΙΚΟ*	0
CD23	ΘΕΤΙΚΟ	1	ΑΡΝΗΤΙΚΟ	0
CD22/CD79b	Ασθενής έκφραση	1	ΘΕΤΙΚΟ	0
FMC7	ΑΡΝΗΤΙΚΟ	1	ΘΕΤΙΚΟ	0



• εκτός από λέμφωμα μανδύα

Οι τυπικές περιπτώσεις ΧΛΛ (90%) εμφανίζουν βαθμολογία 4-5. Οι άτυπες ΧΛΛ μπορεί να βαθμολογούνται από 3 έως 5, ενώ η Β-προλεμφοκυτταρική λευχαιμία έχει βαθμολογία 0-1 όπως και η λευχαιμία από τριχωτά κύτταρα. Τα NHL σε λευχαιμική φάση συγκεντρώνουν βαθμολογία 0-2. Περιπτώσεις ΧΛΛ με περισσότερο από 10% προλεμφοκύτταρα περιγράφονται ως ΧΛΛ /Προλεμφοκυτταρική λευχαιμία και γενικά έχουν τον ίδιο ανοσοφαινότυπο της ΧΛΛ, εκτός από λίγες περιπτώσεις με score 3 ή 4 εξαιτίας της έντονης έκφρασης του CD79b ή FMC7 ή λιγότερο συχνά της SmIg. Οι πιο σταθεροί δείκτες της ΧΛΛ είναι το CD5 και το CD23. Υπάρχει ακόμη ασθενής έκφραση του CD20, του CD11c και δεν εκφράζονται το CD10 και η κυκλίνη D1.

Οι περιπτώσεις ΧΛΛ όπου δεν έχει γίνει ανασυνδυασμός του γονιδίου των ανοσοσφαιρινών αναφέρεται πως εκφράζουν το CD38. Το CD23 και η κυκλίνη D1 είναι χρήσιμοι δείκτες διαχωρισμού της ΧΛΛ από το λέμφωμα από κύτταρα μανδύα (mantle cell lymphoma), παρόλα αυτά μερικές περιπτώσεις ΧΛΛ είναι CD23- ή μόνο μερικώς θετικές, όπως και σπάνιες περιπτώσεις λεμφώματος μανδύα μπορεί να εκφράζουν μερικώς το CD23, έτσι είναι απαραίτητη η ανίχνευση της κυκλίνης D1 όταν το λέμφωμα είναι CD5+, CD23-. Μερικές περιπτώσεις τυπικής μορφολογικά ΧΛΛ εμφανίζουν παρεκκλίσεις από τον τυπικό ανοσοφαινότυπο (π.χ. CD5- ή CD23-, FMC7+, CD11c+, έντονη έκφραση sIg, ή CD79b). (Catovsky et al, 2000)

Κλινική Εικόνα

Η ΧΛΛ εμφανίζεται συνήθως σε ασθενείς άνω των 60 ετών χωρίς αυτό να σημαίνει πως δεν διαγιγνώσκεται και σε νεότερα άτομα. Το 90% πάντως είναι άνω των 50 ετών. Προσβάλλει με διπλάσια συχνότητα του άνδρες από τις γυναίκες.

Γενικά συμπτώματα

Οι ασθενείς με ΧΛΛ παρουσιάζουν μεγάλη ποικιλία σημείων και συμπτωμάτων.

Ποσοστό άνω του 25% των ασθενών είναι εντελώς ασυμπτωματικοί κατά τη διάγνωση της νόσου, η οποία γίνεται στα πλαίσια έρευνας ανώδυνης διόγκωσης λεμφαδένων ή απόλυτης λεμφοκυττάρωσης που επιμένει. Οι διογκωμένοι λεμφαδένες είναι ανώδυνοι, συμπαγείς, ευκίνητοι και δεν συμφύονται με τους γύρω ιστούς.

Παρόλα αυτά αναφέρονται ήπια συμπτώματα, όπως μειωμένη αντοχή στην άσκηση, κούραση, αίσθημα κακουχίας (ακόμη και επί απουσίας προσβολής ζωτικών οργάνων ή αναιμίας) και υπερβολικές αντιδράσεις σε δείγματα κουνουπιών ή άλλων εντόμων.

Όταν η νόσος είναι προχωρημένη αναφέρονται από τον ασθενή απώλεια βάρους, αιμορραγίες, εύκολη κόπωση, ιδρώτες. Υπάρχει αυξημένη επίπτωση βακτηριακών και ιογενών λοιμώξεων που μερικές φορές μπορεί να είναι μοιραίες για τη ζωή του ασθενούς.

Διόγκωση λεμφαδένων

Ποσοστό έως 80% των ασθενών εμφανίζει ανώδυνη διόγκωση λεμφαδένων κατά τη διάγνωση της νόσου. Πιο συχνά διογκώνονται οι τραχηλικοί, υπερκλείδιοι και μασχαλιαίοι λεμφαδένες και οι λεμφαδενικές διογκώσεις μπορεί να είναι από μικρές ως του σημείου να επιφέρουν απόφραξη του ανωτέρου αναπνευστικού. Η απόφραξη λεμφαγγείων ή αγγείων είναι σπάνια όπως και το λεμφοίδημα των κάτω άκρων, ενώ



η απόφραξη της άνω κοίλης φλέβας θα πρέπει να θέτει την υποψία πνευμονικού νεοπλασματος.

Με τη χρήση της αξονικής τομογραφίας αποκαλύπτεται διόγκωση κοιλιακών λεμφαδένων σε μεγάλο αριθμό ασθενών. Οι διογκωμένοι οπισθοπεριτοναϊκοί λεμφαδένες μπορεί να προκαλέσουν απόφραξη των ουρητήρων και υδρονέφρωση ενώ οι περιπυλαιοί λεμφαδένες σπάνια αποφράσσουν τις χοληφόρους οδούς..

Σπληνομεγαλία- ηπατομεγαλία

Στο 50% των περιπτώσεων διαπιστώνεται ήπια ή μέσου βαθμού σπληνομεγαλία που μπορεί όμως να είναι και μαζική(15-20 cm κάτω από το πλευρικό τόξο). Ο ασθενής μπορεί να αναφέρει αίσθημα πληρότητας στην κοιλιά και ή γρήγορο κορεσμό.

Ο υπερσπληνισμός μπορεί να επιβαρύνει την προϋπάρχουσα αναιμία και θρομβοπενία. Έχει αναφερθεί εμφάνιση σπληνομεγαλίας ως μοναδικό εύρημα.

Η ηπατομεγαλία λόγω διήθησης είναι πιο σπάνια, ενώ μπορεί να εμφανισθεί ήπια διαταραχή της ηπατικής λειτουργίας.

Ανοσολογικές διαταραχές

1. Αυτοάνοσα φαινόμενα : στην ΧΛΛ μπορεί να εμφανισθεί συχνά αυτοάνοση αιμολυτική αναιμία ή αυτοάνοση θρομβοπενική πορφύρα. Μερικές φορές οι καταστάσεις αυτές μπορεί να αποτελούν την πρώτη εκδήλωση της νόσου. Λιγότερο συχνά εμφανίζεται απλασία της ερυθράς σειράς και ουδετεροπενία. Ασθενείς με ρευματοειδή αρθρίτιδα εμφανίζουν αυξημένη επίπτωση ΧΛΛ σε σχέση με τον γενικό πληθυσμό. Οι ασθενείς αυτοί εμφάνισαν μειωμένη δραστηριότητα των NK κυττάρων σε σχέση με φυσιολογικούς μάρτυρες. (Taylor et al, 1989)

Η εμφάνιση των αυτοανόσων φαινομένων οφείλεται στην διαλείπουσα παραγωγή αυτοαντισωμάτων που συνήθως στρέφονται κατά αντιγόνων του αιμοποιητικού ιστού. Τα αυτοαντισώματα αυτά παράγονται από πολυκλωνικά Β λεμφοκύτταρα ως αποτέλεσμα την ανοσολογικής διαταραχής που προκαλεί η νόσος. (Kipps et al, 1999)

2. Ανοσολογική ανεπάρκεια : οι περισσότεροι ασθενείς θα εμφανίσουν ανοσοανεπάρκεια με την μορφή της υπογαμμασφαιριναιμίας και της ανεπάρκειας της κυτταρικής ανοσίας, γεγονός που τους κάνει πολύ ευάλωτους στις λοιμώξεις. Η ανοσοανεπάρκεια μπορεί να επηρεάσει σημαντικά την επιβίωση. Εκτός από την μείωση των γ-σφαιρινών μπορεί να παρατηρηθεί και μονοκλωνική υπεργαμμασφαιριναιμία (Pangalis et al, 1999, Hansen et al, 1994, Deegan et al, 1984)

Εξωλεμφική συμμετοχή :

Αν και σπάνια συμπτωματική η εξωλεμφική συμμετοχή είναι συχνή όπως αποκαλύπτεται με την νεκροψία, π.χ. περισσότεροι από τους μισούς ασθενείς έχουν διήθηση των νεφρών αλλά η νεφρική λειτουργία σπάνια προσβάλλεται. Παρόλα αυτά υπάρχουν αναφορές για ασθενείς με ΧΛΛ που εμφάνισαν νεφρωσικό σύνδρομο με συχνότερη παθολογοανατομική βλάβη την μεμβρανώδη σπειραματονεφρίτιδα και ανταποκρίθηκαν στην αγωγή με χλωραμβουκίλη.

Η οπισθοβολβική διήθηση οδηγεί σε πρόπτωση του οφθαλμού , ενώ η αύξηση του λεμφικού ιστού στο φάρυγγα μπορεί να προκαλέσει απόφραξη του ανωτέρου αναπνευστικού.

Το πνευμονικό παρέγχυμα μπορεί να εμφανίσει οζώδη ή κεχροειδή διηθήματα , ενώ η κατάληψη του υπεζωκότα δημιουργεί πλευριτική συλλογή που συχνά απαιτεί παρακέντηση.



Η πάχυνση του βλεννογόνου του γαστρεντερικού μπορεί να οδηγήσει σε έλκη και αιμορραγία ή σε δυσαπορρόφηση ουσιών (π.χ.φυλλικού οξέος).

Προσβολή του δέρματος αναφέρεται σε ποσοστό 2%.

Συμμετοχή ΚΝΣ

Αναφέρονται σπάνιες περιπτώσεις υποτροπής από το ΚΝΣ που συνδυάζονται με εξαλλαγή της νόσου προς λέμφωμα υψηλής κακοήθειας.

Στην ΧΛΛ η πρωτοπαθής συμμετοχή του ΚΝΣ είναι εξαιρετικά σπάνια.

Εργαστηριακά ευρήματα

Λευκοκυττάρωση με λεμφοκυττάρωση είναι το σύνηθες εύρημα από το περιφερικό αίμα.

Λεμφοκύτταρα

Στο φυσιολογικό αίμα τα λεμφοκύτταρα είναι λιγότερα από $4.5 \times 10^9 / L$. Ο ακριβής αριθμός λεμφοκυττάρωσης που θα πρέπει να θεωρείται ύποπτη ή ενδεικτική για ΧΛΛ είναι αβέβαιος αλλά από τα ευρέως παραδεκτά συστήματα κατάταξης απαιτείται αριθμός μεγαλύτερος από 5 έως $10 \times 10^9 / L$. Στους περισσότερους ασθενείς η λεμφοκυττάρωση υπερβαίνει τα $15 \times 10^9 / L$, με ανώτερο όριο συνήθως τα $30 \times 10^9 / L$ αν και έχουν αναφερθεί περιπτώσεις ασθενών με $100 \times 10^9 / L$. Η λευκόσταση είναι σπάνια στην ΧΛΛ. Με την πάροδο του χρόνου η λεμφοκυττάρωση θα αυξηθεί, αν και υπάρχουν ασθενείς με σταθερό αριθμό λεμφοκυττάρων για χρόνια ή άλλοι που εμφανίζουν κυκλικές αυξομειώσεις του αριθμού χωρίς να λαμβάνουν θεραπεία.

Μορφολογικά χαρακτηριστικά των λεμφοκυττάρων στη ΧΛΛ

Η τυπική εικόνα των λεμφοκυττάρων είναι εκείνη του μικρού, ώριμου λεμφοκυττάρου με στρογγυλό πυρήνα, ώριμη χρωματίνη, χωρίς πυρήνιο, λίγο οξύφιλο κυτταρόπλασμα και σαφή κυτταρική μεμβράνη. Συχνά παρατηρούνται πυρηνικές σκιές. Υπάρχει όμως ποικιλία στην μορφολογία. Έτσι τα κύτταρα εμφανίζονται μεγαλύτερα ή άτυπα με πλασμοειδείς χαρακτήρες, με εντομή ή να μοιάζουν με προλεμφοκύτταρα. Τα λεμφοκύτταρα είναι στην πλειοψηφία τους PAS(+).

Η κατά FAB ταξινόμηση κατατάσσει τους ασθενείς σε τρεις κατηγορίες :

1. Τυπική ΧΛΛ ,περισσότερα από 90% των κυττάρων είναι μικρά λεμφοκύτταρα
2. ΧΛΛ-προλεμφοκυτταρική λευχαιμία, 11-54 % των κυττάρων είναι προλεμφοκύτταρα
3. Άτυπη ΧΛΛ , ετερογενής μορφολογία αλλά < 10% προλεμφοκύτταρα.

Κυτταροπλασματικά έγκλειστα μπορεί να παρατηρηθούν στα λεμφοκύτταρα της ΧΛΛ , βρίσκονται σε επαφή με το σύστημα Golgi ή το ενδοπλασματικό δίκτυο και σε μερικές περιπτώσεις διαπιστώθηκε πως πρόκειται για αθροίσματα ανοσοσφαιρινών. Κατεστραμμένα λεμφοκύτταρα (πυρηνικές σκιές) είναι συχνό εύρημα σε ασθενείς με ΧΛΛ , αλλά δεν αποτελούν ειδικά γνωρίσματα της νόσου.

Αναιμία και Θρομβοπενία

Αποτελούν δύο από τους πιο σημαντικούς προγνωστικούς παράγοντες στη ΧΛΛ. Όταν πρόκειται για προχωρημένη νόσο είναι το αποτέλεσμα της ανεπάρκειας του μυελού των οστών. Πρέπει όμως να αποκλείονται και άλλα αίτια όπως η έλλειψη σιδήρου ή φυλλικού οξέος ή Β12, ο υπερπληνισμός, αυτάνοση αιμολυτική αναιμία, αυτοάνοση θρομβοπενία.

Αναφέρεται επίσης παραγωγή κυτταροκινών με κατασταλτική δράση στην παραγωγή και στη δράση της ερυθροποιητίνης (αναιμία χρονίας νόσου)



Εξέταση Μυελού Οστού

Είναι σημαντική στη διερεύνηση της ΧΛΛ. Το μυελόγραμμα επιβεβαιώνει τα μορφολογικά ευρήματα του περιφερικού αίματος, ιδίως σε ασθενείς με χαμηλό αριθμό λευκών και δίνει την δυνατότητα να εκτιμηθεί η αιμοποίηση. Η διήθηση από λεμφοκύτταρα θα πρέπει να είναι τουλάχιστον 30%, ενώ σε κάποιες περιπτώσεις μπορεί να φθάνει και το 90%.

Βιοψία Οστού

Η διήθηση από λεμφοκύτταρα εμφανίζει μεγάλη διακύμανση ανάλογα με τη έκταση της νόσου. Σε αρχικά στάδια η διήθηση του μυελού των οστών είναι οζώδης ή διάμεση με άφθονα διαστήματα φυσιολογικής αιμοποίησης. Καθώς η νόσος προχωρά εμφανίζεται μικτή οζώδης και διάχυτη διήθηση και σε προχωρημένα στάδια ΧΛΛ υπάρχει διάχυτη διήθηση με ελάχιστο φυσιολογικό λίπος και μειωμένη αιμοποίηση.

Έλεγχος –σταδιοποίηση πριν τη θεραπεία

Επίχρισμα περιφερικού αίματος, γενική αίματος, ΔΕΚ, Coombs, νεφρική και ηπατική λειτουργία, LDH, ηλεκτροφόρηση πρωτεϊνών ορού και ούρων, β2 μικροσφαιρίνη, ανοσοφαινότυπος, μυελόγραμμα, βιοψία οστού, κυτταρογενετική.

Η περιφερική λεμφοκυττάρωση δεν είναι αποκλειστικό γνώρισμα της ΧΛΛ και θα πρέπει να γίνεται διαφορική διάγνωση από άλλες καταστάσεις (Pangalis et al, 1999)

ΑΙΤΙΑ ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΩΣΗΣ

1. Πρωτοπαθής λεμφοκυττάρωση

A. Κακοήθειες (κατάταξη WHO)

Λεμφοϋπερπλαστικά νοσήματα B κυττάρων

- ΧΛΛ/ λέμφωμα από μικρά λεμφοκύτταρα
- Λεμφοπλασματοκυτταρικό Λέμφωμα +/- Waldenstrom
- B-προλεμφοκυτταρική λευχαιμία
- Λέμφωμα από κύτταρα του μανδύα (mantle cell)
- Οζώδες Λέμφωμα, βαθμού I, II (Follicular cell)
- Λεμφοαδενικό λέμφωμα από κύτταρα της οριακής ζώνης (marginal cell)
- Σπληνικό λέμφωμα από κύτταρα της οριακής ζώνης
- Λευχαιμία από τριχωτά κύτταρα
- Πλασματοκύττωμα
- Πολλαπλό μύελωμα

Λεμφοϋπερπλαστικά νοσήματα T κυττάρων

- T-προλεμφοκυτταρική λευχαιμία
- Λευχαιμία/ Λέμφωμα από T κύτταρα των ενηλίκων (Adult T cell Leukemia / Lymphoma, HTLV1)
- Λευχαιμία από μεγάλα, κοκκιώδη T-Λεμφοκύτταρα (LGL-T)
- Λευχαιμία από μεγάλα, κοκκιώδη NK-λεμφοκύτταρα
- Σπογγοειδής Μυκητίαση. Σύνδρομο Sezary
- T-περιφερικό Λέμφωμα



Β. Μονοκλωνική Β-λεμφοκυττάρωση ακαθόριστης σημασίας
 Γ. Εμμένουσα πολυκλωνική λεμφοκυττάρωση από Β κύτταρα (δίλοβα λεμφοκύτταρα, γυναίκες, καπνίστριες, HLA συσχέτιση, εξέλιξη?)

2. Αντιδραστική λεμφοκυττάρωση

Α. Σύνδρομο μονοκυττάρωσης : Epstein - Barr, CMV, Toxoplasma Gondii, HIV, HSVII, Varicella-zoster virus, Rubella virus
 Adenovirus, HBV, HBA

Β. Bordatella pertussis

Γ. Εμμένουσα λεμφοκυττάρωση (χρόνια) : αυτοάνοσα νοσήματα, καρκίνος, κάπνισμα, χρόνια φλεγμονή, σπληνεκτομή, σαρκείδωση, θύμωμα, κοκκιωμάτωση Wegener

Δ. Λεμφοκυττάρωση από stress (οξεία) : καρδιαγγειακή καταπληξία (οξεία καρδιακή ανεπάρκεια, OEM, σηψαιμία), φάρμακα, αντιδράσεις υπερευαισθησίας, μεγάλες εγχειρήσεις, κρίση δρεπανοκυτταρικής, Status Epilepticus.

ΚΛΙΝΙΚΗ ΣΤΑΔΙΟΠΟΙΗΣΗ

Η κλινική σταδιοποίηση γίνεται παγκοσμίως με βάση τα δύο παρακάτω συστήματα που περιέγραψαν οι Rai και Binet .

ΚΑΤΑΤΑΞΗ RAI

Βασίζεται στην λεμφοκυττάρωση, τους διογκωμένους λεμφαδένες, τη διόγκωση ήπατος και σπληνός, την αναιμία και τη θρομβοπενία (Rai et al, 1975)

Στάδιο	κλινικά γνωρίσματα στη διάγνωση	μέση επιβίωση (έτη)
0	λεμφοκυττάρωση στο αίμα, ΜΟ.	>10
I	λεμφοκυττάρωση, διογκωμένοι λεμφαδένες	>8
II	λεμφοκύτταρωση, σπληνομεγαλία +/- διόγκωση λεμφαδένων	6
III	λεμφοκυττάρωση, αναιμία (<110g/L) +/- σπληνομεγαλία, διόγκωση λεμφαδένων	2
IV	λεμφοκυττάρωση, θρομβοπενία (<100X10 ⁹ /L) +/- αναιμία, διόγκωση λεμφαδένων, σπληνομεγαλία	2

Από την παραπάνω κατάταξη οι ασθενείς μπορούν να καταταχθούν σε τρεις ομάδες.

1. χαμηλού κινδύνου = στάδιο 0
2. ενδιάμεσου κινδύνου = στάδια I, II
3. υψηλού κινδύνου = στάδια III, IV



ΚΑΤΑΤΑΞΗ ΒΙΝΕΤ

Βασίζεται στον αριθμό των περιοχών με διογκωμένους λεμφαδένες, στα επίπεδα αιμοσφαιρίνης και στον αριθμό αιμοπεταλίων (Binet et al, 1975)

Στάδιο	εργαστηριακά	λεμφαδενικές περιοχές	μέση επιβίωση
A	Hb > 100 g/L PLT > 100 X 10 ⁹ /L	< 3	> 10
B	Hb > 100 g/L PLT > 100 X 10 ⁹ /L	> 3	7
C	Hb < 100 g/L PLT < 100 X 10 ⁹ /L	οποιαδήποτε συμμετοχή	2

Οι πέντε περιοχές λεμφαδενικής διόγκωσης είναι : κεφαλή και τράχηλος, μασχαλιαίοι λεμφαδένες, βουβωνικές περιοχές, ψηλαφητός σπλήνας, διογκωμένο ήπαρ.

ΠΡΟΓΝΩΣΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ

Η επιβίωση των ασθενών με ΧΛΛ παρουσιάζει μεγάλο εύρος. Η κλινική πορεία και η έκβαση ποικίλει σημαντικά από ασθενή σε ασθενή. Ενώ κάποιοι θα έχουν μια μακρόχρονη πορεία και θα καταλήξουν με την νόσο (και όχι από τη νόσο), άλλοι θα χρειασθούν σύντομα θεραπεία ή και αρκετές μορφές θεραπείας και παρόλα αυτά θα καταλήξουν από ανθεκτική ή προοδευτική νόσο ή τις επιπλοκές της.

Η δυσκολία να καθορισθεί η πορεία του κάθε ασθενούς αποτελεί σημαντικό πρόβλημα τόσο για τον ασθενή όσο και για τον γιατρό.

Το κλινικό στάδιο έτσι όπως έχει προταθεί εδώ και τρεις περίπου δεκαετίες από τους Rai et al και Binet et al αποτελεί ένα από τα πιο σημαντικά συστήματα κατάταξης των ασθενών σε προγνωστικές ομάδες. Τα αρχικά στάδια των δύο συστημάτων κατάταξης συνδέονται με καλύτερη κλινική πορεία. Τα συστήματα σταδιοποίησης αξιολογούν ικανοποιητικά την έκταση της νόσου αλλά δίνουν λίγες πληροφορίες για την δυναμική της νόσου και την κλινική πορεία κάθε ασθενούς ξεχωριστά (Fague et al, 1994).

Ο καθορισμός προγνωστικών παραγόντων έχει πολύ μεγάλη σημασία για τη θεραπευτική αντιμετώπιση του ασθενούς και αποτελεί αντικείμενο πολλών μελετών και αναφορών στη βιβλιογραφία. (Montserrat et al, 2002, Hallek et al, 1997).

Εκτός από το σύστημα της κλινικής σταδιοποίησης στους προγνωστικούς παράγοντες της ΧΛΛ ανήκουν ή έχουν προταθεί και οι παρακάτω :

Απόλυτος αριθμός λεμφοκυττάρων

Αυξημένος απόλυτος αριθμός λεμφοκυττάρων κατά τη διάγνωση έχει συσχετισθεί με πιο επιθετική κλινική πορεία (Abeloff et al, 1999)



Μορφολογία λεμφοκυττάρων :

Η εικόνα των λεμφοκυττάρων στο επίχρισμα του περιφερικού αίματος είναι κυρίως εκείνη του μικρού λεμφοκυττάρου με έλαχιστο κυτταρόπλασμα και με συμπυκνωμένη χρωματίνη (clumped) . Εκτός όμως από αυτή την τυπική μορφολογία παρατηρούνται μερικές φορές και μικτές εικόνες όπου υπάρχουν κύτταρα με εντομή του πυρήνα, με μορφή πλασμοειδούς λεμφοκυττάρου και προλεμφοκυττάρου. Η αναλογία αυτών των μορφών έχει συσχετισθεί με την πρόγνωση της νόσου, όπως αναφέρεται σε διάφορες μελέτες (Melo et al,1986,Vallespi et al,1991, Zwiebel et al,1998)

Χρόνος διπλασιασμού των λεμφοκυττάρων:

Το χρονικό διάστημα στο οποίο διπλασιάζεται ο αριθμός των λεμφοκυττάρων στο περιφερικό αίμα φαίνεται να αντικατοπτρίζει την ενεργότητα της νόσου. Όταν ο χρόνος αυτός είναι μικρότερος των δώδεκα μηνών θεωρείται πως η νόσος είναι προοδευτική και η παράμετρος αυτή αποτελεί ένδειξη για χορήγηση θεραπείας (Molica et al,1987)

Βιοψία οστού :

Η ιστολογική εικόνα του οστού στην ΧΛΛ παρουσιάζει τους παρακάτω τύπους διήθησης

- Οζώδης διήθηση, όπου οζίδια μικρών λεμφοκυττάρων βρίσκονται ανάμεσα σε τμήματα φυσιολογικού μυελού
- Διάμεση διήθηση , όπου τα λεμφοκύτταρα διηθούν τον μυελό αλλά διατηρούνται τμήματα φυσιολογικού αιμοποιητικού ιστού
- Διάχυτη διήθηση . όπου υπάρχει αντικατάσταση σχεδόν όλου του αιμοποιητικού ιστού από ώριμα λεμφοκύτταρα.

Από τις παραπάνω ιστολογικές εικόνες η διάχυτη διήθηση του μυελού των οστών έχει συνδεθεί με την χειρότερη πρόγνωση και την μικρότερη επιβίωση των ασθενών (Pangalis et al,1987)

Ο ρυθμός της αγγειογέννησης φαίνεται πως έχει προγνωστικό χαρακτήρα . Όπως και σε άλλα νεοπλασμάτα η πολύπλοκη αυτή διαδικασία φαίνεται πως είναι το αποτέλεσμα αλληλεπιδράσεων παραγόντων που την αυξάνουν και άλλων που την περιορίζουν. Οι παράγοντες αυτοί προέρχονται από τα νεοπλασματικά κύτταρα και το μικροπεριβάλλον . Στην ΧΛΛ φαίνεται πως ο ενδοθηλιακός αγγειακός αυξητικός παράγοντας (angiogenic vascular endothelial growth factor, VEGF) υπερισχύει έναντι παραγόντων που περιορίζουν την αγγειογέννηση. Η αυξημένη αγγειογέννηση έχει προγνωστική σημασία ιδίως για ασθενείς που βρίσκονται στα αρχικά στάδια της νόσου(Molica et al,2002).

Αυτοάνοσα φαινόμενα :

Εμφανίζονται κυρίως αυτοάνοση αιμολυτική αναιμία, αυτοάνοση θρομβοπενία και αμιγής απλασία της ερυθράς σειράς. Πιο συχνά εμφανίζεται η αυτοάνοση αιμολυτική αναιμία σε ποσοστό 3-37% όπως αναφέρεται σε διάφορες μελέτες. Μελέτη σε 1203 ασθενείς με ΧΛΛ αναφέρουν ποσοστό εμφάνισης 4% στο σύνολο των ασθενών , ενώ φαίνεται πως συμβαίνει πιο συχνά σε άνδρες ασθενείς, ηλικιωμένους, και αυξημένο αριθμό λεμφοκυττάρων. Υπάρχει συσχέτιση ανάμεσα στην δραστηριότητα της νόσου και της αιμολυτικής αναιμίας, αν και προς το παρόν δεν αποτελεί ανεξάρτητο προγνωστικό παράγοντα (Mauro et al,2000)



Τιμές β2-μικροσφαιρίνης (β2-mg) στον ορό :

Όπως και σε άλλα λεμφοϋπερπλαστικά νοσήματα, και στο πολλαπλό μυέλωμα οι τιμές της β2-μικροσφαιρίνης αποτελούν προγνωστικό δείκτη. Η αύξηση της τιμής συνδέεται με την πρόοδο της νόσου. (Keating et al, 1995, Molica et al 1999, Pavlidis et al, 1993)

Βιοχημικές διαταραχές :

Υπάρχουν αναφορές σε μελέτες όπου έγινε συσχέτιση των αυξημένων επιπέδων ασβεστίου (Ca^{++}) στον ορό με μειωμένη επιβίωση, καθώς και αναφορές σε συσχέτιση μειωμένων επιπέδων αλβουμίνης με χειρότερη πρόγνωση της νόσου (Abeloff et al, 1999)

Κυτταρογενετικές διαταραχές.

Οι πιο συχνές διαταραχές αφορούν στα χρωμοσώματα 12, 13, 14 ενώ λιγότερο συχνά εμφανίζονται στα χρωμοσώματα 11 και 6. Επίσης έχουν ανιχνευθεί τρισωμία 7, 9, 18, 20, 21, 22, μονοσωμία 1, 8, 9, 17, 21 ή X (Donner et al, 2000)

Οι κυτταρογενετικές διαταραχές έχουν συσχετισθεί με την πρόγνωση της νόσου σε πολλές μελέτες. (Brito-Babapulle et al, 1997, Panayiotidis et al, 1999)

Οι πιο συχνές καρυοτυπικές διαταραχές στην ΧΛΛ είναι οι ελλείψεις του χρωμοσώματος 13q. Οι ασθενείς αυτοί παρουσιάζουν μακρά κλινική πορεία, σύνθηως μόνο μια σταθερή λεμφοκυττάρωση και επιβίωση ανάλογη του αντίστοιχου φυσιολογικού πληθυσμού.

Αντίθετα η τρισωμία 12 συνδέεται με άτυπη μορφολογία, προοδευτική νόσο και μη μεταλλαγμένη μεταβλητή περιοχή του γονιδίου των ανοσοσφαιρινών (Chena et al, 2000, Que et al, 1993)

Έχουν διαπιστωθεί μεταλλάξεις του γονιδίου p53 στο χρωμόσωμα 17p13.3 σε ποσοστό έως 15% των ασθενών. Υπάρχει συσχέτιση με άτυπη μορφολογία των λεμφοκυττάρων, παρουσία προλεμφοκυττάρων σε ποσοστό > 10%, προοδευτική νόσο, αυξημένο δείκτη πολλαπλασιασμού, εξαλλάγη σε λέμφωμα Richter και μειωμένη επιβίωση (Rouby et al, 1993, Gardini et al, 1994, Gordone et al, 1998)

Ελλείψεις στο χρωμόσωμα 11q22-q23 έχουν διαπιστωθεί σε ποσοστό έως 20%. Οι ασθενείς αυτοί έχουν γενικευμένη διόγκωση λεμφαδένων και συχνά επιθετική κλινική πορεία. Στο σημείο αυτό του χρωμοσώματος 11 υπάρχει το γονίδιο που είναι μεταλλαγμένο στην αταξία-τηλαγγειεκτασία (ATM). Οι ασθενείς αυτοί έχουν αυξημένη επίπτωση λεμφικών νεοπλασιών.

Ανοσοφαινότυπος και πρόγνωση**1. έκφραση του CD38 και μελέτη του γονιδίου της μεταβλητής περιοχής των ανοσοσφαιρινών :**

Η ανοσοφαινοτυπική μελέτη της ΧΛΛ πλέον με την κυτταρομετρία ροής έχει δώσει τη δυνατότητα της μελέτης των δεικτών ως προγνωστικούς παράγοντες της νόσου (Catovsky et al, 2000, Montserrat et al, 2002, Geisler et al, 1991, Matutes et al, 2002)

Στην αρχική μελέτη του γονιδίου της μεταβλητής περιοχής των βαρειών αλυσίδων (VH) των ανοσοσφαιρινών (Ig) από κύτταρα Β-ΧΛΛ διαπιστώθηκε πως τα γονίδια αυτά βρισκόταν σε κληρονομική διάταξη (germline configuration). Έτσι θεωρήθηκε πως το κύτταρο της ΧΛΛ είναι "αθώο" λεμφοκύτταρο, δηλαδή δεν έχει έρθει σε επαφή με Τ λεμφοκύτταρα ή με αντιγόνα. Στην συνέχεια όμως παρουσιάστηκαν μελέτες όπου περιγράφηκαν περιπτώσεις ΧΛΛ με τα παραπάνω γονίδια να έχουν



σωματικές μεταλλάξεις. Άρα η ΧΛΛ θα μπορούσε να θεωρηθεί πως αποτελείται από δύο ομάδες : η μία με γονίδια VH σε κληρονομική διάταξη και η άλλη με γονίδια VH με σωματικές μεταλλάξεις. Η δεύτερη ομάδα θεωρείται πως προέρχεται από λεμφοκύτταρα που έχουν εισέλθει στο βλαστικό κέντρο του λεμφοζιδίου, άρα είναι κύτταρα μνήμης.

Οι περιπτώσεις ΧΛΛ με μη μεταλλαγμένα VH γονίδια συνδυάζονται συχνά με την τρισωμία 12, ενώ εκείνες με σωματικές μεταλλάξεις στα VH γονίδια με διαταραχές του 13q14. Η τρισωμία 12 έχει συσχετισθεί με μικρότερη επιβίωση, άρα φαίνεται κάποια συσχέτιση μεταξύ κλινικού σταδίου και ύπαρξης ή όχι σωματικών μεταλλάξεων. (Hamblin et al, 1999).

Οι Hamblin et al μελέτησαν 35 γυναίκες και 49 άνδρες με τυπική Β-ΧΛΛ. Από αυτούς οι 38 (45.2%) έχαν VH γονίδια σε εμβρυονική διάταξη, ενώ οι υπόλοιποι 46 (54.8%) εμφάνιζαν σωματικές μεταλλάξεις.

Η εμβρυονική διάταξη των γονιδίων συσχετίστηκε με πιο επιθετική νόσο (προοδευτική νόσος, άτυπη μορφολογία λεμφοκυττάρων, ανάγκη για θεραπεία). Η μέση επιβίωση αυτών των ασθενών ήταν 117 μήνες ενώ για εκείνους με μεταλλάξεις 293 μήνες. Η διαφορά είναι στατιστικώς σημαντική ($P=0.001$). Αν μάλιστα η σύγκριση γίνει μόνο για ασθενείς σταδίου Α τότε η μέση επιβίωση είναι 95 μήνες για όσους δεν είχαν μεταλλάξεις και 293 μήνες για εκείνους με μεταλλάξεις. Η διαφορά είναι ξανά στατιστικώς σημαντική ($P=.0008$)

Η έκφραση του CD38 στην κυτταρική μεμβράνη έχει συσχετισθεί με την παρουσία ή όχι μεταλλάξεων στην μεταβλητή περιοχή των γονιδίων των ανοσοσφαιρινών.

Οι Damle et al (1999) διαπίστωσαν πως η κατάσταση μετάλλαξης της περιοχής του γονιδίου και η έκφραση του CD38 αποτελούν διαφορετικούς και αξιόπιστους προγνωστικούς δείκτες της κλινικής πορείας και έκβασης της ΧΛΛ. Οι ασθενείς με μη μεταλλαγμένα γονίδια ή με έκφραση του CD38 πάνω από 30% έχουν χειρότερη κλινική πορεία από εκείνους με μεταλλάξεις των γονιδίων ή έκφραση του CD38 μικρότερη του 30%. Το ίδιο ισχύει και για τις απαιτήσεις για χημειοθεραπεία και τη συνολική επιβίωση.

Οι ασθενείς που ανήκουν στην ενδιάμεση κατηγορία κατά Rai μπορούν να έχουν μια σταθερή, μακροχρόνια πορεία ή να παρουσιάζουν μια ταχέως επιδεινούμενη πορεία παρά την επιθετική θεραπεία που λαμβάνουν. Η κατηγορία αυτή είναι και η πιο δύσκολη από πλευράς πρόγνωσης γιατί περιλαμβάνει ανομοιογενή πληθυσμό. Χρησιμοποιώντας τις παραπάνω παραμέτρους οι ασθενείς μπορούν να διαχωρισθούν με πιο σαφή κριτήρια όσον αφορά την πορεία τους.

Οι δύο κατηγορίες ΧΛΛ αντιπροσωπεύουν Β κύτταρα τα οποία μεταλλάχθηκαν σε νεοπλασματικά σε διαφορετικά στάδια της διαφοροποίησης ή και της ενεργοποίησης. Οι περιπτώσεις ΧΛΛ με μεταλλαγμένα VH γονίδια και μειωμένη έκφραση του CD38 προέρχονται από κύτταρα μνήμης που έχουν διέλθει από το βλαστικό κέντρο. Αντίθετα οι περιπτώσεις με μη μεταλλαγμένα VH γονίδια και αυξημένη έκφραση του CD38 προέρχονται από Β κύτταρα που δεν έχουν βρεθεί στο βλαστικό κέντρο, άρα είτε είναι «αθώα» Β λεμφοκύτταρα, είτε ενεργοποιημένα που δεν εισήλθαν στο βλαστικό κέντρο.

Σύμφωνα με τους παραπάνω ερευνητές οι δύο καινούργιοι προγνωστικοί παράγοντες (CD38 και VH γονίδιο) θα πρέπει να συσχετισθούν με άλλους όπως ο χρόνος διπλασιασμού των λεμφοκυττάρων, η β2-μικροσφαιρίνη, οι διαλυτοί υποδοχείς του CD23, τα επίπεδα ορού κινάσης θυμιδίνης, η ιστολογία του μυελού των οστών και οι κυτταρογενετικές διαταραχές.



Οι παραπάνω συσχετίσεις έχουν γίνει σε κάποιες ομάδες ασθενών και άλλοι ερευνητές πρότειναν την αξιολόγηση του CD38 με κυτταρομετρία ροής σε όλους του ασθενείς με ΧΛΛ (Poeta et al, 2001, Naylor et al, 1999, Ibrahim et al 2001)

Η προγνωστική αξία της έκφρασης του CD38 και των μεταλλάξεων στην IgVH περιοχή επιβεβαιώθηκε και από άλλους ερευνητές όπως οι Krober et al, 2002 σε μεγαλύτερο αριθμό (325) ασθενών με ΧΛΛ. Σε παρόμοια αποτελέσματα κατέληξαν και άλλοι ερευνητές που θεωρούν την έκφραση του CD38 προγνωστικής σημασίας (D'Arena et al, 2001, Oscier et al, 2002, Lin et al, 2002, Martai et al, 2001, Tobin et al, 2002)

Σε 148 ασθενείς που μελέτησαν οι Gia et al, 2003 αναφέρεται πως υπάρχουν τρεις μορφές έκφρασης του CD38 : 1.ομοιογενής έκφραση του CD38, 2.ομοιογενής απουσία, και 3. δίμορφος πληθυσμός, ένας με CD38+, και ένας με CD38-. Κατέληξαν όμως στο συμπέρασμα πως η παρουσία ενός ξεχωριστού πληθυσμού CD38+ εντός του λευχαιμικού κλώνου ανεξάρτητα του αριθμητικού του ορισμού, σχετίζεται με την κατάσταση μετάλλαξης των γονιδίων IgVH, και καθορίζει εκείνους τους ασθενείς που θα έχουν προοδευτική νόσο.

Η έκφραση του CD38 κατά την διάρκεια της νόσου μπορεί να αλλάζει, δηλαδή να αυξάνεται στις περιπτώσεις της προοδευτικής νόσου. Οι αναφορές στο θέμα αυτό έχουν δώσει αντικρουόμενα αποτελέσματα. Υπάρχουν αναφορές πως ασθενείς εμφανίζουν έκφραση του CD38 καθώς μεταπίπτουν σε πιο προχωρημένα στάδια της νόσου, αλλά και μελέτες που υποστηρίζουν πως δεν αλλάζει η έκφραση κατά την πορεία της νόσου. (Chang et al, 2002, D'Arena et al, 2002, Hamblin et al, 2002)

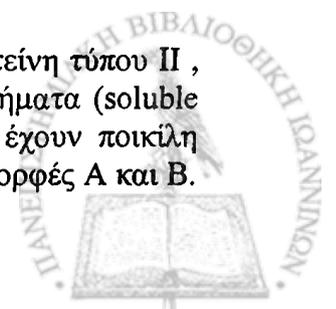
Η ύπαρξη γονιδίων VH σε κληρονομική διάταξη συνδέθηκε με αυξημένη απάντηση του υποδοχέα των B λεμφοκυττάρων (BCR) (Lanham et al, 2003)

Η περαιτέρω μελέτη της έκφρασης του CD38 στην ΧΛΛ καθώς και του γονιδίου IgVH από τους Hamblin et al αναφέρει την σημασία τους ως ανεξάρτητους προγνωστικούς παράγοντες. Παρότι υπάρχει αλληλοεπικάλυψη των δύο παραγόντων υπάρχουν περιπτώσεις όπου οι δύο παράγοντες δεν συνεκφράζονται στον ίδιο ασθενή. Στην μελέτη τους απουσία συνέκφρασης εμφανίζεται σε ποσοστό 28.3% των ασθενών. Στην πολυπαραγοντική ανάλυση όμως διαπιστώθηκε πως αποτελούν ανεξάρτητους προγνωστικούς παράγοντες. Επιπλέον αναφέρουν πως η έκφραση του CD38 ίσως να μην παραμένει σταθερή με το πέρασμα του χρόνου. Έχουν παρατηρηθεί διάφορες βαθμίδες θετικότητας, δηλαδή εκτός από τις περιπτώσεις όπου τα κύτταρα είναι θετικά ή αρνητικά υπάρχουν ασθενείς που έχουν ένα μίγμα από θετικά και αρνητικά κύτταρα. Οι ασθενείς αυτοί όταν λάβουν χημειοθεραπεία θα χάσουν το CD38 - τμήμα, άρα θα εμφανίσουν στη συνέχεια μόνο το θετικό. Άλλη μια πιθανή εξήγηση για την αλλαγή της έκφρασης ίσως να υπάρχει στο γεγονός πως το CD38 παίρνει μέρος στις κυτταρικές αλληλεπιδράσεις στην ανοσολογική απάντηση, και σε in vitro μελέτες η έκφραση του αυξάνεται κάτω από την επίδραση ιντερφερόνης α, β και γ. Ενδεχομένως οι αλλαγές στην έκφραση του να μην αντανακλούν προοδευτική νόσο αλλά συνυπάρχουσα λοίμωξη.

Οι παραπάνω ερευνητές θεωρούν προς το παρόν πως οι δύο παράγοντες CD38 και οι μεταλλάξεις IgVH αποτελούν συμπληρωματικούς προγνωστικούς παράγοντες οι οποίοι θα πρέπει να μελετηθούν περισσότερο και να συσχετισθούν με άλλους.

2. Διαλυτό αντιγόνο CD23

Βρίσκεται στην μεμβράνη των κυττάρων της ΧΛΛ. Είναι γλυκοπρωτεΐνη τύπου II, και αποτελεί υποδοχέα χαμηλής συγγένειας για την IgE. Διαλυτά τμήματα (soluble CD23, s CD23) αυτής της πρωτεΐνης κυκλοφορούν στο αίμα και έχουν ποικίλη βιολογική δραστηριότητα. Το γονίδιο του CD23 κωδικοποιεί δύο ισομορφές A και B.



Τα φυσιολογικά Β κύτταρα εκφράζουν αποκλειστικά την μορφή Α ενώ οι ιντερλευκίνες 3 και 4 (IL-3, IL4) οδηγούν στην έκφραση του μορίου Β. Ενώ η δράση του CD23 στην μεμβράνη εξαρτάται από την παρουσία της IgE, οι δράσεις του sCD23 είναι ανεξάρτητες της παρουσίας της IgE και περιλαμβάνουν: 1. προστασία των Β κυττάρων από την απόπτωση στο βλαστικό κέντρο, 2. πολλαπλασιασμός μυελικών προγονικών κυττάρων, 3. παραγωγή IFN- γ από τα Τ κύτταρα και απελευθέρωση κυτταροκινών από τα μονοκύτταρα.

Τα λεμφοκύτταρα της ΧΛΛ έχουν αυξημένη έκφραση του τύπου Β του CD23 και ο όρος των ασθενών έχει 3-500 φορές περισσότερο sCD23 από τον ορό άλλων ασθενών με διαφορετικά Β λεμφοϋπερπλαστικά νοσήματα. Οι Sarfari et al, 1996 μελέτησαν 153 ασθενείς με ΧΛΛ για να εκτιμήσουν την προγνωστική σημασία του sCD23 στον ορό. Χρησιμοποιώντας μια μέση τιμή, διαπίστωσαν πως ασθενείς με τιμές άνω του μέσου όρου είχαν σημαντικά μειωμένη επιβίωση σε σχέση με τους άλλους με μικρότερες τιμές. Σε πολυπαραγοντική ανάλυση διαπιστώθηκε πως οι τιμές sCD23 άνω του μέσου όρου αυξάνουν κατά 3.2 την πιθανότητα θανάτου όλου του πληθυσμού και για τους ασθενείς σταδίου Α αυξάνουν 15 φορές τον κίνδυνο εμφάνισης προοδευτικής νόσου. Η προγνωστική σημασία του sCD23 αναφέρεται και σε άλλες ανακοινώσεις (Lesesve et al, 2001).

3. Έκφραση του CD20

Πρόκειται για φωσφοπρωτεΐνη που ανιχνεύεται στην επιφάνεια των Β λεμφοκυττάρων με σημαντικό ρόλο στην ρύθμιση της ενεργοποίησης, πολλαπλασιασμού και διαφοροποίησης. Εμφανίζει διαφορές στην ένταση έκφρασης στην επιφάνεια λεμφοκυττάρων στα διάφορα λεμφοϋπερπλαστικά νοσήματα.

Από τους Manshougi et al, 2003 μελετήθηκαν 180 ασθενείς με ΧΛΛ και 31 μάρτυρες. Στο πλάσμα των δύο ομάδων μετρήθηκε το ποσό του κυκλοφορούντος (circulating) CD20. Το CD20 ανιχνεύεται στην κυκλοφορία είτε ως τμήματα του μορίου είτε ως τμήματα της κυτταρικής μεμβράνης. Η μεταβολή της τιμής στο πλάσμα φαίνεται να αντανακλά αλλαγή στην μάζα του όγκου, στον ρυθμό του κυτταρικού πολλαπλασιασμού και την ικανότητα του δικτυοενδοθηλιακού συστήματος να απομακρύνει τμήματα των λευχαιμικών κυττάρων.

Τα επίπεδα CD20 συσχετίστηκαν θετικά με την κατάταξη Rai και Binet και τα επίπεδα β 2-μικροσφαιρίνης, όχι όμως με τις τιμές αιμοσφαιρίνης, αιμοπεταλίων, τον αριθμό των λευκών, την ηλικία και τη σπληνομεγαλία.

4. Έκφραση του CD14

Η έκφραση του μυελομονοκυτταρικού δείκτη CD14 μελετήθηκε σε 128 ασθενείς με ΧΛΛ από τους Callea et al, 1999 και συσχετίστηκε με μεγαλύτερο φορτίου νόσου.

TNF-a (Tumor Necrosis Factor -a):

Πρόκειται για κυτταροκίνη με πολλές βιολογικές δραστηριότητες, στην άμυνα, φλεγμονή, κυτταρική διαφοροποίηση και με παθολογικό ρόλο στον πυρετό, σηπτικό shock, ρευματιδή αρθρίτιδα και φλεγμονώδη νοσήματα του εντέρου.

Στην ΧΛΛ τα κύτταρα απελευθερώνουν TNF-a in vitro και η έκθεση τους σε TNF-a αυξάνει τον πολλαπλασιασμό και τη βιωσιμότητα των λευχαιμικών λεμφοκυττάρων. Σε 150 ασθενείς με ΧΛΛ μετρήθηκαν τα επίπεδα του TNF-a, τα οποία βρέθηκαν αυξημένα και θεωρήθηκαν προγνωστικός παράγοντας της νόσου. Συσχετίστηκαν μάλιστα με αυξημένα επίπεδα β 2-μικροσφαιρίνης και αυξημένη έκφραση του CD38 (Ferrajoli et al, 2002).



Αγγειακός αυξητικός επιθηλιακός παράγοντας (Vascular endothelial growth factor ,VEGF):

Η μέτρηση του έγινε σε 68 ασθενείς με ΧΛΛ από τους Molica et al,1999 σε 68 ασθενείς με ΧΛΛ. Τα επίπεδά του δεν βρέθηκαν αυξημένα σε σχέση με τους μάρτυρες, όμως σε ασθενείς σταδίου Α φαίνεται πως αντικατοπτρίζουν κίνδυνο προοδευτικής νόσου.

Έκφραση του γονιδίου της πρωτεΐνης ZAP-70

Οι περιπτώσεις ΧΛΛ που έχουν γονίδια της μεταβλητής περιοχής των ανοσοσφαιρινών σε κληρονομική διάταξη, έχουν συσχετισθεί με άτυπη μορφολογία, προχωρημένο κλινικό στάδιο και προοδευτική νόσο.

Τα κύτταρα αυτά μπορούν να διαχωρισθούν από εκείνα που έχουν γονίδια με μεταλλάξεις, από τη διαφορετική έκφραση μια ομάδας γονιδίων.

Ένα από τα γονίδια αυτά κωδικοποιεί την zeta-associated protein 70 (ZAP-70), μια πρωτεΐνη 70 k Da, με δράση κινάση τυροσίνης (PTK) η οποία είναι συνδεδεμένη με την ζ αλυσίδα του CD3 υποδοχέα των T λεμφοκυττάρων.

Στα κύτταρα που τα γονίδια της μεταβλητής περιοχής των ανοσοσφαιρινών βρίσκονται σε κληρονομική διάταξη, ανιχνεύεται RNA για την πρωτεΐνη ZAP-70. Η λειτουργική σημασία της έκφρασης του ZAP-70 γονιδίου στα B λεμφοκύτταρα της ΧΛΛ παραμένει άγνωστη. Η πρωτεΐνη αυτή δεν εκφράζεται στα φυσιολογικά B λεμφοκύτταρα.

Στη μελέτη 22 ασθενών με ΧΛΛ, οι δώδεκα που είχαν γονίδια ανοσοσφαιρινών μη μεταλλαγμένα έκφραζαν σε στατιστικώς σημαντικό ποσοστό την ZAP-70. Η έκφραση της συσχετίστηκε και με την έκφραση του CD38(Chen et al,2002)

Η έκφραση της ZAP-70 μπορεί να ανιχνευθεί και με κυτταρομετρία ροής, και διαπιστώθηκε πως υπάρχει συσχέτιση μεταξύ της έκφρασης της, της κατάστασης των γονιδίων IgVH, της προόδου της νόσου και της επιβίωσης(Crespo et al,2003)

Απάντηση στη θεραπεία

Οι ασθενείς που ανταποκρίνονται στη χορήγηση θεραπείας έχουν καλύτερη πρόγνωση από εκείνους που εμφανίζουν αντίσταση.

Φύλο και ηλικία

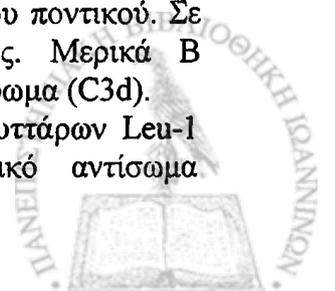
Η ηλικία φαίνεται πως έχει σημασία στην πρόγνωση, με τους νεότερους ασθενείς να έχουν χειρότερη πορεία αν και δεν έχει αποδειχθεί σε όλες τις μελέτες.

Οι γυναίκες φαίνεται πως έχουν μεγαλύτερο προσδόκιμο επιβίωσης από τους άνδρες.

ΑΝΟΣΟΛΟΓΙΚΟ ΠΡΟΦΙΛ ΤΩΝ ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΩΝ

B-κύτταρα Στο φυσιολογικό αίμα τα T-λεμφοκύτταρα υπερτερούν σε αριθμό έναντι των B (80% T, 20% B). Η αναλογία αυτή αντιστρέφεται στη ΧΛΛ με τα B-λεμφοκύτταρα να αποτελούν έως και το 90% όλων των λεμφοκυττάρων. Τα κύτταρα αυτά εκφράζουν χαμηλή πυκνότητα επιφανειακής ανοσοσφαιρίνης, συνήθως IgM ή IgM με IgD η οποία είναι μονοκλωνική όπως αποκαλύπτει η έκφραση μιας μόνο ελαφράς αλυσίδας (κ ή λ) και δημιουργούν ροζέτες με τα ερυθρά του ποντικού. Σε λίγες περιπτώσεις ανιχνεύονται ενδοπλασματικές ανοσοσφαιρίνες. Μερικά B κύτταρα έχουν υποδοχείς για τμήματα Fc για IgG και για το συμπλήρωμα (C3d).

Τα B ΧΛΛ κύτταρα είναι θετικά για το αντίσωμα των T-λεμφοκυττάρων Leu-1 (CD5) και ταυτόχρονα για τουλάχιστον ένα B- μονοκλωνικό αντίσωμα



B1(CD20,B4(CD19), CD23 (δείκτης ενεργοποίησης, χαμηλής συγγένειας FcE υποδοχέας) και BAI (CD24). Εκφράζουν επίσης το HLA-DR (αντιγόνο μείζονος ιστοσυμβατότητας, τάξεως II).

Υπάρχει ετερογένεια στην έκφραση του CD25 (υποδοχέας IL-2), CD11c (β2 integrin) και επιφανειακών μορίων προσκόλλησης CD54, CD58 και L-selectin.

Από τα παραπάνω συνάγεται πως τα κύτταρα ΧΛΛ είναι σχετικά ώριμα κύτταρα που έχουν σταματήσει σε μια ενδιάμεση θέση της διαφοροποίησης του Β λεμφοκυττάρου.

Μικρό ποσοστό των φυσιολογικών Β λεμφοκυττάρων εκφράζουν το CD5. Τα κύτταρα αυτά εκφράζουν δείκτες ενεργοποίησης και περισσότερο του 10% βρίσκονται σε μιτωτικό κύκλο σε αντίθεση με τα CD5 ΧΛΛ που σε ποσοστό λιγότερο του 1% πολλαπλασιάζονται.

Διεξάγονται ακόμη μελέτες για το αν τα λεμφοκύτταρα της ΧΛΛ είναι δύο ειδών, δηλαδή πρόκειται για κύτταρα που δεν έχουν έρθει σε επαφή με το αντιγόνο και για άλλα που είναι λεμφοκύτταρα μνήμης, ή αν τελικά πρόκειται για ένα είδος λεμφοκυττάρου χωρίς αντιγονική επαφή, αλλά που εκφράζει κάποιους δείκτες ενεργοποίησης (Damle et al, 2002).

Τ και ΝΚ λεμφοκύτταρα

Ο απόλυτος αριθμός των Τ λεμφοκυττάρων μπορεί να είναι φυσιολογικός, μειωμένος ή αυξημένος. Η ετερογένεια αυτή ίσως να οφείλεται σε αλληλεπιδράσεις ανάμεσα στα λευχαιμικά Β κύτταρα, μακροφάγα και Τ κύτταρα μέσω των κυτταροκινών που παράγουν.

Στον μυελό των οστών και στους λεμφαδένες υπάρχει αυξημένος αριθμός CD4 κυττάρων που ίσως επηρεάζουν την επέκταση του λευχαιμικού κλώνου και επιπλέον ακόμη και όταν τα Τ κύτταρα είναι φυσιολογικά παρουσιάζουν εντούτοις αλλαγές στην ποικιλία των υποδοχέων τους με αύξηση της ολιγοκλωνικότητας τόσο για τα CD4 όσο και για τα CD8. Τα ολιγοκλωνικά αυτά Τ-λεμφοκύτταρα συνεκφράζουν το CD57.

Τα ΝΚ είναι συνήθως μειωμένα. Η λειτουργική κατάσταση των Τ και ΝΚ λεμφοκυττάρων στη ΧΛΛ παραμένει ασαφής.

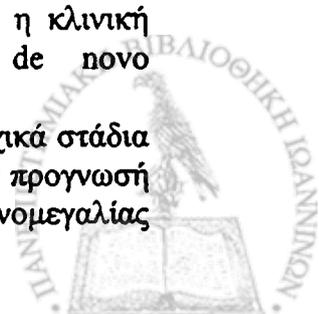
ΕΞΑΛΛΑΓΗ ΤΗΣ ΧΛΛ

Στην ΧΛΛ έχουν περιγραφεί δύο τύποι εξαλλαγής, όπως αναφέρονται στην τελευταία κατάταξη της Παγκόσμιας Οργάνωσης Υγείας (Jaffe et al, 2001).

1. Εξαλλαγή προς Προλεμφοκυτταρική λευχαιμία

Συμβαίνει αργά κατά τη διάρκεια αρκετών ετών και σχετίζεται με αυξανόμενη αναιμία, θρομβοπενία, σπληνομεγαλία και αντίσταση στη θεραπεία. Μερικές περιπτώσεις ανταποκρίνονται στην εντατική χημειοθεραπεία. Στο περιφερικό αίμα παρατηρούνται ταυτόχρονα τυπικά ΧΛΛ κύτταρα και ένα αυξανόμενος αριθμός προλεμφοκυττάρων. Φαίνεται πως στις περιπτώσεις η εξαλλαγή έχει προέλθει από τα ΧΛΛ κύτταρα γιατί τα προλεμφοκύτταρα έχουν τον ίδιο ανοσοφαινότυπο, συμπεριλαμβανομένης και της χαμηλής έντασης Ig και του CD5. Άρα η κλινική εικόνα και ο ανοσοφαινότυπος είναι διαφορετικός από την de novo προλεμφοκυτταρική λευχαιμία.

Μερικοί ασθενείς έχουν αυξημένο αριθμό προλεμφοκυττάρων από τα αρχικά στάδια της νόσου (πρόκειται δηλαδή για ΧΛΛ/ΠΛΛ), γεγονός που επηρεάζει την προγνωσή τους. Είναι μια ενδιάμεση μορφή της ΧΛΛ με αυξημένη εμφάνιση σπληνομεγαλίας



και με έναν ή δύο άτυπους δείκτες της ΧΛΛ (π.χ. FMC7+, έντονη Sm Ig). Οι περισσότερες περιπτώσεις έχουν το αναμενόμενο score 4-5.

Η παρουσία αυξημένου αριθμού προλεμφοκυττάρων σχετίζεται με πιο επιθετική μορφή ΧΛΛ και μικρότερη απάντηση στη θεραπεία από ότι οι τυπικές μορφές. Η ΧΛΛ/ΠΛΛ εμφανίζει μεγαλύτερο δείκτη πολλαπλασιασμού (Ki-67) και πιο συχνά τρισωμία 12.

3. Ανοσοβλαστική εξαλλαγή ή σύνδρομο Richter

Συνήθως συμβαίνει σε έναν ή περισσότερους λεμφαδένες, οι οποίοι στην ιστολογική εικόνα εμφανίζουν εικόνα λεμφώματος από μεγάλα κύτταρα. Τα κύτταρα είναι πολύ μεγάλα με ένα ή περισσότερα πυρήνια.

Το σύνδρομο Richter συσχετίζεται με συστηματικά συμπτώματα (πυρετό , απώλεια βάρους) και ετερόπλευρη διόγκωση των λεμφαδένων, όχι σπάνια των οπισθοπεριτοναϊκών. Συχνή είναι και η εξωλεμφική συμμετοχή (διήθηση νεφρών, πνευμόνων, γαστρεντερικού). Η συχνότητα υπολογίζεται στο 3-5% των ασθενών με ΧΛΛ , ενδεχομένως όμως να είναι μεγαλύτερη. Σπάνια η εξαλλαγή συμβαίνει στο μυελό των οστών και τα κύτταρα εμφανίζονται στο περιφερικό αίμα. Σε αυτή την περίπτωση μοιάζει με της οξείας λευχαιμίας με βλάστες Sm Ig θετικούς που διατηρούν μερικούς από τους δείκτες της ΧΛΛ. Το σύνδρομο Richter συνοδεύεται από μονοκλωνικές ανοσοσφαιρίνες στον ορό ή ελαφρές αλυσίδες στα ούρα, υπερασβαιοσπαιμία και αυξημένη LDH.

Στις περισσότερες περιπτώσεις η εξαλλαγή προκύπτει από την εμφάνιση ενός νέου κλώνου όπως φαίνεται από τις μελέτες των γονιδίων των ανοσοσφαιρινών.

4. Σπάνιες μορφές εξαλλαγής

Οξεία λευχαιμία : έχει αναφερθεί σε <1% των ασθενών με ΧΛΛ

Πολλαπλό μυέλωμα : συνήθως προέρχεται από διαφορετικό κλώνο.

ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΧΛΛ

Οι ασθενείς με ΧΛΛ σταδίου 0, I, II κατά Rai ή A κατά Binet , δεν έχουν ένδειξη να λάβουν θεραπεία..Θα πρέπει να βρίσκονται σε παρακολούθηση για να διαπιστωθεί εάν η νόσος είναι προοδευτική, γιατί η πρόωγη έναρξη θεραπείας μπορεί να μειώσει την επιβίωση λόγω της τοξικότητας. Έτσι ασθενείς με smoldering ΧΛΛ (Λεμφοκύτταρα <math> < 30 \times 10^9 /L</math>, χρόνος διπλασιασμού >12 μήνες, Hb>130 g/L και μη διάχυτη διήθηση του μυελού των οστών) δεν χρειάζεται να λάβουν θεραπεία.

Οι ενδείξεις θεραπείας στη ΧΛΛ είναι οι παρακάτω.

- Ασθενείς σταδίου III, IV (Rai) και C (Binet)
- Συμπτωματικοί ασθενείς χαμηλού ή ενδιάμεσου κινδύνου
- Προοδευτική νόσος (αυξανόμενη οργανομεγαλία, διπλασιασμός του αριθμού των λεμφοκυττάρων σε χρονικό διάστημα <math> < 12</math> μηνών, εμφάνιση συμπτωμάτων)
- Ογκώδης λεμφαγενοπάθεια ή ηπατοσπληνομεγαλία
- Αυτοάνοση αιμολυτική αναιμία/ θρομβοπενία

Κριτήρια για κλινική ανταπόκριση στη θεραπεία .

Πλήρης ύφεση

A. Απουσία συστηματικών συμπτωμάτων



Απουσία ηπατοσπληνομεγαλίας ή διόγκωσης λεμφαδένων στην κλινική εξέταση ή στον ακτινολογικό έλεγχο.

Φυσιολογική γενική αίματο (Hb > 110 g/L, ουδ > $1.5 \times 10^9 / L$. PLT > $100 \times 10^9 / L$)

Β. Τα παραπάνω θα πρέπει να παραμείνουν για δύο μήνες και έπειτα να ακολουθήσει μυελόγραμμα και βιοψία οστού, φυσιολογικής κυτταροβρίθειας, χωρίς λεμφικά οζίδια και διήθηση από λεμφοκύτταρα < 30%. Αν ο μυελός έχει μειωμένη κυτταροβρίθεια θα πρέπει να επαναληφθεί σε τέσσερις εβδομάδες . Αν υπάρχουν λεμφικά οζίδια τότε ο ασθενής δεν βρίσκεται σε πλήρη ύφεση , αλλά σε μερική οζώδη ύφεση.

Γ. Αν ο ασθενής παραμένει αναιμικός ή θρομβοπενικός μόνο, τότε βρίσκεται σε μερική ύφεση.

Μερική ύφεση

Α. >50% μείωση των λεμφοκυττάρων του περιφερικού αίματος και

>50% μείωση στην διόγκωση των λεμφαδένων ή /και στη σπληνομεγαλία (ή ηπατομεγαλία)

Β. τα παραπάνω θα πρέπει να διατηρηθούν για δύο μήνες σε συνδυασμό με ένα ή περισσότερα από τα παρακάτω :

Hb > 100 g/L ή .50% βελτίωση από την αρχική

Ουδετερόφιλα > $1.5 \times 10^9 / L$ ή > 50% βελτίωση από τα αρχικά

Αιμοπετάλια > $100 \times 10^9 / L$ ή > 50% βελτίωση από τα αρχικά

Προοδευτική νόσος

> 50% αύξηση του όγκου περισσότερων των δύο λεμφαδένων τουλάχιστον σε δύο ελέγχους σε διάστημα 2 εβδομάδων και/ή

>50% αύξηση του μεγέθους του ήπατος και/ή του σπληνός, ή/και

>50% αύξηση του αριθμού των λεμφοκυττάρων τουλάχιστον κατά $5 \times 10^9 / L$ ή /και εξαλλαγή προς μια πιο επιθετική ιστολογική μορφή

Σταθερή νόσος

Όσοι ασθενείς δεν ανήκουν σε καμία από τις παραπάνω κατηγορίες.

A. Χημειοθεραπεία

1. Αλκυλιούντες παράγοντες:

Χρησιμοποιείται κυρίως η χλωραμβουκίλη σε δόση $10 \text{mg}/\text{m}^2$ για 7 ημέρες ανά μήνα. Υπάρχει ανταπόκριση στο 40-60% των ασθενών και από αυτούς 3-10 % θα έχει πλήρη ύφεση.

Η χορήγηση κυκλοφωσφαμίδης έχει δώσει παρόμοια αποτελέσματα και δεν αυξάνει την επιβίωση των ασθενών σε σχέση με την χλωραμβουκίλη.

Η απάντηση στους αλκυλιούντες παράγοντες φαίνεται πως είναι συνάρτηση της δόσης και η αποτελεσματικότητα τους θα πρέπει να αξιολογείται στους 3 με 4 μήνες.

Η ταυτόχρονη χορήγηση πρεδνιζόνης με την χλωραμβουκίλη δεν βελτιώνει την επιβίωση, εκτός εάν πρόκειται για ασθενείς σταδίου C . Αντίθετα είναι προτιμότερο να χρησιμοποιείται όταν υπάρχει αυτοάνοση αιμολυτική αναιμία ή αυτοάνοση θρομβοπενία. (Wilhem et al, 1997)

2. Ανάλογα νουκλεοτιδίων:

Τα ανάλογα νουκλεοσιδίων έχουν σημαντική δράση στα λεμφοπερπλαστικά νοσήματα χαμηλού βαθμού κακοήθειας. (Keating et al, 1994, O'Brien et al, 1994, Bergmann 1997)



Η 2'δεοξυκοφορμυσίνη (pentostatin) αν και εμφανίζει εντυπωσιακά αποτελέσματα στη λευχαιμία από τριχωτά κύτταρα δεν είναι το ίδιο αποτελεσματική στην αντιμετώπιση της ΧΛΛ. Οι πιο συχνές ανεπιθύμητες ενέργειες είναι η ναυτία και οι έμετοι, η μυελοκαταστολή και οι λοιμώξεις.

Η fludarabine φαίνεται αρκετά δραστική στη θεραπεία της ΧΛΛ.

Ο μηχανισμός δράσης της fludarabine φαίνεται πως οφείλεται εν μέρει στην ενσωμάτωση του ενεργού μεταβολίτη F-ara A (9-β-D -arabino-furanosyl-2-fluoroadenine) triphosphate (F-ara-ATP) στις επιμηκνόμενες αλυσίδες των νουκλεϊκών οξέων, με αποτέλεσμα την διακοπή σύνθεσης DNA ή RNA. Ενδεχομένως να υπάρχουν και άλλες ενδοκυττάρειες δράσεις, όπως αναστολή DNA ή RNA πολυμεράσης (Gandi et al, 1994, O'Brien et al, 1994)

Η fludarabine οδηγεί το κύτταρο σε απόπτωση με μηχανισμό που δεν έχει διευκρινισθεί πλήρως.

Η fludarabine χορηγήθηκε σε διάφορες αιματολογικές κακοήθειες. Καλύτερα αποτελέσματα φαίνεται να υπάρχουν σε λεμφικά νεοπλάσματα με βραδύ ρυθμό εξέλιξης όπως είναι η ΧΛΛ. Αρχικά χορηγήθηκε ως θεραπεία δεύτερης γραμμής σε ασθενείς που ήταν ανθεκτικοί στους αλκυλιούντες παράγοντες και στους οποίους ποσοστό 12-73% ανταποκρίθηκαν στην χορήγηση του φαρμάκου και ποσοστό 25% εμφάνισε πλήρη ύφεση. Οι ασθενείς με διογκωμένους λεμφαδένες είχαν πιο ανθεκτική νόσο. Τα αποτελέσματα ήταν καλύτερα όταν η fludarabine χορηγήθηκε σαν θεραπεία πρώτης γραμμής (Keating et al, 1994)

Στις ανεπιθύμητες ενέργειες της αναφέρονται το σύνδρομο λύσεως όγκου, η λεμφοπενία (κυρίως μείωση των CD4) που επιπλέκεται με ευκαιριακές λοιμώξεις, η επιδείνωση ή εμφάνιση αυτάνοσης αιμολυτικής αναιμίας και η νευροτοξικότητα.

Προκειμένου να περιορισθούν οι ανεπιθύμητες ενέργειες και οι επιπλοκές τους έχει προταθεί να χορηγούνται ανοσοσφαιρίνες (IVIg) σε ασθενείς με ανοσοπάρεση και ιστορικό βακτηριακών λοιμώξεων πριν την χορήγηση fludarabine, να νοσηλεύονται οι ασθενείς σε κατάλληλους θαλάμους προκειμένου να αποφευχθεί λοίμωξη από ασπέργιλλο, και να χορηγείται χημειοπροφύλαξη μετά την θεραπεία (trimetoprim-sulfamethoxazole, ciprofloxacin). (Sudhoff et al, 1997)

Ασθενείς με μεταλλάξεις του p53 δεν ανταποκρίνονται σημαντικά στην χορήγηση των παραπάνω φαρμάκων (Dohner et al, 1995)

Η 2'-δεοξαδενοσίνη (cladribine) έχει μελετηθεί λιγότερο στη ΧΛΛ αλλά ίσως να είναι το ίδιο δραστική. Τα αποτελέσματα από μελέτες ποικίλουν με ανταπόκριση στη θεραπεία στο 48-72% των ασθενών που έχουν ήδη πάρει θεραπεία και πλήρη ύφεση στο 4-39%. Σε ασθενείς χωρίς προηγούμενη θεραπεία η ανταπόκριση φθάνει στο 80% και από το ποσοστό αυτό οι μισοί βρίσκονται σε πλήρη ύφεση. Η μυελοκαταστολή είναι πιο σημαντική από αυτή της fludarabine και μπορεί να προκληθεί σημαντική θρομβοπενία. Οι λοιμώξεις είναι επίσης σημαντική επιπλοκή του φαρμάκου. (Mitterbauer et al, 1997)

Η fludarabine και η cladribine δεν προκαλούν συσσώρευση αδενοσίνης που πιθανώς να εξηγεί την απουσία έντονης ναυτίας και έμετου που παρατηρείται με την pentostatin. Όμως όλα τα ανάλογα νουκλεοτιδών μπορούν να προκαλέσουν νευροτοξικότητα και περιφερική νευροπάθεια που αποτελούν σημαντικές τοξικότητες. Επίσης προκαλούν σημαντική ανοσοκαταστολή που περιλαμβάνει τόσο την μυελοκαταστολή, όσο και τη μείωση των CD4 λεμφοκυττάρων, που μπορεί να διαρκέσει χρόνια. Καθώς αυτοί οι παράγοντες θα χρησιμοποιούνται όλα και περισσότερο στη ΧΛΛ οι ευκαιριακές λοιμώξεις στους ασθενείς αυτούς θα αυξάνουν.



3. Συνδυασμοί χημειοθεραπευτικών φαρμάκων

Σε προχρήσιμα στάδια ΧΛΛ και σε όσους εμφανίζουν αντίσταση στη θεραπεία έχει χορηγηθεί συνδυασμός χημειοθεραπευτικών όπως το CHOP (κυκλοφωσφαμίδη, δοξορουβικήτη, βινκριστίνη, πρεδνιζολόνη).

Γίνονται πλέον και μελέτες με συνδυασμό του CHOP με μονοκλωνικά αντισώματα (rituximab). (Sweetenham et al, 1999)

Η ανταπόκριση στους συνδυασμούς αυτούς φαίνεται να είναι παρόμοια.

Η σύγκριση της χορήγησης Fludarabine σε σχέση με CAP φαίνεται να υπερτερεί (Johnson et al, 1996).

Σε μελέτη που περιλαμβάνει 938 ασθενείς με ΧΛΛ σταδίου Β και C συγκρίθηκαν η χορήγηση Fludarabine προς τη χορήγηση CAP ή CHOP σαν θεραπεία πρώτης γραμμής. Ο μέσος όρος επιβίωσης δεν ήταν διαφορετικός για τα τρία σχήματα, αλλά φάνηκε πως η Fludarabine και το CHOP έχουν καλύτερα αποτελέσματα. (Lerogier et al, 2001).

Συγκρίθηκε η χορήγηση Fludarabine μαζί με rituximab σε ταυτόχρονη χορήγηση και σε χορήγηση κατά συνέχεια (δηλαδή πρώτα Fludarabine και έπειτα rituximab) και φαίνεται πως η ταυτόχρονη έγχυση είναι πιο αποτελεσματική, αν και συνοδεύεται από περισσότερες ανεπιθύμητες ενέργειες. (Byrd et al, 2003).

Β. Μονοκλωνικά αντισώματα

Η παραγωγή μονοκλωνικών αντισωμάτων έδωσε τη δυνατότητα να χρησιμοποιηθεί μια γνωστή ιδιότητα των αντισωμάτων, δηλαδή η ικανότητα τους να κατευθύνονται έναντι καρκινικών κυττάρων, με μεγαλύτερη ειδικότητα. Τα μονοκλωνικά αντισώματα θα αναγνωρίσουν και θα κατευθυνθούν έναντι συγκεκριμένων στόχων πάνω στα νεοπλασματικά κύτταρα.

Για τα νεοπλάσματα από Β λεμφοκύτταρα χρησιμοποιούνται ως στόχοι συγκεκριμένοι ιδιότυποι των ανοσοσφαιρινών ή ειδικοί δείκτες των κυττάρων όπως το CD20, CD52.

Στη ΧΛΛ έχουν ήδη χορηγηθεί μόνα τους ή σε συνδυασμό με χημειοθεραπευτικά σχήματα, τα παρακάτω μονοκλωνικά αντισώματα.

RITUXIMAB (Mabthera)

Είναι μονοκλωνικό αντίσωμα κατά του επιφανειακού αντιγόνου CD20 των Β λεμφοκυττάρων. Η σύνδεση του με CD20 μειώνει τον αριθμό των Β λεμφοκυττάρων τουλάχιστον με τους τρεις παρακάτω μηχανισμούς: 1. κυτταροτοξικότητα μέσω αντισώματος, 2. κυτταροτοξικότητα μέσω συμπληρώματος, 3. απόπτωση.

Η χορήγηση rituximab περιλαμβάνει διάφορα Β Non-Hodgkin λεμφώματα, με κύριο εκπρόσωπο το οζώδες λέμφωμα (follicular lymphoma) στο οποίο έχει δώσει και τα καλύτερα αποτελέσματα, λόγω της αυξημένης έκφρασης του CD20 στα παθολογικά Β λεμφοκύτταρα.

Το rituximab έχει χορηγηθεί στην ΧΛΛ και ως μονοθεραπεία και σε συνδυασμό με άλλα χημειοθεραπευτικά φάρμακα. Ως μονοθεραπεία έχει εμφανίσει ολική ανταπόκριση έως 50%, η οποία ήταν κυρίως μερική με διάρκεια 8-10 μήνες. Σε σύγκριση με τα αποτελέσματα από τη χορήγηση σε άλλα Non-Hodgkin λεμφώματα, η ανταπόκριση είναι μικρότερη ίσως γιατί το CD20 έχει μικρότερη έκφραση στα κύτταρα, το αντίσωμα απομακρύνεται πιο γρήγορα από την κυκλοφορία ή λόγω συνδυασμού των δύο παραγόντων. (Itala et al, 2002)



CAMPATH-1H

Το CAMPATH-1H(alemtuzumab) είναι μονοκλωνικό αντίσωμα κατά του CD52, επιφανειακής πρωτεΐνης που εκφράζεται με αυξημένη πυκνότητα στα φυσιολογικά και κακοήγη Β και Τ λεμφοκύτταρα αλλά όχι στα αιμοποιητικά αρχέγονα κύτταρα. Η σύνδεση του alemtuzumab στο CD52 οδηγεί στον κυτταρικό θάνατο μέσω τριών μηχανισμών :

1. ενεργοποίηση του συμπληρώματος, 2. κυτταροτοξικότητα μέσω αντισώματος, 3. απόπτωση.

Το CAMPATH-1H χορηγήθηκε σε ασθενείς που είχαν λάβει ήδη θεραπεία με fludarabine ή συνδυασμό με άλλα φάρμακα και εμφάνισαν υποτροπή ή αντίσταση στη θεραπεία. Από τους 93 ασθενείς οι 31(33%) απάντησαν στη χορήγηση alemtuzumab αν και μόνο δύο είχαν πλήρη ύφεση. Ασθενείς που βρισκόταν σε στάδιο IV Rai έχουν μειωμένη πιθανότητα για απάντηση, όπως και όσοι έχουν διόγκωση των λεμφαδένων πάνω από 5 cm ή WHO performance status 2. Οι ανεπιθύμητες ενέργειες συνδέονται κυρίως με την έγχυση και περιλαμβάνουν ρίγος, πυρετό, ναυτία, εμετό, και εξανθήματα. Λόγω μείωσης των λεμφοκυττάρων η πιο συχνή ευκαιριακή λοίμωξη που παρατηρήθηκε ήταν η ενεργοποίηση κυτταρομεγαλοϊού (CMV). Αναφέρεται επίσης περίπτωση ασθενούς που ενώ ανταποκρίθηκε στη χορήγηση CAMPATH-1H εμφάνισε ανθεκτική αυτοάνοση θρομβοπενία (Keating et al,2002,Otton et al,1999)

Σε μελέτες φάσης II το αντι- CD52 χορηγήθηκε υποδορίως σε ασθενείς με ΧΛΛ ως θεραπεία πρώτης γραμμής. Η συνολική απάντηση έφθασε το 87%. Οι ανεπιθύμητες ενέργειες ήταν κυρίως τοπικές αντιδράσεις, ενώ ρίγος ναυτία, δύσπνοια και υπόταση ήταν σπάνιες.(Lundin et al,2002)

Ο συνδυασμός fludarabine με Campath-1H δοκιμάστηκε σε ασθενείς που είχαν αντίσταση στα παραπάνω θεραπευτικά σχήματα,όταν αυτά είχαν χορηγηθεί μεμονωμένα, με καλύτερα αποτελέσματα (Kenedy et al,2002).

Γ.Χορήγηση ερυθροποιητίνης

Η χορήγηση ανθρώπινης ανασυνδυασμένης ερυθροποιητίνης (r-HuEPO) είναι αποτελεσματική στη αντιμετώπιση της αναιμίας που οφείλεται στη νόσο και η απάντηση στη χορήγηση δεν επηρεάζεται από τα επίπεδα ερυθροποιητίνης στον ορό, από τη ταυτόχρονη χορήγηση χημειοθεραπείας, την υπέρταση, σπληνομεγαλίας και τον βαθμό διήθησης του μυελού των οστών, αν και σε μεγάλη διήθηση η απάντηση στην ερυθροποιητίνη μπορεί να καθυστερήσει(Pangalis et al,1995)

Περαιτέρω μελέτες συνέδεσαν την απάντηση στην χορήγηση ερυθροποιητίνης με τα επίπεδα στον ορό και την παρουσία γενικευμένης διόγκωσης λεμφαδένων και την σπληνομεγαλία. Ταυτόχρονα αναφέρεται πως η χορήγηση r-HuEPO σε ασθενείς σταδίων III, IV κατά Rai βελτιώνει τον αιματοκρίτη τους σε ποσοστό περίπου 80% και ενδεχόμεως αλλάζει την κλινική τους σταδιοποίηση. Η επίδραση της ερυθροποιητίνης στη βιολογία της νόσου δεν έχει αποδειχθεί, όμως υπάρχουν ενδείξεις πως η απάντηση στη χορήγηση r-HuEPO αναστέλλει την χορήγηση χημειοθεραπείας και βελτιώνει την ποιότητα ζωής. (Pangalis et al,2002)

Δ. Αλλογενής και Αυτόλογη Μεταμόσχευση

Αν και η ΧΛΛ είναι νόσος των ηλικιωμένων, ποσοστό 7-15% των ασθενών είναι κάτω των 55 ετών στην διάγνωση. Η συμβατική θεραπεία έχει δώσει μέτρια αποτελέσματα, με λίγες μακράς διάρκειας υφέσεις. Τα αποτελέσματα αυτά είναι περισσότερο αποδεκτά για πιο ηλικιωμένους αρρώστους, όχι όμως και για τους νεότερους στους οποίους ο στόχος θα πρέπει να είναι η θεραπεία.



Η χρήση μεταμόσχευσης αλλογενών και αυτολόγων αρχέγονων κυττάρων (stem cells) δεν αποτελεί ρουτίνα στην αντιμετώπιση της ΧΛΛ. Η παρατεταμένη φυσική ιστορία της νόσου κάνει δύσκολη την εκτίμηση της επίδρασης της μεταμόσχευσης στην κατάληξη της νόσου. Μια σημαντική πλευρά της μεταμόσχευσης, ιδίως της αλλογενούς είναι ο κίνδυνος θνητότητας που φθάνει στο 30-40%. Ως τώρα αλλογενής μεταμόσχευση έχει γίνει σε προχωρήμενα στάδια της νόσου (Catovsky et al, 2000)

Η χρήση fludarabine έχει μεν σαν αποτέλεσμα μεγαλύτερο ποσοστό πλήρους ύφεσης αλλά νεότεροι ασθενείς που αποτυγχάνουν να απαντήσουν στη θεραπεία έχουν κακή επιβίωση. Έτσι ξεκίνησε η χορήγηση αυτολόγων stem cells σε ασθενείς με ΧΛΛ. Η αυτόλογη μεταμόσχευση σχετίζεται με μικρή πιθανότητα θνητότητας από τη διαδικασία, αλλά υπάρχει ο θεωρητικός κίνδυνος να 'μολυνθεί' το μόσχευμα από κακοήθη κύτταρα, ο κίνδυνος υποτροπής παραμένει υψηλός και δεν υπάρχει δράση μοσχεύματος κατά της λευχαιμίας.

Με τα μέχρι τώρα δεδομένα η αλλογενής και αυτόλογη μεταμόσχευση είναι δυνατή στην ΧΛΛ σε επλεγμένες ομάδες ασθενών, με καλές πιθανότητες για σταθερή ύφεση αν και η παρακολούθηση είναι ακόμη μικρή. Η πιθανότητα επιβίωσης στην τριετία είναι 82% για την αλλογενή και 71% για την αυτόλογη. Η θνησιμότητα που συνδέεται με τη μεταμόσχευση δεν είναι τόσο υψηλή αλλά αυστηρή προφύλαξη κατά των λοιμώξεων και εντατική υποστηρικτική θεραπεία είναι απαραίτητες.

Η μεταμόσχευση αυτόλογων αιμοποιητικών κυττάρων έχει χρησιμοποιηθεί ως θεραπεία διάσωσης σε νέους ασθενείς. Σε έξι από τους δώδεκα ασθενείς που μεταμοσχεύθηκαν υπήρξε πλήρης ύφεση διάρκειας 30 μηνών μετά την μεταμόσχευση όπως αναφέρει η σχετική μελέτη (Sutton et al, 1998)

Ε.Ακτινοθεραπεία

Η ακτινοθεραπεία με τη μορφή της ακτινοβολίας του σπλήνα αποτελούσε για δεκαετίες την πρωταρχική θεραπεία της ΧΛΛ. Όμως και ακτινοβολία του μεσοθωρακίου και η ολόσωμη ακτινοθεραπεία (TBI) μπορεί να μειώσει τον αριθμό των κυκλοφορούντων λεμφοκυττάρων και το μέγεθος των λεμφαδένων, του σπληνός και του ήπατος. Παρότι η θεραπεία ήταν καλά ανεκτή, ακολουθούσε μεγάλη περίοδος μυελοκαταστολής.

Σήμερα η ακτινοθεραπεία χρησιμοποιείται μόνο για τοπικά ογκώδη νόσο και μόνο όταν δεν υπάρχει ένδειξη για χημειοθεραπεία. Χρησιμοποιείται η μικρότερη δόση που μπορεί να μειώσει τη μάζα.

ΣΤ.Σπληνεκτομή

Γίνεται συνήθως σε ασθενείς με πολύ μεγάλο σπλήνα που δεν μειώνεται με τη χορήγηση χημειοθεραπείας, όταν υπάρχει υπερσπληνισμός, και σε περιπτώσεις ωθεκτικής αυτοάνοσης αιμολυτικής αναιμίας ή αυτοάνοσης θρομβοπενίας.

Ανταπόκριση στη θεραπεία και υπολειμματική νόσος

Η ανταπόκριση στη θεραπεία και η υπολειπόμενη νόσος μπορεί να μελετηθεί με ακρίβεια με ποσοτική κυτταρομετρία ρόης χρησιμοποιώντας τους δείκτες CD5 και CD19 σε δείγμα από περιφερικό αίμα ή μυελό. (Cabezudo et al, 1997)

Η ποσοτικοποίηση της υπολοιπόμενης νόσου μπορεί να αποτελέσει ακριβή μέθοδο για την χορήγηση θεραπείας και για την πρόβλεψη της νόσου. (Rawstron et al, 2001)



ΔΙΑΦΟΡΙΚΗ ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΧΡΟΝΙΑΣ ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΙΚΗΣ ΛΕΥΧΑΙΜΙΑΣ

Η διαφορική διάγνωση της ΧΛΛ βασίζεται στην τελευταία κατάταξη των λεμφοϋπερπλαστικών νοσημάτων από την Παγκόσμια Οργάνωση Υγείας (WHO), (Jaffe et al,2001).

1.Β-ΠΡΟΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΛΕΥΧΑΙΜΙΑ

Πρόκειται για νεόπλασμα Β-λεμφοκυττάρων (μεσαιού μεγέθους , στρογγυλό σχήμα, με εμφανή πυρήνια) που ανιχνεύονται στο αίμα σε ποσοστό > 55%, και διηθούν τον σπλήνα και τον μυελό των οστών. Εξαιρούνται οι περιπτώσεις της ΧΛΛ που μεταπίπτουν σε Β-προλεμφοκυτταρική, καθώς και η ΧΛΛ με αυξημένο αριθμό προλεμφοκυττάρων.

Σπάνιο νόσημα, αντιπροσωπεύει περίπου το 1% των λεμφικών λευχαιμιών, κυρίως σε άτομα μεγάλης ηλικίας.

Η εξέταση του περιφερικού αίματος είναι σημαντική στη διάγνωση. Η νόσος χαρακτηρίζεται κυρίως από σπληνομεγαλία και λιγότερο από λεμφαδενοπάθεια. Τα λευκά είναι αυξημένα ($50-100 \times 10^9/L$), υπάρχει αναιμία, θρομβοπενία και σε μερικές περιπτώσεις ανιχνεύεται μονοκλωνική σφαιρίνη στον ορό.

Η διαφορική διάγνωση είναι μερικές φορές δύσκολη από την βλαστοειδή μορφή του λεμφώματος του μανδύα, του SLVL, και της ΧΛΛ με αυξημένα προλεμφοκύτταρα.

Κυτταρομετρία- ανοσοκυτταροχημεία

CD19+, CD20+, CD24+, CD79a+, SmIg+(IgM+, IgD+/-), FMC7+
CD5-, CD10-, CD23-

Η επιβίωση είναι μικρή , μερικές περιπτώσεις ανταποκρίνονται σε CHOP, ή σε ανάλογα των πουρινών(fludarabine, cladribine)

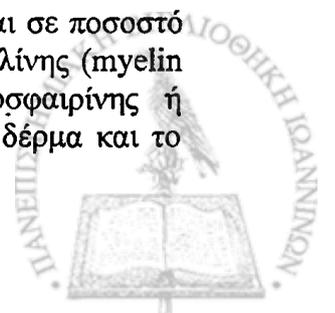
2.ΛΕΜΦΟΠΛΑΣΜΑΤΟΚΥΤΤΑΡΙΚΟ ΛΕΜΦΩΜΑ (LPL)- ΜΑΚΡΟΣΦΑΙΡΙΝΑΙΜΙΑ WALDENSTROM

Νεόπλασμα μικρών Β-λεμφοκυττάρων, πλασμοειδών λεμφοκυττάρων και πλασματοκυττάρων που διηθούν τον μυελό των οστών, τους λεμφαδένες και τον σπλήνα , είναι συνήθως CD5- , και συνδυάζονται με μονοκλωνική σφαιρίνη που έχει δράση κρυσφαιρίνης ή προκαλεί συμπτώματα υπεργλοιοτήτας.

Είναι σπάνια νόσος, εμφανίζεται κυρίως σε ηλικιωμένους και με μεγαλύτερη συχνότητα στους άνδρες.

Διηθείται κυρίως ο μυελός των οστών, οι λεμφαδένες και σπλήνας ενώ μπορεί να υπάρχει και εξωαδενική συμμετοχή (δέρμα, πνεύμονες, γαστρεντερικό) αλλά δεν είναι τόσο συχνή όσο είχε αρχικά θεωρηθεί.

Η μονοκλωνική σφαιρίνη IgM βρίσκεται σε ποσότητα >30g/L (μακροσφαιριναιμία Waldenstrom) και μπορεί να προκαλεί συμπτώματα υπεργλοιοτήτας, να έχει δράση αυταντισώματος, ή κρυσφαιρίνης. Υπεργλοιοτήτα εμφανίζεται σε ποσοστό 10-30 % και προκαλεί συμπτώματα όπως μειωμένη οπτική οξύτητα και προδιαθέτει σε αυξημένη επίπτωση εγκεφαλικών επεισοδίων. Νευροπάθεια εμφανίζεται σε ποσοστό 10%, όταν η παραπρωτεΐνη αντιδρά με αντιγόνα του ελύτρου της μυελίνης (myelin associated glycoprotein or gangliosides), όταν έχει δράση κρυσφαιρίνης ή εναποτίθεται στα νεύρα. Εναποθέσεις της IgM μπορεί να γίνουν στο δέρμα και το



γαστρεντερικό. Όταν η IgM συνδέεται με παράγοντες πήξης, αιμοπετάλια ή ινική μπορεί να υπάρχουν διαταραχές στην πήξη.

Η παραπρωτεϊνή IgM υπάρχει και σε άλλα νοσήματα εκτός από το LPL, όπως SLVL, CLL, εξωαδενικά MALT λεμφώματα. Άρα η μακροσφαιριναιμία Waldenstrom δεν είναι συνώνυμο του LPL.

Μορφολογία: επειδή πολλά Β λεμφώματα εμφανίζουν εικόνα πλασμοειδούς κυττάρου ή πλασματοκυττάρου με ενδοκυττάρια Ig (όπως Β-ΧΛΛ, λέμφωμα οριακής ζώνης, οξώδες λέμφωμα) ο όρος LPL περιορίζεται μόνο σε περιπτώσεις που δεν υπάρχουν γνωρίσματα άλλου λεμφώματος. Πρόκειται για πολύ σπάνιο νεόπλασμα. Στο περιφερικό αίμα παρατηρείται μείγμα από μικρά λεμφοκύτταρα, πλασματοκύτταρα και πλασμοειδή λεμφοκύτταρα. Τα πλασμοειδή λεμφοκύτταρα είναι λίγο μεγαλύτερα από τα φυσιολογικά λεμφοκύτταρα, με διάφορους συνδυασμούς γνωρισμάτων που σχετίζονται με διαφοροποίηση προς πλασματοκύτταρο, όπως πιο άφθονο και πιο βασεόφιλο κυτταρόπλασμα, έκκεντρος πυρήνας, πυκνή συνάθροιση χρωματίνης ή παρουσία συσκευής Golgi.

Ανοσοφαινότυπος: CD19+, CD20+, CD22+, CD79a+, CyIg+, SmIg+(IgM), CD38+ CD5-, CD10-, CD23-

Κυτταρογενετική: t(9;14)(p13;q32)

Πρόγνωση: βραδεία πορεία, μέση επιβίωση περίπου 5 χρόνια

Οι ασυμπτωματικοί ασθενείς δεν χρήζουν θεραπείας. Η προχωρημένη ηλικία, η κυτταροπενία, η νευροπάθεια και η απώλεια βάρους σχετίζονται με κακή πρόγνωση. Στη θεραπεία χρησιμοποιούνται αλκυλιούντες παράγοντες, ανάλογα πουρινών και πλασμαφαίρεση.

3. ΛΕΥΧΑΙΜΙΑ ΑΠΟ ΚΥΤΤΑΡΑ ΜΕ ΤΡΙΧΟΕΙΔΕΙΣ ΠΡΟΣΕΚΒΟΛΕΣ

Νεόπλασμα μικρών Β λεμφοκυττάρων με οβάλ πυρήνα και άφθονο κυτταρόπλασμα με 'τριχωτές' προσεκβολές που διηθούν διάχυτα τον μυελό των οστών, τον ερυθρό πολφό του σπλήνα, βρίσκονται στο περιφερικό αίμα και εμφανίζουν έντονη έκφραση του CD103, CD22, CD11c.

Αποτελεί το 2% των λεμφικών λευχαιμιών και εμφανίζεται σε μέσης έως μεγάλης ηλικίας ασθενείς. Τα πιο συχνά κλινικά ευρήματα είναι η σπληνομεγαλία και σημεία και συμπτώματα που προέρχονται από την αναιμία και την ουδετεροπενία. Εμφανίζεται επίσης με εικόνα πανκυτταροπενίας, με λεμφαδενοπάθεια, με εικόνα λοίμωξης και αυτοανόσων φαινομένων.

Στο περιφερικό αίμα αναγνωρίζονται τα τυπικά 'τριχωτά' κύτταρα σε ποσοστό μεγαλύτερο του 85% των ασθενών. Πρόκειται για κύτταρα μεγαλύτερα από εκείνα της ΧΛΛ, με άφθονο, ελαφρώς βασεόφιλο κυτταρόπλασμα με χαρακτηριστικές προσεκβολές. Ο πυρήνας είναι στρογγυλός, οβάλ, νεφροειδής ή δίλοβος, χωρίς εμφανές πυρήνιο.

Η αντίδραση της όξινης φωσφατάσης ανθεκτικής στο τρυγικό οξύ (TRAP) είναι θετική. Η αναρρόφηση του μυελού των οστών είναι συχνά δυσχερής λόγω αυξημένης ίνωσης. Η βιοψία οστού εμφανίζει διάχυτη διήθηση από τα νεοπλασματικά κύτταρα και έχει εικόνα σαν 'κηρύθρα' (ο πυρήνας των τριχωτών κυττάρων περιβάλλεται από άλω κυτταροπλάσματος). Στον σπλήνα παρατηρείται διήθηση του ερυθρού πολφού ενώ ο λευκός πολφός ατροφεί. Διήθηση μπορεί να υπάρξει και στο ήπαρ.

Ανοσοφαινότυπος:

CD11c+, CD19+, CD20+, CD22+, CD24+, CD71+, CD103+, stongSmIg, HC2+, FMC7+, DBA44+



CD5-, CD10-, CD23-

Η θεραπεία περιλαμβάνει την χορήγηση δεοξυκοφορμυσίνης (2CDA), IFN α -2b, και σπάνια πλέον την σπληνεκτομή.

4.ΛΕΥΧΑΙΜΙΑ ΑΠΟ ΚΥΤΤΑΡΑ ΜΕ ΤΡΙΧΟΕΙΔΕΙΣ ΠΡΟΣΕΚΒΟΛΕΣ-VARIANT

Η μορφή αυτή εμφανίζεται με πιο αυξημένο αριθμό λευκών και λιγότερο συχνά με εικόνα πανκυτταροπενίας. Τα παθολογικά κύτταρα που κυκλοφορούν στο περιφερικό αίμα έχουν πιο βασεόφιλο πρωτόπλασμα και εμφανή πυρήνια (μοιάζουν με προλεμφοκύτταρα) ενώ η ιστολογική εικόνα του μυελού των οστών είναι παρόμοια της τυπικής λευχαιμίας από τριχωτά κύτταρα. Η αντίδραση TRAP είναι αρνητική.

Ανοσοφαινότυπος : CD11c+, CD19+, CD20+, CD22+, FMC7+, CD103+/-,
CD25-,HC2-

Σύστημα βαθμολόγησης για τη διάγνωση της Λευχαιμίας από τριχωτά κύτταρα

<u>Δείκτης</u>	<u>Βαθμολογία</u>	
	1	0
CD11c	+	-
CD25	+	-
CD103	+	-
HC2/CD123	+	-

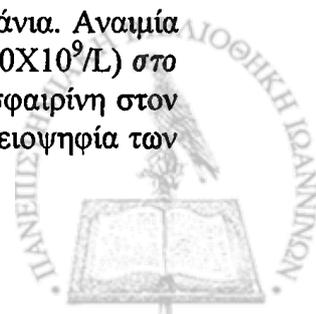
Στην Λευχαιμία από τριχωτά κύτταρα η βαθμολογία σύμφωνα με τον παραπάνω πίνακα είναι 3-4, ενώ στην variant 5 . Στο σπληνικό λέμφωμα από λαχνωτά κύτταρα είναι 0-1.

5.ΣΠΛΗΝΙΚΟ ΛΕΜΦΩΜΑ ΑΠΟ ΛΑΧΝΩΤΑ ΚΥΤΤΑΡΑ (SPLENIC B-CELL LYMPHOMA WITH CIRCULATING VILLOUS LYMPHOCYTES, SLVL)

Πρόκειται για νεόπλασμα μικρών B λεμφοκυττάρων που περιβάλλουν και αντικαθιστούν τα βλαστικά κέντρα των λεμφοζιδίων του λευκού πολφού του σπλήνα, καταργούν τον μανδύα και επεκτείνονται με περιφερική ζώνη (marginal zone) και μεγαλύτερων κυττάρων που περιλαμβάνουν και διάχυτους βλάστες. Μικρά και μεγαλύτερα κύτταρα διηθούν και τον ερυθρό πολφό. Συχνά συμμετέχουν οι λεμφαδένες της πύλης του σπλήνα και ο μυελός των οστών. Κύτταρα του λεμφώματος μπορεί να υπάρχουν και στο περιφερικό αίμα ως λαχνωτά λεμφοκύτταρα (Franco et al,2003,Catovsky et al,1999,Chason et al,2002).

Ιστοπαθολογικά προέρχεται από B λεμφοκύτταρα της οριακής ζώνης (marginal zone) του σπλήνα. Οι ασθενείς είναι κυρίως ηλικιωμένοι, με μέση ηλικία τα 72 έτη (εύρος 58-88).

Η σπληνομεγαλία μπορεί να είναι μαζική, ενώ η λεμφαδενοπάθεια σπάνια. Αναιμία εμφανίζεται στο 1/3 των ασθενών (Hb<110g/L), ενώ θρομβοπενία (<100X10⁹/L) στο 15%. Στους μισούς περίπου ασθενείς ανιχνεύεται μονοκλωνική ανοσοσφαιρίνη στον ορό ή στα ούρα, ενώ αυτάνοση αιμολυτική αναιμία εμφανίζεται στην μειοψηφία των περιπτώσεων.



Στην περίπτωση που υπάρχει συμμετοχή του περιφερικού αίματος τα λεμφοκύτταρα εμφανίζουν αυξημένη αναλογία πυρήνα, κυτταροπλάσματος, ανώμαλη κυτταρική μεμβράνη με κοντές λάχνες κυρίως στον ένα πόλο του κύτταρου, οβάλ πυρήνα, συμπυκνωμένη χρωματινή, ορατό πυρήνιο στις μισές περιπτώσεις. Λίγα κύτταρα έχουν πιο άφθονο κυτταρόπλασμα και πιο μακριές λάχνες και μοιάζουν με τριχωτά, ενώ 5-10% έχουν σημαντική κυτταροπλασματική βασοεφιλία. Η αντίδραση TRAP είναι αρνητική. Η αναρρόφηση του μυελού των οστών είναι δυνατή (ΔΔ από λευχαιμία από τριχωτά κύτταρα), εμφανίζει καλή κυτταροβρίθεια, ενώ στο 1/3 των περιπτώσεων δεν υπάρχει διήθηση. Στην βιοψία του οστού εμφανίζεται παραδοκιδώδης διήθηση που είναι πιο συχνά οζώδης.

Ανοσοφαινότυπος : CD19+, CD20+, CD22+, CD79a+, strongSmIg(IgM, IgD).

FMC7+/-, CD11c-/+ , CD10-/+ , CD26-/+ , CD5-, CD23-

Χαρακτηρίζεται από βραδεία εξέλιξη και απαντά στην σπληνεκτομή.

6. ΛΕΜΦΩΜΑ ΟΡΙΑΚΗΣ ΖΩΝΗΣ (Nodal marginal zone B cell lymphoma)

Πρόκειται για πρωτοπαθές λεμφαδενικό νεόπλασμα Β λεμφοκυττάρων με μορφολογική ομοιότητα προς τους λεμφαδένες που συμμετέχουν σε εξωαδενικά λεμφώματα της οριακής ζώνης ή του σπληνικού τύπου, χωρίς όμως την παρουσία εξωαδενικής ή σπληνικής νόσου.

Είναι σπάνιο νόσημα και αποτελεί το 1.8% των λεμφωμάτων. Υπάρχει διήθηση των περιφερικών λεμφαδένων ενώ μερικές φορές διηθείται ο μυελός των οστών και υπάρχουν παθολογικά κύτταρα και στο περιφερικό αίμα.

Η κλινική εικόνα χαρακτηρίζεται από γενικευμένη ή περιφερική λεμφαδενοπάθεια. Η ιστολογική εικόνα του λεμφαδένα εμφανίζει διήθηση της οριακής ζώνης και του οζώδους κέντρου από Β κύτταρα οριακής ζώνης (κεντροκύτταρα) ή μονοκυτταροειδή Β λεμφοκύτταρα ή μικρά Β λεμφοκύτταρα, με διάσπαρτους κεντροβλάστες και ανοσοβλάστες. Περιγράφονται δύο τύποι. Ο πρώτος μοιάζει με το MALT, ενώ ο δεύτερος με SLVL. Εξαλλαγή σε λέμφωμα από μεγάλα Β κύτταρα μπορεί να συμβεί.

Στους ασθενείς με εξωαδενικό λέμφωμα MALT, θυρεοειδίτιδα Hashimoto, σύνδρομο Sjogren η συμμετοχή των λεμφαδένων θα πρέπει να θεωρείται δευτεροπαθής.

Ο ανοσοφαινότυπος είναι παρόμοιος με αυτόν του εξωαδενικού MALT και του SLVL.

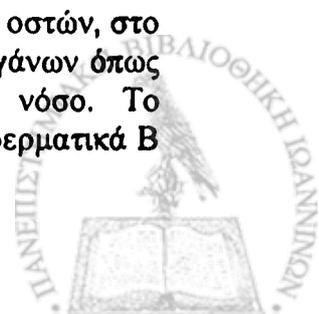
Η μέση επιβίωση είναι περίπου 5 χρόνια (Nathani et al, 1999)

7. ΟΖΩΔΕΣ ΛΕΜΦΩΜΑ (FOLLICULAR LYMPHOMA)

Νεόπλασμα των Β λεμφοκυττάρων του οζώδους κέντρου των λεμφοζιδίων, το οποίο έχει κατά ένα μέρος τουλάχιστον οζώδη μορφολογία.

Αποτελεί περίπου το 35% των Non-Hodgkin Λεμφωμάτων των ενηλίκων στις ΗΠΑ, και το 22% παγκοσμίως. Εμφανίζεται σε άνδρες μέσης ηλικίας, με αναλογία άνδρες/γυναίκες 1: 1.7. Είναι σπάνιο σε ασθενείς κάτω των 20 ετών.

Εντοπίζεται κυρίως σε λεμφαδένες, αλλά και στο σπλήνα, στο μυελό των οστών, στο περιφερικό αίμα και στο δακτύλιο του Waldayer. Συμμετοχή άλλων οργάνων όπως γαστρεντερικό, μαλακό ιστοί και δέρμα υπάρχει σε εκτεταμένη νόσο. Το πρωτοπαθές δερματικό οζώδες λέμφωμα αποτελεί ένα από τα πιο συχνά δερματικά Β λεμφώματα.



Κλινική εικόνα :

Κατά τη διάγνωση συνήθως η νόσος είναι γενικευμένη με συμμετοχή περιφερικών και κεντρικών λεμφαδένων και του σπλήνα. Η διήθηση του μυελού των οστών φθάνει το 40%. Μόνο το 1/3 των ασθενών βρίσκονται σε στάδιο I ή II κατά τη διάγνωση. Παρά τη γενικευμένη νόσο οι ασθενείς παραμένουν ασυμπτωματικοί.

Μορφολογία :

Στις περισσότερες περιπτώσεις παρατηρείται οζώδης διαμόρφωση. Αναγνωρίζονται δύο είδη κυττάρων: 1. μικρά έως μεσαίου μεγέθους κύτταρα με γωνιώδη, επιμηκυσμένο, διπλωμένο ή με εντομή πυρήνα, σχεδόν χωρίς αναγνωρίσιμο πυρήνιο και λίγο ωχρό κυτταρόπλασμα, γνωστά ως κεντροκύτταρα ή κύτταρα οζώδους κέντρου με εντομή. 2. μεγάλα κύτταρα με στρογγυλό ή οβάλ πυρήνα, φυσαλιδώδη χρωματίνη, ένα έως τρία περιφερικά πυρήνια και λεπτό περίγραμμα βασεόφιλου κυτταροπλάσματος, γνωστά ως κεντροβλάστες ή χωρίς εντομή κύτταρα οζώδους κέντρου.

Τυπικά υπερτερούν τα κεντροκύτταρα, ενώ υπάρχουν πάντα κεντροβλάστες συνήθως σε μειοψηφία, έτσι ώστε υπάρχει μια ομοιομορφία (ή μονομορφία) που έρχεται σε αντίθεση με την εικόνα που παρουσιάζει το αντιδραστικό οζώδες κέντρο του λεμφοζιδίου.

Κάποιες περιπτώσεις με αυξημένους λεμφοβλάστες έχουν μια 'μικτή' μορφολογία ενώ ακόμη λιγότερες έχουν κυρίως υπεροχή των κεντροβλαστών.

Το οζώδες λέμφωμα βαθμολογείται βάσει της αναλογίας των κεντροβλαστών. Η ιστολογική βαθμολογία (GRADE) έχει προγνωστική αξία.

Ανοσοφαινότυπος : CD10+/-, CD19+, CD20+, CD22+, CD24+, CD79a+, SmIg+
CD5-, CD23-

Ανοσοϊστοχημεία : CD10+/-, CD20+, CD79a+, BCL2+
CD5-, CD23-, CD43-, κυκλίνη D1-

Κυτταρογεννετική :

Οι περισσότερες περιπτώσεις έχουν την αντιμετάθεση t(14;18)(q32;q21).

Σε λίγες περιπτώσεις υπάρχει η t(2;18)(p12;q21) και t(18;22)(q21;q11)

Πρόγνωση:

Η ιστολογική βαθμολόγηση σχετίζεται με την πρόγνωση. Το οζώδες λέμφωμα grade 1 και 2 είναι χαμηλού βαθμού κακοηθείας και δεν θεραπεύεται, ενώ το grade 3 είναι πιο επιθετικό και εν δυνάμει ιάσιμο με εντατική χημειοθεραπεία αντίστοιχη με εκείνη για το Διάχυτο Λέμφωμα από μεγάλα Β κύτταρα. Κλινικοί παράγοντες που περιλαμβάνονται στον Διεθνή Προγνωστικό Δείκτη (International Prognostic Index) όπως η LDH και το Performance Status είναι σημαντικοί στη πρόγνωση του οζώδους λεμφώματος.

Στο 25-30 % των ασθενών εμφανίζεται εξαλλαγή προς διάχυτο λέμφωμα από μεγάλα Β κύτταρα. Η κλινική πορεία είναι δυσμενής και υπάρχει αντίσταση στη θεραπεία.

9. ΛΕΜΦΩΜΑ ΑΠΟ ΚΥΤΤΑΡΑ ΤΟΥ ΜΑΝΔΥΑ (MANTLE CELL LYMPHOMA)

Νεόπλασμα Β κυττάρων που αποτελείται από ομοιόμορφα μικρά έως μεσαίου μεγέθους λεμφοκύτταρα με ανώμαλο πυρήνα που μοιάζουν αρκετά με τα κεντροκύτταρα. Κεντροβλάστες, παρα-ανοσοβλάστες και ψευδο-οζώδης εμφάνιση απουσιάζουν.

Αποτελεί το 3-10% των NHL και εμφανίζεται συνήθως σε άτομα μέσης και μεγάλης ηλικίας κυρίως άνδρες.



Προσβάλλονται κυρίως οι λεμφαδένες, αλλά και ο σπλήνας, ο μυελός των οστών με η χωρίς συμμετοχή του περιφερικού αίματος.

Η πιο συχνή εξωαδενική εντόπιση περιλαμβάνει το γαστρεντερικό, το σπλήνα και τον δακτύλιο του Waldayer. Οι περισσότερες περιπτώσεις πολλαπλής λεμφωματοδούς πολυποδίασης αντιπροσωπεύουν λεμφώμα από κύτταρα του μανδύα.

Κλινική εικόνα :

Οι περισσότεροι ασθενείς είναι σταδίου III ή IV με διογκωμένους λεμφαδένες, ηπατομεγαλία, συχνά σημαντική σπληνομεγαλία και συμμετοχή του μυελού των οστών (50%). Τουλάχιστον στο 25% των περιπτώσεων υπάρχει συμμετοχή του περιφερικού αίματος. Μερικοί ασθενείς εμφανίζουν σημαντική λεμφοκυττάρωση που μοιάζει με προλεμφοκυτταρική λευχαιμία, ενώ μειωηφία των ασθενών εμφανίζουν εξωαδενική νόσο με συμμετοχή του γαστρεντερικού και του δακτυλίου Waldayer.

Μορφολογία :

Το λέμφωμα από κύτταρα του μανδύα προκαλεί καταστροφή της αρχιτεκτονικής του λεμφαδένα καθώς ένας ομοιόμορφος λεμφικός πληθυσμός διηθεί με ασαφώς οζώδες, διάχυτο ή με εικόνα μανδύα τρόπο. Η οζώδης εικόνα είναι σπάνια. Οι περισσότερες περιπτώσεις εμφανίζουν διήθηση από μικρά έως μεσαίου μεγέθους κύτταρα με ανώμαλο περίγραμμα πυρήνα που μοιάζουν ιδίως με κεντροκύτταρα. Δεν υπάρχουν κεντροβλάστες, ανοσοβλάστες ή παρα-ανοσοβλάστες. Επθηλιώδη ιστιοκύτταρα σε μερικές περιπτώσεις δίνουν την εικόνα του 'εναστρώ ουρανού' (Campo et al, 1999)

Ανοσοφαινότυπος :

CD5+, CD19+, CD20+, CD22+, CD79a+, Smlg(IgM, IgD)

FMC7+/-, CD10-/+ , CD23-

Ανοσοϊστοχημεία :

CD5+, CD20+, CD79a+, cyclin D1+

CD10-/+ , CD23-

Κυτταρογεννετική :

Οι περισσότερες περιπτώσεις εμφανίζουν την αντιμετάθεση ανάμεσα στο γονίδιο της βαρειάς αλυσίδας των ανοσοσφαιρινών και την κυκλίνη D1, t(11;14)(q13;q32), ενώ ελάχιστες περιπτώσεις έχουν την t(11;22)(q13;q11)

Πρόγνωση :

Η μέση επιβίωση είναι 3-5 χρόνια. Οι περισσότεροι ασθενείς δεν θεραπεύονται. Η συμμετοχή του περιφερικού αίματος, η τρισωμία 12, ο πολύπλοκος καρυότυπος, οι μεταλλάξεις του p53 θεωρούνται κακοί προγνωστικοί παράγοντες.



ΣΚΟΠΟΣ

Η Χρόνια Λεμφογενής Λευχαιμία αποτελεί την συχνότερη μορφή λευχαιμίας στον Δυτικό κόσμο. Αν και έχει τον χαρακτηρισμό του χρονίου νοσήματος η ετερογένεια του όσον αφορά την κλινική πορεία των ασθενών και την επιβίωση τους είναι εντυπωσιακή.

Ο τυπικός ασθενής με ΧΛΛ θα διαγνωσθεί κατά την διάρκεια ενός έλεγχου ρουτίνας, συνήθως σε μια ηλικία που αναμένει την ανταπόδοση της εργασίας του. Έτσι βρίσκεται απέναντι στον γιατρό του, ο οποίος τον πληροφορεί πως πάσχει από μια «περίεργη» μορφή λευχαιμίας, με ποικίλη κλινική πορεία και έκβαση, η βαρύτητα της οποίας δεν είναι δυνατόν να προβλεφθεί. Επίσης μαθαίνει πως κάποιοι ασθενείς θα ζήσουν μαζί με το νόσημα τους για δεκαετίες και πιθανότατα θα πεθάνουν από κάποια άλλη αιτία, ενώ κάποιοι άλλοι θα χρειασθεί να λάβουν θεραπεία ή ακόμη και πολλές διαφορετικές θεραπείες και μπορεί να υποκύψουν από τη νόσο.

Από την εποχή της πρώτης περιγραφής της νόσου το 1966 από τους Galton και Dameshek έχουν προστεθεί πολλές πληροφορίες σχετικά με την παθογένεια, την κλινική πορεία, την πρόγνωση και την θεραπεία του νοσήματος.

Η κλινική σταδιοποίηση της ΧΛΛ από τους Rai και Binet το 1975 και το 1981 αντίστοιχα αποτελούν αποτελεσματικούς τρόπους ώστε να ταξινομηθούν οι ασθενείς σε ευρείες προγνωστικές ομάδες. Η σταδιοποίηση των ασθενών σύμφωνα με τα συστήματα αυτά αποτέλεσε την βάση πάνω στην οποία οι κλινικοί γιατροί στηρίζονται για την έναρξη ή τροποποίηση της θεραπευτικής αγωγής. Παρόλα αυτά η σταδιοποίηση αυτή δεν μπορεί να προβλέψει με ακρίβεια την πορεία κάθε ασθενούς ξεχωριστά και δεν λαμβάνει υπόψη τα νέα δεδομένα που αφορούν την μοριακή παθογένεια της νόσου.

Ερωτήματα όπως εάν η πορεία ενός συγκεκριμένου ασθενούς θα είναι καλή ή προοδευτικά επιδεινούμενη, εάν θα χρειασθεί θεραπεία και ποιά θα είναι η καλύτερη για αυτόν, ακόμη παραμένουν, όπως παραμένει επίσης και το γεγονός πως η ΧΛΛ είναι ένα νόσημα που δύσκολα θεραπεύεται πλήρως.

Σκοπός της μελέτης αυτής είναι να αξιολογήσει κατά πόσο προγνωστικοί παράγοντες που χρησιμοποιούνται διεθνώς βρίσκουν εφαρμογή στην καθημερινή πράξη, να



αξιολογηθεί η βαρύτητα κλινικών και εργαστηριακών δεδομένων και να μελετηθούν παράγοντες που τα τελευταία χρόνια φαίνεται ότι επηρεάζουν την πρόγνωση. >

Η χρησιμοποίηση του ανοσοφαινότυπου με την μορφή της κυτταρομετρίας ροής ως εξέταση ρουτίνας στους ασθενείς με αιματολογικά νοσήματα και στην συγκεκριμένη περίπτωση με λεμφοϋπερπλαστικά, μπορεί να προσθέσει εκτός από ουσιαστική βοήθεια στη διάγνωση της νόσου και πολλές άλλες πληροφορίες για τη βιολογία της. Αυτές κυρίως οι πληροφορίες σε συνδυασμό με τους υπόλοιπους παράγοντες παρουσιάζονται στη μελέτη.



[REDACTED]



- επίπεδα αλβουμίνης (ALB, φ.τ.=6-8.4 g/dl)
- επίπεδα Ca⁺⁺ (φ.τ.= 8.2-10.6 mg/dl)
- ποσοτικός προσδιορισμός ανοσοσφαιρινών ορού ή ηλεκτροφόρηση λευκωμάτων ορού
- εμφάνιση αυτοανόσων φαινομένων (αυτοάνοση αιμολυτική αναιμία, αυτοάνοση θρομβοπενία)
- λόγος βοηθητικών (CD4) / κατασταλτικών (CD8) T κυττάρων
- ποσοστό κυτταροτοξικών T κυττάρων (CD57+8)
- ποσοστό κυττάρων NK (CD16+56)
- έκφραση ή όχι μονοκλωνικών αλυσίδων κ ή λ στην επιφάνεια των λεμφοκυττάρων
- έκφραση η όχι του δείκτη CD38 στην επιφάνεια των λεμφοκυττάρων
- βαθμολόγηση του ανοσοφαινότυπου της νόσου με το CLL score (τυπικές μορφές score:4-5, άτυπες score: 3)
- εμφάνιση ή όχι διπλασιασμού του αριθμού των λεμφοκυττάρων σε διάστημα μικρότερο των δώδεκα μηνών
- εμφάνιση λοιμώξεων κατά το διάστημα της παρακολούθησης
- χορήγηση θεραπείας και είδος(πρώτης γραμμής με χλωραμβουκίλη +/- μεθυλπρεδνιζολόνη, δεύτερης γραμμής Fludarabine , Pentostatin, τρίτης γραμμής συνδυασμός χημειοθεραπευτικών όπως CHOP, COP)
- προοδευτική νόσος ή όχι (δηλαδή διπλασιασμός του αριθμού των λεμφοκυττάρων σε χρονικό διάστημα μικρότερο των 12 μηνών, μετάβαση σε επόμενο κατά Binet στάδιο, ανάπτυξη συστηματικών συμπτωμάτων, εξαλλαγή προς σύνδρομο Richter ή προλεμφοκυτταρική λευχαιμία, μείωση του αιματοκρίτη ή των αιμοπεταλίων ακόμη και αν δεν φθάνουν στα επίπεδα του σταδίου C (<10g/dl, <100.000/μ l)

Κυτταρομετρία Ροής

Η μελέτη του ανοσοφαινότυπου έγινε χρησιμοποιώντας την μέθοδο της κυτταρομετρίας ροής (κυτταρόμετρο Beckton –Dickinson).



Το δείγματα του αίματος για τη μελέτη της κυτταρομετρίας έχουν συλλεχθεί σε σωληνάριο που περιέχει EDTA (αιθυλενοδιαμινο-τετραοξικό οξύ) και η όλη επεξεργασία έγινε σε θερμοκρασία περιβάλλοντος 18°- 20° ως εξής:

100 μl ολικού αίματος επωάζονται με 10 μl του αντίστοιχου μονοκλωνικού αντισώματος για 20 min σε σκοτεινό χώρο και σε θερμοκρασία δωματίου.

Ακολουθεί λύση των ερυθρών με την προσθήκη 2 ml διαλύματος FACS Lysing Solution 1/10 σε αποσταγμένο νερό για 10 min σε θερμοκρασία δωματίου. Το διάλυμα φυλάσσεται στους 4°C.

Ακολουθεί φυγοκέντρηση στις 3000 στροφές/λεπτό για 10 min και αφαιρείται το υπερκείμενο. Γίνεται έκπλυση των κυττάρων με 3ml PBS για να απομακρυνθεί το μη δεσμευμένο αντίσωμα και ακολουθεί φυγοκέντρηση. Η διαδικασία αυτή επαναλαμβάνεται δύο φορές.

Γίνεται τελική επαναραίωση των κυττάρων σε 500 μl PBS και ανάλυση στον κυτταρομετρητή ροής FACScan Becton Dickinson (πρόγραμμα Simul SET και επεξεργασία των δεδομένων με το Software :SimulSET V1.1)

Η οριοθέτηση του λεμφοκυτταρικού παραθύρου γίνεται χρησιμοποιώντας διπλό ανοσοφθορισμό με το πανλευκοκυτταρικό αντίσωμα CD45 FITC και το CD14 PE. Τα λεμφοκύτταρα χαρακτηρίζονται ως έντονα CD45+ και CD14-.

Στη συνέχεια το αρνητικό δείγμα ισότύπου οριοθετεί το δείκτη διαχωρισμού των θετικών κυττάρων από τα αρνητικά.

Ακολουθεί η ανάλυση των υπολοίπων σωληναρίων.

Το αρχικό panel αντισωμάτων για την χρόνια λεμφογενή λευχαιμία περιλαμβάνει τους εξής συνδυασμούς :

- | | | |
|----------------|----------------|--------------|
| 1. CD3/ CD19 | 2. HLA-DR/CD3 | 3. CD4/CD8 |
| 4. CD57+8/ CD3 | 5. CD16+56/CD3 | 6. CD20/ CD5 |
| 7. CD23/CD5 | 8. κ / λ | |

Στη συνέχεια το panel τροποποιήθηκε ώστε να περιλαμβάνει του δείκτες που ορίζουν το σύστημα βαθμολόγησης της ΧΛΛ (CLL score) που την διαχωρίζει από τη λευχαιμική φάση άλλων non-Hodgkin λεμφωμάτων και προστέθηκε και ο προγνωστικός δείκτης CD38.

1. CD3/CD19
2. CD38/CD5



5. CD3/CD16+56

6. CD5/CD20

7. CD23/CD5

8. κ / λ

9. HLA-DR/ IgM

10. CD22/ FMC-7

Περιπτώσεις ασθενών της μελέτης

Ασθενής 1

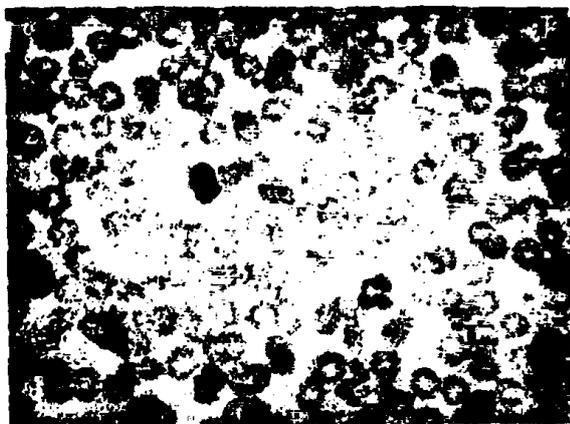
Άνδρας ηλικίας 58 ετών εμφάνισε σε επανειλημμένους εργαστηριακούς ελέγχους λεμφοκυτταρικό τύπο (λευκά = $15.7 \times 10^9/L$ με λεμφοκύτταρα 73%) χωρίς αναιμία ή θρομβοπενία. Στη φυσική εξέταση δεν διαπιστώθηκαν διογκωμένοι λεμφαδένες, σπλήνας ή ήπαρ.

Στο επίχρισμα του περιφερικού αίματος παρατηρούνται μικρά λεμφοκύτταρα με στρογγυλό πυρήνα με συμπυκνωμένη χρωματίνη, και ελάχιστο κυτταρόπλασμα. Υπάρχουν επίσης και πυρηνικές σκιές (εικόνα 1).

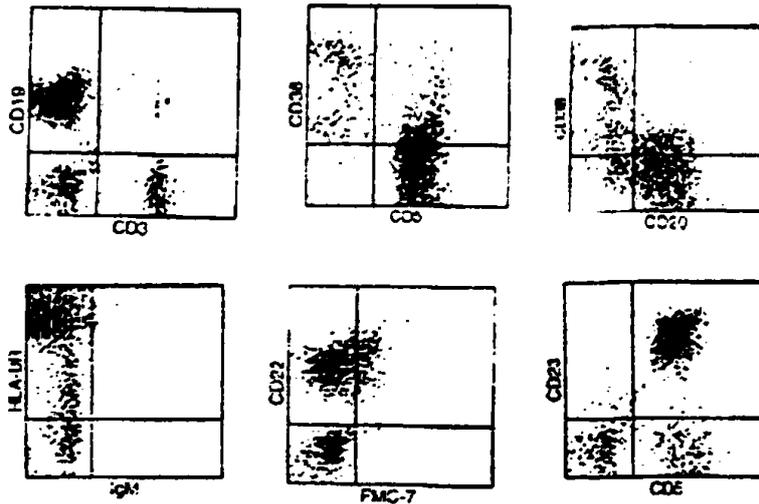
Ο ανοσοφαινότυπος του περιφερικού αίματος έχει ως εξής: CD19+ 72%, CD3+ 15%, CD5+CD38+ 26%, CD20+CD38+ 20%, CD20+CD5+ 72%, κ+0%, λ+0%, CD23+CD5+ 77%, HLA-DR+87%, CD22+FMC7+ 17% (σχήμα 1).

Ο ασθενής έχει ΧΛΛ σταδίου 0 και παραμένει στο ίδιο στάδιο 15 χρόνια.

Εικόνα 1.



Σχήμα 1.



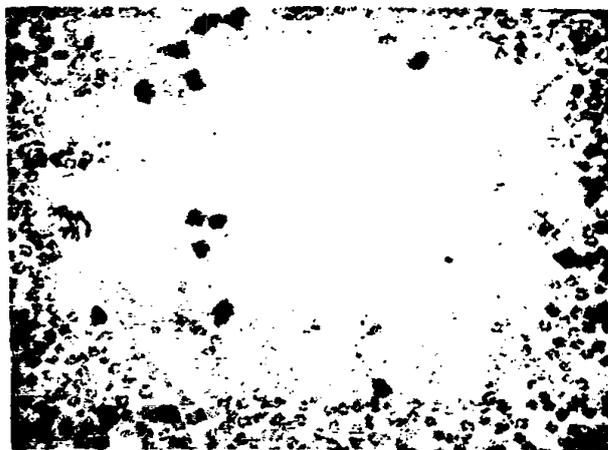
Ασθενής 2

Γυναίκα 72 ετών με ιστορικό χολολιθίασης εμφανίζει σε εργαστηριακό έλεγχο λεμφοκυττάρωση (λευκά=15.6X10/L, με λεμφοκύτταρα 70%) χωρίς αναιμία και θρομβοπενία. Στη φυσική εξέταση δεν υπάρχουν ιδιαίτερα ευρήματα. Στο επίχρισμα του περιφερικού αίματος παρατηρούνται μικρά λεμφοκύτταρα με λίγο κυτταρόπλασμα και συμπυκνωμένη χρωματίνη, αρκετές πυρηνικές σκιές καθώς και μερικά μεσαίου μεγέθους λεμφοκύτταρα με περισσότερο κυτταρόπλασμα, πιο αραιοχρωματικό πυρήνα και ορατό πυρήνιο (προλεμφοκύτταρα) (εικόνα 2).

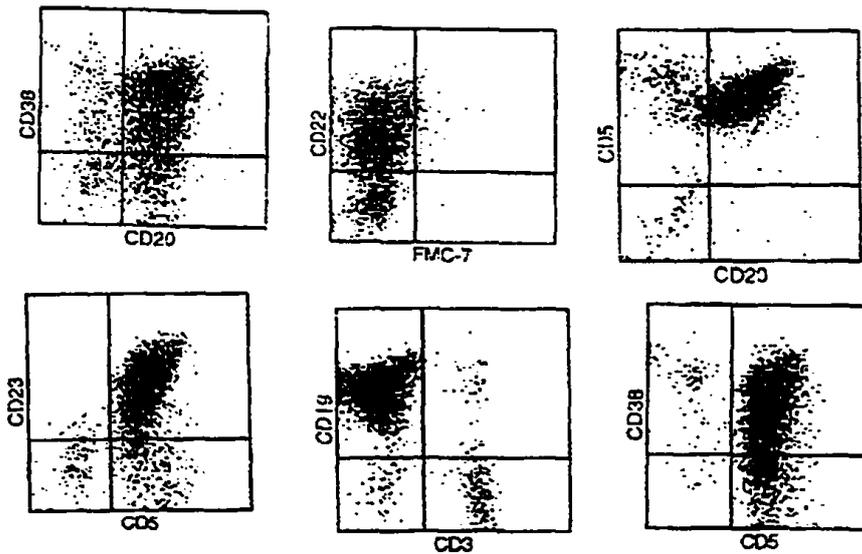
Ανοσοφαινότυπος περιφερικού αίματος: CD19+ 88%, CD3+ 8%, CD38+CD5+ 75%, CD38+CD20+ 69%, CD20+CD5+ 86%, κ+1%, λ+1%, CD23+ CD5+ 86%, HLA-DR+ 93%, CD22+FMC7+ 2% (σχήμα 2.)

Πρόκειται για ανοσοφαινότυπο συμβατό με ΧΛΛ, που εκφράζει τον δείκτη CD38 που θεωρείται σύμφωνα με τα νέα δεδομένα κακός προγνωστικός παράγοντας. Η ασθενής κατατάσσεται στο στάδιο 0 κατά RAI. Σήμερα, δύο χρόνια από τη διάγνωση δεν έχει λάβει ακόμη θεραπεία αλλά έχει εμφανίσει οριακή σπληνομεγαλία και ψηλαφητούς μασχαλιαίους λεμφαδένες.(στάδιοII).

Εικόνα 2.



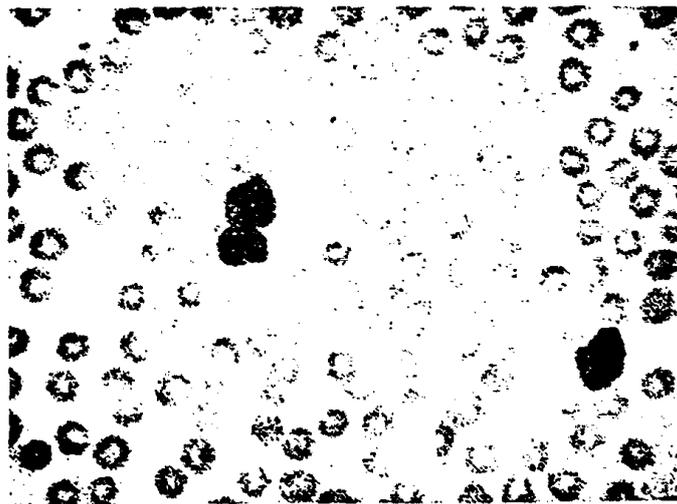
Σχήμα 2.

**Ασθενής 3.**

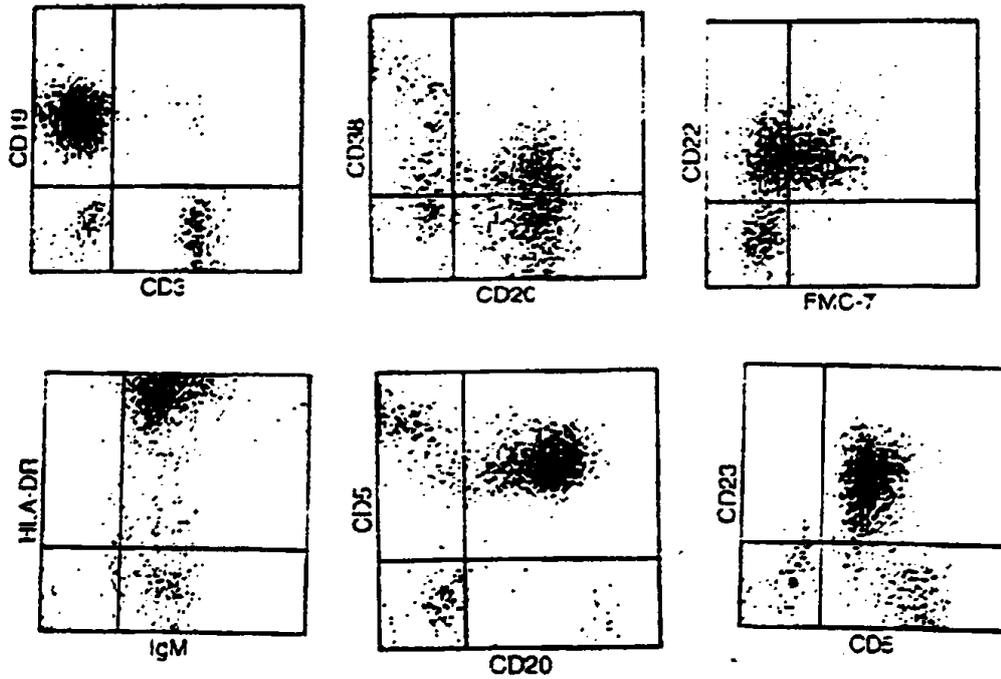
Άνδρας 75 ετών κατά τη διάρκεια νοσηλείας του λόγω λοίμωξης κατώτερου αναπνευστικού εμφανίζει λεμφοκυττάρωση (λευκά $17 \times 10^9/L$, με λεμφοκύτταρα 60%) και γενικευμένη λεμφαδενοπάθεια (τραχηλική, παρατραχειακή, οποσθοπεριτοναϊκή, μεσεντέρια, βουβωνική). Στο επίχρισμα του περιφερικού αίματος παρατηρούνται μικρά λεμφοκύτταρα (εικόνα 3). Η κυτταρομετρία ροής του περιφερικού αίματος εμφανίζει ανοσοφαινότυπο συμβατό με ΧΛΛ. CD19+ 81%, CD3+14%, CD38+CD5+ 40%, CD38+CD20+ 35%, CD20+CD5+ 82%, CD23+CD5+ 81%, κ+0%, λ+0%, HLA-DR+IgM+ 90%, CD22+FMC7+ 45% (σχήμα 3).

Χορηγήθηκε θεραπεία με χλωραμβουκίλη και κορτιζόνη λόγω της γενικευμένης λεμφαδενοπάθειας. Ο ασθενής ανταποκρίθηκε στη θεραπεία

Εικόνα 3.



Σχήμα 3.



Ασθενής 4

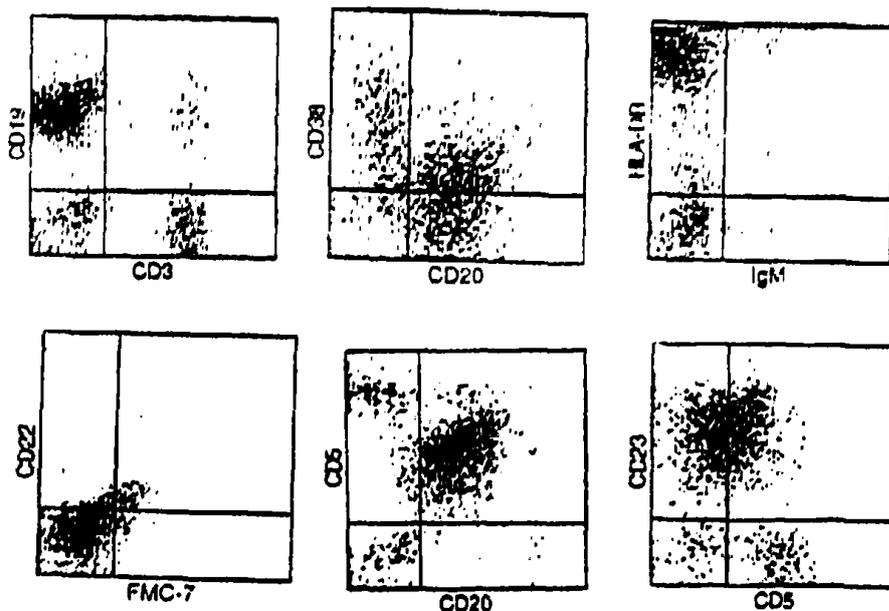
Γυναίκα 52 ετών με εμμένουσα λεμφοκυττάρωση σε εργαστηριακούς ελέγχους εμφανίζει στο επίχρισμα του περιφερικού αίματος μικρά λεμφοκύτταρα και άφθονες πυρηνικές σκιές (εικόνα 4). Εμφανίζει ανοσοφαινότυπο συμβατό με Β-ΧΛΛ. Παραμένει σε Στάδιο I τέσσερα χρόνια μετά την διάγνωση.

Ανοσοφαινότυπος περιφερικού αίματος: CD19+ 81%, CD3+11%, CD38+CD5+ 33%, CD38+CD20+38%, CD20+CD5+ 78%, κ+0%, λ+2% CD23+CD5+ 42%, HLA-DR+ 81%, CD22+FMC7+ 6% (σχήμα 4).

Εικόνα 4.



Σχήμα 4.

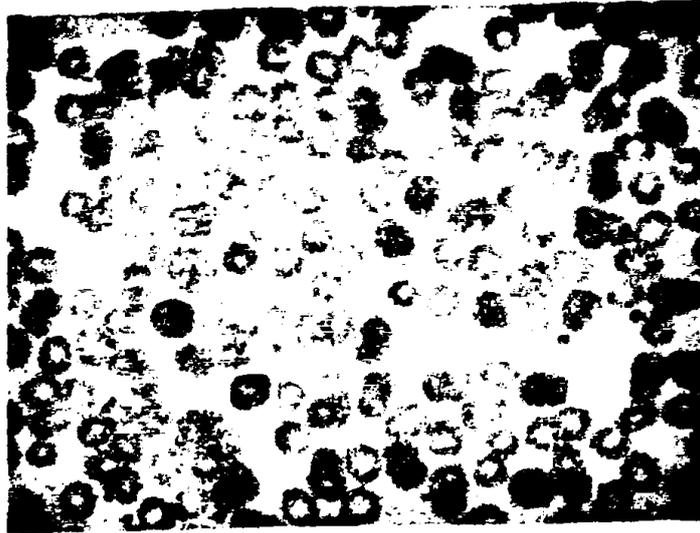
**Ασθενής 5.**

Άνδρας 59 ετών με Β-ΧΛΛ σταδίου II κατά Rai και λαμβάνει θεραπεία με χλωραμβουκίλη και κορτιζόνη λόγω διπλασιασμού του αριθμού των λεμφοκυττάρων σε διάστημα μικρότερου του έτους (εικόνα 5). Εμφανίζει μερική ανταπόκριση και η παρακολούθηση δεν είναι τακτική. Τρία χρόνια μετά την αρχική διάγνωση βρίσκεται σε Στάδιο IV και ξεκινά θεραπεία με CHOP. Δεν ανταποκρίνεται και καταλήγει από προοδευτική νόσο. Η κυτταρομετρία κατά τη διάγνωση της νόσου είναι τυπική της ΧΛΛ. Στην κυτταρομετρία κατά την μετάπτωση στο στάδιο IV έχει προστεθεί και ο δείκτης CD38 τον οποίο εκφράζουν τα παθολογικά λεμφοκύτταρα.

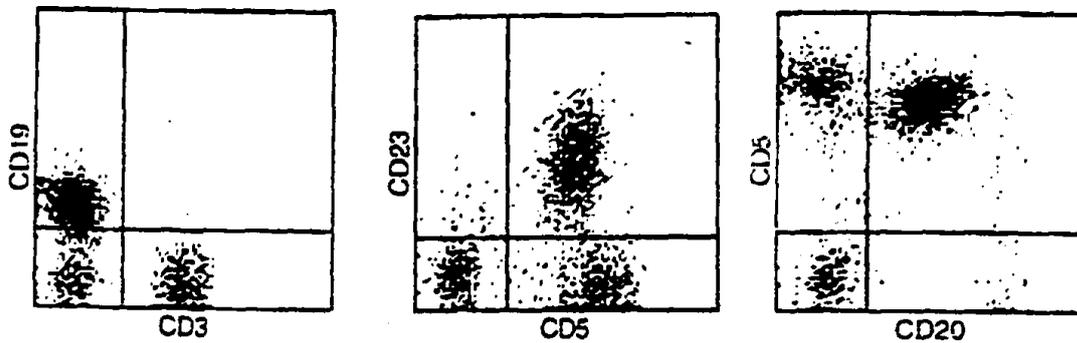
1^{ος} Ανοσοφαινότυπος: CD19+ 60%, CD3+ 26%, HLA-DR 69%, CD20+CD5+ 63%, κ+69%, λ+1%, CD23+CD5+ 60% (σχήμα 5α).

2^{ος} Ανοσοφαινότυπος: CD19+ 84%, CD3+ 11%, CD38+CD5+ 90%, CD38+CD20+ 81%, CD20+CD5+ 83%, κ+0%, λ+1%, CD23+CD5+ 60%, HLA-DR+ 96%, CD22+FMC7+ 1% (σχήμα 5β).

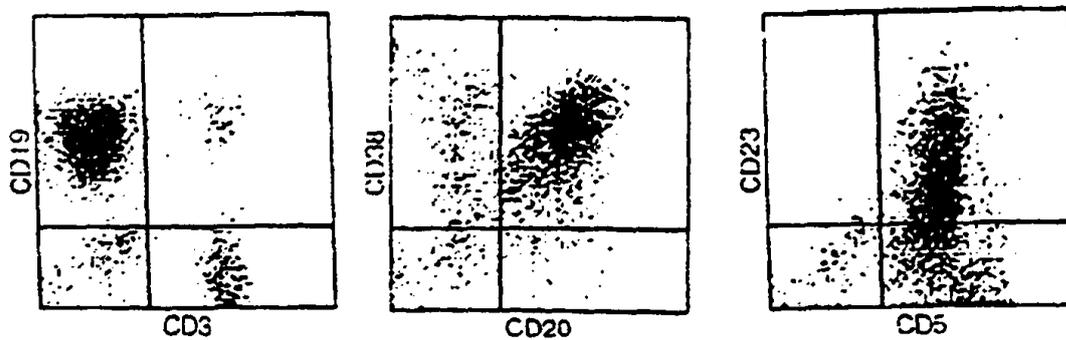
Εικόνα 5.



Σχήμα 5α



Σχήμα 5β



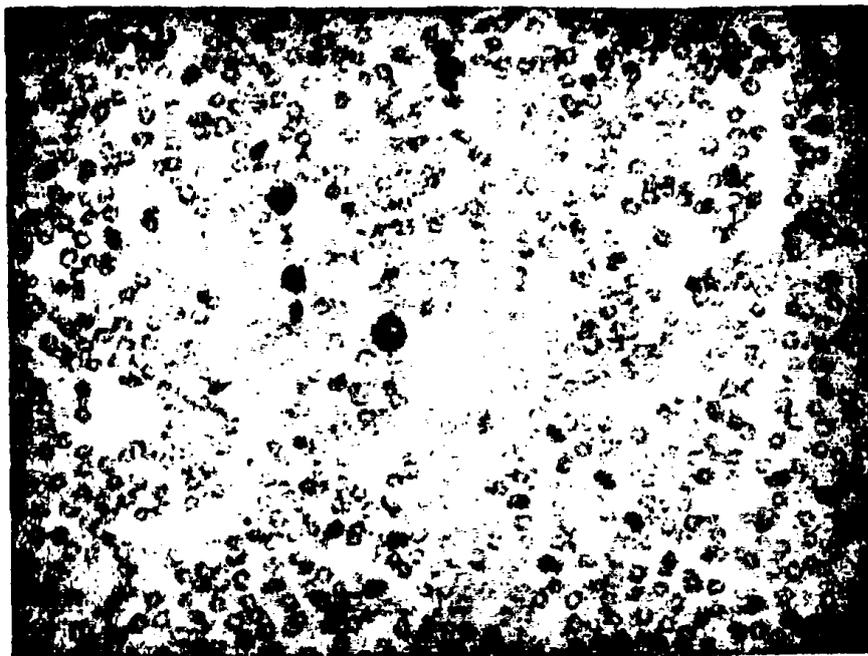
Ασθενής 6.

Γυναίκα 69 ετών διερευνήθηκε για λεμφοκυττάρωση και διαπιστώθηκε Β ΧΛΛ σταδίου 0 κατά Rai (Εικόνα 6). Μετά από σταθερή πορεία 5 ετών εμφάνισε σημαντική αύξηση του αριθμού των λευκών και διόγκωση λεμφαδένων. Χορηγήθηκε θεραπεία με χλωραμβουκίλη και πρεδνιζολόνη για τέσσερις κύκλους χωρίς καμία

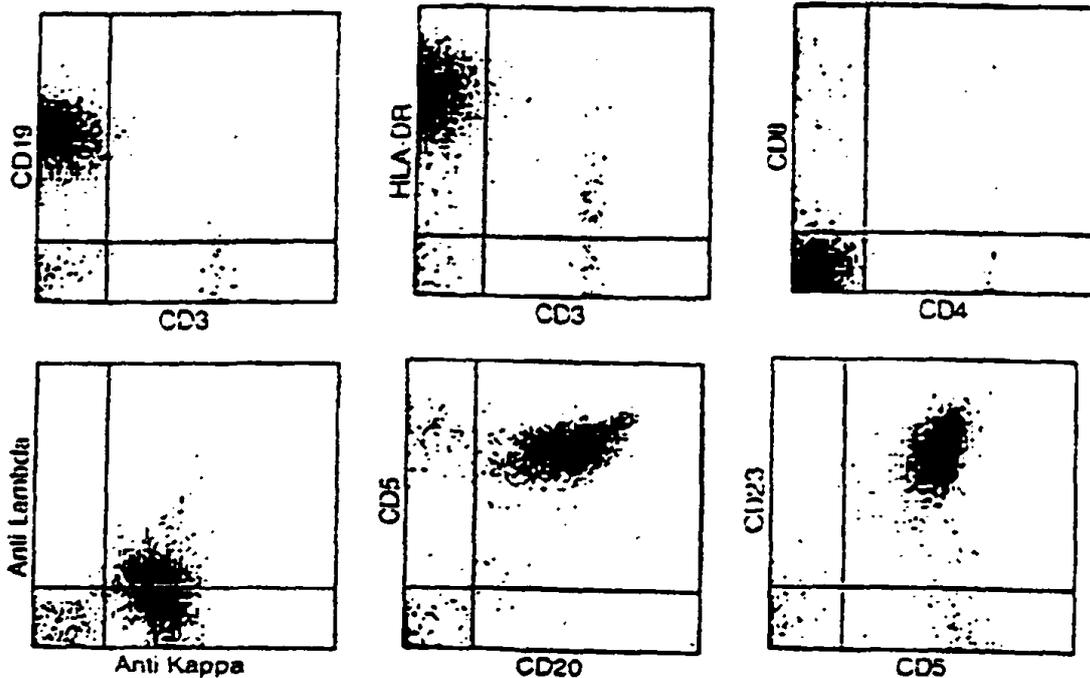
κλινική και εργαστηριακή ανταπόκριση. Τίθεται σε θεραπεία με fludarabine και εμφανίζει μερική ανταπόκριση ενώ παράλληλα νοσηλεύεται πολλές φορές λόγω λοιμώξεων αλλά και αυτοάνοσης αιμολυτικής αναιμίας. Η ασθενής κατάληξε λόγω ΑΕΕ 9 χρόνια μετά την αρχική διάγνωση της ΧΛΛ.

Ανοσοφαινότυπος: CD19+ 97%, CD3+ 2%, HLA-DR+ 97%, CD20+CD5+ 97%, κ+51%, λ+0%, CD23+CD5+ 98% (σχήμα 6).

Εικόνα 6.



Σχήμα 6.



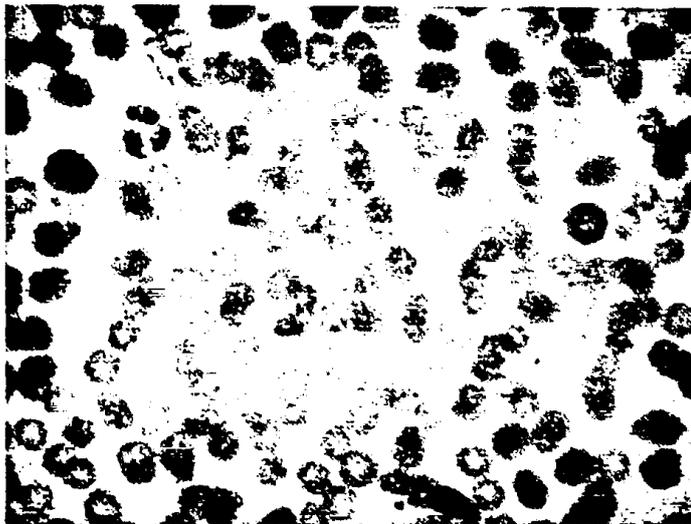
Ασθενής 7

Γυναίκα 67 ετών με ιστορικό χολολιθίας και γαστροοισοφαγικής παλινδρόμησης εμφάνισε σε εργαστηριακό έλεγχο που έγινε λόγω δύσπνοιας λευκά $16.74 \times 10^9/L$ με λεμφοκύτταρα 74%, χωρίς αναιμία και θρομβοπενία (εικόνα 7). Στη φυσική εξέταση διαπιστώθηκε μόνο οριακή σπληνομεγαλία.

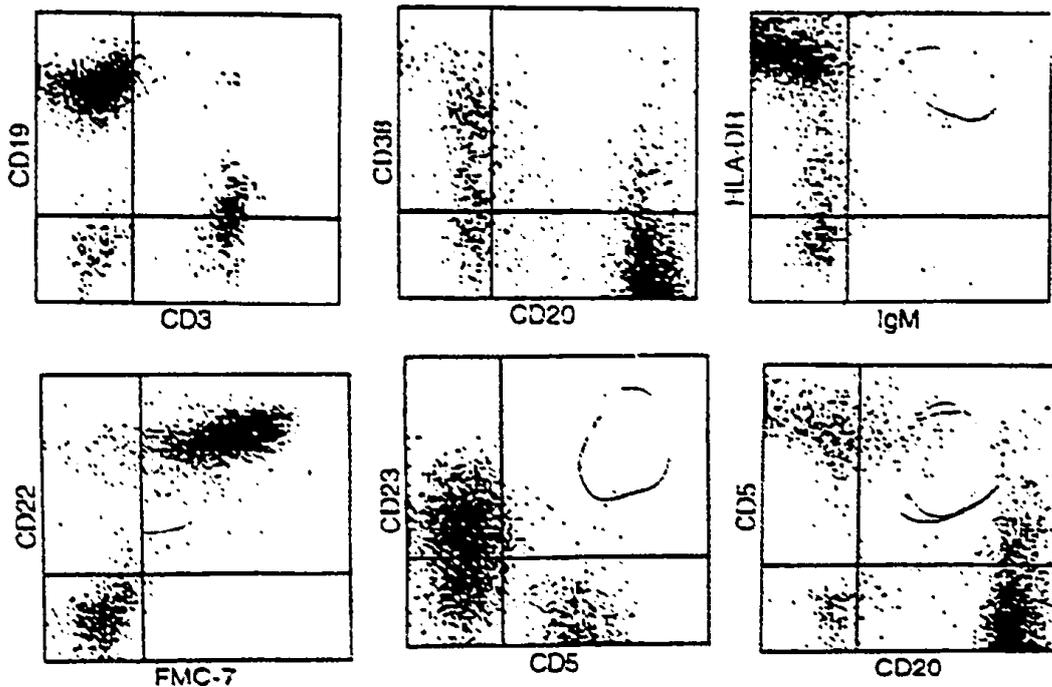
Ανοσοφαινότυπος: CD19+ 81%, CD3+8%, CD38+CD5 10%, CD38+CD20+ 8%, CD20+ 76%, CD20+CD5 15%, κ+0%, λ+0%, CD23+56%, HLA-DR+ 89%, CD23+CD5 3%, CD22+FMC7+ 79% (σχήμα 7).

Με βάση τα στοιχεία του ανοσοφαινότυπου και της μορφολογίας των λεμφοκυττάρων έγινε η διάγνωση της ΧΛΛ CD5(-). Αν και θεωρείται απαραίτητη η συνέκφραση του CD23 και του CD5 για τη διάγνωση της ΧΛΛ, αναφέρεται πως ποσοστό έως 5% των περιπτώσεων της ΧΛΛ δεν εκφράζουν το CD5.

Εικόνα 7.



Σχήμα 7.



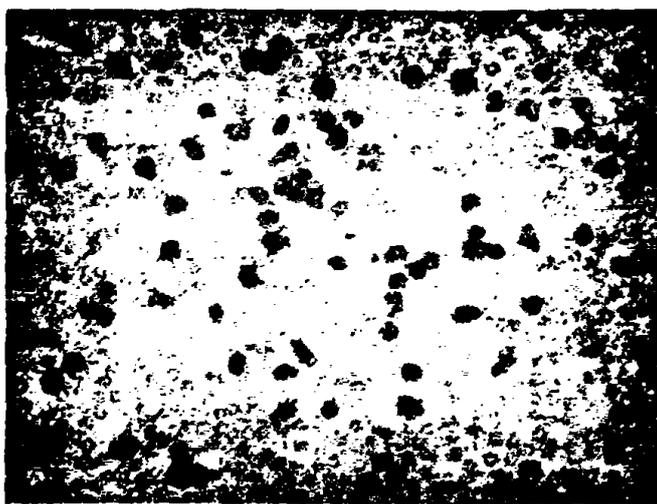
Ασθενής 8

Άνδρας 82 ετών εισάγεται στο νοσοκομείο λόγω αδυναμίας και επεισοδίων αιματουρίας. Στη φυσική εξέταση διαπιστώνεται ηπατοσπληνομεγαλία και γενικευμένη λεμφαδενοπάθεια. Η γενική αίματος εμφανίζει λευκοκυττάρωση (187X10/L) και αναιμία. Η μορφολογία του περιφερικού αίματος περιλαμβάνει: πολυμορφοπύρρηνα 4% λεμφοκύτταρα 96% από τα οποία το 10% περίπου είναι μεγάλα κύτταρα, με ανώμαλο περίγραμμα πυρήνα ή αναδυλωμένο και βασεόφιλο κυτταρόπλασμα καθώς και άφθονες πυρηνικές σκιές (εικόνα 8).

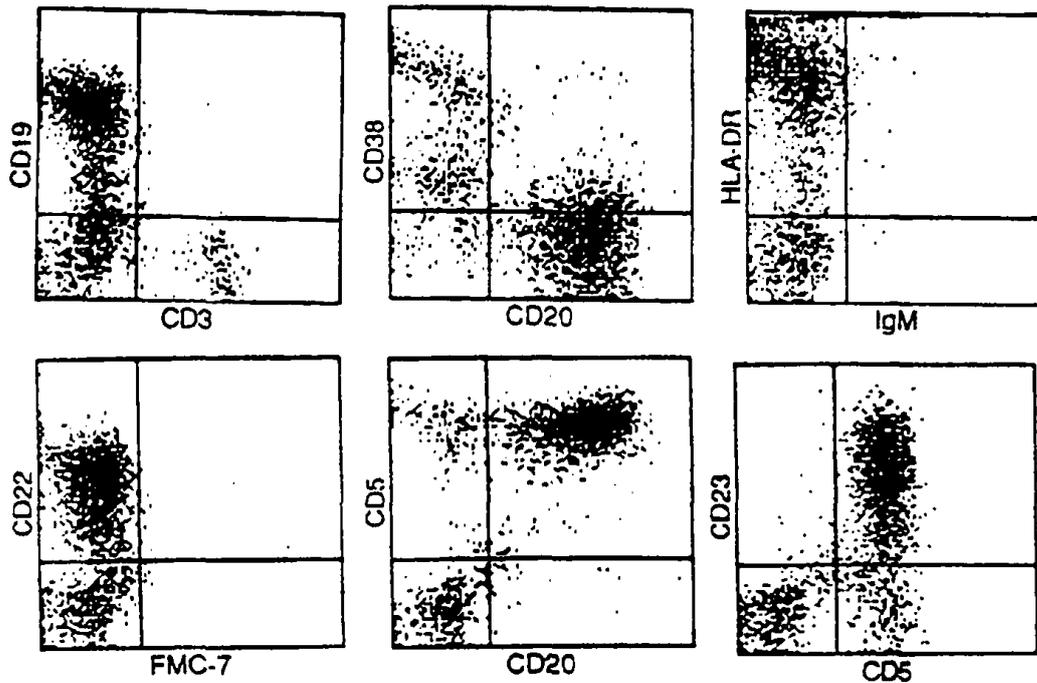
Ανοσοφαινότυπος: CD19+ 71%, CD3+ 6%, CD38+CD5+ 18%, CD38+CD20+ 17%, CD20+CD5+ 82%, κ+0%, λ+1%, CD23+CD5+ 76%, HLA-DR+ 84%, CD22+ 84% (σχήμα 8).

Η διάγνωση είναι ΧΛΛ με εκτροπή σε λέμφωμα από μεγάλα κύτταρα (Richter transformation).

Εικόνα 8.



Σχήμα 8.



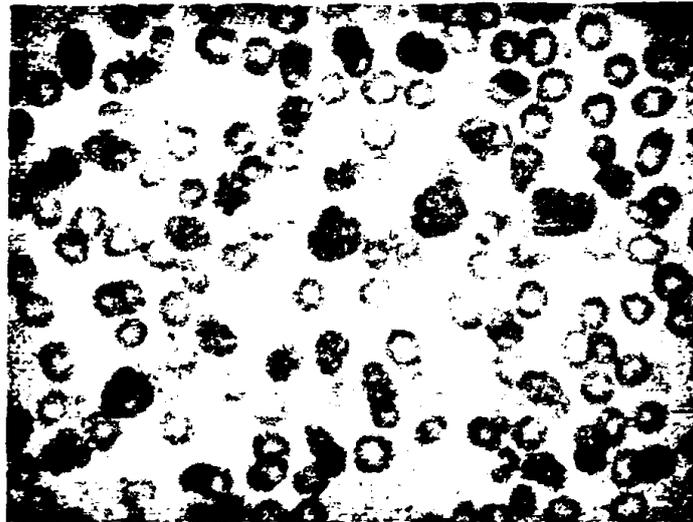
Ασθενής 9.

Άνδρας, 72 ετών διερευνήθηκε λόγω έντονης καταβολής και αδυναμίας. Στον εργαστηριακό έλεγχο ανευρέθει αναιμία (Ht=22%, Hb=70g/L) και λευκοκυττάρωση (WBC=121X10/L). Στο επίχρισμα του περιφερικού αίματος υπάρχουν μικρά αλλά κυρίως μεσαίου μεγέθους λεμφοκύτταρα με αρκετό κυτταρόπλασμα και εμφανές πυρήνιο (προλεμφοκύτταρα) (εικόνα 9). Στη φυσική εξέταση υπάρχει γενικευμένη λεμφαδενοπάθεια και σπληνομεγαλία. Η βιοψία οστού θέτει τη διάγνωση της Β-προλεμφοκυτταρική λευχαιμίας.

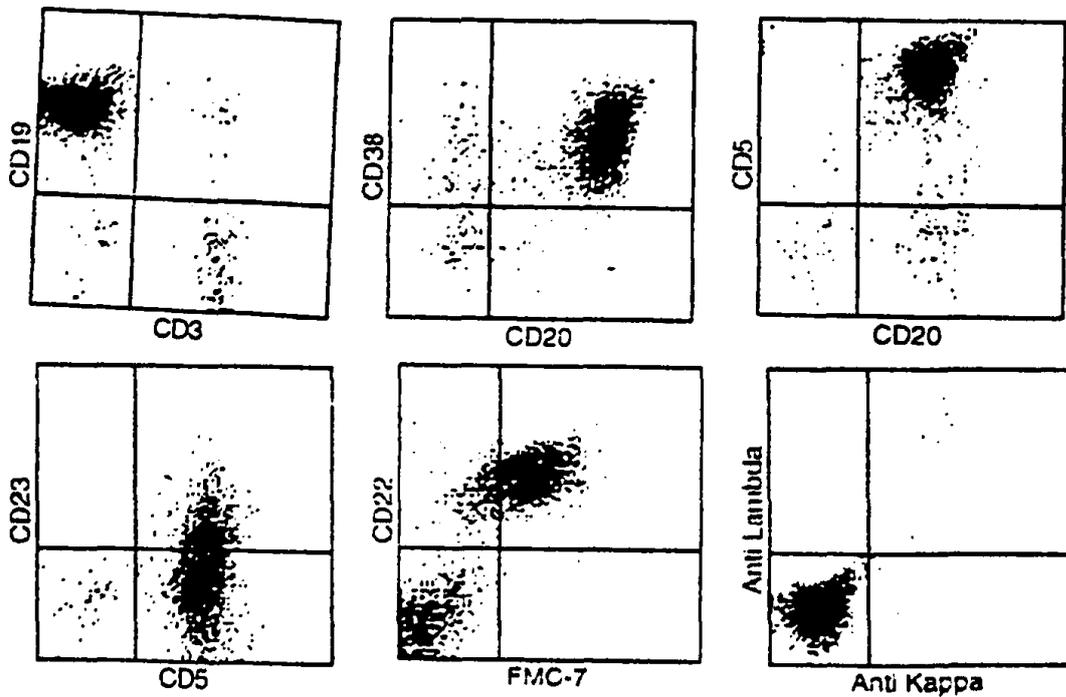
Ανοσοφανότυπος: CD19+ 97%, CD3+ 3%, CD38+CD5+ 97%, CD38+CD20+ 97%, CD5+CD20+ 98%, κ+ 0%, λ+ 0%, CD5+CD23+ 27%, HLA-DR+ 99%, CD22+FMC7+ 60%, CD79b+ 96%, CD10+ 0% (σχήμα 9).

Πρόκειται μάλλον για εξαλλαγή ΧΛΛ προς προλεμφοκυτταρική γιατί αναφέρεται λεμφοκυτταρικός τύπος στη γενική αίματος από ετών για τον οποίο δεν είχε γίνει έλεγχος.

Εικόνα 9.



Σχήμα 9.



ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Μελετήθηκαν 90 ασθενείς, 50 άνδρες και 40 γυναίκες με ΧΛΛ για χρονικό διάστημα 4.5 έτη (6/1998- 12-2002). Κάποιοι βρισκόταν ήδη σε παρακολούθηση για το νόσημα τους ενώ άλλοι διαγνώστηκαν κατά τη διάρκεια της μελέτης.

Η μέση ηλικία κατά τη διάγνωση είναι τα 65.98 έτη (εύρος: 42-87), και ο μέσος χρόνος επιβίωσης από την στιγμή διάγνωσης της νόσου τα 4.5 έτη (εύρος :1-15). Η ηλικία διάγνωσης για τους άνδρες ήταν 67.14+/-10.0.2 χρόνια (χ +/-1SD) και για τις γυναίκες 64.55+/-10.03. Η διαφορά αυτή δεν είναι στατιστικώς σημαντική ($P>0.05$)

Από τους ασθενείς αυτούς οι 75 (83,3%) βρισκόταν εν ζωή στο τέλος της μελέτης, ενώ οι 15 (16.6%) είχαν αποβιώσει.

Από τους 50 άνδρες απεβίωσαν οι 10 (20%) και από τις 40 γυναίκες απεβίωσαν οι 5(12.5%). Η διαφορά δεν είναι στατιστικά σημαντική ($P>0.05\%$).

Η ηλικία κατά τη διάγνωση για όσους ζουν ($n=75$) ήταν τα 65.99+/- 10.2 έτη και για όσους απεβίωσαν ($n=15$) τα 66.00+/- 9.57.

Η διάρκεια επιβίωσης (μετά τη διάγνωση) για όσους ζούνε ($n=75$) ήταν τα 4.75+/- 3.23 έτη και για όσους απεβίωσαν ($n=15$) τα 4.13+/-2.5 έτη.

Κατάταξη ασθενών σε στάδια Rai και Binet

Σύμφωνα τις κατατάξεις Rai και Binet οι ασθενείς κατατάχθηκαν στα παρακάτω στάδια κατά τη διάγνωση:

Στάδιο Rai	Αριθμός	%
0	42	46.7
I	22	24.4
II	15	16.7
III	6	6.7
IV	5	5.6

Στάδιο Binet	Αριθμός	%
A	70	77.8
B	8	8.9
C	12	13.3

Η επίδραση του σταδίου στην επιβίωση έχει ως εξής:

Σταδιοποίηση κατά Rai:

ΣΤΑΔΙΟ	0	I	II	III	IV	σύνολο
Ζουν	40	18	9	4	4	75
αναμονή	35	18.3	12.5	5.0	4.2	75
Αποβίωσαν	2	4	6	2	1	15
Αναμονή	7.0	3.7	2.5	1.0	0.8	15

Αν εξαιρεθεί το στάδιο 0, οι θάνατοι που παρατηρήθηκαν είναι περισσότεροι από τους αναμενόμενους. Άρα η επιβίωση σχετίζεται με το στάδιο κατά Rai στη διάγνωση του νοσήματος. (Fisher exact test= 11.8, $P<0.01$)



Σταδιοποίηση κατά Binet

ΣΤΑΔΙΟ	A	B	C	Σύνολο
Ζουν	62	4	9	75
Αναμονή	58.3	6.7	10	75
Αποβίωσαν	8	4	3	15
Αναμονή	11.7	1.3	2.0	15

Με εξαίρεση το στάδιο A οι αναμενόμενοι θάνατοι στα στάδια B και C είναι λιγότεροι από τους παρατηρηθέντες. Συνεπώς η επιβίωση σχετίζεται με την σταδιοποίηση κατά Binet στη διάγνωση της νόσου. (Fisher exact test= 7.46, $P < 0.05$)

Αποτελέσματα Μελέτης ευρημάτων από την Φυσική εξέταση και στον Εργαστηριακό έλεγχο.

Κατά τη διάγνωση εμφάνισαν:

- διόγκωση λεμφαδένων οι 38 (42.2%),
- σπληνομεγαλία 20 (22.2%),
- ογκώδη νόσο 8 (8.9%) ,
- αναιμία οι 9 (10%) ,
- θρομβοπενία οι 7 (7.8%).

Η ανάλυση των παραμέτρων αυτών έδωσε τα παρακάτω αποτελέσματα:

Θετικό εύρημα	Σε όσους ζούνε	Σε όσους απεβίωσαν	
Διόγκωση λεμφαδένων	30	8	$P > 0.05$
Σπληνομεγαλία	13	7	$P < 0.05$
Ογκώδης νόσος	5	3	$P > 0.05$
Αναιμία	7	2	$P > 0.05$
Θρομβοπενία	5	2	$P > 0.05$
Λευκά > 15.000	54	12	$P > 0.05$
LDH > 450	60	11	$P > 0.05$

Από τις παραμέτρους αυτές μόνο η σπληνομεγαλία στη διάγνωση της νόσου έχει στατιστικώς σημαντική επίδραση στην επιβίωση του ασθενούς.

Ανάλυση μορφολογίας επιχρίσματος

μορφολογία	Μικρά λεμφοκύτταρα	Άτυπα λεμφοκύτταρα	Προλεμφοκύτταρα έως 10%	Προλεμφοκύτταρα 11-50%	σύνολο
Ζουν	41	2	27	5	75
αναμονή	34.2	5.0	30.0	5.8	75
αποβίωσαν	0	4	9	2	15
Αναμονή	6.8	1.0	6.0	1.2	15

Ο απόλυτος αριθμός λεμφοκυττάρων κατά τη διάγνωση κυμαίνεται από 3390/ μί- 172.860/μl (μέση τιμή 23624.98+/- 26918.948).



Η μορφολογία των λεμφοκυττάρων στο επίχρισμα του περιφερικού αίματος ήταν η εξής :

1. Μικρά λεμφοκύτταρα εμφάνισαν 41 ασθενείς (45.6%)
2. Άτυπα λεμφοκύτταρα (με εντομή, λεμφοπλασμοειδή) εμφάνισαν 6 ασθενείς (6.7%)
3. Ποσοστό προλεμφοκυττάρων έως 10% εμφάνισαν 36 ασθενείς (40%)
4. Ποσοστό προλεμφοκυττάρων 10-50% εμφάνισαν 7 ασθενείς (7.8%)

Από την ανάλυση της μορφολογίας διαπιστώνεται πως οι ασθενείς με άτυπα λεμφοκύτταρα ή με προλεμφοκύτταρα στο επίχρισμα του περιφερικού αίματος έχουν μικρότερη επιβίωση από την αναμενόμενη (Fisher's exact test= 22.3, P<0.01)

Ανάλυση της βιοψίας οστού (στους 88 ασθενείς)

Είδος διήθησης	Οζώδης διήθηση	Διάμεση διήθηση	Διάχυτη διήθηση	Σύνολο
Ζουν	48	15	10	73
Αναμονή	40.6	19.1	13.3	73
Αποβίωσαν	1	8	6	15
Αναμονή	8.4	3.9	2.7	15
Σύνολο	49	23	16	88

Το είδος της διήθησης του οστού από τα λεμφοκύτταρα της ΧΛΛ σχετίζεται με την επιβίωση. Η διάμεση και η διάχυτη διήθηση του οστού σχετίζονται με μειωμένη επιβίωση σε σύγκριση με την οζώδη. (Fisher's exact test =18.9, P<0.01)

Ποσοτική εκτίμηση των λεμφοκυττάρων, LDH, β2-μικροσφαιρίνης, αλβουμίνης και ασβεστίου.

Μέση τιμή +/-1SD	Ζούν(75)	Αποβίωσαν (15)	
Λεμφοκύτταρα	20802+/-21119	37739+/- 44647	
LDH	371+/- 134	364+/- 113	P>0.05
B2- μικροσφαιρίνη	2117+/- 1351	3485+/- 1564	P< 0.01
Αλβουμίνη	4.5 +/- 0.43	4.5+/- 0.29	P> 0.05
Ασβέστιο	9.02+/- 0.42	9.01+/- 0.52	P> 0.05

Η μέση τιμή των λεμφοκυττάρων αυτών που ζούνε (75) διαφέρει από τη μέση τιμή των λεμφοκυττάρων αυτών που πέθαναν (15). Οι κατανομές όμως είναι μη κανονικές και δεν επιτρέπουν την στατιστική ανάλυση (οι κατανομές είναι έντονα λοξές δεξιά). Από τον παραπάνω πίνακα μόνο η τιμή της β2-μικροσφαιρίνης διαφέρει (είναι μικρότερη) σε αυτούς που ζούνε σε σχέση με αυτούς που πέθαναν. (t-test = -3.4, p<0.01).

Χρόνος Διπλασιασμού των λεμφοκυττάρων

Χρόνος	< από 12 μήνες	>από 12 μήνες	σύνολα
Ζούν	14	61	75
Αποβίωσαν	5	10	15
Σύνολα	19	71	90



Η ανάλυση των παραπάνω δεδομένων όσον αφορά την επίδραση του χρόνου διπλασιασμού των λεμφοκυττάρων στην επιβίωση δεν έδωσε στατιστικώς σημαντική διαφορά ανάμεσα σε αυτούς που είχαν χρόνο διπλασιασμού μικρότερο των 12 μηνών από εκείνους που είχαν μεγαλύτερο. ($\chi^2 = 1.61$ $p > 0.05$)

Ποιοτική ανάλυση ανοσοσφαιρινών ορού

Ανοσοσφαιρίνες	Φυσιολογικές	Μειωμένες	Αυξημένες	σύνολο
Ζούνε	45	28	2	75
αναμονή	40	32.5	2.5	
Αποβίωσαν	3	11	1	15
Αναμονή	8.0	6.5	0.5	
Σύνολο	48	39	3	90

Υπάρχει στατιστικώς σημαντική διαφορά στην επιβίωση των ασθενών σε σχέση με την συγκέντρωση των ανοσοσφαιρινών ορού (Fisher's exact test = 8.67, $p < 0.05$). Όσοι είχαν μειωμένες τιμές ανοσοσφαιρινών είχαν μικρότερη πιθανότητα επιβίωσης.

Μελέτη των αποτελεσμάτων του ανοσοφαινότυπου

Score CLL	4-5(τυπική)	3(άτυπη)	σύνολα
Ζούν	59	7	66
Αναμονή	58.1	7.3	
Αποβίωσαν	7	2	9
Αναμονή	7.9	1.1	
Σύνολα	66	9	75

Η ανάλυση των αποτελεσμάτων για τη βαθμολόγηση της ΧΛΛ σε τυπική και άτυπη ανάλογα με το CLL score δεν εμφάνισε διαφορά στην επιβίωση ανάμεσα στις δύο ομάδες ($\chi^2 = 1.01$, $p > 0.05$)

CD38	ΝΑΙ	ΟΧΙ	σύνολα
Ζούν	15	51	66
Αποβίωσαν	7	3	10
Σύνολα	22	54	76

Από την ανάλυση της έκφρασης του CD38 προκύπτει ότι όσοι ασθενείς ήταν θετικοί για τη έκφραση του CD38 είχαν χειρότερη επιβίωση ($\chi^2 = 9.4$ $p < 0.05$).

Συσχέτιση της έκφρασης του CD38 με άλλες παραμέτρους

Έκφραση του CD38	Μικρά λεμφοκύτταρα	Άτυπα λεμφοκύτταρα	Προλεμφοκύτταρα έως 10%	Προλεμφοκύτταρα 11-50%	σύνολο
Θετική	6	2	14	0	22
Αρνητική	30	2	16	6	54
Σύνολο	36	4	30	6	76

Οι περιπτώσεις ΧΛΛ όπου η μορφολογία των λεμφοκυττάρων είναι άτυπη ή υπάρχουν και προλεμφοκύτταρα φαίνεται να εμφανίζουν συχνότερη έκφραση του

δείκτη CD38. Η σχέση αυτή είναι στατιστικά σημαντική. (Fisher's exact test = 10.1 $p < 0.05$).

Έκφραση του CD38	Binet A	Binet B	Binet C	Σύνολο
Θετική	17	2	3	22
Αρνητική	43	4	7	54
Σύνολο	60	6	10	76

Η θετική έκφραση του CD38 δεν συσχετίστηκε στατιστικώς σημαντικά με την κατάταξη των ασθενών σε στάδια Rai και Binet, ούτε με τις λοιμώξεις, την ηλικία κατά τη διάγνωση, την σπληνομεγαλία, την ύπαρξη διογκωμένων λεμφαδένων, την αναιμία, την θρομβοπενία, τη βιοψία οστού, τον αριθμό των λεμφοκυττάρων, την LDH, την αλβουμίνη, τον λόγο CD4/CD8, την έκφραση ή όχι ελαφρών αλυσίδων, τον χρόνο διπλασιασμού των λεμφοκυττάρων και την θεραπεία.

Έκφραση του CD38	B2-μικροσφαιρίνη φυσιολογική	B2-μικροσφαιρίνη αυξημένη	σύνολο
Θετική	14 (17,3)	8(4.1)	22
Αρνητική	48 (49.1)	6(3.3)	54
Σύνολο	62	14	76

Η συσχέτιση της τιμής της β2- μικροσφαιρίνης με την έκφραση του CD38 έδωσε στατιστικώς σημαντικό αποτέλεσμα ($\chi^2 = 6.6$ $p < 0.05$). Δηλαδή όσοι έχουν αυξημένη τιμή β2- μικροσφαιρίνης εκφράζουν συχνότερα το CD38.

Έκφραση ελαφρών αλυσίδων

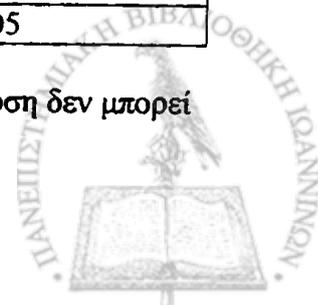
Ελαφρές αλυσίδες	κ	λ	Απουσία έκφρασης	σύνολο
Ζούν	16	16	43	75
Αναμονή	18.3	17.5	39.2	
Αποβίωσαν	6	5	4	15
Αναμονή	3.7	3.5	7.8	
Σύνολα	22	21	47	

Δεν υπάρχει στατιστική διαφορά στην επιβίωση σε σχέση με το είδος της αλυσίδας που εκφράζουν ή δεν εκφράζουν οι ασθενείς (Fischer's exact test= 5.04 $p > 0.05$).

Αναλογία CD4/CD8 λεμφοκυττάρων, κυτταροτοξικών CD57+8, και NK λεμφοκυττάρων.

Ασθενείς	Ζούνε (75)	Πέθαναν(15)	
CD4/CD8	1.01+/-0.56	0.93+/-0.66	$p > 0.05$
CD57+CD8	4.68+/-5.75	2.8+/- 1.7	$P = 0.02$
CD16+56	6.16+/- 5.52	4.06+/-4.07	$p > 0.05$

Οι κατανομές δεν είναι κανονικές, οι SD διαφέρουν. Στατιστική ανάλυση δεν μπορεί να γίνει.



Κατά την παρακολούθηση εμφανίσθηκαν αυτοάνοσα αιματολογικά φαινόμενα στους 13 (14.4%).

Επίδραση της θεραπείας

Θεραπεία για το νόσημα χορηγήθηκε σε 43 ασθενείς. Από τους ασθενείς αυτούς έλαβαν θεραπεία 1^{ης} γραμμής ο 39, 2^{ης} γραμμής 20 και 3^{ης} γραμμής 8

Από τους ενενήντα ασθενείς οι 35 είχαν προοδευτική νόσο.

Αιτίες θανάτου για τους ασθενείς που απεβίωσαν κατά την διάρκεια της παρακολούθησης :

- έξη ασθενείς απεβίωσαν λόγω σηψαιμίας
- τρεις ασθενείς απεβίωσαν λόγω εξαλλαγής της νόσου σε πιο επιθετικό λέμφωμα (δύο ασθενείς εμφάνισαν προλεμφοκυτταρική λευχαιμία και ένας εξαλλαγή σε λέμφωμα Richter και με συμμετοχή του κεντρικού νευρικού συστήματος)
- προοδευτική νόσο και αντοχή στη θεραπεία εμφάνισαν τέσσερις ασθενείς
- δύο ασθενείς κατάρτησαν από άλλη αιτία (ΑΕΕ)

Επιβίωση ασθενών	Έλαβαν θεραπεία	Χωρίς θεραπεία	Σύνολο
Ζούν	28 (35.8)	46 (38.2)	74
Δεν ζούν	15 (7.2)	0 (7.8)	15
Σύνολο	43	46	89

Η σύγκριση μεταξύ των ασθενών που έλαβαν θεραπεία και εκείνων που δεν έλαβαν θεραπεία ως προς την επιβίωση έδωσε στατιστικώς σημαντική διαφορά όσον αφορά την επιβίωση ($\chi^2 = 19.3$ $p < 0.01$). Όσοι έλαβαν θεραπεία εμφάνισαν μικρότερη επιβίωση.

Μελέτη των λοιμώξεων

1. Λοιμώξεις και επιβίωση

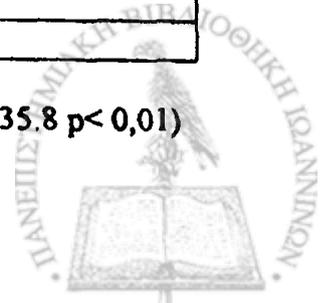
Ασθενείς	Με λοιμώξεις	Χωρίς λοιμώξεις	Σύνολο
Ζούνε	18	57	75
Δεν ζούνε	14	1	15
Σύνολο	32	58	90

Οι ασθενείς που εμφάνισαν λοιμώξεις είχαν στατιστικώς σημαντικά ($\chi^2 = 26.2$ $p < 0.01$) μειωμένη επιβίωση σε σχέση με εκείνους που δεν εμφάνισαν λοιμώξεις.

2. Θεραπεία και Λοιμώξεις

Θεραπεία	Με λοιμώξεις	Χωρίς λοιμώξεις	σύνολο
Ναι	29(15.5)	14(27.5)	43
Όχι	3(16.5)	43(29.5)	46
Σύνολο	32	57	89

Οι ασθενείς που έλαβαν θεραπεία εμφάνισαν συχνότερα λοιμώξεις ($\chi^2 = 35.8$ $p < 0,01$) σε σχέση με όσους δεν έλαβαν θεραπεία.

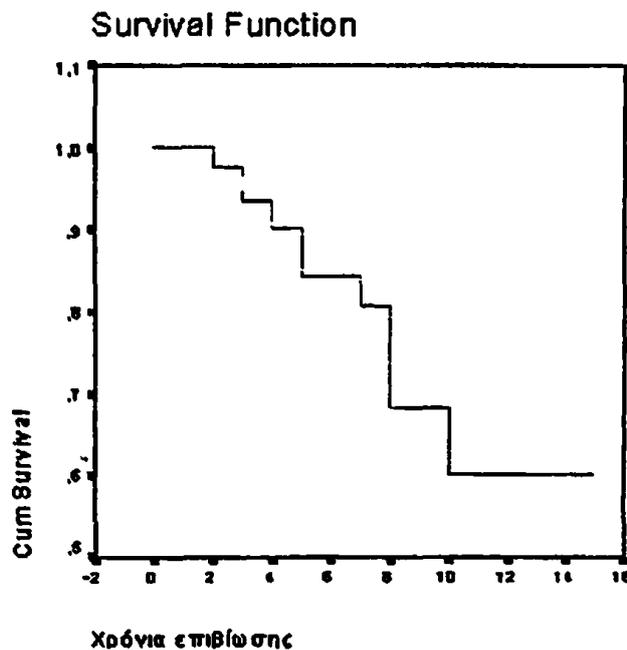


3. Συσχέτιση ανοσοσφαιρινών ορού και λόγου CD4/CD8.

Ανοσοσφαιρίνες	CD4/CD8 μειωμένος	CD4/CD8 φυσιολογικός	σύνολα
φυσιολογικές	26 (28.8)	22 (19.2)	48 (48)
Μειωμένες	25 (23.4)	14(15.6)	39 (39)
Αυξημένες	3 (1.8)	0 (1.2)	3(3.0)

Δεν υπάρχει συσχέτιση μεταξύ των μειωμένων ανοσοσφαιρινών ορού και του λόγου CD4/CD8. (Fisher exact test 2.51, $p>0.05$).

Πίνακας επιβίωσης 90 ασθενών με Χρόνια Λεμφογενή Λευχαιμία.



Από την μελέτη της επιβίωσης των 90 ασθενών προκύπτει η παραπάνω καμπύλη όπου απεικονίζεται η πιθανότητα επιβίωσης των ασθενών σε συγκεκριμένη χρονική στιγμή από τη διάγνωση της νόσου.



ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η μελέτη όλων αυτών των παραγόντων (κλινικών και εργαστηριακών) σε 90 ασθενείς με Χρόνια Λεμφογενή Λευχαιμία έδωσε τα αποτελέσματα που αναφέρθηκαν παραπάνω.

Επίδραση του φύλου στην επιβίωση

Η επίδραση του φύλου δεν σχετίστηκε σημαντικά με την πορεία της νόσου. Αν και υπάρχει η άποψη πως η άνδρες θα εμφανίσουν πιο βαριά κλινική πορεία αυτό δεν φάνηκε να συμβαίνει στην ομάδα που μελετήθηκε.

Επίδραση της ηλικίας στην επιβίωση

Η ηλικία στη διάγνωση της νόσου δεν αποτέλεσε παράγοντα που συσχετίστηκε με την επιβίωση. Οι θάνατοι ασθενών δεν επηρεάστηκαν στατιστικώς σημαντικά από την ηλικία τους.

Σταδιοποίηση κατά Rai και Binet

Η κατάταξη του ασθενούς κατά τη διάγνωση σύμφωνα με τα συστήματα Rai και Binet υποδείχθηκε ξανά ισχυρός προγνωστικός παράγοντας που μπορεί να δώσει με ικανοποιητική ακρίβεια την εικόνα της πορείας του ασθενούς. Αν και η ενδιάμεση κατηγορία κατά Rai, όπως έχει ήδη αναφερθεί αποτελεί μια ετερογενή ομάδα ασθενών είτε με βραδεία, είτε με ταχύτερη εξέλιξη της νόσου, η χρήση της σταδιοποίησης είναι απαραίτητη σε κάθε ασθενή.

Η σταδιοποίηση αυτή πλην της αδρής εκτίμησης του μέσου χρόνου επιβίωσης θα καθοδηγήσει με αρκετή ακρίβεια και την απόφαση για χορήγηση ή όχι θεραπευτικής αγωγής. Από τη στιγμή που καμία θεραπευτική προσέγγιση δεν έχει αποδεχθεί να βελτιώνει την επιβίωση, τότε ασθενείς αρχικών σταδίων χωρίς ευρήματα προοδευτικής νόσου, θα πρέπει να παραμένουν σε τακτική παρακολούθηση. Εξάλλου η χορήγηση χημειοθεραπείας σε αρχικά στάδια έχει φανεί πως επιβαρύνει με τοξικότητα τον ασθενή και μπορεί να επηρεάσει ακόμη και αρνητικά την επιβίωση του.

Όταν η σταδιοποίηση επαναλαμβάνεται σε τακτικά χρονικά διαστήματα, τότε μπορεί να τεθεί με περισσότερη ακρίβεια η ένδειξη για την έναρξη της θεραπείας.

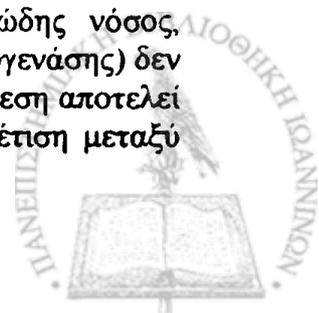
Τα μειονεκτήματα των σταδιοποιήσεων αυτών είναι τα παρακάτω :

1. οι κυτταροπενίες δεν διαχωρίζονται με βάση την αιτία.
2. δεν υπολογίζεται το φορτίο νόσου
3. σε κάθε κλινικό στάδιο υπάρχει προγνωστική ετερογένεια
4. δεν ορίζονται σταθερές και προοδευτικές μορφές
5. δεν συνυπολογίζεται η βιολογική ετερογένεια.

Είναι λοιπόν απαραίτητο να υπάρχουν επιπλέον προγνωστικοί παράγοντες προκειμένου να προβλέπεται με μεγαλύτερη ακρίβεια η κλινική πορεία των ασθενών (Montseppat et al, 2003)

Ευρήματα από την φυσική εξέταση και τον εργαστηριακό έλεγχο.

Η εκτίμηση μεμονωμένων ευρημάτων από την φυσική εξέταση και τον εργαστηριακό έλεγχο (διόγκωση λεμφαδένων, σπληνομεγαλία, ογκώδης νόσος, αναιμία, θρομβοπενία, αριθμός λεμφοκυττάρων, τμή γαλακτικής δευδρογενάσης) δεν συσχέτισε κανέναν από τους παράγοντες αυτούς με την επιβίωση. Εξαίρεση αποτελεί η σπληνομεγαλία για την οποία υπήρξε στατιστικώς σημαντική συσχέτιση μεταξύ της ύπαρξης της στη διάγνωση και επιβίωσης.



Η ποσοτική εκτίμηση της τιμής των λεμφοκυττάρων στη διάγνωση έδωσε διαφορετικές τιμές για όσους ζούσαν στο τέλος της μελέτης, σε σχέση με όσους είχαν πεθάνει. Λόγω όμως της μη κανονικής κατανομής των τιμών δεν ήταν δυνατή η στατιστική ανάλυση.

Από τις υπόλοιπες παραμέτρους οι τιμές της LDH, αλβουμίνης και ασβεστίου δεν φάνηκαν να επηρεάζουν την πορεία των ασθενών ($p > 0.05$).

Η β2 μικροσφαιρίνη στη διάγνωση αποτελεί μια παράμετρο που συσχετίστηκε με την πορεία της νόσου. Η τιμή της έχει συσχετισθεί με την πορεία πολλών λεμφοϋπερπλαστικών νοσημάτων και του πολλαπλού μυελώματος. Αυξημένες τιμές β2- μικροσφαιρίνης έχουν συσχετισθεί με βαρύτερη κλινική πορεία και όσοι από τους ασθενείς είχαν αυξημένες τιμές στη διάγνωση εμφάνισαν και μειωμένη επιβίωση.

Συμπερασματικά από τους εργαστηριακούς και κλινικούς παράγοντες κατά τον χρόνο της διάγνωσης της νόσου, η σπληνομεγαλία και η αυξημένη τιμή της β2-μικροσφαιρίνης αποτελούν δυσμενείς προγνωστικούς παράγοντες.

Μορφολογία του επίχρισματος περιφερικού αίματος.

Η μορφολογία του περιφερικού αίματος στο επίχρισμα είναι ένας σημαντικός παράγοντας στα λεμφοϋπερπλαστικά νοσήματα. Έκτος από το ότι βοηθά στη διαφορική διάγνωση του νοσήματος σε συνδυασμό με τον ανοσοφαινότυπο, φαίνεται πως και η μορφολογία των λεμφοκυττάρων της ΧΛΛ έχει προγνωστικό χαρακτήρα.

Στη ομάδα των ασθενών που μελετήθηκαν οι ασθενείς που είχαν κυρίως μικρού μεγέθους λεμφοκύτταρα, με ελάχιστο κυτταρόπλασμα και συμπυκνωμένη χρωματίνη φαίνεται πως έχουν καλύτερη επιβίωση από τους υπόλοιπους. Οι υπόλοιποι ασθενείς με μορφολογία που περιλαμβάνει άτυπα λεμφοκύτταρα (με εντομές ή αναδιπλώσεις του πυρήνα, με πιο άφθονα κυτταρόπλασμα) ή παρουσία προλεμφοκυττάρων εμφάνισαν μικρότερη επιβίωση με στατιστικώς σημαντική διαφορά.

Βιοψία Οστού

Η βιοψία οστού, όπως και το μυελόγραμμα δεν είναι σήμερα απαραίτητα για τη διάγνωση της ΧΛΛ. Συμπληρώνουν όμως την εκτίμηση του ασθενούς και η βιοψία οστού έχει αναφερθεί κατ'επανάληψη πως αποτελεί προγνωστικό παράγοντα.

Στην ομάδα αυτή οι ασθενείς με οζώδη διήθηση του μυελού των οστών από τα παθολογικά λεμφοκύτταρα είχαν την καλύτερη επιβίωση. Η σύγκριση της επιβίωσης τους με εκείνης των ασθενών που εμφάνισαν τις άλλες δύο μορφές διήθησης έχει στατιστικά σημαντική διαφορά.

Ποιοτική εκτίμηση των ανοσοσφαιρινών ορού.

Η ανοσοπάρηση είναι μια κατάσταση που συχνά συνοδεύει την ΧΛΛ, μερικές φορές από την αρχή της νόσου, ενώ άλλοτε εμφανίζεται κατά την πορεία.

Στην ομάδα των ασθενών όσοι είχαν μειωμένες ανοσοσφαιρίνες (έστω και μια από τις τάξεις των ανοσοσφαιρινών στην ποσοτική μέτρηση μειωμένες γ-σφαιρίνες στην ηλεκτροφόρηση λευκωμάτων) είχαν μικρότερη επιβίωση από εκείνους που εμφάνισαν φυσιολογικά ποσά. Οι τιμές ανοσοσφαιρινών θα πρέπει να λαμβάνονται υπόψη ως προγνωστικοί παράγοντες επιβίωσης και όχι απλώς σαν μια παράμετρος που σημαίνει αυξημένη επίπτωση λοιμώξεων για τον συγκεκριμένο ασθενή.



Προγνωστικοί παράγοντες που προκύπτουν από τον ανοσοφαινότυπο

1. Εκτίμηση του λόγου CD4/CD8, του ποσοστού των CD57+8 και των NK λεμφοκυττάρων (CD16+56).

Από τα στοιχεία του ανοσοφαινότυπου προκύπτουν πληροφορίες για τα T και NK λεμφοκύτταρα των ασθενών με ΧΛΛ. Αν και υπάρχουν ενδείξεις πως πολλοί ασθενείς από τη διάγνωση της νόσου έχουν διαταραχή του λόγου CD4/CD8, δηλαδή αύξηση των κυτταροτοξικών ή μείωση των βοηθητικών T λεμφοκυττάρων, οι κατανομές των τιμών δεν επέτρεψαν την στατιστική ανάλυση για κανέναν από τους παραπάνω πληθυσμούς λεμφοκυττάρων.

2. Έκφραση των ελαφρών αλυσίδων κ και λ στην επιφάνεια των λεμφοκυττάρων.

Η ανοσοφαινοτυπική μελέτη στα δείγματα των ασθενών εμφάνισε τρεις ομάδες ασθενών ανάλογα με την έκφραση των ελαφρών αλυσίδων στα λεμφοκύτταρα τους: Μια ομάδα με κ μονοκλωνικότητα (n=22), μια ομάδα με λ μονοκλωνικότητα (n=21) και μια τρίτη ομάδα (n=45) στην οποία απουσίαζε η έκφραση κ ή λ ελαφράς αλυσίδας επιφανειακά. Στην τρίτη ομάδα των ασθενών η αναζήτηση μονοκλωνικής αλυσίδας ενδοκυτταρίως (σε δείγμα ασθενών) έδωσε θετικά αποτελέσματα είτε για κ είτε για λ αλυσίδες.

Η αλυσίδα που εκφράζει ο παθολογικός πληθυσμός (ή η πλήρης απουσία έκφρασης της) δεν επηρέασε την πορεία των ασθενών γιατί δεν διαπιστώθηκε στατιστικώς σημαντική διαφορά ανάμεσα σε αυτούς που είχαν μια από τις δύο αλυσίδες ή καθόλου, και ζούσαν στο τέλος της μελέτης σε σχέση με αυτούς που είχαν πεθάνει.

3. CLL score :

Η ενσωμάτωση του τρόπου αυτού βαθμολόγησης της ΧΛΛ στον ανοσοφαινότυπο θεωρήθηκε απαραίτητη, γιατί είναι πλέον διεθνώς αποδεκτή και αποτελεί τον τρόπο διαφορικής διάγνωσης της λεμφοκυττάρωσης της ΧΛΛ από άλλα non-Hodgkin λεμφώματα που προτείνεται και από την Παγκόσμια Οργάνωση Υγείας (WHO) στην τελευταία ταξινόμηση.

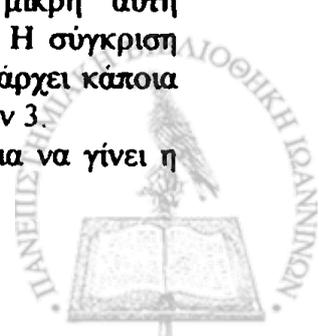
Με την χρήση μιας ομάδας 5 μονοκλωνικών αντισωμάτων γίνεται εύκολα και με ακρίβεια η διαφορική διάγνωση και μπορεί να κατευθυνθεί κανείς στο επόμενο διαγνωστικό βήμα.

Η χρήση του CLL score έγινε σε 75 ασθενείς, οι οποίοι είχαν σύμφωνα με το score τα διαγνωστικά κριτήρια της ΧΛΛ. Στην ομάδα αυτή έγινε η εξής μελέτη: οι ασθενείς διαχωρίστηκαν σε δύο ομάδες με βάση το score:

1. Στην πρώτη ομάδα κατατάχθηκαν εκείνοι που είχαν score 4-5, δηλαδή σύμφωνα με την ομάδα που δημιούργησε αυτό τον τρόπο βαθμολόγησης ασθενείς με τυπική μορφή ΧΛΛ.
2. Στη δεύτερη ομάδα κατατάχθηκαν όσοι είχαν score 3, δηλαδή πιο άτυπες (ανοσοφαινοτυπικά) μορφές.

Ο διαχωρισμός αυτός έγινε για να μελετηθεί κατά πόσο η μικρή αυτή ανοσοφαινοτυπική διαφορά θα μπορούσε να επηρεάσει την επιβίωση. Η σύγκριση των δύο ομάδων δεν έδωσε αποτελέσματα που να συνηγορούν πως υπάρχει κάποια διαφορά στην επιβίωση μεταξύ των ασθενών με score 4-5, και όσων είχαν 3.

Η χρήση του τρόπου αυτού βαθμολόγησης είναι ιδιαίτερα χρήσιμη για να γίνει η διάγνωση της ΧΛΛ και έχει πλέον καθιερωθεί.



Από αυτή την ομάδα των ασθενών δεν προκύπτει πως εμπεριέχει κάποιον προγνωστικό παράγοντα.

4. Επιφανειακή έκφραση του CD38:

Η διαπίστωση πως το 50-70% των περιπτώσεων της ΧΛΛ έχουν γονίδια μεταβλητών περιοχών των ανοσοσφαιρινών (IgVH) αναδιαταγμένα, σημαίνει πως αποτελούν μια ξεχωριστή υποκατηγορία του νοσήματος. Οι ασθενείς αυτοί εμφανίζουν τη νόσο σε αρχικό στάδιο, συχνά έχουν ευνοϊκές κυτταρογενετικές διαταραχές όπως del 13q14, δεν εμφανίζουν μεταλλάξεις του p53, δεν χρειάζονται θεραπεία και επιβιώνουν επί μακρόν.

Οι ασθενείς με IgVH χωρίς ανασυνδυασμό εμφανίζουν δυσμενείς κυτταρογενετικές διαταραχές, χρειάζονται θεραπεία και έχουν μειωμένη επιβίωση.

Άρα η δομή της IgVH αποτελεί σημαντικό προγνωστικό παράγοντα. Ο καθορισμός της όμως δεν είναι δυνατός στα περισσότερα εργαστήρια.

Η συσχέτιση της δομής της IgVH με την έκφραση του CD38 στην επιφάνεια των παθολογικών λεμφοκυττάρων, αν και όχι απόλυτη, έδωσε τη δυνατότητα να διαχωρισθούν οι δύο παραπάνω κατηγορίες ασθενών.

Η μελέτη του ανοσοφαινότυπου με κυτταρομετρία ροής σε δείγμα περιφερικού αίματος είναι μια μέθοδος που μπορεί να εφαρμοσθεί σε όλους τους ασθενείς με ΧΛΛ.

Στους ασθενείς της ομάδας που μελετήθηκε η έκφραση του CD38, τα αποτελέσματα δεν διαφέρουν σε σχέση με εκείνα που αναφέρονται τα τελευταία χρόνια στη διεθνή βιβλιογραφία.

Οι ασθενείς με θετική έκφραση του CD38 (>30%) είχαν χειρότερη κλινική πορεία από όσους ήταν αρνητικοί για την έκφραση του. Η θετική δηλαδή έκφραση συσχετίστηκε με μειωμένη επιβίωση.

Άρα η ενσωμάτωση του CD38 στον ανοσοφαινότυπο πρόσθεσε έναν προγνωστικό παράγοντα της ΧΛΛ που μπορεί να εκτιμηθεί με την κυτταρομετρία ροής.

Από τους ασθενείς με θετική έκφραση για το CD38 οι 15 ζούσαν στο τέλος τη μελέτης ενώ οι 7 είχαν πεθάνει.

Αναφέρεται ενδεικτικά η πορεία των 22 ασθενών με θετική έκφραση του CD38 (>30%).

Από τους ασθενείς αυτούς οι 10 δεν είχαν λάβει θεραπεία ως το τέλος της μελέτης. Πρόκειται για ασθενείς που κατατάχθηκαν στα στάδια I και II (Rai), ή A,B (Binet) και έχουν διαγνωσθεί πρόσφατα (διάρκεια επιβίωσης 1-2 έτη).

Οι υπόλοιποι ασθενείς (12) έλαβαν θεραπεία, οι 8 από την στιγμή της διάγνωσης γιατί βρισκόταν σε προχωρημένο στάδιο και οι άλλοι 4 στην πορεία της παρακολούθησης. Τέσσερις ασθενείς εμφάνισαν γενικευμένη διόγκωση λεμφαδένων ή ογκώδη νόσο στη διάγνωση και δύο ασθενείς βρισκόταν σε στάδιο IV κατά τη διάγνωση.

Δύο ασθενείς εμφάνισαν εκτροπή της νόσου προς B προλεμφοκυτταρική λευχαιμία, και κατέληξαν από το νόσημα.

Προοδευτική νόσο εμφάνισαν οι 9 ασθενείς.

Από τους ασθενείς που έλαβαν θεραπεία, οι 5 δεν ανταποκρίθηκαν σε κανένα θεραπευτικό σχήμα.

5. Συσχέτιση του CD38 με άλλες παραμέτρους.

Η έκφραση του CD38 συσχετίστηκε και με άλλα στοιχεία των ασθενών αυτών πλην της ολικής τους επιβίωσης.



Η θετική έκφραση του δεν διαπιστώθηκε πως σχετίζεται με το στάδιο της νόσου στη διάγνωση παρότι οι μελέτες που υπάρχουν αναφέρουν πως ασθενείς με προχωρημένο στάδιο εμφανίζουν πιο συχνά θετική έκφραση.

Από τους παράγοντες που μελετήθηκαν στους ασθενείς αυτούς διαπιστώθηκε στατιστικώς σημαντική σχέση μεταξύ της έκφρασης του CD38 και της μορφολογίας του επιχρίσματος. Οι περιπτώσεις ΧΛΛ όπου η μορφολογία των κυττάρων ήταν πιο άτυπη και δεν περιλάμβανε κυρίως μικρά λεμφοκύτταρα σχετίστηκαν με αυξημένη έκφραση του CD38.

Υπήρξε επίσης θετική συσχέτιση των τιμών της β2- μικροσφαιρίνης και της έκφρασης του CD38. Δηλαδή οι αυξημένες τιμές σχετίστηκαν με θετική έκφραση.

Επίδραση της θεραπείας στην επιβίωση

Στους μισούς περίπου από τους ασθενείς (43) χορηγήθηκε θεραπεία είτε από την διάγνωση της νόσου, είτε στην πορεία. Θεραπεία πρώτης γραμμής (χλωραμβουκίλη +/- πρεδνιζόνη ή μεθυλπρεδνιζολόνη), έλαβαν 39 ασθενείς. Θεραπεία δεύτερης γραμμής (κυρίως fludarabine, αλλά και pentostatin) έλαβαν 20 ασθενείς και θεραπεία τρίτης γραμμής (με συνδυασμούς χημειοθεραπευτικών, κυρίως CHOP, και μονοκλωνικά αντισώματα) έλαβαν 8 ασθενείς.

Η επίδραση της θεραπείας στην επιβίωση των ασθενών ήταν στατιστικώς σημαντική Όσοι από τους ασθενείς έλαβαν θεραπεία εμφάνισαν μειωμένη επιβίωση. Αυτό δεν θα πρέπει να ερμηνευθεί ως επιβλαβής επίδραση της θεραπείας στη νόσο. Οι ασθενείς που έχουν ένδειξη για θεραπεία στην ΧΛΛ, όπως έχει ήδη αναφερθεί θα πρέπει να βρίσκονται σε προχωρημένο στάδιο ή να εμφανίζουν προοδευτική νόσο, άρα έχουν ήδη δυσμενείς προγνωστικούς παράγοντες και για το λόγο αυτό έχουν και μειωμένη επιβίωση.

Λοιμώξεις

Οι λοιμώξεις αποτελούν μια σημαντική επιπλοκή των ασθενών με ΧΛΛ και μπορούν να επηρεάσουν την επιβίωση τους. Η αυξημένη συχνότητα τους έχει πολυπαραγοντική αιτιολογία. Υπάρχει διαταραχή στην κυτταρική και στην χυμική ανοσία. Η αναστροφή του λόγου των CD4/CD8 λεμφοκυττάρων και η υπογαμμασφαιριναιμία είναι από τις πιο σημαντικές διαταραχές.

Υπάρχουν μελέτες όπου διαπιστώθηκε αυξημένη απόπτωση των CD4 λεμφοκυττάρων σε δείγματα ασθενών με ΧΛΛ μέσω αυξημένης έκφρασης του υποδοχέα Fas (FasR) στα CD4, CD8 λεμφοκύτταρα. Διαπιστώθηκε πως η έκφραση του FasR ενώ είναι αυξημένη και στις δύο ομάδες T λεμφοκυττάρων, μόνο τα CD4 εμφανίζουν αυξημένη απόπτωση. Ο μηχανισμός αυτός αποτελεί μια εξήγηση για την αναστροφή του λόγου CD4/CD8 που διαπιστώθηκε και στην ομάδα των ασθενών μας (Tinhofer et al, 1998)

Η αυξημένη έκφραση του FasR (CD95) στα T λεμφοκύτταρα ασθενών με ΧΛΛ μπορεί πλέον να μελετηθεί και με κυτταρομετρία ροής.

Η διαταραχή του λόγου CD4/CD8 ενδεχομένως να συνδέεται και με την υπογαμμασφαιριναιμία που παρατηρείται στη ΧΛΛ. Αντίθετα με άλλα νοσήματα, όπως ο Συστηματικός Ερυθηματώδης Λύκος και το Συνδρομο Επικτητής Ανοσοανεπάρκειας όπως παρατηρείται μείωση του απόλυτου αριθμού των λεμφοκυττάρων, στην ΧΛΛ υπάρχει κυρίως διαταραχή της λειτουργίας τους.

Η συχνότητα εμφάνισης λοιμώξεων φαίνεται πως αυξάνει παράλληλα με το στάδιο της νόσου και την ανάπτυξη υπογαμμασφαιριναιμίας.



Σημαντικός παράγοντας στην εμφάνιση των λοιμώξεων αποτελεί η βλάβη των βλενογόννων από τη χορήγηση χημειοθεραπευτικών παραγόντων, όπως οι αλκυλιούντες παράγοντες. Συχνά απομονώνονται μικροοργανισμοί όπως *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* και *Pseudomonas aeruginosa* και οι οποίοι ευθύνονται κυρίως για λοιμώξεις του αναπνευστικού (Molica et al, 1993, Molica et al, 1994, Morrison et al, 1998)

Η χρήση των νέων αναλόγων πουρινών όπως της fludarabine που συνοδεύεται από μείωση του αριθμού των CD4 λεμφοκυττάρων έχει προσθέσει στο φάσμα των λοιμώξεων και τις ευκαιριακές λοιμώξεις από *Pneumocystis carinii*, *Listeria monocytogenes*, *Mycobacterium tuberculosis* *Nocardia*, *Candida*, *Aspergillus* και ερπητοϊούς. Η προφυλακτική χορήγηση αντιβιοτικών ενδεχομένως να έχει θέση σε αυτούς τους ασθενείς.

Η εμφάνιση ουδετεροπενίας σχετίζεται κυρίως με τη χορήγηση χημειοθεραπείας, αλλά έχει συσχετισθεί και με διήθηση του μυελού των οστών ή την δημιουργία αυτοαντισωμάτων. Επιπλέον η ουδετεροπενία συσχετίστηκε με δράση των κυτταροτοξικών T λεμφοκυττάρων (CD8) και των NK λεμφοκυττάρων στους ασθενείς με ΧΛΛ (Katrinakis et al, 1995)

Στους ασθενείς της μελέτης έγινε εμφανής η δυσμενής επίδραση των λοιμώξεων στην επιβίωσή τους. Όσοι εμφάνισαν λοιμώξεις είχαν μειωμένη επιβίωση σε σχέση με όσους δεν παρουσίασαν, και με στατιστικώς σημαντική διαφορά.

Από τη συσχέτιση των λοιμώξεων με την χορήγηση θεραπείας διαπιστώθηκε πως αυτές οι δύο καταστάσεις αλληλοεπηρεάζονται. Φάνηκε πως όσοι είχαν λοίμωξη χρειάστηκαν να λάβουν και θεραπεία για το νόσημα τους σε μεγαλύτερο ποσοστό από όσους δεν εμφάνισαν λοιμώξεις ή όσοι έλαβαν θεραπεία εμφάνισαν και πιο υψηλό ποσοστό λοιμώξεων. Οι δύο αυτές καταστάσεις επιδρούν η μια στην άλλη καθώς εδώ αναφέρονται όλες οι λοιμώξεις που εμφάνισαν οι ασθενείς αυτοί χωρίς να έχει γίνει διαχωρισμός αν οφείλονται σε ανοσοανεπάρκεια λόγω του νοσήματος ή σε ουδετεροπενία λόγω χημειοθεραπείας.

Στους 90 ασθενείς, οι 32 εμφάνισαν λοίμωξη και από αυτούς έλαβαν θεραπεία για ΧΛΛ οι 29. Χορηγήθηκε πρώτη γραμμή στους 27 και οι 14 από αυτούς δεν ζούσαν στο τέλος της μελέτης. Δεύτερης γραμμής θεραπεία χορηγήθηκε στους 16 και οι 12 δεν ζούσαν στο τέλος της μελέτης. Τρίτης γραμμής χημειοθεραπεία έλαβαν 6 ασθενείς, και οι 4 δεν ζούσαν στο τέλος της μελέτης.

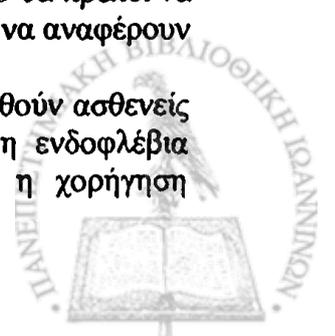
Από τους ασθενείς πάντως που σε κάποια στιγμή εμφάνισαν λοίμωξη, οι περισσότεροι δεν είχαν ουδετεροπενία αλλά κυρίως μειωμένες γ-σφαιρίνες.

Οι ασθενείς αυτοί εμφάνισαν κυρίως λοιμώξεις του αναπνευστικού (πνευμονίες άτυπες και τυπικές), επιχείλιο έρπη, έρπη ζωστήρα, αναζωπύρωση φυματίωσης και ηπατίτιδας Β, ουρολοιμώξεις. Εικόνα σηψαιμίας εμφανίσθηκε κυρίως σε όσους έλαβαν χημειοθεραπεία, στο διάστημα της ουδετεροπενίας.

Οι μειωμένες τιμές ανοσοσφαιρινών πάντως δεν συσχετίστηκαν με την μείωση του λόγου CD4/CD8.

Ανεξάρτητα πάντως από αυτό, είναι εμφανές πως οι λοιμώξεις είτε υπάρχει και συνοδός ανοσοπάρεση είτε όχι, αποτελούν έναν παράγοντα που επηρεάζει σημαντικά την επιβίωση των ασθενών με ΧΛΛ, και για το λόγο αυτό θα πρέπει να αντιμετωπίζονται συστηματικά και οι ασθενείς να ενημερώνονται ώστε να αναφέρουν έγκαιρα ακόμη και ελαφρά συμπτώματα.

Το θέμα των λοιμώξεων έχει απασχολήσει εκτενώς όσους παρακολουθούν ασθενείς με ΧΛΛ και έχουν προταθεί διάφορα προληπτικά σχήματα, όπως η ενδοφλέβια χορήγηση ανοσοσφαιρινών σε όσους έχουν υπογαμμασφαιριναιμία, η χορήγηση



αντιβιοτικών προληπτικά. Πάντως από τις μέχρι τώρα μελέτες δεν έχει αποδειχθεί πως κάποια από τις παραπάνω μεθόδους έχει αλλάξει τη συχνότητα εμφάνισης λοιμώξεων

Ασθενείς με ΧΛΛ που εμφάνισαν και δεύτερο νεόπλασμα

Η ΧΛΛ έχει συσχετισθεί με αυξημένη επίπτωση δευτερογενών νεοπλασιών τόσο λόγω της διαταραγμένης ανοσολογικής απάντησης όσο και ως συνέπεια της χημειοθεραπείας. Αναφέρεται πως εμφανίζονται με αυξημένη συχνότητα κυρίως νεοπλασμάτα του πνεύμονα και μελανώματα

Στην ομάδα ασθενών που μελετήθηκε δύο μόνο ασθενείς είχαν στο ιστορικό τους και δεύτερο νεόπλασμα.

Η μία είναι μια γυναίκα που σε ηλικία 49 ετών διαπιστώθηκε πως πάσχει από ΧΛΛ, ενώ είχε ήδη υποβληθεί σε μαστεκτομή λόγω καρκίνου του μαστού.

Ο δεύτερος είναι ένας άνδρας, 68 ετών που πάσχει από δύο αιματολογικά νοσήματα, ένα λεμφοϋπερπλαστικό (ΧΛΛ) και ένα μυελοϋπερπλαστικό (αληθής πολυερυθραμία).

Προγνωστικοί παράγοντες και ΧΛΛ

Η μελέτη των 90 ασθενών με ΧΛΛ όσον αφορά προγνωστικούς παράγοντες του νοσήματος που εκτιμήθηκαν είτε με την κλινική εξέταση, είτε με τα εργαστηριακά ευρήματα, είχε ως αποτέλεσμα να συσχετίσει την πορεία των ασθενών αυτών και την ολική τους επιβίωση με τους παρακάτω παράγοντες.

1. Η σταδιοποίηση των ασθενών σύμφωνα με τα διεθνώς αποδεκτά συστήματα Rai και Binet εμφανίστηκε ως σημαντικός προγνωστικός παράγοντας. Όσο πιο προχωρημένο το στάδιο στην διάγνωση της νόσου, τόσο πιο μικρή η επιβίωση του ασθενούς.
2. Από τα ευρήματα της φυσικής εξέτασης η ύπαρξη σπληνομεγαλίας σχετίστηκε με μικρότερη επιβίωση.
3. Από τις βιοχημικές παραμέτρους η μέτρηση της β2-μικροσφαιρίνης έχει προγνωστική σημασία, όπως έχει αποδειχθεί και σε άλλα αιματολογικά νοσήματα.
4. Το επίχρισμα του περιφερικού αίματος δίνει πάντα σημαντικές πληροφορίες και στη μελέτη φάνηκε πως μπορεί να έχει και προγνωστικό χαρακτήρα, γιατί ασθενείς με άτυπες μορφολογίες ή με προλεμφοκύτταρα εμφάνισαν μειωμένη επιβίωση σε σχέση με όσους είχαν τυπική ΧΛΛ μορφολογία.
5. Η βιοψία οστού μπορεί να δώσει πληροφορίες για την πορεία του νοσήματος. Η οζώδης διήθηση στη βιοψία συνδέθηκε με την καλύτερη πρόγνωση, ενώ οι άλλες μορφές διήθησης (διάχυτη και διάμεση) με μειωμένη επιβίωση.
6. Ο προσδιορισμός των ανοσοσφαιρινών του ορού δίνει πληροφορίες για την κατάσταση του ανοσοποιητικού συστήματος του ασθενούς και αποτελεί προγνωστικό παράγοντα της επιβίωσης του.
7. Ο ανοσοφαινότυπος με την κυτταρομετρία ροής σε δείγμα περιφερικού αίματος είναι πλέον διαμορφωμένος κατά τέτοιο τρόπο ώστε να διαχωρίζει την ΧΛΛ από άλλα λεμφοϋπερπλαστικά νοσήματα και η προσθήκη του δείκτη CD38 έχει δώσει πλέον στη μέθοδο και προγνωστικές δυνατότητες. Οι ασθενείς με θετική έκφραση του CD38 είχαν μικρότερη επιβίωση σε σχέση με όσους ήταν αρνητικοί. Η έκφραση του CD38 συσχετίστηκε ακόμη με την μορφολογία των λεμφοκυττάρων και τις τιμές της β2-μικροσφαιρίνης.



8. Η προχωρημένη νόσος αποτελεί ένδειξη για θεραπεία, και όσοι ασθενείς χρειάστηκε να λάβουν θεραπεία είχαν μειωμένη επιβίωση σε σχέση με αυτούς που δεν έλαβαν. Δεν ήταν εφικτό να αξιολογηθεί η επίδραση της απάντησης στη θεραπεία στην πρόγνωση της νόσου.
9. Οι λοιμώξεις έχουν καταλυτικό ρόλο στην πορεία της ΧΛΛ και μπορούν να μειώσουν σημαντικά την επιβίωση.

Οι προγνωστικοί παράγοντες που μελετήθηκαν αν και δεν περιλαμβάνουν τεχνικές κυτταρογενετικής ή μοριακής βιολογίας επιβεβαίωσαν την άποψη πως κλινικά και εργαστηριακά ευρήματα μπορούν να συμβάλλουν σημαντικά στην πρόγνωση και τον θεραπευτικό χειρισμό των ασθενών.

Ο ανοσοφαινότυπος που γίνεται με κυτταρομετρία ροής σε δείγμα περιφερικού αίματος παρέχει ένα πλήθος πληροφοριών που μπορούν να μελετηθούν σε όλους τους ασθενείς και αποτελεί πλέον εξέταση ρουτίνας. Η ενσωμάτωση σε αυτόν πληροφοριών που προέρχονται από πιο πολύπλοκες, χρονοβόρες και ακριβές δοκιμασίες, όπως οι μεταλλάξεις του γονιδίου της μεταβλητής περιοχής των ανοσοσφαιρινών και η συσχέτιση με την έκφραση ή όχι του CD38, θα δώσει τη δυνατότητα να εκτιμώνται οι ασθενείς ως προς τη βαρύτητα του νοσήματος τους από τη στιγμή της διάγνωσης.



**ΠΡΟΤΕΙΝΟΜΕΝΗ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΧΡΟΝΙΑ
ΛΕΜΦΟΓΕΝΗ ΛΕΥΧΑΙΜΙΑ**

1. Διάγνωση με βάση ανοσοφαινότυπο (κυτταρομετρία ροής) που να περιλαμβάνει το σύστημα βαθμολόγησης ΧΛΛ (CLL score) και τον δείκτη CD38.
2. Σταδιοποίηση ασθενών στη διάγνωση σύμφωνα με τις κατατάξεις Rai/Binet.
3. Επίχρισμα περιφερικού αίματος –μορφολογία λεμφοκυττάρων
4. Έλεγχος για σπληνομεγαλία
5. Μέτρηση επιπέδων β2-μικροσφαιρίνης στη διάγνωση
6. Ποσοτικός προσδιορισμός ανοσοσφαιρινών, εκτίμηση των CD4/C48.
7. Βιοψία Οστού
8. Έκφραση ή όχι του δείκτη CD38 στον ανοσοφαινότυπο
9. Έγκαιρη αντιμετώπιση λοιμώξεων, προληπτική χορήγηση αντιβιοτικών/ ή ανοσοσφαιρινών σε σημαντική ανοσοπάρεση.

Σε περίπτωση που δεν υπάρχει ένδειξη για θεραπεία και δεν εκφράζεται ο δείκτης CD38 και δεν υπάρχουν άλλοι δυσμενείς προγνωστικοί παράγοντες τότε ο ασθενής παραμένει σε παρακολούθηση. Αν υπάρχει έκφραση του CD38 ή υπάρχουν άλλοι επιβαρυντικοί παράγοντες θα πρέπει να γίνεται πιο συχνή παρακολούθηση και αναλόγως της ηλικίας σκέψη για τα νεότερα θεραπευτικά μέσα.

Όταν από την αρχή της διάγνωσης υπάρχει η ένδειξη της θεραπείας και υπάρχει θετική έκφραση του CD38 ή παρουσία και άλλων δυσμενών προγνωστικών παραγόντων, τότε ειδικά για τους ασθενείς που είναι μικρότεροι των 55 ετών θα πρέπει να εφαρμόζονται νεότερα θεραπευτικά πρωτόκολλα (ανάλογα νουκλεοτιδίων, μονοκλωνικά αντισώματα, συνδυασμοί, μεταμόσχευση).



ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η Χρόνια Λεμφογενής Λευχαιμία (ΧΛΛ) είναι η συχνότερη μορφή λευχαιμίας στον Δυτικό Κόσμο. Αποτελεί το 30% όλων των Λευχαιμιών και εμφανίζεται με μεγαλύτερη συχνότητα σε άτομα άνω των 50 ετών.

Ένα σημαντικό μέρος των ασθενών ανακαλύπτουν το νόσημα τους με αφορμή εργαστηριακό έλεγχο που γίνεται είτε προληπτικά, είτε για άλλα νοσήματα. Άλλοι ασθενείς θα διαγνωσθούν λόγω των σημείων και συμπτωμάτων που θα εμφανίσουν και οφείλονται στην ΧΛΛ.

Η κλινική εικόνα και η πορεία της ΧΛΛ περιλαμβάνει ένα ευρύ φάσμα εκδηλώσεων. Ένα μέρος των ασθενών με ΧΛΛ θα έχουν μια μακρόχρονη και ήπια πορεία, δεν θα χρειασθούν θεραπεία και δεν θα εμφανίσουν επιπλοκές. Κάποιοι άλλοι είτε θα χρειασθούν θεραπεία για το νόσημα τους κάποια στιγμή στη διάρκεια της παρακολούθησης, είτε θα έχουν μια πιο επιθετική μορφή της νόσου από τη στιγμή της διάγνωσης και ενδεχομένως να εμφανίσουν αντίσταση σε όλα τα θεραπευτικά σχήματα.

Η μεγάλη ετερογένεια που εμφανίζει η ΧΛΛ έχει κάνει και την εκτίμηση της πρόγνωσης της ιδιαίτερα δύσκολη. Είναι ήδη καθιερωμένο να κατατάσσονται οι ασθενείς στη διάγνωση τους σε κλινικά στάδια σύμφωνα με τις κατατάξεις που έχουν προτείνει οι Rai και Binet και που περιέχουν και προγνωστικό χαρακτήρα. Η κλινική αυτή κατάταξη όμως δεν εμπεριέχει πληροφορίες για την βιολογική ετερογένεια της νόσου, γεγονός που έχει οδηγήσει στην μελέτη πολλών παραμέτρων που θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν ως προγνωστικοί δείκτες και να δώσουν τη δυνατότητα σε όσους παρακολουθούν ασθενείς με ΧΛΛ να παρέχουν και τη βέλτιστη αντιμετώπιση.

Στην μελέτη αυτή περιλαμβάνονται στοιχεία 90 ασθενών με ΧΛΛ. Οι ασθενείς αυτοί μελετήθηκαν όσον αφορά ένα πλήθος από προγνωστικούς παράγοντες, είτε αυτοί είναι καθιερωμένοι, είτε βρίσκονται ακόμα υπό μελέτη.

Οι παράγοντες αυτοί προκύπτουν από την φυσική εξέταση και τα εργαστηριακά ευρήματα και περιλαμβάνουν τους: ηλικία, φύλο, κατάταξη κατά Rai και Binet, αναιμία, θρομβοπενία, διόγκωση λεμφαδένων, σπληνομεγαλία, ογκώδης νόσος, μορφολογία επιχρίσματος, βιοψία οστού, απόλυτος αριθμός λεμφοκυττάρων στη διάγνωση, τιμές αλβουμίνης, ασβεστίου, γαλακτική δευδρογενάσης β2-μικροσφαιρίνη, ανοσοσφαιρίνες ορού, αυτοάνοσα φαινόμενα, ανοσοφαινοτυπική έκφραση της ΧΛΛ και έκφραση του δείκτη CD38, χρόνος διπλασιασμού των λεμφοκυττάρων, λοιμώξεις, ανταπόκριση στη θεραπεία.

Διαπιστώθηκε στατιστικώς σημαντική συσχέτιση μεταξύ των παρακάτω παραγόντων και της επιβίωσης των ασθενών: στάδιο κατά Rai και Binet, σπληνομεγαλία, αυξημένες τιμές β2-μικροσφαιρίνης, άτυπη μορφολογία λεμφοκυττάρων, διάχυτη διήθηση μυελού οστών, μειωμένες ανοσοσφαιρίνες ορού, έκφραση του CD38, εμφάνιση λοιμώξεων, ένδειξη για θεραπεία.



SUMMARY

Chronic Lymphocytic Leukemia (CLL) is the most common type of leukemia in the West World. It comprises 30% of all leukemias and the majority of the patients are older than 50 years.

In the vast majority of patients disease is diagnosed through a routine blood test. Some other patients experience signs and symptoms of CLL, such as massive lymphadenopathy, hepatosplenomegaly or severe infections that lead to the diagnosis.

Chronic lymphocytic Leukemia has a broad spectrum of clinical findings and course. Some of the patient will live long, uneventfully, and will not need treatment. Others will require treatment during their follow-up or they will need treatment from diagnosis. These patients are usually resistant to various treatment options.

Taking into consideration the heterogeneity of the disease predicting the outcome of a CLL patient is not straightforward. It is worldwide practice to classify patients to Rai and Binet stages in the diagnosis. These classifications have prognostic significance, but do not include the biological variability of the disease. Several studies evaluate factors that can have prognostic value for CLL. The knowledge of these factors will allow the best treatment approach for CLL patients.

This study evaluated 90 patients with CLL in an attempt to evaluate the already established prognostic factors and to define new ones.

Prognostic factors included in this study result from physical examination and laboratory findings at diagnosis. These are the following: age, gender, Rai and Binet classification, anemia, thrombocytopenia, lymph node enlargement, splenomegaly, bulky disease, peripheral blood morphology, bone marrow trephine, number of lymphocytes at diagnosis, albumin levels, calcium levels, LDH, b2-microglobulin, immunoglobulines levels, autoimmune complications, CLL immunophenotype and CD38 expression, doubling time of lymphocytes, infection, treatment.

The following factors are statistically associated with the survival of these patients: Rai and Binet classification, b2-microglobuline, splenomegaly, atypical morphology of lymphocytes, diffuse lymphocyte infiltration of bone marrow, low immunoglobulines levels, CD38 expression, infections and need the for treatment at presentation.

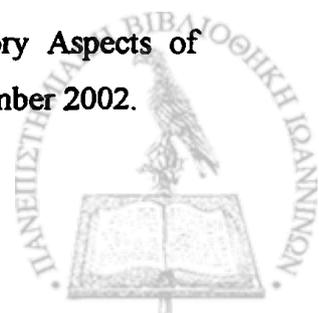
Patients with atypical morphology of lymphocytes and elevated b2-microglobuline in their serum also had increased expression of CD38.

As a result of this study it is suggested that patients with CD38 expression, elevated levels of b2-microglobulin, advanced stage who need treatment and are younger than 55 years of age should be offered new therapeutic options such as purine analogs, monoclonal antibodies, combination therapies or stem cell transplantation.



ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- 1) Abelloff M D, Armitage J O , Lichter A S, Niederhuber J E. Clinical Oncology , Chronic lymphocytic leukemia, 1999
- 2) Alberts B, Bray D, Lewis J et al. Molecular Biology of the Cell, 3rd edition, 1993
- 3) Bergmann L . Present status of purine analogs in the therapy of chronic lymphocytic leukemias. Leukemia 1997; 11, supp 2:S29-S34.
- 4) Binet JL, Catovsky D, Chandra P et al. Chronic lymphocytic leukemia: proposals for a revised prognostic staging system a clinical staging system . Br J Haematol 1981;48:365
- 5) Brito-Babapulle V, Garcia-Marco J, Maljaie S H et al. The Impact of Molecular Cytogenetics on Chronic Lymphoid Leukemia . Acta Haematol 1997; 98:175-186
- 6) Byrd J C, Peterson L B et al . Randomized phase 2 study of fludarabine with concurrent versus sequential treatment with rituximab in symptomatic, untreated patients with B-cell chronic lymphocytic leukemia: results from Cancer and Leukemia Group B 9712 (GALGB 9712). Blood 2003; 101: 6-14
- 7) Cabezudo E, E Matutes E, Ramrattan M, Morilla R, Catovsky D. Analysis of residual disease in chronic lymphocytic leukemia by flow cytometry. Leukemia 1997;11:1909-1914
- 8) Callea V, Morabito F, Oliva B M et al. Surface CD14 positivity in B-cell chronic lymphocytic leukemia is related to clinical outcome. Brt J of Heam 1999;107:347-352
- 9) Caligaris-Cappio F: New Insights in the Biology of B-Chronic Lymphocytic Leukemia , American Society of Hematology Education Program Book 1999;249-269
- 10) Campo E, Raffeld M, Jaffe E S: Mantle cell lymphoma. Semin Haematol 1999; 36:115-127
- 11) Catovsky D: 9TH Clinical and Laboratory Aspects of Leukemia and Lymphoma: The Royal Marsden Hospital, November 2000
- 12) Catovsky D: 11TH Annual Course in Clinical and Laboratory Aspects of Leukemia and Lymphoma, The Royal Masrden Hospital, November 2002.



- 13) Catovsky D, Matutes E Splenic Lymphoma With Circulating Villous Lymphocytes/Splenic Marginal -Zone Lymphoma. *Semin Haematol* 1999;36:148-154
- 14) Chacon J I, Mollejo M, Munoz E et al. Splenic marginal zone lymphoma :clinical characteristics and prognostic factors in a series of 60 patients. *Blood* 2002;100:1648-1654
- 15) Chang CC, Cleveland R P. Conversion of CD38 and/or myeloid-associated marker expression status during the course of B-CLL : association with a change to an aggressive clinical course. *Blood* 2002;100 :1106
- 16) Chena C, Sarmiento M, Palacios M F et al. dup (12)(q13-q22) and 13q14 Deletion in a case of B-Cell Chronic Lymphocytic Leukemia. *Acta Haematol* 2000; 104 : 197-201
- 17) Cheson B D, Bennett J M, Grever M et al: National Cancer Institute-Sponsored Working Group Guidelines for Chronic Lymphocytic Leukemia: Revised Guidelines for Diagnosis and Treatment. *Blood* 1996; 87:4990-4997
- 18) Cordone I, Masi S, Mauro F R et al. p53 Expression in B-cell Chronic Lymphocytic Leukemia: A Marker of Disease Progression and Poor Prognosis. *Blood* 1998; 91: 4342-4349
- 19) Crespo M, Bosch F, Villamor N 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
- 20) Damle R N, Wasil T, Fais F et al . Ig V Gene Mutation Status and CD38 Expression As Novel Prognostic Indicators in Chronic Lymphocytic Leukemia. *Blood* 1999; 94 :1840-1847
- 21) Damle R N, Ghiotto F Valetto A. B-cell chronic lymphocytic leukemia cells express a surface membrane phenotype of activated , antigen -experienced B lymphocytes. *Blood* 2002;99:4087-4093
- 22) D'Arena G, Musto P, Cascavilla N et al. CD38 expression correlates with adverse biological features and predicts poor clinical outcome in B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Leuk Lymphoma* 2001; 42:109-14
- 23) D'Arena G, Nunziata G, Coppola G et al. CD38 expression does not change in B-cell chronic lymphocytic leukemia .*Blood* 2002;100:3052



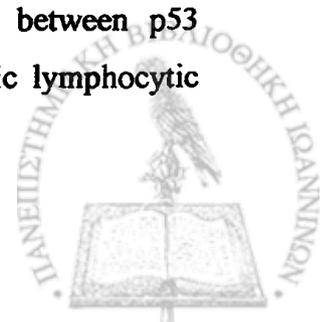
- 24) Deegan M J, Abraham J P, Sawdyk M, Van Slyck E J: High incidence of monoclonal proteins in the serum and urine of chronic lymphocytic leukemia patients. *Blood* 1984; 64: 1207-1211
- 25) Delves P, Roitt I . The immune system. *N Engl J Med* 2000; 343: 37-4
- 26) Delves P, Roitt I . The immune system .*N Engl J Med* 2000;343:108-117
- 27) Dohner H, Stiltenbauer S, Benner A et al. Genomic aberrations and survival in chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med* 2000; 343 :1910-1916
- 28) Dohner H, Fischer K, Bentz M et al. p53 Gene Deletion Predicts for Poor Survival and Non-Response to Therapy With Purine Analogs in Chronic B-Cell Leukemias. *Blood* 1995; 85:1580-1589
- 29) Fague G B: Chronic Lymphocytic Leukemia: An Updated Review, *J Clin Oncol* 1994 ;12 :1974-1987
- 30) Farnhout F, Dinkelaar R B, Hagemeyer A et al; Four aged siblings with B cell chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia* 1997; 11:2060-2065
- 31) Ferrajoli A, Keating M, Manshour T et al. The clinical significance of tumor necrosis factor- α plasma level in patients having chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2002; 100: 1215-1219
- 32) Franco V, Florena A M, Iannitto E Splenic marginal zone lymphoma. *Blood* 2003;101: 2464-2472.
- 33) Gartner L P, Hiatt S L : *Color Textbook of Histology, Second Edition, 2000*
- 34) Gitendra R , Hoffbrand V A : *Biochemical and Genetic Control of Apoptosis: Relevance to Normal Hematopoiesis and Hematological Malignancies.* *Blood* 1999; 93 :3587-3600 .
- 35) Gandini D, Aguiari G L, Cuneo A et al: Novel small deletions of the p53 gene in late stage B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Br J of Haematol* 1994: 88: 881-885
- 36) Gandi V, Huang P, Plunkett W. Fludarabine Inhibits DNA Replication: A Rational for its Use in the Treatment of Acute Leukemias. *Leukemia Lymphoma* 1994;14(suppl 2):3-9
- 37) Geisler C H, Larsen J K, Hansen N E et al. Prognostic Importance of Flow Cytometric Immunophenotyping of 540 Consecutive Patients With B-cell Chronic Lymphocytic Leukemia . *Blood* 1991;78: 1795-1802



- 38) Ghia P, Guida G, Stella S et al. The pattern of CD38 expression defines a distinct subset of chronic lymphocytic leukemia patients at risk of disease progression. *Blood* 2003;101:1262-1269
- 39) Hallek M, Kuhn-Hallek I, Emmerich B. Prognostic factors in chronic lymphocytic leukemia: *Leukemia* 1997;11, Suppl 2, S4-S13
- 40) Hansen D A, Robbins B A, Bylund D J et al. Identification of monoclonal and quantitative immunoglobulin abnormalities in hairy cell leukemia and chronic lymphocytic leukemia. *Am J Clin Pathol* 1994;102:580-585
- 41) Hamblin T, Davis Z, Gardiner A et al. Unmutated Ig VH Genes are associated With a More Aggressive Form of Chronic Lymphocytic Leukemia *Blood* 1999; 94: 1848-1854
- 42) Hamblin,T Orchard J A, Ibbotson R E et al. CD38 expression and immunoglobulin variable region mutations are independent prognostic variables in chronic lymphocytic leukemia, but CD38 expression may vary during the course of the disease. *Blood* 2002; 99:1023-1029
- 43) Ibrahim S, Keating M, Do K A et al. CD38 expression as an important prognostic factor in B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2001; 98 : 181-186
- 44) Itala M,Geisler C H, Kimby E et al. Efficacy and tolerability of rituximab in chronic lymphocytic leukemia :results from a Nordic multicenter pilot study. *Blood* 2000;96 (suppl 1):Abstract 4988
- 45) Jaffe E S, Lee Harris N , Stein H, Vardiman J W. World Health Organization: Pathology and Genetics of Tumors of Haematopoietic and Lymphoid Tissues, 2001;119-187
- 46) Johnson S, Smith G A , Loffler H et al . Multicentre prospective randomized trial of fludarabine versus cyclophosphamide, doxorubicin, and prednisone (CAP) for treatment of advanced-stage chronic lymphocytic leukemia: *The Lancet* 1996; 347:1432-1438.
- 47) Katrinakis G, Kyriakou D, Alexandrakis M et al. Evidence for involvement of activated CD8+/HLA-DR + cells in the pathogenesis of neutropenia in patients with B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Eur J Haematol* 1995; 55 (1): 33-34



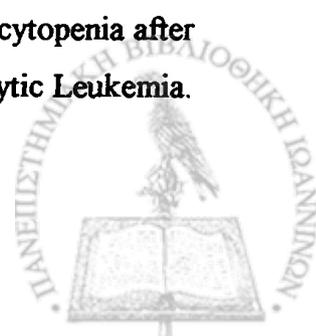
- 48) Keating M, Lerner S, Kantarjian H et al . The serum beta-2 microglobulin level is more powerful than stage in predicting response and survival in chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 1995; 86:606a,(suppl 1 absr)
- 49) Keating M, O'Brien S, Robertson L E et al. The Expanding Role of Fludarabine in Hematologic Malignancies. *Leukemia Lymphoma* 1994;14(suppl 2): 11-16
- 50) Keating M, Flinn I, Jain V et al. Therapeutic role of alemtuzumab (Campath-1H) in patients who have failed fludarabine: results of a large international study. *Blood* 2002;99: 3554-3561
- 51) Kennedy B, A Rawstron A, Carter C et al. Campath -1H and fludarabine in combination are highly active in refractory chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2002; 99 : 2245-2247
- 52) Kipps T J, Carson D A: Autoantibodies in Chronic Lymphocytic Leukemia and Related Systemic Autoimmune Diseases. *Blood* 1999; 81:2475-2487
- 53) Krober A, Seiler T, Benner A et al. VH mutation status, CD38 expression level, genomic aberrations, and survival in chronic lymphocytic leukemia *Blood* 2002; 100: 1410-1416
- 54) Lagneaux L, Delforge A, Bron D et al. Chronic Lymphocytic Leukemic B Cells But Not Normal B Cell Are Rescued From Apoptosis by Contact With Normal Bone Marrow Stroma Cell. *Blood* 1998; 91:2387-2396.
- 55) Lanham S, Hamblin T, Oscier D et al. Differential signaling via surface IgM is associated with VH gene mutational status and CD38 expression in chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2003; 101:1087-1093
- 56) Lee, Foester, Lukens et al: *Wintrobe's Clinical Hematology, 10th Edition, 1999*
- 57) Leparrier M, Chevret S, Cazin 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.
- 58) Lesesve J F, Florence A M, Maynadie G M et al. Prognostic relevance of soluble CD23 in CLL. *The Hematology Journal* 2001; 2:355
- 59) Lin K, Sherrington P, Dennis M et al. Relationship between p53 dysfunction, CD38 expression, and IgVH mutation in chronic lymphocytic leukemia . *Blood* 2002;100:1404-1409



- 60) Lundin J, Kimby E, Bjorkholm M et al. Phase II trial of subcutaneous anti-CD52 monoclonal antibody alemtuzumab (Camphath-1H) as first line treatment for patients with B-cell chronic lymphocytic leukemia (B-CLL). *Blood* 2002;100:768-77
- 61) Μαλισόβας Ν. Εισαγωγή στις αρχές της κυτταρομετρίας ροής. 1^ο Πανελληνίου Συμποσίου Κυτταρομετρίας 1999;11-14
- 62) McCarthy D A, Macey M G et al: Cytometric analysis of cell phenotype and function, Cambridge University Press 2001;1-14
- 63) Manshouri T, Do K, Wang X, Giles F J et al. Circulating CD20 is detectable in the plasma of patients with chronic lymphocytic leukemia and is of prognostic significance. *Blood* 2003;101: 2507-2513
- 64) Martai Z, Lin K, Dennis M et al. CD38 expression and IgVH gene mutation in B -cell chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2001; 97:1902
- 65) Matutes E, Owusu-Ankomah K, R. Morilla et al: The Immunological Profile of B-Cell Disorders and Proposal of a Scoring System for the Diagnosis of CLL. *Leukemia* 1994;8:1640-1645
- 66) Matutes E . New additions to antibody panels in the characterisation of chronic lymphoproliferative disorders. *Journal of Clinical Pathology* 2002;55:180-18
- 67) Mauro F R, Foa R, Cerretti R et al. Autoimmune hemolytic anemia in chronic lymphocytic leukemia: clinical, therapeutic, and prognostic features. *Blood*;2000. 95:2786-2792
- 68) Melo J V, Catovsky D, Dalton DAG . The relationship between chronic lymphocytic leukemia and prolymphocytic leukemia. Clinical and laboratory features of 300 patients and characterization of an intermediate group . *Br J Haematol* 1986; 63:377-387
- 69) Mitterbauer M, Hilgenfeld E, Wilfing A et al: Is there a place for 2-CDA in the treatment of CLL? *Leukemia* 1997;11, Suppl 2,525-528
- 70) Molica S, Levato D, Cascavilla N et al. Clinico-prognostic implications of simultaneous increased serum levels of soluble CD23 and b2-microglobulin in B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Eur J Haematol* 1999. 62:117-122
- 71) Molica S, Alberti A .Prognostic value of the lymphocyte doubling time in chronic lymphocytic leukemia. *Cancer* 1987. 60:2712-271



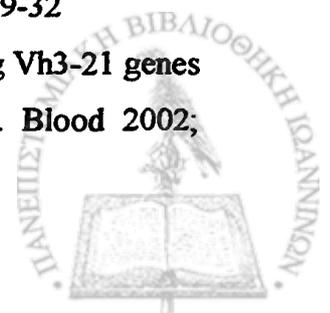
- 72) Molica S, Vacca A, Ribatti D et al. Prognostic value of enhanced bone marrow angiogenesis in early B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2002; 100 :3344-3351
- 73) Molica S, Vitelli G, Levato D, et al Increased serum levels of vascular endothelial growth factor predict risk of progression in early B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Br J of Haematol* 1999; 107: 605-610
- 74) Molica S, Levato D. Infections in chronic lymphocytic leukemia. Analysis of incidence as a function of length of follow-up. *Haematologica* 1993;78:374-377,
- 75) Molica S. Infections in chronic lymphocytic leukemia: risk factors, and impact on survival, and treatment. *Leuk Lymphoma* 1994; 13:203—214
- 76) Montserrat E: Classical and new prognostic factors in chronic lymphocytic leukemia: Where to now? *The Hematology Journal* 2002; 3:7-9
- 77) Montserrat E, Gine E, Bosch F : Redefining Prognostic Elements in Chronic Lymphocytic Leukemia . *The Hematology Journal* 2003; syp 3:180-182, 2003.
- 78) Morrison V A: The infectious complications of chronic lymphocytic leukemia: *Semin Oncol* 1998; 25: 98-106
- 79) Naylor M, Capra J D . Mutational Status of Ig VH Genes Provides Clinically Valuable Information in B-Cell Chronic Lymphocytic Leukemia *Blood* 1999; 94:1837-1839
- 80) Nathawi B N, Drachenberg M R, Hernandez A M et al. Nodal Monocytoid B-cell Lymphoma (Nodal Marginal-Zone B-cell Lymphoma). *Semin Haematol* 1999; 36:128-138
- 81) O'Brien M, Matutes E, Cunningham D et al. Fludarabine in Lymphoproliferative Disorders: The Royal Marsden Hospital Experience. *Leukemia Lymphoma* 1994;14(suppl 2) ;17-24.
- 82) Oscier D G, Gardiner A C, Mould S J et al. Multivariate analysis of prognostic factors in CLL: clinical stage, IGVH gene mutational status, and loss or mutation of the p53 gene are independent prognostic factors. *Blood* 2002; 100:1177- 1184
- 83) Otton S H, Turner D L, Frewin R et al. Autoimmune thrombocytopenia after treatment with Campath1H in a patient with Chronic Lymphocytic Leukemia. *Br J of Haematol* 1999;106:252-262



- 84) Panayiotidis P, Jones D, Ganeshaguru K et al: Human bone marrow stroma cells prevent apoptosis and support the survival of chronic lymphocytic leukemia cells in vitro. *Br J of Haematol* 1999; 92 : 97-103
- 85) Panayiotidis P, Kotsi P. Genetics of Small Lymphocyte Disorders. *Semin Haematol* 1999; 36:171-177
- 86) Pangalis G A, Angelopoulou M K, Vassilakopoulos T P et al: B-Chronic lymphocytic, Leukemia, Small Lymphocytic Lymphoma and Lymphoplasmatic Lyhpoma, Including Waldenstom's Macroglobulinemia: A Clinical, Morphologic and Biologic Spectrum of Similar Disorders. *Semin Haematol* 1999; 36:104-114
- 87) Pangalis G A, Roussou P A, Kittas C et al. Prognostic Implication of Bone Marrow Histology in 120 Patients Experience from a Single Hematology Unit. *Cancer* 1987; 59: 767-771,
- 88) Pangalis G A, Poziopoulos C, Angelopoulou M K et al. Effective treatment of disease -related in B-chronic lymphocytic leukemia patients with recombinant human erythropoietin. *Br J Haematol* 1995; 89:627-629
- 89) Pangalis G A, Siakantaris M P, Angelopoulou M K et al. Downstaging Rai III B chronic lymphocytic leukemia patients with the administration of recombinant human erythropoietin. *Haematologica* 2002; 87:500-506
- 90) Pavlidis A N, Kalef-Ezra J, Bourantas K L et al. Serum tumor markers in non-Hogkin's lymphomas and chronic lymphocytic leukemia. *The International Journal of Biological Markers* 1993; 8:14-20
- 91) Poeta G D, Maurillo L, Venditti A et al. Clinical significance of CD38 expression in chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2001; 98:2633-2639
- 92) Pritsch O, Troussard X, Magnac C, et al: V H gene usage by family members affected with chronic lymphocytic leukemia. *Br J of Haema* 1999; 107:616-624.
- 93) Que T H, Marco J G, Ellis J et al. Trisomy 12 in chronic lymphocytic leukemia detected by fluorescence in situ hybridization : analysis by stage, immunophenotype, and morphology. *Blood* 1993; 82:571-575
- 94) Rai K, Donner H, Keating M J, Montserrat E. Chronic Lymphocytic Leukemia : Case-Based Session, American Society of Hematology Education Program Book 2001;140-156



- 95) Rai KR, Sawitsky A, Cronkite EP, Chanana AD, Levy RN, Patsternack BS : Clinical staging of chronic lymphocytic leukemia, *Blood* 1975; 46:219
- 96) Rawstron A C, Green M J, Kuzmicki A et al: Monoclonal B lymphocytes with the characteristics of "indolent" lymphocytic leukemia are present in 3.5% of adults with normal blood counts. *Blood* 2002 ;100:635-639
- 97) Rawstron A C, Yuille M , Fuller J et al: Inherited predisposition to CLL is detectable as subclinical monoclonal B-lymphocyte expansion. *Blood* 2002;100:2289-2291.
- 98) Rawstron A C, Kennedy B, Evans P A et al. Quantitation of minimal disease levels in chronic lymphocytic leukemia using a sensitive flow cytometric assay improves the prediction of outcome and can be used to optimize therapy. *Blood* 2001; 98:29-35
- 99) Rouby S, Thomas A, Costin D et al: p53 gene mutation in B-cell chronic lymphocytic leukemia is associated with drug resistance and is independent of MDR1/MDR3 gene expression . *Blood* 1993; 82 : 3452-3459
- 100) Rozman C , Montserrat E :Chronic Lymphocytic Leukemia *N Engl J Med* 1995; 333: 1052-1057.
- 101) Safrazi M, Chevret S, Chastang C et al. Prognostic Importance of Serum Soluble CD23 level in Chronic Lymphocytic Leukemia. *Blood* 1996 88:4259-4264
- 102) Sudhoff T, Arning M, Schneider W. Prophylactic strategies to meet infectious complications in fludarabine-treated CLL. *Leukemia* 1997;11,suppl 2:S38-S41.
- 103) Sutton L, Maloum K, Gonzalez H et al. Autologous hematopoietic stem cell transplantation as salvage treatment for advanced B cell chronic lymphocytic leukemia *Leukemia* 1998; 12:1699-1707
- 104) Sweetenham J, Hieke K, Kerrigan M et al. Cost-minimization analysis of CHOP, fludarabine, and rituximab for the treatment of relapsed indolent B-cell non-Hodgkin lymphoma in the U.K. *Br J of Haematol* 1999;106:47-54
- 105) Taylor H G, Nixon N, Sheeran T P, Dawes PT : Rheumatoid arthritis and chronic lymphatic leukemia. *Clin Exp Rheumatol* 1989; 7(5):529-32
- 106) Tobin G, Thunbreg U, Johnson A et al. Somatically mutated Ig Vh3-21 genes characterize a new subset of chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2002; 99:2262-2264



- 107) Tinhofer I, Marschitz I, Kos M et al. Differential Sensitivity of CD4 and CD8 T Lymphocytes to the Killing Efficacy of Fas (Apo-1/ CD95) Ligand-Tumor Cells in B Chronic Lymphocytic Leukemia. Blood 1998;91 :4273-4281
- 108) Vallespi T, Montserrat E, Sanz M A. Chronic lymphocytic leukemia: Prognostic value of lymphocyte morphological subtypes . A multivariate survival analysis in 146 patients. Br J Haematol 1991: 77:478-485
- 109) Wilhelm M, Tony H P, Ruele-Lanz H, Wilms K. First line therapy of advanced chronic lymphocytic leukemia: Leukemia 1997; 11, Suppl 2 S4-S18
- 110) Yuille M, Condie A, Hudson C et al: ATM mutations are rare in familial chronic lymphocytic leukemia. Blood 2002;100 : 603-609.
- 111) Zwiebel JA, Chenson BD . Chronic lymphocytic leukemia: staging and prognostic factors. Semin Oncol 1998;25:42-59

(Τα σχήματα του θύμου σελ. 6, λεμφαδένα σελ. 8, σπλήνα σελ. 11 και είναι από το βιβλίο Κλινική Ανοσολογία, Μ Ι Χατζηγιαννάκη, 1999)

