

Ag. EIG: 11069/2013.

RECEIVED
MAY 15 2013
MAY 15 2013
MAY 15 2013



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ

**ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ
ΠΑΘΟΛΟΓΙΚΟΣ ΤΟΜΕΑΣ**

**ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ
ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ: ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ Α. ΜΠΟΥΡΑΝΤΑΣ
ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΠΑΘΟΛΟΓΙΑΣ - ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΙΑΣ**

**ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΤΩΝ ΓΟΝΟΤΥΠΩΝ ΤΗΣ ΓΛΟΥΤΑΘΕΙΟΝΗΣ
ΘΕΙΟ-ΤΡΑΝΣΦΕΡΑΣΗΣ (GST) ΜΕ ΝΕΟΠΛΑΣΜΑΤΙΚΕΣ ΝΟΣΟΥΣ
ΤΟΥ ΑΙΜΟΠΟΙΗΤΙΚΟΥ ΙΣΤΟΥ**

**ΣΟΦΙΑ Ε. ΤΣΑΜΠΟΥΡΗ
ΙΑΤΡΟΣ**

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2004



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

ΑΙΤΗΣΗ: 18/11/97

ΟΡΙΣΜΟΣ ΤΡΙΜΕΛΟΥΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ: 338α/16-12-1997

Κωνσταντίνος Α. Μπουραντάς, Επιβλέπων

Αναπληρωτής Καθηγητής Παθολογίας-Αιματολογίας Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Κωνσταντίνος Σεφεριάδης, Μέλος

Αναπληρωτής Καθηγητής Βιολογικής Χημείας Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Νικόλαος Χαλιάσος, Μέλος

Επίκουρος Καθηγητής Παιδιατρικής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

ΑΝΑΣΥΣΤΑΣΗ ΤΡΙΜΕΛΟΥΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ: 532α/4-5-2004

Κωνσταντίνος Α. Μπουραντάς, Επιβλέπων

Καθηγητής Παθολογίας-Αιματολογίας Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Ιωάννης Γεωργίου, Μέλος

Αναπληρωτής Καθηγητής Ιατρικής Γενετικής και Υποβοηθούμενης Αναπαραγωγής της Μαιευτικής-

Γυναικολογίας Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Νικόλαος Χαλιάσος, Μέλος

Επίκουρος Καθηγητής Παιδιατρικής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

ΚΑΤΑΘΕΣΗ: 10/06/2004

ΟΝΟΜΑ ΠΡΟΕΔΡΟΥ ΤΗΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΣΧΟΛΗΣ: **Επαμεινώνδας Τσιάνος**

ΕΠΤΑΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ:

Βασιλική Μαλάμου-Μήτση

Καθηγήτρια Παθολογικής Ανατομίας Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Κωνσταντίνος Α.Μπουραντάς

Καθηγητής Παθολογίας-Αιματολογίας Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Κωνσταντίνος Σεφεριάδης

Καθηγητής Βιολογικής Χημείας Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Νικόλαος Σοφικίτης

Καθηγητής Ουρολογίας Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Ιωάννης Γεωργίου

Αναπληρωτής Καθηγητής Γυναικολογίας –Μαιευτικής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Σταυρούλα Τσιάρα

Επίκουρος Καθηγήτρια Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Νικόλαος Χαλιάσος

Επίκουρος Καθηγητής Παιδιατρικής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

ΒΑΘΜΟΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ: Άριστα

Η Γραμματεία της Σχολής

Ευαγγελία Τσαγγαλά

Στην οικογένειά μου

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Τα Μυελοδυσπλαστικά σύνδρομα (ΜΔΣ) αποτελούν μία ομάδα κλωνικών διαταραχών του αρχέγονου αιμοποιητικού κυττάρου (stem cell) και χαρακτηρίζονται από διαταραχή της αιμοποιητικής διαφοροποίησης και ωρίμανσης. Εκδηλώνονται σαν περιφερικές κυτταροπενίες με δυσλειτουργικά στοιχεία αίματος, υπερπλαστικό μυελό και έχουν μεγάλη τάση εξέλιξης σε οξεία μυελοβλαστική λευχαιμία.

Οι οξείες λευχαιμίες (ΟΛ) αποτελούν μία ομάδα κακοηθών νόσων, οι οποίες προέρχονται είτε από το αρχέγονο μητρικό κύτταρο των λεμφοκυττάρων (οξεία λεμφοβλαστική λευχαιμία, ΟΛΛ), είτε από το μυελογενές κύτταρο (οξεία μυελογενής λευχαιμία, ΟΜΛ). Τα κύτταρα, που έχουν υποστεί εξαλλαγή, χαρακτηρίζονται από αυτόνομη αύξηση και αδυναμία διαφοροποίησης σε ώριμα κύτταρα με αποτέλεσμα την αύξηση των άωρων μορφών: λεμφοβλάστες στην ΟΛΛ και μυελοβλάστες στην ΟΜΛ.

Η χρόνια λεμφογενής λειτουργία (ΧΛΛ) παριστάνει μία υπερπλασία του λεμφικού συστήματος (λεμφοϋπερπλαστικό σύνδρομο) λόγω κακοήθους μονοκλωνικής αύξησης των ώριμων λευκοκυττάρων (πιο συχνά των Β) και άθροιση αυτών στο αίμα, στο μυελό των οστών, στους λεμφαδένες, στον σπλήνα, στο ήπαρ και σε άλλα όργανα.

Η χρόνια μυελογενής λευχαιμία (ΧΜΛ) είναι μυελοϋπερπλαστικό σύνδρομο με έκφραση κυρίως από την κοκκιώδη σειρά, οφειλόμενο σε επίκτητη ανωμαλία των πολυδύναμων αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων. Προέρχεται από ένα πολυδύναμο αιμοποιητικό κύτταρο, που αποκτά την αμοιβαία μετάθεση t (9;22) και που έχει σαν αποτέλεσμα έναν υβριδικό γόνο *bcr/abl*.

Η γλουταθειόνη θειο-τρανσφεράση ανήκει στην ομάδα ενζύμων μεταβολισμού φάσης II. Ο κύριος ρόλος τους είναι να καταλύουν τις συνδέσεις πολλών ηλεκτροφιλικών ενώσεων, συμπεριλαμβάνοντας καρκινογόνα και κυτταροτοξικά φάρμακα, παρέχοντας έτσι στο κύτταρο μηχανισμούς με τους οποίους προστατεύεται από βλαβερές επιδράσεις διάφορων ξενοβιοτικών και ενδογενών παραγόντων. Επιπρόσθετα, τα GSTs ενεργοποιούν τα καρκινικά κύτταρα και εκφράζονται σε αυξημένες ποσότητες στο προκαρκινικό και καρκινικό στάδιο και κατά συνέπεια η αύξηση αυτή σχετίζεται με την αυξανόμενη κακοήθεια και με την απόκτηση αντοχής στα αντικαρκινικά φάρμακα. Η σημαντικότητα των ενζύμων αυτών έγκειται στο ότι εκφράζονται σε όλες σχεδόν τις μορφές ζωής. Στους ανθρώπους, ο πολυμορφισμός των GST γονιδίων έχει συσχετισθεί νόσους, αν και πρόσφατες μελέτες δείχνουν ότι οι γονότυποι αυτοί τροποποιούν τον φαινότυπο της νόσου και έτσι συνδέονται με το κλινικό αποτέλεσμα.

Ο σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν να μελετηθεί η συσχέτιση των γονοτύπων της GST, GSTM1 και GSTT1 με ορισμένες κακοήθειες του αιμοποιητικού, όπως: τα ΜΔΣ, τις οξείες και τις χρόνιες λευχαιμίες. Επίσης, εξετάστηκε η επίδραση των γονοτύπων των συγκεκριμένων γονιδίων στην θεραπεία των ΜΔΣ με ανασυνδυασμένη ανθρώπινη ερυθροποιητίνη.

Η μελέτη χωρίζεται σε δύο μέρη, γενικό και ειδικό.

Στο γενικό μέρος περιγράφονται τα μυελοδυσπλαστικά σύνδρομα, οι οξείες λευχαιμίες (οξεία λεμφοβλαστική και οξεία μυελοβλαστική λευχαιμία) καθώς και οι χρόνιες λευχαιμίες (χρόνια λεμφοβλαστική και χρόνια μυελογενής λευχαιμία): ιστορική αναδρομή, ταξινόμηση, παθογένεση, κλινικές εκδηλώσεις, διάγνωση, κλινικές ποικιλίες, πρόγνωση, θεραπεία. Στη συνέχεια αναλύεται η γλουταθειόνη θείο-τρανσφεράση: ορισμός, ρόλος, σύνθεση, ομοιόσταση, πολυμορφισμός και η σχέση του ενζύμου με την αντοχή στα φάρμακα και την έκβαση της νόσου.

Στο ειδικό μέρος περιγράφονται ο σκοπός, το υλικό, οι μέθοδοι και τα αποτελέσματα της έρευνας. Ακολουθεί η συζήτηση των ευρημάτων και συσχετίσή τους με τα βιβλιογραφικά δεδομένα, τα συμπεράσματα, η περίληψη της εργασίας στην Ελληνική και Αγγλική γλώσσα, η βιβλιογραφία και οι δημοσιεύσεις.

Η εργασία αυτή πραγματοποιήθηκε στο Εργαστήριο Γενετικής της Μαιευτικής-Γυναικολογικής Κλινικής του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου των Ιωαννίνων.

Επιθυμώ να αναφερθώ σε όλους όσους μου παραστάθηκαν για την υπολοίψη αυτής της μελέτης.

Ιδιαίτερα υποβάλλω τις θερμές ευχαριστίες μου και τα ευγνώμονα αισθήματά μου στον Καθηγητή Παθολογίας-Αιματολογίας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, κ. Κωνσταντίνο Μπουραντά, κύριο επιβλέποντα της διατριβής μου, για την ανάθεση του ενδιαφέροντος αυτού θέματος, την συνεχή παρότρυνση και ενθάρρυνση για την συνέχιση και ολοκλήρωσή του, την λεπτομερή καθοδήγηση για την εκτέλεσή του, καθώς και για την κριτική ανάλυση των αποτελεσμάτων. Επίσης, τον ευχαριστώ θερμά για την ακαταπόνητη συνδρομή του κατά την διάρκεια της εκπαίδευσής μου και την συμβολή του στην επιστημονική μου κατάρτιση και σταδιοδρομία.

Αισθάνομαι την υποχρέωση να ευχαριστήσω θερμά τον Αναπληρωτή Καθηγητή Μαιευτικής-Γυναικολογίας κ. Ιωάννη Γεωργίου, μέλος της τριμελούς επιτροπής, ο οποίος διευθύνει το Εργαστήριο Γενετικής της Μαιευτικής-Γυναικολογικής Κλινικής του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου των Ιωαννίνων, στο οποίο και μου επέτρεψε να εργαστώ. Επίσης, τον ευχαριστώ θερμά που με καθοδήγησε στην οργάνωση και εφαρμογή του πειραματικού σκέλους της μελέτης αυτής, με δίδαξε την εργαστηριακή μεθοδολογία, καθώς επίσης για τις υποδείξεις του, όσον αφορά την ανάλυση των αποτελεσμάτων και τέλος για την διόρθωση του κειμένου.

Ευχαριστώ θερμά τον Αναπληρωτή Καθηγητή Παιδιατρικής κ. Ν. Χαλιάσο, μέλος της τριμελούς συμβουλευτικής επιτροπής για τις εύστοχες παρατηρήσεις του και την συμβολή του στην διδακτορική μου διατριβή.

Επιθυμώ επίσης να ευχαριστήσω ιδιαίτερα τα μέλη της Επταμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής: κ. Κ. Σεφεριάδη, Καθηγητή Βιολογικής Χημείας, την κα. Β. Μαλάμου-Μήτση, Καθηγήτρια Παθολογικής Ανατομίας, τον κ. Ν. Σοφικίτη, Καθηγητή Ουρολογίας και την κα. Σ. Τσιάρα, Επίκουρη Καθηγήτρια Παθολογίας για την άψογη συνεργασία και τις επικοινωνητικές παρατηρήσεις τους.

Επίσης, ευχαριστώ την κα. Ι. Μπούμπα, βιολόγο, η οποία με συμβούλευσε για την εκτέλεση του εργαστηριακού μέρους της μελέτης αυτής καθώς επίσης και την κα. Λ. Κεφαλά, παρασκευάστρια του αιματολογικού εργαστηρίου, η βοήθεια της οποίας ήταν πολύτιμη για την συλλογή του υλικού της μελέτης αυτής.

Θα ήθελα ακόμα να ευχαριστήσω την στατιστικό του ΠΠΓΝΙ κα. Α Κατσαράκη, η οποία ακούραστα μου προσέφερε ανεκτίμητη βοήθεια στην στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

I. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. ΜΥΕΛΟΔΥΣΠΛΑΣΤΙΚΑ ΣΥΝΔΡΟΜΑ

1.1. Ορισμός	3
1.2. Ιστορία του μυελοδυσπλαστικού συνδρόμου	4
1.3. Παθογένεση	5
1.4. Ταξινόμηση κατά FAB	6
1.4.1. Ανθεκτική αναιμία (RA)	6
1.4.2. Ανθεκτική αναιμία με δακτυλιοειδείς σιδηροβλάστες (RARS)	7
1.4.3. Ανθεκτική αναιμία με περίσσεια βλαστών (RAEB)	8
1.4.4. Χρόνια Μυελομονοκυτταρική Λευχαιμία (CMML)	8
1.4.5. Ανθεκτική αναιμία με περίσσεια βλαστών σε εξαλλαγή (RAEB-t)	10
1.5. Ταξινόμηση κατά WHO	10
1.6. Παθολογικές ποικιλίες	11
1.6.1. Δευτεροπαθή ΜΔΣ	11
1.6.2. ΟΜΛ με δυσπλασία τριών σειρών	12
1.6.3. Ιός ανοσοανεπάρκειας του ανθρώπου (HIV)-σχετιζόμενος με ΜΔΣ	12
1.6.4. ΜΔΣ με μυελοϊνωση	13
1.6.5. Υπολαστικό ΜΔΣ	14
1.6.6. Μυελοδυσπλαστικά/Μυελοϋπερπλαστικά σύνδρομα (ΜΥΣ)	14
1.7. Συμπτώματα και κλινικά ευρήματα	14
1.7.1. Δυσπλασία ερυθράς σειράς	16
1.7.2. Δυσπλασία κοκκιδώδους σειράς	18
1.7.3. Δυσπλασία μεγακαρυοκυτταρικής σειράς	18
1.7.4. Χαρακτηριστικά βλαστών στα ΜΔΣ	19
1.8. Παθογένεση μυελοδυσπλαστικού συνδρόμου	20
1.8.1. Μονοκλωνικότητα των ΜΔΣ	20
<i>Κυτταρογενετική</i>	20
<i>Αδρανοποίηση του Χ χρωμοσώματος στα ΜΔΣ</i>	22
<i>Άλλες μοριακές αλλοιώσεις</i>	22
1.8.2. Μυελική ανεπάρκεια στα ΜΔΣ	23
<i>Αιμοποιητικά προγονικά κύτταρα</i>	23
<i>Αιμοποιητικό μικροπεριβάλλον</i>	24

1.9. Διάγνωση	25
1.9.1. Οστεομυελική βιοψία	25
1.9.2. Καλλιέργειες Μυελού	27
1.9.3. Άλλα εργαστηριακά ευρήματα	27
1.10. Διαφορική Διάγνωση	28
1.11. Πρόγνωση	29
1.12. Θεραπεία	32
1.12.1. Υποστηρικτική αγωγή	33
1.12.2. Αιμοποιητικοί αυξητικοί παράγοντες	33
1.12.3. Διαφοροποιητικοί παράγοντες	36
1.12.4. Χαμηλής έντασης χημειοθεραπείας	39
1.12.5. Τροποποίηση των οδών μεταβίβασης του μνήματος απόπτωσης	40
1.12.6. Ανοσοτροποποιητικοί παράγοντες	40
1.12.7. Εντατική Θεραπεία	41
1.12.8. Μεταμόσχευση προγονικών κυττάρων	42
<i>Αλλογενής μεταμόσχευση προγονικών κυττάρων</i>	42
<i>Ενδείξεις για αλλογενή μεταμόσχευση</i>	43
<i>Αυτόλογη μεταμόσχευση</i>	44
2. ΟΞΕΙΕΣ ΛΕΥΧΑΙΜΙΕΣ	
2.1. Εισαγωγή	47
2.2. Ορισμός	47
2.3. Οξεία Λεμφοβλαστική Λευχαιμία	48
2.3.1. Γενικά	48
2.3.2. Υπομάδες νόσου	49
2.3.3. Ανοσοκυτταρολογία	50
2.3.4. Μορφολογικά, Κυτταροχημικά και Κυτταρογενετικά χαρακτηριστικά της ΟΛΛ	50
2.3.5. Ογκολογικοί δείκτες	50
2.3.6. Διαφορική Διάγνωση	51
2.3.7. Έλεγχος	52
2.3.8. Ανασκόπηση των στοιχείων για την αρχική πρόγνωση	52
2.3.9. Κακοί προγνωστικοί παράγοντες για την ΟΛΛ ενηλίκων	53
2.3.10. Θεραπεία	53
2.3.11. Εξέλιξη υπό θεραπεία	57
2.3.12. Επιπλοκές	57
2.3.13. Υποτροπές	58

2.4. Οξεία Μυελογενής (ή μη Λεμφοβλαστική) Λευχαιμία	59
2.4.1. Γενικά	59
2.4.2. Παθογένεια	59
2.4.3. Κλινική Συμπτωματολογία	60
2.4.4. Κυτταρική ταξινόμηση κατά FAB	61
2.4.5. Πρόγνωση	63
2.4.6. Θεραπεία	64
3. ΧΡΟΝΙΕΣ ΛΕΥΧΑΙΜΙΕΣ	
3.1 Χρόνια λεμφογενής λευχαιμία	69
3.1.1 Γενικά	69
3.1.2. Παθογένεση	69
3.1.3. Κλινική εικόνα	69
3.1.4. Έλεγχος	70
3.1.5. Διάγνωση	72
3.1.6. Διαφορική Διάγνωση	73
3.1.7. Πρόγνωση	73
3.1.8. Παράγοντες που συνοδεύονται με χειρότερη πρόγνωση της ΧΛΛ	74
3.1.9. Θεραπεία	76
3.2. Χρόνια μυελογενής λευχαιμία	77
3.2.1 Γενικά	77
3.2.2. Παθογένεση	78
3.2.3. Κλινική εικόνα	78
3.2.4. Κλινικές μορφές	78
3.2.5. Παραλλαγές	79
3.2.6. Ταξινόμηση	79
3.2.7. Διάγνωση	80
3.2.8. Εξέλιξη	81
4. ENZYMA ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΥ	
4.1. Γενικά	83
4.2 Κυτόχρωμα P450 (CYP)	83
4.3. N-ακετυλοτρανσφεράση (NAT)	84
4.4 Θειοπουρίνη S-μεθυλτρανσφεράση (TPMT)	85
4.5. Γλουταθειόνη θειο-τρανσφεράση (GSTs)	85
4.5.1. Ορισμός	85
4.5.2. Πολυμορφισμός στα γονίδια	87

4.5.3. Σύνθεση-ομοιόσταση της γλουταθειόνης	89
4.5.4. Πολυμορφισμοί GST και ευαισθησία στην ανάπτυξη της νόσου	91
4.5.5. Γονότυποι και έκβαση ασθενειών	91
4.5.6. Σχέση της GST με το φαινόμενο MDR	92

II. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. ΣΚΟΠΟΣ	97
2. ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	99
2.1. Ασθενείς	99
2.2. Μέθοδοι	106
2.2.1 Εξαγωγή DNA	106
2.2.2 Μίγμα αντίδρασης PCR	106
2.2.3 Πολλαπλό (multiplex) PCR	107
2.2.4 Ηλεκτροφόρηση	108
2.3. Σχήμα Θεραπείας	109
2.4. Στατιστική ανάλυση	109
3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	
3.1. Αποτελέσματα της συσχέτισης των γονοτύπων της GST στους ΜΔΣ ασθενείς	111
3.2. Αποτελέσματα της συσχέτισης των γονοτύπων της GST με την ανταπόκριση των ΜΔΣ ασθενών στην θεραπεία με rhuEpo	115
3.3. Αποτελέσματα της συσχέτισης των γονοτύπων της GST στους ασθενείς με ΟΜΛ	118
3.4. Αποτελέσματα της συσχέτισης των γονοτύπων της GST στους ασθενείς με ΟΛΛ	119
3.5. Αποτελέσματα της συσχέτισης των γονοτύπων της GST στους ασθενείς με ΧΜΛ	119
3.6. Αποτελέσματα της συσχέτισης των γονοτύπων της GST στους ασθενείς με ΧΛΛ	120
ΣΥΖΗΤΗΣΗ	123
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	131
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	133
SUMMARY	139
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	145
ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ	170

I. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

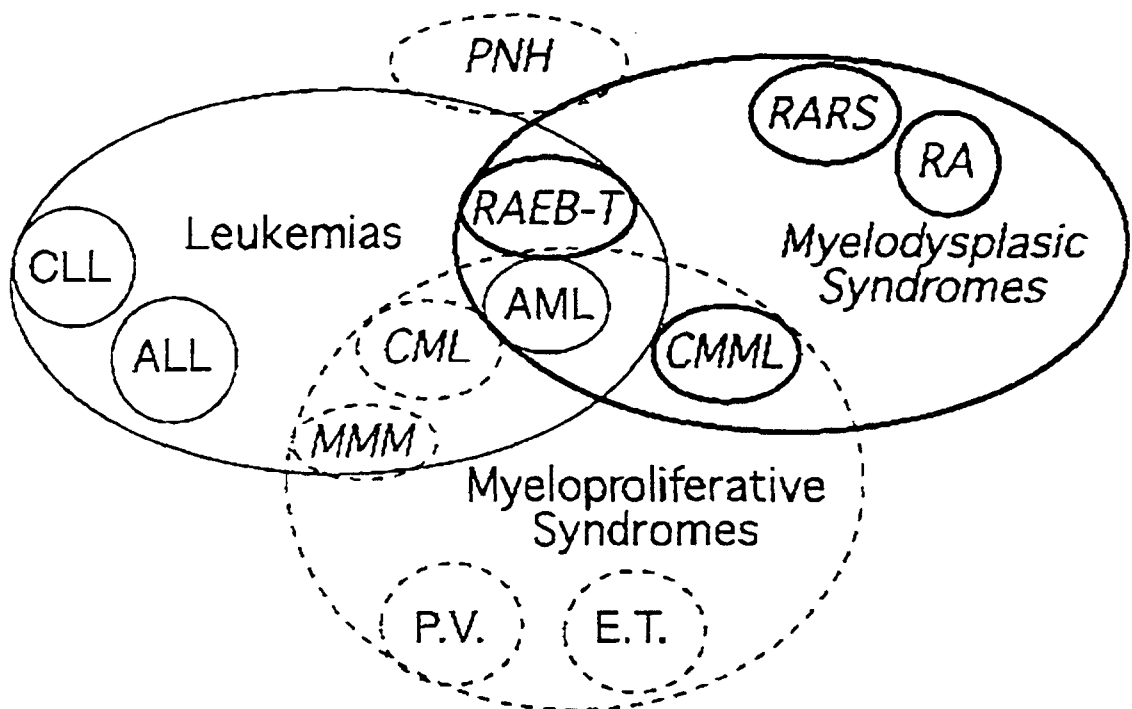
1. ΜΥΕΛΟΔΥΣΠΛΑΣΤΙΚΑ ΣΥΝΔΡΟΜΑ

1.1. Ορισμός

Μυελοδυσπλαστικά σύνδρομα καλούμε μια ομάδα παθήσεων που χαρακτηρίζονται από κυτταροπενία στο περιφερικό αίμα σε συνδυασμό με έναν υπερκυτταρικό ή υποκυτταρικό μυελό των οστών. Τόσο το περιφερικό αίμα όσο και ο μυελός των οστών παρουσιάζουν δυσπλαστικές αλλοιώσεις.^{1,2,3} Το μυελοδυσπλαστικό σύνδρομο (ΜΔΣ), παρόλο την κατάληξη-δυσπλαστικό, είναι μία κλωνική διαταραχή του αρχέγονου αιμοποιητικού κυττάρου που συσχετίζεται και με άλλες κλωνικές διαταραχές του μυελού των οστών, όπως η οξεία λευχαιμία και τα μυελοϋπερπλαστικά νοσήματα (εικόνα 1). Οι κλωνικές αυτές διαταραχές χαρακτηρίζονται αρχικά από ανεπαρκή αιμοποίηση και ακολούθως από την συχνή ανάπτυξη οξείας λευχαιμίας (ΟΛ). Το 1982, η Γαλλική-Αμερικανική-Βρετανική (French-American-British: FAB) ομάδα συνεργατών ταξινόμησε τα ΜΔΣ σε πέντε ομάδες: ανθεκτική αναιμία (refractory anemia:RA), RA με αύξηση βλαστών (refractory anemia with excess blasts:RAEB), RA με σιδηροβλάστες (refractory anemia with excess blasts:RARS), RA με αύξηση βλαστών σε εξαλλαγή (refractory anemia with excess blasts in transformation: RAEB-t), και χρόνια μυελομονοκυτταρική λευχαιμία (chronic myelomonocytic leukemia:CMML)⁴ (Πίνακας 2). Πρόσφατα, η Παγκόσμια Οργάνωση Υγείας (World Health Organization, WHO), σε συνεργασία με την οργάνωση των Αιματοπαθολόγων και την Ευρωπαϊκή Ένωση των Αιματοπαθολόγων δημοσίευσε μία καινούργια ταξινόμηση για τα αιμοποιητικά και τα λεμφικά νεοπλασμάτα.⁵ Η πιο σημαντική διαφορά μεταξύ της WHO και FAB ταξινόμησης είναι η μείωση του ορίου των βλαστών για την διάγνωση της οξείας μυελογενούς λευχαιμίας από 30% σε 20% στο αίμα ή στον μυελό των οστών με αποτέλεσμα η υποομάδα RAEBt κατά FAB να απουσιάζει από την ταξινόμηση της WHO. Επίσης, η κατά WHO ταξινόμηση επαναπροσδιορίζει τις υποομάδες RA και RARS και εισάγει μία καινούργια κατηγορία την RCMD: refractory cytopenia with multilineage dysplasia. Επιπλέον, ορίζονται δύο υπότυποι της RAEB, η RAEB-1 με 5%-9% βλάστες στον μυελό και η RAEB-2 με 10%-19% μυελικούς βλάστες και το 5q-σύνδρομο αναγνωρίζεται σαν μία ξεχωριστή οντότητα. Τέλος, λόγω των αντιφατικών απόψεων για την CMML, αν είναι μυελοδυσπλαστική ή μυελοϋπερπλαστική νόσος, εντάχθηκε σε μία καινούργια ομάδα νόσων την ΜΔΣ/ΜΥΣ (myelodysplastic syndrome/myeloproliferative syndrome, MDS/MPD). Συμπερασματικά, τα ΜΔΣ κατά WHO ταξινομούνται ως εξής: ανθεκτική αναιμία (refractory anemia, RA), ανθεκτική αναιμία με δακτυλιοειδείς σιδηροβλάστες (refractory anemia with ringed sideroblasts, RARS), ανθεκτική κυτταροπενία με δυσπλασία πολλών σειρών (refractory cytopenia with multilineage dysplasia, RCMD), ανθεκτική κυτταροπενία με δυσπλασία πολλών σειρών και δακτυλιοειδείς σιδηροβλάστες (refractory cytopenia with multilineage dysplasia with ringed sideroblasts, RCMD-RS), ανθεκτική κυτταροπενία με περίσσεια βλαστών-1 (refractory anemia with excess blasts-1, RAEB-1),

ανθεκτική κυτταροπενία με περίσσεια βλαστών-2 (refractory anemia with excess blasts-2, RAEB-2), αταξινόμητο μυελοδυσπλαστικό σύνδρομο (myelodysplastic syndrome, unclassified, MDS-U) και μυελοδυσπλαστικό σύνδρομο, σχετιζόμενο με μεμονωμένη del 5q (MDS associated with isolated del 5q) (Πίνακας 3). Το ΜΔΣ εμφανίζεται κυρίως στον μεγαλύτερο ηλικιακά πληθυσμό, με μία μέση ηλικία μεταξύ 60 και 75 ετών.^{6,7} Εκδηλώνεται σχεδόν σ'έναν ανάμεσα σε 500 ασθενείς ηλικίας άνω των 60 χρόνων.⁷ Παρόλο την επικράτηση του ΜΔΣ στους ηλικιωμένους ασθενείς, έχει και περιστασιακά αναφερθεί σε νεότερα άτομα, ακόμα και σε παιδιά.^{8,9} Η κατανομή του συνδρόμου κατά φύλο ποικίλει, αν και πρώιμες μελέτες έχουν δείξει μία σχετική υπεροχή στους άνδρες. Εξαιρείται η CMML, η οποία έχει μία σαφή υπεροχή στους άνδρες.¹⁰

Εικόνα 1: Κλωνικές διαταραχές του μυελού των οστών



1.2. Η ιστορία του μυελοδυσπλαστικού συνδρόμου

Στην ιστορία της ιατρικής¹¹ υπάρχουν πολλοί περιγραφικοί όροι για το ΜΔΣ, πριν αυτό πάρει την επίσημη ονομασία του: πρόδρομη λευχαιμία, ανθεκτική αναιμία, προλευχαιμική αναιμία, προλευχαιμικό σύνδρομο, ανθεκτική αναιμία με αύξηση βλαστών, αρχική φάση οξείας λευχαιμίας, χρόνια ερυθματώδης μύελωση, υποξεία μυελομονοκυτταρική λευχαιμία, υποπλαστική οξεία μυελογενής λευχαιμία, αιμοποιητική δυσπλασία, υποξεία μυελογενής λευχαιμία. Το 1949, οι Hamilton-Patterson¹² περιέγραψαν τρεις ασθενείς με οξεία λευχαιμία, της οποίας προηγήθηκε μία αναιμική φάση (“προλευχαιμική αναιμία”). Την παρατήρηση αυτή ακολούθησε το 1953 μία έρευνα από τον Block και συν.¹¹, ο οποίος περιέγραψε μία μεγαλύτερη ομάδα 12 ασθενών με κυτταροπενία,

από τους οποίους οι 11 ανέπτυξαν οξεία λευχαιμία. Το 1975, με βάση τις αρχικές προτάσεις για την σταδιοποίηση των οξείων λευχαιμιών,¹³⁻¹⁵ η Γαλλική-Αμερικανική-Βρετανική (FAB) ομάδα διαπίστωσε ότι όλοι οι ασθενείς με κυτταροπενία και δυσπλαστικές αλλοιώσεις στο περιφερικό αίμα και στο μυελό των οστών δεν αναπτύσσουν οξεία λευχαιμία. Έγινε διάκριση μεταξύ της οξείας λευχαιμίας με την ταχεία έναρξη των σημείων και συμπτωμάτων και μιας ομάδας διαταραχών με χαρακτηριστικά οξείας μυελογενούς λευχαιμίας (ΟΜΛ), που ήταν όμως υποξεία ή χρόνια. Η ομάδα FAB, για αυτή την ομάδα διαταραχών, επέλεξε τον όρο δυσμυελοποιητικά ή μυελοδυσπλαστικά σύνδρομα, τα οποία αντίθετα με την ΟΜΛ, σπάνια χρειάστηκαν θεραπεία και οι ασθενείς αυτοί ήταν 60 χρονών ή μεγαλύτεροι. Αρχικά η ομάδα FAB αναγνώρισε δύο κατηγορίες ΜΔΣ: RAEB και CMML. Ερευνητές έδειξαν ότι αυτά τα περιστατικά εξελίχθηκαν σε οξεία λευχαιμία με αύξηση των βλαστών >30%. Το 1980, ένας μεγαλύτερος αριθμός περιστατικών εξετάστηκε με σκοπό να μελετηθούν αν μία ή περισσότερες μορφολογικές αλλοιώσεις προβλέπουν κάποια διαφορετική έκβαση. Η μελέτη αυτή οδήγησε στον διαχωρισμό των ΜΔΣ σε πέντε υποομάδες που χαρακτηρίζονται από συγκεκριμένες δυσπλαστικές αλλοιώσεις που περιγράφονται αναλυτικά στο κεφάλαιο της ταξινόμησης.

1.3. Παθογένεση

Το ΜΔΣ διακρίνεται σε πρωτοπαθές και δευτεροπαθές. Το δευτεροπαθές ΜΔΣ (αλλαγές στην αιματοποίηση μετά από ακτινοβολία, χημειοθεραπεία, ως θεραπεία κακοηθειών, ή χημική έκθεση) διαφέρει από το πρωτοπαθές de novo ΜΔΣ.¹⁴ Ιδιαίτερα, οι αλκυλιωτικοί παράγοντες με ή χωρίς συνδυασμένη ακτινοβολία ενοχοποιούνται για το δευτεροπαθές ΜΔΣ, το οποίο συνήθως αναπτύσσεται 4-6 χρόνια μετά από την θεραπεία μιας προηγούμενης κακοήθειας,¹⁴ π.χ. νόσος του Hodgkin και πολλαπλούν μυέλωμα. Οι βασικοί μηχανισμοί για την ανεπαρκή αιμοποίηση στο πρωτοπαθές ΜΔΣ δεν έχουν ακόμη διευκρινιστεί, αν και έχει βρεθεί μία πρόιμη απόπτωση των κυττάρων του μυελού των οστών. Μελέτες, που έχουν γίνει με την χρήση ισοενζύμων ή πολυμορφισμούς περιοριστικών ενζύμων, έχουν δείξει ότι τα ΜΔΣ είναι κακοήθεις ή προ-κακοήθεις κλωνικές νόσοι του αρχέγονου πολυδύναμου κυττάρου, οι οποίες χαρακτηρίζονται από ανεπαρκή ωρίμανση και σε προχωρημένα στάδια από ανεξέλεγκτο πολλαπλασιασμό.¹⁵ Επιπλέον, έρευνες έχουν δείξει ότι ασθενείς με υποπλαστικό μυελό, που προκλήθηκε από έλλειψη χρωμοσώματος, μπορεί να εμφανίσουν νόσο που αφορά το μυελογενές και το λεμφοειδές μητρικό κύτταρο. Στο πρωτοπαθές ΜΔΣ παρατηρούνται τόσο δομικές όσο και αριθμητικές κυτταρογενετικές αλλαγές (Πίνακας 1).¹⁶ Οι περισσότερες χρωμοσωμιακές διαταραχές στο ΜΔΣ αφορούν κυρίως τα χρωμοσώματα 5, 7, 8, 11, 12, και 20. Στο δευτεροπαθές ΜΔΣ, η επίπτωση των χρωμοσωμιακών αλλαγών που παρατηρούνται είναι υψηλότερη και πιο σύνθετη, και αφορούν κυρίως τα χρωμοσώματα 5 και 7.¹⁷ Η παθογένεση των ΜΔΣ αναλύεται εκτενέστερα παρακάτω.

Πίνακας 1: Συχνότητα των χρωμοσωμικών διαταραχών στο πρωτοπαθές ΜΔΣ

Χρωμοσωμική απώλεια ή προσθήκη (%)	Χρωμοσωμικές μεταθέσεις (%)	Χρωμοσωμικές ελλείψεις (%)
-7 (15)	t(1;3) (1)	del5q (27)
+8 (19)	t(1;7) (2)	del17q (4)
	t(3;3) (1)	del11q (7)
	t(6;9) (<1)	del12q (5)
		del13q (2)
		del20q (5)

1.4. Η ταξινόμηση των ΜΔΣ κατά FAB

Η κατά FAB ταξινόμηση των ΜΔΣ στηρίζεται στις μορφολογικές διαταραχές των κυττάρων και στην αρίθμηση των βλαστών του περιφερικού αίματος και του μυελού των οστών. Συνήθως η υποψία για την ύπαρξη ΜΔΣ τίθεται όταν παρατηρηθούν στο αίμα ή στον μυελό μορφολογικές αλλοιώσεις που αφορούν μία ή περισσότερες σειρές.

1.4.1. Ανθεκτική κυτταροπενία (αναιμία) χωρίς αύξηση των δακτυλιοειδών σιδηροβλαστών (RA)

Από τους ασθενείς με ΜΔΣ, 20% ταξινομούνται στην κατηγορία της ανθεκτικής αναιμίας, αν και η αναλογία αυτή ποικίλει σημαντικά μεταξύ των διαφόρων σειρών.¹⁸ Συνήθως προσέρχονται με συμπτώματα αναιμίας ή η διάγνωση είναι τυχαίο εύρημα και ελάχιστοι έχουν σπληνομεγαλία ή ηπατομεγαλία. Κλινικά, το σημείο έναρξης, για να συμπεριληφθούν οι ασθενείς σε αυτήν την υποομάδα των ΜΔΣ, είναι η αναιμία (Hb<11 gr/dl) με σχετική ελάττωση του αριθμού των δικτυοερυθροκυττάρων, αν και έχει αναφερθεί δικτυοερυθροκυττάρωση σε ποσοστό 30% στα πλαίσια επιβραδυνόμενης ωρίμανσης.¹⁹ Ο όρος ανθεκτική κυτταροπενία χρησιμοποιείται ως πιο δόκιμος και κλινικά εφαρμόσιμος όρος από την ανθεκτική αναιμία (RA), καθώς η αναιμία της νόσου συχνά συνοδεύεται από θρομβοπενία και/ ή ουδετεροπενία (συνήθως, $140 \times 10^9/L$ και/ή $<4.0 \times 10^9/L$ αντίστοιχα).²⁰ Επίσης, σε ορισμένες περιπτώσεις έχει παρατηρηθεί μεμονωμένα ουδετεροπενία ή θρομβοπενία χωρίς αναιμία. Θρομβοκυττάρωση παρατηρείται μερικές φορές, ειδικά σε ασθενείς με 5q- σύνδρομο. Στην υποομάδα αυτή των ΜΔΣ: οι βλάστες είναι <1% στο περιφερικό αίμα και <5% στον μυελό των οστών, τα μονοκύτταρα στο περιφερικό αίμα είναι $<1 \times 10^9/L$ και οι δακτυλιοειδείς σιδηροβλάστες <15%. (Πίνακας 2) Ο μυελός των οστών είναι τυπικά υπερκυτταρικός με μέτρια ή σημαντική δυσερυθροποίηση μεμονωμένα ή συνοδευόμενη από διαταραγμένη διαφοροποίηση των κοκκιοκυττάρων/ μεγακαρυοκυττάρων. Η πορεία της νόσου ποικίλει, αν και μαζί με την RARS έχει την καλύτερη πρόγνωση. Η μέση επιβίωση μετά την διάγνωση είναι περίπου 2,5 χρόνια και 30% των θανάτων οφείλεται στις λοιμώξεις. Λευχαιμική μετατροπή παρατηρείται στο 15% των ασθενών.

Πίνακας 2: Μορφολογικά χαρακτηριστικά των ΜΔΣ σύμφωνα με την ταξινόμησή τους κατά FAB

FAB υπότυπος	Συχνότητα (%)	Ευρήματα από τον μυελό		Ευρήματα από το αίμα		Βαθμός αιμοποίηση σης
		Βλάστες	Δακτυλιοειδείς σιδηροβλάστες	Βλάστες	Μονοκό- τταρα	
RA	35	<5	<15	≤1	σπάνια	+
RARS	20	<5	≥15	≤1	σπάνια	+
RAEB	20	≥5>20	ποικίλει	<5	>1X10 ⁹ /L	++
CMML	15	1-20	ποικίλει	<5	σπάνια	++
RAEBt	15	21-30	ποικίλει	≤5	± >1X10 ⁹ /L	++

1.4.2. Ανθεκτική αναιμία με δακτυλιοειδείς σιδηροβλάστες (RARS)

Αποτελεί το 15% των ασθενών με ΜΔΣ. Οι ασθενείς εμφανίζονται με συμπτώματα αναιμίας ή η διάγνωση είναι τυχαία. Ο σίδηρος ορού είναι αυξημένος, με αυξημένο κορεσμό τρανσφερρίνης και πολύ αυξημένη φερριτίνη. Τα μορφολογικά χαρακτηριστικά που περιγράφηκαν στον τύπο RA είναι παρόμοια και σ' αυτή την υποομάδα, εκτός από την ύπαρξη των σιδηροβλαστών σε ποσοστό >15%. Πρέπει να τονισθεί η ανάγκη για την επαρκή αναρρόφηση του μυελού των οστών, καθώς η χρώση του σιδήρου από την βιοψία του οστικού κυλίνδρου μπορεί να είναι ψευδώς αρνητική επειδή ο σίδηρος καταστρέφεται κατά την διαδικασία αφαλάτωσης.²¹ Εδώ παρατηρείται, σε σχέση με την RA, μικρότερη διαταραχή των κακκιοκυττάρων και των μεγακαρυοκυττάρων. Επίσης, στο περιφερικό αίμα εμφανίζεται ένας διμορφικός πληθυσμός των ερυθρών αιμοσφαιρίων που αποδίδεται στην ανεπαρκή ερυθροποίηση της κλωνικής σειράς των ερυθρών. Το ποσοστό των βλαστών στον μυελό των οστών πρέπει να είναι μικρότερο από 5%. Όταν το ποσοστό των δακτυλιοειδών σιδηροβλαστών είναι μεγαλύτερο από 15% αλλά με βλάστες περισσότερο από 5% ή με μονοκύτωση, τότε ταξινομούνται στις υπόλοιπες υποομάδες. Οι ασθενείς αυτοί έχουν χειρότερη πρόγνωση, όσον αφορά την συνολική τους επιβίωση και την μετάπτωσή τους σε λευχαιμία.²² Η ανθεκτική αναιμία με δακτυλιοειδείς σιδηροβλάστες εξελίσσεται αργά στην αρχή, για να φτάσει μετά από μερικά χρόνια σε ένα στάδιο αναιμίας εξαρτώμενης από μεταγγίσεις στο 40% των ασθενών. Λευχαιμική μετατροπή παρατηρείται σε ποσοστό μόνο 5%. Η μέση επιβίωση μετά την διάγνωση είναι 4 χρόνια,²³ και πολλοί ασθενείς, οι οποίοι συνήθως ανακαλύπτονται τυχαία σε έλεγχο ρουτίνας, έχουν μια παρατεταμένη υποκλινική πορεία για αρκετά χρόνια.

1.4.3. Ανθεκτική αναιμία με περίσσεια βλαστών (RAEB)

Είναι ο συχνότερος υπότυπος των ΜΔΣ και αποτελεί το 40-50% όλων των νέων περιπτώσεων.²⁴ Οι ασθενείς προσέρχονται με συμπτώματα αναιμίας, λοίμωξης, ή αιμορραγικών εκδηλώσεων. Το χαρακτηριστικό εύρημα αυτού του υποτύπου είναι η αύξηση του μυελού των βλαστών $\geq 5\%$ αλλά $\leq 20\%$ με τους περιφερικούς βλάστες $< 5\%$. Και οι τρεις αιματολογικές σειρές εμφανίζουν δυσπλαστικές αλλοιώσεις. Η αναιμία είναι μακροκυτταρική και συχνά δίμορφη. Ουδετεροπενία παρατηρείται στους μισούς ασθενείς και συνοδεύεται από δυσπλασίες των πολυμορφοπύρηνων. Στους μισούς περίπου ασθενείς παρατηρούνται θρομβοπενία, γιγαντιαία αιμοπετάλια και μικρομεγακαρουκύτταρα και η συνύπαρξή τους με ουδετεροπενία αποτελεί κακό προγνωστικό δείκτη. Σε σύγκριση με τους δύο άλλους υπότυπους που ήδη αναφέρθηκαν, οι ασθενείς με RAEB έχουν μεγαλύτερη πιθανότητα (40%) να μεταπέσουν σε οξεία λευχαιμία από τους ασθενείς με RA και RARS. Ιδιαίτερα, αν συμπεριλαμβάνονται οι βλάστες τύπου III, μπορούν να αλλάξουν την διάγνωση από RAEB σε RAEBt.²⁵

1.4.4. Χρόνια μυελομονοκυτταρική λευχαιμία (CMML)

Είναι η λιγότερο συχνή από όλα τα ΜΔΣ και αποτελεί το 10% του συνόλου των περιστατικών. Οι ασθενείς προσέρχονται με τα συμπτώματα της αναιμίας ή με την κλινική εικόνα της λευχαιμίας ή και τα δύο. Το διαφορετικό χαρακτηριστικό, αυτού του υποτύπου σε σχέση με τους άλλους, είναι η εύρεση στο περιφερικό αίμα του απόλυτου αριθμού των μονοκυττάρων $>1 \times 10^9/L$. Αντιθέτως, παρόμοια με τους άλλους υπότυπους, αυτή η ομάδα των ασθενών έχει κοινά μορφολογικά χαρακτηριστικά, όσο αναφορά τις δυσπλαστικές αλλοιώσεις και στις τρεις αιμοποιητικές σειρές καθώς επίσης και στις μη-τυχαίες χρωμοσωμικές ανωμαλίες. Ο βαθμός της δυσπλασίας των τριών αιμοποιητικών σειρών μπορεί να είναι ποικίλη και φαίνεται να είναι λιγότερο σοβαρός όσο μεγαλύτερος είναι ο αριθμός των ουδετερόφιλων και των μονοκυττάρων στο περιφερικό αίμα.²⁶ Συχνά, υπάρχει μια αύξηση του αριθμού των ώριμων κοκκιοκυττάρων και ο μυελός μπορεί να έχει μία στροφή προς τα αριστερά, με βλάστες από 5% έως 20%, που περιστασιακά να θυμίζουν RAEB. Συνήθως όμως, το ποσοστό του μυελού των βλαστών είναι $< 5\%$. Τα μονοκύτταρα μπορούν να παρουσιάζουν αρκετά δυσπλαστικά χαρακτηριστικά, όπως: πολυκατάτμητο ή ανώμαλου σχήματος πυρήνα ή με χαρακτήρες αωρότητας. Επίσης, σημαντική δυσπλασία μπορεί να οδηγήσει στον εσφαλμένο χαρακτηρισμό αυτών των κυττάρων ως βλάστες.²³ Τα περισσότερα ανώριμα μονοκύτταρα-προμονοκύτταρα είναι κυρίως εμφανή στο περιφερικό αίμα από τον μυελό.²⁷ Σε αντίθεση με τους άλλους υπότυπους του ΜΔΣ κατά FAB, η CMML έχει ορισμένα βασικά κλινικά χαρακτηριστικά που την διακρίνει από τους άλλους υπότυπους. Η αναιμία είναι λιγότερο συχνή σε σχέση με την RA και την RARS, ενώ η ηπατομεγαλία και σπληνομεγαλία είναι πολύ συχνότερες σε σχέση με τα άλλα ΜΔΣ. Μερικοί ασθενείς εμφανίζουν πλευριτική, περιτοναϊκή ή και περικαρδιακή

συλλογή, λεμφαδενοπάθεια ή δερματικές εκδηλώσεις.²⁸ Σπάνια παρατηρείται υπερτροφία των ούλων. Υπάρχει αυξημένη επίπτωση ορισμένων ανοσολογικών αλλοιώσεων, που ποικίλλουν από ρευματική πολυμυαλγία έως δερματική αγγειίτιδα.¹⁴ Η συγκέντρωση ανοσοσφαιρινών του ορού είναι αυξημένη στο ένα τρίτο των ασθενών και 5-10% έχουν μονοκλωνική παραπρωτεΐνη. Αυτά τα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά οδήγησαν στην θεώρηση της CMML ως ξεχωριστή οντότητα από τα άλλα ΜΔΣ.²⁹ Η πτωχή προγνωστική πορεία της CMML μαρτυράται από ένα μεγάλο εύρος επιβίωσης από 11 έως και πάνω από 60 μήνες σε 175 ασθενείς που συλλέχθηκαν από 11 μελέτες.³⁰ Αυτή η μεγάλη διακύμανση περιορίζεται σε ένα βαθμό, συσχετίζοντας την πρόγνωση με την περίσσεια των βλαστών (>5%) και τα περιφερικά μονοκύτταρα ($>3 \times 10^9 / L$ σε απόλυτο αριθμό).^{31,32} Γενικά, εάν ο αριθμός των βλαστών είναι <5%, η επιβίωση είναι παρόμοια με την RA και την RARS (50 μήνες), ενώ αν οι βλάστες στον μυελό των οστών είναι >5% (αλλά <20%), η επιβίωση είναι παρόμοια με την RAEB(11 μήνες).^{25,32} Σε μία μελέτη των Worsley και συν., η επιβίωση ήταν επίσης παρόμοια με την RAEB με τον απόλυτο αριθμό των μονοκυττάρων στο περιφερικό αίμα να υπερβαίνει τα $2.6 \times 10^9 / L$.³³ Γενικά, οι ασθενείς με CMML διαδραματίζουν μία χρόνια πορεία και έχουν πιθανότητα εκτροπής προς λευχαιμία 14%.^{1,34} Ένα άλλο ιδιαίτερο χαρακτηριστικό της CMML, που δυσκολεύει την σαφή διάκρισή της από τα χρόνια μυελοϋπερπλαστικά σύνδρομα, είναι η παρόμοια κλινική εικόνα που παρουσιάζουν: ηπατοσπληνομεγαλία, λευκοκυττάρωση, και περιστασιακά ίνωση του μυελού.³⁵ Επιπλέον, ασθενείς με χρόνια μυελογενής λευχαιμία (ΧΜΛ) μπορούν να έχουν μονοκυττάρωση ($>1 \times 10^9 / L$). Οι ασθενείς, όμως της ΧΜΛ, γενικά χαρακτηρίζονται από μικρότερη δυσπλασία, περισσότερα ανώριμα λευκοκύτταρα, και ένα υψηλότερο βαθμό λευκοκυττάρων.³⁶ Είναι φανερό, ότι η δυσκολία αρχίζει από εκείνα τα περιστατικά που έχουν έλλειψη του χρωμοσώματος Philadelphia. Αυτά μπορούν να ταξινομηθούν με βάση αν έχουν αλλαγή στην περιοχή m-bcr. Οι m-bcr θετικοί ασθενείς (m-bcr+) μοιάζουν με τους ασθενείς που έχουν θετικό το χρωμόσωμα Philadelphia (Ph+), ενώ ανήκουν ουσιαστικά στην ίδια νόσο. Οι m-bcr αρνητικοί ασθενείς (m-bcr-) έχουν μικρότερη λευκοκυττάρωση, βασεοφιλία, και ανώριμα μυελικά πρόδρομα κύτταρα στο περιφερικό αίμα από τους ασθενείς με ΧΜΛ Ph +/- m-bcr + ή Ph- / m-bcr +. Μέσα σε αυτή την ομάδα των ασθενών με Ph- / m-bcr - μπορεί να γίνει διάκριση από εκείνους, που σύμφωνα με τα κριτήρια κατά FAB, κατατάσσονται στην CMML και από εκείνους με ένα υψηλότερο ποσοστό ανώριμων κοκκιοκυττάρων στο περιφερικό αίμα (10-20% συγκρινόμενο με $\leq 10\%$) και υψηλότερο αριθμό λευκών αιμοσφαιρίων (συνήθως $>13 \times 10^9 / L$). Εν τούτοις, οι περιπτώσεις αυτές συγκαταλέγονται στην CMML, διότι έχουν παρόμοιες χρωμοσωμικές ανωμαλίες με την CMML. Αυτές οι περιπτώσεις, ατύπως, έχουν οριστεί ως ΧΜΛ.³⁷ Η ομάδα FAB έχει πρόσφατα ορίσει την διάκριση μεταξύ ΧΜΛ, μη-τυπική ΧΜΛ (aCML=atypical CML), και CMML με βάση πέντε προγνωστικούς παράγοντες: το ποσοστό των βασεόφιλων, το ποσοστό των ανώριμων κοκκιοκυττάρων, το ποσοστό των πρόδρομων μορφών της ερυθράς σειράς στο μυελό των οστών και τον βαθμό της δυσπλασίας των κοκκιοκυττάρων (Πίνακας 3).³⁸ Γενικότερα, η αυξημένη

βασεοφιλία στο περιφερικό αίμα (>2%) και τα ανώριμα κοκκιοκύτταρα (>20%) είναι τα διακριτά χαρακτηριστικά της CML, ενώ τα μονοκύτταρα στο περιφερικό αίμα (>20%) και ο αυξημένος αριθμός των πρόδρομων μορφών της ερυθράς σειράς στο μυελό των οστών είναι τα διακριτά χαρακτηριστικά της CMML. Πρόσφατα, περιπτώσεις με 10% έως 20% ανώριμα κοκκιοκύτταρα στο περιφερικό αίμα και 2+ δυσπλασία κοκκιοκυττάρων ταξινομούνται ως ΧΜΛ.³⁸

1.4.5. Ανθεκτική αναιμία με περίσσεια βλαστών σε εξαλλαγή (RAEB-t)

Ο υπότυπος αυτός έχει τα παρακάτω χαρακτηριστικά: (1) το ποσοστό των βλαστών του μυελού των οστών είναι 21%- 30% και/ ή (2) οι βλάστες του περιφερικού αίματος είναι \geq 5% (με ή χωρίς τους βλάστες του μυελού των οστών να είναι $> 21\% -30\%$) και/ ή (3) οι αρχέγονες μορφές των κοκκιοκυττάρων με ραβδία του Auer, ακόμα και αν οι βλάστες του μυελού των οστών είναι $<20\%$. Η τελευταία περίπτωση περιγράφηκε πρώτα από τους Weisdorf και συν.³⁹ Οι περιπτώσεις αυτές συμπεριλήφθηκαν στην RAEB-t, διότι δεν συσχετίστηκαν άμεσα με μετάπτωση σε ΟΜΛ. Επίσης, μία μελέτη από τους Scoazec και συν.⁴⁰ υποστήριξε τη ίδια πρόταση. Εντούτοις, η ένταξη αυτών των περιπτώσεων στην RAEB-t έχει πρόσφατα αμφισβητηθεί,⁴¹ διότι από μία μελέτη του MD Anderson φάνηκε ότι, ασθενείς που είχαν ταξινομηθεί ως RAEB-t με βάση μόνο την ύπαρξη των δακτυλίων Auer (n=29), είχαν μέση επιβίωση 41 εβδομάδες περισσότερο από τους άλλους RAEB-t ασθενείς.⁴² Όλα τα χαρακτηριστικά που περιγράφηκαν στα άλλα ΜΔΣ μπορούν να υπάρχουν και στην RAEB-t όπως αναιμία, ουδετεροπενία, θρομβοπενία και δυσπλαστικά πολυμορφοπύρρηνα ή αιμοπετάλια. Οι ασθενείς προσέρχονται με συμπτώματα αναιμίας, λοίμωξης και αιμορραγίας, λόγω βαριάς κυτταροπενίας. Μπορεί να εμφανίζουν ηπατομεγαλία ή/ και σπληνομεγαλία. Έχει την χειρότερη πρόγνωση. Η μέση επιβίωση είναι 5 μήνες και η συχνότητα λευχαιμικής εκτροπής είναι 60%.

1.5. Η ταξινόμηση των ΜΔΣ κατά WHO

Σύμφωνα με την ταξινόμηση της WHO⁵, τα ΜΔΣ διαιρούνται, όπως φαίνονται παρακάτω τον πίνακα:

Πίνακας 3: Ταξινόμηση κατά WHO και κριτήρια για τα ΜΔΣ

Νόσος	Ευρήματα από το αίμα	Ευρήματα από τον μυελό
RA	αναιμία καθόλου ή σπάνια βλάστες	Δυσπλασία ερυθράς μόνο <5% βλάστες <15% δακτυλιοειδείς σιδηροβλάστες
RARS	αναιμία καθόλου βλάστες	Δυσπλασία ερυθράς μόνο <5% βλάστες ≥15% δακτυλιοειδείς σιδηροβλάστες
RCMD	κυτταροπενία (δύο ή όλων των σειρών) καθόλου ή σπάνια βλάστες καθόλου Auer rods <1X10 ⁹ /L μονοκύτταρα	Δυσπλασία σε ≥10% κυττάρων σε δύο ή περισσότερες κυτταρικές σειρές <5% βλάστες στον μυελό καθόλου Auer rods <15% δακτυλιοειδείς σιδηροβλάστες
RCMD-RS	κυτταροπενία (δύο ή όλων των σειρών) καθόλου ή σπάνια βλάστες καθόλου Auer rods <1X10 ⁹ /L μονοκύτταρα	Δυσπλασία σε ≥10% κυττάρων σε δύο ή περισσότερες κυτταρικές σειρές ≥15% δακτυλιοειδείς σιδηροβλάστες <5% βλάστες στον μυελό καθόλου Auer rods
RAEB-1	κυτταροπενίες <5% βλάστες καθόλου Auer rods <1X10 ⁹ /L μονοκύτταρα	δυσπλασία μίας ή πολλών σειρών <5% βλάστες στον μυελό καθόλου Auer rods δυσπλασία μίας ή πολλών σειρών
RAEB-2	κυτταροπενίες 5% έως 19% βλάστες Auer rods ± <1X10 ⁹ /L μονοκύτταρα	10 έως 19% βλάστες Auer rods ±
MDS-U	κυτταροπενίες καθόλου ή σπάνια βλάστες καθόλου Auer rods	δυσπλασία μίας ή πολλών σειρών <5% βλάστες καθόλου Auer rods
MDS, del(5q)	αναιμία <5% βλάστες Αιμοπετάλια φυσιολογικά ή αυξημένα	φυσιολογικά έως αυξημένα μεγακαρυοκύτταρα με υποπλαστικά πυρήνια <5% βλάστες καθόλου Auer rods μεμονωμένη del(5q)

1.6. Παθολογικές ποικιλίες ΜΔΣ

1.6.1 Δευτεροπαθή ΜΔΣ (δ-ΜΔΣ)

Ένα σημαντικό κλινικό πρόβλημα αποτελούν τα δευτεροπαθή ΜΔΣ (σχετιζόμενα με θεραπεία ή με τοξικά χημικά).⁴³ Η αυξανόμενη συχνότητα των δ-ΜΔΣ και δευτεροπαθών λευχαιμιών οφείλεται σε αρκετούς παράγοντες, όπως η μακρύτερη επιβίωση μετά από επιτυχή θεραπεία στερεών όγκων, τα

εντατικότερα θεραπευτικά σχήματα συνδυασμού χημειοθεραπείας (Χ/Θ)-ακτινοθεραπείας (Α/Θ) και τέλος η περιβαλλοντική μόλυνση και η έκθεση σε χημικά και καρκινογόνα στις βιομηχανοποιημένες χώρες. Τα δ-ΜΔΣ έχουν κακή πρόγνωση.⁴⁴ Δύο κύριοι παράγοντες που κάνουν την ταξινόμησή τους δύσκολη είναι το ότι 1) κανένας τύπος επικρατούντος κυττάρου δεν είναι δυσπλαστικό και 2) η αναρρόφηση του μυελού των οστών είναι συχνά ανεπαρκής για ανίχνευση τυχόν δυσπλασίας καθώς συχνά είναι υποκυτταρικός με ίνωση. Συνεπώς, στην κλινική πράξη είναι δύσκολο να ταυτοποιηθούν οι βλάστες. Παρόλο αυτά, οι δακτυλοειδείς σιδηροβλάστες είναι συχνοί. Στην περίπτωση της ανεπαρκούς αναρρόφησης του μυελού των οστών, η οστεομυελική βιοψία είναι πολύ σημαντική σε ύποπτες περιπτώσεις ΜΔΣ σχετιζόμενων με την θεραπεία. Επιπλέον, εκτός της ίνωσης, άλλα χαρακτηριστικά που παρατηρούνται με την οστεομυελική βιοψία, στηρίζουν την διάγνωση του ΜΔΣ σχετιζόμενου με την θεραπεία και συμβάλλουν στην κακή πρόγνωση είναι η παρουσία ALIP (Abnormal Localisation of Immune Precursors) και η θετικότητα των CD34 με ανοσοϊστοχημεία.⁴⁵ Σε όλους τους ασθενείς παρατηρούνται ανώμαλοι καρυότυποι, με πολλαπλές χρωμοσωμικές ανωμαλίες.⁴⁶ Τα χρωμοσώματα 5 και 7 είναι τα πιο συχνά εμπλεκόμενα (85%) και σχετίζονται με την έκθεση σε αλκυλιωτικούς παράγοντες και σε ακτινοβολία. Το βενζόλιο προκαλεί συνήθως τρισωμία 9. Τελευταία έχουν αναγνωριστεί δύο επιπλέον μορφές λευχαιμίας σχετιζόμενες με χημειοθεραπεία, η μία οφείλεται σε έκθεση σε θεραπευτικούς παράγοντες που αναστέλλουν την τοποϊσομεράση II και αφορά την χρωμοσωμική θέση 11q23 και η δεύτερη την 21q22 θέση.⁴⁷

1.6.2. ΟΜΛ με δυσπλασία τριών σειρών

Στις περιπτώσεις της πρωτοπαθούς ΟΜΛ η δυσπλασία μιας ή περισσότερων σειρών είναι συνηθής.^{48,49} Αντίθετα, η διάγνωση του ΜΔΣ όπου τουλάχιστον 10% των κυττάρων της αντίστοιχης σειράς θεωρούνται δυσπλαστικά, το όριο είναι πιο περιοριστικό σε ποσοστό >50%. Η δυσερυθροποίηση δεν φαίνεται να σχετίζεται με χαμηλότερο ρυθμό υποτροπής σε σχέση με τα «φυσιολογικά», σε αντίθεση με την δυσπλασία της κοκκιοκυττάρων⁴⁹ και των μεγακαρυοκυττάρων.⁵⁰ Περίπου 10% έως 15% των περιπτώσεων θα έχουν δυσπλασία και των τριών σειρών. Ένας ασθενής που πάσχει από ΟΜΛ με δυσπλασία και των τριών σειρών αντιπροσωπεύει έναν ασθενή με οξεία μετάβαση σε κλινικά λανθάνον ΜΔΣ ή με έναν υπότυπο πρωτοπαθούς ΟΜΛ. Ο πρώτος φαίνεται να ανήκει στις περιπτώσεις των ασθενών εκείνων που αντιπροσωπεύουν την πρωτοπαθή ΟΜΛ με δυσπλασία των τριών σειρών και με ένα ιστορικό επαγγελματικής έκθεσης.⁵¹ Σε μία μελέτη των Cuneo και συν. από τους 70 ενήλικες με πρωτοπαθή ΟΜΛ, 43% είχαν θετικό ιστορικό επαγγελματικής έκθεσης. Αυτοί οι ασθενείς είχαν δυσπλασία και των τριών σειρών, θετικά CD34, και χρωμοσωμικές ανωμαλίες χαρακτηριστικές του ΜΔΣ/ΟΜΛ σχετιζόμενου με θεραπεία.⁵²

1.6.3. Ιός ανοσοανεπάρκειας του ανθρώπου (HIV) - σχετιζόμενος με ΜΔΣ

Αντίθετα με το πρωτοπαθές ΜΔΣ, στον HIV-σχετιζόμενο με ΜΔΣ δεν παρατηρείται καμία έκδηλη εξαλλαγή σε ΟΜΛ.⁵³ Παρόμοια όμως με το πρωτοπαθές ΜΔΣ, παρατηρείται κυτταροπενία μιας σειράς και αυξημένη κυτταροβρίθεια του μυελού των οστών, ενώ περιστασιακά μπορεί να

εμφανίζει και ελαττωμένη κυτταροβρίθεια. Επίσης, μπορεί να εκδηλωθεί αυξημένη πλασματοκυττάρωση και αυξημένη εναπόθεση σιδήρου (χωρίς δακτυλιοειδείς σιδηροβλάστες).²¹ Στην βιοψία του μυελού των οστών παρατηρείται συσώρευση λεμφοειδούς, ατροφία ορώδους, κοκκιώματα και ίνωση.⁵⁴ Τα δύο τελευταία μπορούν κλινικά να συσχετιστούν με φλεγμονή, κυρίως μυκοβακτηριδιακή ή πνευμονοκύστη.⁵³ Σε μία έκθεση από 216 δείγματα οστεομυελικών βιοψιών και/ή δοκιμασιών αποτύπωσης, οι Karcher και Frost⁵⁴ παρατήρησαν δυσπλαστικά χαρακτηριστικά τουλάχιστον σε μία κυτταρική σειρά στο 70% των ασθενών. Δυσερυθροποίηση παρατηρήθηκε στους μισούς ασθενείς: ύπαρξη πολυπύρηνων, ανώμαλο σχήμα πυρήνων και ενδοπυρηνικοί σχηματισμοί με γέφυρες χρωματίνης. Επίσης, στο ένα τρίτο των ασθενών παρατηρήθηκε δυσπλασία των μεγακαρυοκυττάρων: μικρομεγακαρυοκύτταρα, υποκατακερματισμός πυρήνων και θραύση πυρήνων. Σπανιότερα, στο ένα πέμπτο των ασθενών παρατηρήθηκε δυσπλασία των κοκκιοκυττάρων: κυτταροπλασματικός διαχωρισμός, ύπαρξη πολυπύρηνων και υποκοκκίωση. Σε περισσότερους από έναν μηχανισμό οφείλεται η μυελοδυσπλασία στην HIV νόσο: σε συμπαρομαρτούντες φλεγμονές (ευκαιριακή και/ή πιθανή HIV νόσο), κυρίως διότι η μυελοδυσπλασία συσχετίζεται με το στάδιο της φλεγμονής στην HIV νόσο,⁵⁵ σε διατροφικούς παράγοντες, στην αυτοανοσία και σε επιδράσεις φαρμάκων. Όσο αναφορά τις επιδράσεις φαρμάκων, οι Harris και συν.⁵³ παρατήρησαν σε όλους τους ασθενείς, που έλαβαν αζινοθυμιδίνη (AZT), δυσερυθροποίηση με δυσπλασία, εκτός των μεγαλοβλαστοειδών χαρακτήρων που έχουν ευκρινώς περιγραφεί με την χορήγηση AZT.

1.6.4. ΜΔΣ με μυελοϊνωση

Ως ίνωση, ορίζεται η εστιακή ή η διάχυτη αύξηση του αριθμού και του πάχους των ινών του δικτύου του μυελού των οστών και παρατηρείται στις μισές περίπου περιπτώσεις των ΜΔΣ. Στα περιστατικά αυτά η ίνωση, που σημειώνεται είναι ήπια έως μέτρια. Αντίθετα, μελέτες, που έχουν γίνει σε ΜΔΣ ασθενείς (15%), έχουν δείξει εκσεσημασμένη ίνωση, τέτοια που μπορεί να χαρακτηριστούν ως ΜΔΣ με αυξημένη ίνωση του μυελού.⁵⁶⁻⁵⁸ Το σύνδρομο του ΜΔΣ με μυελοϊνωση χαρακτηρίζεται από αιφνίδια αύξηση της ίνωσης και των μικρομεγακαρυοκυττάρων. Τα μεγακαρυοκύτταρα μπορεί να είναι υπόλοβα και οι πυρήνες κατακερματισμένοι.⁵⁹ Τα ευρήματα από το περιφερικό αίμα μπορεί να είναι: λευκοερυθροβλάστωση και δακρυοκύτταρα συνδυασμένα με αυξημένα μεγακαρυοκύτταρα (με συνεχή παραγωγή ποικίλων κυτταροκινών, όπως ο αυξητικός παράγοντας που παράγει αιμοπετάλια-PDGF που οδηγεί στην ίνωση),^{59,60} στοιχεία που οδηγούν στην υπόθεση ότι το ΜΔΣ με μυελοϊνωση ανήκει στην πραγματικότητα στα μυελοπαραγωγικά σύνδρομα,¹⁹ από τα οποία θα πρέπει να διαφοροδιαγνωσθεί. Οι ασθενείς αυτοί έχουν συνήθως μικρότερη επιβίωση από τις τυπικές περιπτώσεις του ΜΔΣ, με μία μέση επιβίωση παρόμοια με τον RAEB υπότυπο και όχι με τον RA ή τον RARS.⁵⁶⁻⁵⁸

1.6.5. Υποπλαστικό ΜΔΣ

Ο μυελός των οστών στο 10-15% των ΜΔΣ είναι υποκυτταρικός,⁶¹ ορίζοντας ως κυτταρικότητα λιγότερο από 25% έως 30% και >20% σε ασθενείς μεγαλύτερους από 60 ετών.⁶² Το χαρακτηριστικό αυτό εύρημα ανευρίσκεται συχνότερα στο ΜΔΣ σε σχέση με την ΟΜΛ.⁶³ Υπάρχουν περιπτώσεις ΟΜΑ με υποκυτταρικό μυελό που συγχέονται με ΜΔΣ με υποκυτταρικό μυελό.⁶⁴ Σπάνια η υποκυτταρικότητα είναι μικρότερη από 10%, όπως έχει παρατηρηθεί και στην απλαστική αναιμία.⁶⁵ Διαφοροδιαγνωστικά στοιχεία του υποκυτταρικού ΜΔΣ από την απλαστική αναιμία είναι η παρουσία ALIP (Abnormal Localization of Immune Precursors), νησίδες αρχέγονων ερυθρών κυττάρων, δυσπλασία μεγακαρυοκυττάρων και μεγακαρυοβλάστες, όπως φαίνονται με την ανοσοϊστοχημεία.⁶⁶ Έτσι, η διαφορική διάγνωση του υποπλαστικού ΜΔΣ από την απλαστική αναιμία ή την ΟΜΛ είναι δύσκολη. Όταν η κυτταροβρίθεια του μυελού είναι μειωμένη, είναι προβληματική η αναγνώριση των δυσπλαστικών στοιχείων τόσο στο επίχρισμα όσο και στην οστεομυελική βιοψία. Οι περισσότερες υποπλαστικές μορφές ανήκουν στην κατηγορία RA και RAEB. Η ανεύρεση καρυοτυπικής ανωμαλίας χαρακτηριστικής των ΜΔΣ (π.χ-5, -7, 5q-, 7q-, +8) αποδεικνύεται ιδιαίτερα χρήσιμη στην αναγνώριση υποπλαστικού ΜΔΣ.⁶⁷⁻⁶⁹

1.6.6. Μυελοδυσπλαστικά / Μυελοϋπερπλαστικά σύνδρομα (ΜΥΣ)

Μερικοί ασθενείς έχουν διαταραχές με χαρακτηριστικά τόσο στα ΜΔΣ όσο και στα ΜΥΣ. Σ' αυτήν την ομάδα συμπεριλαμβάνονται περιπτώσεις με λευκοκυττάρωση, μυελό με αυξημένη κυτταροβρίθεια, ποικίλου βαθμού δυσπλασία και σπληνομεγαλία. Μερικοί από τους ασθενείς αυτούς είναι πιθανόν να έχουν CMML. Αν και η FAB ταξινόμηση κατέταξε την CMML στα ΜΔΣ, αποτελεί πρότυπο για τις διαταραχές αυτές που βρίσκονται μεταξύ ΜΔΣ και ΜΥΣ. Η CMML αρχικά θεωρήθηκε ΜΔΣ λόγω της δυσπλασίας και των περιφερικών κυτταροπενιών που την συνοδεύουν. Αυτή η ταξινόμηση δεν είναι αποδεκτή από όλους τους ερευνητές, διότι τα μυελοπαραγωγικά στοιχεία κυριαρχούν σε αρκετές περιπτώσεις.⁷⁰ Έτσι, το νόσημα υποδιαιρέθηκε σε δύο μορφές τη παραγωγική και την μη-παραγωγική μορφή. Η παραγωγική μορφή (Λευκά αιμοσφαίρια >12.000/mm³, ηπατοσπληνομεγαλία, συστηματικές εκδηλώσεις) μοιάζει περισσότερο με ΜΥΣ. Επιπλέον οι καλλιέργειες μυελού των προγονικών κυττάρων της μυελικής σειράς των ασθενών με CMML είναι ανάλογες των ΜΥΣ που χαρακτηρίζονται από αυξημένες αποικίες μυελικής σειράς και όχι των ΜΔΣ των οποίων τα προγονικά κύτταρα αναπτύσσονται πτωχά στις ημίρρεστες καλλιέργειες.⁷¹

1.7. Συμπτώματα και κλινικά ευρήματα

Το χαρακτηριστικό εύρημα στην διάγνωση του ΜΔΣ είναι η δυσπλασία και των τριών αιμοποιητικών σειρών (Πίνακας 4). Αυτή η δυσπλασία προέρχεται από την διαταραχή του πολλαπλασιασμού και της διαφοροποίησης των αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων με αποτέλεσμα

την πανκυτταροπενία. Η διαταραγμένη διαφοροποίηση ίσως να οφείλεται στην εκτεταμένη απόπτωση.⁷² Τα ΜΔΣ εμφανίζονται κυρίως σε προχωρημένη ηλικία, αν και έχουν περιγραφεί και στην παιδική ηλικία. Η μέση ηλικία εμφάνισης της νόσου είναι μεταξύ 60 και 75 ετών και μόνο 20% των ασθενών βρίσκονται σε ηλικία κάτω των 50 ετών κατά την διάγνωση της νόσου.⁷³ Η συχνότητα εμφάνισης της νόσου αυξάνει με την πάροδο της ηλικίας, από 5,3 ανά 100.000 μεταξύ 50 και 59 ετών, σε 15 από 60 έως 69 ετών, 49 από 70 έως 79 ετών και 89 από 80 ετών και άνω.⁷⁴ Τα ΜΔΣ μέχρι πρόσφατα υποδιαγιγνώσκονταν. Τα δύο φύλα προσβάλλονται εξίσου, με εξαίρεση το 5q- σύνδρομο που κυρίως προσβάλλει γυναίκες και την CMML που προσβάλλει κυρίως άνδρες.⁷⁵ Τα συμπτώματα των ασθενών με ΜΔΣ οφείλονται στην βλάβη και των τριών αιμοποιητικών σειρών, με πιο σημαντική την πτώση του αιματοκρίτη. Περίπου 50% των ασθενών δεν έχουν συμπτώματα κατά την διάγνωση και η νόσος ανακαλύπτεται τυχαία κατά την εξέταση ρουτίνας του αίματος. Η αναιμία είναι το συχνότερο εύρημα και παρατηρείται στο 90% των ασθενών. **Κόπωση** και **δύσπνοια** προσπάθειας μπορεί να παρατηρηθεί για μεγάλη χρονική περίοδο, που να ξεπερνά τους 6-12 μήνες, και να παρερμηνευτεί ως καρδιακή ανεπάρκεια ή ως πνευμονική νόσος, ιδιαίτερα στους ηλικιωμένους. **Σπληνομεγαλία** παρατηρείται στο 10-20% των ασθενών κατά την διάγνωση και **ηπατομεγαλία** στο ίδιο ποσοστό. Το μέγεθος της σπληνομεγαλίας και η συχνότητα εμφάνισης της είναι μεγαλύτερη σε ασθενείς με CMML, παρατηρούμενη στο 40% των περιπτώσεων και μπορεί να προκαλέσει συμπτώματα, όπως εύκολο κορεσμό, κοιλιακή δυσφορία και επώδυνα έμφρακτα. Η λεμφαδενοπάθεια είναι ασυνήθης. Εκτός από τα συμπτώματα της αναιμίας, όπως εύκολη κόπωση και δύσπνοια προσπάθειας, περίπου ένα τρίτο των ασθενών αναφέρουν επαναλαμβανόμενες λοιμώξεις, λόγω της διαταραχής του ανοσολογικού μηχανισμού και του μειωμένου αριθμού των πολυμορφοκυττάρων.^{75,76} Λοιμώξεις παρατηρούνται με συχνότητα ενός επεισοδίου ανά έτος, και είναι σοβαρότερες όταν τα ουδετερόφιλα είναι κάτω από 1.000/μλ. Οι πυογόνες λοιμώξεις είναι το πιο συχνό αίτιο θανάτου στα ΜΔΣ (64% των θανάτων).⁷⁷ **Αιμορραγικά επεισόδια** που οφείλονται στην θρομβοπενία και στην διαταραχή της πρωτοπαθούς αιμόστασης παρατηρούνται συνήθως σε ασθενείς με προχωρημένη νόσο, αν και η αιμορραγία μπορεί να αποτελέσει το πρώτο σύμπτωμα σε λιγότερες από 10% των περιπτώσεων. Συχνά τα ΜΔΣ σχετίζονται με διθητικές δερματικές διαταραχές, ιδιαίτερα αυτοάνοση αγγειίτιδα ή οξεία ουδετεροφιλική δερμάτωση (σύνδρομο Sweet).^{78,79} Η διήθηση του δέρματος από μυελοβλάστες στην RAEBt ή από μονοκύτταρα στην CMML μπορεί να δημιουργήσει την εικόνα της δερματικής λευχαιμίδος.⁸⁰

Πίνακας 4: Μορφολογικά χαρακτηριστικά στο ΜΔΣ

Σειρά	Αίμα	Μυελός
Ερυθρά	Μακροκυττάρωση, ποικιλοκυττάρωση, ανισοκυττάρωση, βασεόφιλος στίξη	Υπερπλασία ερυθράς σειράς, ερυθροβλαστες με πολλούς πυρήνες, σωμάτια Howell- Jolly, σιδηροβλάστες, κενοτόπια πρωτοπλάσμα-τος.
Λευκή	Ουδετερόφιλα χωρίς κοκκία με ↓ ή ↑ μεγάλα κύτταρα “ψευδοPelger” μονοπύρηνια ή διπύρηνια, υπερκατάτμητα ουδετερόφιλα, βασεόφιλο πρωτόπλάσμα σε ώριμα κύτταρα, ↑ μονοκύτταρα με επιμηκυσμένους λοβούς, προμονοκύτταρα μελεπτά αζουρόφιλα κοκκία.	↓ κοκκίων προμυελομονοκυττάρων, μυελοκυττάρων, μεταμυελοκυττάρων και πολυμορφοπυρήνων. ↑ προμονοκυττάρων. ↑ βλαστών τύπου I μικρός βλάστης με πρωτόπλάσμα χωρίς κοκκία, χαρακτηριστικά πυρήνια, μεγάλη σχέση πυρήνια- πρωτοπλάσματος =0.8. Τύπου II βλάστες με αραιά κοκκία, πυρήνια στο κέντρο και σχέση πυρήνια- πρωτοπλάσματος=μικρή.
Αιμοπεταλιακή	Αιμοπετάλια χωρίς κοκκία, γιγαντιαία αιμοπετάλια, κομμάτια μεγακαρυοκυττάρων	Μικρομεγακαρυοκύτταρα μεγάλα ή με ένα στρογγυλό ή ωοειδή πυρήνια, μεγάλα μεγακαρυοκύτταρα με πολλαπλά μικρά πυρήνια, μεγακαρυοβλάστες, μεγακαρυοκύτταρα με κοκκία μεγάλα ή ανώμαλα

1.7.1. Δυσπλασία ερυθράς σειράς (Δυσερυθροποίηση)

Η γενική αίματος συχνά αποκαλύπτει την ύπαρξη του ΜΔΣ από την μέτρια μακροκυττάρωση που παρατηρείται (mean cell volume, MCV≈100-110 fmol). Εκτιμάται ότι το 5% των μακροκυτταρικών αναιμιών που ανιχνεύονται, ανήκουν στα ΜΔΣ.⁸¹ Άλλες αλλαγές που

παρατηρούνται στο περιφερικό αίμα και χαρακτηρίζουν το ΜΔΣ είναι: βασεόφιλη στίξη, κατακερματισμένα κύτταρα και περιστασιακά εμπύρηνα ερυθρά.

Οι μορφολογικές διαταραχές της ερυθράς σειράς είναι περισσότερο έντονες στον μυελό των οστών απ'ότι στο περιφερικό αίμα. Οι δύο πιο χαρακτηριστικές διαταραχές,⁸² που παρατηρούνται είναι οι μεγαλοβλαστοειδείς χαρακτήρες και οι δακτυλιοειδείς σιδηροβλάστες. Άλλα ευρήματα είναι οι πολλαπλοί πυρηνικοί λοβοί, ποικίλου μεγέθους, συχνά συνδεδεμένοι με λεπτές πυρηνικές γέφυρες, μιτώσεις, χρωματίνη ποικίλης πυκνότητας και ανώμαλα κυτταροπλασματικά χαρακτηριστικά.⁸³ Αυτές οι κυτταροπλασματικές ανωμαλίες περιλαμβάνουν έντονη βασηοφιλία, σωματία Howell-Jolly και κενोटόπια πρωτοπλάσματος. Στροφή προς τα αριστερά στην ερυθροποίηση παρατηρείται με τον αριθμό των άωρων ερυθροβλαστών να είναι μεταξύ 5%-50%. Εάν ο αριθμός αυτός είναι πάνω από 50%, τότε η διάγνωση είναι ερυθρολευχαιμία. Το εύρημα των σιδηροβλαστών στον μυελό των οστών δεν είναι απαραίτητο διαγνωστικό στοιχείο για το ΜΔΣ, διότι και οι φυσιολογικοί μυελοί μπορεί να έχουν περιστασιακά ερυθροβλάστες με κοκκία σιδήρου (αλλά αυτοί οι σιδηροβλάστες έχουν λιγότερα από 5 κοκκία). Επίσης, σιδηροβλάστες μπορεί να παρατηρηθούν και σε μια ποικιλία άλλων παθολογικών καταστάσεων, που θα συζητηθούν παρακάτω. Εξ'ορισμού οι παθολογικές καταστάσεις έχουν 5 ή περισσότερα κοκκία/ κύτταρο και μπορούν να ονομαστούν "δακτυλιοειδείς" σιδηροβλάστες, εάν τα κοκκία καλύπτουν περισσότερο από το ένα τρίτο της περιφέρειας του πυρήνα.⁸⁴ Έχουν επίσης παρατηρηθεί περιπτώσεις με ομάδες από κοκκία φερριτίνης, περισσότερα από 5 ανά κύτταρο, χωρίς όμως να περιβάλλουν τον πυρήνα. Οι περιπτώσεις αυτές θεωρούνται επίσης παθολογικές. Οι δακτυλιοειδείς σιδηροβλάστες και η αυξημένη εναποθήκευση σιδήρου μπορούν να βρεθούν σε οποιοδήποτε τύπο ΜΔΣ, αλλά είναι χαρακτηριστικά του RARS. Επιπλέον, οι δακτυλιοειδείς σιδηροβλάστες δεν είναι πάντα συνώνυμοι με το ΜΔΣ καθώς παρατηρούνται και σε άλλες παθολογικές καταστάσεις, όπως στην σιδηροβλαστική αναιμία από αλκοόλ, στην αναιμία προκαλούμενη από χημειοθεραπεία και στο μυελουπερπλαστικά σύνδρομο.²¹ Επίσης, ξεχωριστή οντότητα αποτελεί η σιδηροβλαστική αναιμία που περιορίζεται μόνο στην δυσερυθροποίηση και ονομάζεται "καθαρή σιδηροβλαστική αναιμία"(PSA).^{84,85} Η διαφορά με την RARS είναι ότι πρέπει να υπάρχει δυσπλασία στην μυελική και στην αιμοπεταλιακή σειρά. Η διάκριση μεταξύ των δύο οντοτήτων (PSA και RARS) είναι σημαντική, δεδομένου ότι οι ασθενείς με RARS έχουν κατά προσέγγιση τέσσερις φορές αυξημένη πιθανότητα για μετάπτωση σε λευχαιμία σε σύγκριση με την PSA (δυσερυθροποίηση χωρίς δυσπλασία της λευκής σειράς και/ή της αιμοπεταλιακής).⁸⁶ Η διάκριση μεταξύ RARS και άλλων καταστάσεων του ΜΔΣ με βλάστες <5% είναι επίσης σημαντική για προγνωστικούς λόγους. Έχουν από κοινού δυσπλασία της ερυθράς σειράς με μία ποικίλου βαθμού δυσπλασία της κοκκιώδους/μεγακαρυοκυτταρικής σειράς με διαφορά στον βαθμό της σιδηροβλάστωσης-η ομάδα FAB επέλεξε το όριο του 15%. Περιπτώσεις με ποσοστό σιδηροβλάστωσης μικρότερο από 15% ορίζονται ως RA και περιπτώσεις με ποσοστό μεγαλύτερο ή μικρότερο αυτού ορίζονται ως RARS. Αρχικά, όλα τα εμπύρηνα κύτταρα θεωρήθηκαν αντί για απλοί

ερυθροβλάστες -δεδομένης της δυσκολίας να προσδιοριστούν- ως εμπύρνες πρόδρομες σειρές των ερυθρών. Από τότε αυτός ο ορισμός έχει αναθεωρηθεί για να αναφέρεται αυστηρώς ως ερυθροβλάστες.⁸⁷ Το αποτέλεσμα αυτό έχει ως συνέπεια την αλλαγή των ασθενών που είχαν ταξινομηθεί ως RA σε RARS.

1.7.2. Δυσπλασία κοκκιώδους σειράς

Ένα χαρακτηριστικό εύρημα, που παρατηρείται στα πολυμορφοπύρνηνα του περιφερικού αίματος και του μυελού των οστών, είναι ότι αυτά εμφανίζονται χωρίς ή με λίγα κοκκία. Στον μυελό τα προγονικά τους μυελοκύτταρα στερούνται επίσης των δευτερογενών κοκκίων, ενώ στην περιφέρεια των κυττάρων σχηματίζεται πυκνός βασεόφιλος δακτύλιος από άφθονα κυτταροπλασματικά ριβοσώματα. Τα προμυελοκύτταρα άλλοτε στερούνται πρωτογενών κοκκίων, ενώ άλλοτε περιέχουν ανώμαλα και μεγάλα κοκκία που έχουν την τάση να σχηματίζουν ένα διάστικτο δακτύλιο γύρω από τον πυρήνα. Δύο ανωμαλίες του πυρήνα θα πρέπει να θεωρούνται ως προλευχαιμικά χαρακτηριστικά: η ψευδο-Pelger-Huet ανωμαλία (δίλοβος ή μονόλοβος πυρήνας και αυξημένη συμπίκνωση της χρωματίνης του) και η ανωμαλία του διπλασιασμού του πυρήνα (twinning deformity). Ο συνδυασμός των ψευδο- Pelger με άκοκκα πολυμορφοπύρνηνα είναι χαρακτηριστικό των ΜΔΣ και απαντά στο 90% των περιπτώσεων.⁸⁸ Γιγαντιαία πολυκατάτμητα πολυμορφοπύρνηνα με πολυπλοειδία και ανώμαλα σχήματα συχνά συνοδεύουν προλευχαιμικές και λευχαιμικές καταστάσεις. Η αλκαλική φωσφατάση των λευκών είναι μειωμένη στο 50% των ασθενών με ανθεκτική αναιμία και είναι χωρίς διαγνωστική σημασία, ενώ απαντάται και χαμηλή η μυελοϋπεροξειδάση ή και άλλοτε αυξημένη.⁸⁹ Τα παραπάνω μορφολογικά χαρακτηριστικά μπορούν να εξηγήσουν εν μέρει την τάση των ασθενών αυτών προς τις λοιμώξεις. Οι λοιμώξεις είναι η πιο κοινή αιτία θανάτου ασθενών με ΜΔΣ, πολύ περισσότερο από την μετάπτωσή τους σε λευχαιμία.⁷⁷ Η φαγοκυτταρική συγκόλληση, η χημειοταξία και οι μικροβιοκτόνες ιδιότητες έχουν βλαφτεί. Εν τούτοις, καμία σχέση της λοίμωξης με την έλλειψη των κοκκίων δεν έχει βρεθεί.⁹⁰ Ο κίνδυνος για θανατηφόρα λοίμωξη φαίνεται να συσχετίζεται κυρίως με τον υπότυπο του ΜΔΣ. Για τους υπότυπους RAEB, RAEB-t και CMML, ο κίνδυνος για λοίμωξη που θα οδηγήσει σε θάνατο τον ασθενή είναι μεγαλύτερος σε σχέση με τον RA ή τον RARS. Ο κίνδυνος αυτός μπορεί ακόμη να συσχετιστεί με την αύξηση του ποσοστού των βλαστών.⁹¹

1.7.3. Δυσπλασία μεγακαρυοκυτταρικής σειράς

Ο αριθμός των μεγακαρυοκυττάρων είναι συνήθως φυσιολογικός, αν και περιστασιακά μπορεί να παρατηρηθεί υποπλασία ή υπερπλασία. Το ΜΔΣ με μεγακαρυοκυτταρική δυσπλασία πρέπει να διαφοροδιαγνωσθεί από την ιδιοπαθή θρομβοπενική πορφύρα. Στο περιφερικό αίμα παρατηρούνται μεγάλα αιμοπετάλια με λίγα ή πολλά κοκκία. Στον μυελό των οστών μπορούν να παρατηρηθούν αξιοσημείωτες μορφολογικές ανωμαλίες των πρόδρομων μορφών των

μεγακαρυοκυττάρων στους μισούς τουλάχιστον ασθενείς ή και σε όλους τους ασθενείς αν χρησιμοποιηθεί ανοσοϊστοχημεία. Οι μορφολογικές ανωμαλίες των μεγακαρυοκυττάρων που παρατηρούνται είναι: 1. τα μικρο-μεγακαρυοκύτταρα (των οποίων η διάμετρος προσδιορίζεται σαν δύο φορές μικρότερη την διάμετρο των πολυμορφοπύρηνων $<800 \mu\text{m}/\text{m}^2$), σε συνδυασμό με τα ψευδο-Pelger πολυμορφοπύρηννα αποτελούν τους πιο ειδικούς δείκτες της μυελοδυσπλασίας,⁹² 2. πολλαπλά μικρά πυρήνια που θυμίζουν ουδετερόφιλα μεγαλοβλαστικής αναιμίας, 3. μονοπύρηνιο σχηματισμοί, μεγάλοι ή μικροί και 4. μεγακαρυοκύτταρα με λίγα κοκκία, που ίσως να είναι αποτέλεσμα της έλλειψης της πυκνότητας των κοκκίων του ώριμου αιμοπεταλίου, που οδηγεί σε δυσλειτουργία των αιμοπεταλίων.⁹³ Οι μορφολογικές αυτές ανωμαλίες συνοδεύονται κλινικά από μία τάση των ασθενών για αιμορραγίες, παρόλο τον φυσιολογικό αριθμό αιμοπεταλίων,⁹⁴ αν και συνήθως ο κίνδυνος της αιμορραγίας συσχετίζεται με τον βαθμό της θρομβοπενίας και τον βαθμό της δυσπλασίας των μεγακαρυοκυττάρων.

1.7.4. Χαρακτηριστικά βλαστών στο ΜΔΣ

Για την διάγνωση του ΜΔΣ είναι πολύ σημαντικό να έχουμε τον ακριβή προσδιορισμό του αριθμού των βλαστών, δεδομένου ότι το ποσοστό των βλαστών είναι ο μόνος και ο πιο σημαντικός προγνωστικός παράγοντας του ΜΔΣ, όσο αναφορά την επιβίωση και τον κίνδυνο μετάπτωσης σε λευχαιμία.^{13,25,30} Η πρόγνωση ταξινομείται σε τρία πεδία ανάλογα με τον αριθμό των βλαστών: $<5\%$, 5% έως 20% και $>20\%$ έως 30% .⁴ Σε μία μελέτη, ο μέσος όρος επιβίωσης σε 100 ασθενείς με ποσοστό βλαστών 5% έως 10% ήταν 16 μήνες σε σύγκριση με τον μέσο όρο επιβίωσης 58 ασθενών με ποσοστό βλαστών 11% έως 20% που ήταν οι 5 μήνες.¹³ Επίσης, εκτός του αριθμού των βλαστών και ο τύπος των βλαστών έχει προγνωστική σημασία.⁹⁵ Οι βλάστες τύπου I έχουν αδιαφοροποίητα προγονικά κύτταρα σε σχέση με τις αποικίες των κοκκιοκυττάρων (προμυελοκύτταρα, μυελοκύτταρα, μεταμυελοκύτταρα). Τα κύτταρα αυτά μοιάζουν με τα προμυελοκύτταρα, αλλά η πυρηνική χρωματίνη που έχουν είναι μη συμπυκνωμένη, τα πυρήνιά τους είναι τουλάχιστον ένα και συνήθως είναι δύο ή τρία μεγάλα και το κυτταρόπλασμά τους είναι ελαφρώς έως μέτρια βασεόφιλο χωρίς σωμάτια Golgi. Τα κυτταροπλασματικά κοκκία συνήθως απουσιάζουν και δεν έχουν τα Auer rods, τα οποία αποτελούν ραβδία που προέρχονται από την συνένωση πρωτογενών κοκκίων.⁴ Οι βλάστες τύπου II έχουν ελάχιστα πρωτογενή αζουρόφιλα κοκκία. Η σχέση πυρήνα/πρωτοπλάσματος τείνει να είναι μικρή. Ο τύπος αυτός καθιερώθηκε από την ομάδα FAB διότι η βασική διαδικασία δυσπλασίας, που οδηγεί στον πυρηνικό-κυτταροπλασματικό διαχωρισμό με την μεταγενέστερη έλλειψη κοκκίων, συχνά κάνει δύσκολη την διάκριση μεταξύ βλαστών και προμυελοκυττάρων. Οι δύο αυτές κατηγορίες αντιστοιχούν στους βλάστες που παρατηρούνται στην M1 και M2 οξεία μυελοβλαστική λευχαιμία. Οι βλάστες τύπου III έχουν 20 ή και περισσότερα αζουρόφιλα κοκκία χωρίς σωμάτια Golgi. Ο τύπος αυτός προτάθηκε από τους Goasguen και Bennett,⁹⁵ λόγω της παρατήρησης ότι τα κύτταρα αυτά έχουν χαρακτηριστικές μυελοβλαστών, χωρίς σωμάτια Golgi, αλλά με μία μικρή αύξηση των κοκκίων (έξι

ή περισσότερο), όπως παρατηρούνται στα προμυελοκύτταρα και στα ανώμαλα προμυελοκύτταρα (FAB M3).

1.8. Παθογένεση μυελοδυσπλαστικών συνδρόμων

Είναι γνωστό από 20ετία ότι τα ΜΔΣ αποτελούν μία ετερογενή ομάδα αιμοποιητικών διαταραχών, οι οποίες χαρακτηρίζονται από μονοκλωνικότητα και μυελική ανεπάρκεια. Ο μονοκλωνικός χαρακτήρας των ΜΔΣ είναι υπεύθυνος για τον αυξημένο κίνδυνο μετατροπής σε λευχαιμία. Η μυελική ανεπάρκεια, η οποία οφείλεται τόσο σε διαταραχή του πολλαπλασιασμού και της διαφοροποίησης όσο και σε μειωμένη επιβίωση των προγονικών αιμοποιητικών κυττάρων, έχει σαν αποτέλεσμα κυτταροπενία στο περιφερικό αίμα. Τα τελευταία χρόνια έχει γίνει σημαντική πρόοδος στην διερεύνηση των παθογενετικών μηχανισμών που οδηγούν στην μονοκλωνικότητα, στην νεοπλασματική εξέλιξη και στην μυελική ανεπάρκεια των ΜΔΣ.⁹⁶

1.8.1. Μονοκλωνικότητα των ΜΔΣ

Η μονοκλωνική φύση των ΜΔΣ έχει πλήρως αποδειχθεί με την κυτταρογενετική, την μελέτη αδρανοποίησης του X χρωμοσώματος και με τις μοριακές μεθόδους ανίχνευσης των μεταλλάξεων των ογκογονιδίων και των κατασταλτικών των όγκων γονιδίων.

Κυτταρογενετική

Μη τυχαίες καρυοτυπικές ανωμαλίες έχουν βρεθεί στο 50-70% των ασθενών με πρωτογενή ΜΔΣ (π-ΜΔΣ) και στο 90% ή και περισσότερο αυτών με δευτερογενή ΜΔΣ (δ-ΜΔΣ).¹⁷ Αυτές οι ανωμαλίες ποικίλουν από μονήρεις αριθμητικές ή δομικές μεταβολές έως σύνθετες βλάβες του γονιδιώματος, που αφορούν τουλάχιστον 3 διαφορετικά χρωμοσώματα. Οι μονήρεις χρωμοσωμικές ανωμαλίες παρατηρούνται συχνότερα στα π-ΜΔΣ και στα αρχικά στάδια της νόσου, ενώ οι σύνθετες ανιχνεύονται συνηθέστερα στα δ-ΜΔΣ και κατά την εξέλιξη της νόσου.⁹⁷ Σε αντίθεση με την πρωτοπαθή ΟΜΛ, όπου οι συχνότερα παρατηρούμενες χρωμοσωμικές ανωμαλίες είναι οι ισορροπημένες μεταθέσεις τμημάτων χρωμοσωμάτων, στα ΜΔΣ η έλλειψη τμήματος ή ολόκληρου χρωμοσώματος είναι οι συχνότερες μεταβολές. Η μερική ή ολική έλλειψη χρωμοσώματος αφορά συνηθέστερα τα χρωμοσώματα 5 [(del(5q), -5], 7[del(7q), -7], 20 [del(20q)], 11 [del(11q)], 12 [del(12p)], 13 [del(13q)] και 17 [del(17p)]. Άλλες καρυοτυπικές ανωμαλίες που συχνά απαντούν στα ΜΔΣ είναι η ύπαρξη επιπλέον χρωμοσωμάτων (+8, +5, +6, +13, +21), αλλά και αμοιβαίες μεταθέσεις μεταξύ των χρωμοσωμάτων 3, 5, 6, 8, 11, 12, 16 και 21.⁹⁸

Η συχνότητα των χρωμοσωμικών ανωμαλιών και των ιδιαίτερων ελλειμμάτων, που παρατηρούνται στα ΜΔΣ, σχετίζεται με την αστάθεια του γενετικού υλικού, η οποία προκαλείται από την συσσώρευση γενετικών βλαβών και/ ή από την αδυναμία του αιμοποιητικού κυττάρου να επιδιορθώσει την βλάβη του DNA.⁹⁹ Απόδειξη της γονιδιακής βλάβης από εξωγενείς παράγοντες αποτελούν οι χρωμοσωμικές μεταβολές, συμπεριλαμβανομένων και των σύνθετων ανωμαλιών και

ελλειμμάτων όλου ή τμήματος των χρωμοσωμάτων 5 και 7, που παρατηρούνται σε ασθενείς με ΜΔΣ μετά από έκθεση σε τοξικούς παράγοντες, όπως η ακτινοβολία και το βενζόλιο ή μετά από θεραπεία με χημειοθεραπευτικούς παράγοντες που προκαλούν βλάβη του DNA.⁹⁹ Οι καρυοτυπικές ανωμαλίες αποτελούν ειδικούς δείκτες της νόσου, έχουν προγνωστική αξία, δίνουν πληροφορίες για την συμμετοχή των προγονικών κυττάρων και βοηθούν στην αποκάλυψη των μοριακών μηχανισμών που οδηγούν στην μυελική ανεπάρκεια και στην εξέλιξη προς οξεία λευχαιμία.¹⁰⁰

Λόγω της προγνωστικής του αξίας ο καρυότυπος έχει συμπεριληφθεί στο Διεθνές προγνωστικό scoring σύστημα [International Prognostic Scoring System (IPSS)] και φαίνεται να έχει μεγάλη σημασία τόσο για την επιβίωση, όσο και για την εξέλιξη σε οξεία λευχαιμία.¹⁰¹

Όσον αφορά την προσβολή των προγονικών κυττάρων η κυτταρογενετική ανάλυση έδειξε ότι οι κλωνικές μεταλλάξεις των ΜΔΣ αφορούν το ώριμο μυελο-μονοκυτταρικό τμήμα, και όχι το λεμφικό τμήμα, με εξαίρεση λίγες αναφορές σε κλωνικά Β-λεμφοκύτταρα.¹⁰² Αυτό δείχνει ότι οι κυτταρογενετικές μεταλλάξεις συμβαίνουν σε ένα μυελικό προγονικό κύτταρο, ή σε ένα προγονικό κύτταρο κοινό της μυελικής και της Β-λεμφοκυτταρικής σειράς. Η άμεση κυτταρογενετική ανάλυση στο επίπεδο των προγονικών κυττάρων οδήγησε σε ετερογενή αποτελέσματα. Μερικοί ερευνητές δεν βρήκαν τις κυτταρογενετικές μεταλλάξεις στα λεμφικά ή μυελικά CD34+ προγονικά κύτταρα, ενώ άλλοι βρήκαν τόσο τις πρωτογενείς όσο και τις επιπρόσθετες χρωμοσωμικές ανωμαλίες στο επίπεδο των άωρων CD34+lin- προγονικών κυττάρων.¹⁰³

Σημαντικές πληροφορίες προέκυψαν επίσης από την συσχέτιση των κυτταρογενετικών ευρημάτων με την μοριακή ανάλυση, που έγινε με σκοπό να διευκρινισθεί με ποιο τρόπο η διαταραχή της φυσιολογικής δομής και λειτουργίας των γονιδίων που εμπλέκονται στις μεταλλάξεις των ΜΔΣ, επηρεάζουν την επιβίωση, τον πολλαπλασιασμό και την διαφοροποίηση των προγονικών κυττάρων. Οι πιο σημαντικές γνωστές χρωμοσωμικές περιοχές και τα αντίστοιχα γονίδια που εμπλέκονται στην παθογένεση των ΜΔΣ αναφέρονται παρακάτω.

Τα ελλείμματα του μακρού σκέλους του χρωμοσώματος 5 [del(5q)] είναι η πιο συχνή κυτταρογενετική ανωμαλία που απαντά στα ΜΔΣ (10-15% των π-ΜΔΣ και 50% των δ-ΜΔΣ), γι' αυτό και έγινε μεγάλη προσπάθεια για να καθοριστεί η μοριακή δομή και λειτουργία της περιοχής αυτής. Έτσι το έλλειμμα εντοπίστηκε στη περιοχή 5q31-5q33, η οποία περιέχει γονίδια πολλών κυτταροκινών (GM-CSF, IL-4, IL-5, IL-9), το γονίδιο FMS που κωδικοποιεί τον M-CSF υποδοχέα καθώς και δύο γονίδια IRF1 (Interferon Regulatory Factor) και EGR1 (κωδικοποιεί την GTP-ase ενεργοποιό πρωτεΐνη για το γονίδιο p21ras), που αφορούν την μεταφορά του μηνύματος και την ρύθμιση της αποκωδικοποίησης.¹⁰⁴

Τα ελλείμματα του χρωμοσώματος 7 σχετίζονται με την έκφραση της P170 MDR γλυκοπρωτεΐνης, ενώ η περιοχή 7q22 πιθανά περιέχει γονίδια που αφορούν την διόρθωση του DNA.¹⁰⁵ Μεταλλαγμένα γονίδια στην περιοχή 12p13 αφορούν την ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου και περιλαμβάνουν τον αναστολέα της κινάσης τον εξαρτώμενο από κυκλίνη (CDK1) p27, την κυκλίνη

D2 και το EST-σχετιζόμενο γονίδιο TEL /ETV6. Οι μεταθέσεις του γονιδίου MLL του 11q23 στο χρωμόσωμα 16 και η κατά συνέπεια συνένωση με τον ενεργοποιητή της αποκωδικοποίησης CBP [t(11;16)(q23;p13.3)],¹⁰⁶ καθώς και η συνένωση του AML-1 γονιδίου της περιοχής 21q22 με περιοχή επί του χρωμοσώματος 3[t(3 ;21)] απαντούν μόνο στα δ-ΜΔΣ. Τα ελλείμματα του βραχέως σκέλους του χρωμοσώματος 17 (το 17p- σύνδρομο) αντιπροσωπεύουν ειδική ομάδα των ΜΔΣ, με ιδιαίτερες ανωμαλίες στην κοκκιοκυτταρική σειρά και συχνή απώλεια του p53 κατασταλτικού των όγκων γονιδίου.¹⁰⁷

Αδρανοποίηση του X χρωμοσώματος στα ΜΔΣ

Από την αρχική αναφορά από τον Prchal το 1978¹⁰⁸ έως σήμερα, μελέτες κλωνικότητας με την μέθοδο αδρανοποίησης του X χρωμοσώματος, κατ' αναλογία με τα κυτταρογενετικά ευρήματα, αδιαμφισβήτητα απέδειξαν την μονοκλωνική φύση των κυττάρων της μυελική σειράς, των ερυθροκυττάρων και των αιμοπεταλίων στην πλειονότητα των ασθενών με ΜΔΣ. Με την ίδια τεχνική όμως η μονοκλωνική φύση των T-λεμφοκυττάρων είναι αμφισβητούμενη, γιατί βρέθηκαν τόσο μονοκλωνικά όσο και πολυκλωνικά λεμφικά κύτταρα.¹⁰⁹ Αυτό μπορεί να εξηγηθεί με δύο τρόπους. Πρώτον η μονοκλωνικότητα των λεμφοκυττάρων με την μέθοδο της αδρανοποίησης μπορεί να οφείλεται σε ιδιοσυστατική ή επίκτητη εκτροπή (skewing). Δεύτερον υπάρχει η πιθανότητα λόγω της μακράς τους επιβίωσης τα πολυκλωνικά T-λεμφοκύτταρα να αποτελούν μέρος του πληθυσμού που δημιουργήθηκε πριν από την κλωνική μετάλλαξη ενός άωρου προγονικού κυττάρου. Αυτό δείχνει ακόμη ότι οι κυτταρογενετικές μεταλλάξεις αντιπροσωπεύουν μία δευτερογενή κλωνική βλάβη που κατά προτίμηση προσβάλλει την μυελική σειρά και αφήνει ανέπαφη την λεμφική σειρά. Η παρακολούθηση της κλωνικότητας των λεμφοκυττάρων στους ασθενείς με ΜΔΣ είναι απαραίτητη για την επιβεβαίωση ή την απόρριψη της θεωρίας αυτής. Με την χρήση του πολυμορφισμού στο HUMARA γονίδιο αποδείχθηκε ότι σε ασθενείς με υψηλού κινδύνου ΜΔΣ τα άωρα CD34+38- και τα δεσμευμένα CD34+38+ προγονικά κύτταρα ότι ήταν κλωνικά μεταλλαγμένα.¹¹⁰

Άλλες μοριακές αλλοιώσεις στα ΜΔΣ

Μεταλλάξεις στα ογκογονίδια N-RAS και K-RAS έχουν αναφερθεί στο 30-40% όλων των κατά FAB υποτύπων των ΜΔΣ.⁹⁹ Οι μεταλλάξεις του RAS έχουν βρεθεί σε άωρα και δεσμευμένα προγονικά κύτταρα, ιδιαίτερα στην CMML και συνδέονται με αυξημένο κίνδυνο λευχαιμικής μετατροπής. Επί πλέον μεταλλάξεις του p53 γονιδίου ανευρίσκονται σε ποσοστό 0-23% και σχετίζονται με εξέλιξη της νόσου και κακή πρόγνωση. Ο ρόλος της αυξημένης έκφρασης του γονιδίου του όγκου του Wilms (WT1), που αποτελεί ρυθμιστή της παραγωγής των αιμοποιητικών κυττάρων στα ΜΔΣ προχωρημένου σταδίου, χρειάζεται περαιτέρω διερεύνηση.¹¹¹

Περιληπτικά τα δεδομένα αυτά της κλωνικότητας επιβεβαιώνουν ότι η αθροιστική βλάβη του γενετικού υλικού των αρχέγονων αιμοποιητικών προγονικών κυττάρων είναι ένα από τα κλειδιά ρυθμιστές του φαινότυπου και της πορείας της νόσου στα ΜΔΣ. Πρώιμα κλωνικά γεγονότα δίνουν πλεονέκτημα ανάπτυξης σε ένα προ-κακόηθες προγονικό κύτταρο και ακολουθούνται από

συσσώρευση άλλων μεταλλάξεων που προκαλούν την λευχαιμική μετατροπή. Ενώ η συνολική βλάβη του γενετικού υλικού μάλλον υποεκτιμάται, το κριτικό μέγεθος της γονιδιακής βλάβης που είναι απαραίτητη για μονοκλωνικό πολλαπλασιασμό καθώς και οι ρυθμιστές της μετατροπής δεν έχουν ακόμη πλήρως κατανοηθεί. Νεώτερες τεχνικές καθορισμού γενετικών βλαβών, όπως το πολλαπλό χρωματισμού FISH και ο έλεγχος του DNA, καθώς και η γνώση του ρόλου του κάθε γονιδίου θα μας επιτρέψουν στο εγγύς μέλλον να βρούμε ένα κοινό παρονομαστή στον καταρράκτη της γενετικής βλάβης αυτής της ετερογενούς νόσου. Αυτό θα οδηγήσει όχι μόνο στην καλύτερη κατανόηση των ΜΔΣ, αλλά και στην ανεύρεση νέων θεραπειών, βασιζόμενων στην μοριακή βιολογία.

1.8.2. Μυελική ανεπάρκεια στα ΜΔΣ

Η αιμοποίηση στα ΜΔΣ χαρακτηρίζεται, εκτός από την κλωνικότητα, επίσης από διαταραχή του πολλαπλασιασμού και της διαφοροποίησης των προγονικών κυττάρων και από μειωμένη κυτταρική επιβίωση. Η αιμοποίηση βρίσκεται σε στενή σχέση με το μικροπεριβάλλον, που αποτελείται από κυτταρικά στοιχεία, το εξωκυττάριο στρώμα και τις αυτοκρινώς και παρακρινώς δρώσες κυτταροκίνες. Εκτός από την στηρικτική λειτουργία το μικροπεριβάλλον του στρώματος ρυθμίζει επιπλέον την ανάπτυξη και επιβίωση των προγονικών κυττάρων. Στα ΜΔΣ δυσλειτουργούν τόσο τα προγονικά κύτταρα όσο και το στρώμα του μικροπεριβάλλοντος.

Αιμοποιητικά προγονικά κύτταρα

Έχει αποδειχθεί, από δεκαετίας περίπου, ότι η αιμοποίηση στα ΜΔΣ συνδέεται με αυξημένη ενδομυελική απόπτωση. Παρατηρείται σε όλους τους τύπους κατά FAB υποτύπους των ΜΔΣ και αφορά την μυελική, ερυθρά και μεγακαρυοκυτταρική σειρά με συχνότητες μεταξύ 17% και 50%.¹¹² Οι περισσότεροι ερευνητές συμφωνούν ότι οι υψηλότεροι ρυθμοί απόπτωσης παρατηρούνται στις RA, RARS και RAEB, ενώ παρατηρείται μια προοδευτική μείωση της απόπτωσης καθώς η νόσος εξελίσσεται προς RAEB-t και δευτεροπαθή ΟΜΛ.¹¹³ Δεν βρέθηκε καμία σχέση μεταξύ του ρυθμού απόπτωσης και των κυτταρογενετικών ευρημάτων ή της μονοκλωνικότητας.

Η αυξημένη απόπτωση μπορεί να οφείλεται στην αύξηση των κυτταροκινών που προάγουν την απόπτωση ή/ και στην μείωση των κυτταροκινών που προάγουν την επιβίωση, στην ενεργοποίηση του Fas-FasL συστήματος¹¹⁴ και στην ενδογενή δυσλειτουργία του κυτταρικού κύκλου.

Αρκετοί συγγραφείς έχουν αναφέρει αυξημένα επίπεδα του παράγοντα νέκρωσης του όγκου (Tumor necrosis factor- α , TNF- α) στον ορό και στον μυελό των ασθενών με ΜΔΣ.¹¹⁵ Τα επίπεδα του TNF- α και της ιντερλευκίνης-1 β (Interleukin-1 β , IL-1 β) σχετίζονται με τον βαθμό της απόπτωσης και ο TNF- α μπορεί να προκαλέσει απόπτωση μέσω οξειδωσης του DNA και των πρωτεϊνών.¹¹⁶

Επιπλέον τα κυτταρικά μηνύματα επιβίωσης είναι συχνά ελαττωμένα στα ΜΔΣ, όπως αποδεικνύεται από τα ελαττωμένα επίπεδα κυτταροκινών στον ορό και στον μυελό.¹¹⁷ Αυτό οδηγεί τον κυτταρικό κύκλο προς προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο. Τα ανωτέρω in vivo ευρήματα επιβεβαιώνονται από τα in vivo ευρήματα της θεραπείας ΜΔΣ με TNF- α και με κυτταροκίνες, όπως ο

παράγοντας που διεγείρει τον σχηματισμό αποικιών από κοκκιοκύτταρα (G-CSF, Granulocyte-Colony Stimulating Factor).

Η πρωτεΐνη Fas (ή Cd95) είναι μία 45kD μεμβρανική πρωτεΐνη που προκαλεί απόπτωση όταν συνδεθεί με το φυσιολογικό της σύνδεσμο Fas-Ligand (FasL). Οι κυτταροκίνες TNF- α και INF- γ αυξάνουν την δράση της. Η έκφραση του Fas στα ΜΔΣ βρέθηκε αυξημένη σε ποικίλα κύτταρα του μυελού, όπως στα CD34+ προγονικά κύτταρα, στους ερυθροβλάστες και στα κύτταρα της μυελικής σειράς. Παρόλο που η πρωτεΐνη Fas είναι ένας σημαντικός διεγέρτης της απόπτωσης δεν βρέθηκε καμία σημαντική συσχέτιση μεταξύ αυτής και των κατά FAB υποτύπων των ΜΔΣ ή του ρυθμού απόπτωσης.¹¹⁸

Το FasL εκφράζεται στους ίδιους πληθυσμούς με το Fas συμπεριλαμβανομένων και των CD68+ μακροφάγων. Η λειτουργικότητα του συστήματος Fas στα ΜΔΣ αποδείχθηκε με την χρήση διεγερτικών και ανταγωνιστικών συνδέσμων. Οι πρώτοι προκαλούν μείωση και οι δεύτεροι αύξηση των αποικιών σε ημίρρευστες καλλιέργειες.

Η ενεργοποίηση του Fas προκαλεί εντός του κυττάρου ενεργοποίηση των πρωτεϊνών της κυστεΐνης (κασπάσες), οι οποίες είναι υπεύθυνες για την πρωτεολυτική διάσπαση κατά την απόπτωση.¹¹⁹ Προσθήκη αναστολέων των κασπασών σε ημίρρευστες καλλιέργειες κυττάρων μυελού των οστών από ασθενείς με ΜΔΣ είχε σαν αποτέλεσμα σημαντική αύξηση του αριθμού των αποικιών της ερυθράς και της μυελικής σειράς.

Άλλα γονίδια σχετιζόμενα με την απόπτωση που έχουν μελετηθεί στα ΜΔΣ είναι η ομάδα των Bcl-2 γονιδίων. Πρώιμα ΜΔΣ (RA, RARS) παρουσιάζουν μια αύξηση στην σχέση των προ-αποπτωτικών (Bax, Bad) έναντι των αντι-αποπτωτικών (Bcl-2, Bcl-X) πρωτεϊνών,¹²⁰ ενώ στα ΜΔΣ προχωρημένου σταδίου (RAEB, RAEB-t) και κατά την εξέλιξη σε OMA η σχέση αναστρέφεται λόγω αύξησης της έκφρασης του Bcl-2.¹²¹

Αιμοποιητικό μικροπεριβάλλον

Ο ακριβής ρόλος του μικροπεριβάλλοντος του στρώματος στην πρόκληση απόπτωσης στα ΜΔΣ είναι ακόμα άγνωστος. Η ανάπτυξη του στρώματος έχει σοβαρή βλάβη και σχετίζεται με μειωμένη ικανότητα να υποστηρίξει την φυσιολογική και μυελοδυσπλαστική αιμοποίηση.¹²² Τα αυξημένα μακροφάγα του στρώματος είναι οι ρυθμιστές της παραγωγής των προ-αποπτωτικών κυτταροκινών όπως ο TNF- α (Tumor Necrosis Factor), Ιντερφερόνη- γ (Interferon- γ , IFN- γ) και ο μετατρέπων αυξητικός παράγοντας TGF- β (Transforming Growth Factor).¹²³ Δεν είναι γνωστό αν η διαταραχή στην επαφή των κυττάρων του στρώματος με τα προγονικά κύτταρα των ΜΔΣ, μέσω μορίων προσκόλλησης (ιντεργκρίνης), σχετίζονται με την απόπτωση.

Ανεξάρτητα του μηχανισμού που οδηγεί στην απόπτωση, είναι γενικά παραδεκτό ότι ο ενδομυελικός προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος είναι υπεύθυνος για τις κυτταροπενίες στο περιφερικό αίμα. Είναι όμως ακόμη άγνωστο αν η αυξημένη απόπτωση στα ΜΔΣ σχετίζεται με την μοριακή παθογένεση της νόσου ή αν αυτή είναι μόνο μια συνέπεια της ανεπιτυχούς αιμοποίησης, που

προκαλείται από την γενετική βλάβη και τις αλλαγές του μικροπεριβάλλοντος. Ακόμη, υπάρχει η πιθανότητα η αυξημένη απόπτωση να αποτελεί ένα φαινόμενο διαφυγής, που έχει στόχο την εξάλειψη του κακοήθους κλώνου.

Συνοψίζοντας τα στοιχεία από την πρόσφατη βιβλιογραφία, φαίνεται ότι η παθογένεση των ΜΔΣ είναι σύνθετη και εμπλέκονται τόσο τα προγονικά αιμοποιητικά προγονικά κύτταρα, όσο και το αιμοποιητικό μικροπεριβάλλον. Τα τελευταία χρόνια πολλοί ερευνητές περιέγραψαν ανωμαλίες του γονότυπου και του φαινότυπου της αιμοποίησης των ΜΔΣ. Μεγάλη πρόκληση για το εγγύς μέλλον αποτελεί η αποσαφήνιση αυτών των ανωμαλιών και η προσπάθεια σύνδεσης της γονιδιακής βλάβης με την διαταραχή της παραγωγής, διαφοροποίησης και της κυτταρικής επιβίωσης. Η καλύτερη γνώση της παθογένειας των ΜΔΣ θα οδηγήσει και σε καλύτερη θεραπευτική αντιμετώπιση.

1.9. ΔΙΑΓΝΩΣΗ

Παρόλο που τα ΜΔΣ είναι μία ετερογενής ομάδα νόσων που γενικώς αναγνωρίζονται και ταξινομούνται σύμφωνα με τα κριτήρια που έχουν συσταθεί από την ομάδα FAB, πολλές φορές συναντώνται δυσκολίες κατά την διάγνωσή τους. Τα σημαντικότερα προβλήματα ξεκινούν από τα ΜΔΣ χαμηλού κινδύνου, ιδιαίτερα την RA, διότι η μυελοδυσπλασία δεν είναι απόλυτα συνώνυμη με τα ΜΔΣ, αλλά μπορεί να απαντηθεί και σε μία σειρά κληρονομικών, μεταβολικών και τοξικών για τον μυελό διαταραχών. Η διάγνωση των ΜΔΣ γίνεται με βάση: **i) τα χαρακτηριστικά των μορφολογικών αλλοιώσεων όλων των σειρών στο αίμα και στο μυελό των οστών (αναφέρθηκαν παραπάνω), ii) της οστεομυελικής βιοψίας, iii) τις καλλιέργειες μυελού, iv) τις χρωμοσωμικές διαταραχές (αναφέρθηκαν παραπάνω) v) άλλα εργαστηριακά ευρήματα**

1.9.1. Οστεομυελική βιοψία

Η οστεομυελική βιοψία αποτελεί μία εξέταση σημαντική για την διάγνωση των ΜΔΣ και προσθέτει συχνά πληροφορίες, που δεν παρέχονται από την εξέταση του μυελικού επιχρίσματος. Η βιοψία επιτρέπει την εκτίμηση αρκετών παραμέτρων όπως, η κυτταροβρίθεια του μυελού, η ανώμαλη κατανομή κυττάρων, η ύπαρξη ίνωσης ή λεμφικής διήθησης και ο υπολογισμός απόπτωσης.

Η κυτταροβρίθεια του μυελού αποτελεί σημαντικό εύρημα για την διάγνωση του ΜΔΣ. Έρευνες έδειξαν συσχέτιση της κυτταροβρίθειας με την πρόγνωση και συγκεκριμένα η αυξημένη κυτταροβρίθεια συνδέθηκε με τη χειρότερη πρόγνωση.¹²⁴

Επίσης, η βιοψία βοηθά στην εύκολη ανεύρεση τοπογραφικών αλλοιώσεων της αρχιτεκτονικής του μυελού, που είναι χαρακτηριστικό γνώρισμα των ΜΔΣ. Συγκεκριμένα, τα άωρα μυελικά προγονικά κύτταρα κινούνται κεντρικά προς την μυελική κοιλότητα, αντί για την συνήθη παραδοκιδώδη κατανομή τους. Το φαινόμενο αυτό παρατηρήθηκε πρώτα από τον Krause,¹²⁵ και ονομάστηκε από τους Tricot et al.¹²⁶ “Ανώμαλη εντόπιση άωρων προγονικών κυττάρων”, “Abnormal Localization of Immature Precursors” (ALIP) και θεωρείται κακός προγνωστικός δείκτης. Οι

τελευταίοι ερευνητές όρισαν ως ALIP την παρουσία, σε μία συγκεκριμένη τομή (συνολικά τουλάχιστον σε τρεις), τριών έως και περισσότερο από πέντε μυελοβλαστών και προμυελοκυττάρων, τα οποία αθροίζονται κεντρικά στον μυελό. Σύμφωνα με τους Tricot et al.,¹²⁶ το φαινόμενο ALIP προσδιορίζεται σε όλες τις κατηγορίες του ΜΔΣ, συμπεριλαμβάνοντας την RA και την RARS, αλλά παρατηρείται συχνότερα στην RAEB, στην RAEB-t και στην CMML.^{123,125} Η αναγνώριση του φαινομένου ALIP απαιτεί λεπτές τομές άριστου υλικού που είναι δύσκολο να επιτευχθούν από τα δείγματα βιοψίας, εμβαπτισμένα σε παραφίνη. Επιπλέον, αθροίσεις αρχέγονων μορφών ερυθρών και μεγακαρυοκυττάρων θυμίζουν ALIP, αλλά σε αυτές τις περιπτώσεις είναι απαραίτητες και οι ανοσοιστοχημικές μέθοδοι προκειμένου να τις διακρίνουμε από τις αθροίσεις ανώριμων κοκκιοκυττάρων.¹²⁸ Τελευταία, το φαινόμενο ALIP μπορεί να υπερδιαγιγνώσκεται, εάν τα άωρα κοκκιοκύτταρα σχηματίζουν αθροίσματα πάνω ή κάτω από την δοκίδωση του οστού και δεν συμπεριλαμβάνονται στην τομή που εξετάζεται.

Δυσπλασία στην ερυθρά, λευκή και αιμοπεταλιακή σειρά μπορεί να εντοπιστεί με την βιοψία οστού, αν τα δείγματα είναι κατάλληλα παρασκευασμένα. Η ερυθροποίηση χαρακτηρίζεται συχνά από μεγαλοβλαστοειδείς χαρακτήρες, ελαττωματική ωρίμανση και αυξημένο αριθμό προερυθροβλαστών. Οι δακτυλιοειδείς σιδηροβλάστες μπορούν μερικές φορές να εντοπιστούν σε θέσεις με χρώσεις σιδήρου, αν και εντοπίζονται καλύτερα σε μυελικά επιχρίσματα. Η δυσπλασία των μεγακαρυοκυττάρων εντοπίζεται εύκολα με την βιοψία ως μεμονωμένα ή ως συναθροίσεις μεγακαρυοκυττάρων με υπόλοβους πυρήνες ή ως μικρομεγακαρυοκύτταρα. Η δυσπλασία των κοκκιοκυττάρων παρατηρείται δυσκολότερα στην βιοψία από το μυελικό επίχρισμα αν και μερικές φορές παρατηρείται υπέρπυκνη πυρηνική χρωματίνη με πολυλοβωτούς ή υπόλοβους πυρήνες.

Επιπλέον, μία σημαντική λειτουργία της βιοψίας είναι ο ρόλος της στην ταξινόμηση και πρόγνωση των ΜΔΣ. Τα δείγματα που λαμβάνονται από το μυελικό επίχρισμα αφορούν αρκετές μεγάλες συλλογές βλαστών, οι οποίες μπορεί να είναι εστιακές και να απαιτούνται δείγματα κατάλληλου μεγέθους, προκειμένου να γίνει σωστός προσδιορισμός των βλαστών.

Η οστεομυελική βιοψία είναι ιδιαίτερα χρήσιμη σε περιπτώσεις που ο μυελός είναι αυξημένης ή φυσιολογικής κυτταροβρίθειας καθώς και σε περιπτώσεις με αυξημένη ίνωση, στις οποίες λαμβάνεται πτωχό και κατά συνέπεια μη αντιπροσωπευτικό δείγμα μυελικού επιχρίσματος.¹²⁹ Επομένως, είναι πιθανά απαραίτητη στα δευτεροπαθή ΜΔΣ, στα οποία τόσο η μειωμένη κυτταροβρίθεια όσο και η ίνωση είναι συχνότερες των πρωτοπαθών ΜΔΣ. Επίσης είναι σημαντική στην διαφορική διάγνωση ενός υποκυτταρικού ΜΔΣ, που πιθανά έχει αυξημένη ίνωση και εστίες βλαστών, από την απλαστική αναιμία που δεν έχει αυτά τα χαρακτηριστικά.¹²⁹

Οι άωρες μορφές των πρόδρομων αιμοποιητικών κυττάρων που φέρουν τους πρόγονους/δείκτες των βλαστικών κυττάρων CD34 μπορούν να εντοπιστούν σε ορισμένες θέσεις της βιοψίας του οστού με την χρήση των μονοκλωνικών αντισωμάτων QBEND 10. Αυξημένος αριθμός των CD34+ μπορούν να παρατηρηθούν στην RAEB, RAEB-t, και στην CMML, αλλά όχι στην RA ή στην

RARS.¹³⁰ Ευρήματα από συναθροίσεις των CD34+ προσδιορίζουν μία ομάδα μυελοδυσπλαστικών ασθενών με δυσμενή πρόγνωση. Επιπλέον, τα CD34+ είναι συχνά λιγότερα σε αριθμό από τον αριθμό των βλαστών που παρατηρούνται στα μυελικά επιχρίσματα των ίδιων των ασθενών. Κατά συνέπεια, μερικοί μυελοδυσπλαστικοί ασθενείς με κακή πρόγνωση εκδηλώνουν μικρή ή καμία αύξηση των CD34, ακόμα και κατά την παρουσία σημαντικά αυξημένου αριθμού βλαστών.¹³¹ Αυτές οι διαφορές μπορούν να εξηγηθούν από την πρόσφατη θεώρηση ότι οι πιο ανώριμοι, μη κοκκιώδεις μυελοβλάστες εκφράζουν τα CD34, δείχνοντας ότι ανοσοφαινοτυπικά ορισμένοι βλάστες μπορούν κλωνικά να αναπτυχθούν σε διάφορες μυελοδυσπλαστικές διεργασίες.¹³²

Συμπερασματικά, σύμφωνα με τα παραπάνω, μπορούμε να παρατηρήσουμε την σημαντική συνεισφορά της οστεομυελικής βιοψίας στην αξιολόγηση του περιφερικού αίματος και του μυελικού επιχρίσματος στην διάγνωση του ΜΔΣ και στην εκτίμηση της πρόγνωσης. Η σημαντικότητα της βιοψίας γίνεται ακόμα μεγαλύτερη όταν το δείγμα του μυελικού επιχρίσματος είναι πτωχό και επομένως μη αντιπροσωπευτικό ή είναι αδύνατο να αποκτηθεί: dry tap.

1.9.2 Καλλιέργειες μυελού

Τα αρχέγονα πολυδύναμα κύτταρα της σειράς GM-CFC (Granulocyte- Monocyte Colony Forming Cell) πολλαπλασιάζονται και διαφοροποιούνται παράγοντας πολυδύναμα πρόδρομα κύτταρα. Από τα κύτταρα αυτά προέρχονται οι αιμοποιητικές σειρές των ώριμων κυττάρων. Η παραγωγή, λειτουργία και διαφοροποίηση των αιμοποιητικών κυτταρικών σειρών γίνεται σε κατάλληλο υλικό και ρυθμίζεται από την παρουσία μίας ομάδας γλυκοπρωτεϊνών, τους αυξητικούς αιμοποιητικούς παράγοντες, που είναι γνωστοί σαν παράγοντες που διεγείρουν τον σχηματισμό αποικιών CSF (Colony Stimulator Factor) ή σαν ενέργεια που ρυθμίζει τον σχηματισμό αποικιών CSA (Colony Stimulating Activity).¹³³

Οι κλωνικές ανωμαλίες των αιμοποιητικών κυττάρων που υπάρχουν στον μυελό των οστών των ασθενών με ΜΔΣ και έχουν καθοριστεί με *in vitro* καλλιέργειες του μυελού. Οι βιολογικές αυτές παράμετροι χρησιμοποιούνται για την εκτίμηση των παθογενετικών μηχανισμών και την πρόγνωση στους μυελοδυσπλαστικούς ασθενείς.^{1,134} Η καλλιέργεια των μητρικών κυττάρων προσφέρει μικρή διαγνωστική αξία. Ο σχηματισμός των αποικιών είναι είτε μικρός, είτε ελλειπής στην πλειοψηφία των ασθενών με ΜΔΣ, όπως επίσης και στους ασθενείς με οξεία μυελογενή λευχαιμία. Η δε προοδευτική ελάττωση αυτών των αποικιών αποτελεί κακό προγνωστικό σημείο.^{134,135} Στη RA και RARS υπάρχει καλή ανάπτυξη των μητρικών κυττάρων των πολυμορφοπύρηνων/ μακροφάγων, ενώ αντίθετα είναι φτωχή στην RAEB και RAEB-t.¹³⁴⁵

1.9.3 Άλλα εργαστηριακά ευρήματα

Πλήθος εργαστηριακών ευρημάτων παρατηρούνται στους ασθενείς με ΜΔΣ, τα οποία όμως είναι χωρίς ιδιαίτερη διαγνωστική και προγνωστική σημασία.

Η δυσερυθροποίηση, που συνήθως λαμβάνει μέρος στα ΜΔΣ, επιφέρει και μία σειρά μεταβολικών ανωμαλιών, όπως: επανεμφάνιση της αιμοσφαιρίνης F(αυξημένη στο 40%), επίκτητη αιμοσφαιρίνη H (μερικές φορές), αύξηση του κλάσματος, που αφορά την σύνθεση των αλυσίδων των σφαιρινών α/ μη-α και αλλαγές στα μεμβρανικά αντιγόνα (απώλεια A και B, εμφάνιση I και ενεργοποίηση Tn).¹³⁶

Επειδή τα ΜΔΣ είναι μία κλωνική διαταραχή, η οποία ορισμένες φορές επηρεάζει τα αρχέγονα κύτταρα των λεμφοκυττάρων σε διάφορες φάσεις της διαφοροποίησης τους, η λεμφοπενία είναι παρούσα σε πολλούς μυελοδυσπλαστικούς ασθενείς. Ο αριθμός των CD4+ T κυττάρων είναι μειωμένος, ο πληθυσμός των CD8+ κατασταλτικών κυτταροτοξικών T κυττάρων είναι φυσιολογικός ή λίγο αυξημένος και τα NK(natural killers) κύτταρα (καθώς και η δραστηριότητά τους) είναι μειωμένη.¹³⁷ Τα B κύτταρα συμπεριλαμβάνονται επίσης στις κλωνικές διαταραχές της λεμφοποίησης. Το ένα τρίτο των ασθενών εκδηλώνουν μία αύξηση του επιπέδου των πολυκλωνικών ανοσοσφαιρινών του ορού και το 12% των ασθενών με ΜΔΣ εκδηλώνουν μία αύξηση των γ- μονοκλωνικών ανοσοσφαιρινών. Η αιτία των ανοσολογικών ανωμαλιών δεν είναι σαφής και ίσως να οφείλονται στις επαναλαμβανόμενες λοιμώξεις που συμβαίνουν συχνά στο ΜΔΣ.¹³⁸

Τα αιμοπετάλια είναι μορφολογικά και λειτουργικά ανώμαλα: παρουσιάζουν ελαττωμένη προσκολλητικότητα στο κολλαγόνο και διαταραχή της συσώρευσης με ADP και κολλαγόνο. Επίσης, παρατηρείται διαταραχή στο χρόνο ροής στο 50% των ασθενών, ακόμα και αν ο αριθμός των αιμοπεταλίων είναι φυσιολογικός.¹³⁹

1.10. ΔΙΑΦΟΡΙΚΗ ΔΙΑΓΝΩΣΗ

Η κλινική διάγνωση ενός τυπικού ΜΔΣ, σύμφωνα με τα κριτήρια της ομάδας FAB, δεν παρουσιάζει σημαντική δυσκολία. Ενώ η διάγνωση μπορεί να τεθεί με βάση το ιστορικό και τα ευρήματα από το περιφερικό αίμα, τα μορφολογικά ευρήματα από την εξέταση του μυελού των οστών είναι σημαντικά για να οριστικοποιηθεί η διάγνωση.¹⁴⁰ Η διαφοροδιάγνωση με την απλαστική αναιμία είναι δύσκολη σε περιπτώσεις που αφορούν το υποκυτταρικό ΜΔΣ. Σπάνια, διαταραχές με υποπλαστική αιμοποίηση, όπως: αμεγακαρυοκυτταρική θρομβοπενία, χρόνια ουδετεροπενία και απλαστική αναιμία, μπορούν να εξελιχθούν σε οξεία λευχαιμία και θα πρέπει να διακριθούν από τα ΜΔΣ. Σε αυτές τις περιπτώσεις, οι χρωμοσωμικές ανωμαλίες μπορούν να αποτελέσουν βοήθημα για την διάγνωση ενός ΜΔΣ. Μία άλλη διαταραχή, που μπορεί να περιπλέξει την διάγνωση ενός ΜΔΣ, αλλά η ίδια αντιπροσωπεύει μία προλευχαιμική κατάσταση, είναι η παροξυσμική νυκτερινή αιμοσφαιρινουρία.¹⁴⁰

Επιπλέον, ο ορός της βιταμίνης B₁₂ και τα επίπεδα του φυλλικού οξέος πρέπει να μετρούνται προκειμένου να αποκλειστούν τυχόν διαταραχές από ελλείψεις αυτών των βιταμινών. Η μεγαλοβλαστική αναιμία μιμείται τα ΜΔΣ ή συνυπάρχει με αυτό. Αν σε ασθενή με αναιμία και μακροκυττάρωση χορηγηθεί για 21 ημέρες 1mg υδροξυκοβολαμίνης και 5mg φυλλικού οξέος και

50mg υδροχλωρικής πυριδοξίνης και δεν διορθωθεί η αναιμία, αυξάνεται η πιθανότητα για τη διάγνωση των ΜΔΣ.¹⁴¹

Σε νέους ασθενείς, πρέπει να συμπεριληφθούν στην διάγνωση και οι συγγενείς δυσερυθροποιητικές αναιμίες. Σιδηροβλαστικές αλλαγές μπορούν επίσης να δημιουργηθούν από φάρμακα (χλωραμφενικόλη, φυματινοστατικοί παράγοντες, πενικιλλαμίνη), αλκοόλ, επαγγελματική έκθεση σε τοξίνες ή και από συσχέτισμό με κακοήθειες ή μη κακοήθειες διαταραχές (νεφρική ή ηπατική δυσλειτουργία, νόσος συνδετικού ιστού).⁴³ Οι ασθενείς, που πάσχουν από μόλυνση με τον ιό ανοσοανεπάρκειας του ανθρώπου (HIV) έχουν στον μυελό των οστών τους παρόμοια μορφολογικά χαρακτηριστικά με το ΜΔΣ και θα πρέπει να διαφοροποιηθούν από το πρωτοπαθές ΜΔΣ.⁵⁴

Η διάκριση μεταξύ CMM1 και χρόνιας μυελογενούς λευχαιμίας ορισμένες φορές μπορεί να παρουσιάσει διαγνωστικές δυσκολίες. Κυτταρογενετικές (χρωμόσωμα Philadelphia) και μοριακές (bcr/ abl μετάθεση) μελέτες θα βοηθήσουν σε τέτοιες περιπτώσεις.⁵⁴ Επίσης, η διάκριση μεταξύ οστεομυελοϊνώσεως και ΜΔΣ με συνοδό μυελοϊνώση παρουσιάζει δυσκολίες.¹⁹

1.11. ΠΡΟΓΝΩΣΗ

Η προλευχαιμία συχνά χρησιμοποιείται ως συνώνυμο με το ΜΔΣ, υποδεικνύοντας την επικινδυνότητα των μυελοδυσπλαστικών ασθενών να μεταπέσουν σε οξεία λευχαιμία (10-40%),¹⁴ αν και αρκετοί ασθενείς ζουν για μακρό χρονικό διάστημα. Ο μέσος όρος επιβίωσης των ασθενών με ΜΔΣ εξαρτάται από το στάδιο της νόσου. Στους ασθενείς με RA ή RARS και κύριο σύμπτωμα την αναιμία, η νόσος μπορεί να παραμένει σταθερή για χρόνια χωρίς επιβάρυνση της αναιμίας ή των άλλων συμπτωμάτων. Ο μέσος όρος επιβίωσης κυμαίνεται από 19 έως 64 μήνες για την RA και από 21 έως 76 μήνες για την RARS (Πίνακας 5). Η υπερφόρτωση με σίδηρο είναι ένα κοινό πρόβλημα για τους πολυμεταγγιζόμενους ασθενείς, η οποία συχνά οδηγεί σε δευτεροπαθή αιμοσιδήρωση και μερικές φορές σε αιμοχρωμάτωση. Είναι δυνατό η ύπαρξη του φαινομένου ALIP, ακόμα και σε περιπτώσεις με ποσοστό βλαστών στο μυελό των οστών < 5%, να αποτελέσει ανεξάρτητο δείκτη ή σημείο κακής πρόγνωσης. Ο μέσος όρος των ασθενών με RA/RARS, ήταν 16.5 μήνες στις περιπτώσεις με θετικό ALIP, χρόνος σημαντικά μικρότερος από τους ασθενείς με αρνητικό ALIP.¹⁴² Ο χρόνος επιβίωσης είναι σημαντικά μικρότερος για τους ασθενείς με αυξημένους βλάστες στο μυελό των οστών και κυμαίνεται από 7 έως 15 μήνες στην RAEB και από 5 έως 12 μήνες στην RAEB-t λόγω της μετάπτωσης τους σε οξεία μυελογενή λευχαιμία (ΟΜΛ) (Πίνακας 5).¹⁴³ Κλινικά, τα δευτεροπαθή ΜΔΣ εξελίσσονται πιο γρήγορα και ανταποκρίνονται λιγότερο καλά σε οποιοδήποτε τύπο θεραπείας.

Σε ασθενείς με πανκυτταροπενία, η νοσηρότητα εξαρτάται από τις φλεγμονές, την αιμορραγία και την σοβαρού βαθμού αναιμία. Η συχνότητα και η σοβαρότητα των φλεγμονών αυξάνουν με την σοβαρότητα της ουδετεροπενίας, ιδιαίτερα εάν ο απόλυτος αριθμός των ουδετερόφιλων είναι μικρότερος από 1.000/μλ. Οι επικείμενες φλεγμονές συχνά προσβάλλουν τον πνεύμονα, το

ουροποιητικό σύστημα, το δέρμα, τους βλεννογόνους υμένες και το αιμοποιητικό σύστημα. Επειδή οι περισσότεροι ασθενείς είναι ηλικιωμένοι και άλλα αίτια μη αιματολογικά συμβάλλουν σημαντικά στην θνησιμότητα. Στους ασθενείς με RAEB και RAEB-t η OML είναι το αίτιο θανάτου στο 20-55% των ασθενών, η λοίμωξη και η αιμορραγία, λόγω μυελικής ανεπάρκειας προκαλούν το 36-50% των θανάτων, ενώ τα μη αιματολογικά αίτια είναι το 10-20%. Στην RA και RARS τα στοιχεία αυτά περίπου αναστρέφονται και η OML είναι το αίτιο στο 0-29%, η λοίμωξη και η αιμορραγία στο 15-44% και τα μη αιματολογικά αίτια το 25-42% των θανάτων.¹⁴³

Προκειμένου να προσδιοριστούν οι υψηλού κινδύνου ασθενείς, αρκετά συστήματα βαθμολόγησης έχουν δημιουργηθεί, τα οποία βασίζονται σε πρώιμες αιματολογικές και κλινικές παραμέτρους. (Πίνακας 6). Όλα τα συστήματα βαθμολόγησης: “Bournemouth”¹⁴⁴ “Düsseldorf”¹⁴⁵ και “Spanish”^{12,143} περιλαμβάνουν τον βαθμό της κυτταροπενίας και το ποσοστό των βλαστών στο μυελού των οστών. Το σύστημα βαθμολόγησης “Spanish” επιπλέον περιλαμβάνει την ηλικία των ασθενών, ενώ το σύστημα “Düsseldorf” περιλαμβάνει την αύξηση της γαλακτικής δεϋδρογενάσης (LDH), επιτρέποντας έτσι ευκολότερα να συμπεριλαμβάνονται και οι ασθενείς με CMML. Το σύστημα FAB διαφέρει στο ότι βασίζεται στο βαθμό της κοκκιοκυτταρικής και της μεγακαρυοκυτταρικής δυσπλασίας.¹⁴⁶ Η κλινική χρήση αυτού του συστήματος είναι δύσκολη λόγω του υποκειμενικού παράγοντα που επηρεάζεται στις διαφορετικές ερμηνείες για τις δυσπλαστικές αλλοιώσεις των αιμοποιητικών κυττάρων.

Σε μια προσπάθεια βελτίωσης αυτών των συστημάτων, ένα διεθνές συμπόσιο για την μελέτη των ΜΔΣ συνδύασε τα κυτταρογενετικά, μορφολογικά και κλινικά χαρακτηριστικά από ασθενείς με πρωτοπαθή ΜΔΣ, που δεν είχαν υποβληθεί σε καμία θεραπεία. Τα στοιχεία συνελέγησαν και έγινε μία σφαιρική ανάλυση των δεδομένων. Οι μελέτες που είχαν γίνει μέχρι τότε και τα στοιχεία των ασθενών επανεκτιμήθηκαν, ώστε να δημιουργηθεί ένα κοινά αποδεκτό προγνωστικό σύστημα. Από την ανάλυση κάθε παράγοντα χωριστά αποδείχθηκε ότι οι πιο σημαντικοί παράγοντες για την εξέλιξη σε OML ήταν το ποσοστό των μυελοβλαστών του μυελού, ο αριθμός των κυτταρογενετικών ανωμαλιών και ο αριθμός των κυτταροπενιών. Για την επιβίωση, επιπρόσθετα με τους παραπάνω παράγοντες, αποδείχθηκαν μεγάλης σημασίας η ηλικία και το φύλο. Οι κυτταρογενετικές ανωμαλίες¹⁴⁷ που σχετιζόνταν με καλή πρόγνωση ήταν: ο φυσιολογικός καρυότυπος, η εξάλειψη του Y χρωμοσώματος μόνο, del(5q) μόνο, και del(20q) μόνο. Πτωχή πρόγνωση είχαν οι ακόλουθες κυτταρογενετικές ανωμαλίες: σύνθετος καρυότυπος (π.χ. τρεις ή περισσότερες ανωμαλίες) και ανωμαλίες του χρωμοσώματος 7. Ενδιάμεσου κινδύνου θεωρήθηκαν όλες οι άλλες ανωμαλίες. Μια πολυπαραγοντική μελέτη συνδύασε τις τρεις υποομάδες των καρυοτυπικών ανωμαλιών με το ποσοστό των βλαστών του μυελού και τον αριθμό των κυτταροπενιών για να δημιουργήσει ένα προγνωστικό μοντέλο, που ονομάζεται Διεθνές Προγνωστικό Σύστημα Βαθμολόγησης (International Prognostic Scoring System, IPSS).¹⁰¹ Αναλόγως της στατιστικής σημασίας αυτών των παραμέτρων οι ασθενείς κατανεμήθηκαν σε

διακριτές ομάδες κινδύνου (χαμηλού, ενδιάμεσου-1, ενδιάμεσου-2 και υψηλού) για την εξέλιξη σε ΟΜΛ και την επιβίωση (Πίνακας 7).

Πίνακας 5: Επιβίωση και λευχαιμική μετατροπή ΜΔΣ σε σχέση με υπότυπους FAB

Υπότυπος κατά FAB	Μέση επιβίωση (μήνες)	% Λευχαιμική μετατροπή
RA	37 (19-46)	11 (0-20)
RARS	49 (21-76)	5 (0-15)
RAEB	9 (7-15)	23 (11-50)
RAEBt	6 (5-12)	48 (11-75)
CMML	22 (8-60)	20 (3-55)

Πίνακας 6: Συστήματα βαθμολόγησης για την πρόγνωση των ΜΔΣ

Παράμετροι	Bournemouth Σύστημα		FAB Σύστημα		Düsseldorf Σύστημα		Spanish Σύστημα	
	Όριο	Βαθμοί	Όριο	Βαθμοί	Όριο	Βαθμοί	Όριο	Βαθμοί
Ηλικία (έτη)	-		-		-		>60	1
Αιμοσφαιρίνη (gr/dl)	<10	1	-		<9	1	-	
Αιμοπετάλια $\times 10^3$ (/μl)	<100	1	100-150	1	<100	1	51-100	1
			50-99	2			≤50	2
			20-49	3				
Ουδετερόφιλα $\times 10^3$ (/μl)			<20	4				
	0.25	1	1-3	1	-		-	
			0.5-0.9	2				
		<0.5	3					
	>16	1	-				-	

Πίνακας 7: Διεθνές προγνωστικό σύστημα βαθμολόγησης για επιβίωση των ΜΔΣ και εξέλιξη σε ΟΜΛ (IPSS)

	Τιμή score για επιβίωση και εξέλιξη σε ΟΜΛ				
Προγνωστικός Δείκτης	0	0.5	1	1.5	2
% βλάστες μυελού	<5	5-10	-	11-20	21-30
Καρυότυπος	Καλής πρόγνωσης	Ενδιάμεσης πρόγνωσης	Πτωχής πρόγνωσης		
Κυτταροπενίες	0/ 1	2/ 3			
Ομάδα κινδύνου	Συνολικό score				
Χαμηλού κινδύνου	0				
Ενδιάμεσου κινδύνου-1	0.5-1.0				
Ενδιάμεσου κινδύνου-2	1.5-2.0				
Υψηλού κινδύνου	≥2.5				

Καλής πρόγνωσης καρυότυπος: -Y, del(5q), del(20q)

Πτωχής πρόγνωσης καρυότυπος: 3 ή περισσότερες ανωμαλίες (σύνθετες) ή ανωμαλίες του χρωμοσώματος 7

Ενδιάμεσης πρόγνωσης καρυότυπος: όλες οι άλλες ανωμαλίες

Κυτταροπενίες: ουδετερόφιλα <1.500/μl, αιμοπετάλια <100.000/μl, αιμοσφαιρίνη <10gr/dl

1.12. ΘΕΡΑΠΕΙΑ

Δεν υπάρχει ικανοποιητική θεραπευτική αντιμετώπιση, εκτός από την μεταμόσχευση του μυελού των οστών, σε νέους ασθενείς. Από παλιά θεωρείται σκόπιμη η ελάχιστη επέμβαση στο ΜΔΣ. Οι περισσότεροι ασθενείς είναι ηλικιωμένοι και παρουσιάζουν μεγάλη τοξικότητα στη χημειοθεραπεία. Το ΜΔΣ απαντά λιγότερο καλά σε σχέση με την ΟΜΛ στην χημειοθεραπεία και δύσκολα διορθώνεται η δυσπλασία του μυελού. Πολλοί ασθενείς ζουν καλά χωρίς χημειοθεραπεία.¹⁴¹ Κατά συνέπεια, είναι σημαντικό να εντοπίσουμε τις βιολογικές διαφορές των διαφόρων υποτύπων του ΜΔΣ, προκειμένου να εφαρμόσουμε την πιο κατάλληλη θεραπεία στους ασθενείς με πρωτοπαθές ΜΔΣ. Οι περισσότεροι ασθενείς με RA και RARS έχουν μία σχετικά σταθερή κλινική πορεία για μεγάλο χρονικό διάστημα και μικρή πιθανότητα να μεταπέσουν σε οξεία λευχαιμία. Η πλειονότητα των ασθενών με RAEB-t και CMML έχουν μία ταχέως εξελισσόμενη ανεπάρκεια του μυελού των οστών με μεγάλη πιθανότητα για λευχαιμική υποτροπή. Οι βιολογικές αυτές διαφορές, η μεγάλη ηλικία των ασθενών με ΜΔΣ, η αλληλοεπικάλυψη των νοσημάτων αυτών με άλλα νεοπλασματικά νοσήματα του αρχέγονου αιμοποιητικού κυττάρου καθώς και η ποικίλη κλινική τους εικόνα

δημιούργησε δυσκολίες στην θεραπευτική τους προσέγγιση. Τα ΜΔΣ προέρχονται από μία σταδιακή άθροιση των γενετικών βλαβών του αρχέγονου αιμοποιητικού κυττάρου (stem cell). Έχει αποδειχθεί ότι οι πρώιμες γενετικές βλάβες οδηγούν σε αυξημένη απόπτωση των προγονικών κυττάρων με αποτέλεσμα περιφερικές κυτταροπενίες.¹⁴⁸ Αντίθετα, η λευχαιμική εξέλιξη προέρχεται από γεγονότα που εμποδίζουν τον προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο.¹⁴⁹ Επομένως, η θεραπεία στα αρχικά στάδια έχει ως σκοπό την μείωση της αυξημένης απόπτωσης και την προαγωγή της διαφοροποίησης, ενώ στα προχωρημένα στάδια απαιτείται θεραπεία που θα εξαφανίσει τον νεοπλασματικό κλώνο. Τα χαμηλού κινδύνου ΜΔΣ, RA και RARS, μπορεί να έχουν ικανοποιητική εξέλιξη αν αντιμετωπιστούν με υποστηρικτική θεραπεία, όπου ενδείκνυται. Οι ασθενείς με RAEB-t και CMML αντιμετωπίζονται με επιθετική αντιλευχαιμική θεραπεία, ιδιαίτερα για ηλικίες κάτω των 50 ετών με 20-30% βλάστες στο μυελό των οστών και σωματία Auer.

1.12.1. Υποστηρικτική αγωγή

Καμία θεραπεία δεν έχει αποδειχθεί, προς το παρόν, ικανή για να βελτιώσει την ανεπαρκή αιμοποίηση. Εν τούτοις, η υποστηρικτική θεραπεία αποτελεί γενικά την πιο συχνά χρησιμοποιούμενη και απαραίτητη θεραπεία για τους ασθενείς με ΜΔΣ. Οι ασθενείς θα πρέπει να υποβάλλονται σε μεταγγίσεις ερυθρών αιμοσφαιρίων και αιμοπεταλίων για την συμπτωματική θεραπεία της αναιμίας και της αιμορραγίας λόγω θρομβοπενίας. Η ουδετεροπενία προκαλεί επαναλαμβανόμενες λοιμώξεις, οι οποίες πρέπει να θεραπεύονται έγκαιρα, ενώ κρίνεται απαραίτητη και η προφυλακτική αντιβίωση. Οι πολλαπλές μεταγγίσεις οδηγούν σύντομα σε υπερφόρτωση με σίδηρο και σε πολλούς ασθενείς ενδείκνυται αποσιδήρωση με δεσφερριόξαμίνη για την πρόληψη της επιβάρυνσης της καρδιακής λειτουργίας και των υπολοίπων οργάνων.¹⁴¹

1.12.2. Αιμοποιητικοί αυξητικοί παράγοντες

Οι αιμοποιητικοί αυξητικοί παράγοντες παίζουν ένα σπουδαίο ρόλο στον έλεγχο της αιμοποίησης in vivo. Έχει αποδειχθεί από μελέτες ότι τόσο ο παράγοντας που διεγείρει τον σχηματισμό αποικιών κοκκιοκυττάρων (G-CSF, Granulocyte Colony-Stimulating Factor), όσο και ο παράγοντας που διεγείρει τον σχηματισμό αποικιών κοκκιοκυττάρων-μακροφάγων (CFU-GM, Colony Forming Unit-Granulocyte Macrophage), αυξάνουν την ανάπτυξη αποικιών της μυελικής σειράς, ελατώνουν την απόπτωση και βελτιώνουν τον αριθμό και την λειτουργία των κοκκιοκυττάρων στο 76-90% των ασθενών με ΜΔΣ.¹⁵⁰

Θεωρητικά, οι αυξητικοί αιμοποιητικοί παράγοντες επεκτείνουν την δράση τους σε διάφορα επίπεδα, όπως: i) διέγερση της παραγωγής και διαφοροποίησης των φυσιολογικών αιμοποιητικών προγονικών κυττάρων και αποτροπή της πρώιμης απόπτωσης ii) επαγωγή της διέγερσης και διαφοροποίησης του μυελοδυσπλαστικού, μετασχηματισμένου κυτταρικού κλώνου και πάλι αποτροπή της απόπτωσης του ώριμου απογόνου iii) επιτάχυνση της αποκατάστασης της αιματολογικής εικόνας

μετά από επιθετική χημειοθεραπεία, μειώνοντας έτσι τον κίνδυνο της παρατεταμένης κυτταροπενίας¹⁵¹ και iv) ευαισθητοποίηση των κακοηθών κυττάρων απέναντι στην κυτταροτοξική δράση των χημειοθεραπευτικών παραγόντων, όπως: κυτοσίνη-αραβινοσίδη, ιδιαίτερα με την χρήση GM-CSF ή ιντερλευκίνης 3 (IL-3).¹⁵² Κατά την διάρκεια της θεραπείας με G-CSF, ο απόλυτος αριθμός των ουδετερόφιλων αυξάνει στο 90% των ασθενών, η λειτουργία των ουδετερόφιλων βελτιώνεται και κατά συνέπεια μειώνεται ο ρυθμός ανάπτυξης των φλεγμονών, ενώ δεν αλλάζει η επιβίωση.^{153,154} Στις παρενέργειες της χορήγησης του G-CSF περιλαμβάνονται: η θρομβοπενία, που είναι και η συχνότερη, οι οστικοί πόνοι, το σύνδρομο Sweet και η υπερφόρτωση με υγρά.^{155,156} Κατά συνέπεια, οι ασθενείς με ΜΔΣ δεν θα πρέπει να λαμβάνουν προφυλακτικά G-CSF, ενώ συχνά να ελέγχεται ο αριθμός των αιμοπεταλίων.

Κατά καιρούς, έγιναν προσπάθειες για να βελτιωθεί η απάντηση στον αυξητικό παράγοντα G-CSF με την προσθήκη του παράγοντα διαφοροποίησης, **ρετινοϊκό οξύ** (all-trans retinoic acid, ATRA),^{157,158} προκειμένου να αξιοποιηθεί η συνέργια των δύο αυτών παραγόντων, όπως παρατηρήθηκε στην *in vitro* διαφοροποίηση των λευχαιμικών βλαστών. Από μόνος του, ο παράγοντας ATRA είναι μάλλον ανενεργός και σπάνια οδηγεί σε βελτίωση του αριθμού των κοκκιοκυττάρων, των αιμοπεταλίων και της αιμοσφαιρίνης.¹⁵⁹ Η πλειονότητα των παρενεργειών, που σχετίζονται με τον παράγοντα ATRA, περιλαμβάνουν την ξηρότητα δέρματος και την απολέπιση των χειλών και των γωνιών του στόματος. Η *in vitro* ανάλυση των μονοκυττάρων που λήφθηκαν από τους ασθενείς πριν και μετά την θεραπεία με ATRA και G-CSF έδειξαν μία τάση των μονοκυττάρων να εκκρίνουν μεγαλύτερα ποσά IL-8 και του παράγοντα-α νέκρωσης (TNF-α).¹⁶⁰ Συμπερασματικά, ο συνδυασμός του παράγοντα ATRA και του G-CSF δεν έδειξε κάποια ουσιαστική υπεροχή απέναντι στην χορήγηση μόνο του G-CSF. Με την θεραπευτική χρήση του αυξητικού παράγοντα **GM-CSF** αυξάνεται ο αριθμός των ουδετερόφιλων, των ηωσινόφιλων, των μονοκυττάρων και των λεμφοκυττάρων. Επίσης, δραστηριοποιούνται τα μονοκύτταρα προκαλώντας μία αυξημένη έκκριση του TNF-α και της IL-6.¹⁶¹ Στο 20% των ασθενών παρατηρείται μία αύξηση των δικτυοερυθροκυττάρων, χωρίς όμως αυτό να μεταφράζεται και σε αύξηση των τιμών του αιματοκρίτη. Η κυτταροβρίθεια του μυελού των οστών αυξάνεται και έχει επίσης αναφερθεί αύξηση της ίνωσης του μυελού των οστών.¹⁶² Επίσης, περιγράφονται ορισμένες περιπτώσεις ασθενών με CMMML και ορισμένες με αριθμό βλαστών >14% στον μυελό των οστών, οι οποίες έχουν την τάση να παρουσιάζουν λευχαιμική υποτροπή κατά την διάρκεια θεραπείας τους με GM-CSF.^{163,164} Γι' αυτό τον λόγο οι παραπάνω ασθενείς θα πρέπει να εξαιρούνται από την θεραπεία με GM-CSF. Οι παρενέργειες από την θεραπεία με τον συγκεκριμένο αυξητικό παράγοντα είναι πυρετός, οστικοί πόνοι, τοπικό ερύθημα στην θέση της υποδόριας έγχυσης, φλεβίτιδα κατά την ενδοφλέβια έγχυση, αυξημένες τιμές του ουρικού οξέος στον ορό του αίματος και σπληνομεγαλία, η οποία δικαιολογείται ως έναρξη της εξωμυελικής αιμοποίησης με ή χωρίς ίνωση του μυελού των οστών. Σε μεγάλες δόσεις μπορεί να προκληθεί δύσπνοια, πλευρίτιδα και μείωση του αριθμού των αιμοπεταλίων.¹⁶³

Η χορήγηση της ιντερλευκίνης **IL-3** προάγει τον πολλαπλασιασμό των αρχέγονων πολυδύναμων αιμοποιητικών κυττάρων. Η IL-3 βοηθά στην αύξηση των ουδετερόφιλων, των αιμοπεταλίων και των μονοκυττάρων. Η ανταπόκριση στην θεραπεία και ιδιαίτερα η αύξηση του αριθμού των αιμοπεταλίων εξαρτάται από το εάν ενεργοποιείται ο TNF-a, που είναι δυναμικός αναστολέας της μεγακαρυοποίησης. Αύξηση του επιπέδου του TNF-a στον ορό του αίματος έχει συσχετισθεί με μείωση των αιμοπεταλίων.^{163,165} Κλινικές μελέτες, από την χορήγηση της ανασυνδυσμένης ανθρώπινης IL-3 σε ασθενείς με ΜΔΣ, έδειξαν ότι λίγοι ασθενείς παρουσίασαν βελτίωση της αιματολογικής τους εικόνας με μικρή όμως διάρκεια.^{164,166} Οι παρενέργειες από την χορήγηση της IL-3 είναι πυρετός, οστικοί πόνοι, κεφαλαλγία, αυξημένη ίνωση του μυελού και θρομβοπενία.¹⁶³

Η **ερυθροποιητίνη (EPO)** διεγείρει την συγκέντρωση της αιμοσφαιρίνης στο 20% των αναιμικών ασθενών και σε μερικούς από αυτούς τους ασθενείς ελαττώνει τον αριθμό των μεταγγίσεων. Υψηλές δόσεις EPO χρησιμοποιήθηκαν για την θεραπεία των ΜΔΣ ασθενών επειδή τα επίπεδα της ενδογενούς EPO στον ορό του αίματος είναι συνήθως αυξημένα στους ασθενείς με ΜΔΣ.¹⁶⁷ Η λογική να θεραπεύουμε ΜΔΣ ασθενείς, οι οποίοι έχουν ήδη αυξημένη EPO στον ορό του αίματος, με ανασυνδυσμένη EPO στηρίζεται στην δυνατότητα να υπερνικηθεί η ελαττωματική παραγωγή και ωρίμανση των προδρομικών μορφών των ερυθρών με την χρήση φαρμακολογικών δόσεων EPO, που έχουν σκοπό να αυξήσουν περαιτέρω τα επίπεδα της EPO στον ορό του αίματος.¹⁶⁸ Στην πλειονότητα των ασθενών, που ανταποκρίνονται στην θεραπεία με EPO, βελτίωση της ερυθροποίησης συνήθως παρατηρείται στις οκτώ πρώτες εβδομάδες. Η ανταπόκριση ήταν καλύτερη σε ασθενείς με RA ή RAEB, με ποσοστά 21.8% και 22.7% αντίστοιχα, σε σύγκριση με τους ασθενείς με RARS που ο ρυθμός ανταπόκρισή τους ήταν 7.5%.¹⁶⁹ Άλλοι παράγοντες που ευνοούν την ανταπόκριση των ασθενών στην θεραπεία με EPO είναι η απουσία μεταγγίσεων προ θεραπείας (ρυθμός ανταπόκρισης 44% vs.10.1%) και η συγκέντρωση της ερυθροποιητίνης του ορού είναι να είναι ≤ 200 U/L (27.5% vs 10.1%). Επιπλέον, έχει παρατηρηθεί ότι ασθενείς χωρίς ανάγκη μεταγγίσεων, με υπότυπο άλλον από RARS, έχουν ρυθμό ανταπόκρισης στην θεραπεία με EPO μεγαλύτερο από 50%, ανεξάρτητα του επιπέδου της ενδογενούς EPO. Εν τούτοις, καμία απάντηση δεν παρατηρήθηκε στους ασθενείς με RARS, που είχαν επίπεδα ενδογενούς ερυθροποιητίνης >200 U/L ή /και ανάγκη μεταγγίσεων με ερυθρά αιμοσφαίρια.¹⁷⁰ Μετάπτωση σε οξεία λευχαιμία, μπορεί να συμβεί κατά τη διάρκεια της θεραπείας με EPO και αντανακλά στην φυσική εξέλιξη της νόσου, αν και μελέτες έχουν δείξει ότι με την παρουσία άλλων αυξητικών παραγόντων, η EPO επάγει την παραγωγή της λευχαιμικής σειράς.¹⁷¹ Η αιτία, που σε συγκεκριμένα περιστατικά CMMML μετά από θεραπεία με EPO μειώνεται το ποσοστό των βλαστών του μυελού των οστών, παραμένει άγνωστη. Εν τούτοις, έχει περιγραφεί η ύπαρξη υποδοχέων EPO στα μυελομονοκύτταρα.¹⁷² Η μικρότερη ανταπόκριση των ασθενών στην θεραπεία με EPO, που έχουν ανάγκη μεταγγίσεων με ερυθρά, εξηγείται από το γεγονός ότι η ανάγκη για μεταγγίσεις αντανακλά στην πιο σοβαρή μορφή

ελαττωματικής ερυθροποίησης στους συγκεκριμένους ασθενείς. Η μικρή αυτή ανταπόκριση των ασθενών στην θεραπεία με EPO δημιουργεί επίσης το ερώτημα για το αν η ύπαρξη αυτοαντισωμάτων ενάντια στην EPO είναι εν μέρει υπεύθυνη. Πρόσφατη μελέτη έδειξε ότι τα αντι-epo αντισώματα δεν συμβάλλουν στην ανάπτυξη αναιμίας των ΜΔΣ ασθενών και δεν είναι επίσης υπεύθυνα για την μικρή ανταπόκριση των ασθενών στην θεραπεία με ανασυνδυασμένη EPO.¹⁷³ Η αρνητική επίδραση της παρουσίας των δακτυλιοειδών σιδηροβλαστών υποδεικνύει ότι δεν είμαστε ακόμη έτοιμοι να διορθώσουμε τις ανωμαλίες από την χρήση του σιδήρου και της σύνθεσης της αίμης με φαρμακολογικές δόσεις EPO. In vitro μελέτες δείχνουν ότι η προσθήκη αυξητικών παραγόντων της μυελικής σειράς, λόγω συνεργικής δράσης με την EPO, αυξάνουν την ανταπόκριση σ' αυτήν. Επιπλέον, οι κλινικές μελέτες που χρησιμοποίησαν EPO σε συνδυασμό με G-CSF ή GM-CSF έδειξαν βελτίωση στα επίπεδα της αιμοσφαιρίνης και/ή μείωση των αναγκών σε μεταγγίσεις στο 9-52% των ασθενών με μέση διάρκεια ανταπόκρισης 11-24 μήνες.^{174,175} Επιπλέον, σημαντικό είναι ότι η προσθήκη του G-CSF προκάλεσε ανταπόκριση σε ένα ποσοστό ασθενών που δεν ωφελήθηκαν από την EPO μόνο, ιδιαίτερα σε ασθενείς με RARS. Σε μία πρόσφατη μελέτη, η χαμηλή ερυθροποιητίνη ορού και οι μειωμένες ανάγκες για μεταγγίσεις προ θεραπείας αποδείχθηκαν οι κυριότεροι δείκτες ανταπόκρισης.¹⁷⁶ Άλλοι προγνωστικοί δείκτες είναι ο υψηλός αριθμός δικτυοερυθροκυττάρων, ο φυσιολογικός καρυότυπος, ο χαμηλός παράγοντας νέκρωσης όγκου (tumor necrosis factor, TNF-α) στον ορό και οι ερυθροβλάστες του μυελού. Σε αντίθεση με τη θεραπεία με EPO μόνο, η ανταπόκριση των ασθενών με RARS στον συνδυασμό EPO και G-CSF των ασθενών με RARS ήταν ανάλογη της ανταπόκρισης των ασθενών με άλλους υπότυπους της FAB. Φυσιολογικά η EPO ασκεί την δράση της μέσω αναστολής της απόπτωσης και της προαγωγής της διαφοροποίησης των προγονικών κυττάρων της ερυθράς σειράς. Παρόμοια και ο συνδυασμός G-CSF και EPO μειώνει σημαντικά στον μυελό τα αποπτωτικά κύτταρα. Κανένας αυξητικός παράγοντας δεν επηρέασε την συχνότητα της λευχαιμικής εκτροπής.

1.12.3. Διαφοροποιητικοί παράγοντες

Η χρήση των διαφοροποιητικών παραγόντων για την θεραπεία των ΜΔΣ στηρίζεται στο γεγονός ότι τα κύτταρα του δυσπλαστικού κλώνου παρουσιάζουν ένα φαινοτυπικό εμπόδιο στην διαφοροποίηση. Συνεπώς, η θεραπεία με τους συγκεκριμένους παράγοντες αντιπροσωπεύει μία προσπάθεια, τα ελαττωματικά προγονικά κύτταρα να αποκτήσουν περισσότερα χαρακτηριστικά ωρίμανσης και φυσιολογικής λειτουργίας.

Τα ρετινοειδή είναι μια ομάδα μορίων, σημαντική για πολλές βιολογικές διεργασίες, όπως η εμβρυονική μορφογένεση, η ανάπτυξη των επιδερμικών κυττάρων και η αιμοποίηση in vivo και in vitro. Σε κυτταρικό επίπεδο, τα ρετινοειδή συνδέονται με κυτταροπλασματικές πρωτεΐνες και μεταφέρονται στον πυρήνα, όπου ασκούν τις ιδιότητές τους. Στον πυρήνα, τα ρετινοειδή συνδέονται με κατάλληλους υποδοχείς, οι οποίοι εκφράζονται στους περισσότερους ιστούς του εμβρύου και του

ενήλικα και παίζουν ένα σημαντικό ρόλο στην ρύθμιση της ανάπτυξης και της διαφοροποίησης τόσο *in vivo* όσο και *in vitro*. Κατά την θεραπεία με ρετινοειδή πολλές μετασχηματισμένες κυτταρικές σειρές και μερικά καινούργια καρκινικά κύτταρα από διάφορους ιστούς υφίστανται τελική διαφοροποίηση.¹⁷⁷ Η οξεία προμυελοκυτταρική λευχαιμία αποτελεί το πρώτο παράδειγμα ανθρώπινου καρκίνου που θεραπεύτηκε επιτυχώς με ρετινοειδή. Τα ρετινοειδή έχουν επίσης χρησιμοποιηθεί και σε άλλες αιματολογικές κακοήθειες, όπως τα T-Λεμφώματα και τα ΜΔΣ, αλλά τα αποτελέσματα δεν είναι τόσο ενθαρρυντικά όπως στην οξεία προμυελοκυτταρική λευχαιμία.¹⁷⁸ Στις περιπτώσεις των ΜΔΣ ασθενών, που χρησιμοποιήθηκε η 13- *cis* μορφή του ρετινοϊκού οξέος, φάνηκε ότι μόνο 20% έως 30% των ασθενών με συγκεκριμένους υπότυπους (μη επιθετικούς) και μετά από μακράς διάρκειας θεραπεία, παρουσίασαν μερική βελτίωση, η οποία δεν είχε διάρκεια.¹⁷⁹ Επίσης, η επιβίωση των ασθενών δεν επιμηκύνθηκε.¹⁸⁰ Τα ίδια σχεδόν αποτελέσματα επιτεύχθηκαν και με την χρήση του *trans*-ρετινοϊκού οξέος (ATRA).¹⁷⁸ Τα τελευταία χρόνια έχουν συντεθεί καινούργια ρετινοειδή, όπως το 9-*cis* ρετινοϊκό οξύ, το οποίο δυνητικά έχει μεγαλύτερη δράση από το ATRA, αλλά τα αποτελέσματα δεν έχουν επίσης διαφορά. Μέχρι σήμερα δεν έχουν συντεθεί τα κατάλληλα για θεραπεία ρετινοειδή.

Η **5-αζακυτιδίνη** (5-Aza) και η 5-αζα-2-δεοξυκυτιδίνη είναι ανάλογα της πυριμιδίνης και αναστέλλουν την δραστηριότητα της DNA μεθυλοτρανσφεράσης. Βελτιώνουν την μυελοδυσπλαστική αιμοποίηση, αναστέλλοντας την μεθυλίωση του παθολογικού γονιδίου και επιτρέποντας την κυτταρική διαφοροποίηση. Οι μελέτες με 5-Aza στα ΜΔΣ έχουν γίνει μέχρι σήμερα μόνο σε ασθενείς με υψηλού κινδύνου ΜΔΣ. Περισσότεροι από το 63% των ασθενών παρουσίασαν βελτίωση των τιμών του περιφερικού αίματος και /ή κυτταρογενετική ανταπόκριση. Επιπλέον, μία μεγάλη προοπτική και τυχαιοποιημένη μελέτη φάσης III, που έγινε από την ομάδα Cancer and Leukemia απέδειξε ότι οι ασθενείς που είχαν θεραπευθεί με 5-Aza είχαν μικρότερη πιθανότητα εκτροπής σε ΟΜΛ και μεγαλύτερο χρονικό διάστημα έως την λευχαιμική εκτροπή ή τον θάνατο συγκρινόμενοι με την ομάδα ελέγχου.¹⁸¹ Βελτιώθηκε επίσης η ποιότητα ζωής σε αυτούς που ελάμβαναν 5-Aza.¹⁸² Η κυριότερη επιπλοκή της 5-Aza, που είναι η μυελοκαταστολή, περιορίζει την χρήση της σε ασθενείς με χαμηλού κινδύνου ΜΔΣ και δημιουργεί το ερώτημα αν η δράση της οφείλεται στην διαφοροποίηση ή στην καταστολή του κλώνου.

Το **φαινυλοβουτυρικό** νάτριο (sodium phenylbutyrate), μια αρωματική βραχεία αλυσος των λιπαρών οξέων, έχει ικανότητα διαφοροποίησης της λευχαιμίας και των κυτταρικών σειρών στερεών όγκων. Ο ακριβής μηχανισμός δράσης δεν είναι γνωστός αν και φαίνεται ότι επηρεάζει την μεταγραφική ρύθμιση της έκφρασης των γονιδίων, μέσω της αναστολής της μεθυλίωσης του DNA και της αποκετυλίωσης της ιστόνης. Σε μια μελέτη φάσης I 17/27 (63%) ασθενείς με ΜΔΣ ή ΟΜΛ παρουσίασαν βελτίωση του αριθμού των πολυμορφοπύρηνων και αύξηση του αριθμού των αιμοπεταλίων.¹⁸³ Σε εξέλιξη βρίσκεται τώρα η μελέτη φάσης II.

Η **αμιφοστίνη**, ένα προ-φάρμακο που ενεργοποιείται από την αλκαλική φωσφατάση της μεμβράνης για να μετατραπεί σε αμινοθιόλη WR-1065, αυξάνει *in vitro* την ανάπτυξη των φυσιολογικών και των ΜΔΣ πολυδύναμων προγονικών κυττάρων και αυτών της ερυθράς σειράς και ελαττώνει την αναλογία των CD34+ κυττάρων που βρίσκονται σε απόπτωση. Η δράση των μεταβολιτών της αμιφοστίνης φαίνεται ότι οφείλεται στην ομοιότητά τους με τις πολυαμίνες, οι οποίες συνδέονται με το DNA και ρυθμίζουν την κυτταρική παραγωγή και διαφοροποίηση. Η αμιφοστίνη, επίσης μειώνει την έκκριση προ-αποπτωτικών κυτταροκινών TNF- α και IL-1 β από το στρώμα. Οι αρχικές μελέτες φάσης I/II που έδειξαν βελτίωση της *in vitro* ανάπτυξης αποικιών και αιματολογική ανταπόκριση σε 15/8 ασθενείς (83%) που έλαβαν αμιφοστίνη¹⁸⁴ δεν επιβεβαιώθηκαν σε όλες τις μελέτες που ακολούθησαν.¹⁸⁵

Η **1,25- Δυϊδροξυβιταμίνη D₃**, 1,25(OH)₂D₃, είναι η πιο δραστική φυσιολογική μορφή της βιταμίνης D₃ και ρυθμίζει, συνδεόμενη με ενδοπυρηνικούς υποδοχείς της βιταμίνης D₃ (VDR), την μεταγραφή των γονιδίων αλληλεπιδρώντας με ειδικά στοιχεία ανταπόκρισης του DNA. Η 1,25(OH)₂D₃ είναι ένας καλός διαφοροποιητικός παράγοντας για αρκετές λευχαιμικές κυτταρικές σειρές όπως οι HL-60, U-937, THP-1 και HEL. Στις περισσότερες περιπτώσεις, η επαγωγή της διαφοροποίησης σχετίζεται με μία αναστολή του πολλαπλασιασμού. Αντίθετα, οι περισσότεροι ώριμες κυτταρικές σειρές, όπως οι HL-60 βλάστες, οι KG1, KG1a και K562 δεν ανταποκρίνονται στο συγκεκριμένο φάρμακο. Το φαινόμενο αυτό μπορεί να οφείλεται στον μεγάλο αριθμό των VDR στα διάφορα στάδια της διαφοροποίησης, οι οποίοι έχουν υψηλότερες συγκεντρώσεις στα πιο διαφοροποιημένα κύτταρα. Παρόλο, τα ενθαρρυντικά αποτελέσματα από τις *in vitro* μελέτες, οι κλινικές δοκιμές με την 1,25(OH)₂D₃ είναι περιορισμένες και έδειξαν πτωχή απάντηση.¹⁸⁶ Σήμερα, περισσότερα από 30 ανάλογα της βιταμίνης D₃ έχουν ταυτοποιηθεί, τα οποία έχουν είτε υψηλότερη ή ισοδύναμη διαφοροποιητική και αντινεοπλασματική αντιλευχαιμική δράση, αλλά με μικρότερη ικανότητα να προκαλέσουν υπερκαλιαιμία, συγκρινόμενη με την 1,25(OH)₂D₃. Μερικά από αυτά τα ανάλογα, όπως η 1,25(OH)₂-16ene-23yne-D₃, έχουν ήδη μελετηθεί *in vivo* και *in vitro*¹⁸⁷ και έχει αποδειχθεί ότι παρουσιάζουν αυξημένη θεραπευτική δυνατότητα, αυξάνοντας σημαντικά την επιβίωση στα λευχαιμικά ποντίκια χωρίς να προάγουν την υπερκαλιαιμία.¹⁸⁸

Οι **ιντερφερόνες (IFNs)** είναι μία ομάδα γλυκοπρωτεϊνών, οι οποίες παράγονται και εκκρίνονται από διάφορους τύπους κυττάρων μετά από ειδικά ερεθίσματα. Οι IFNs έχουν πλειοτροπική βιολογική δράση, όπως αντινεοπλασματική, ανοσοδιεγερτική και αντιϊκή. Ασκούν τις ιδιότητες τους, συνδεόμενες με ειδικούς υποδοχείς. Τρεις τύποι IFNs έχουν ταυτοποιηθεί: η IFN- α , η IFN- β (τύπος I) και η IFN- γ (τύπος II) με διαφορετικές βιοχημικές, ανοσολογικές και λειτουργικές ιδιότητες. Οι IFNs επάγουν την διαφοροποίηση και αναστέλλουν την ανάπτυξη των κυτταρικών σειρών του αίματος.¹⁸⁹ Συγκεκριμένα, καταστέλλουν την αιμοποίηση με ένα δοσοεξαρτώμενο τρόπο. Οι *in vitro* μελέτες έδειξαν μία καταστολή του σχηματισμού αποικιών των μονοπυρηνικών κυττάρων του μυελού των οστών που εκτέθηκαν στην IFN και η ίδια ανασταλτική ιδιότητα παρατηρήθηκε

επίσης στα κύτταρα του μυελού των οστών που αποκτήθηκαν από ασθενείς που τους χορηγήθηκε IFN- α (10^6 U/m²).¹⁹⁰ Οι IFN- γ και α έχουν χρησιμοποιηθεί για την θεραπεία των ΜΔΣ. Εν τούτοις, ο ρυθμός ανταπόκρισης ήταν πάντα πολύ χαμηλός και μόνο λίγοι ασθενείς πέτυχαν πλήρη ή μερική ύφεση της νόσου.¹⁹¹ Επίσης, ο ρυθμός εκτροπής της νόσου σε οξεία λευχαιμία δεν ελαττώθηκε με την χορήγηση IFNs. Ο μόνος παράγοντας για περιορισμό της δόσης στην θεραπεία με IFNs είναι η μυελοκαταστολή.

1.12.4. Χαμηλής έντασης χημειοθεραπεία

Η συμβατική αντιλευχαιμική χημειοθεραπεία αποτελεί μια ελκυστική θεραπευτική στρατηγική στους προχωρημένους κατά FAB υπότυπους του ΜΔΣ, ιδιαίτερα σε ηλικιωμένα άτομα που συνοδεύονται και με άλλους επιβαρυντικούς παράγοντες.

Θεραπεία με χαμηλή δόση Αρασυστίνης (LDAC) προκάλεσε ανταπόκριση στο 10-25% των ασθενών με ΜΔΣ ή ΟΜΛ δευτερογενή μετά ΜΔΣ.¹⁹² Προγνωστικοί δείκτες ανταπόκρισης είναι ο φυσιολογικός αριθμός αιμοπεταλίων πριν την θεραπεία και ο φυσιολογικός καρύοτυπος. Μια μεγάλη τυχαιοποιημένη μελέτη έδειξε ότι η επιβίωση των ασθενών με ΜΔΣ που πήραν χαμηλή δόση Αρασυστίνης δεν ήταν μεγαλύτερη αυτών που έλαβαν μόνο υποστηρικτική αγωγή. Η προσθήκη GM-CSF και IL-3 δεν βελτίωσε την ανταπόκριση.¹⁹³ Επίσης, η τοξικότητα του μυελού και ιδιαίτερα η θρομβοπενία, που προκαλεί η χορήγηση της Αρασυστίνης, συχνά απαιτεί εισαγωγή του ασθενούς στο νοσοκομείο. Το φαρμακολογικό μειονέκτημα της Αρασυστίνης είναι η ταχεία αδρανοποίηση, μέσω απαμίνωσης. Γι' αυτό τον λόγο, έγιναν προσπάθειες να συντεθούν ανάλογα της αρασυστίνης. Αυτά, όταν δίνονται από το στόμα μετατρέπονται αργά στο ήπαρ σε αρασυστίνη, η οποία απελευθερώνεται στο αίμα για μεγάλο χρονικό διάστημα.¹⁹⁴ Παρόλο αυτά, τα επίπεδα της αρασυστίνης στο πλάσμα του αίματος, μετά την από του στόματος χορήγηση του αναλόγου αυτής, είναι συγκρίσιμα με εκείνα που επιτυγχάνονται από την συνεχή έγχυση ενδοφλεβίως της LDAC. Επίσης, ο ρυθμός απάντησης στην θεραπεία με ανάλογο της αρασυστίνης είναι σχεδόν ίδιος μετά από την θεραπεία με LDAC.¹⁹⁵ Πάντως, σημαντικό είναι το γεγονός ότι τα ανάλογα της αρασυστίνης μπορούν να δοθούν από το στόμα σε εξωτερικό ασθενή και δεν απαιτείται εισαγωγή στο νοσοκομείο, όπως με την χορήγηση του LDAC. Ανάλογα αποτελέσματα είχε και η χαμηλή δόση ανθρακυκλινών.¹⁹⁶

Η θεραπεία με χαμηλή δόση **μεμφαλάνης** από του στόματος είχε σαν αποτέλεσμα την πλήρη αιματολογική ανταπόκριση στο ένα τρίτο των ηλικιωμένων ασθενών. Με ενδιάμεσου προς υψηλού κινδύνου ΜΔΣ, ειδικά σε περιπτώσεις με φυσιολογικό καρύοτυπο και φυσιολογικό έως υποκυτταρικό μυελό προ θεραπείας.¹⁹⁷

Η **τοποτεκάνη**, αναστολέας της τοποϊσομεράσης I, χορηγούμενη σε 5ημερη συνεχή ενδοφλέβια έγχυση, είχε ανταπόκριση στους 26/60 (43%) ασθενείς με RAEB, RAEB-t ή CMML, ενώ 19 ασθενείς (32%) είχαν αιματολογική και κυτταρογενετική πλήρη ύφεση. Η προσθήκη Αρασυστίνης στο παραπάνω σχήμα βελτιώνει την ανταπόκριση [πλήρης ύφεση, 48/86 (56%)] και

φαίνεται ιδιαίτερα αποτελεσματική σε ασθενείς με καρυοτυπικές ανωμαλίες που αφορούν τα χρωμοσώματα 5,7 [πλήρης ύφεση, 71%] ή τα δευτερογενή ΜΔΣ [πλήρης ύφεση, 72%].¹⁹⁸ Ασθενείς με CMMML θεραπεύονται με τα φάρμακα που χρησιμοποιούνται στα μυελοπλασματικά σύνδρομα. Μεγάλη τυχαίοποιημένη μελέτη φάσης III έδειξε ότι η υδροξυουρία είχε καλύτερα αποτελέσματα από την ετοποσιδή (36%) και η επιβίωση ήταν καλύτερη με την πρώτη.¹⁹⁹ Παρολ' αυτά, η μέση επιβίωση με την υδροξυουρία ήταν μόνο 20 μήνες, που είναι ανάλογη με την επιβίωση των περισσότερων ασθενών χωρίς θεραπεία στις περισσότερες μελέτες.

1.12.5. Τροποποίηση των οδών μεταβίβασης του μηνύματος της απόπτωσης

Αρκετές μελέτες έδειξαν ότι η αυξημένη απόπτωση και οι κατά συνέπεια κυτταροπενίες στα πρώιμα ΜΔΣ, κατά ένα μέρος τουλάχιστον προκαλούνται από τις κυτταροκίνες της φλεγμονής: τον TNF- α , τον μετατρέποντα αυξητικό παράγοντα- β [transforming growth factor- β (TGF- β)] και την ιντερλευκίνη 1b (IL-1b). Η αναστολή μεταβίβασης του σήματος αυτών των κυτταροκινών, με την χρησιμοποίηση του συνδυασμού της μεθυλοξανθίνης πεντοξυφυλίνης (PTX) και της σιπροξυφλοσαίνης, που εμποδίζει τον ηπατικό μεταβολισμό της PTX, με ή χωρίς δεξαμεθαζόνη, ελαττώνει σημαντικά τα επίπεδα του TNF- α στον μυελό και βελτιώνει τις κυτταροπενίες στους 18/51 (35%) ασθενείς με ΜΔΣ. Η προσθήκη αμιφοστίνης βελτιώνει ακόμη περισσότερο τα ποσοστά ανταπόκρισης [22/29, (76%)], αν και κανένας ασθενής που θεραπεύτηκε με αυτόν τον συνδυασμό, δεν έχει πετύχει ακόμα πλήρη ύφεση.²⁰⁰ Δεδομένου ότι τα περισσότερα μηνύματα κυτταρικού θανάτου εκτελούνται μέσω του “καταρράκτη” της κασπάσης, η χρήση αναστολέων της τελευταίας αποτελεί έναν ελκυστικό μηχανισμό για την μείωση της υπερβολικής απόπτωσης στα πρώιμα ΜΔΣ. Πράγματι, η προσθήκη ειδικών ανασταλτών της κασπάσης-1 και -3 σε καλλιέργειες μυελού ΜΔΣ ασθενών βελτιώνει σημαντικά την ανάπτυξη των προγονικών κυττάρων τόσο της μυελικής όσο και της ερυθράς σειράς. Μεταβολές στην μιτοχονδριακή μεμβράνη, η οποία παίζει σημαντικό ρόλο στην ρύθμιση της απόπτωσης, μπορούν επίσης να ρυθμιστούν φαρμακολογικά. Έτσι, η κυκλοσπορίνη Α και το bongkreikic acid που εμποδίζουν την διάνοϊξη των μιτοχονδριακών πόρων και κατά συνέπεια την απόπτωση, ίσως είναι χρήσιμη στα πρώιμα ΜΔΣ, ενώ αντίθετα οι ενώσεις του αρσενικού ίσως μπορούν να επηρεάσουν την προχωρημένη νόσο μέσω της μιτοχονδριακά προκαλούμενης αναστολής της απόπτωσης.

1.12.6. Ανοσοτροποποιητικοί παράγοντες

Μερικές μορφές ΜΔΣ συχνά αλληλεπικαλύπτονται με σύνδρομα μυελικής ανεπάρκειας, όπως η απλαστική αναιμία και η παροξυσμική νυκτερινή αιμοσφαιρινουρία (PNH). Το γεγονός αυτό και η αναγνώριση ότι η καταστολή της αιμοποίησης μπορεί να είναι ανοσολογικής αιτίας οδήγησε στην εφαρμογή της ανοσοτροποποιητικής θεραπείας στα ΜΔΣ. Η θεραπεία με αντιθυμοκυτταρική σφαιρίνη (ATG) μπορεί να ελαττώσει την προκαλούμενη από τα CD8+T-λεμφοκύτταρα καταστολή

της μυελοδυσπλαστικής αιμοποίησης. Στην θεραπεία φαίνονται να ανταποκρίνονται όχι μόνο τα υποπλαστικά ΜΔΣ, αλλά και η φυσιολογικής ή αυξημένης κυτταροβρίθειας RA καθώς και η RAEB με χαμηλό ποσοστό μυελοβλαστών. Μια μεγάλη μελέτη φάσης II σε ασθενείς με μη-υποπλαστικά ΜΔΣ έδειξε ότι περισσότεροι από 50% των ασθενών είχαν παρατεταμένη ανταπόκριση με μία μόνο συνεδρία ALG.²⁰¹ Η ανταπόκριση ήταν κλινικά σημαντική, με διακοπή των αναγκών για μεταγγίσεις. Η διάρκεια των ανταποκρίσεων, που έχουν παρατηρηθεί μέχρι τώρα, ήταν μεγαλύτερη από τρία χρόνια και σε ασθενείς με υποτροπή ή επαναχορήγηση ήταν επιτυχής σε ορισμένες μόνο περιπτώσεις. Δεν παρατηρήθηκε καμία ανταπόκριση σε ασθενείς με RARS, γεγονός που περαιτέρω υποστηρίζει την άποψη ότι η RA και η RARS έχουν διαφορετική βιολογία. Οι νεώτεροι ασθενείς καθώς και οι ασθενείς με ανιχνεύσιμο PNH κλώνο ανταποκρίθηκαν καλύτερα στην θεραπεία. Θετικά αποτελέσματα παρατηρήθηκαν επίσης σε ασθενείς με RA με την χορήγηση κυκλοσπορίνης.²⁰² Οι περισσότεροι από αυτούς είχαν υποπλαστικό μυελό και 82% παρουσίασαν βελτίωση της ερυθράς σειράς. υπάρχουν αρκετές μελέτες υπό εξέλιξη, που διερευνούν τα αποτελέσματα της T-κυτταρικής καταστολής στα ΜΔΣ και περισσότερα στοιχεία θα δημοσιευτούν τα επόμενα χρόνια.

1.12.7. Εντατική Θεραπεία

Η θεραπεία των ΜΔΣ χρησιμοποιώντας χαμηλή δόση κυτταροστατικών φαρμάκων, αιμοποιητικούς αυξητικούς παράγοντες ή διαφοροποιητικούς παράγοντες αυξάνουν την επιβίωση και βελτιώνουν την ποιότητα της ζωής. Εν τούτοις, η βελτίωση αυτή μπορεί να πραγματοποιηθεί για μεγάλο χρονικό διάστημα μόνο με την εκρίζωση του μυελοδυσπλαστικού κλώνου και την αποκατάσταση της αιμοποίησης. Αυτό μπορεί να επιτευχθεί με την χρήση της εντατικής χημειοθεραπείας και την μεταμόσχευση προγονικών αιμοποιητικών κυττάρων. Η θεραπεία των ΜΔΣ με χημειοθεραπευτικά φάρμακα που χρησιμοποιούνται και στην θεραπεία της ΟΜΛ είχε σαν αποτέλεσμα την πλήρη ύφεση σε ποσοστά 15% έως 45%, όπως αποδείχθηκε από τους Armitage²⁰¹ και Mertelsmann²⁰² αντίστοιχα. Αργότερα, το 1986, από άλλες ομάδες, όπως οι Tricot και Boogaerts, έγινε προσπάθεια βελτίωσης της επιβίωσης των ΜΔΣ ασθενών, χρησιμοποιώντας Daunorubicin σε συνδυασμό με συμβατική ή υψηλή δόση Cytosine Arabinoside (Ara-C) ή προσθέτοντας Thioguanine (DAT).²⁰³ Επίσης, έγιναν συνδυασμοί με Fludarabine και Ara-C²⁰⁴ (FA) ή Ara-C, Idarubicin και Etoposide.²⁰⁵ Τα ποσοστά επιβίωσης που επιτεύχθηκαν κυμάνθηκαν από 15% έως 61%. Τα χαμηλότερα ποσοστά πλήρους ύφεσης στα ΜΔΣ συγκρινόμενα με την de novo ΟΜΛ, παρόλο που χρησιμοποιήθηκαν ίδια ή παρόμοια χημειοθεραπευτικά σχήματα, πιθανώς να οφείλονται στην μεγαλύτερη μέση ηλικία των ΜΔΣ ασθενών σε σχέση με τους ΟΜΛ ασθενείς, στην υψηλότερη συχνότητα των κυτταρογενετικών ανωμαλιών μη καλής πρόγνωσης, στην αυξημένη έκφραση αντιγόνων σχετιζόμενων με την αντίσταση στην θεραπεία του νεοπλασματικού κλώνου και στην μεγαλύτερης διάρκειας απλασία, ως αποτέλεσμα ενός αυξημένου ρυθμού, πρώιμου κυτταρικού θανάτου.²⁰⁶ Η πανκυτταροπενία λόγω χημειοθεραπείας είναι παρατεταμένη και οι ευκαιριακές

λοιμώξεις σχετικά συχνές. Σχεδόν σε κάθε περίπτωση, η επίτευξη της πλήρους ύφεσης ακολουθείται από τέλεια αιματολογική επαναφορά και αποκατάσταση της πολυκλωνικής αιμοποίησης. Εν τούτοις, η διάρκεια της ύφεσης είναι συνήθως μικρή. Η μέση διάρκεια της ύφεσης είναι συνήθως μικρότερη των 12 μηνών και οι υφέσεις που πιθανώς ξεπερνούν τους 24 μήνες αποτελούν εξαίρεση στον κανόνα. Το ποσοστό επιβίωσης, που συνολικά αναφέρεται, από το Memorial Sloan-Kettering Cancer Center 4 χρόνια μετά το τέλος της θεραπείας, είναι 8% και από τους De Witte και συν. 3 χρόνια μετά το τέλος της θεραπείας αναφέρεται ποσοστό επιβίωσης 7%.^{202,207} Καλοί προγνωστικοί παράγοντες ανταπόκρισης στην θεραπεία είναι η νεώτερη ηλικία (ασθενείς κάτω των 45-50 χρόνων), η διάγνωση RAEB ή RAEB-t (συγκρινόμενη με άλλους FAB υπότυπους), πρωτογενή έναντι δευτερογενών ΜΔΣ και βραχύτερη διάρκεια νόσου προ-θεραπείας. Αντίθετα, η ύπαρξη κακής πρόγνωσης καρυότυπου σχετίζεται με μειωμένη ανταπόκριση και μειωμένη διάρκεια ύφεσης.²⁰⁶ Παρόλο που τα ΜΔΣ σχετίζονται με πτωχή ανταπόκριση στην χημειοθεραπεία (X/Θ), διαπιστώθηκε ότι οι ασθενείς με RAEB και RAEB-t έχουν τα ίδια ποσοστά πλήρους ύφεσης με αυτά που παρατηρούνται στην de novo OMA, όταν στην σύγκριση λαμβάνονται υπόψη και οι παράγοντες κινδύνου.²⁰⁸ Κλινικές μελέτες που αφορούν ερευνητικές χημειοθεραπείες [φλουνταραμπίνη+κυταραμπίνη (FA), FA με G-CSF (FLAG) ή FLAG με Ινταρουμπισίνη (FLAG-Ida) και τοποτεκάνη με υψηλή δόση αραυστίνης] έχουν προκαλέσει ενθαρρυντικές ανταποκρίσεις και μπορούν να βοηθήσουν ασθενείς με ΜΔΣ κακής πρόγνωσης.^{209,210}

1.12.8. Μεταμόσχευση προγονικών κυττάρων

Αλλογενής μεταμόσχευση του μυελού των οστών

Η αλλογενής μεταμόσχευση του μυελού των οστών (BMT) θεωρείται ως θεραπεία εκλογής για τους νεότερους ασθενείς με ΜΔΣ, οι οποίοι έχουν την τύχη να έχουν ως δότη συμβατό αδερφό. Τα πρώτα αποτελέσματα επιτυχούς BMT αναφέρονται πριν από 20 χρόνια. Η ανταπόκριση στην θεραπεία με αλλογενή BMT ποικίλει και εξαρτάται από τον υπότυπο της νόσου την στιγμή της μεταμόσχευσης και άλλους κλινικούς παράγοντες, όπως η ύπαρξη κυτταρογενετικών ανωμαλιών, η ηλικία και το ποσοστό των βλαστών στον μυελό των οστών την στιγμή της διάγνωσης (>10%).^{211,212} Οι ασθενείς με RA και RARS θεωρούνται γενικά καλοί υποψήφιοι για BMT. Η θνητότητα μετά την μεταμόσχευση και η συχνότητα υποτροπής της υπολειπόμενης νόσου είναι μικρή. Επίσης, η ελεύθερη νόσου επιβίωση [Disease Free Survival (DFS)] συνήθως ξεπερνά το 50%. Μία πολυπαραγοντική ανάλυση της ομάδας του Seattle έδειξε ότι η διάρκεια της νόσου δεν επηρέασε σημαντικά την DFS, αν και οι επιπλοκές μετά την μεταμόσχευση ήταν λιγότερες στους ασθενείς που μεταμοσχεύθηκαν σε πρώιμο στάδιο της νόσου.²¹³ Εν τούτοις, μία πρώιμη μεταμόσχευση, μέσα στο πρώτο χρόνο από την διάγνωση, φαίνεται να δικαιολογείται, διότι με αυτό τον τρόπο οι ασθενείς αποφεύγουν τις επιπλοκές της μεταμόσχευσης, οι οποίες είναι αποτέλεσμα της υπερφόρτωσης με σίδηρο ή των ευκαιριακών λοιμώξεων μετά από μεγάλες περιόδους πανκυτταροπενίας. Αντίθετα, τα

αποτελέσματα της BMT για την RAEB και την RAEB-t είναι λιγότερο ενθαρρυντικά από ότι στους ασθενείς με RA και RARS, λόγω του υψηλότερου βαθμού υποτροπής. Οι καμπύλες της DFS είναι σημαντικά χαμηλότερες για τους ασθενείς με RARS. Από τα πρώτα αποτελέσματα της Ευρωπαϊκής Ομάδας Μεταμόσχευσης του Μυελού των Οστών [European Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT)] φάνηκε ότι η DFS είναι 74% και 50% για τους ασθενείς που μεταμοσχεύθηκαν με RAEB και RAEB-t αντίστοιχα. Αργότερα, η ίδια ομάδα παρουσίασε την DFS μετά από 3 χρόνια να είναι 32% και 27% για τους ασθενείς που μεταμοσχεύθηκαν με RAEB και RAEB-t αντίστοιχα.²¹⁴ Ο ρυθμός υποτροπών 3 χρόνια μετά την μεταμόσχευση στην συγκεκριμένη ομάδα ασθενών είναι μεγαλύτερη από 50%. Πολλά Ευρωπαϊκά κέντρα μεταμόσχευσης υιοθετούν την BMT για την δευτεροπαθή ΟΜΛ (δΟΜΛ), μετά από ΜΔΣ, μόνο αφού έχει προηγηθεί Χ/Θ και έχει επιτευχθεί ύφεση. Εν τούτοις, τα αποτελέσματα της BMT, ως πρώιμη θεραπεία, είναι χειρότερα για τους ασθενείς με δΟΜΛ από ότι για τους ασθενείς με RAEB-t. Η DFS για τους μεταμοσχευμένους ασθενείς με δΟΜΛ υπολογίζεται περίπου στο 20%.²¹⁴ Μερικοί ασθενείς με υποκυτταρικό μυελό, οι οποίοι είναι απίθανο να ανταποκριθούν επιτυχώς στην εντατική Χ/Θ, έχουν πετύχει παρατεταμένο DFS μετά από BMT, χωρίς να έχει προηγηθεί Χ/Θ. Η διάρκεια της ύφεσης για τους ασθενείς με δΟΜΛ, οι οποίοι θεραπεύθηκαν με Χ/Θ, είναι συνήθως μικρή,^{202,207} ιδιαίτερα αν είναι υπαρκτές τυχόν κυτταρογενετικές ανωμαλίες την στιγμή της διάγνωσης.²⁰⁶ Επιπλέον, η BMT θα πρέπει να γίνεται σε τέτοιους ασθενείς άμεσα όταν έχει επιτευχθεί μερική ή πλήρη ύφεση μετά από εντατική Χ/Θ. Η DFS για 2 χρόνια σε ασθενείς που μεταμοσχεύθηκαν με πλήρη ύφεση μετά από εντατική Χ/Θ ήταν 60%.²¹⁴ Ασθενείς, με μερική ανταπόκριση στην εντατική Χ/Θ, ανταποκρίθηκαν λιγότερο καλά και είχαν 2 χρόνια DFS σε ποσοστό 18%, ενώ κανένας από αυτούς, που είτε υποτροπίασαν ή ήταν ανθεκτικοί στην Χ/Θ, επιβίωσαν για 2 χρόνια ή περισσότερο μετά από BMT.

Ενδείξεις για αλλογενή μεταμόσχευση

Οι περισσότεροι ασθενείς με ΜΔΣ δεν έχουν συμβατό HLA-πανομοιότυπο συγγενή δότη.²¹⁵ Τα αποτελέσματα από την χρησιμοποίηση εναλλακτικών λύσεων, όπως μερικά συμβατούς οικογενειακούς δότες ή φαινοτυπικά συμβατού μη σχετιζόμενους δότες, παραμένουν μη ικανοποιητικά, με θνησιμότητα περίπου 50%. Η πιθανότητα επιβίωσης χωρίς νόσο είναι μόλις 18 έως 30% και εξαρτάται κατά κύριο λόγο από την ηλικία και το διάστημα μεταξύ διάγνωσης και μεταμόσχευσης. Πολλοί ερευνητές θεωρούν τα υψηλά ποσοστά θνησιμότητας μη αποδεκτά.²¹⁶

Για τους ασθενείς με υψηλού και ενδιάμεσου-2 κινδύνου ΜΔΣ, που έχουν συμβατό αδερφό ή μη συγγενή δότη, η αλλογενής μεταμόσχευση (μυελού ή περιφερικών προγονικών κυττάρων) αποτελεί την θεραπεία επιλογής.

Τα καλύτερα αποτελέσματα επιτυγχάνονται σε νεώτερους ασθενείς, νωρίς στην πορεία της νόσου, αλλά ειδικά αυτή η ομάδα ασθενών (<60, RA ή RARS) έχει βάση της IPSS ανάλυσης διάμεση επιβίωση μεγαλύτερη από 11 χρόνια χωρίς θεραπεία. Κατά συνέπεια, οι κατηγορίες χαμηλού και

ενδιάμεσου κινδύνου κατά IPSS δεν αποτελούν ένδειξη για πρόιμη μεταμόσχευση, εκτός αν υπάρχουν σύνθετες και κακής πρόγνωσης κυτταρογενετικές ανωμαλίες ή μια επικίνδυνη για την ζωή κυτταροπενία.

Μεταμοσχεύσεις από μη συγγενή δότη προς το παρόν δεν συνιστώνται σε αυτή την κατηγορία. Στις σειρές από το Seattle για τις μεταμοσχεύσεις από μη συγγενείς δότες και σε ασθενείς με RA η μη σχετιζόμενη με υποτροπή θνησιμότητα στα 2 χρόνια ήταν 46%. Σύμφωνα με το IPSS, αυτοί οι ασθενείς, αν αφεθούν χωρίς θεραπεία, έχουν 50% πιθανότητα να επιβιώσουν περισσότερο από 11 χρόνια. Επιπλέον, από τα συνολικά δεδομένα του Seattle φαίνεται ότι από τους 241 μεταμοσχευμένους ασθενείς, περισσότεροι από τους μισούς¹⁸³ ανήκαν στην υψηλού ή ενδιάμεσου-2 κινδύνου ομάδα, πριν από την μεταμόσχευση και η επιβίωσή του χωρίς νόσο ήταν μόλις 32 και 24% αντίστοιχα.

Συμπερασματικά, σαφείς συστάσεις για την πρόιμη χρήση αλλογενούς μεταμόσχευσης στα ΜΔΣ, έξω από καλά ελεγχόμενες και τυχαιοποιημένες μελέτες δεν μπορούν να γίνουν. Γίνονται προσπάθειες για την μείωση της θνησιμότητας από την μεταμόσχευση. Η αντικατάσταση της ισχυρής Χ/Θ, προ μεταμόσχευσης, από ηπιότερα σχήματα ή ολόσωμη ακτινοβολία, υποστηριζόμενα από έγχυση λεμφοκυττάρων του δότη μπορούν να βελτιώσουν την επιβίωση σημαντικά. Οι αρχικές δοκιμασίες δείχνουν ότι κάτι τέτοιο είναι δυνατόν, αλλά με αποτελέσματα κατώτερα αυτών των λεμφωμάτων.

Αυτόλογη μεταμόσχευση

Η EBMT αναφέρει στοιχεία για 114 ασθενείς που έκαναν αυτόλογη μεταμόσχευση λόγω ΜΔΣ ή δΟΜΛ, μετά από ΜΔΣ. Συγκεκριμένα, αναφέρθηκε για 79 ασθενείς που μεταμοσχεύθηκαν στην πρώτη πλήρη ύφεση ότι η 2-ετής ολική επιβίωση, η επιβίωση ελεύθερη νόσου και η συχνότητα υποτροπής ήταν αντίστοιχα 39%, 34% και 64%. Η πλειονότητα των ασθενών αυτών είχαν μεταμοσχευθεί για δευτερογενή λευχαιμία ή δ-ΜΔΣ και μόνο 19 έκαναν αυτομεταμόσχευση για πρωτοπαθές RAEB ή RAEB-t. Η επιβίωση μόνο των δευτέρων ήταν λίγο καλύτερη (46%) από το σύνολο των ασθενών. Η σχετιζόμενη με την μεταμόσχευση θνησιμότητα ήταν χαμηλότερη από 10%. Στην ανάλυση συμπεριλήφθηκαν μόνο ασθενείς σε πλήρη ύφεση, ενώ εξαιρέθηκαν όσοι δεν ανάρρωσαν ή ήταν ανθεκτικοί στην Χ/Θ. Επιπλέον, δεν υπάρχουν στοιχεία για τους ασθενείς με ΜΔΣ, για τους οποίους ήταν αδύνατη η συλλογή μυελού (επιμένουσα υποπλασία, ίνωση, κακή γενική κατάσταση). Αποτελέσματα από την επίδραση των καρυοτυπικών ανωμαλιών στην έκβαση της αυτομεταμόσχευσης επιβεβαιώνουν τα προηγούμενα στοιχεία της εντατικής Χ/Θ. Η 2-ετής επιβίωση ήταν 52% για τους ασθενείς με καλής πρόγνωσης ή ενδιάμεσου κινδύνου έναντι 28% για τα υψηλού κινδύνου ΜΔΣ. Η συλλογή ικανού αριθμού περιφερικών προγονικών κυττάρων (π.χ. $>10^6$ CD34/kg $>10^5$ ή CFU-GM/kg) ήταν δυνατή ακόμη και στα υψηλού κινδύνου ΜΔΣ κατά την πρώτη ύφεση μετά Χ/Θ και χορήγηση G-CSF. Η έγχυση αυτών των προγονικών κυττάρων μετά από μυελοτοξική Χ/Θ έχει σαν αποτέλεσμα την γρηγορότερη και πληρέστερη αποκατάσταση των τιμών των

κοκκιοκυττάρων (37 ημέρες) και των αιμοπεταλίων (75 ημέρες).²¹⁷ Οι πρώιμες υποτροπές δεν διαφέρουν από την αυτόλογη μεταμόσχευση μυελού, ενώ η άμεσα με την μεταμόσχευση σχετιζόμενη θνησιμότητα είναι μικρότερη. Δυστυχώς, παραμένει η ανησυχία της επιμόλυνσης των προγονικών κυττάρων από κλωνικά κακοήθη κύτταρα. Προκαταρκτικά αποτελέσματα δείχνουν ότι στα πρώιμα ΜΔΣ (RA ή RARS) παραμένει πολυκλωνική αιμοποίηση και πολυκλωνικά προγονικά κύτταρα μπορούν να συλλεγούν με αυξητικούς παράγοντες στην σταθερή φάση της νόσου.²¹⁸ Στα υψηλού κινδύνου ΜΔΣ, κατά την ύφεση μετά από εντατική Χ/Θ μπορούν να συλλεγούν μη-κλωνικά καλοήθη CD34+ προγονικά κύτταρα. Τα αρχικά αποτελέσματα της μεταμόσχευσης περιφερικών προγονικών κυττάρων δείχνουν ότι η επιβίωση (όχι η DFS) πλησιάζει αυτή που επιτυγχάνεται με αλλογενή μεταμόσχευση και ακόμα υπερβαίνει αυτήν της μεταμόσχευσης από μη συγγενείς δότες, γεγονός που οφείλεται στην χαμηλή θνησιμότητα που σχετίζεται με την μεταμόσχευση.

Η συχνότητα υποτροπής παραμένει το κύριο πρόβλημα. Το αν η μεταμόσχευση περιφερικών προγονικών κυττάρων θα βελτιώσει την επιβίωση σε σχέση με την συμβατική Χ/Θ, υψηλής δόσης παραμένει προς το παρόν αβέβαιο.

2. ΟΞΕΙΕΣ ΛΕΥΧΑΙΜΙΕΣ

2.1. Εισαγωγή

Το αποδεκτό μοντέλο δημιουργίας του αιμοποιητικού συστήματος σήμερα είναι το μοντέλο του αρχέγονου αιμοποιητικού κυττάρου (stem cell), σύμφωνα με το οποίο τα αρχέγονα αιμοποιητικά κύτταρα έχουν την δυνατότητα αφ' ενός μεν να αυτοαναπαράγονται (self-renewal), αφ' ετέρου να διαφοροποιούνται (differentiation). Αυτό σημαίνει ότι τα κύτταρα, τα οποία κυκλοφορούν στο περιφερικό αίμα (ερυθρά, αιμοπετάλια, υποομάδες λευκών αιμοσφαιρίων) προέρχονται μέσω των ενδιάμεσων ή προγονικών κυττάρων (precursors), τα οποία βρίσκονται κυρίως στο μυελό των οστών. Η κακοήθης μεταμόρφωση των αιμοποιητικών κυττάρων μπορεί να συμβεί με διαταραχή σε διάφορα στάδια διαφοροποίησης, μέσα από τις φυσιολογικές διαδικασίες α) του κυτταρικού πολλαπλασιασμού, β) της διαφοροποίησης και γ) του κυτταρικού θανάτου (απόπτωση). Σχεδόν όλες οι λευχαιμίες προέρχονται από ένα αρχέγονο αιμοποιητικό ή προγονικό κύτταρο με την απόκτηση των γενετικών μεταλλάξεων. Αν και μερικές καταστάσεις, όπως σύμφυτες διαταραχές της επανόρθωσης του DNA ή η περιβαλλοντική έκθεση σε ιονίζουσα ακτινοβολία ή βενζένιο ή σε αλκυλιούντες παράγοντες, έχει αποδειχθεί ότι αυξάνουν την πιθανότητα της ανάπτυξης λευχαιμίας, οι περισσότεροι ασθενείς δεν έχουν τέτοιο ιστορικό προδιάθεσης.

2.2. Ορισμός

Οι οξείες λευχαιμίες (ΟΛ) αποτελούν μία ομάδα κακόηθων νόσων, οι οποίες προέρχονται είτε από το αρχέγονο μητρικό κύτταρο των λεμφοκυττάρων (οξεία λεμφοβλαστική λευχαιμία, ΟΛΛ), είτε από το μυελογενές κύτταρο (οξεία μυελογενής λευχαιμία, ΟΜΛ). Τα κύτταρα, που έχουν υποστεί εξαλλαγή, χαρακτηρίζονται από αυτόνομη αύξηση και αδυναμία διαφοροποίησης σε ώριμα κύτταρα με αποτέλεσμα την αύξηση των άωρων μορφών: λεμφοβλάστες στην ΟΛΛ και μυελοβλάστες στην ΟΜΛ. Οι λευχαιμικοί βλάστες αθροίζονται στον μυελό των οστών και καταστέλλουν την αύξηση και διαφοροποίηση των φυσιολογικών αιμοποιητικών κυττάρων. Το αποτέλεσμα στην ΟΛΛ και στην ΟΜΛ είναι η μειωμένη παραγωγή των φυσιολογικών ερυθρών, των λευκών αιμοσφαιρίων και των αιμοπεταλίων. Η έλλειψη αυτή των φυσιολογικών κυττάρων οδηγεί στις πιο χαρακτηριστικές αλλοιώσεις της νόσου: αδυναμία, κόπωση και ωχρότητα, ως αποτέλεσμα της αναιμίας, λοιμώξεις, ως αποτέλεσμα της λευκοπενίας, και αιμορραγίες, ως αποτέλεσμα της θρομβοπενίας. Οι λιγότερο συχνές κλινικές εκδηλώσεις της νόσου προέρχονται από τις εξωμυελικές αθροίσεις των λευχαιμικών κυττάρων. Αυτά τα λεμφοβλαστώματα ή τα μυελοβλαστώματα συναντώνται στο δέρμα, στους παραρρίνιους κόλπους, στα οστά, στις γονάδες, στους λεμφαδένες και σε άλλα μέρη.

2.3. Οξεία Λεμφοβλαστική Λευχαιμία

2.3.1. Γενικά

Είναι αιματολογική κακοήθεια που χαρακτηρίζεται από αύξηση των λεμφοβλαστών στον μυελό(συνοδεύεται συχνά από μυελική ανεπάρκεια).²¹⁹ Είναι η πιο συχνή λευχαιμία στα παιδιά. Είτε στα παιδιά, είτε στους ενήλικες, η νόσος έχει συνήθως οξεία έναρξη. Αρκετά σημεία είναι δυνατό να αποκαλύψουν τη νόσο, όπως:

1) Στοιχεία λόγω μυελικής ανεπάρκειας:

Αναιμία: ωχρότητα, αδυναμία, δύσπνοια, ζάλη.

Ουδετεροπενία: υποτροπιάζουσες ΩΡΛ λοιμώξεις (στοματίτιδα, ελκονεκρωτική κυνάγχη), πυρετός (μερικές φορές χωρίς εμφανή λοίμωξη).

Θρομβοπενία: Πετέχειες και εκχυμώσεις, επίσταξη, ουλορραγίες, αιμορραγικές φουσαλίδες στο στόμα, εμφάνιση αιμορραγιών στο βυθό του οφθαλμού (κίνδυνος εγκεφαλικής αιμορραγίας).

2) Στοιχεία λόγω λεμφικής διήθησης:

Διόγκωση λεμφαδένων (σκληροί και ανώδυνοι).

Διόγκωση ήπατος και σπληνός.

Άλγη στα οστά και στις αρθρώσεις.

Άλλες βλαστικές εντοπίσεις στις μήνιγγες, στους όρχεις και αλλού.

Τις περισσότερες φορές τα παραπάνω συμπτώματα συνδυάζονται και η διάγνωση τίθεται εύκολα. Πολύ συχνά όμως εμφανίζονται μορφές χωρίς συμπτώματα και με πολύ καλή γενική κατάσταση. Είναι σπουδαία η έγκαιρη διάγνωση με την τέλεση μυελογράμματος επί εμφάνισης ύποπτων σημείων.

3) Γενική εξέταση αίματος:

Ποικίλου βαθμού αύξηση των λευκών αιμοσφαιρίων (φυσιολογικά, αυξημένα ή μειωμένα ανάλογα με την βαρύτητα της ουδετεροπενίας και τη δίοδο βλαστών στο περιφερικό αίμα). Ο λευκοκυτταρικός τύπος είναι παθολογικός: χαμηλό ποσοστό πολυμορφοκυττάρων (σταθερή ουδετεροπενία) και κυμαινόμενο (συχνά αυξημένο) ποσοστό βλαστών.Ορθόχρωμη, ορθοκυτταρική αναιμία με μειωμένο αριθμό δικτυοερυθροκυττάρωση

Θρομβοπενία (ανάλογα με την βαρύτητα της μυελικής ανεπάρκειας).

Υπάρχουν δύο περιπτώσεις η διάγνωση να είναι βέβαιη: αναιμία + θρομβοπενία + λευκοκυττάρωση με κυκλοφορία βλαστών στο αίμα ή να είναι αμφίβολη: ευρήματα μυελικής ανεπάρκειας (π.χ. μεμονωμένη θρομβοπενία) χωρίς την παρουσία βλαστών στο αίμα. Τότε είναι απαραίτητη η διάγνωση με μυελόγραμμα

4) Μυελόγραμμα:

Συνήθως είναι τυπικό με πλούσια επιχρίσματα, μεγάλη διήθηση από ίδιας μορφολογίας βλαστικά κύτταρα (50-90%), μικρή αναλογία κυττάρων της ερυθράς, κοκκιοκυτταρικής και μεγακαρυοκυτταρικής σειράς.

Μερικές φορές υπάρχει μέτρια αύξηση των βλαστών στον μυελό. Είναι απαραίτητο οι βλάστες να ξεπερνούν το ποσοστό του 30% για να τεθεί η διάγνωση της οξείας λευχαιμίας. Μερικές φορές τα επιχρίσματα του μυελού είναι φτωχά (εστιακή ανάπτυξη των βλαστών ή παρουσία μυελοϊνώσεως). Σε αυτή την περίπτωση είναι απαραίτητη η βιοψία του μυελού. Με την τέλεση του μυελογράμματος είναι δυνατό να κάνουμε χρωμοσωματικό έλεγχο και κυρίως να καθορίσουμε τον κυτταρολογικό τύπο της λευχαιμίας (μορφολογία και ιστοχημεία λεμφοβλαστών).

2.3.2. Υποομάδες νόσου:

L1: είναι πιο συχνή στα παιδιά. Το μέγεθος του κυττάρου είναι μικρό, η σχέση του πυρήνα /πρωτοπλάσματος είναι πολύ αυξημένη (υπάρχει πολύ λίγο πρωτόπλασμα γύρω από τον πυρήνα). Η πυρηνική μεμβράνη είναι κανονική και η ύπαρξη πυρηνίων δεν είναι εμφανής.

L2: είναι πιο συχνή στους ενήλικες. Το μέγεθος του κυττάρου είναι ποικίλο, η σχέση του πυρήνα/ πρωτοπλάσματος είναι πολύ μικρή (υπάρχει άφθονο βασεόφιλο πρωτόπλασμα). Η πυρηνική μεμβράνη δεν είναι κανονική και η ύπαρξη των πυρηνίων είναι εμφανής.

L3 ή λευχαιμία Burkitt: είναι πιο σπάνια υποομάδα. Το μέγεθος του κυττάρου είναι μεγάλο. Η σχέση του πυρήνα/ πρωτοπλάσματος είναι μικρή (άφθονο πρωτόπλασμα, πολύ βασεόφιλο και με ύπαρξη άφθονων κενοτοπιών). Η πυρηνική μεμβράνη είναι κανονική και η ύπαρξη των πυρηνίων είναι εμφανής. Αυτά τα μορφολογικά κριτήρια λαμβάνονται υπ' όψιν σαν (+1) και (-1) ώστε να δημιουργηθεί ένα score στις περιπτώσεις που είναι δύσκολο να διαχωριστούν (L1=0 μέχρι +2, L2=-1 μέχρι -4). Ο τύπος L1 έχει την καλύτερη πρόγνωση και ο τύπος L3 τη χειρότερη πρόγνωση.

2.3.3. Ανοσοκυτταρολογία:

T-ΟΛΛ: έχει συχνότητα 20-25% και είναι συχνότερη στα αγόρια.

Οι ανοσολογικοί δείκτες που παρουσιάζονται στην νόσο είναι οι αυτόματες ροζέτες με ερυθρά προβάτου και η παρουσία αντιγόνων που αναγνωρίζονται από ειδικά μονοκλωνικά αντισώματα (ΟΚΤ).

Οι κλινικές ιδιαιτερότητες που παρουσιάζει η νόσος είναι η έντονη εκδήλωση της νόσου (διόγκωση μεσοθωρακίου), η μεγάλη λευκοκυττάρωση (200.000/μl) και η συχνή προσβολή των μηνίγγων (μερικές φορές στην έναρξη της νόσου). Η επιβίωση των ασθενών ανέρχεται περίπου στους 24 μήνες.

B-ΟΛΛ: έχει συχνότητα 1-2% και η σχέση A/Θ=1

Οι ανοσολογικοί δείκτες που παρουσιάζονται στην νόσο είναι η παρουσία της ανοσοσφαιρίνης επιφανείας.

Οι κλινικές ιδιαιτερότητες που παρουσιάζει η νόσος είναι η σπάνια εμφάνιση του συνδρόμου όγκου, η μικρότερη λευκοκυττάρωση και η συχνή προσβολή μηνίγγων. Η επιβίωση των ασθενών ανέρχεται στους περίπου στους 4 μήνες.

NON T- NON B-ΟΛΛ: έχει συχνότητα 70-75% και η σχέση A/Θ=1

Οι ανοσολογικοί δείκτες που παρουσιάζονται στην νόσο χαρακτηρίζονται από απουσία δεικτών T ή B.

Οι κλινικές ιδιαιτερότητες που παρουσιάζει η νόσος είναι ένα ήπιο σύνδρομο όγκου και μία μικρή λευκοκυττάρωση (20.000/μl). Η επιβίωση των ασθενών ανέρχεται άνω των 60 μηνών. Η οξεία λευχαιμία L1 και L2 είναι T ή non T-non B. Η οξεία λευχαιμία L3 είναι B.

2.3.4. Μορφολογικά, Κυτταροχημικά και Κυτταρογενετικά χαρακτηριστικά της ΟΛΛ

L1: αποτελεί το 85% των ΟΛΛ

Επικράτηση των λεμφοβλαστών, οι περισσότεροι από τους οποίους έχουν πολύ λίγο πρωτόπλασμα και όχι καλά ευδιάκριτα πυρήνια .

Κοκκία PAS θετικού υλικού στο πρωτόπλασμα. Σε αρκετές περιπτώσεις παρατηρείται θετικότητα στην όξινη φωσφατάση (T-ΟΛΛ).

Κυτταρογενετικά^{220,221}: υπερδιπλοειδία, t(1; 19), t(1;14), t4(4;110), t(9;22).

Οι προγνωστικοί παράγοντες για την L1 και L2 ΟΛΛ είναι ο αριθμός των λευκών, η ηλικία, το φύλο, ο καρυότυπος και πιθανόν η μορφολογία των βλαστών.

L2: αποτελεί το 10-15% των ΟΛΛ.

Επικράτηση των λεμφοβλαστών, οι περισσότεροι από τους οποίους έχουν μέτρια ποσότητα πρωτοπλάσματος και εμφανή πυρήνια.

Κοκκία PAS στο πρωτόπλασμα. Παρατηρείται θετικότητα στην όξινη φωσφατάση.

Κυτταρογενετικά: Οι ίδιες διαταραχές που παρατηρούνται στην L1.

L3: αποτελεί <1% της ΟΛΛ

Οι βλάστες έχουν αρκετά έντονο βασεόφιλο πρωτόπλασμα με κενοτόπια και στρογγυλό πυρήνια με 2-5 πυρήνια.

Τα κενοτόπια στο πρωτόπλασμα είναι θετικά στο oil red O και το πρωτόπλασμα θετικό στην methyl green-rygonin

Κυτταρογενετικά: t(8;14).

Παρατηρείται κλινική εκδήλωση του λεμφώματος Burkitt. Κακή πρόγνωση.

2.3.5. Ογκολογικοί δείκτες

Οι ογκολογικοί δείκτες στην αιματολογία μπορούν να διαιρεθούν σε: Διαλυτά μόρια (διαλυτοί υποδοχείς ιντερλευκίνης-6 ή τρανσφερίνης), κυτταροπλασματικοί δείκτες (ανοσοσφαιρίνη) αντιγόνα επιφανείας αιμοποιητικών κυττάρων (δείκτες εποφανείας), κυτταρογενετικοί δείκτες (χρωμοσωμακές διαταραχές).

Στην χρήση αυτών των τεχνικών, οι αιματολογικές κακοήθειες παρουσιάζουν πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα σε σχέση με τους συμπαγείς όγκους. Στα πλεονεκτήματα είναι α)

η ευκολία λήψης του δείγματος του αίματος ή/ και του μυελού των οστών, και η β) η πρόσβαση σε μεγάλο αριθμό κυττάρων. Στα μειονεκτήματα είναι το γεγονός ότι τα περισσότερα νεοπλασματικά κύτταρα εκφράζουν δείκτες επιφανείας, οι οποίοι είναι κοινοί με τα αντίστοιχα φυσιολογικά κύτταρα αν και με συνδυασμό μονοκλωνικών αντισωμάτων είναι σήμερα δυνατός ο καθορισμός του αντιγονικού προφίλ του λευχαιμικού πληθυσμού. Οι δείκτες επιφανείας στην ΟΛΛ φαίνονται στον πίνακα 8.

Πίνακας 8: Ταξινόμηση FAB, κυτταρικές σειρές, δείκτες επιφανείας και καρύοτυποι στην ΟΛΛ

FAB ταξινόμηση	Κυτταρική σειρά	Υπότυπος	Δείκτες	Καρύοτυπος κυττάρων
L1	B-σειρά	Πρώιμη pre-B	HLA-DR+, TdT+, CD19	φυσιολογική
L2		Κοινή ΟΛΛ	HLA-DR+, TdT+, CD19, CD10	υπερδιπλοειδικός
		Προ?B	HLA-DR+, TdT+, CD19, clg	Ψευδοειδοπλοειδικός L3 (Burkitt)
		B-ΟΛΛ	HLA-DR+, TdT+, CD19, slg	υποπλοειδικός
		Πρώιμη T- ΟΛΛ	TdT+, CD3, CD7, c	αντιμεταθέσεις
	T-σειρά	T-ΟΛΛ	TdT+, CD3, CD7, CD1a/2/3, c	t(9;22), t(4;11), t(8;14), t(1;19)

2.3.6. Διαφορική Διάγνωση

1) Ενώπιον εμφάνισης των ίδιων κλινικών σημείων (π.χ. οστικά άλγη, άλγη αρθρώσεων στα παιδιά που μοιάζουν με ρευματοειδή αρθρίτιδα): πρέπει να γίνεται μυελόγραμμα.

2) Λοιμώδης μονοπυρήνωση (προσβάλλει νέα άτομα, ύπαρξη κυνάγχης, διόγκωσης λεμφαδένων). Όταν υπάρχει δυσκολία να διακριθούν τα κύτταρα της λοιμώδους μονοπυρήνωσης από τους λεμφοβλάστες και όταν υπάρχουν δυσκολίες στην εξέταση του μυελού, στηριζόμαστε: στην εμπειρία του αιματολόγου, στην απουσία των σημείων της μυελικής ανεπάρκειας στην γενική εξέταση

αίματος, στις δοκιμασίες Paul-Bunnell και στο Mono-test καθώς και στη κυτταρομετρία ροής με την χρήση ειδικών μονοκλωνικών αντισωμάτων.

3) Μεταστάσεις στον μυελό από νεοπλάσματα (νευροβλάστωμα στα παιδιά, μικροκυτταρικό καρκίνωμα του πνεύμονα στους ενήλικες). Μορφολογικά παρατηρείται παρουσία συναθροίσεων ξένων κυττάρων, οπότε απαιτείται έρευνα για ανεύρεση της πρωτοπαθούς εστίας.

4) Λευχαιμοειδής αντίδραση (θυμίζουσα ΟΛ): φυματίωση των αιμοποιητικών οργάνων.

5) Κυρίως: άλλους τύπους οξείας λευχαιμίας

2.3.7. Έλεγχος

Αναζήτηση των εντοπίσεων:

Σχεδιασμός σε σχήμα με ημερομηνία, της έκτασης των ογκόμορφων εκδηλώσεων της νόσου, των αδένων, του ήπατος, του σπλήνα.

Σκελετός: διαυγείς ταινίες στις μεταφύσεις των μακρών οστών, οστεόλυση των σπονδύλων, υπεργέρσεις περιοστέου.

Ακτινογραφία θώρακα: αδένες στο μεσοθωράκιο (CT scan θώρακος-κοιλίας).

Αναζήτηση σημείων των πιο συχνών εντοπίσεων:

Διήθηση όρχεων, ωοθηκών

Βλαστική μηνιγγίτιδα: η οσφυονωτιαία παρακέντηση γίνεται συστηματικά, συνήθως κατά την πρώτη πλήρη ύφεση και συγχρόνως γίνεται χορήγηση προφυλακτικής ενδορραχιαίας θεραπείας.

Εργαστηριακός έλεγχος:

Γίνεται συστηματικά καθορισμός της ομάδας αίματος και του φαινότυπου των ερυθρών, έλεγχος πήξης, ηλεκτροφόρηση αιμοσφαιρίνης και λευκωμάτων, λήψη καλλιιεργειών, κυτταρομετρία ροής, ηπατικός και νεφρικός έλεγχος, ιοντόγραμμα, μέτρηση του ουρικού οξέος, μέτρηση ασβεστίου, φωσφόρου κλπ.

2.3.8. Ανασκόπηση των στοιχείων για την αρχική πρόγνωση

1) Ηλικία και φύλο: καλύτερη πρόγνωση στα παιδιά, με εξαίρεση αυτά που είναι κάτω του έτους και πάνω από δέκα ετών, και στα κορίτσια.

2) Υπαρξη συνδρόμου μαζών (ύπαρξη διόγκωσης μεσοθωρακίου) και αριθμός λευκών: ο υπερλευκοκυτταρικός τύπος έχει κακή πρόγνωση (πιο συχνές εντοπίσεις της νόσου, μεγάλη διόγκωση των αδένων, αυξημένος κίνδυνος οξείας νεφρικής ανεπάρκειας από καθίζηση του ουρικού οξέος, κίνδυνος συνδρόμου λευκόστασης, αναπνευστικής ανεπάρκειας, διάχυτης ενδαγγειακής πήξης, υπερκαλιαιμίας κλπ.)

3) Αρχική προσβολή των μηνίγγων: έχει κακή πρόγνωση.

4) Κυτταρολογικός τύπος: ο τύπος L1 έχει καλύτερη πρόγνωση από L2 και L3.

- 5) Ανοσολογικοί δείκτες: η non B-non T ΟΛΛ έχει καλύτερη πρόγνωση από T ή B-ΟΛΛ .
- 6) Χρωμοσωμακές διαταραχές: οι μεταθέσεις 4;11, 8;14, 9;22, έχουν χειρότερη πρόγνωση.
- 7) Δευτεροπαθείς ΟΛ: εκτροπή μυελοδυσπλαστικού συνδρόμου, έχει την χειρότερη πρόγνωση.
- 8) Ταχύτητα εξαφάνισης των μαζών υπό θεραπεία και διάρκεια της πρώτης πλήρους ύφεσης.

2.3.9. Κακοί προγνωστικοί παράγοντες ΟΛΛ ενηλίκων

- Αργοπορία για επίτευξη ύφεσης : >4 ή 5 εβδομάδες
- Ανοσολογικός φαινότυπος: προ-T-ΟΛΛ, προ-προ-B-ΟΛΛ, My+-ΟΛΛ.
- Καρυότυπος: t (9;22) BCR/ ABL-θετική, t(4;11).
- Μεγάλη ηλικία: > 60 ετών.
- Υψηλός αριθμός λευκών: >20.000, >30.000, >100.000.

2.3.10. Θεραπεία

Η θεραπεία έχει σαν στόχο την εξάλειψη των λευχαιμικών κυττάρων από τον οργανισμό του αρρώστου, την διατήρηση της κατάστασης ύφεσης που θα επιτευχθεί και την παροχή κάθε μέτρου υποστηρικτικής αγωγής για να αντιμετωπισθούν οι επιπλοκές που δημιουργεί η λευχαιμία. Η βασική αντιμετώπιση γίνεται με την εφαρμογή των πρωτοκόλλων χημειοθεραπείας.^{222,223,224} Τα πρωτόκολλα αυτά, τα οποία προσαρμόζονται και αναβαθμίζονται συνεχώς ανάλογα με τα νέα ευρήματα, πηγάζουν από πολύχρονη εμπειρία πολλών εξειδικευμένων νοσοκομειακών κέντρων διεθνώς. Χάρης σε αυτά έχει επιτευχθεί σήμερα στην παιδοογκολογία σημαντική πρόοδος στην θεραπεία των παιδιών με αποτέλεσμα να έχουμε ίαση σε περισσότερο από 70% (άλλοι υποστηρίζουν ως και 90%) των περιπτώσεων. Το ποσοστό αυτό στους ενήλικες αυτούς κυμαίνεται στο 35 %.

Τα πρωτόκολλα αυτά βασίζονται σε φάρμακα χημειοθεραπείας. Περιλαμβάνουν κυρίως τρεις φάσεις (Πίνακας 9) i) την αρχική φάση εφόδου (induction chemotherapy), ii) την φάση εδραίωσης (consolidation chemotherapy), iii) την φάση διατήρησης της ύφεσης, γνωστή σαν φάση συντήρησης (maintenance chemotherapy), v) την φάση προφύλαξης του κεντρικού νευρικού συστήματος (CNS prophylaxis) που στόχο έχει την προφύλαξη του ΚΝΣ από την λευχαιμία

Στις αρχικές δύο φάσεις της χημειοθεραπείας γίνεται εντατική χημειοθεραπεία με φάρμακα που έχουν την ιδιότητα να καταστρέφουν τα κύτταρα που αναπτύσσονται γρήγορα, όπως τα λευχαιμικά. Η θεραπεία για την οξεία λευχαιμία συνήθως συνεχίζεται για δύο-τρία χρόνια. Πλήρη ύφεση επιτυγχάνεται κατά προσέγγιση στο 90% των ασθενών, εκ των οποίων 25-40% τυγχάνουν επιβίωση για μεγάλο χρόνο. Κατά προσέγγιση 5% των ασθενών πεθαίνουν από επιπλοκές, σχετιζόμενες με την θεραπεία, κατά την διάρκεια της αρχικής τους θεραπείας και ένα άλλο 5% αποτυγχάνει να επιτύχει αρχική ύφεση.

Η θεραπεία της ΟΛΛ είναι συνήθως επείγουσα και απαιτείται να χορηγηθεί μέσα σε λίγες μέρες και ορισμένες φορές και την ίδια ημέρα που γίνεται διάγνωση.

Η αρχική φάση εφόδου (induction chemotherapy) περιλαμβάνει ορισμένα κοινά φάρμακα που χρησιμοποιούνται στην ΟΛΛ, νταουνоруμπισίνη, βινκριστίνη, πρεδνιζολόνη, ασπαραγινάση και μερικές φορές κυκλοφωσφαμίδη. Η χημειοθεραπεία σε αυτή την φάση συνοδεύεται από την εντατική υποστηρικτική θεραπεία, που συμπεριλαμβάνει μεταγγίσεις ερυθρών και αιμοπεταλίων. Τα αντιβιοτικά χορηγούνται προληπτικώς για την θεραπεία βακτηριδιακών και μυκητιασικών λοιμώξεων. Ο αυξητικός παράγοντας G-CSF μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την αποκατάσταση των λευκών αιμοσφαιρίων σε φυσιολογικό επίπεδο. Αν και η πιθανότητα των στοματικών ελκών και των επιπλοκών από το πεπτικό σύστημα είναι σπάνια, η ολική αλλά προσωρινή απώλεια των μαλλιών είναι συνήθης. Όταν τα λευκά αιμοσφαίρια επανέλθουν σε φυσιολογικά επίπεδα, επαναλαμβάνεται μία βιοψία μυελού. Πλήρης ύφεση επιτυγχάνεται όταν το αίμα και ο μυελός των οστών δεν δείχνουν σημεία επιμένουσας λευχαιμίας και οι εξετάσεις αίματος έχουν γίνει φυσιολογικές.

Η φάση εδραίωσης (consolidation chemotherapy) συνήθως περιλαμβάνει πολλαπλούς κύκλους εντατικής χημειοθεραπείας και πραγματοποιείται σε μία χρονική περίοδο μεγαλύτερη των έξι έως εννέα μηνών. Συνήθως απαιτούνται συχνές εισαγωγές στο νοσοκομείο και εντατική υποστηρικτική θεραπεία, η οποία περιλαμβάνει μεταγγίσεις ερυθρών αιμοσφαιρίων και αιμοπεταλίων. Η μεταμόσχευση του μυελού των οστών εφαρμόζεται μόνο όταν υπάρχουν κυτταρογενετικές διαταραχές.

Η φάση διατήρησης της ύφεσης (maintenance chemotherapy) εφαρμόζεται όταν οι ασθενείς έχουν τελειώσει την εντατική χημειοθεραπεία και τους χορηγούνται από του στόματος χημειοθεραπευτικά φάρμακα για μία χρονική περίοδο 18 έως 24 μηνών. Η από του στόματος χημειοθεραπεία είναι γενικά καλώς ανεκτή με ελάχιστες παρενέργειες. Οι ασθενείς κατά την διάρκεια της θεραπείας σε αυτή τη φάση πρέπει να κάνουν εξετάσεις αίματος μία φορά το μήνα. Οι περισσότεροι από τους ασθενείς αυτούς ανακτούν τις δυνάμεις τους και μπορούν να επιστρέψουν στις καθημερινές τους δραστηριότητες.

Η προφύλαξη του ΚΝΣ (CNS prophylaxis) περιλαμβάνει έγχυση χημειοθεραπευτικών παραγόντων (μεθοτρεξάτη) στον νωτιαίο μυελό, προκειμένου να προληφθεί η συνήθης υποτροπή της νόσου στον συγκεκριμένο ανατομικό χώρο. Η συγκεκριμένη θεραπεία καλείται ενδοραχιαία χημειοθεραπεία και πραγματοποιείται με την είσοδο μιας βελόνας στον ανατομικό χώρο μεταξύ του σπονδύλου και της κατώτερης σπονδυλικής στήλης, όπου γίνεται έγχυση του χημειοθεραπευτικού φαρμάκου κατευθείαν στο υγιές εγκεφαλονωτιαίο υγρό. Στους ασθενείς γίνονται συνήθως 6-12 ενδοραχιαίες εγχύσεις και ίσως να αυξηθεί ο αριθμός των εγχύσεων αν ανιχνευθούν καρκινικά κύτταρα στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό. Η συνήθης θεραπεία διαρκεί δύο έως τέσσερις μήνες και οι συνήθεις επιπλοκές που παρουσιάζονται είναι κεφαλαλγία και ναυτία.

Η μεταμόσχευση του μυελού των οστών, που ονομάζεται και μεταμόσχευση των προγονικών πολυδύναμων κυττάρων (stem cells) εφαρμόζεται μόνο στους ασθενείς που έχουν διαπιστωθεί κυτταρογενετικές ανωμαλίες, μετά από χρωμοσωμιακό έλεγχο, ή στους ασθενείς με χαρακτηριστικά της νόσου υψηλού κινδύνου.^{225,226} Οι ασθενείς που φέρουν το χρωμόσωμα Philadelphia²²⁷ ή μεταθέσεις των χρωμοσωμάτων 4 και 11 πρέπει να υποβάλλονται σε μεταμόσχευση. Για την μεταμόσχευση του μυελού συνήθως χρησιμοποιείται ο μυελός από συμβατό αδερφό ή αδερφή. Νέοι ασθενείς, με υψηλού κινδύνου ΟΛΛ, που δεν έχουν συμβατό δότη υποβάλλονται σε αλλογενή μεταμόσχευση μυελού.²²⁸ Επίσης, για ασθενείς υψηλού κινδύνου που δεν έχουν συμβατό δότη, εφαρμόζεται η αυτόλογη μεταμόσχευση των stem cells, κατά την οποία συλλέγονται κύτταρα από το μυελό του ίδιου του ασθενούς, αφού πρώτα έχει περάσει σε φάση πλήρους ύφεσης. Στην συνέχεια χορηγείται θεραπεία εφόδου και εφόσον είναι επιτυχής ακολουθείται από την φάση της εντατικής θεραπείας εδραίωσης (consolidation chemotherapy). Όταν οι τιμές του αίματος έχουν επανέλθει σε φυσιολογικά επίπεδα μετά την φάση εδραίωσης, προγονικά πολυδύναμα κύτταρα (stem cells) συλλέγονται από το αίμα χρησιμοποιώντας μία τεχνική που καλείται “αφαίρεση”. Ένας μεγάλος καθετήρας IV, που ονομάζεται Quentin, εισέρχεται μέσα σε μία από τις μεγάλες φλέβες του τραχήλου και συνδέεται με μία μηχανή αφαίρεσης. Η μηχανή αυτή λειτουργεί ως φυγόκεντρος και χωρίζει το αίμα στα επιμέρους συστατικά του, επιτρέποντας έτσι την συλλογή των λευκών αιμοσφαιρίων. Όλα τα άλλα κύτταρα, συμπεριλαμβάνοντας τα ερυθρά αιμοσφαίρια και τα αιμοπετάλια, επιστρέφονται στον ασθενή. Κάθε διαδικασία αφαίρεσης διαρκεί 4 ώρες και περίπου απαιτούνται δύο-τρεις αφαιρέσεις μέχρι να συλλεχθούν αρκετά stem cells. Ορισμένα μονοκλωνικά αντισώματα, που καλούνται Campath, προστίθενται μέσα στο σάκο με τα stem cells, προκειμένου να “καθαρίσουν” τα stem cells από τυχόν μολυσματικά λευχαιμικά κύτταρα.

Πίνακας 9: Τυπική χημειοθεραπεία στην ΟΛΛ¹⁴¹

α. Θεραπεία εφόδου (4 εβδομάδες)

Vincristine	i.v	εβδομαδιαία για 4 εβδ
Prednisolone	p.o	καθημερινά για 4 εβδ
l-asparaginase	i.m	3/ εβδομάδα για 3 εβδ
Daunorubicin	i.v	καθημερινά για 2 ημέρες

β. Θεραπεία ενισχύσεως (1 εβδομάδα)

Vincristine	i.v	μία δόση
Daunorubicin	i.v	για 2 ημέρες
Prednisolone	p.o	για 5 ημέρες
Etoposide	i.v	για 5 ημέρες
Cytosine arabinoside	i.v	για 5 ημέρες
Thioguanine	p.o	για 5 ημέρες

γ. Προφύλαξη του ΚΝΣ (3 εβδομάδες)

Ακτινοβολία κρανίου 24Gy τμηματικά. Ενδοραχιαία έγχυση μεθοτρεξάτης εβδομαδιαία για 3 εβδομάδες (ενδοραχιαία μεθοτρεξάτη γίνεται επίσης δύο φορές κατά την θεραπεία εφόδου και μία φορά σε κάθε θεραπεία ενίσχυσης.)

δ. Θεραπεία συντήρησης (2 χρόνια)

Methotrexate	p.o	εβδομαδιαία για 2 χρόνια
6-Mercaptopurine	p.o	ημερήσια για 2 χρόνια
Prednisolone	p.o	5 ημέρες κάθε μήνα για 2 χρόνια
vincristine	i.v	1 φορά το μήνα για 2 χρόνια

Παρατήρηση: το παραπάνω σχήμα είναι μυελοτοξικό και προκαλεί λευκοπενία 4-10 ημέρες μετά την θεραπεία. Συχνά απαιτούνται μεταγγίσεις ερυθρών και αιμοπεταλίων. Μεταξύ των σχημάτων καλό είναι να υπάρχει μεσοδιάστημα 4-6 εβδομάδων.

Συμπέρασμα:

Με την εφαρμογή των πρωτοκόλλων συνδυασμένης χημειοθεραπείας, πάνω από 90% των παιδιών εμφανίζουν πλήρη ύφεση και η πενταετής επιβίωση χωρίς νόσο είναι περίπου 60%, ενώ διάφορες υποομάδες της νόσου (ανάλογα με την ηλικία του ασθενούς και τον αριθμό των λευκών στη διάγνωση) εμφανίζουν πενταετή επιβίωση πάνω από 80% και αρκετά συχνά “ίαση” της νόσου. Στους ενήλικες με την εφαρμογή των καινούργιων αυτών πρωτοκόλλων, το ποσοστό πλήρους ύφεσης είναι 75% και η επιβίωση χωρίς νόσο ξεπερνά το 35%. Η πρόγνωση είναι χειρότερη σε άτομα άνω των 60 ετών, κυρίως λόγω των επιπλοκών που σχετίζονται με την χημειοθεραπεία. Αντίθετα, η χημειοθεραπεία στην πρώτη υποτροπή δεν δίνει καλά αποτελέσματα. Η διαφορά στο αποτέλεσμα της θεραπείας μεταξύ των παιδιών και των ενηλίκων φαίνεται ότι οφείλεται κυρίως στην διαφορετική συχνότητα της εμφάνισης της μετάθεσης t(9;22) και αναδιάταξης bcr-abl 15-25% στην ΟΛΛ των ενηλίκων και μόνο στο 3-5% των παιδιών.²³⁰ Ενώ το ποσοστό πλήρους ύφεσης είναι πολύ υψηλό, εντούτοις κατά κανόνα η νόσος υποτροπιάζει πρώιμα. Η κλινική εμφάνιση και η ανταπόκριση στην θεραπεία είναι όμοια τόσο στην m-bcr ΟΛΛ όσο και στην M-bcr ΟΛΛ, αλλά η διάρκεια της πλήρους ύφεσης είναι βραχύτερη στην M-bcr ΟΛΛ.

Καλή απάντηση στην χημειοθεραπεία και καλή πρόγνωση εμφανίζουν οι άρρωστοι που παρουσιάζουν υπερδιπλοϊδία με πάνω από 50 χρωμοσώματα, ενώ οι άρρωστοι με t(9;22), t(4;11) και t(8;14) εμφανίζουν κακή απάντηση στην θεραπεία και κακή πρόγνωση. Εφαρμογή αλλογενούς μεταμόσχευσης μυελού των οστών συνήθως σε δεύτερη ύφεση, εκτός αν υπάρχουν κακοί προγνωστικοί παράγοντες, οπότε γίνεται σε πρώτη πλήρη ύφεση. Στην ΟΛΛ των ενηλίκων τα αποτελέσματα της αυτόλογης μεταμόσχευσης είναι ίδια με της χημειοθεραπείας σε αρρώστους κάτω των 50 ετών.

Σε αρρώστους με Ph+ ΟΑΛ, η μόνη θεραπεία που προσφέρει πιθανότητα ίσης είναι η αλλογενής μεταμόσχευση μυελού αμέσως μόλις επιτευχθεί πλήρης ύφεση. Η αυτόλογη μεταμόσχευση μπορεί να θεωρηθεί σαν εναλλακτική θεραπεία, αλλά είναι απαραίτητη η επεξεργασία του μυελού με μονοκλωνικά αντισώματα με σκοπό την μείωση των λευχαιμικών κυττάρων στο μόσχευμα.

2.3.11. Εξέλιξη υπό θεραπεία

Στις περισσότερες περιπτώσεις επιτυγχάνεται μια πρώτη πλήρης ύφεση, αφού προηγηθεί μία περίοδο απλασίας.

Κριτήρια πλήρους ύφεση

Εξαφάνιση όλων των κλινικών σημείων.

Αίμα και μυελός φυσιολογικά (λιγότερο από 5% βλάστες στον μυελό).

Κυτταρογενετική ύφεση.

Εφ'όσον επιτευχθεί ύφεση, η οποία επιβεβαιώνεται με μυελόγραμμα, λαμβάνεται μέριμνα:

1. Για την πρόληψη της λευχαιμικής μηνιγγίτιδας: ακτινοβολήση κρανίου μέχρι τον 2^ο αυχενικό σπόνδυλο.

2. Ενδορραχιαία χορήγηση φαρμάκων, όπως κορτικοειδή, μεθοτρεξάτη, αρασυστίνη.

3. Χορήγηση θεραπείας συντήρησης, συνήθως διαφορετική από την θεραπεία εφόδου.

4. Κατά διαστήματα χορήγηση θεραπείας ενίσχυσης (ακόμα και χωρίς σημεία υποτροπής).

Η παρακολούθηση γίνεται με γενική εξέταση αίματος, κλινική εξέταση αίματος και μυελόγραμμα.

2.3.12. Επιπλοκές

1) Λοιμώξεις: είναι η συχνότερη αιτία θανάτου και συμβαίνουν συνήθως κατά την φάση της απλασίας μετά την χημειοθεραπεία Συνδεόμενες με την ουδετεροπενία (βακτηριακές): ΩΡΛ, πεπτικού πνευμόνων, σηψαιμία (κυρίως από αρνητικά κατά gram μικρόβια όπως κολοβακτηρίδιο, πρωτέας, κλεμψιέλα, ψευδομονάδα). Μυκητιάσεις (υποψία ενός πυρετού που είναι ανθεκτικός στα αντιβιοτικά). Λοιμώξεις από ιούς (κυτταρομεγαλοϊός) ή παράσιτα (*Pneumocystis carinii*). Χορηγούνται: αντιβιοτικά, αντιμυκητιασικά, αντιϊκά φάρμακα και μεταγγίσεις λευκών αιμοσφαιρίων ή χορήγηση αυξητικών παραγόντων, αν υπάρχει ανάγκη.

2) Αιμορραγίες: λόγω της θρομβοπενίας, η οποία είναι αποτέλεσμα της ανεπάρκειας του μυελού ή και της ιατρογενούς απλασίας. Επίσης, υπάρχει κίνδυνος εγκεφαλικής αιμορραγίας. Ιδιαίτερη σημασία έχουν οι εγκεφαλικές αιμορραγίες διότι προβλέπουν τον κίνδυνο.

3) Μεταβολικές Διαταραχές (ιδιαίτερα κατά την θεραπεία εφόδου):

Υπερουριχαιμία: πρόληψη με διούρηση (χορήγηση υγρών και αλκαλοποίηση με διττανθρακικά) και χορήγηση αλλοπουρινόλης.

Υπασβεστιαμία και υπερφωσφαταιμία (η λύση των βλαστικών κυττάρων απελευθερώνει τις φωσφορικές ρίζες): πρόληψη με χορήγηση αβεστίου.

Υπερκαλιαιμία (λύση βλαστικών κυττάρων) ή υποκαλιαιμία (αύξηση της αποβολής καλίου από τους νεφρούς π.χ. επί χορήγησης καρμπενικιλίνης): καθημερινή παρακολούθηση του καλίου κατά την διάρκεια της θεραπείας.

4) Από την χημειοθεραπεία

Απλασία

Αναιμία: χορήγηση μεταγγίσεων. Κίνδυνος λοίμωξης: είναι προτιμότερο ο ασθενής να απομονώνεται σε αποστειρωμένο δωμάτιο όταν ο αριθμός των πολυμορφοπύρηνων είναι κάτω από 1000/μl, να χορηγείται αποστείρωση του εντέρου (οι σπυραιμίες συνήθως ξεκινούν από μικρόβια της εντερικής χλωρίδας) καθώς επίσης και χορήγηση GM-CSF ή G-CSF.

Επιπλοκές συνδεόμενες με την τοξικότητα των φαρμάκων. Απώτερος κίνδυνος ανάπτυξης δευτεροπαθών κακοηθειών.

5) Ψυχολογικές

Ατομικά, οικογενειακά και κοινωνικά προβλήματα.

2.3.13. Υποτροπές

Η εμφάνιση συστηματικής υποτροπής της νόσου (επιβραδύνεται με την εφαρμογή της θεραπείας επανεφόδου και συντήρησης),²³⁰ εκδηλώνεται με την εμφάνιση διόγκωσης των λεμφαδένων, ηπατοσπληνομεγαλίας, πανκυτταροπενίας και κυκλοφορίας των βλαστικών κυττάρων στο περιφερικό αίμα. Το περιφερικό αίμα δείχνει διήθηση από λεμφοβλάστες. Συχνή είναι η εμφάνιση δύο εντοπισμένων εξωμυελικών υποτροπών:

1) Υποτροπή από το ΚΝΣ με διήθηση μηνίγγων: είναι πιο σπάνια λόγω της συστηματικής προφυλακτικής θεραπείας επανεφόδου και συντήρησης. Κλινικά εμφανίζεται με κεφαλαλγία, μερικές φορές με εκδηλώσεις από προσβολή των εγκεφαλικών συζυγίων (προσωπικό, απαγωγό, κλπ), ενώ συχνά είναι ασυμπτωματική και ανακαλύπτεται με την εξέταση του εγκεφαλονωτιαίου υγρού (αύξηση του λευκώματος, μείωση του σακχάρου και παρουσία των βλαστών στο επίχρισμα με κυτταροφυγοκέντρηση). Η προσβολή των μηνίγγων είναι ευαίσθητη στην ενδοραχιαία χορήγηση κυτταροστατικών (μεθοτρεξάτη, αραβινοσίδη της κυτοσίνης, κορτικοειδή) αλλά είναι συχνά ένα σημείο επικείμενης συστηματικής υποτροπής της λευχαιμίας.

2) Υποτροπή κυρίως στους όρχεις ή στις ωοθήκες: έχει την ίδια προγνωστική σημασία δείχνοντας την επικείμενη συστηματική υποτροπή.

Η εμφάνιση της πρώτης υποτροπής είναι κατά κανόνα ευαίσθητη στην χημειοθεραπεία, οπότε ακολουθεί εγκατάσταση νέας ύφεσης. Οι εν συνέχεια εμφανιζόμενες υποτροπές της νόσου είναι συνήθως πιο ανθεκτικές στη χημειοθεραπεία και αν επιτευχθεί ύφεση είναι συνήθως πιο βραχείας δράσης.

2.4. Οξεία μυελογενής (ή μη λεμφοβλαστική) λευχαιμία

2.4.1. Γενικά

Ο όρος οξεία μυελογενή λευχαιμία (ΟΜΛ) ή οξεία μη λεμφοβλαστική λευχαιμία αντιπροσωπεύει μία ομάδα νεοπλασμάτων του μυελού, η οποία έχει κλινικές ομοιότητες αλλά διαφορετικά μορφολογικά και κυτταρογενετικά χαρακτηριστικά. Προσβάλλει οποιαδήποτε ηλικία με αυξημένη συχνότητα στις μεγάλες ηλικίες, ενώ η ετήσια επίπτωση είναι 2.3 ανά 100.000. Στις ηλικίες κάτω των 30, η επίπτωση είναι μικρότερη από 1 ανά 100.000 και ανέρχεται στο 14 ανά 100.000 στην ηλικία των 75 ετών. Στους άνδρες η νόσος έχει μεγαλύτερη επίπτωση από τις γυναίκες. Η ΟΜΛ αποτελεί το 12% των περιπτώσεων λευχαιμίας στα παιδιά σε ηλικίες κάτω των 10 ετών και 28% μεταξύ 10 και 15 ετών.²³¹ Στους ενήλικες, η ΟΜΛ αποτελεί το 80-90% των περιπτώσεων της οξείας λευχαιμίας. Παραδόξως, η συγγενής μορφή λευχαιμίας είναι η ΟΛΛ, αντί της ΟΜΛ, και είναι μονοκυτταρική με εκτεταμένη εξωμυελική νόσο, συμπεριλαμβάνοντας ιδιαίτερα το δέρμα και το ΚΝΣ. Το κύτταρο προέλευσης στην ΟΜΛ είναι ένας βλάστης που συχνότερα δείχνει μυελοειδή ή μονοκυτταρική διαφοροποίηση. Κατά προσέγγιση 5-10% των ασθενών έχουν ερυθροειδή ή μεγακαρυοκυτταρική διαφοροποίηση και γι' αυτό το λόγο ο όρος "μη λεμφοβλαστική" είναι ακριβέστερος, αλλά ως "οξεία μυελογενή" είναι περισσότερο συνηθισμένος.

2.4.2. Παθογένεια

Γενικά στην παθογένεια της ΟΜΛ έχουν ενοχοποιηθεί οι εξής τέσσερις παράγοντες:

Α) Λευχαιμογόνοι ιοί: όπως έχει ήδη αποδειχθεί ορισμένοι ιοί προκαλούν λευχαιμία στα ζώα (πτηνά).

Στον άνθρωπο δεν έχει βρεθεί άμεση λευχαιμογόνος δράση ιού στην παθογένεια της ΟΜΛ.

Β) Γενετική προδιάθεση: Η σημασία των γενετικών παραγόντων στην ΟΜΛ αποδεικνύεται από την συχνή εμφάνισή τους σε άτομα που πάσχουν από σύνδρομα, τα οποία χαρακτηρίζονται από χρωμοσωμικές ανωμαλίες ή αστάθεια των χρωμοσωμάτων. Συγκεκριμένα, ασθενείς με σύνδρομο Down (τρισωμία 21) έχουν αυξημένο κίνδυνο τόσο για ΟΜΛ όσο για ΟΛΛ. Άλλα συγγενή σύνδρομα που συνοδεύονται από αυξημένη επίπτωση ΟΜΛ είναι η αναμία Fanconi, Bloom's syndrome, Kostmann's syndrome, Klinefelter's syndrome, η αταξία-τελαγγειεκτασία και η νευροϊνωμάτωση.²³²

Επίσης, αρκετές μελέτες έχουν αποδείξει αυξημένη επίπτωση της ΟΜΛ σε οικογένειες με μέλος που πάσχουν από ΟΜΛ καθώς και αυξημένη πιθανότητα εμφάνισης της νόσου σε μονοζυγωτικά δίδυμα, όταν το ένα πάσχει. Συνήθως, η νόσος εμφανίζεται πριν από την ηλικία των 2 ετών και πιθανολογείται ότι οφείλεται σε κάποιο ενδομήτριο γεγονός.

Γ) Χημικά καρκινογόνα: Σήμερα γνωρίζουμε ένα μεγάλο αριθμό καρκινογόνων, ορισμένα εκ των οποίων παρουσιάζουν σαφή επιδημιολογική συσχέτιση με την ΟΜΛ. Το βενζένιο είναι αποδεδειγμένο λευχαιμογόνο γιατί παρεμβάλλεται στο μόριο του DNA προκαλώντας μεταλλάξεις στα διαιρούμενα κύτταρα, όπως είναι τα αιμοποιητικά και τα μυελικά. Έχει βρεθεί αυξημένη επίπτωση ΟΜΛ σε εργάτες βυρσοδεψείων που χρησιμοποιούν βενζένιο για την επεξεργασία του δέρματος.²³¹

Ορισμένα αντινεοπλασματικά φάρμακα έχουν ενοχοποιηθεί για την πρόκληση ΟΜΛ. Αυτά είναι κυρίως αλκυλιούντες παράγοντες που προκαλούν βλάβες στο DNA, αλλά και φάρμακα όπως το cisplatinum και οι επιποδοφυλλοτοξίνες που χρησιμοποιούνται στην θεραπεία του καρκίνου.²³⁴ Η ΟΜΛ που αναπτύσσεται στους ασθενείς που έπαιρναν αντινεοπλασματικά φάρμακα χαρακτηρίζεται από μονοκυτταρική επικράτηση και διάφορες χρωμοσωμικές ανωμαλίες.²³⁵ Το κάπνισμα έχει συσχετιστεί με την ανάπτυξη ΟΜΛ σε αρκετές μελέτες αν και η σχέση αυτή αμφισβητείται. Γεγονός πάντως είναι ότι τα ούρα των καπνιστών παρουσιάζουν αυξημένη μεταλλαξιογόνο ικανότητα in vitro, γεγονός που υποδηλώνει ότι το κάπνισμα παίζει ρόλο και στην παθογένεια και άλλων νεοπλασιών εκτός από τον καρκίνο του πνεύμονα.δράση.²³⁶ Αρκετά άλλα φάρμακα και χημικές ουσίες έχουν συσχετισθεί με την ΟΜΛ, αλλά όχι με ιδιαίτερα ισχυρά δεδομένα. Σε αυτά περιλαμβάνονται η φαινυλβουταζόνη, η χλωραμφενικόλη, η χλωροκίνη, τα ψωραλένια, το LSD, διάφοροι διαλύτες χρωμάτων, εντομοκτόνα και άλλα.²³¹

Δ) Ιοντίζουσα ακτινοβολία: η ιοντίζουσα ακτινοβολία παίζει ρόλο στην ανάπτυξη πλήθους νεοπλασιών συμπεριλαμβάνοντας και την ΟΜΛ. Σχετικά επιδημιολογικά δεδομένα, προερχόμενα από τους επιζώντες της Hiroshima και του Nagasaki, αναφέρουν λανθάνουσα περίοδο μεταξύ της έκθεσης στην ακτινοβολία και της ανάπτυξης της λευχαιμίας 5 έως 21 χρόνια, αν και οι επιζώντες εμφανίζονται να είναι σε αυξημένο κίνδυνο πέρα και από την περίοδο αυτή.²³⁷ Επίσης έχει ενοχοποιηθεί και η έκθεση σε Thorotrast, ένα σκιαστικό μέσο που έχει χρησιμοποιηθεί στην ακτινολογία, ότι συσχετίζεται με την ανάπτυξη ΟΜΛ με μια λανθάνουσα περίοδο 10 έως 30 έτη.

2.4.3. Κλινική Συμπτωματολογία

Το πιο συνήθες σύμπτωμα είναι μία απροσδιόριστη κούραση και κακουχία, που ταλαιπωρεί τον ασθενή για μήνες. Ωχρότητα και αδυναμία μπορεί να συσχετίζεται με την αναιμία. Ο πυρετός είναι κοινό εύρημα και παρουσιάζεται στο 15-20% των ασθενών. Συνοδεύεται από ιδρώτα που οφείλεται είτε στην κύρια νόσο είτε δευτεροπαθώς σε τυχόν φλεγμονή λόγω ουδετεροπενίας. Αιμορραγικά σημεία, όπως εύκολεςεκχυμώσεις, πετέχειες και επίσταξη ανιχνεύονται στους περισσότερους από τους μισούς ασθενείς και συσχετίζονται ανάλογα με την σοβαρότητα της θρομβοπενίας. Οι μισοί από τους ασθενείς αυτούς αναφέρουν απώλεια βάρους, όχι όμως σημαντική.

Οστικά άλγη αναφέρονται στο 20% των ασθενών. Αν και η οργανομεγαλία και η αδενοπάθεια έχουν αναφερθεί στους μισούς ασθενείς με ΟΜΛ, συσχετίζονται περισσότερο με την ΟΛΛ. Διήθηση του δέρματος συμβαίνει στο 10% των ασθενών και συνοδεύεται από εξάνθημα και όζους, ενώ η διήθηση και η υπερτροφία των ούλων είναι αντιπροσωπευτική της οξείας μονοκυτταρικής λευχαιμίας (AMoL).

Συμπτώματα από το ΚΝΣ μπορούν να εμφανιστούν ως κεφαλαλγία και/ή παραλύσεις κρανιακών νεύρων, ιδιαίτερα το V και το VII. Η μηνιγγική νόσος ανέρχεται στο 10-38% των παιδιών με ΟΜΛ, ενώ είναι πιο συχνή στην ΟΛΛ. Αν και θεραπεία ρουτίνας για το ΚΝΣ δεν δίνεται,

ορισμένοι κλινικοί χορηγούν προφυλακτική θεραπεία, ιδιαίτερα για τους ασθενείς με ΑΜοL και λευκά πάνω από 100.000 κύτταρα/ mm³.

Η συμμετοχή της καρδιάς μπορεί να οφείλεται είτε σε ηλεκτρολυτικές διαταραχές λόγω καλίου, είτε σε προσβολή του συστήματος αγωγιμότητας είτε σε διήθηση του τοιχώματος των αγγείων.

Συμπτώματα από το πεπτικό περιλαμβάνουν φλεγμονές, ιδιαίτερα περιεντερικά αποστήματα και τυφλίτιδα, και νεκρωτική κολίτιδα που σχετίζεται με την λευχαιμική διήθηση του τοιχώματος του εντέρου.

Επιπλοκές από τον πνεύμονα συμβαίνουν στους ασθενείς με λευκόσταση και ή με φλεγμονές που σχετίζονται με την ουδετεροπενία.

2.4.4. Κυτταρική ταξινόμηση (κατά FAB)

Η ΟΜΛ ταξινομείται μορφολογικά, σύμφωνα με τα κριτήρια της Γαλλο-Αμερικανο-Βρετανικής ομάδας (FAB), σύμφωνα με τον βαθμό διαφοροποίησης των κυτταρικών σειρών και της έκτασης της κυτταρικής ωρίμανσης.^{238,239}

Αδιαφοροποίητη μυελοβλαστική λευχαιμία (M0)

Οι βλάστες είναι αδιαφοροποίητοι και δύσκολα γίνεται διάκριση από την οξεία λεμφοβλαστική λευχαιμία. Η διαφοροποίηση του μυελού ανιχνεύεται με ανοσοφαινοτυπικούς μεθόδους με δραστηριότητα σε τουλάχιστον μιας σειράς μυελικών αντιγόνων, όπως το CD13 ή το CD33. Αρκετές μελέτες έχουν δείξει μικρή συχνότητα ύφεσης μετά από θεραπεία και μικρής διάρκειας.²⁴⁰

Μυελοβλαστική λευχαιμία χωρίς ωρίμανση (M1)

Τα κύτταρα στο μυελό των οστών δείχνουν μία επικρατούσα κοκκιοκυτταρική διαφοροποίηση, με 3% ή περισσότερο βλάστες, θετικούς στην μυελοϋπεροξειδάση ή με μία ποικιλία βλαστών, που περιέχουν τουλάχιστον λίγα αζουρόφιλα κοκκία, σωματία Auer ή και τα δύο. Περαιτέρω ωρίμανση δεν παρατηρείται.

Μυελοβλαστική λευχαιμία με ωρίμανση (M2)

Η βλάστη διαχωρίζεται σαφώς από το προμυελοκύτταρο. Τα λευχαιμικά κύτταρα είναι συνήθως εμπύρνα, έχουν ποικίλο κυτταρόπλασμα, συνήθως με πολλά αζουρόφιλα κοκκία, και περιέχουν σωματία Auer. Τα σωματία Auer είναι χαρακτηριστικά της ΟΜΛ και δεν ανευρίσκονται ποτέ στην ΟΛΛ. Στην M2 (σε αντίθεση με την M1), μυελοκύτταρα, μεταμυελοκύτταρα και ώριμα κοκκιοκύτταρα μπορεί να βρεθούν σε ποικίλη αναλογία. Μία ειδική χρωμοσωμική μετάθεση (8;21) συσχετίζεται συχνά με αυτή την μορφολογία.

Προμυελοκυτταρική λευχαιμία (M3)

Χαρακτηρίζεται από τα εξής γνωρίσματα:

α) Η μεγάλη πλειοψηφία των κυττάρων είναι τα ανώμαλα προμυελοκύτταρα, με ραβδόμορφα στοιχεία που σχηματίζονται από συσσωρευμένα κοκκία

β) ο πυρήνας ποικίλει σε μέγεθος και σχήμα, είναι νεφροειδής ή δίλοβος. Τα προμυελοκύτταρα περιέχουν παράγοντες πήξης στα κοκκία που με την θεραπεία και την καταστροφή των κυττάρων απελευθερώνονται στην κυκλοφορία και προκαλούν διάχυτη ενδοαγγειακή πήξη (DIC). Για το λόγο αυτό, πολλές φορές με την χημειοθεραπεία χορηγείται ηπαρίνη καθώς και φρέσκο κατεψυγμένο πλάσμα.

γ) η χρωμοσωμική μετάθεση t (15;17).

Εκτός από την παραπάνω μεγαλοκοκκιάδη μορφή, υπάρχει και η μικροκοκκιάδης μορφή,²⁴¹ στην οποία τα πολλαπλά κοκκία ανιχνεύονται μόνο με ηλεκτρονικό μικροσκόπιο. Κίνδυνος διάχυτης ενδοαγγειακής πήξης (DIC) και η μετάθεση t(15;17) χαρακτηρίζουν επίσης την ποικιλία αυτή της M3.

Μυελομονοκυτταρική λευχαιμία (M4)

Τόσο η κοκκιοκυτταρική όσο και η μονοκυτταρική διαφοροποίηση είναι παρούσα στο μυελό και στο περιφερικό αίμα. Η M4 μοιάζει με την M2 σε όλα τα χαρακτηριστικά, εκτός της αναλογίας των προμυελοκυττάρων και των μονοκυττάρων. Οι προμυελοκυτταρικοί μονοβλάστες είναι σε ποσοστό μικρότερο από 20%. Εντούτοις, τα προμυελοκύτταρα και τα προμυελοκύτταρα δεν μπορούν πάντα να διακριθούν με την χρώση Romanowsky. Μια ποικιλία M4 (συνήθως <10%) παρουσιάζει έναν αριθμό ανώμαλων ηωσινοφίλων στο μυελό των οστών.²⁴² Οι περιπτώσεις αυτές συσχετίζονται επίσης με αναστροφή του χρωμοσώματος 16, με καλή πρόγνωση και μία αυξημένη τάση συμμετοχής του ΚΝΣ.

Μονοκυτταρική λευχαιμία (M5)

Περιλαμβάνει δύο υπότυπους:

α) Με πτωχή διαφοροποίηση χαρακτηρίζονται οι μεγάλοι βλάστες, οι οποίοι έχουν λεπτή χρωματίνη, και ένα (περιστασιακά έως και τρία) μεγάλα, ευδιάκριτα, κυψελιδώδη πυρήνια. Το κυτταρόπλασμα είναι βασεόφιλο, πολύπτυχο και συχνά εμφανίζει ένα ή περισσότερα ψευδοπόδια. Μπορεί να υπάρχει ένας μικρός αριθμός προμυελοκυττάρων.

β) Διαφοροποίηση χαρακτηρίζει τους μυελοβλάστες, τα προμυελοκύτταρα και τα μονοκύτταρα, αλλά η αναλογία των μονοκυττάρων στο περιφερικό αίμα είναι μεγαλύτερη από ότι στο μυελό των οστών, στον οποίο το επικρατές κύτταρο είναι το προμυελοκύτταρο. Το κύτταρο αυτό μοιάζει με τον μονοβλάστη, αλλά έχει ένα μεγάλο πυρήνα με εγκεφαλοειδή εμφάνιση, πυρήνιο, αλλά το κυτταρόπλασμα είναι λιγότερο βασεόφιλο και συνήθως έχει αζουρόφιλα κοκκία, τα οποία είναι διασκορπισμένα. Εξωμυελικές διηθήσεις των ιστών, ιδιαίτερα του δέρματος και των ούλων (υπερτροφία ούλων), είναι συνήθεις στους ασθενείς με αυτόν τον μορφολογικό υπότυπο.

Ερυθρολευχαιμία (M6)

Χαρακτηρίζεται από >50% άωρους ερυθροβλάστες με έντονη δυσερυθροποίηση. Οι ερυθροβλάστες εμφανίζουν ποικίλου βαθμού, ιδίτερα μορφολογικά χαρακτηριστικά: πολυλοβωτοί

πυρήνες με ποικιλία στο μέγεθος των λοβίων, πολλαπλά πυρήνια, ύπαρξη ενός ή περισσότερων πυρηνικών τμημάτων, γιγαντιαίες μορφές και μεγαλοβλαστικά χαρακτηριστικά. Η ερυθρολευχαιμία έχει δύο μορφές: α) >70% βλάστες στην ερυθρά σειρά και β) >30% βλάστες στην λευκή σειρά. Το ποσοστό των μυελοβλαστών και των προμυελοκυττάρων που συνοδεύουν αυτές τις δυσερυθροποιητικές αλλαγές είναι ποικίλο, αλλά όταν είναι < από 30% όλων των εμπύρηνων κυττάρων, θα πρέπει να σκεφτούμε μία διαφορετική διάγνωση, όπως το μυελοδυσπλαστικό σύνδρομο.

Μεγακαρυοβλαστική λευχαιμία (M7)

Είναι σπάνιος υπότυπος της ΟΜΛ. Οι βλάστες μπορεί είτε να μοιάζουν με ανώριμα μεγακαρυοκύτταρα ή να είναι τελείως αδιαφοροποίητοι στην μορφολογία και να μοιάζουν με λεμφοβλάστες. Εξ'ορισμού, η χρώση με μυελοϋπεροξειδάση είναι αρνητική για την περίπτωση των βλαστών. Η διάγνωση τίθεται με το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο, με το οποίο αναγνωρίζονται οι βλάστες ή με μονοκλωνικά αντισώματα επιφανείας, τα οποία κατευθύνονται σε αντιγόνα αιμοπεταλίων. Η M7 συνοδεύεται συχνά από εκσεσημασμένη ίνωση του μυελού. Η M7 έχει μειωμένη απάντηση στην θεραπεία από τους άλλους υπότυπους της ΟΜΛ και μικρή πιθανότητα για να επιτευχθεί ύφεση μακράς διάρκειας με τις καθορισμένες αρχές χημειοθεραπείας.²⁴³

2.4.5. Πρόγνωση

Όπως τα κλινικά χαρακτηριστικά και τα μορφολογικά, που ταξινομούνται κατά FAB, έχουν συσχετισθεί με την πρόγνωση, ένα σχήμα ταξινόμησης που επιπρόσθετα χρησιμοποιεί ανάλυση δεικτών επιφανείας και κυτταρογενετικές διαταραχές χρησιμεύει σαν ένα σημαντικό ιατρικό εργαλείο.^{244,245}

Πίνακας 10: Προγνωστικοί παράγοντες στην ΟΜΛ

Παράγοντες	Καλοί	Κακοί
Κλινικοί		
Ηλικία	<45 χρονών	<2 ετών, >60 ετών
Λευχαιμία	De novo	προηγηθείσα μυελοδυσπλασία
Λευκοκυττάρωση	<25.000/mm ³	>100.000/mm ³
Νόσος ΚΝΣ	-	+
Κυτταρική μείωση	Ταχεία	Καθυστερημένη
Μορφολογικοί		
Auer rods	+	-
Ηωσινόφιλα	+	-
Μεγαλοβλαστικοί κυτταροβλάστες	-	+
Τύπος FAB	M3, M4	M5,6,7

Παράγοντες	Καλοί	Κακοί
Δείκτες επιφανείας		
Μυελικοί	MY4-, MY7-	MY4+(CD14), MY7+(CD13), MY10+ (CD34)
HLA-Dr	Αρνητικοί	θετικοί
TdT	-	+
Λεμφικοί	OKT 11(CD2), B4 (CD19)	Διφαινοτυπική (≥2 λεμφικοί δείκτες)
Κυτταρογενετικοί		
	t(15;17), t(8;21), inv (16)del(16q)	-7, del(7q);-5, del(5q);11q23 abnormalities; 3q21 και 3q26 abnormalities

2.4.6. Θεραπεία

Οι εξελίξεις στην θεραπεία της ΟΜΛ στους ενήλικες έχει σαφώς βελτιώσει τους ρυθμούς πλήρους ύφεσης. Η θεραπεία πρέπει να είναι επαρκώς επιθετική προκειμένου να επιτευχθεί πλήρης ύφεση, διότι η μερική ύφεση δεν προσφέρει κανένα ουσιαστικό όφελος. Κατά προσέγγιση, το 60-70% των ενηλίκων με ΟΜΛ αναμένεται να αποκτήσει πλήρη ύφεση, όταν ακολουθούν την κατάλληλη θεραπεία εφόδου. Περισσότεροι από 15% των ενηλίκων με ΟΜΛ (από τους οποίους το 25% είναι εκείνοι που έχουν αποκτήσει πλήρη ύφεση) αναμένεται να ζήσουν 3 ή περισσότερα χρόνια και μπορεί να θεραπευτούν. Οι φάσεις της θεραπείας περιλαμβάνουν την φάση εφόδου (προκειμένου να αποκτηθεί ύφεση) και την φάση ενίσχυσης (προκειμένου να διατηρηθεί η ύφεση που έχει αποκτηθεί). Η φάση συντήρησης χορηγήθηκε στους ασθενείς για πολλά χρόνια, αλλά πλέον δεν συμπεριλαμβάνεται στις σύγχρονες αρχές της θεραπείας που εφαρμόζονται στις ΗΠΑ. Άλλες μελέτες έχουν χορηγήσει πιο εντατική θεραπεία ενίσχυσης, αλλά για βραχύτερο χρονικό διάστημα, μετά από το οποίο η θεραπεία διακόπηκε. Η θεραπεία ενίσχυσης είναι πιο δραστική όταν χορηγείται είτε άμεσα μετά από την επίτευξη της ύφεσης, είτε μετά από 9 μήνες. Η αντιλευχαιμική θεραπεία είναι παρόμοια για όλους τους υπότυπους της ΟΜΛ (Πίνακας 11).¹⁴¹

Ως θεραπεία εφόδου (induction therapy) χορηγείται daunorubicin σε συνδυασμό με cytarabine, η οποία έχει ως αποτέλεσμα πλήρη ύφεση σε ποσοστό κατά προσέγγιση 65%. Μερικοί κλινικοί επιλέγουν να προσθέσουν και ένα τρίτο φάρμακο στην αγωγή αυτή, την θειογουανίνη, αν και υπάρχουν λίγα στοιχεία ότι η συνδυαστική αυτή θεραπεία των τριών φαρμάκων προσφέρει καλύτερα αποτελέσματα στην θεραπεία. Εντούτοις, μία μελέτη έχει δείξει ότι η προσθήκη της ετοποσιδης στην φάση της θεραπείας εφόδου βελτιώνει την διάρκεια απάντησης στην θεραπεία.²⁴⁶ Η Idarubicin έχει

δείξει να είναι πιο αποτελεσματικό φάρμακο από την daunorubicin, αν και οι δόσεις των δύο φαρμάκων μπορεί να μην ήταν ισοδύναμες.²⁴⁷ Ο ρόλος της cytarabine αμφισβητείται, αν και μια Γερμανική ομάδα σε μία ανάλυση ασθενών με κυτταρογενετικές διαταραχές έχει δείξει πλήρη ύφεση, αλλά μικρή βελτίωση στο χρόνο ελεύθερο- νόσου.²⁴⁸ Ιδιαίτερη προσοχή πρέπει να δοθεί στην θεραπεία εφόδου για την M3. Έχει αποδειχθεί ότι η από του στόματος χορήγηση τρετινοΐνης (all-transretinoic acid, ATRA), μόνη της ή σε συνδυασμό με άλλους κυτταροτοξικούς παράγοντες, μπορεί να επάγει ύφεση στο 70-90% των ασθενών με M3 OMA.²⁴⁹ Το ATRA, ως θεραπεία εφόδου, φαίνεται να ομαλοποιεί την πήξη πιο γρήγορα, προλαμβάνοντας την διάχυτη ενδαγγειακή πήξη (ΔΕΠ), από την συμβατική χημειοθεραπεία. εφόδου, αλλά επίσης συσχετίζεται και με την ανάπτυξη υπερλευκοκυττάρωσης και εμφάνισης του “ρετινοϊκού οξέος σύνδρομο, retinoic acid syndrome”.²⁵⁰ Το σύνδρομο αυτό προκαλεί αναπνευστική δυσχέρεια στους ενήλικες, η οποία όμως ανταποκρίνεται στα στερεοειδή. Προφυλακτική ηπαρίνη δεν χορηγείται γενικά στους ασθενείς που λαμβάνουν ATRA.

Προφυλακτική θεραπεία για το ΚΝΣ δεν δίνεται, διότι μόνο το 5% των ασθενών αναπτύσσει νόσο του ΚΝΣ.²⁵¹ Σε τέτοια όμως περίπτωση, χορηγείται ενδοραχιαία κυταραμπίνη ή μεθοτρεξάτη. Κατά την διάρκεια της ύφεσης μετά την θεραπεία εφόδου, συνήθως χορηγείται υποστηρικτική θεραπεία, η οποία περιλαμβάνει μεταγγίσεις αίματος ή αιμοπεταλίων, όταν είναι απαραίτητο. Επίσης, αυξητικοί παράγοντες, όπως G-CSF και GM-CSF χρησιμοποιούνται ως μια προσπάθεια βράχυνσης της περιόδου της ουδετεροπενίας, μετά από την θεραπεία εφόδου της λευχαιμίας.²⁵² Αντιμικροβιακή θεραπεία ευρέως φάσματος είναι απολύτως αναγκαία για τους εμπύρετους ασθενείς, οι οποίοι είναι κατά βάση ουδετεροπενικοί.²⁵³ Οι μεταγγίσεις με λευκά βοηθούν επιλεκτικά τους ασθενείς με απλαστικό μυελό και σοβαρές λοιμώξεις, που δεν ανταποκρίνονται στα αντιβιοτικά. Επίσης, προφυλακτική από του στόματος αντιβιοτική θεραπεία είναι κατάλληλη για τους ασθενείς με μεγάλη και μακράς διάρκειας ουδετεροπενία (<100/mm³ για δύο εβδομάδες). Ο συνδυασμός οφλοξασίνης και ριφαμπυκίνης έχει αποδειχθεί να είναι καλύτερος από την νορφλοξασίνη, όσο αναφορά την μείωση της επίπτωσης των λοιμώξεων.²⁵⁴

Ως θεραπεία ενίσχυσης (consolidation therapy), ορίζεται η θεραπεία που χορηγείται μετά την φάση της εφόδου και είναι απολύτως απαραίτητη ακόμα και αν έχουν αναφερθεί ασθενείς,²⁵⁵ οι οποίοι είναι για μεγάλο χρονικό διάστημα ελεύθεροι νόσου (DFS=disease free survival) ή θεραπεύονται μετά από ένα μόνο κύκλο χημειοθεραπείας. Πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει ότι η θεραπεία ενίσχυσης περιλαμβάνει:

α) μικρής διάρκειας, σχετικά επιθετικής χημειοθεραπείας, που έχει σαν βάση την cytarabine και μοιάζει με την κλασική θεραπεία εφόδου και

β) περισσότερο επιθετική χημειοθεραπεία με μεγαλύτερη δόση cytarabine, η οποία έχει πολύ καλά αποτελέσματα σε ασθενείς με ηλικία μικρότερη των 60 ετών.²⁵⁶ Βέβαια, η επιθετική χημειοθεραπεία με cytarabine μπορεί να επιπλακεί με σοβαρές νευρολογικές και/ή πνευμονολογικές

τοξικές διαταραχές^{257,258} και για τον λόγο αυτό πρέπει να χορηγείται από ειδικούς με εμπειρία σε τέτοια φάρμακα.

Πίνακας 11: Τοπική χημειοθεραπεία στην ΟΜΛ¹⁴¹

α. DAT3+10

Daunorubicin ή Idarubicin	iv	3 δόσεις την ημέρα για 3 ημέρες
Cytosine arabinoside (ara-C)	iv	2 δόσεις την ημέρα για 10 ημέρες
Thioguanine	iv	ομοίως

β. ADE 10+3+5

Cytosine arabinoside (Ara-C)	i.v	2 φορές την ημέρα για 10 ημέρες
Daunorobucin	iv	κάθε δεύτερη ημέρα για 6 ημέρες
Etoposide	i.v	ημερησίως για 5 ημέρες

γ. MACE

Amsacrine (M-sma)	i.v	για 5 ημέρες
Cytosine Arabinoside (Ara-C)	i.v	συνεχής έκχυση
Etoposide (VP16), Mid AC	i.v	υψηλές δόσεις ημερησίως για 5 ημέρες
Mitrozantrone	i.v	ημερησίως για 5 ημέρες
Cytosine arabinoside (Ara-C)	i.v	διακεκομμένη δόση δύο φορές την ημέρα για 3 ημέρες

Με την αυτόλογη μεταμόσχευση των οστών, οι ασθενείς με ΟΜΛ μετά την πρώτη ύφεση επιτυγχάνουν επιβίωση ελεύθερη νόσου (DFS) σε ποσοστό 35-50%, ενώ το ποσοστό αυτό μειώνεται εάν η μεταμόσχευση εφαρμοσθεί μετά την δεύτερη υποτροπή.²⁵⁹ Επίσης, υπάρχουν μελέτες που έχουν δείξει ότι η μεταμόσχευση του μυελού αποδίδει, σε ποσοστό 40-51%, 4 χρόνια επιβίωση ελεύθερης νόσου, ενώ το ποσοστό αυτό παραμένει το ίδιο στους ασθενείς που λαμβάνουν μόνο χημειοθεραπεία (υψηλή δόση cytarabin).²⁶⁰

Η αλλογενής μεταμόσχευση του μυελού θεωρείται θεραπεία εκλογής για τους ασθενείς κάτω των 60 ετών, στην πρώτη ύφεση, όταν βρεθεί δίδυμος αδερφός ή αδερφή, ο οποίος είναι συμβατός σαν δότης. Αν και υπάρχουν στοιχεία που έχουν δείξει ότι σε ορισμένες περιπτώσεις μπορεί να χρησιμοποιηθούν μερικώς συμβατοί δότες, εντούτοις η επίπτωση σοβαρής νόσου μοσχεύματος κατά ξενιστή (GVH disease), η καθυστερημένη αποδοχή μοσχεύματος και η αποβολή αυτού είναι σημαντικά αυξημένα. Οι περισσότερες μελέτες έχουν δείξει ότι ο ρυθμός της λευχαιμικής υποτροπής είναι μειωμένος, όταν εφαρμόζεται αλλογενής μεταμόσχευση του μυελού των οστών στην πρώτη ύφεση σε σχέση με την χορήγηση μόνο χημειοθεραπείας.²⁶¹ Επίσης, η αλλογενής μεταμόσχευση

προσφέρει υψηλού βαθμού τέλεια ύφεση (σε ασθενείς, στους οποίους η θεραπεία εφόδου έχει αποτύχει) και μακράς διάρκειας επιβίωση (ελεύθερης νόσου, στο ένα τρίτο των ασθενών) είτε στην πρώτη υποτροπή ή στην δεύτερη ύφεση.²⁶²

3. ΧΡΟΝΙΕΣ ΛΕΥΧΑΙΜΙΕΣ

3.1. Χρόνια λεμφογενής λευχαιμία

3.1.1. Γενικά

Η χρόνια λεμφογενής λευχαιμία (ΧΛΛ) παριστάνει μία υπερπλασία του λεμφικού συστήματος (λεμφοϋπερπλαστικό σύνδρομο) λόγω κακοήθους μονοκλωνικής αύξησης των ώριμων λευκοκυττάρων (πιο συχνά των Β) και άθροιση αυτών στο αίμα, στο μυελό των οστών, στους λεμφαδένες, στον σπλήνα, στο ήπαρ και σε άλλα όργανα. Τα λεμφοκύτταρα έχουν παρατεταμένο χρόνο επιβίωσης, υποθέτοντας την ύπαρξη μιας διαταραχής στην απόπτωση σαν κύρια παθογένεια της νόσου.²⁶³ Η έναρξη της νόσου είναι συνήθως ήπια (ανακαλύπτεται τυχαία στα πλαίσια ενός συστηματικού ελέγχου). Η συνήθης ηλικία εμφάνισης είναι πάνω από τα 60 χρόνια με επικράτηση των ανδρών.

Οι συνθήκες ανακάλυψης είναι συνήθως οι ακόλουθες:

1. Επαναλαμβανόμενες λοιμώξεις ή εμφάνιση μιας κοινής λοίμωξης με ασυνήθιστη βαρύτητα (π.χ εκτεταμένος έρπης ζωστήρας)
2. Αναιμία
3. Διόγκωση λεμφαδένων
- 4.Επηρεασμός γενικής κατάστασης (αδυναμία, καταβολή των δυνάμεων, απώλειαβάρους, νυκτερινοί ιδρώτες, πυρετός)
5. Τυχαία εξέταση αίματος αποκαλύπτει ασυμπτωματικές μορφές τις πιο πολλές φορές.

3.1.2. Παθογένεια

Η αιτιοπαθογένεια είναι άγνωστη. Στα λευχαιμικά κύτταρα στο 50% των ασθενών ανιχνεύονται χρωμοσωμικές ανωμαλίες,²⁶⁴ κυρίως η τρισωμία 12 μόνη της ή σε συνδυασμό με άλλες κυτταρογενετικές διαταραχές, όπως την 14q+,13q+ και 11q+. Η νόσος δεν σχετίζεται με την έκθεση στην ακτινοβολία, αλλά έχει οικογενειακή κατανομή. Επίσης, έχει αναφερθεί ότι μερικά δίδυμα αδέρφια έχουν αναπτύξει τη νόσο.

3.1.3. Κλινική εικόνα

•Διόγκωση των επιπολής λεμφαδένων σε όλες τις προσιτές περιοχές,²⁶⁵ στους μισούς σχεδόν ασθενείς (συνήθως αμφοτερόπλευρες και συμμετρικές). Οι λεμφαδένες έχουν ποικίλο μέγεθος, είναι σκληροί, ευκίνητοι και η διόγκωση είναι βραδεία και προοδευτική και συνήθως γίνεται καλά ανεκτή (χωρίς πόνο, φλεγμονώδη συμπτώματα και συνήθως δεν προκαλεί πίεση στα παρακείμενα όργανα).

•Αναζήτηση σπληνομεγαλίας ή ηπατομεγαλίας.

- Αναζήτηση διήθησης δέρματος (Τ χρόνια λεμφογενής λευχαιμία) ή των δακρυϊκών και των σιελογόνων αδένων.

- Επηρεασμός της γενικής κατάστασης του αρρώστου. Συχνά η γενική κατάσταση είναι καλή. Συμπτώματα, όπως απώλεια βάρους και πυρετός είναι σπάνια. Ιδιαίτερα, ο πυρετός είναι εξαιρετικά σπάνιος και αναφέρεται μόνο σε συνύπαρξη λοίμωξης,²⁶⁶ σε αντίθεση με την ΟΛΛ και το λέμφωμα, όπου είναι πολύ συχνός.

3.1.4. Έλεγχος

•Παρακλινικός έλεγχος:

Η ταχύτητα καθίζησης των ερυθρών είναι φυσιολογική ή λίγο αυξημένη. Αυξημένη είναι σε περιπτώσεις με συνοδό μονοκλωνική αύξηση των γ-σφαιρινών.

•Εξέταση αίματος:

Λεμφοκυττάρωση συνήθως πάνω από 5.000/μl για μια περίοδο μεγαλύτερη των τριών μηνών. Συχνά αυτή η λεμφοκυττάρωση είναι πολύ μεγάλη (πάνω από 50.000/μl). Τα λεμφοκύτταρα έχουν συνήθως φυσιολογική μορφολογία²⁶⁷ (μικρά ώριμα λεμφοκύτταρα με λίγο πρωτόπλασμα και στρογγυλό πυρήνα με βολία χρωματίνης), ενώ συχνά βρίσκονται στο επίχρισμα άφθονες πυρηνικές σκιές. Τα προλεμφοκύτταρα είναι κάτω από 15%. Οι κυτταροχημικές χρώσεις δεν βοηθούν γενικά στην διάγνωση. Στην έναρξη της νόσου, ο απόλυτος αριθμός πολυμορφοπυρήνων είναι συνήθως φυσιολογικός και παρά την έκταση της νόσου σχετικά λίγοι άρρωστοι εμφανίζουν συμπτώματα. Στην έναρξη επίσης της νόσου, η αιμοσφαιρίνη και ο αριθμός των αιμοπεταλίων είναι φυσιολογικά. Η εμφάνιση αναιμίας ή και θρομβοπενίας κατά την διάγνωση είναι στοιχείο κακής πρόγνωσης.

Μπορεί να εξελιχτεί σε χρόνια προλεμφοκυτταρική λευχαιμία ή σε λέμφωμα από μεγάλ κύτταρα.

Ανεύρεση σφαιροκυττάρων στο επίχρισμα επί εμφάνισης αυτοάνοσης αιμολυτικής αναιμίας (θετική η άμεση αντίδραση Coombs).

•Κυτταρογενετικά:

Περίπου οι μισοί ασθενείς εμφανίζουν χρωμοσωματικές διαταραχές (πιο συχνά σε προχωρημένα στάδια). Πιο συχνά εμφανίζεται τρισωμία 12, ενώ προσβάλλονται επίσης τα χρωμοσώματα 11,13 και 14 (ασθενείς με τρισωμία 12 έχουν μικρότερη επιβίωση, ενώ οι ασθενείς με μερικές διαταραχές, όπως π.χ. 13q+ έχουν καλύτερη πορεία).²⁶⁸ Οι περισσότερες από τις διαταραχές στο χρωμόσωμα 13 εντοπίζονται στη θέση του κατασταλτικού γόνου του ρετινοβλαστώματος, ενώ σε πάνω από το 70% των αρρώστων εκφράζεται ο γόνος bcl-2 που σχετίζεται με την in vitro επιβίωση των λευχαιμικών κυττάρων. 5-10% των αρρώστων που εμφανίζουν t (11;14) όπου η θέση του ογκογονιδίου bcl-1 εμφανίζουν νόσο που είναι όμοια με τη λευχαιμική φάση λεμφώματος από κύτταρα του μανδύα (άτυπη εμφάνιση και έκφραση CD11b) που συχνά συγχέεται με την κλασική ΧΛΛ.

▪ Μυελόγραμμα:

Ο μυελός είναι πλούσιος σε κυτταρικά στοιχεία με έντονη διήθηση (πάνω από 30%) από λεμφοκύτταρα. Ανάλογα με τον βαθμό διήθησης μπορεί να βρεθεί διατήρηση ή μείωση των άλλων μυελικών σειρών.

▪ Βιοψία μυελού:

Πολύ χρήσιμη όταν δεν διαπιστώνεται ικανή λεμφοκυτταρική διήθηση στο μυελόγραμμα.²⁶⁹ Επιβεβαιώνεται η λεμφοκυτταρική διήθηση και ο τύπος της (διάχυτη ή οζώδης) καθώς και η παρουσία ή όχι ίνωσης.

▪ Βιοψία λεμφαδένων:

Μικρή βοήθεια στη διάγνωση. Συνήθως δείχνει διαταραχή της φυσιολογικής αρχιτεκτονικής του λεμφαδένα και διήθηση από ένα μονοκλωνικό πληθυσμό ώριμων μικρών λεμφοκυττάρων.

▪ Μελέτη των δεικτών της μεμβράνης:

Η ανοσοϊστοχημεία δείχνει το μονοκλωνικό χαρακτήρα της λεμφικής υπερπλασίας ανακαλύπτοντας την παρουσία της μονοκλωνικής ανοσοσφαιρίνης στην επιφάνεια των λεμφοκυττάρων. Τόσο τα φυσιολογικά Β λεμφοκύτταρα, όσο και τα Β λεμφοκύτταρα της ΧΛΛ, εμφανίζουν ran-B αντιγόνα (CD19, CD20 και CD23), ενώ τα κύτταρα της Β ΧΛΛ έχουν υποδοχείς για τα ερυθρά αιμοσφαίρια ποντικού και ασθενή έκφραση ανοσοσφαιρινών επιφανείας. Σχεδόν το 95% των περιπτώσεων ΧΛΛ, τα Β λεμφοκύτταρα είναι CD5 θετικά²⁷⁰ (αντιγόνο Τ κυττάρων, αλλά βρίσκεται και στον εμβρυικό λεμφικό ιστό και στα λεμφοκύτταρα της περιφέρειας των βλαστικών κέντρων στους ενήλικες). Είναι τόσο χαρακτηριστική η ύπαρξη των CD5+ στην ΧΛΛ, που σε απουσία τους πολλοί θεωρούν την διάγνωση αρνητική.²⁷¹ Αυξημένος αριθμός κυττάρων CD5+ στο περιφερικό αίμα παρατηρούνται στους αρρώστους με αυτοάνοσα νοσήματα και μετά από αλλογενή μεταμόσχευση μυελού των οστών και πιστεύεται ότι αποτελούν την πηγή των αυτοαντισωμάτων (πιθανόν να ευθύνονται για την εμφάνιση αυτοάνοσων διαταραχών στο 20% περίπου των αρρώστων με ΧΛΛ). Οι περιπτώσεις της ΧΛΛ με CD5 αρνητικά κύτταρα έχουν την ίδια κλινική έκφραση της νόσου. Έχουν βρεθεί περιπτώσεις ΧΛΛ που εκφράζουν αντιγόνα που χαρακτηρίζουν τα τριχωτά κύτταρα, τα μονοκύτταρα ή και τα κύτταρα της κοκκιώδους σειράς. Η παρουσία ανοσοσφαιρινών στην επιφάνεια των Β λεμφοκυττάρων (πιο συχνά IgM) βρίσκεται με ανοσοφθορισμό με την βοήθεια ειδικών αντιωρών. Πρόκειται για ένα μονοκλωνικό πληθυσμό λεμφοκυττάρων, αφού όλα τα λεμφοκύτταρα φέρουν την ίδια βαριά (πιο συχνά μ) και την ίδια ελαφρά άλυσσο των ανοσοσφαιρινών (πιο συχνά λ).²⁷² Λειτουργικά τα Β λεμφοκύτταρα δεν είναι φυσιολογικά. Τα λεμφοκύτταρα της ΧΛΛ βρίσκονται σε ένα ενδιάμεσο στάδιο ωρίμανσης μεταξύ του προ-Β λεμφοκυττάρου και του μικρού κυκλοφορούντος λεμφοκυττάρου. Όταν δεν βρίσκεται παρουσία ανοσοσφαιρίνης στην επιφάνεια των κυττάρων, σκεπτόμαστε την Τ προέλευση των κυττάρων της ΧΛΛ.

Εκτός από την διαταραχή της απόπτωσης στον παθολογικό πολλαπλασιασμό των Β λεμφοκυττάρων της ΧΛΛ φαίνεται να λαμβάνουν μέρος και η παθολογική παραγωγή μερικών κυτταροκινών ή υποδοχέων (TNFα, IL-4 και IL-6). In vitro, τα λεμφοκύτταρα της ΧΛΛ πεθαίνουν λόγω απόπτωσης (αυτή η ιδιότητα αναστέλλεται με επώαση με IL-4 όπως και με ιντερφερόνη α και γ πιθανότατα λόγω τροποποίησης του bcl-2).

•Ανοσολογικός έλεγχος

Η ύπαρξη ανοσολογικής ανεπάρκειας είναι υπεύθυνη για την συχνή εμφάνιση και την βαρύτητα των εμφανιζόμενων λοιμώξεων. Υπάρχει διαταραχή τόσο της χυμικής όσο και της κυτταρικής ανοσίας των πασχόντων (διαταραχές στα Β, Τ λεμφοκύτταρα και NK κύτταρα που φαίνεται να οφείλονται σε ανεπάρκεια IL-2).²⁷² Η αύξηση των λοιμώξεων οφείλεται σε πολλούς παράγοντες, όπως η υπογαμμασφαιριναιμία, η διαταραχή στην ενεργοποίηση του συμπληρώματος και οι διαταραχές της κυτταρικής ανοσίας. Οι περισσότερες λοιμώξεις οφείλονται σε κοινά μικρόβια (διάφορα είδη σταφυλόκοκκου, αιμόφιλος) ενώ η χρησιμοποίηση στη θεραπεία νέων ανοσοκατασταλτικών φαρμάκων (π.χ. ανάλογα πουρινών) συνοδεύεται από μεγαλύτερη συχνότητα ευκαιριακών λοιμώξεων και λοιμώξεις από κυτταρομεγαλοϊό ή ιό του έρπητα ζωστήρα γιατί μειώνονται τα CD4. Η συχνότητα των συνήθων βακτηριακών λοιμώξεων φαίνεται να μειώνεται με την χορήγηση γ-σφαιρινών, ενώ δεν φαίνεται να επηρεάζονται οι βαριές λοιμώξεις και οι λοιμώξεις από μύκητες ή ιούς. Αυτή η θεραπευτική τακτική πρέπει μάλλον να επιφυλάσσεται σε αρρώστους με υποτροπιάζουσες λοιμώξεις.

Χυμική ανοσία: Η ηλεκτροφόρηση των λευκωμάτων δείχνει την ύπαρξη της υπογαμμασφαιριναιμίας και ο ποσοτικός προσδιορισμός των ανοσοσφαιρινών δείχνει μια συνολική μείωσή τους ή πιο συχνά των IgM και IgA ανοσοσφαιρινών. Μερικές φορές στην ηλεκτροφόρηση, υπάρχει μία αιχμή στην περιοχή των γ-σφαιρινών που οφείλεται στην ύπαρξη μονοκλωνικής ανοσοσφαιρίνης (πιο συχνά IgM) (μεγάλη αύξηση της ΤΚΕ). Σημειώνεται η αδυναμία παραγωγής αντισωμάτων έναντι των νεοεισερχόμενων αντιγόνων σε σύγκριση με τα αντιγόνα που έχει ήδη έρθει σε επαφή ο πάσχων.

Κυτταρική ανοσία: Είναι επίσης διαταραγμένη πολύ περισσότερο για τα πρωτοεισερχόμενα αντιγόνα.

Έλεγχος ύπαρξης αυτοανοσίας: αντίδραση Coombs, Dixon, Valler-Rose, αντι-DNA αντισωμάτων κλπ.

3.1.5. Διάγνωση

Οι ομάδες: The International CLL Workshop²⁷³ και National Cancer Institute Working Group έχουν ορίσει τα απαραίτητα κριτήρια για να τεθεί η διάγνωση της ΧΛΛ.

1) Απόλυτη λεμφοκυττάρωση στο περιφερικό αίμα που επιμένει και δεν αποδίδεται σε άλλη αιτία, με μορφολογικά ώριμα λεμφοκύτταρα, που ο αριθμός τους είναι $>5000/\text{κκχ}$.

2) Διήθηση του μυελού των οστών $>30\%$ από κύτταρα με β-λεμφοκυτταρικό φαινότυπο (CD19, CD20, CD21, CD24) που φέρουν το T-κυτταρικό αντιγόνο CD5.

3.1.6. Διαφορική Διάγνωση

Διαφορική διάγνωση της ΧΛΛ πρέπει να γίνει από τις παρακάτω καταστάσεις:

1. Αντιδραστική λεμφοκυττάρωση. Τα κύτταρα είναι κυρίως T-λεμφοκύτταρα και είναι πολυκλωνικά.

2. Χαμηλής κακοήθειας λέμφωμα από μικρά λεμφοκύτταρα. Έχει πολλές ομοιότητες με την ΧΛΛ, τόσο μορφολογικά όσο και ανοσοφαινοτυπικά. Θεωρούνται ως κλινικές ποικιλίες της ίδιας της νόσου.

3. Διηθητικό και οζώδες λέμφωμα. Όταν οι νόσοι αυτές εξαπλώνονται στο αίμα μοιάζουν με την ΧΛΛ. Τα κύτταρά τους όμως δεν εκφράζουν το κυτταρικό αντιγόνο CD5.

4. Άλλες καταστάσεις, όπως η λευχαιμία εκ τριχωτών κυττάρων, η μακροσφαιριναιμία Waldenstrom, το σύνδρομο Sezary, το T-λέμφωμα/ λευχαιμία των εηλίκων (ιός HTLV-1).

3.1.7. Πρόγνωση

Η ταξινόμηση Binet²⁷⁴ λαμβάνει υπόψη την έκταση των λεμφαδενικών διογκώσεων (διόγκωση ήπατος και σπληνός επίσης μαζί με τις λεμφαδενικές διογκώσεις) και τη γενική εξέταση αίματος για τη σταδιοποίηση της νόσου:

Στάδιο A: Αιμοσφαιρίνη πάνω από 10 gr/ dl, αιμοπετάλια πάνω από 100.000/ μl, λιγότερες από τρεις θέσεις (περιοχές) με διογκωση λεμφαδένων: τράχηλος, μασχάλη, βουβωνική περιοχή, ήπαρ, σπλήνας (περίπου το 55% των ΧΛΛ). Μέση επιβίωση περίπου 120 μήνες.

A(0): όχι διογκωση

A(I): διογκωση

A(II): ηπατομεγαλία ή σπληνομεγαλία

Στάδιο B: Αιμοσφαιρίνη πάνω από 10 gr/ dl, αιμοπετάλια πάνω από 100.000/ μl, περισσότερες από τρεις περιοχές με διογκωμένους λεμφαδένες (περίπου 30% των περιπτώσεων ΧΛΛ). Μέση επιβίωση 70 μήνες.

Στάδιο C: Αιμοσφαιρίνη κάτω από 10 gr/ dl ή και αιμοπετάλια κάτω από 100.000/μl (περίπου 15% των περιπτώσεων ΧΛΛ). Μέση επιβίωση περίπου 20 μήνες,

Η ταξινόμηση Rai²⁷³ λαμβάνει υπόψη το ποσό του ανώμαλου λεμφικού ιστού και την παρουσία αιματολογικών επιπλοκών.

Στάδιο O: Ύπαρξη μόνο λεμφοκυττάρωσης στο περιφερικό αίμα και στον μυελό (μέση επιβίωση πάνω από 150 μήνες).

Στάδιο I: Λεμφοκυττάρωση και ύπαρξη διογκωμένων λεμφαδένων (επιβίωση 110 μήνες).

Στάδιο II: Λεμφοκυττάρωση και ±διόγκωση λεμφαδένων, διόγκωση σπληνός ή και ήπατος (επιβίωση 70 μήνες).

Στάδιο III: Λεμφοκυττάρωση με ±ύπαρξη διογκωμένων λεμφαδένων, σπληνός ή και ήπατος και αναιμία: Hb<11.0 g/dl (επιβίωση περίπου 20 μήνες).

Στάδιο IV: Όλα τα προηγούμενα και θρομβοπενία (κακή πρόγνωση).

Στην Rai ταξινόμηση οι άρρωστοι διακρίνονται σε ομάδες χαμηλού κινδύνου (στάδιο O), ενδιάμεσου (στάδια I-II) και υψηλού κινδύνου (στάδια III-IV). Οι περισσότεροι άρρωστοι στην διάγνωση εμφανίζονται στις ομάδες χαμηλού ή ενδιάμεσου κινδύνου.

Η μέση επιβίωση των αρρώστων με πρώιμο στάδιο (Rai O, Binet A) είναι άνω των δέκα ετών, με ενδιάμεσο στάδιο (Rai I-II, Binet B), η μέση επιβίωση είναι 5-7 χρόνια, ενώ οι άρρωστοι με προχωρημένο στάδιο (Rai III-IV, Binet C) έχουν μέση επιβίωση ενάμιση μέχρι 2 χρόνια. Στο 10% των αρρώστων, η διάγνωση της νόσου γίνεται σε ηλικία κάτω των 50 ετών και η πρόγνωση εξαρτάται επίσης από το στάδιο της νόσου (πρώιμο στάδιο: επιβίωση περί τα 13 χρόνια, προχωρημένο στάδιο: επιβίωση περίπου 2 χρόνια).

Άλλοι προγνωστικοί παράγοντες αφορούν το είδος της προσβολής του μυελού των οστών (διάχυτη ή όχι προσβολή), το χρόνο διπλασιασμού του αριθμού των λεμφοκυττάρων, τα επίπεδα της β2 μικροσφαιρίνης στον ορό, τους διαλυτούς υποδοχείς της IL-2, τον ανοσοφαινότυπο και τις χρωμοσωματικές διαταραχές, η γαλακτική αφυδρογονάση (LDH) και η C-αντιδρώσα πρωτεΐνη (CRP). Η πρόγνωση επίσης εξαρτάται από την βαρύτητα του ανοσολογικού ελλείματος, που ευθύνεται για την εμφάνιση και την σοβαρότητα των λοιμώξεων. Τα στάδια C, III ή IV έχουν πιο βαριά ανοσολογική ανεπάρκεια (επιπλέον στις βαριές μορφές υπάρχει και ανεπάρκεια των λεμφοκυττάρων).

3.1.8. Παράγοντες που συνοδεύονται με χειρότερη πρόγνωση της ΧΛΛ²⁷⁵⁻²⁷⁷

Πριν αναφερθούμε στην θεραπεία, πρέπει να σημειωθεί ότι η ανταπόκριση στην θεραπεία κάθε ασθενούς είναι απρόβλεπτη και διαφέρει από ασθενή σε ασθενή. Σήμερα, είναι φανερό ότι μια αναλογία ασθενών έχουν μακρά επιβίωση χωρίς μεγάλη επιδείνωση, ενώ το ένα τρίτο των ασθενών έχουν περισσότερο επιθετική νόσο με επιδείνωση, μικρότερη επιβίωση και χρήζουν θεραπείας νωρίτερα.²⁷⁵ Ένα ίδιο ποσοστό ασθενών έχουν ήπια κλινική νόσο, η οποία θα εξελιχθεί προοδευτικά και θα χρειαστεί θεραπεία. Κατά συνέπεια, δεν είναι δυνατόν ή ακόμα και σωστό να αποφασίσουμε θεραπεία για έναν ασθενή χωρίς να λάβουμε υπόψιν μας τις παραπάνω μεταβλητές. Είναι φανερό ότι οι προγνωστικοί παράγοντες είναι σημαντικοί και μπορούν να μας βοηθήσουν να προαποφασίσουμε ποιος ασθενής θα λάβει θεραπεία και πώς να προσεγγίσουμε τις διάφορες υποομάδες ασθενών με ΧΛΛ, ενώ συγχρόνως μας κατευθύνουν για τις αρχές θεραπείας που θα εφαρμοστούν.

Κλινικά χαρακτηριστικά:

Προχωρημένη ηλικία.
 Μεγάλη διόγκωση λεμφαδένων.
 Σπληνομεγαλία και ηπατομεγαλία.
 Κακή γενική κατάσταση

Αιματολογικά ευρήματα:

Αναμία.
 Θρομβοπενία.
 Ουδετεροπενία
 Αύξηση ΤΚΕ.
 Πολύ υψηλός αριθμός λευκών.
 Μεγάλα και άτυπα λεμφοκύτταρα στο αίμα.
 Πάνω από 80% διήθηση του μυελού από λεμφοκύτταρα.

Διάχυτη διήθηση του μυελού

Εργαστηριακά ευρήματα:

Αύξηση LDH.
 Υπολευκωματιναιμία.
 Αύξηση αλκαλικής φωσφατάσης.
 Ουραιμία.
 Υπερασβεστιαμία.

Ανοσολογικά χαρακτηριστικά:

Υπογαμμασφαιριναιμία.
 Αυτοάνοση αιμολυτική αναμία.
 Αύξηση β2- μικροσφαιρίνης.
 Αύξηση διαλυτών υποδοχέων CD23 ή CD25.
 Ανοσοφαινότυπος (SmIg+++ , Cd23-, έκφραση αντιγόνων μυελομονοκυτταρικής σειράς).

Χρωμοσωματικές διαταραχές:

Σύνθετες και πολλαπλές διαταραχές (π.χ. 14q32, t(12), κ.α.).

Παράμετροι κινητικής:

Ταχύς χρόνος διπλασιασμού
 Αυξημένη δραστηριότητα θυμιδικής κινάση
 Αυξημένος αριθμός στην φάση S.

Άλλα:

Ανθεκτικότητα στη θεραπεία.

3.1.9. Θεραπεία

Οι ασθενείς που ανήκουν στην ομάδα χαμηλού κινδύνου (στάδιο 0 κατά Rai και στάδιο A κατά Binet) δεν λαμβάνουν καμία θεραπεία. Πολλοί ασθενείς στο στάδιο ενδιάμεσου κινδύνου (I και II κατά Rai και B κατά Binet) μπορεί και να μην λάβουν θεραπεία. Μια σχετική ένδειξη για θεραπεία είναι ο αριθμός των λεμφοκυττάρων στο περιφερικό αίμα. Επίσης, μικρής σημασίας είναι η διόγκωση λεμφαδένων και η σπληνομεγαλία, εκτός και αν αυτά τα σημεία είναι εκσεσημασμένα και δημιουργούν προβλήματα. Στις περιπτώσεις αυτές, όταν απαιτείται θεραπεία χρησιμοποιείται χλωραμβουκίλη, είτε σε καθημερινή βάση ή περιοδικά (για 5-10 ημέρες κάθε 4 εβδομάδες) με ή χωρίς πρεδνιζολόνη.

Ασθενείς σε στάδιο υψηλού κινδύνου (III και IV κατά Rai και C κατά Binet) χρειάζονται οποσδήποτε θεραπεία. Αρχικά γίνεται προσπάθεια για να επιτευχθεί ύφεση της νόσου με χορήγηση ενός απλού παράγοντα, όπως στο στάδιο B, με προτίμηση την σποραδική χορήγηση υψηλών δόσεων πρεδνιζολόνης. Όταν ο ασθενής δεν ανταποκρίνεται, κρίνεται απαραίτητη η χορήγηση φλουνταραμπίνης. Διαφορετικά, κρίνεται απαραίτητη η χορήγηση συνδυασμού φαρμακευτικών παραγόντων, όπως: CHOP (κυκλοφωσφαμίδη, δοξορομπουσίνη, βινκριστίνη και πρεδνιζολόνη), COP (κυκλοφωσφαμίδη, βινκριστίνη, πρεδνιζολόνη).

Η ακτινοβολία εφαρμόζεται σε περίπτωση υπερσπληνισμού ή υπέρμετρης λεμφικής διόγκωσης.

Η σπληνεκτομή είναι απαραίτητη στους ασθενείς με σοβαρή αυτοάνοση αναιμία ή θρομβοπενία που δεν ανταποκρίνεται στην χημειοθεραπεία.

Στο φως των πρόσφατων εξελίξεων²⁷⁹⁻²⁸⁰ είναι σημαντικό να γίνεται σωστή επιλογή των ασθενών (μεγαλύτεροι ή μικρότεροι των 65 ετών) που λαμβάνουν αρχική θεραπεία με έναν συνδυασμό ανάλογο των πουρινών (fludarabine/ cladribine), cyclophosphamide και πιθανόν mitoxantrone μαζί με ή μετά από rituximab (μονοκλωνικό αντι-CD20 αντίσωμα) ή ακόμα ένα άλλο μονοκλωνικό αντίσωμα, όπως το alemtuzumab (Campath 1H: αντι-CD52). Οι συνδυασμοί αυτοί έχουν συνεργικό χαρακτήρα και χορηγούνται στους ασθενείς που είναι σε προχωρημένο στάδιο της νόσου ή σε αυτούς που έχουν κακούς προγνωστικούς παράγοντες. Οι παρενέργειες των νέων αυτών αντισωμάτων που εμφανίζονται περισσότερο την στιγμή της χορήγησης τους και δεν είναι περισσότερες από αυτές που αναμένονται από τους απλούς χημειοθεραπευτικούς παράγοντες, ιδιαίτερα σε προηγούμενους αθεράπευτους ασθενείς, οι οποίοι δεν είναι ανοσοκατασταλμένοι μετά από προηγούμενους κύκλους χημειοθεραπείας. Στο μέλλον ίσως να εφαρμοστούν περισσότερο δραστικά αντιγόνα, εμβόλια DNA και θεραπεία anti-sense anti-Bcl-2.^{281,282} Οι ασθενείς που έχουν απαντήσει στην θεραπεία θα χρειάζονται για μεγάλο χρονικό διάστημα μία συνεχή παρακολούθηση, καθώς η μέση επιβίωση δεν έχει επιτευχθεί στους περισσότερους, σύμφωνα με τα τελευταία δεδομένα. Παρόλο το γεγονός ότι οποιοδήποτε συμπέρασμα θα ήταν πρώιμο, η επιβίωση αυτή μπορεί

να είναι εφικτή και να γίνει πραγματικότητα με την χρήση μονοκλωνικών αντισωμάτων, όπως το rituximab, mabCampath και άλλα ή συνδυασμοί τους.^{281,283}

Επιπλέον, η μεταμόσχευση των stem cell (SCT) είναι μία θεραπευτική δυνατότητα για τους ασθενείς με ΧΛΛ, ιδιαίτερα για εκείνους που έχουν περιέλθει σε ύφεση υπό fludarabine/2Cd-rituximab και έχουν δείξει πρώιμα σημεία υποτροπής.^{284,285} Επομένως, είναι χρήσιμο να λαμβάνονται όλα τα stem cells από τους ασθενείς που βρίσκονται σε πλήρη ύφεση και να χρησιμοποιούνται για αυτόλογη SCT. Το αν αυτή η θεραπευτική προσέγγιση χρησιμοποιηθεί πρώιμα ως μέρος της αρχικής θεραπείας, σαν φάση ενίσχυσης ή μόνο σε νεώτερους ασθενείς όταν υποτροπιάζουν, πρέπει να ελεγχθεί. Η αυτομεταμόσχευση θα μπορούσε θεωρητικά να εφαρμοσθεί σε ένα πρωιμότερο στάδιο της νόσου, καθώς υπάρχει ελάχιστη νοσηρότητα και θνητότητα που σχετίζεται με την διαδικασία, αλλά στερείται καλής ανταπόκρισης, αν και αυτή μπορεί να βελτιωθεί στο μέλλον. Αντίθετα, τα mini αλλογενή μοσχεύματα είναι η μόνη θεραπεία σήμερα, αλλά συσχετίζονται εξ' αρχής με υψηλή νοσηρότητα και θνητότητα. Κατά συνέπεια, επειδή τα μοσχεύματα έχουν θεραπευτικό αποτέλεσμα, θα μπορούσε να υιοθετηθεί, με την βοήθεια των νέων τεχνικών, η χρήση τέτοιων μοσχευμάτων, ως θεραπεία ενίσχυσης για τους νεώτερους ασθενείς και πιθανά για εκείνους που παρουσιάζουν υποτροπή.

3.2. Χρόνια μυελογενής λευχαιμία

3.2.1. Γενικά

Η χρόνια μυελογενής λευχαιμία (ΧΜΛ) είναι μυελοϋπερπλαστικό σύνδρομο με έκφραση κυρίως από την κοκκιώδη σειρά, οφειλόμενο σε επίκτητη ανωμαλία των πολυδύναμων αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων (η νόσος αφορά την κοκκιώδη, ερυθρά, μεγακαρυοκυτταρική σειρά, τα Β λεμφοκύτταρα και τα Τ λεμφοκύτταρα). Προέρχεται από ένα πολυδύναμο αιμοποιητικό κύτταρο, που αποκτά την αμοιβαία μετάθεση t (9;22) και που έχει σαν αποτέλεσμα έναν υβριδικό γονίδιο bcr/ abl. Το γονίδιο αυτό κωδικοποιεί την πρωτεΐνη p210, η οποία έχει αυξημένη ενδογενή δραστηριότητα κινάσης της τυροσίνης (σε σύγκριση με την φυσιολογική c-abl πρωτεΐνη). Η κύρια βιολογική διαταραχή στην χρόνια φάση είναι η ασύγχρονη ωρίμανση του πρωτοπλάσματος. Η μεγαλύτερη αύξηση των κυττάρων γίνεται στο διαμέρισμα της ενδιάμεσης και τελικής ωρίμανσης των κυττάρων της κοκκιώδους σειράς και λιγότερο στο διαμέρισμα των stem cells και των πιο ώριμων αρχέγονων κυττάρων. Τα λευχαιμικά προγονικά κύτταρα κατά την ωρίμανσή τους δεν έχουν αυξημένο αριθμό πολλαπλασιασμού, αλλά κάνουν μία ή περισσότερες διαιρέσεις με αποτέλεσμα δυσαρμονία στην ωρίμανσή τους. Λόγω αναστολής της απόπτωσης τα πολυμορφοπύρρηνα ζουν περισσότερο σε σχέση με τα φυσιολογικά.

Εμφανίζεται με προοδευτική αύξηση περί την ηλικία των 40 ετών. Έχουν αναφερθεί και περιπτώσεις νέων ατόμων.

Η ΧΜΛ αποτελεί το 7 έως το 20% όλων των λευχαιμιών και η επίπτωσή της στον γενικό πληθυσμό είναι 1 έως 2 άτομα ανά 100.000.²⁸⁶

3.2.2. Παθογένεια

Δεν έχει βρεθεί ειδικός αιτιολογικός παράγοντας για την ΧΜΛ. Πιστεύεται όμως ότι η ακτινοβολία αυξάνει τον κίνδυνο για να προκληθεί ΧΜΛ. Πολλές περιπτώσεις αναφέρθηκαν μετά την έκρηξη της ατομικής βόμβας στην Ιαπωνία καθώς και σε ασθενείς με αγκυλοποιητική σπονδυλίτιδα, που υποβλήθηκαν σε θεραπεία με ακτινοβολία. Ο ρόλος των ιών δεν έχει διευκρινιστεί πλήρως, αν και το ογκογονίδιο bcr-abl θεωρείται ότι εμπλέκεται στην παθοφυσιολογία της ΧΜΛ.

3.2.3. Κλινική εικόνα

1. Συμπτώματα που σχετίζονται με τον αυξημένο μεταβολισμό: απώλεια βάρους, ατονία, ανορεξία, νυχτερινές επιδρώσεις.

2. Μεγάλη σπληνομεγαλία, η οποία μπορεί και να ξεπερνάει το όριο του ομφαλού. Σε μερικούς ασθενείς η σπληνομεγαλία σχετίζεται με δυσφορία, πόνο ή και δυσπεψία από την πίεση των παρακείμενων οργάνων. Ο σπλήνας είναι υπόσκληρος, ομαλός, κινητός και λίγο ευαίσθητος με την ψηλάφηση. Συνήθως, είναι το μόνο κλινικό εύρημα (μερικές φορές συνδυάζεται με διόγκωση του ήπατος)

3. Απουσία λεμφαδενικών διογκώσεων.

4. Η συνυπάρχουσα αναιμία μπορεί να δημιουργεί ωχρότητα, δύσπνοια και ταχυκαρδία.

5. Εκχυμώσεις, επίσταξη, μηνορραγία ή αιμορραγία από τα άλλα σημεία λόγω διαταραγμένης λειτουργίας των αιμοπεταλίων.

6. Ουρική αρθρίτιδα ή νεφρική δυσλειτουργία λόγω της υπερουριχαιμίας από μεγάλο καταβολισμό των πουρινών.

7. Σπάνια αναφέρονται οπτικές διαταραχές και πριαπισμός.

3.2.4. Κλινικές μορφές

1. Υπερπλαστικό σύνδρομο που μπορεί να αφορά και τις άλλες μυελικές σειρές: διαφορική διάγνωση από την πολυκυτταραιμία και την ιδιοπαθή θρομβοκυτταραιμία.

2. Μορφές με πολύ μεγάλη αύξηση των λευκών αιμοσφαιρίων και συνοδό σύνδρομο λευκόστασης.

3. Μορφή με χαμηλό αριθμό λευκών (μέχρι 20.000/μl) με μικρή στροφή προς τα αριστερά, χωρίς σημεία λοίμωξης (πρόκειται για χρόνια μυελογενή λευχαιμία στην έναρξή της ή για μυελοσκλήρυνση);).

4. Μορφές χωρίς σπληνομεγαλία.

5. Μορφές που από την αρχή ξεκινούν σαν οξεία λευχαιμία: μεγάλη σπληνομεγαλία, ύπαρξη μυελαιμίας, ύπαρξη χρωμοσώματος Ph1, για την διάγνωση της αρχικής νόσου.

3.2.5. Παραλλαγές

1. Ph-αρνητική ΧΜΛ: Περίπου στο 10% των αρρώστων. Δύο υποομάδες, μία με μοριακές βλάβες ΧΜΛ (μετακίνηση ογκογονιδίου ABL από το χρωμόσωμα 22) και ΧΜΛ (Ph-/ BCR+, 1/3 των αρρώστων). Η κλινική πορεία, η απάντηση στη θεραπεία και η εξέλιξη ομοιάζει με την κλασσική Ph++ ΧΜΛ. Οι υπόλοιποι άρρωστοι εμφανίζουν ένα φάσμα διαταραχών, όπως: μυελοδυσπλαστικό σύνδρομο, χρόνια μυελομονοκυτταρική λευχαιμία και αληθή ΧΜΛ (Ph-/ BCR-). Η τελευταία εμφανίζει χαμηλότερο ποσοστό βλαστικής μετατροπής (25% σε σχέση με το 50% της κλασσικής ΧΜΛ) και ενδιάμεση πρόγνωση μεταξύ ΧΜΜονοΛ και Ph+ΧΜΛ.

2. Νεανική ΧΜΛ: Μια ποικιλία Ph- ΧΜΛ που εμφανίζεται σε νέα παιδιά (περίπου 2% των λευχαιμιών) συχνά με πυρετό, ηπατοσπληνομεγαλία, διόγκωση λεμφαδένων και εμφάνιση εκζέματος. Αιματολογικά εμφανίζεται αναιμία, θρομβοπενία και σπανιότερα λευκοπενία καθώς και αύξηση της αιμοσφαιρίνης F. Το score LAP είναι συνήθως φυσιολογικό. Κυτταρογενετικά, οι περισσότεροι έχουν φυσιολογικό καρυότυπο (μερικοί εμφανίζουν μονοσωμία 7 που αποτελεί και στοιχείο κακής πρόγνωσης). Είναι ανθεκτική στη θεραπεία και έχει κακή πρόγνωση (μέση επιβίωση περίπου 2 χρόνια). Τη διάγνωση της νόσου βοηθά η αυτόματη αύξηση των CFU-C χωρίς την προσθήκη αυξητικών παραγόντων. Η μόνη θεραπεία είναι η μεταμόσχευση του αλλογενούς μυελού στην χρόνια φάση.

3. Χρόνια ουδετερόφιλη λευχαιμία: Σπάνια. Η διάγνωση γίνεται συνήθως εξ' αποκλεισμού. Δεν εμφανίζει χρωμοσωματικές διαταραχές.

4. Ηωσινοφιλική λευχαιμία: Δύσκολη η διάκριση από τα υπερηωσινοφιλικά σύνδρομα. Στην λευχαιμία υπάρχουν παραπάνω βλάστες και χρωμοσωματικές αλλοιώσεις.

5. Χρόνια μυελομονοκυτταρική λευχαιμία: Ενώ στην ταξινόμηση κατά FAB κατατάσσεται στα μυελοδυσπλαστικά σύνδρομα, εντούτοις μερικές κλινικές και αιματολογικές εκδηλώσεις είναι ίδιες με τα μυελοϋπερπλαστικά νοσήματα. Το 1/3 των περιπτώσεων εμφανίζει μη ειδικές κυτταρογενετικές διαταραχές (πιο συχνά τρισωμία 8, μονοσωμία 7, απώλεια του χρωμοσώματος Y, ανωμαλίες κατασκευής του 12p ή του 5q-). Οι παραπάνω διαταραχές είναι σπάνιες στην διάγνωση, ενώ είναι πιο συχνές σε δευτεροπαθή νόσο. Στην βλαστική κρίση προστίθενται και άλλες διαταραχές όπως i(17p) ή άλλες διαταραχές του χρωμοσώματος 17.

Κατά συνέπεια η ΧΜΛ ταξινομείται ως εξής:

3.2.6. Ταξινόμηση της ΧΜΛ

1. Χρόνια μυελογενή λευχαιμία, Ph+
2. Νεανική χρόνια μυελογενή λευχαιμία

- 3.Χρόνια ουδετεροπενική λευχαιμία
- 4.Ηωσινοφιλική λευχαιμία
5. Χρόνια μυελομονοκυτταρική λευχαιμία

3.2.7. Διάγνωση

1. Σε τυχαία εξέταση (σε φυσιολογικά άτομα στα πλαίσια ενός ετήσιου συστηματικού ελέγχου) ή στην συστηματική εξέταση σε άτομα που εκτίθενται σε μυελοτοξικούς παράγοντες (βενζόλιο, ακτινοβολία) αφού η νόσος είναι για αρκετό διάστημα ασυμπτωματική.

2. Κλινική εξέταση.

3. Εξέταση αίματος: Μεγάλη αύξηση των λευκών αιμοσφαιρίων (συνήθως πάνω από 100.000/ μl): αύξηση του απόλυτου αριθμού των πολυμορφοκυττάρων, των ηωσινοφίλων και των βασεοφίλων καθώς και ύπαρξη μυελαιμίας (στροφή προς τα αριστερά με ανεύρεση όλων των σταδίων ωρίμανσης των κυττάρων της κοκκιώδους σειράς σε αναλογίες όπως στο μυελό). Συνήθως, απόλυτος αριθμός λεμφοκυττάρων και μονοκυττάρων σε φυσιολογικές αναλογίες. Φυσιολογική αιμοσφαιρίνη ή εμφάνιση ορθόχρωμης ορθοκυτταρικής αναιμίας με μειωμένα δικτυοερυθροκύτταρα ή ακόμα και ανεύρεση ελαφρά αυξημένου αιματοκρίτη.

Αριθμός αιμοπεταλίων συνήθως φυσιολογικός ή συχνά και αυξημένος.

4.Μυελόγραμμα:

Επιχρίσματα πλούσια σε κυτταρικά στοιχεία. Η κοκκιώδης σειρά είναι πλούσια στο σύνολό της και αντιπροσωπεύεται από όλα τα στάδια ωρίμανσης σε φυσιολογικές αναλογίες. Το ποσοστό των βλαστικών κυττάρων είναι μικρότερο από 10%. Η ερυθρά σειρά είναι μειωμένη στο σύνολό της. Τα μεγακαρυοκύτταρα είναι συνήθως αρκετά και μικρού μεγέθους.

5.Καρυότυπος- Μοριακή βιολογία

Παρουσία του χρωμοσώματος Philadelphia, μια επίκτητη ειδική διαταραχή εμφανιζόμενη στο μεγαλύτερο ποσοστό των περιπτώσεων ΧΜΛ ήδη από την έναρξη της νόσου [μετάθεση μεταξύ των μακρών σκελών του χρωμοσώματος 9 και 22, t(9;22) (q34;q11)]: χρωμόσωμα Ph1. Τα σημεία τομής των χρωμοσωμάτων 9 και 22 βρίσκονται σε άμεση γειτνίαση με το πρωτο-ογκογονίδιο c-abl σε μια περιοχή μήκους περίπου 200 kb, ενώ τα σημεία τομής στο χρωμόσωμα 9 δεν είναι ίδια, όμως εντοπίζονται σταθερά 5' του πρωτο-ογκογονιδίου c-abl σε μια περιοχή μήκους περίπου 5,8 kb που ονομάζεται bcr. Κατά την γονιδιακή αναδιάταξη το τμήμα 22q με όσο bcr κόβει μαζί προσκολλάται στο κεντρικό τμήμα 9q, ενώ αντίστροφα το αποσπώμενο τμήμα του 9q με το πρωτο-ογκογονίδιο c-abl προσκολλάται στο τμήμα bcr που έχει απομείνει σχηματίζοντας τον υβριδικό γόνο bcr/ abl. Σε 5- 10% των αρρώστων το χρωμόσωμα Ph1 οφείλεται σε άλλες αναδιατάξεις από την κλασσική. Τις περισσότερες φορές η ρήξη στον γόνο bcr πέφτει μέσα στην περιοχή των 5,8 kb (συνήθως μεταξύ των εξονίων b2 και b3 ή b3 και b4) που ονομάζεται M-bcr. Αυτός ο χμαιρικός γόνος παράγει ένα mRNA που κωδικοποιεί την p210 (δύο τύπου μεταγραφής ανάλογα αν το εξόνιο b3 ή b2 του bcr

ενώνονται με το εξόνιο a2 του abl, σε μερικούς αρρώστους υπάρχουν και τα δύο προϊόντα μεταγραφής). Η πρωτεΐνη αυτή έχει κύριο ρόλο στην παθογένεια της νόσου δίνοντας το πλεονέκτημα επιβίωσης στα αιμοποιητικά κύτταρα μέσω καταστολής του φαινομένου της απόπτωσης. Δεν έχει βρεθεί συσχέτιση των διαφόρων ρήξεων στην περιοχή M-bcr με την κλινική εικόνα στην διάγνωση, την καρυοτυπική εξέλιξη, το λευχαιμικό φαινότυπο στη βλαστική κρίση, τη διάρκεια της χρόνιας φάσης και την επιβίωση (άρρωστοι με θέση ρήξης σε μία περιοχή 1 kb μεταξύ BamHI και HindIII στο εξόνιο 3 του bcr έχουν βραχύτερη χρόνια φάση). Με την τεχνική RT-PCR η ανζήτηση του υβριδικού γόνου βοηθά στην αναζήτηση της ελάχιστης υπολειπόμενης νόσου μετά από επιτυχή θεραπεία με ιντερφερόνη ή μεταμόσχευση μυελού.

6. Βιοψία μυελού

Επιβεβαιώνει τη διάγνωση του μυελοϋπερπλαστικού συνδρόμου με μείωση των λιποκυττάρων, έντονη παρουσία κυτταρικών στοιχείων, με ισοροπημένη υπερπλασία της κοκκιώδους σειράς και αύξηση των μεγακαροκυττάρων. Απουσία ίνωσης στα αρχικά στάδια της νόσου (ή ύπαρξη απλής υπερπλασίας των ινών του δικτύου) που είναι σπουδαίο διαφοροδιαγνωστικό στοιχείο για την διάκριση από την μυελοσκλήρυνση (στην εξέλιξη της νόσου πιθανή εμφάνιση ίνωσης: σημεία μετατροπής σε επιταχυνόμενη φάση της νόσου).

7. Εργαστηριακά ευρήματα

- Λευκοκυττάρωση συνήθως $> 50 \times 10^9 / l$ και μερικές φορές $> 500 \times 10^9 / l$. Τα επίπεδα των ουδετεροφίλων και των μυελοκυττάρων ξεπερνούν εκείνα των βλαστών και των προμυελοκυττάρων.
- Ύπαρξη του χρωμοσώματος Ph στην κυτταρογενετική ανάλυση του περιφερικού αίματος και του μυελού των οστών. Ο μυελός των οστών είναι υπερκυτταρικός με επικράτηση των κοκκιοκυτταρικών στοιχείων.
- Νορμόχρωμη, νορμοκυτταρική αναιμία υπάρχει συνήθως. Αύξηση των κυκλοφορούντων βασεόφιλων. Αύξηση του ουρικού οξέος, αύξηση της βιταμίνης B12 (λόγω αύξησης των τρανσκοβαλαμινών λευκοκυτταρικής προέλευσης. Παράταση του χρόνου ροής (λόγω θρομβοπενίας). Μεγάλη μείωση του score της LAP (αλκαλικής φωσφατάσης των πολυμορφοκυττάρων με ιστοχημική χρώση) (score κάτω του 5 με τάση να γίνει 0). Το score της LAP αυξάνει ή και γίνεται φυσιολογικό επί ύφεσης της νόσου, επί μετάπτωσή της σε επιταχυνόμενη φάση ή σε βλαστική κρίση, καθώς και σε περίπτωση κύησης, λοίμωξης ή κρίση ουρικής αρθρίτιδας.

3.2.8. Εξέλιξη

Χρόνια φάση

Η θεραπεία στην χρόνια φάση έχει αναμενόμενη απάντηση. Η χημειοθεραπεία έχει σκοπό την μείωση των λευκών αιμοσφαιρίων και την διατήρηση των ασθενών ελεύθεροι συμπτωμάτων για μεγάλο χρονικό διάστημα, χωρίς όμως να καταφέρνει να καθυστερεί την οξεία μετάπτωση της νόσου.

Βουσουλφάνη: 2-4mg/ 24ωρο. Το φάρμακο αρχίζει να δρα κάπως καθυστερημένα και έχει

σαν αποτέλεσμα ύφεση της νόσου σε μερικές μέρες (κλινική και αιματολογική ύφεση). Συχνή παρακολούθηση με εξέταση αίματος επειδή το φάρμακο έχει παρατεταμένη δράση (κίνδυνος απλασίας). Για το λόγο αυτό, πρέπει να μειώνεται η δόση στο μισό, όταν τα λευκά είναι περίπου 30.000/μl και διακοπή χορήγησης του φαρμάκου, όταν τα λευκά είναι περί τις 15.000/μl . Όταν επιτευχθεί αιματολογική ύφεση της νόσου, είτε χορηγείται συνεχής θεραπεία με μικρές δόσεις (π.χ. 2gr κάθε 2^η ημέρα) ή δίνεται βραχεία θεραπεία κατά διαστήματα.

Υδροξουρία: Δράση πολύ ταχεία, καλύτερη ρύθμιση της δόσης, λιγότερες επιπλοκές.

α- Ιντερφερόνη: τον τελευταίο καιρό χορηγείται μόνη της ή σε συνδυασμό με διάφορα κυτταροστατικά. Η θεραπεία με ιντερφερόνη στην χρόνια φάση έχει σαν αποτέλεσμα αιματολογική απάντηση σε 60-80% των ασθενών και κυτταρογενετική απάντηση στο 40-60% των ασθενών. Οι διαφορές στα αποτελέσματα διαφόρων μελετών σχετίζονται με την φάση της νόσου και τα χαρακτηριστικά της νόσου.

4. ENZYMA ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΥ ΣΤΟΝ ΑΝΘΡΩΠΟ

4.1 Γενικά

Από τις αρχές του 1980, έχουν γίνει κοινές προσπάθειες από πολλούς ερευνητές να ερευνήσουν το γένωμα του DNA με αποτέλεσμα να απομονώσουν και να μελετήσουν την ακολουθία των κλώνων του DNA για πολλά ένζυμα μεταβολισμού των φαρμάκων. Η καταλυτική ιδιότητα καθώς και οι άλλες ιδιότητες αυτών των ενζύμων προσδιορίστηκαν από μια ποικιλία τεχνικών μεθόδων και προσεγγίσεων με προετοιμασία των ενζύμων που απομονώθηκαν από ιστούς, από την προσθήκη αναστολέων για τις κακότεχνες προετοιμασίες των ενζύμων και από τον προσδιορισμό της δράσης των ενζυμικών πρωτεϊνών που εκφράζονται σε όλες τις κυτταρικές σειρές των θηλαστικών, των εντόμων, των ζυμομύκητων και των βακτηρίων. Κατά αυτό τον τρόπο, έγινε γνωστό ότι τα ένζυμα μεταβολισμού των φαρμάκων προδιαθέτουν ορισμένους ανθρώπους ως προς την τοξικότητα συγκεκριμένων εξωγενών χημικών ή ότι παρεμβαίνουν πετυχαίνοντας την κατάλληλη απάντηση μετά από χορήγηση ενός συγκεκριμένου θεραπευτικού παράγοντα και χαρακτηρίζονται ως υψηλής-δραστηριότητας και χαμηλής-δραστηριότητας (ή μηδενικές) μεταβολίτες.

Τα ένζυμα μεταβολισμού των φαρμάκων και των ξеноβιοτικών παραγόντων διαιρούνται σε δύο μεγάλες κατηγορίες.

Τα ένζυμα της φάσης I (η οικογένεια των ισοενζύμων του κυτοχρώματος P-450 CYP, οι δευδρογενάσες και οι εστεράσες) αποδίδουν “μικρές” αλλαγές στα φάρμακα δημιουργώντας δραστικές θέσεις, στις οποίες μπορούν να συνδέονται με άλλα ενδοκυττάρια μόρια.

Τα ένζυμα της φάσης II (η γλουταθειόνη θειο-τρανσφεράση GST, η N-ακετυλοτρανσφεράση NAT, η θειοπουρίνη S- μεθυλτρανσφεράση TPMT και οι UDP-γλυκουρονοσυλτρανσφεράσες) μεσολαβούν για την προσθήκη σχετικά σγκωδών μορίων στα φάρμακα, δημιουργώντας συνήθως υδατοδιαλυτές συνδέσεις, οι οποίες μπορεί να είναι λιγότερο τοξικές και να απεκκρίνονται αμεσότερα. Οι ενζυμικές αντιδράσεις της φάσης II είναι γενικά περισσότερο κυτταροπροστατευτικές.²⁸⁷

4.2. Κυτόχρωμα P450 (CYP)

Περισσότερα από 30 διαφορετικά CYP450 ένζυμα έχουν ταυτοποιηθεί στον άνθρωπο. Τα μισά περίπου από αυτά είναι υπεύθυνα για την οξειδωση πολλών υποδοχέων στο ανθρώπινο περιβάλλον, όπως το CYP1A1, CYP1A2, CYP1B1, CYP2A6, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP2C18, CYP2D6, CYP2E1, CYP3A4, CYP3A5, και το CYP3A7. Το CYP1A1 και το CYP1A2 έχουν ως κύριο ρόλο τους τον βιομετασχηματισμό πολλών ξеноβιοτικών παραγόντων συμπεριλαμβάνοντας την τροφή και τους περιβαλλοντικούς ρύπους. Επιπρόσθετα, το CYP1A2 παίζει ρόλο στον μεταβολισμό πολλών κοινών συνταγογραφούμενων φαρμάκων, όπως τα αντιπυλωσικά, κλοζαπίνη και ολανζαπίνη.²⁸⁸ Το CYP1B1 ταυτοποιήθηκε πρόσφατα με ρόλο στον μεταβολισμό των

στερεοειδών και ιδιαίτερα της 17β-οιστραδιόλης και στην ενεργοποίηση ορισμένων προκαρκινογόνων, όπως το βενζο[α]πυρένιο και το διμεθυλβενζ[α]ανθρακένιο.²⁸⁹ Το CYP2A6 έχει ένα περιορισμένο αριθμό ξενοβιοτικών υποδοχέων, με πιο ειδικούς την νικοτίνη, τα κουμαρινικά και το φάρμακο SM-12502. Υπάρχουν όμως και άλλοι υποδοχείς, οι οποίοι μεταβολίζονται επιπρόσθετα από τα P450s, συμπεριλαμβάνοντας το αλοθάνιο, αρκετές νιτροζαμίμες και την δισουλφιράμη.²⁹⁰ Το CYP2B6 έχει αποδειχθεί πρόσφατα να παίζει ρόλο στον βιομετασχηματισμό πολλών σημαντικά κλινικών φαρμάκων, όπως η κυκλοφωσφαμίδη και η βουπροπρόνη, καθώς και μία σειρά ξενοβιοτικών, όπως οι νιτροζαμίμες.²⁹¹

Όσο αναφορά την υποομάδα του CYP2C έχουν περιγραφεί 4 μέλη, που κωδικοποιούνται από 4 ομόλογα γονίδια που βρίσκονται στο χρωμόσωμα 10 και είναι πλέον σαφές ότι κάθε ισομορφή έχει ένα περιορισμένο και εξειδικευμένο υπόστρωμα και ως εκ τούτου τα αποτελέσματα του πολυμορφισμού πρέπει να εξεταστούν διαφορετικά.²⁹² Το CYP2C8 είναι από τα πρώτα κυτοχρώματα P450 που κλωνοποιήθηκαν στον άνθρωπο με σημαντικό ρόλο στον μεταβολισμό των φαρμάκων, όπως το plaxitaxel, το all-trans ρετινοϊκό οξύ, η σεριβαστατίνη, ροζογκλιταζόνη και η αμοδιακίνη.²⁹³ Το CYP2C19 είναι υπεύθυνο για τον μεταβολισμό ορισμένων φαρμάκων, όπως η ομεπραζόλη και έχει αποδειχθεί ότι άτομα με έλλειψη αυτού του ισοενζύμου έχουν καλύτερη ανταπόκριση στην θεραπεία του πεπτικού έλκους όταν λαμβάνουν αυτό το φάρμακο σε σχέση με τους ασθενείς που έχουν ένα ή δύο φυσιολογικά αλληλόμορφα. Το CYP2D6 έχει ιδιαίτερη σημασία γιατί μεταβολίζει πολλά φάρμακα ευρέως χρήσεως, συμπεριλαμβάνοντας αντιυπερτασικά, αντιψυχωσικά, β-ανταγωνιστές και αντιαρρυθμικά φάρμακα. Κατά προσέγγιση 5% των Ευρωπαίων και 1% των Ασιατών έχουν έλλειψη του συγκεκριμένου ισοενζύμου και αυτοί χαρακτηρίζονται ως βραδείς μεταβολίτες, ενώ υπάρχουν ενδιάμεσοι και ταχείς μεταβολίτες (αυτοί που έχουν ιδιαίτερα υψηλά επίπεδα της ενζυμικής δραστηριότητας).²⁹³ Το CYP2E1 μεταβολίζει κυρίως χαμηλού βάρους ενώσεις, όπως η ακετόνη, η αιθανόλη, το βενζένιο και οι νιτροζαμίμες. Λόγω της φύσης του εξειδικευμένου υποστρώματος, το CYP2E1 παρουσιάζει ιδιαίτερο ενδιαφέρον ως αναφορά την τοξικολογία και την καρκινογένεση, αλλά επίσης έχει και ένα μικρό ρόλο στον μεταβολισμό των φαρμάκων, όπως να μετατρέπει την παρακεταμόλη σε κινόνες, όταν γίνεται υπέρβαση της δοσολογίας.²⁹⁴ Το CYP3A έχει το ισοένζυμο CYP3A4, το οποίο είναι σε αφθονία στο ανθρώπινο ήπαρ και έχει το πιο ευρύ πεδίο υποδοχέων των φαρμάκων. Επίσης, άλλα γονίδια του CYP3A είναι τα CYP3A5, CYP3A7 και το CYP3A43. Το τελευταίο βρέθηκε πρόσφατα και δεν υπάρχουν ακόμα πληροφορίες για έκφραση συγκεκριμένων πρωτεϊνών.

4.3. N-ακετυλοτρανσφεράση (NAT)

Υπάρχουν δύο ισοένζυμα της NAT, το NAT1 και το NAT2, τα οποία ακετυλιώνουν τις αμινο, τις υδροξυ- και τις σουλφυδρλικές ομάδες. Το γονίδιο NAT2 εμφανίζει πολλούς πολυμορφισμούς και αρκετά άτομα, τα οποία ορίζονται ως βραδείς ακετυλιωτές, δεν έχουν την ικανότητα να ακετυλιώνουν

μια σειρά φαρμάκων, όπως η ισονιαζίδη, η σουλφομεθοξαζόλη και η καφεΐνη.²⁹⁶ Το γονίδιο NAT1 εμφανίζει επίσης πολυμορφισμούς, αλλά λιγότερους από το NAT2. Το ποσοστό των ατόμων, που χαρακτηρίζονται ως βραδείς ακετυλιωτές, ποικίλει ανάλογα της εθνικότητας, π.χ 90% στους νοτιοαφρικανούς, λιγότερο από 10% στους ασιάτες και 50% στους καυκάσιους. Τα φάρμακα που έχουν ως υπόστρωμα το πολυμορφικό NAT2 δεν χρησιμοποιούνται ευρέως στην μοντέρνα ιατρική. Η ισονιαζίδη παραμένει σημαντικό φάρμακο για την θεραπεία της φυματίωσης και η σουλφομεθοξαζόλη χρησιμοποιείται για την θεραπεία δευτεροπαθών λοιμώξεων στους ασθενείς με AIDS. Θεωρείται ότι οι βραδείς ακετυλιωτές ταλαιπωρούνται συνήθως από τις παρενέργειες της ισονιαζίδης, αν και η συνολική απάντηση των ασθενών αυτών στην συγκεκριμένη θεραπεία είναι καλύτερη σε σχέση με την απάντηση που θα είχαν αν τους χορηγούταν το ίδιο φάρμακο σε υψηλότερες δόσεις και για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα. Ο πολυμορφισμός του NAT2 ενέχει κίνδυνο για την ανάπτυξη καρκίνου του πνεύμονα, της ουροδόχου κύστης, του στήθους και του παχέος εντέρου, ως αποτέλεσμα των προϊόντων ακετυλίωσης των αρωματικών αμινών, που βρίσκονται στον καπνό και στην μαγειρεμένη τροφή.²⁹⁶

4.4. Θειοπουρίνη S-μεθυλτρανσφεράση (TPMT)

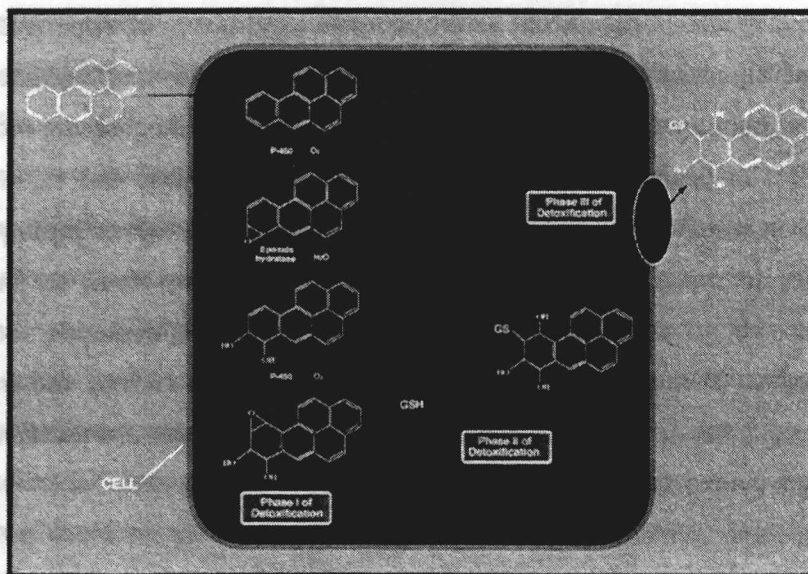
Η TPMT είναι σημαντική για τον μεταβολισμό κυτταροτοξικών φαρμάκων, όπως η 6-μερκαππουρίνη, η οποία χρησιμοποιείται ευρέως για την θεραπεία της παιδικής οξείας λεμφοβλαστικής λευχαιμίας, η θειογουανίνη και η αζαθειοπρίνη. Η τελευταία είναι πρόδρομη μορφή της 6-μερκαππουρίνης και χρησιμοποιείται ως κυτταροστατικό. Μετρήσεις της TPMT δραστηριότητας στα ερυθροκύτταρα έχουν δείξει ότι περίπου στο 0.3% των Ευρωπαίων είναι μη ανιχνεύσιμη, ενώ στο 11% είναι σε μέτρια επίπεδα.²⁹⁷ Σε άτομα που έχουν έλλειψη της TPMT, θα φέρουν υψηλές συγκεντρώσεις των νουκλεοτιδίων της θειογουανίνης με αποτέλεσμα να γίνουν τοξικές και ο ασθενής που λαμβάνει την συγκεκριμένη θεραπεία να εισέρχεται σε μυελοκαταστολή. Η έλλειψη της TPMT έχει ενοχοποιηθεί για την αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης δευτεροπαθών κακοηθειών στους ασθενείς με οξεία λεμφοβλαστική λευχαιμία.²⁹⁸

4.5. Γλουταθειόνη θειο-τρανσφεράση (GSTs)

4.5.1. Ορισμός- ρόλος

Η γλουταθειόνη θειο-τρανσφεράση ανήκει στην ομάδα ενζύμων μεταβολισμού φάσης II. Βρίσκονται στο κυτταρόπλασμα και ο κύριος ρόλος τους είναι να καταλύουν τις συνδέσεις πολλών ηλεκτροφιλικών ενώσεων, συμπεριλαμβάνοντας καρκινογόνα και κυτταροτοξικά φάρμακα με μειωμένη γλουταθειόνη (GSH).²⁹⁹ Τα GSTs έχουν επίσης την ικανότητα να συνδέονται άμεσα με υδροφοβικές ομάδες, όπως η αίμη, η χολερυθρίνη και τα στεροειδή, τα οποία τους καθιστούν ικανά να λειτουργούν σαν ενδοκυττάρειες αποθήκες και σαν μεταφορέα πρωτεϊνών για βιολογικά στοιχεία με

περιορισμένη διαλυτότητα στο νερό. Μέσω της καταλυτικής τους ιδιότητας και της ικανότητας τους για σύνδεση φαίνεται να παρέχουν στο κύτταρο μηχανισμούς με τους οποίους προστατεύεται από βλαβερές επιδράσεις διάφορων ξενοβιοτικών και ενδογενών παραγόντων. Η ενζυμική απενεργοποίηση των ξενοβιοτικών παραγόντων διαιρείται σε τρεις διακριτές φάσεις (Εικόνα 1).



Οι φάσεις I και II συμπεριλαμβάνουν την μετατροπή ενός λιπόφιλου, μη- πολικού ξενοβιοτικού παράγοντα σε ένα περισσότερο υδατοδιαλυτό και κατά συνέπεια λιγότερο τοξικό μεταβολίτη, ο οποίος αποβάλλεται ευκολότερα από το κύτταρο (φάση III). Η φάση I καταλύεται κυρίως από το σύστημα του κυτοχρώματος P450. Η οικογένεια αυτή των μικροσωμιακών πρωτεϊνών είναι υπεύθυνη για μία σειρά αντιδράσεων, στην οποία η οξείδωση φαίνεται να είναι η πιο σημαντική.³⁰⁰ Τα ένζυμα της φάσης II καταλύουν την σύνδεση των ενεργοποιημένων ξενοβιοτών με ένα ενδογενές, υδατοδιαλυτό υπόστρωμα, όπως το GSH, UDP-γλυκουρινικό οξύ ή γλυκίνη. Ποσοτικά, η σύνδεση με το GSH, η οποία καταλύεται από τα GSTs, είναι η κύρια αντίδραση της φάσης II. Αρκετοί μηχανισμοί μεταφοράς υπάρχουν για την αποβολή των συνδέσμων της γλουταθειόνης, συμπεριλαμβάνοντας μία ATP-εξαρτώμενη αντλία (GS-X), ένα πολυειδικό οργανικό ανιοντικό μεταφορέα (MOAT), έναν ευρέως φάσματος ανιοντικό μεταφορέα δινιτροφαινόλης (Dnp-SG ATPase), την P-γλυκοπρωτεΐνη (η 170 Kda αντλία αντίστασης στα φάρμακα= multidrug resistance pump, mdr) και την πρωτεΐνη σχετιζόμενη με την αντίσταση στα φάρμακα= multidrug-resistance-associated protein, MRP (μία 190 kda γλυκοπρωτεΐνη). Ενώ υπάρχει λειτουργική σχέση μεταξύ της GS-X αντλίας, του MOAT, της Dnp-SG ATPase και της MRP, η δομική σχέση αυτών των πρωτεϊνών με την P-γλυκοπρωτεΐνη παραμένει ασαφής.^{301,302}

Επιπρόσθετα, τα GSTs ενεργοποιούν τα καρκινικά κύτταρα και εκφράζονται σε αυξημένες ποσότητες στο προκαρκινικό και καρκινικό στάδιο και κατά συνέπεια η αύξηση αυτή σχετίζεται με την αυξανόμενη κακοήθεια και με την απόκτηση αντοχής στα αντικαρκινικά φάρμακα.³⁰³

Η σημαντικότητα των ενζύμων αυτών έγκειται στο ότι εκφράζονται σε όλες σχεδόν τις μορφές ζωής. Στους ανθρώπους, ο πολυμορφισμός των GST γονιδίων έχει συσχετισθεί με αρκετές νόσους, αν και πρόσφατες μελέτες δείχνουν ότι οι γονότυποι αυτοί τροποποιούν τον φαινότυπο της νόσου και έτσι συνδέονται με το κλινικό αποτέλεσμα.

4.5.2. Πολυμορφισμός στα γονίδια GST

Έχουν περιγραφεί επτά οικογένειες γονιδίων GST που κωδικοποιούν κυτταροπλασματικά ένζυμα. Ο διαχωρισμός αυτός έγινε βάση ορισμένων κριτηρίων, που συμπεριλαμβάνουν αλληλουχίες αμινοξέων/νουκλεοτιδίων, ανοσολογικές, κινητικές και δομικές ιδιότητες.³⁰⁴ Αν και δεν υπάρχουν σαφή κριτήρια για να μελετήσουμε το μέγεθος της ομοιότητας μιας αλληλουχίας, προκειμένου να εντάξουμε ένα GST σε μία συγκεκριμένη ομάδα, είναι γενικά αποδεκτό ότι τα GSTs που συγκεντρώνουν στοιχεία πάνω από 60% τοποθετούνται σε μία ομάδα, ενώ άλλα με στοιχεία λιγότερο από 30% εντάσσονται σε διαφορετική ομάδα. Ιδιαίτερη έμφαση δίνεται στην αρχική δομή του τελικού N- άκρου, διότι η περιοχή αυτή διατηρείται καλύτερα από τις άλλες, καθώς περιλαμβάνει ένα σημαντικό τμήμα της ενεργούς θέσης. Η περιοχή αυτή περιλαμβάνει ένα σημαντικό καταλυτικό υπόλειμμα τυροσίνης, σερίνης ή κυστεΐνης που αλληλεπιδρά με την θειολική ομάδα του GSH, ελαττώνοντας έτσι την τιμή της pK_a από 6-7, που είναι η φυσιολογική τιμή, στο 9.0. Αυτό είναι και το σημείο-κλειδί για το φαινόμενο της κατάλυσης στα GSTs.^{305,306} Τα GST γονίδια και πρωτεΐνες για τα θηλαστικά (κυρίως αρουραίος, άνθρωπος και ποντίκι) έχουν καλά χαρακτηριστεί, αλλά μελέτες του GST για τα μη-θηλαστικά έχουν αποκαλύψει την ύπαρξη αρκετών νέων τάξεων και έχουν επεκτείνει τις γνώσεις μας για την λειτουργική και δομική διαφοροποίηση αυτών των πρωτεϊνών.

Όλοι οι ανθρώπινοι ιστοί εμπεριέχουν κάποια δράση της GST, αλλά η διανομή των ομάδων του GST διαφέρει ανάμεσα στα όργανα, στους ιστούς και στα κύτταρα. Τα κυτταροπλασματικά GSTs εμφανίζονται σαν ομοδιμερή, αλλά και τα ετεροδιμερή μπορούν να σχηματιστούν μεταξύ διαφορετικών αλληλόμορφων προϊόντων του ίδιου "τόπου" και μεταξύ προϊόντων διαφορετικών "τόπων" στην ίδια ομάδα. Αυτό επιτρέπει την έκφραση ενός αριθμού ισοενζυμικών μορφών του GST

2.α. Η ομάδα Alpha

Πολλές μελέτες έχουν δείξει σημαντικές ενδο-ατομικές διαφοροποιήσεις στην έκφραση των ενζύμων GSTA1 και GSTA2 στους ανθρώπινους ιστούς, συμπεριλαμβάνοντας και μηδενικούς εκφραστές.³⁰⁷ Πρόσφατα, μελέτη αλληλουχιών οδήγησε στον χαρακτηρισμό του GSTA3 και GSTA4.³⁰⁸ Τα ισοένζυμα αυτής της ομάδας διανέμονται ευρέως στο ήπαρ και σε άλλους ιστούς του ενήλικα.

2.β. Η ομάδα Mu

Τα mu γονίδια ορίζονται ως 5'GSTM4-GSTM2-GSTM1-GSTM5-GSTM3 3' σε μία ομάδα 20Kb.³⁰⁹ Τα πέντε αυτά ισοένζυμα βρίσκονται σε μία ομάδα γονιδίων στο χρομόσωμα 1. Το ισοένζυμο GSTM1 περιέχει τρία αλληλόμορφα, το GSTM1*0, το GSTM1*A, και το GSTM1*B και

είναι ευρύτατα μελετημένο.³¹⁰ (Πίνακας 12) Το GSTM1*A έχει συνδεθεί με ένα μειωμένο κίνδυνο του καρκίνου της ουροδόχου κύστης. Τα GSTM1*A και GSTM1*B διαφέρουν σε μία βάση στο εξόνιο 7 και κωδικοποιούν τα μονομερή, τα οποία σχηματίζουν δραστικά ομο- και ετεροδιμερικά ένζυμα. Το μηδενικό (null=ομόζυγη έλλειψη των αλληλόμορφων του γονιδίου) GSTM1 γονίδιο παρατηρείται με μία συχνότητα 30%-60% στους Καυκάσιους.³¹¹ Το γονίδιο κληρονομείται με τον αυτοσωμικό, υπολειπόμενο τρόπο. Ανάμεσα στους Ευρωπαίους, η συχνότητα του μηδενικού γονότυπου ποικίλει από 0.38 στην Ολλανδία έως και 0.62 στην Σκωτία. Ανάμεσα στους υγιείς μαύρους, λευκούς Ασιάτες, Ινδούς, Κινέζους, Ιάπωνες, Κορεάτες, Φιλιππινέζους, Σαμοανούς και Ισπανόφωνους κυμαίνεται από 0.31 ανάμεσα στους μαύρους έως 0.88 στους Σαμοανούς.³¹² Συγκρίσεις μεταξύ των λευκών και των μαύρων στις ΗΠΑ έδειξαν ότι η συχνότητα του GSTM1 μηδενικού γονότυπου είναι μικρότερη στους μαύρους (35%) σε σχέση με τους λευκούς (49%).³¹³

Πίνακας 12: Πολυμορφισμός του GSTM1

Αλληλόμορφο	Συχνότητα στους Καυκάσιους	Κίνδυνος για καρκίνο
M1*A	0.2	↓ για ουροδόχο και στήθος
M1*B	0.2	↓ για αδενώματα υπόφυσης
M1*O	0.59	↓ για πνεύμονα, ουροδόχο, κόλον

2.γ. Η ομάδα Theta

Τα δύο theta (θ) γονίδια, GSTT1 και GSTT2 αποτελούνται από πέντε εξόνια με πανομοιότυπα όρια ιντρονίων/εξωνίων. Περίπου 20% των Καυκάσιων είναι ομοζυγώτες για το μηδενικό γονίδιο GSTT1*0, όσο αναφορά το GSTT1. Η αλληλουχία μεταξύ των δύο γονιδίων GSTT1 και GSTT2 περιλαμβάνει έναν υποκινητή διπλής κατευθύνσεως. Ο μηδενικός GSTT1 γονότυπος παρατηρείται στο 38% των Καυκάσιων.³¹⁴ Μία μελέτη των Ασιατικών πληθυσμών έδειξε ότι οι συχνότητες του GSTT1 μηδενικού γονότυπου στους Κινέζους, Μαλαισίους και Ινδούς ήταν αντίστοιχα 58%, 38% και 11%. Η συχνότητα των συνδυασμένων μηδενικών γονότυπων των GSTM1 και GSTT1 στους Κινέζους, Μαλαισίους και Ινδούς ήταν 37%, 22% και 5% αντίστοιχα. Τα αναμενόμενα ποσοστά ήταν 37%, 25% και 5% αντίστοιχα και ήταν παρόμοια με αυτά που παρατηρήθηκαν στους Ασιατικούς πληθυσμούς, γεγονός που σημαίνει ότι δεν υπάρχουν αλληλεπιδράσεις μεταξύ των πολυμορφισμών του GST.³¹⁵

2.δ. Η ομάδα Pi

Έχουν προσδιορισθεί τέσσερα GSTP1 αλληλόμορφα.³¹⁶ Ο “άγριος” τύπος του αλληλόμορφου GSTP1*A διαφέρει σε μία μετάθεση A/G στο νουκλεοτιδίο +313 (Val¹⁰⁵-Ala¹¹⁴) από το GSTP1*B και από το GSTP1*C στην ίδια την μετάθεση και σε μία ακόμα μετάθεση K/Θ στο νουκλεοτιδίο +341 (Val¹⁰⁵-Val¹¹⁴). Ένα άλλο αλληλόμορφο GSTP1*D (Ile¹⁰⁵-Val¹¹⁴) έχει ακόμη προσδιορισθεί. Τα ένζυμα αυτά συμβάλλουν στην άμυνα απέναντι στο οξειδωτικό stress βάσει της δράσης της σελήνιο-ανεξάρτητης

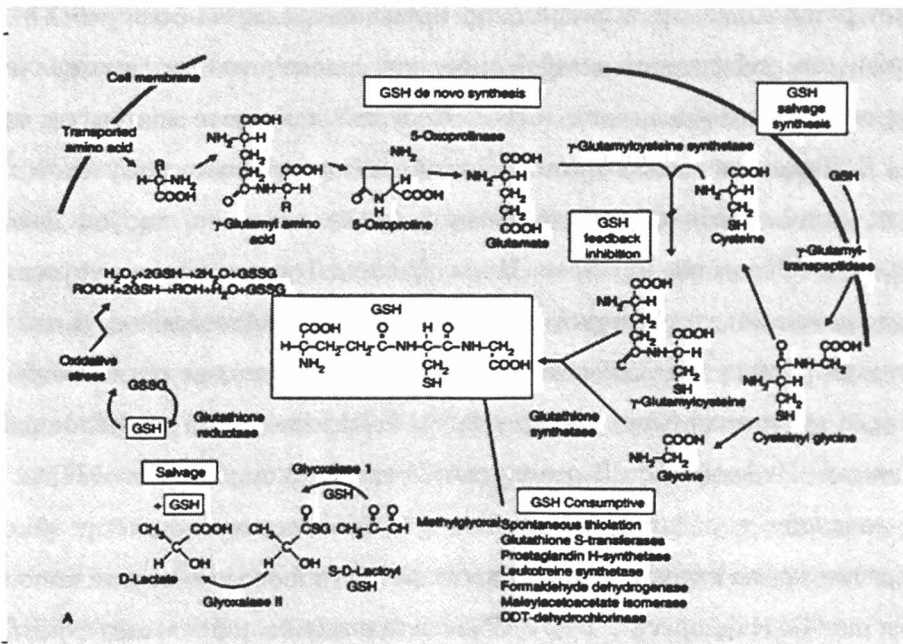
GSH υπεροξειδάσης και του ρόλου τους σαν αναστολείς του N-τελικού άκρου της κινάσης (Pi ομάδα), η οποία προστατεύει τα κύτταρα από το H_2O_2 , το οποίο επάγει τον κυτταρικό θάνατο.³¹⁷ Το pi ισοένζυμο διανέμεται στα εξωηπατικά όργανα και ανιχνεύεται επίσης στον πλακούντα.

2.ε. Η ομάδα Zeta

Η οικογένεια αυτή των γονιδίων έχει πρόσφατα ταυτοποιηθεί.³¹⁸ Ένα ανασυνδυασμένο ανθρώπινο ένζυμο καταλύει την οξυγονοποίηση του διχλωροακετικού και του γλυοξυλικού οξέος.

4.5.3. Σύνθεση – ομοιοσταση της γλουταθειόνης

Η γλουταθειόνη (GSH) είναι υδροδιαλυτό τριπεπτίδιο, που αποτελείται από τη γλουταμίνη, τη κυστεΐνη και την γλυκίνη των αμινοξέων. Σαν σημαντικό αντιοξειδωτικό, το GSH διαδραματίζει έναν ρόλο στην αποτοξίνωση ποικίλων ηλεκτροφιλικών ενώσεων και υπεροξειδίων μέσω της κατάλυσης από το GST και από τις περοξειδάσες του γλουταθειού (GPx).³¹⁹ Οι παραγόμενες ενώσεις είναι απολύτως διαλυτές στο νερό και κατευθείαν ή μετά από περαιτέρω μεταβολισμό θα μεταφερθούν έξω από το κύτταρο με μία ενεργή διαδικασία. Το τριπεπτίδιο μπορεί να υπάρξει ενδοκυττάρια είτε ως οξειδωμένη (GSSG) ή ως ανηγμένη (GSH) μορφή. Η διατήρηση των βέλτιστων αναλογιών GSH: GSSG στο κύτταρο είναι κρίσιμη για την επιβίωση και ως εκ τούτου η ισορροπία του παραπάνω συστήματος είναι πλέον επιτακτική. Μια ανεπάρκεια GSH βάζει το κύτταρο σε κίνδυνο για οξειδωτική ζημία. Είναι χαρακτηριστικό ότι μια δυσανολογία GSH παρατηρείται σε ένα ευρύ φάσμα νόσων, όπως: καρκίνος, εκφυλιστικές νόσοι του νευρικού συστήματος, κυστική ίωση, HIV και γήρανση. Το GSH συντίθεται de novo από την γλυκίνη αμινοξέων, την κυστεΐνη και το γλουταμινικό οξύ. (Εικόνα 2)



Εικόνα 2: Η ομοιοσταση της γλουταθειόνης διατηρείται ενδοκυττάρια μέσω μιας διαδικασίας de novo και salvage. Η αναλογία GSH:GSSG διατηρείται από την αναγωγή της γλουταθειόνης.

Η σύνθεση GSH απαιτεί την διαδοχική δράση δύο ενζύμων, της συνθετάσης της γ-γλουταμυλκυστεΐνης (γ-GCS) και της συνθετάσης του GSH.³²⁰ Η γ-gGS είναι ένα ετεροδιμερές, που αποτελείται από μια καταλυτικά ενεργό βαριά υπομονάδα γ-GCS-HS (73 kda) και μία ρυθμιστική υπομονάδα γ-GCS-LS (30 kda). Η ρύθμιση της γ-GCS είναι σύνθετη. Η έκφραση της, όπως έχει αποδειχθεί, επάγεται από την απάντηση των κυττάρων στα διαφορετικά ερεθίσματα. Η βιοδιαθεσιμότητα της κυστεΐνης περιορίζει με ρυθμό την σύνθεση της GSH. Η κυστεΐνη και η οξειδωμένη μορφή του αμινοξέος, κυστίνη, μεταφέρονται στο κύτταρο μέσω των εξαρτώμενων και ανεξάρτητων μεταφορέων του νατρίου αντίστοιχα.³²¹ Τα οξειδωτικά στοιχεία (συμπεριλαμβάνοντας τα υπεροξειδία, το H₂O₂ και τις ηλεκτροφιλικές ενώσεις) προωθούν την πρόσληψη της κυστίνης και μία συνακόλουθη αύξηση στην έκφραση των γ-GCS. Η περιοχή του υποκινητή του γ-GCS περιλαμβάνει μία υποθετική AP-1 περιοχή συνδέσεων, ένα αντιοξειδωτικό στοιχείο απάντησης (ARE) και ένα ηλεκτροφιλικό στοιχείο απάντησης. Η AP-1 περιοχή είναι πολύ σημαντική για την συστατική έκφραση της υπομονάδας γ-GCS-HS. Η σύνθεση GSH επηρεάζεται επίσης από τυχόν τροποποιήσεις στην φάση μετά την μετάφραση του γ-GCS.³²² Συγκεκριμένα, φωσφορυλίωση του γ-GCS οδηγεί στην αναστολή της σύνθεσης της GSH. Η ίδια η GSH ρυθμίζει την δραστηριότητα του γ-GCS μέσω ενός αρνητικού μηχανισμού ανατροφοδότησης (negative feedback).³²⁰ Ως εκ τούτου, η μείωση της GSH αυξάνει τον ρυθμό σύνθεσης της GSH. Επιπλέον, εκτός του γ-GCS, η αναγωγή της γλουταθειόνης και το σύστημα της γλυοξαλάσης λειτουργούν έτσι ώστε να ανακυκλώνουν την GSH. Κάτω από συνθήκες μεγάλου οξειδωτικού stress, είναι δυνατό η αναγωγή της γλουταθειόνης να κορεσθεί. Κατά συνέπεια, αυξημένη δραστηριότητα της αναγωγής της γλουταθειόνης ενισχύει την ικανότητα ενός κυττάρου να επιβιώσει κάτω από τέτοιες συνθήκες. Όσο αφορά το σύστημα της γλυοξυλάσης σε σχέση με τον μεταβολισμό της γλουταθειόνης, πρέπει να αναφερθεί ότι η μεθυλ-γλυοξάλη είναι ένα παραπροϊόν του ενδιάμεσου μεταβολισμού και μπορεί να υπάρχει σε μικρομοριακές συγκεντρώσεις σε ταχέως αυξανόμενους ιστούς. Πράγματι, αυξημένα επίπεδα της πρωτεΐνης της γλυοξυλάσης I βρέθηκαν σε ιστούς όγκου σε σχέση με τους φυσιολογικούς ιστούς.³¹⁹ Λόγω της τοξικότητας της μεθυλ-γλυοξάλης, η ταχεία και γρήγορη μετατροπή της σε D-λακτάση είναι επιτακτική για την επιβίωση του κυττάρου. Η γλυοξαλάση II χρησιμεύει για να ανακυκλώνει την GSH, που χρησιμοποιείται στην αρχική αντίδραση του αλκυλοσουλφιδίου. Κατά συνέπεια, η συνολική πραγματική χρήση της GSH είναι μηδενική. Παρόλο αυτά, με τέτοια υψηλά επίπεδα της μεθυλγλυοξάλης, η πραγματική δέσμευση και ροή της GSH μέσω αυτού του μέσου μπορεί να είναι απολύτως σημαντική. Η γλυοξυλάση II στα θηλαστικά πρέπει ακόμη να κλωνοποιηθεί και δεν είναι γνωστή, προς το παρόν, η ρύθμιση του γονιδίου ή ο συνδυασμός της με την γλυοξυλάση I.³²³ Μελλοντικές έρευνες πρέπει πιθανόν να γίνουν προκειμένου να πιστοποιηθεί κατά πόσο αυτό το μέσο αντιπροσωπεύει μια “GSH δεξαμενή”. Ενώ η GST αντιπροσωπεύει μία πρωταρχική εστία για πολλές μελέτες σχετικά με την αντίσταση στα φάρμακα, πολλά άλλα ένζυμα, τα οποία παράγουν, ανακυκλώνουν ή χρησιμοποιούν την GSH συμπεριλαμβάνονται στον καθορισμό της κυτταρικής

απάντησης στα αντικαρκινικά φάρμακα.³²⁴ Η κλωνοποίηση και ο χαρακτηρισμός των ρυθμιστικών αλληλουχιών πολλών γονιδίων, τα προϊόντα των οποίων φαίνονται στην εικόνα 2, έπονται αυτών των GST γονιδίων. Έρευνες των επόμενων χρόνων μπορεί να βοηθήσουν στον καθορισμό της σημαντικότητας του ανθεκτικού φαινότυπου στην συντονισμένη έκφραση και ρύθμιση αυτών των ενζύμων.

4.5.4. Πολυμορφισμοί GST και ευαισθησία στην ανάπτυξη της νόσου

Η σχέση μεταξύ των γονότυπων του GST και του φαινότυπου της νόσου αντιστοιχεί σε ένα σύνδεσμο μεταξύ των αλληλόμορφων, της κυτταρογενετικής βλάβης και ειδικών μεταλλάξεων στα γονίδια-στόχους. Κατά συνέπεια, και τα δύο μηδενικά κύτταρα GSTM1 και GSTT1 είναι περισσότερο ευπαθή στο φαινόμενο ανταλλαγής των χρωματίδων (SCE=sister chromatid exchange), μετά από έκθεση σε ποικίλες ηλεκτροφιλικές ενώσεις. Έρευνες έχουν δείξει μία κατανομή των SCE, επαγόμενη από το οξειδίο trans του στιλβενίου (ένα δυναμικά μεταλλαξιγόνο εποξειδίο), σε ένα πληθυσμό που περιλάμβανε ανθεκτικά, μέτρια και πολύ ευαίσθητα άτομα.³¹⁸ Η έλλειψη του GSTM1 βρέθηκε να σχετίζεται με άτομα μέτριας και υψηλής ευαισθησίας. Επίσης, μία αυξημένη συχνότητα SCE αναφέρθηκε για το GSTT1 στα λεμφοκύτταρα των ατόμων που εκτέθηκαν σε μεθυλ-βρωμίδιο, οξειδίο του μεθυλενίου και σε διγλωρομεθάνιο.

Γενικά, ο GSTM1 και ο GSTT1 μηδενικός γονότυπος θεωρούνται υψηλού κινδύνου, ενώ είναι ακόμα αμφίβολο αν οι γονότυποι GSTM3 και GSTP1 παρέχουν τον ίδιο κίνδυνο. Πολλές μελέτες για τους πολυμορφισμούς του GST και την ευαισθησία έχουν επικεντρωθεί στους καρκίνους του πνεύμονα, που σχετίζονται με τον καπνό, της ουροδόχου κύστης, της κεφαλής και του τραχήλου.³²⁵ Οι αρχικές μελέτες εξέθεσαν μια αυξανόμενη συχνότητα του GSTM1 μηδενικού γονότυπου στους καπνιστές τσιγάρων που ανέπτυξαν καρκίνο του πνεύμονα σε σχέση με τις ομάδες ελέγχου. Από τότε έχουν υπάρξει πολλές μελέτες αν και τα αντικρουόμενα στοιχεία που έχουν συγκεντρωθεί θέτουν την επιρροή του GSTM1 μηδενικού γονότυπου να παραμένει ασαφής. Γενικά αυτές οι μελέτες μαζί με τις μετα-αναλύσεις δείχνουν ότι ο μηδενικός γονότυπος GSTM1 παρέχει σχετικά ένα μικρό κίνδυνο για την ανάπτυξη καρκίνου του πνευμόνων.³²⁶ Επίσης, ο μηδενικός φαινότυπος mu έχει συσχετισθεί με την ανάπτυξη του καρκίνου του παχέος εντέρου και της ουροδόχου κύστης³¹² και έχει επίσης ενοχοποιηθεί ως παράγοντας κινδύνου για τον καρκίνο του ήπατος μετά από έκθεση σε αφλατοξίνη B1.³²⁶ Υπάρχουν λιγότερα στοιχεία, όσο αναφορά την επιρροή του GSTT1, αν και καμία συσχέτιση δεν έχει αναφερθεί. Οι Harries και συν.³¹⁶ δεν βρήκαν επίσης καμία σχέση των γονότυπων του GSTP με τον κίνδυνο για ανάπτυξη του καρκίνου.

4.5.5. Γονότυποι GST και έκβαση ασθενειών

Υπάρχει μια σημαντική βιβλιογραφία που παρουσιάζει την σχέση μεταξύ του γονότυπου GST και της κλινικής έκβασης. Πρόσφατα, οι Moisiu και συν.³²⁷ περιέγραψαν τις σχέσεις μεταξύ του

μηδενικού GSTM1 και του GSTT1 και τις ανατομικές θέσεις που αναπτύσσεται ο καρκίνος του ορθού και του παχέος εντέρου στα άτομα (Φιλανδοί συγγενείς εξ' αίματος) με μετάλλαξη1 στο MLH1 γονίδιο. Τα ευρήματα αυτά δηλώνουν ότι το GST, συγκαταλέγεται ανάμεσα σε ένα άγνωστο αριθμό γονιδίων (πιθανόν να συμπεριλαμβάνονται και άλλα αντιοξειδωτικά ένζυμα), τα οποία δρουν σαν τροποποιητικά γονίδια που επηρεάζουν τον φαινότυπο στον πρωτοπαθή καρκίνο του παχέος και του ορθού.

Είναι φυσικά εξίσου δυνατό, ότι αυτά τα γονίδια ενεργούν παρόμοια και σε άλλους πρωτοπαθείς καρκίνους και ακόμα σε μη-καρκινικές νόσους. Κατά συνέπεια, ο GSTM1 μηδενικός γονότυπος σχετίστηκε με την γενική κατάσταση και την μετάσταση των λεμφαδένων στους Ιάπωνες ασθενείς με καρκίνο του πνεύμονα.³²⁸

Άλλες έρευνες έχουν συσχετίσει τον γονότυπο του GST με την έκβαση του αποτελέσματος μετά από χημειοθεραπεία. Συγκεκριμένα, οι Hall και συν.³²⁹ μελέτησαν 71 παιδιά με οξεία λεμφοβλαστική λευχαιμία και διαπίστωσαν ότι ο GSTM1 μηδενικός γονότυπος σχετίστηκε με μία μεγαλύτερη πιθανότητα ύφεσης, ενδεχομένως λόγω του λιγότερο αποτελεσματικού μεταβολισμού των χημικών στην φάση εφόδου ή συντήρησης της θεραπείας. Ο μηχανισμός για αυτήν την επίδραση είναι άγνωστος δεδομένου ότι αυτές οι χημικές ουσίες δεν είναι αναγνωρισμένα υποστρώματα για το GSTM1. Πρόσφατα, οι Howells και συν.³³⁰ βρήκαν σε 148 γυναίκες με επιθηλιακό καρκίνο των ωοθηκών, ότι ο συνδυασμός των μηδενικών γονότυπων GSTM1 και GSTT1 σχετίστηκε με φτωχότερη επιβίωση και με μειωμένη απαντητικότητα στην χημειοθεραπεία. Συγκεκριμένα, καμία γυναίκα δεν επιβίωσε μετά από 42 μήνες από την διάγνωση. Αυτά τα στοιχεία είναι συμβατά με την άποψη ότι οι ειδικές αλληλόμορφες μεταβλητές παρέχουν λιγότερο αποτελεσματική απενεργοποίηση των προϊόντων της χρόνιας οξειδωτικής πίεσης. Κατά συνέπεια, τα ωοθηκικά επιθηλιακά κύτταρα υφίστανται ζημιά στο γενωμικό DNA, συμπεριλαμβανόμενης της απώλειας της λειτουργίας του κατασταλτικού ογκογονιδίου, όπως το p53. Απώλεια της λειτουργίας αυτού του γονιδίου σηματοδοτεί φτωχή έκβαση λόγω της μειωμένης απαντητικότητας στους χημειοθεραπευτικούς παράγοντες. Ένας εναλλακτικός μηχανισμός για τα αποτελέσματα των γονότυπων της GST προκύπτει από την υποθετική σημασία της απενεργοποίησης των αντικαρκινικών φαρμάκων με την μεσολάβηση της θειολικής ομάδας της GSH.³³¹ Άτομα με συνδυασμό των μηδενικών γονότυπων μπορούν να έχουν υψηλότερα επίπεδα του GSH λόγω της μειωμένης κατανάλωσης του τριπεπτιδίου στις αντιδράσεις που καταλύονται από την GST ή οι γονότυποι μπορεί να έχουν μη αναγνωρίσιμα αποτελέσματα στην έκφραση άλλων ενζύμων, που εμπλέκονται στην διατήρηση των κυτταρικών επιπέδων του GSH.

4.5.6. Σχέση της GST με το φαινόμενο MDR

Η μεγάλη συχνότητα του φαινομένου της πολλαπλής αντίστασης στα φάρμακα (MDR = multi drug resistance) στον καρκίνο, όπως φαίνεται από την κλινική πορεία των νόσων και από τα διάφορα μοντέλα των κυτταρικών καλλιιεργειών αποδίδεται σε αλλαγές στην έκφραση των γονιδίων που συμμετέχουν στους μηχανισμούς του MDR. Εάν η βιοχημική και μοριακή βάση των μηχανισμών

αντίστασης στα φάρμακα ήταν πλήρως κατανοητή, νέες στρατηγικές για την αντίσταση στα φάρμακα θα εφαρμοζόντουσαν και συνεπώς θα υπήρξε αύξηση του αριθμού των καρκίνων που θα θεραπευόντουσαν. Ερευνητές έχουν παρατηρήσει ότι υπάρχουν τουλάχιστον τρεις σαφείς παράγοντες που σχετίζονται με το MDR, όπως i) η έκφραση της P- γλυκοπρωτεΐνης (Pgp), προϊόν του MDR1 γονιδίου ii) ο μεταβολισμός της γλουταθειόνης και iii) η έκφραση των ενζύμων της τοποϊσομεράσης.³³¹ Εμπλοκή ενός άλλου μηχανισμού, της υπερ-έκφρασης της πρωτεΐνης σχετιζόμενης με το MDR (MRP), φαίνεται να είναι περιορισμένη, διότι σε ορισμένες κυτταρικές σειρές (από διάφορους νόσους) η MRP δεν μπορούσε να ανιχνευθεί. Γενικά, ο ρόλος της συγκεκριμένης πρωτεΐνης είναι να συμμετέχει στην διαδικασία εξώθησης των αλκυλιούχων ενώσεων, που συνδέονται με την GSH, από το κύτταρο. Ο μεταβολισμός της GSH έχει συσχετισθεί με την ανάπτυξη του φαινομένου MDR. Τα καρκινικά κύτταρα με αυξημένη αντίσταση στα φάρμακα (τα οποία έχουν αντικαρκινικές ιδιότητες μέσω της καταστροφής του DNA, από την ενδοκυττάρια οξείδωση) φαίνεται να περιέχουν αυξημένες συγκεντρώσεις γλουταθειόνης. Επίσης, μία αύξηση των επιπέδων της GSH από τους εστέρες της γλουταθειόνης προάγουν την κυτταρική προστασία. Αντίθετα, μεγάλη μείωση των επιπέδων της κυτταρικής γλουταθειόνης, είτε αναστέλλοντας την GSH σύνθεση ή την GSH ανάκτηση, αυξάνει την ευαισθησία στα κυτταροτοξικά φάρμακα. Όταν γίνεται σχεδιασμός των αντικαρκινικών φαρμάκων είναι αναγκαίος ο ισχυρός δεσμός με το ένζυμο-στόχος. Για την λειτουργία της GST, ως ένας ικανός απενεργοποιητής μιας μεγάλης σειράς χημικών ουσιών, ένας παρόμοιος ισχυρός δεσμός θα μπορούσε να αποδειχθεί προβληματικός. Πράγματι, για εκείνους τους αλκυλιωτικούς παράγοντες, οι οποίοι είναι υποστρώματα, τα συνδετικά στοιχεία προϋποθέτουν ικανότητες σε μικρομοριακή κλίμακα. Τα αντικαρκινικά φάρμακα, τα οποία λειτουργούν ως υποδοχείς φαίνονται στον παρακάτω πίνακα.³²⁴ (Πίνακας 13)

Πίνακας 13: Αντικαρκινικά φάρμακα ως υποστρώματα της GST^a

Βέβαιο υπόστρωμα*	Πιθανό υπόστρωμα	Έμμεσα πιθανό ^b
Χλωραμβουκίλη ^γ	Αντιμεταβολίτες	Μπλεομυκίνη
Μελφαλάνη ^γ	Αντιμικροσωληναριακά Φάρμακα ^δ	Εψουλφάμη
Αζωθουπερίτης ^γ	Αναστολείς της Τοποϊσομεράσης I και II	Μιτομυκίνη C
Ακρολεΐνη ^{στ}		Αδριαμυκίνη
Αιθακρυνικό οξύ		Σισπλατίνη
Στερεοειδή ^ε		Καρβοπλατίνη

* Για να θεωρηθεί ένα φάρμακο ως βέβαιο υπόστρωμα, πρέπει να υπάρχουν κινητικά στοιχεία.

^a Η καταλυτική αντίδραση συνίσταται από την σύνδεση με την GSH μέσω ενός δεσμού αλκυλοσουλφιδίου

^b Έμμεσα πιθανό υπόστρωμα σημαίνει χαμηλά επίπεδα αντίστασης.

^γ Το αζιριδίνιο είναι ενδιάμεσος μεταβολίτης του αζωθουπερίτη, που αποτελεί το κυριότερο υπόστρωμα του GST.

^δ Η εστραμουςτίνη, αντιμικροσωληναριακό φάρμακο, είναι ένας αναστολέας της GST, αλλά δεν υπάρχει άμεση απόδειξη ότι αποτελεί υπόστρωμα.

^ε Η GST δρα σαν μεταφορικός σύνδεσμος για μερικά στερεοειδή.

^{στ} Μεταβολίτες της κυκλοφωσφαμίδης.

Πιθανόν, εξίσου μεγάλης σημασίας, είναι εκείνα τα φάρμακα (έμμεσα πιθανό) για τα οποία δεν υπάρχει αποδεικτικό στοιχείο για την μεσολάβηση της καταλυτικής ιδιότητας της GST (Πίνακας 12). Είναι φανερό ότι τα περισσότερα των MDR φαρμάκων, αν όχι όλα, εμπίπτουν σε αυτή την κατηγορία. Επίσης, η χημική δομή όλων εκείνων των φαρμάκων, που θεωρούνται υποστρώματα της GST, φαίνεται να έχουν ένα κοινό χαρακτηριστικό, την ηλεκτροφιλική φύση των ενεργών κυτταροτοξικών μεταβολιτών. Σε κάθε περίπτωση, το φάρμακο μπορεί να αλληλεπιδράσει με την θειολική ομάδα της ανηγμένης γλουταθειόνης με ένα τυχαίο τρόπο δημιουργώντας ένα αλκυλοσουλφίδιο, το οποίο είναι χαρακτηριστικά λιγότερο τοξικό και περισσότερο υδατοδιαλυτό.

Συμπερασματικά, μπορεί να αναφερθεί ότι οι όγκοι εκφράζουν υψηλά επίπεδα GST, ιδιαίτερα GSTπ, αν και το ισοένζυμο ποικίλει σημαντικά μεταξύ των ιστών. Οι αζωθυπερίτες θεωρούνται καλό υπόστρωμα για τα ισοένζυμα της GSTα ομάδας, τα οποία συχνά εκφράζονται στα κύτταρα με αυξημένη αντίσταση σε αυτά τα φάρμακα. Τα περισσότερα φάρμακα με MDR φαινότυπο δεν φαίνεται να είναι υποστρώματα του GST, αν και παρόλο που το GSTπ συχνά υπερεκφράζεται στα κύτταρα, οι περισσότερες ενδείξεις δείχνουν ότι απλά είναι ένα συμπληρωματικό στοιχείο, παρά μια αιτία για την εξήγηση του ανθεκτικού φαινότυπου. Οι περισσότερες μελέτες της σχέσης μεταξύ της GST και της αντίστασης έχουν παραβλέψει την διατήρηση της ομοιόστασης της κυτταρικής γλουταθειόνης, γεγονός που έχει δημιουργήσει δυσκολίες στην μετάφραση των δεδομένων στοιχείων.

Στο μέλλον θα φανεί ποιες είναι οι θεραπευτικές δυνατότητες που παρέχονται από το σύστημα GSH/GST. Προς το παρόν, τα επίπεδα της GST στον ορό του αίματος εξετάζονται ως δυνητικοί δείκτες για την εντόπιση καρκινικής εστίας και ως δείκτες για την αποβολή του οργάνου σε ηπατικό μόσχευμα.

1. ΣΚΟΠΟΣ

Ο σκοπός της παρούσης εργασίας ήταν:

1) Να εξετάσει τους γονότυπους των ισοενζύμων της γλουταθειονη-θειο-τρανσφεράσης (GST) M1(GSTM1) και T1 (GSTT1) στους ασθενείς με ΜΔΣ σε σχέση με τον γενικό πληθυσμό.

2) Να μελετήσει τους γονότυπους των GSTM1 και GSTT1 γονιδίων στους ασθενείς με ΜΔΣ σε σχέση με την έκθεσή τους σε χημικά καρκινογόνα και στο κάπνισμα.

3) Να εξετάσει αν οι αιματολογικές και βιοχημικές παράμετροι σχετίζονται με τους γονότυπους του GST και να λειτουργούν πιθανώς ως προγνωστικοί παράγοντες.

4) Να εξετάσει αν οι μηδενικοί γονότυποι (ομόζυγη έλλειψη των δύο αλληλόμορφων) GSTM1 και GSTT1 έχουν επίδραση στην βελτίωση της αναιμίας των ασθενών με ΜΔΣ, όταν τους χορηγείται ανθρώπινη ανασυνδυασμένη ερυθροποιητίνη και

5) Να εξετάσει τους γονότυπους των GSTM1 και GSTT1 γονιδίων στους ασθενείς με οξεία λεμφοβλαστική και οξεία μη-λεμφοβλαστική (ή μυελογενής) λευχαιμία σε σχέση με τον γενικό πληθυσμό καθώς και ασθενείς με χρόνια λεμφοβλαστική και χρόνια μυελογενή λευχαιμία σε σχέση με τον γενικό πληθυσμό.

II. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

2.ΑΣΘΕΝΕΙΣ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1. ΑΣΘΕΝΕΙΣ

Μελετήθηκαν 65 ασθενείς με ΜΔΣ κατά την αρχική διάγνωση της νόσου. Με βάση τον μυελό και το περιφερικό πλακάκι ταξινομήθηκαν κατά FAB ως εξής: RA: 15 ασθενείς (23%), RARS: 17 ασθενείς (26.15%), RAEB: 15 ασθενείς (23%), RAEBt: 9 ασθενείς (13.84%) και CMML: 9 ασθενείς (13.84%). Η μέση ηλικία± διακύμανση (Standard Deviation, Sd) ήταν 72,69 ±10.62 με διακύμανση 38-92 έτη. Από το σύνολο των 65 ασθενών, 35 ήταν άνδρες και 30 γυναίκες, ενώ αναλυτικά σε κάθε υπότυπο, η σχέση ανδρών προς γυναίκες αντίστοιχα ήταν ως ακολούθως RA: 8/7, RARS: 4/13, RAEB: 10/5, RAEBt: 5/4 και CMML: 8/1. (Πίνακας 15) Οι ασθενείς παρακολουθούνταν στην Αιματολογική Μονάδα του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου των Ιωαννίνων και διαγνώστηκαν στο διάστημα μεταξύ Φεβρουαρίου 1996 και Μαΐου 1998. Επίσης, εξετάστηκαν 147 υγιή άτομα χωρίς ιστορικό κακοήθειας από τον γενικό πληθυσμό, 86 άνδρες και 61 γυναίκες, ηλικίας 35-86 ετών. Στην μελέτη αυτή συμπεριλήφθηκε και τυχόν επαγγελματική ή περιβαλλοντική έκθεση των ασθενών σε καρκινογόνους μεταβολίτες, όπως καπνός και φυτοφάρμακα. Η ομάδα ελέγχου επιλέχθηκε έτσι ώστε να είναι παρόμοιας ηλικίας, φύλου και συνηθειών καπνίσματος με την ομάδα των ασθενών. (Πίνακας 14). Τόσο οι ασθενείς όσο και τα άτομα του γενικού πληθυσμού προέρχονταν από τον αγροτικό πληθυσμό της Ηπείρου (45 ασθενείς και ολόκληρος ο πληθυσμός ελέγχου από Ν.Ιωαννίνων, 10 ασθενείς από Ν.Άρτης, 7 από Ν.Πρεβέζης και 3 από Ν. Θεσπρωτίας).

Κατά την διάγνωση εξετάστηκαν οι βιολογικές και αιματολογικές παράμετροι, όπως: η αιμοσφαιρίνη (Hb), ο απόλυτος αριθμός των ουδετερόφιλων (NEU), τα λευκά αιμοσφαίρια (WBC), τα αιμοπετάλια (PLT), η φερριτίνη (FER), η βιταμίνη B₁₂, η ερυθροποιητίνη του ορού (Epo), η B₂ μικροσφαιρίνη (B₂MG) και η γαλακτική αφυδρογονάση (LDH). (Πίνακας 16) Οι μετρήσεις των: Hb, NEU, WBC και PLT έγιναν στο Αιματολογικό Εργαστήριο του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου των Ιωαννίνων στον αυτόματο αναλυτή Sysmex SE 9.500. Οι υπόλοιπες μετρήσεις των: FER, B₁₂, Epo, B₂MG και LDH έγιναν στο Βιοχημικό Εργαστήριο του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου των Ιωαννίνων. Συγκεκριμένα, με τα ειδικά kits αντιδραστηρίων που χρησιμοποιεί ο κάθε αναλυτής, μετρήθηκε η FER και η B₁₂ στον αναλυτή Architect, η Epo και η B₂MG στον αναλυτή Immulite 2000 και η LDH στον αναλυτή Olympus. Οι παράμετροι αυτές, ως δυνητικά προγνωστικοί παράγοντες, συσχετίστηκαν με τον γονότυπο του GST. Στη συνέχεια, μία ομάδα ασθενών που μελετήθηκε, περιέλαβε 27 ασθενείς με ΜΔΣ (από τους 65 με ΜΔΣ, που εξετάστηκαν αρχικά), οι οποίοι έλαβαν θεραπεία με ανασυνδυασμένη ανθρώπινη ερυθροποιητίνη (rhEpo). Αναλυτικά, από το σύνολο αυτών των ασθενών, οι 15 ήταν άνδρες και οι 12 γυναίκες, με διάμεση ηλικία τα 70έτη και διακύμανση από 50-93 έτη. Οι ασθενείς ταξινομήθηκαν κατά FAB ως εξής: 3 με RA, 9 με RARS, 7 με RAEB, 3 με RAEBt και 5 με CMML (Πίνακας 16).

Επίσης, μελετήθηκαν 30 ασθενείς με οξεία λευχαιμία, οι οποίοι με βάση τον μυελό το περιφερικό πλακάκι, την κυτταροχημεία και τον ανοσοφαινότυπο ταξινομήθηκαν ως εξής: οι 16 είχαν οξεία μη λεμφοβλαστική ή μυελογενή (ΟΜΛ) και οι 14 είχαν οξεία λεμφοβλαστική λευχαιμία (ΟΛΛ). Από το σύνολο των 16 ασθενών με ΟΜΛ, 10 ήταν άνδρες και 6 γυναίκες. Η μέση ηλικία τους \pm διακύμανση(Sd) ήταν $63,18 \pm 22.97$ με διακύμανση από 19-86 έτη. Από τους 14 ασθενείς με ΟΛΛ, οι 6 ήταν άνδρες και οι 8 γυναίκες, με μέση ηλικία \pm διακύμανση(Sd) ήταν 32 ± 13.26 έτη και με διακύμανση από 16-39 έτη.

Στη συνέχεια μελετήθηκαν 37 ασθενείς με χρόνια λευχαιμία, εκ των οποίων οι 27 είχαν ΧΛΛ και οι 10 ασθενείς είχαν ΧΜΛ. Από τους 27 ασθενείς με ΧΛΛ, οι 15 ήταν άνδρες και οι 12 γυναίκες. Η διάμεση ηλικία τους \pm σταθερή διακύμανση(Sd) ήταν $70,14 \pm 9.10$ με διακύμανση από 60-89 έτη. Η ταξινόμηση των ασθενών κατά Binet, ταξινόμησε τους ασθενείς ως εξής: στάδιο Α 48,2%, στάδιο Β 18,55% και στάδιο C 33,3%. Σχετικά με τους ασθενείς με ΧΜΛ, οι 5 ήταν άνδρες και οι 6 γυναίκες. Η διάμεση ηλικία τους \pm σταθερή διακύμανση(Sd) ήταν $58,54 \pm 19.88$ έτη με διακύμανση από 19-87 έτη.

Πίνακας 14: Κατανομή των ασθενών και του γενικού πληθυσμού σύμφωνα με την ηλικία το φύλο και το κάπνισμα

	Ασθενείς N=65	Γενικός πληθυσμός N=147	P
Εύρος ηλικίας	38-92	57-86	
Μέση ηλικία	72.69	68.52	N.S
Σταθερή διακύμανση (SD)	10.62	6.89	
Φύλο (Α/Γ)	35/30	42/18	N.S
Καπνιστές/ Μη καπνιστές	40/25	29/13	N.S

Πίνακας 15: Χαρακτηριστικά ασθενών με ΜΔΣ

No.ασθεν	Ηλικία	Φύλο	Τύπος	Βλάστες Μυελού %	Γονοτ T1	Γονοτ M1	Φυτοφα- ρμακα
1	78	Γ	RA	3	+	0	NAI
2	69	A	RA	3	0	0	NAI
3	72	Γ	RA	4	+	0	NAI
4	77	A	RA	4	+	1	OXI
5	68	A	RA	5	+	0	NAI
6	86	Γ	RA	5	+	0	NAI
7	68	A	RA	5	+	0	OXI
8	70	Γ	RA	5	+	0	NAI
9	68	A	RA	4	+	1	OXI

No.ασθεν	Ηλικία	Φύλο	Τύπος	Βλάστες		Γονοτ T1	Γονοτ M1	Φυτοφα- ρμακα
				Μυελού	%			
10	77	A	RA	5	+	0	OXI	
11	68	A	RA	4	+	1	NAI	
12	70	Γ	RA	4	+	1	OXI	
13	82	A	RA	3	0	0	OXI	
14	65	Γ	RA	4	+	0	OXI	
15	38	A	RA	3	+	0	OXI	
16	82	Γ	RA	5	+	1	NAI	
17	74	Γ	RAS	4	+	0	NAI	
18	82	Γ	RAS	6	0	1	NAI	
19	75	A	RAS	5	+	0	NAI	
20	87	A	RAS	4	+	0	OXI	
21	70	Γ	RAS	4	+	1	OXI	
22	80	Γ	RAS	4	+	0	NAI	
23	82	A	RAS	6	+	0	OXI	
24	75	Γ	RAS	6	+	0	NAI	
25	76	Γ	RAS	1	+	1	OXI	
26	69	Γ	RAS	5	+	0	NAI	
27	74	A	RAS	6	+	0	NAI	
28	82	Γ	RAS	4	+	0	NAI	
29	78	Γ	RAS	3	+	0	NAI	
30	53	Γ	RAS	4	+	0	OXI	
31	84	Γ	RAS	3	+	0	OXI	
32	41	Γ	RAS	4	+	1	NAI	
33	70	A	RAEB	4	+	0	NAI	
34	84	Γ	RAEB	12	0	1	NAI	
35	94	A	RAEB	15	0	1	NAI	
36	87	A	RAEB	9	+	0	OXI	
37	74	A	RAEB	23	+	1	OXI	
38	78	A	RAEB	10	+	0	NAI	
39	84	A	RAEB	10	+	1	NAI	
40	78	A	RAEB	12	+	1	OXI	
41	81	Γ	RAEB	15	+	0	OXI	

No.ασθεν	Ηλικία	Φύλο	Τύπος	Βλάστες	Γονοτ T1	Γονοτ M1	Φυτοφα- ρμακα
				Μυελού %			
42	71	A	RAEB	15	0	1	OXI
43	65	Γ	RAEB	12	+	0	OXI
44	77	Γ	RAEB	18	+	1	OXI
45	70	A	RAEB	15	+	0	NAI
46	72	A	RAEB	7	+	0	NAI
47	62	Γ	RAEB	8	0	1	OXI
48	77	Γ	RAEBt	15	+	1	NAI
49	77	A	RAEBt	20	+	0	NAI
50	86	A	RAEBt	28	+	1	OXI
51	71	A	RAEBt	25	+	1	NAI
52	70	A	RAEBt	24	+	1	NAI
53	70	Γ	RAEBt	25	+	1	NAI
54	69	A	RAEBt	25	+	0	OXI
55	60	Γ	RAEBt	28	+	1	OXI
56	60	Γ	RAEBt	15	+	0	NAI
57	75	A	CMML	25	+	1	NAI
58	88	A	CMML	19	+	1	NAI
59	75	A	CMML	15	+	1	OXI
60	76	A	CMML	15	+	0	NAI
61	60	A	CMML	15	+	0	NAI
62	63	A	CMML	20	+	0	NAI
63	78	A	CMML	20	+	0	NAI
64	57	Γ	CMML	18	+	1	OXI
65	46	A	CMML	20	0	1	OXI

A= άνδρας, Γ= γυναίκα

+: συμβολίζει τον μη μηδενικό γονότυπο (non- null), ο οποίος εκφράζει την παρουσία του GSTM1 ή του GSTT1 γονιδίου σε ομοζυγωτία.

- : συμβολίζει τον μηδενικό (null) γονότυπο, ο οποίος εκφράζει την έλλειψη του GSTM1 ή του GSTT1 γονιδίου σε ομοζυγωτία.

Πίνακας 16 : Αιματολογικά και Βιοχημικά χαρακτηριστικά των ασθενών με ΜΔΣ

No. ασθ	Hb (gr/dl)	WBCX 10/l	Neu X10/l	PLT X10/l	B ₂ MG μg/l	LDH IU/L	FER ng/ml	B ₁₂ pg/ml	EPO mu/ml	Γονοτ T1	Γονοτ M1
1	8,5	9,5	8	180	3720	350	350	420	22	1	0
2	12,2	5	3	223	1390	383	13	1478	30	0	0
3	8,2	5,5	2,2	210	3620	390	11	1320	20	1	0
4	11,4	4,7	1,16	90	1520	392	207	1734	55	1	1
5	9,6	0,29	0,02	11	2282	180	361	2000	133	1	0
6	7,3	0,9	0,21	24	3729	416	300	1700	100	1	0
7	7,3	3,1	14,1	85,3	2396	450	116	2300	62	1	0
8	9,1	3,5	22,1	92,5	1510	596	810	2510	265	1	0
9	8,5	9,5	13,2	20,5	2180	435	44	686	362	1	1
10	10,8	7,5	3,8	322	2900	425	134	362	112,95	1	0
11	9,5	4,5	5,49	275	1890	410	15	720	25	1	1
12	11,3	7,08	5	193	2428	258	230	1920	89	1	1
13	9,4	1,8	3	354	3098	271	321,8	1127	55	0	0
14	10,1	6,4	3,83	146	1203	424	23	1279	47,2	1	0
15	7,5	8,2	7,5	160	1580	450	14	820	23	1	0
16	10,4	6,1	4,1	325	3986	198	134,3	226	19,9	1	1
17	11,3	13,6	12,6	123	2250	281	500	2050	53,5	1	0
18	10,4	5,11	4,24	280	25550	304	54	1045	60	0	1
19	9,12	2,55	1,28	123	3161	420	380	1950	87	1	0
20	8,1	2,14	1,29	173	2290	97	12	354	5,1	1	0
21	8,8	7,09	4,84	180	3500	290	564	398	18,8	1	1
22	9,4	2,82	1,59	85	2737	219	128	2000	102	1	0
23	12	4,83	2	275	1814	287	70	140	20,8	1	0
24	9,35	11,9	9,29	25,9	2833	436	137	358	240,67	1	0
25	8,6	5,1	3	257	4100	443	32	2300	8,5	0	1
26	7	3	1,1	110	2210	490	125	1650	54,2	1	0
27	10,8	3,35	1,5	366	1730	153	351	2600	84,2	1	0
28	9,21	3,97	2,52	182	2769	442	250	2360	45,6	1	0
29	10,8	7,8	2,94	309	7950	617	1707	2100	23,39	1	0
30	12,1	7,1	2,79	279	3100	281	11	1299	25	1	0
31	10,1	3,3	2,2	138	3940	216	429	1850	41	1	0
32	9,6	3,66	1,11	230	2140	428	7	1153	27	1	1
33	9	8,3	2	49	6300	418	174	490	68,3	1	0
34	9,5	5	1,18	341	3417	943	180	1780	38,07	1	1
35	9,1	2,9	2,2	107	3800	335	527	546	8,5	0	1
36	9,53	2,3	0,5	131	3560	332	240	2120	64	1	0

No.	Hb	WBCX	Neu	PLT	B ₂	LDH	FER	B ₁₂	EPO	Γovot	Γovot
ασθ	(gr/dl)	10/l	X10/l	X10/l	MGμg/l	IU/L	ng/ml	pg/ml	mu/ml	T1	M1
37	10,3	5,4	3	248	2151	151	127	471	7,3	1	1
38	8,5	2,81	0,68	83,4	1493	632	915	2200	270	1	0
39	9,29	3,2	2,1	96	2300	367	20	617	88	1	1
40	13,8	4	3,4	92	1363	146	371	292	8,36	1	1
41	6,8	1	0,08	140	3900	140	553	275	210	1	0
42	11	4	1,8	186	1783	210	41	700	81	0	1
43	8,1	2,68	1,45	3	1375	390	69,6	579	24,83	1	0
44	11	5,19	5,85	180	3080	364	341	1490	45	1	1
45	7,5	8,2	7,5	160	3360	359	8,2	520	30,69	1	0
46	14	13,2	10,1	254	1789	367	13	333	45	1	0
47	8,2	4,8	5,49	160	1894	450	15	820	51,3	0	1
48	17	6,72	5,09	324	1521	380	27	921	5,5	1	1
49	9,78	1,6	0,194	209	2090	254	534	2340	22,1	1	0
50	9,2	1,9	1,39	282	1342	271	164	2134	123	1	1
51	7,9	27,85	14,08	21	2099	1040	2908	1547	460	1	1
52	8,1	10,5	13,2	25	2180	420	210	1610	385	1	1
53	9,5	4,5	5,6	189	1890	410	15	720	89	1	1
54	7,6	1,27	6,4	172	5500	627	244	250	159	1	0
55	9,2	4,7	5,49	320	1780	423	14	750	25	1	1
56	9,5	4,5	5,49	355	1890	410	15	720	89	1	0
57	7,96	9,9	13,1	100	8930	277	449	2500	97	1	1
58	9,13	73,9	2,5	243	6824	1283	359	2457	280	1	0
59	8,01	24,1	1,8	174	1992	473	1795	2267	36,56	1	1
60	12,2	6,7	4,4	281	3390	376	275	2200	6,5	1	0
61	7,8	9,5	7,5	114	1710	346	758	1080	232	1	0
62	7,5	7,8	7,5	370	1569	620	158	780	89	1	0
63	5,7	7,66	1,3	610	2663	986	254	2500	55,7	1	0
64	7,8	17,3	11,5	414	1890	343	283	2349	24	1	1
65	6,5	7,4	7,3	368	1678	560	7	870	98	0	1

Πίνακας 17

Βασικά χαρακτηριστικά ασθενών πριν και μετά την θεραπεία με rHuEpo.

No ασθενών	Φύλο	Ηλικία	Τύπος ΜΔΣ	GST		EPO (U/L)		Hb (g/dl)		WBC (x10 ⁹ /L)		PLT (x10 ⁹ /L)		Means units transfused per month	
				Γονότυπος		Pre	Pro	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post	Pre	Post
				T ₁	M ₁										
1	A	73	CMML	+	+	68,3	85	8,0	9,2	9,9	10,7	100	239	2-3	0
2	A	71	RAEB	+	0	52,9	68,3	7,5	11	8,3	11,2	49	48	-	-
3	A	87	CMML	+	0	280	290	9,1	11,3	13,9	13	243	468	-	-
4	Γ	84	RAEB	0	+	21	387	9,5	9,6	5	10,5	402	286	1-2	1-2
5	A	77	CMML	+	+	36,5	70	7,0	8,5	24,1	21	174	93	2-3	0
6	Γ	73	RARS	+	0	53,5	60	10,7	10	13,6	9,7	123	351	-	-
7	Γ	87	RARS	0	+	60	78	10,4	9,5	5,1	7	280	306	1-2	1-2
8	A	86	RARS	+	0	5,1	30	7	9	2,1	3,2	173	173	-	-
9	Γ	62	RARS	+	+	18,8	25	8,8	9,1	7	9,1	180	269	1-2	1-2
10	A	93	RAEB	0	+	8,5	22	9,1	9,1	2,9	9,1	107	130	1-2	1-2
11	A	76	RAEBt	+	0	22,1	37	9,0	10,8	1,6	1,1	206	165	1-2	0
12	A	85	RAEBt	+	0	24	89	9,2	10	1,9	2,2	282	95	-	-
13	A	76	RA	+	+	55	43,7	11,4	11,5	4,7	3,3	106	106	1-2	1-2
14	Γ	79	RARS	+	0	102	105	9,4	9,5	2,8	2,2	85	99	1-2	1-2
15	Γ	74	RARS	+	0	240	230	9,3	11,0	11,9	7,2	25,9	35	1-2	1-2
16	A	67	RA	+	0	133	150	9,6	12,5	0,2	10,3	11	135	1-2	0
17	Γ	68	RARS	+	0	54,2	65	7,0	9,1	3	6,6	110	65	1-2	0
18	Γ	75	RARS	0	+	8,5	42	8,6	9,7	5,1	6,7	257	273	2-3	0
19	A	86	RAEB	+	0	64	66	9,5	9,1	2,3	0,4	31	11,2	1-2	1-2
20	A	78	RAEBt	+	0	267	240	7,6	6,1	1,2	1,0	172	15	1-2	2-3
21	A	74	RA	+	0	112	135	10,8	13	7,5	6,1	322	306	-	-
22	A	77	RAEB	+	+	8,3	55	10,8	11	4	5,1	92	137	1-2	1-2
23	A	52	CMML	+	0	232	200	7,8	7,5	9,5	15,4	114	23	2-3	2-3
24	Γ	77	RARS	+	0	23,3	102,2	9,8	8,4	7,8	6,9	309	206	1-2	1-2
25	Γ	84	RAEB	+	0	24,8	52,8	8,1	10	2,6	3,6	30	36	2-3	0
26	Γ	76	RAEB	+	+	25	71	11	11,7	5,1	9,5	180	163	-	-
27	Γ	50	CMML	+	+	24	25	7,8	8,0	7,1	7,5	279	228	1-2	1-2

2.2. ΜΕΘΟΔΟΙ

2.2.1. Εξαγωγή DNA

Έγινε εξαγωγή DNA από 1 ml περιφερικού αίματος ασθενών και ατόμων του γενικού πληθυσμού με την μέθοδο του NaCl. Συγκεκριμένα, αριθμούμε τα erpendorf (όπου σε κάθε νούμερο αντιστοιχεί ένας ασθενής). Παίρνουμε 1 ml TKM και προσθέτουμε 1ml αίματος από κάθε δείγμα και αναδεύουμε λίγο με το tips. Το TKM αποτελείται από Tris-Hcl 1M, KCl 1M, EDTA 0.5M (αιθυλενοδιαμινο-τετραακετικό οξύ), MgCl 1M και H₂O. Στην συνέχεια προσθέτουμε 25 μl NP-40, το οποίο είναι απορρυπαντικό και σπάει τις μεμβράνες. Κλείνουμε τα erpendorf, ανακατεύουμε πολύ καλά και φυγοκεντρούμε στις 3000 στροφές για 10 λεπτά. Κατόπιν, απομακρύνουμε το υπερκείμενο και προσθέτουμε 500μl TKM, ανακατεύουμε και φυγοκεντρούμε στις 3000 στροφές για 10 λεπτά. Απομακρύνουμε το υπερκείμενο, προσθέτουμε 500 μl TKM, ανακατεύουμε και φυγοκεντρούμε στις 3000 στροφές για 10 λεπτά. Αριθμούμε καινούργια erpendorf και γράφουμε πάνω τα ονόματα των υπό έλεγχο ατόμων. Απομακρύνουμε το υπερκείμενο και στα παλιά erpendorf προσθέτουμε 200 μl TKM και ανακατεύουμε πολύ. Στη συνέχεια, βάζουμε και 15μl SDS (sodium dodecyl sulphate) 10%, το οποίο σπάει τις μεμβράνες. Ανακατεύουμε καλά. Στην συνέχεια, τοποθετούμε στο υδατόλουτρο στους 55° βαθμούς C για 5 λεπτά. Στα erpendorf, που έχουμε ετοιμάσει με τα ονόματα, τοποθετούμε 30 μl TE (Tris EDTA): 10 mM Tris-Hcl + 1mM EDTA Από αυτό που φυγοκεντρήσαμε, παίρνουμε το υπερκείμενο και το βάζουμε στα erpendorf, το άλλο το απομακρύνουμε. Προσθέτουμε 75μl παγωμένης αιθανόλης (την οποία έχουμε κρατημένη στην κατάψυξη του ψυγείου). Το ανακατεύουμε καλά. Κατόπιν, παίρνουμε το DNA με τα tips και το μεταφέρουμε στα erpendorf (με τα ονόματα των υπό εξέταση ατόμων).

2.2.2. Μίγμα αντίδρασης PCR

Στην συνέχεια ετοιμάζουμε το μίγμα της αντίδρασης PCR= polymearse chain reaction. Τα στοιχεία, από τα οποία αποτελείται το μίγμα της αντίδρασης αυτής είναι:

i) η DNA πολυμεράση. Χρησιμοποιήσαμε την Taq polymerase (Gibco BRL), η οποία πλεονεκτεί έναντι των άλλων γιατί διατηρεί την σταθερότητα της ακόμη και σε υψηλές θερμοκρασίες. Ο ρόλος της DNA πολυμεράσης συνίσταται στην σύνθεση μιας συμπληρωματικής αλυσίδας του DNA με κατεύθυνση από το 5' στο 3', χρησιμοποιώντας ως υποδοχέα την μία μονή αλυσίδα του DNA. Μέσα στο μίγμα της αντίδρασης τοποθετούμε 0.2 μl Taq polymerase.

ii) τα dNTPs= τριφωσφορικά δεοξυριβονουκλεοτίδια, τα οποία παρέχουν αφ' ενός την ενέργεια, αφετέρου και τα νουκλεοτίδια για την σύνθεση του DNA. Παρασκευάστηκαν από 100 μM dATP, 100μM dGTP, 100 μM dTTP, 100 μM dCTP και H₂O. Τα dNTPs διαλύθηκαν σε μία τελική συγκέντρωση των 100μM, ώστε να μπορούν να χρησιμοποιούνται κάθε φορά σε μικρές ποσότητες (2.5μl) και να αποθηκεύονται σε υψηλές συγκεντρώσεις στους -20° C για αρκετούς μήνες.

iii) το ρυθμιστικό διάλυμα (reaction buffer). Αυτό περιέχει Tris σε μια τελική συγκέντρωση 10 mM (pH 8.4), KCl 50mM, MgCl₂ 1.5 mM, ζελατίνη 0.01%, NP40 0.01% και 0.01% Tween 20. Είναι δυνατό να ποικίλουν οι συνθήκες των αλάτων που χρησιμοποιούνται (ελάττωση ή αφαίρεση του KCl) και μερικά ζεύγη υποκινητών (primers) φαίνεται να δουλεύουν καλύτερα με αυξημένη συγκέντρωση μαγνησίου. Επίσης, εμφανίζεται μια στοιχειομετρική αλληλεπίδραση μεταξύ των dNTPs και του μαγνησίου. Συνεπώς, υψηλότερες συγκεντρώσεις των dNTPs δεσμεύουν μαγνήσιο και ως εκ τούτου μειώνεται η διαθέσιμη συγκέντρωση του μαγνησίου. Συνολικά χρησιμοποιούνται 2.5 μl X 10 ρυθμιστικού διαλύματος, 0.2 μl MgCl₂ και 0.2 μl gel.

iv) οι primers= υποκινητές. Οι υποκινητές των νουκλεοτιδίων γενικά συντίθενται από μία σειρά 18-30 βάσεων. Οι αλληλουχίες των primers πρέπει να έχουν παρόμοιο G+C περιεχόμενο, ελάχιστη δευτερογενή δομή και χαμηλή συμπληρωματικότητα η μία στην άλλη, ιδιαίτερα στην 3' περιοχή, ώστε να μην υβριδίζονται μεταξύ τους, αλλά με τις συμπληρωματικές αλληλουχίες του DNA. Συγκεκριμένα, χρησιμοποιήθηκαν 2 μl από κάθε υποκινητή. Η αλληλουχία, το μέγεθος και η συγκέντρωση κάθε primer φαίνεται παρακάτω:

GTTT1-F: 5'-TTC CTT ACT GGT CCT ACA TCT C-3' (23μερές, 3.44 μg/μl)

GSTT1-R: 5' -TCA CCG GAT CAT GGC CAG CA-3' (20μερες, 4.27μg/μl)

GSTM1-F: 5' - GAA CTC CCT GAA AAG CTA AAG C-3' (22μερές, 3.19μg/μl)

GSTM1-R: 5'-GTT GGG CTC AAA TAT ACG GTG G -3' (22μερές, 3.17 μg/μl)

PCO4: 5' -CAA CTT CAT CCA CGT TCA CC-3' (20μερές, 5.24 μg/μl)

GH₂O: 5' - GAA GAG CCA AAG GAC AGG TAC-3' (20μερές, 3.75 μg/μl)

Οι παραπάνω primers είναι από την Genset Corp (Genset ref. 797121257). Οι υποκινητές M1-F, M1-R, T1-F και T1-R χρησιμοποιούνται προκειμένου να μειωθούν οι διακυμάνσεις από αντίδραση σε αντίδραση. Οι PCO4 και GH₂O αποτελούν τους υποκινητές του γονιδίου της β-σφαιρίνης, όπως έχει ήδη περιγραφεί σε προηγούμενη εργασία.³³³

v) DNA-στόχος=target DNA. Τοποθετούμε στην αντίδραση 1 μl DNA, το οποίο έγινε εξαγωγή με τον τρόπο που αναφέρθηκε παραπάνω. Το πιο σημαντικό σημείο είναι να μην μολυνθεί το DNA και να δοθεί η κατάλληλη προσοχή για να αποφευχθούν από την αντίδραση οι αναστολές της αντίδρασης (όπως: EDTA, ίχνη φαινόλης)

Τα παραπάνω υλικά προστίθενται σε ένα συνολικό όγκο 25 μl.

2.2.3. Πολλαπλό (Multiplex) PCR

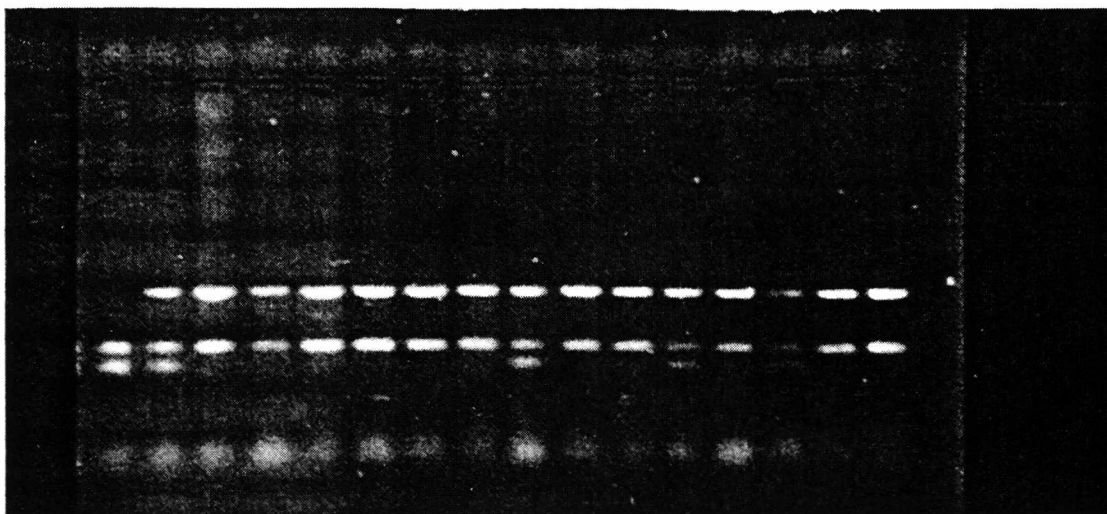
Η μέθοδος αυτή του multiplex PCR εφαρμόστηκε προκειμένου να εντοπιστεί η παρουσία (non-null) ή η απουσία των GSTM1 και GSTT1(null genotype) γονιδίων στο γενωμικό DNA των δειγμάτων. Συγκεκριμένα είναι μία τεχνική, η οποία μπορεί να πολλαπλασιάσει ταυτόχρονα 2 διαφορετικές αλληλουχίες γονιδιώματος σε μια αντίδραση χρησιμοποιώντας διαφορετικά ζευγάρια εκκινητών. Τα παραπάνω γονίδια πολλαπλασιάζονται συγχρόνως μέσα στον ίδιο κωνικό σωλήνα και

αναγνωρίζεται η ζώνη DNA, που αντιστοιχεί σε κάθε γονίδιο από την ηλεκτροφόρηση. Η αντίδραση πραγματοποιήθηκε σε αυτόματο θερμικό κυκλοποιητή (MG RESET PTC 100), όπου τα δείγματα τοποθετήθηκαν για 30 κύκλους στους 94°C για 1 min, στη συνέχεια στους 62 °C για 1min και στους 72°C για 1 min. Αναλυτικά,³³⁴ στο πρώτο βήμα του κύκλου γίνεται αποδιάταξη του DNA που έχει απομονωθεί από το δείγμα, αυξάνοντας την θερμοκρασία της αντίδρασης, συνήθως μεταξύ 92°C και 96°C (εδώ στους 94°C). Με αυτό τον τρόπο οι συμπληρωματικοί κλώνοι απομακρύνονται. Στο δεύτερο βήμα με την μείωση της θερμοκρασίας της αντίδρασης επιτυγχάνεται ο υβριδισμός των εκκινητών με την αλληλουχία του DNA. Στο τρίτο και τελευταίο βήμα πραγματοποιείται η σύνθεση των πραγματικών κλώνων του DNA σε θερμοκρασία (όπως αναφέρθηκε) 72°C. Αυτό το βήμα επιτυγχάνεται με την χρήση του ενζύμου DNA πολυμεράση, που επιτρέπει τη σύνθεση του DNA σε κατεύθυνση 5' προς 3'. Μεγάλη ώθηση στην τεχνική PCR έδωσε η ανακάλυψη του θερμοανθεκτικού ενζύμου πολυμεράσης του βακτηριδίου *Thermus Aquaticus* (Taq polymerase). Η Taq polymerase συνθέτει περίπου 2000 νουκλεοτίδια ανά λεπτό. Ο χρόνος που απαιτείται για την αντιγραφή του DNA-στόχου εξαρτάται από το μήκος του προϊόντος της PCR. Σε μία τυπική ανάλυση PCR, ο κύκλος αποδιάταξης, υβριδισμού και σύνθεσης νέου DNA μπορεί να επαναληφθεί πολλές φορές, συνήθως 30 ή 40, καταλήγοντας στον σχηματισμό περισσότερων από 1 δισεκατομμύριο, ακριβών αντιγράφων του αρχικού τμήματος του DNA.

2.2.4. Ηλεκτροφόρηση

Η αξιολόγηση του προϊόντος της PCR έγινε με την ηλεκτροφόρηση σε πηκτή αγαρόζης 2% (3:1 Nusiere/Agarose). Στην εικόνα 3, φαίνονται τα προϊόντα της PCR, όπως διαχωρίστηκαν με την ηλεκτροφόρηση: το προϊόν PCR του GSTM1 με 215 ζεύγη βάσεων, η β-σφαιρίνη με 268 και το GSTT1 με 480. Η β-σφαιρίνη σε αυτή την αντίδραση χρησιμοποιήθηκε για εσωτερικό θετικό έλεγχο. Η πηκτή αγαρόζης χρησιμοποιείται πιο συχνά στο διαχωρισμό τμημάτων DNA μήκους από λίγες εκατοντάδες έως και 20.000 βάσεις, ενώ το πολυακρυλαμίδιο (που επίσης χρησιμοποιείται σε ηλεκτροφορήσεις) είναι για το διαχωρισμό μικρότερων τμημάτων DNA. Το DNA γίνεται ορατό με την βοήθεια του C₁₂H₂₀N₃Br, βρωμιούχου αιθιδίου 10% (1 μl για 10 ml διαλύματος). Η πηκτή φωτογραφήθηκε με φωτογραφική μηχανή Polaroid και η φωτογραφία «σαρώθηκε» αυτόματα και καταγράφηκαν οι κορυφές των ζωνών.

Εικόνα 4: Προϊόντα PCR



2.3. Σχήμα Θεραπείας

Οι 27 ασθενείς που έλαβαν θεραπεία με rhuEpo, έλαβαν το εξής σχήμα: 150 U/kg βάρους σώματος, υποδόρια, τρεις φορές την εβδομάδα για 12 εβδομάδες. Μετά την συμπλήρωση των 12 εβδομάδων δεν παρατηρήθηκαν παρενέργειες από κανένα ασθενή. Στην αρχή της θεραπείας και πριν από κάθε θεραπευτικό σχήμα γινόνταν μετρήσεις του αριθμού των λευκών (WBC), της αιμοσφαιρίνης (Hb), των αιμοπεταλίων (PLT) και του αριθμού των μονάδων των μεταγγίσεων με ερυθρά. Οι ασθενείς εκτιμήθηκαν για την αιματολογική τους ανταπόκριση μετά από θεραπεία 12 εβδομάδων. (Πίνακας 16)

Ως αιματολογική απάντηση ορίστηκε, σύμφωνα με τους Negtin και συν.,¹⁷³ η τελεία απώλεια μεταγγίσεων ή η αύξηση του επιπέδου της Hb περισσότερο από 2 gr/dl, όταν οι μεταγγίσεις δεν ήταν απαραίτητες.

Ως μη αιματολογική απάντηση ορίστηκε: α) η μείωση του επιπέδου της Hb ή η αύξηση του αριθμού των μεταγγίσεων ή β) όταν τα επίπεδα της αιμοσφαιρίνης ή οι ανάγκη για μεταγγίσεις δεν άλλαξε.

2.4. Στατιστική ανάλυση

Η στατιστική ανάλυση έγινε με την χρήση του χ^2 και με τη δοκιμασία των Hardy-Weinberg εξετάστηκε η γενετική ισορροπία στις ομάδες που μελετήθηκαν. Σημαντικότητα ορίστηκε ως $p < 0.005$. Το Fisher's exact test και η Yates correction εφαρμόστηκαν, όπου ήταν απαραίτητο.

Το OR χρησιμοποιήθηκε προκειμένου να εκτιμηθεί ο σχετικός κίνδυνος των ασθενών για την ανάπτυξη του ΜΔΣ, της ΟΛΛ και της ΟΜΛ καθώς επίσης της ΧΜΛ και της ΧΛΛ. Το OR ορίζεται σαν το πηλίκο της πιθανότητας ενός συνόλου ασθενών να έχουν τον συγκεκριμένο γονότυπο προς την πιθανότητα ενός συνόλου ατόμων του γενικού πληθυσμού να έχουν τον ίδιο γονότυπο. Σχετικά με την

μελέτη, κατά την οποία οι ασθενείς έλαβαν θεραπεία με IhEpo , εφαρμόσαμε το independent και το dependent t-test προκειμένου να εξετάσουμε την στατιστική σημαντικότητα ορισμένων μεταβλητών, όπως η Epo, τα WBC, η Hb και τα PLT i) μεταξύ των ασθενών αυτών που απάντησαν ή όχι στη συγκεκριμένη θεραπεία ii) πριν και μετά την θεραπεία. Για την εξέταση του αριθμού των μεταγγίσεων εφαρμόστηκαν το Mann-Witney U-test και τα Wilcoxon matched pairs.

Για την σύγκριση της κατανομής των λευκών αιμοσφαιρίων (WBC) ανάμεσα στα τρία στάδια κατά Binet των ασθενών με χρόνια λεμφοβλαστική λευχαιμία (ΧΛΛ) χρησιμοποιήθηκε η Anova.

3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

3.1. Αποτελέσματα της συσχέτισης των γονοτύπων της GST στους ΜΔΣ ασθενείς

Η ομόζυγη έλλειψη (μηδενικός γονότυπος) του GSTM1 γονιδίου παρατηρήθηκε σε 39 ασθενείς με ΜΔΣ (60%), σε ένα σύνολο 65 ασθενών και σε 20 άτομα του γενικού πληθυσμού (33.3%) σε ένα σύνολο 60 ατόμων. Όπως φαίνεται και στον πίνακα 18 παρατηρείται στατιστικώς σημαντική διαφορά ($p=0.0001$) της παρουσίας του μηδενικού γονότυπου του GSTM1 γονιδίου στους ασθενείς με ΜΔΣ σε σχέση με τον γενικό πληθυσμό. Το OR του μηδενικού γονότυπου GSTM1 για την ανάπτυξη του ΜΔΣ εκτιμήθηκε στο 3. Αντίθετα, παρατηρείται ότι το ποσοστό του μηδενικού γονότυπου του GSTT1 γονιδίου στους ασθενείς με ΜΔΣ (9.23%) δεν διέφερε σημαντικά σε σχέση με τα άτομα του γενικού πληθυσμού (6.66%), ($p=0.12$, N.S). Επιπλέον, οι ομοζυγώτες αυτού του συγκεκριμένου γονότυπου φέρουν ένα OR που ισούται με 2.2. (Πίνακας 18). Επίσης, στους ασθενείς με ΜΔΣ δεν παρατηρήθηκε διαφορά του μηδενικού γονότυπου του GSTM1 μεταξύ των δύο φύλων (άνδρες: 53.84% και γυναίκες: 46.15%), ενώ όσον αφορά τον μηδενικό γονότυπο του GSTT1 γονιδίου, παρατηρήθηκε μεγαλύτερη επίπτωση στους άνδρες (άνδρες: 66.6% και γυναίκες: 33.3%). Σχετικά με τους διάφορους τύπους του ΜΔΣ κατά FAB, βρέθηκε υψηλότερο ποσοστό του μηδενικού γονότυπου του GSTM1 στους ασθενείς που ανήκουν στην RA/RAS υποομάδα με στατιστικά σημαντική διαφορά ($p=0.002$) καθώς επίσης στους ασθενείς με CMML. Οι τελευταίοι παρουσίασαν μικρότερη διαφορά από την υποομάδα RA/RAS, αλλά επίσης στατιστικά σημαντική ($p=0.04$)(Πίνακας 19). Στην σύγκριση αυτή, οι υποομάδες RA/RAS τοποθετήθηκαν μαζί επειδή θεωρούνται ότι έχουν ηπιότερη κλινική πορεία σε σχέση με τις άλλες, οι υποομάδες RAEB/RAEBt μαζί ως πιο επιθετικές μορφές ενός ΜΔΣ και η υποομάδα CMML μόνη της επειδή αποτελεί ξεχωριστή οντότητα από τις άλλες.

Πίνακας 18: Κατανομή των ΜΔΣ ασθενών και του γενικού πληθυσμού σύμφωνα με τους γονότυπους του GST.

Γονότυποι GST	ΜΔΣ ασθενείς		Γενικός πληθυσμός		P	OR
	N	%	N	%		
GSTM1						
Μηδενικός	39	60	20	33,3	0.0001	3
Μη-μηδενικός	26	40	40	66,6		
GSTT1						
Μηδενικός	9	9,23	4	6,66	N.S.	2.2
Μη-μηδενικός	56	86,15	56	93,3		

Πίνακας 19: Κατανομή των μηδενικών γονότυπων του GST σε σχέση με την κλινική ταξινόμηση των ΜΔΣ κατά FAB.

Υποομάδες ΜΔΣ	GSTM1 μηδενικός γονότυπος		GSTT1 μηδενικός γονότυπος		P
	N	%	N	%	
RA+ RAS	23	85,18	4	14,81	0.02
RAEB+ RAEBt	10	71,14	4	28,57	N.S
CMMML	6	85,7	1	14,28	0.04

Η συνδυαστική ανάλυση και των δύο γονότυπων της GST (M1 και T1) έδειξε μία στατιστικά σημαντική αύξηση της συχνότητας του συνδυαστικού γονότυπου: M1 μηδενικός/ T1 μη-μηδενικός ανάμεσα στους ασθενείς ($p=0.005$) και στην ομάδα ελέγχου. Για την ομάδα αυτή, το OR εκτιμήθηκε στο 2.6. (Πίνακας 20) Ο M1 μη μηδενικός / T1 μηδενικός δεν είχε σημαντική διαφορά, αλλά το OR εκτιμήθηκε στο 1.73. Αντίθετα, παρατηρήθηκε μία στατιστικά σημαντική μεγάλη μείωση της συχνότητας του συνδυαστικού γονότυπου: M1 μη μηδενικός/ T1 μη-μηδενικός μεταξύ των ΜΔΣ ασθενών ($p=0.01$) και των ατόμων του γενικού πληθυσμού. Για τον συνδυαστικό αυτό γονότυπο υπολογίστηκε το $OR=0.29$.

Πίνακας 20: Κατανομή των ΜΔΣ ασθενών και του γενικού πληθυσμού σύμφωνα με τους συνδυαστικούς γονότυπους των GSTM1 και GSTT1 γονιδίων.

GSTM1 και GSTT1 γονότυποι	ΜΔΣ		Γενικός πληθυσμός		P	OR
	N	%	N	%		
M1 μηδενικός/ T1 μηδενικός	2	3,07	-		-	-
M1 μηδενικός/ T1 μη-μηδενικός	36	55,38	20	13,6	0.005	2.6
M1 μη μηδενικός/ T1 μηδενικός	7	10,76	4	2,72	N.S	1.73
M1 μη μηδενικός/ T1 μη-μηδενικός	19	29,23	36	24,48	0.01	0.29

Η συσχέτιση των γονότυπων του GST με στοιχεία, που συνήθως εμπλέκονται στην πρόγνωση του ΜΔΣ, ήταν αρνητική. (Πίνακας 21) Συγκεκριμένα, οι αιματολογικές και οι βιοχημικές παράμετροι των ασθενών με ΜΔΣ που εξετάστηκαν δεν έδειξαν κάποια στατιστικά σημαντική διαφορά στους δύο γονότυπους T1 και M1 του GST. Κατά εξαίρεση, μόνο η B₂ μικροσφαιρίνη συσχετίστηκε θετικά με τον T1 μηδενικό γονότυπο. (p=0.03)

Πίνακας 21: Συσχέτιση των γονότυπων του GST με αιματολογικές και βιοχημικές παράμετροι στους ΜΔΣ ασθενείς.

Αιματολο-γικές/ Βιοχημικές Παράμε-τροι	GSTM1 Μηδενικός Γονότυ-πος	GSTM1 μη-μηδενικός γονότυπος	GSTT1 Μηδενι-κός Γονότυ-πος	GSTT1 μη-μηδενικός γονότυπος
Hb, g/dl				
Mean	9.26	9.69	9.42	9.44
SD	1.79	2.08	1.77	1.95
N	39	26	9	56
P	0.368		0.977	
NEU, X 10⁹				
Mean	4.38	5.39	3.75	4.97
SD	4.62	4.08	1.84	4.64
N	39	26	9	56
P	0.36		0.47	
WBC, X10⁹				
Mean	7.09	7.48	4.5	7.64
SD	6.02	6.15	1.67	7.25
N	39	26	9	56
P	0.87		0.39	
PLT, X10⁹				
Mean	188.7	202.87	241.87	187.95
SD	127.79	110.21	91.44	127.79
N	39	26	9	56

P	0.63		0.23	
FER, ng/ml				
Mean	879.5	1206.14	126.35	333.47
SD	431.6	706.9	111.58	309.99
N	39	26	9	56
P	0.28		0.25	
B₁₂, pg/ml				
Mean	1391.34	1206.14	1110.75	1343
SD	820.44	706.9	558.56	800.42
N	39	26	9	56
P	0.34		0.43	
Epo, mg/ml				
Mean	86.80	86.51	49.03	91.96
SD	79.9	78.46	32.13	85.36
N	39	26	9	56
P	0.99		0.24	
B₂MG, mg/l				
Mean	2937.5	3421.63	5411.62	2819.57
SD	1541.83	2669.92	3201.73	1587.85
N	39	26	9	56
P	0.55		0.03	
LDH, IU/l				
Mean	416.15	97.07	369.50	413.66
SD	220.5	199	112.74	220.87
N	39	26	9	56
P	0.72		0.58	

3.2. Αποτελέσματα της συσχέτισης των γονοτύπων της GST με την ανταπόκριση των ΜΔΣ ασθενών στην θεραπεία με rhuEpo.

Από τους 27 ασθενείς που εκτιμήθηκαν 12 εβδομάδες μετά την θεραπεία με rhuEpo, οι 12 ανταποκρίθηκαν στην θεραπεία, ενώ οι 15 δεν παρουσίασαν καμία βελτίωση (Πίνακας 21).

Πίνακας 22 : Ανταπόκριση στην θεραπεία με rhuEpo σε σχέση με τον τύπο του ΜΔΣ.

Τύπος ΜΔΣ	Ανταποκριθέντες		Μη-ανταποκριθέντες		Αριθμός ασθενών	Ρυθμός απάντησης	P
	N=12	%	N =15	%			
Χαμηλού κινδύνου RA	3		1		4	6/12 (50%)	N.S
					8		
RARS	3		5				
Υψηλού κινδύνου RAEB	2		5		7	3/10 (30%)	N.S
					3		
RAEBt	1		2				
CMML	3		2		5	3/5 (60%)	N.S

Ο ρυθμός ανταπόκρισης ήταν 44%. Αναλυτικά, ο αριθμός των ασθενών, που ανταποκρίθηκαν στην rhuEpo σε σχέση με την υποομάδα του ΜΔΣ που ανήκαν, είναι: 3/4 (75%), 3/8 (37%), 2/7 (28%), 1/3 (33%) και 3/5 (60%) για την RA, RAS, RAEB, RAEBt και CMML αντίστοιχα. Το 50% των ΜΔΣ ασθενών που ανήκαν στις υποομάδες χαμηλού κινδύνου (RA και RAS) ανταποκρίθηκαν στην θεραπεία με rhuEpo σε σχέση με το 30% των ασθενών που ανήκαν στις υποομάδες υψηλού κινδύνου (RAEB και RAEBt) και σε σχέση με το 60% των ασθενών με CMML. Η διαφορά στον ρυθμό ανταπόκρισης των διαφόρων υποομάδων δεν ήταν στατιστικά σημαντική. (Πίνακας 22) Σύμφωνα με το Bournemouth score³³⁴, το score κάθε ασθενούς κυμάνθηκε μεταξύ 0 και 4. Συνεπώς, καθορίστηκαν τρεις ομάδες κινδύνου, η ομάδα A (ασθενείς χαμηλού κινδύνου): 0-1 βαθμοί, η ομάδα B (ασθενείς ενδιάμεσου κινδύνου): 2-3 βαθμοί και η ομάδα C (ασθενείς υψηλού κινδύνου): 4 βαθμοί. Από την ομαδοποίηση αυτή προέκυψε ότι πέντε ασθενείς ανήκαν στην ομάδα A, είκοσι ασθενείς στην ομάδα B και δύο ασθενείς στην ομάδα C. Αν και το Bournemouth score αναφέρεται στην επιβίωση, στην παρούσα μελέτη χρησιμοποιήθηκε για την μελέτη του ρυθμού ανταπόκρισης των ασθενών στην

ghuEpo. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στον ρυθμό απάντησης μεταξύ των τριών ομάδων που καθορίστηκαν κατά το Bournemouth score.

Πίνακας 23 : Ανταπόκριση στην θεραπεία με ghuepo σε σχέση με τους γονότυπους του GST.

Γονότυποι GST	Ανταποκριθέντες		Μη-ανταποκριθέντες		P	OR
	N=12	%	N= 15	%		
GSTM1						
Μηδενικός	9	75	7	46.6	N.S	3.4
Μη-μηδενικός	3	25	8	53.3		
GSTT1						
Μηδενικός	1	8.3	3	20	N.S	0.46
Μη-μηδενικός	11	91.6	12	80		

Το ποσοστό της ομόζυγης έλλειψης του GSTM1 γονιδίου στους ΜΔΣ ασθενείς που ανταποκρίθηκαν στην θεραπεία ήταν υψηλότερο, αν και μη στατιστικά σημαντικό, σε σχέση με τους ασθενείς που δεν ανταποκρίθηκαν στην θεραπεία. (Πίνακας 23) Το odds ratio (OR) για τον GSTM1 μηδενικό γονότυπο των ασθενών που ανταποκρίθηκαν στην θεραπεία ήταν 3.4. Αντίθετα, το ποσοστό του GSTT1 μηδενικού γονότυπου στους ανταποκριθέντες και μη στην θεραπεία δεν ήταν υψηλότερο. Επιπλέον, οι ομοζυγώτες του γονότυπου αυτού είχαν OR=0.46.

Προκειμένου να εντοπίσουμε τυχόν παράγοντες που μπορεί να επηρεάζουν την ανταπόκριση των ασθενών στην ghuepo, παραθέσαμε ορισμένους παράγοντες όπως: ηλικία, αιμοσφαιρίνη, λευκά αιμοσφαίρια, αιμοπετάλια, ερυθροποιητίνη ορού και αριθμός μονάδων μεταγγίσεων ανά εβδομάδα. (Πίνακας 24) Πριν την έναρξη της θεραπείας, οι τιμές της αιμοσφαιρίνης, των αιμοπεταλίων και των λευκών αιμοσφαιρίων δεν ήταν στατιστικά σημαντικές ανάμεσα στους ανταποκριθέντες και μη στην θεραπεία, αν και τα επίπεδα της αιμοσφαιρίνης ήταν ελαφρώς υψηλότερα ανάμεσα στους ασθενείς που ανταποκρίθηκαν στην ghuepo. Τα επίπεδα της EPO του ορού και ο αριθμός των μεταγγίσεων ήταν οι μοναδικές στατιστικά σημαντικές μεταβλητές για την ανταπόκριση στην θεραπεία ($p=0.008$ και $p=0.0001$ αντίστοιχα). Επίσης, οι ασθενείς στους οποίους χορηγήθηκε ghuepo και είχαν χαμηλότερα τα επίπεδα της ερυθροποιητίνης του ορού (μέση τιμή: 58.9 U/L) χρειάστηκαν λιγότερες μεταγγίσεις από τους ασθενείς με υψηλότερα επίπεδα ενδογενούς ερυθροποιητίνης (μέση τιμή: 118.7 U/L).

Για τους ασθενείς που ανταποκρίθηκαν και μη μετά από 12 εβδομάδες θεραπεία, η διαφορά στα επίπεδα της αιμοσφαιρίνης, των λευκών και των αιμοπεταλίων δεν ήταν στατιστικά σημαντική (Πίνακας 24), αν και τα επίπεδα της αιμοσφαιρίνης αυξήθηκαν αρκετά.

Πίνακας 24 :**Βασικά χαρακτηριστικά ασθενών που ανταποκρίθηκαν και μη στην θεραπεία με rHuEpo**

	Ηλικία mean±sd		Hb (gr/dl) mean±sd	
	πριν	μετά	πριν	μετά
Ασθενείς				
Ανταποκριθέντες	73,25±14,93	9,37±1,65	9,9±3,02	N.S.
Μη-ανταποκριθέντες	76,89±7,31	8,98±1,25	9±1,62	N.S.
Σύνολο	75,81±10,0	9,26±1,53	9,63±2,68	N.S.
P ₁	N.S.	N.S.	N.S.	

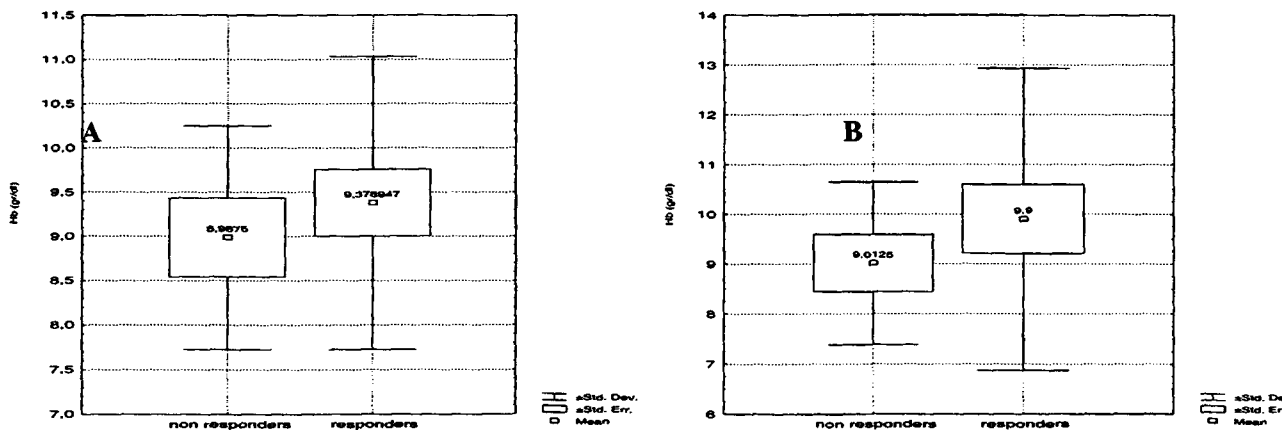
	EPO (mu/ml) mean±sd			Μεταγγίσεις (μονάδες/μήνα) mean±sd		
	πριν	μετά	P ₂	πριν	μετά	P ₂
Ασθενείς						
Ανταποκρι-θέντες	58,95±62,72	82,7±59,54	0,003	1,36±1,25	0,00±0,00	0,0001
Μη-ανταποκριθέντες	118,68±109,89	113,05±59,54	N.S.	2,12±0,35	2,25±0,46	N.S.
Σύνολο	76,65±82,14	91,69±71,46	0,0048	1,59±1,11	0,66±1,07	0,0008
P ₁	0,008	N.S.		0,000	N.S.	

P₁= σύγκριση βασικών αιματολογικών και βιοχημικών παραμέτρων μεταξύ των ασθενών που ανταποκρίθηκαν και μη στην θεραπεία.

P₂= σύγκριση βασικών αιματολογικών και βιοχημικών παραμέτρων πριν-και μετά την θεραπεία ανάμεσα στους ασθενείς που ανταποκρίθηκαν και μη στην θεραπεία.

*= αυτοί που ανταποκρίθηκαν στην θεραπεία δεν χρειάστηκαν μεταγγίσεις με ερυθρά μετά την θεραπεία.

Hb= αιμοσφαιρίνη, Epo= επίπεδα ερυθροποιητικής ορού, RBC= ερυθρά αιμοσφαίρια.



Εικόνα 4: Σύγκριση των επιπέδων της αιμοσφαιρίνης, Hb (gr/dl)

A: πριν τη θεραπεία

B: 12 εβδομάδες μετά την θεραπεία με rHuEpo στους ασθενείς που ανταποκρίθηκαν και μη.

Η εικόνα 4A και B δείχνει την αύξηση των επιπέδων της αιμοσφαιρίνης, μεταξύ της πρώτης εκτίμησης των ασθενών (πριν την έναρξη της θεραπείας) και της δεύτερης εκτίμησης αυτών (12 εβδομάδες μετά από χορήγηση rHuEpo), και στις δύο ομάδες των ασθενών είτε αυτοί ανταποκρίθηκαν είτε όχι. Επιπλέον, από την σύγκριση των επιπέδων της ερυθροποιητίνης του ορού και του αριθμού των μεταγίσεων, πριν και μετά από 12 εβδομάδες θεραπείας με rHuEpo, στους ασθενείς που ανταποκρίθηκαν βρέθηκε μία διαφορά στατιστικά σημαντική ($p=0.0003$ και $p=0.0001$ αντίστοιχα). Επίσης, στους ασθενείς που απάντησαν στην θεραπεία με rHuEpo, τα λευκά και τα αιμοπετάλια αυξήθηκαν, μετά από 12 εβδομάδες θεραπείας, αλλά όχι στατιστικά σημαντικά.

Επίσης, πρέπει να αναφερθεί ότι κανένα επεισόδιο λοίμωξης ή κάποιος θάνατος, λόγω εγκεφαλικής ή άλλης αιτιολογίας αιμορραγία, δεν παρατηρήθηκε κατά την διάρκεια των 12 εβδομάδων θεραπείας. Παρόμοια, κανένα επεισόδιο θρόμβωσης, ανακοπής και ηπατικής ή νεφρικής δυσλειτουργίας δεν παρατηρήθηκε. Επιπλέον, δεν διαπιστώθηκε καμία επιδείνωση της νόσου κατά την διάρκεια της θεραπείας, όπως διαπιστώθηκε από τις γενικές εξετάσεις αίματος και από την μορφολογία του μυελού των οστών.

3.3. Αποτελέσματα της συσχέτισης των γονοτύπων της GST στους ασθενείς με OMA.

Στην συνέχεια μελετήσαμε την επίπτωση των μηδενικών γονοτύπων των GSTM1 και GSTT1 στους ασθενείς με OMA και στον γενικό πληθυσμό. Ομόζυγη έλλειψη του GSTM1 γονιδίου παρατηρήθηκε σε 8 ασθενείς με OMA, σε ένα σύνολο 16 ατόμων και όπως φαίνεται στον Πίνακα 25 δεν παρατηρήθηκε στατιστικώς σημαντική διαφορά με τα άτομα του γενικού πληθυσμού ($p=0.22$). Το OR των ασθενών αυτών ήταν 2. Αντίθετα, παρατηρείται στατιστικώς σημαντική διαφορά ($p=0.006$) μεταξύ ασθενών (31.25%) και ατόμων του γενικού πληθυσμού (6.66%), σχετικά με τον γονότυπο που εκφράζει έλλειμμα του GSTT1 γονιδίου. Για τον μηδενικό γονότυπο του GSTT1 το OR εκτιμήθηκε στο 6.3

Πίνακας 25: Κατανομή των GST γονοτύπων στους ασθενείς με OMA και στον γενικό πληθυσμό

Γονότυποι GST	OMA ασθενείς		Γενικός πληθυσμός		P	O.R
	N	%	N	%		
M1 μηδενικός	8	50	20	33.3	N.S	2
M1 μη-μηδενικός	8	50	40	66.6		
T1 μηδενικός	5	31.25	4	6.66	0.006	6.3
T1 μη-μηδενικός	11	68.75	56	93.3		

3.4. Αποτελέσματα της συσχέτισης των γονοτύπων της GST στους ασθενείς με ΟΛΛ.

Στον πίνακα 26 παρατηρείται, αντίθετα, ότι το ποσοστό του μηδενικού γονότυπου του GSTM1 στους ασθενείς με ΟΛΛ διέφερε στατιστικά σημαντικά σε σχέση με τα άτομα του γενικού πληθυσμού ($p=0.0009$).

Πίνακας 26: Κατανομή των γονοτύπων του GST στους ασθενείς με ΟΛΛ και στον γενικό πληθυσμό

Γονότυποι GST	ΟΛΛ ασθενείς		Γενικός πληθυσμός		P	O.R
	N	%	N	%		
M1 μηδενικός	10	71.42	20	33.3	0.0009	5
M1 μη- μηδενικός	4	28.57	40	66.6		
T1 μηδενικός	2	14.28	4	6.66	0.01	2.38
T1 μη- μηδενικός	12	85.71	56	93.3		

Συγκεκριμένα, 10 από ένα σύνολο 14 ασθενών με ΟΛΛ είχαν μηδενικό γονότυπο GSTM1 (71.42%). Για τον συγκεκριμένο γονότυπο το OR εκτιμήθηκε στο 5. Αντίθετα, παρατηρήθηκε μία στατιστικά σημαντική μείωση της συχνότητας του μηδενικού γονότυπου του GSTT1 στους ασθενείς με ΟΛΛ σε σχέση με τον γενικό πληθυσμό ($p=0.01$). Οι ομοζυγώτες αυτού του συγκεκριμένου γονότυπου έφεραν $OR=2.38$.

3.5. Αποτελέσματα της συσχέτισης των γονοτύπων της GST στους ασθενείς με ΧΜΛ.

Σχετικά με την μελέτη των χρόνιων λευχαιμιών, παρατηρήθηκε ότι σε 5 ασθενείς με ΧΜΛ (50%) σε ένα σύνολο 10 ασθενών και σε 20 άτομα του γενικού πληθυσμού (33.3%), σε ένα σύνολο 60ατόμων παρατηρήθηκε ομόζυγη έλλειψη του GSTM1 γονιδίου, η οποία όμως δεν παρουσιάζει στατιστικά σημαντική διαφορά ($p=0.314$). Στους ασθενείς που έφεραν τον συγκεκριμένο γονότυπο μετρήθηκε το $OR=2$. Παρόμοια, η συχνότητα του μηδενικού γονότυπου του GSTT1 δεν διέφερε στατιστικά σημαντικά μεταξύ των ασθενών με ΧΜΛ και των ατόμων του γενικού πληθυσμού ($p=0.55$). Το OR που υπολογίστηκε για τον συγκεκριμένο γονότυπο ήταν ίσο με 1.5.

Πίνακας 27: Κατανομή των γονότυπων του GST στους ασθενείς με ΧΜΛ και στον γενικό πληθυσμό

Γονότυποι GST	ΧΜΛ ασθενείς		Γενικός πληθυσμός		P	O.R
	N	%	N	%		
M1 μηδενικός	5	50	20	33.3	N.S	2
M1 μη-μηδενικός	5	50	40	66.6		
T1 μηδενικός	1	10	4	6.66	N.S	1.5
T1 μη-μηδενικός	9	90	56	93.3		

3.6. Αποτελέσματα της συσχέτισης των γονοτύπων της GST στους ασθενείς με ΧΛΛ.

Σχετικά με τη μελέτη των 27 ατόμων με ΧΛΛ τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η συχνότητα της ομόζυγης έλλειψης (μηδενικός γονότυπος) του GSTM1 γονιδίου ήταν μεγαλύτερη στους ασθενείς με ΧΛΛ σε σχέση με τα άτομα του γενικού πληθυσμού ($p=0.0007$) (Πίνακας 28). Ο σχετικός κίνδυνος του μηδενικού γονότυπου του GSTM1 για την ανάπτυξη της ΧΛΛ εκτιμήθηκε ίσο με 5.7. Επιπρόσθετα, το ποσοστό του μηδενικού γονότυπου του GSTT1 γονιδίου στους ΧΛΛ ασθενείς ήταν σημαντικά μεγαλύτερο σε σχέση με τον γενικό πληθυσμό ($p=0.014$). Για τους ομοζυγώτες αυτού του συγκεκριμένου γονότυπου υπολογίστηκε το $OR=4.9$ (Πίνακας 28).

Πίνακας 28: Κατανομή των ΧΛΛ ασθενών και του γενικού πληθυσμού σύμφωνα με τους γονότυπους του GST.

Γονότυποι GST	ΧΛΛ ασθενείς		Γενικός πληθυσμός		P	O.R
	N	%	N	%		
GSTM1 Μηδενικός	23	14.82	20	33.3	0.0007	5.7
GSTM1 μη-μηδενικός	4	85.18	40	66.6		
GSTT1 μηδενικός	7	25.92	4	6.66	0.014	4.9
GSTT1 μη-μηδενικός	20	74.08	56	93.3		

Επίσης, μελετήθηκε η συσχέτιση των συνδυαστικών γονότυπων της GST με τον κίνδυνο ανάπτυξης της ΧΛΛ. Η συνδυαστική ανάλυση και των δύο γονότυπων (M1 και T1) έδειξε μία σημαντική αύξηση της συχνότητας του γονότυπου M1 μηδενικός/T1 μη-μηδενικός ανάμεσα στους ασθενείς με ΧΛΛ ($p=0.0003$). Για τους ασθενείς με τον συγκεκριμένο συνδυαστικό γονότυπο, ο σχετικός κίνδυνος για την ανάπτυξη της ΧΛΛ υπολογίστηκε $=2.15$. Επιπρόσθετα, το ποσοστό του γονότυπου M1 μη-μηδενικός/ T1 μηδενικός ήταν υψηλότερο στους ασθενείς σε σχέση με τα άτομα του γενικού πληθυσμού (7.4% έναντι 2.72%), αλλά με διαφορά μη στατιστικά σημαντική. Ο σχετικός κίνδυνος για τους ΧΛΛ ασθενείς με τον συγκεκριμένο γονότυπο ήταν 1.12. Επιπλέον, παρατηρήθηκε μία μείωση της συχνότητας του M1 μη-μηδενικός/ T1 μη-μηδενικός γονότυπος στους ασθενείς, σε σχέση με την ομάδα ελέγχου, η οποία ήταν σημαντική ($p<0.06$), όχι στατιστικά, και το OR=0.05. (Πίνακας 29)

Πίνακας 29: Κατανομή των ΧΛΛ ασθενών και του γενικού πληθυσμού σύμφωνα με συνδυασμό των γονότυπων του GST

Γονότυποι GSTM1 και GSTT1	ΧΛΛ ασθενείς		Γενικόςπληθυσμός		P	O.R
	N	%	N	%		
M1 μηδενικός/ T1 μηδενικός	9	33.3	-	-	-	-
M1 μηδενικός/ T1 μη-μηδενικός	14	51.85	20	13.6	0.0003	2.15
M1 μη-μηδενικός/ T1 μηδενικός	2	7.4	4	2.72	N.S	1.12
M1 μη μηδενικός/ T1 μη- μηδενικός	2	7.4	36	24.48	N.S (0.06)	0.05

Η συσχέτιση των γονότυπων των ασθενών και της νόσου, της ΧΛΛ, σύμφωνα με την ταξινόμηση κατά Binet έδειξε ότι το ποσοστό του μηδενικού γονότυπου του GSTM1 (84.6%) στους ασθενείς, οι οποίοι ανήκαν στο στάδιο A κατά Binet, ήταν στατιστικά σημαντικά υψηλότερο σε σχέση με τους ασθενείς του ίδιου σταδίου, που είχαν όμως GSTT1 μηδενικό γονότυπο (15.42%), $p=0.002$. Το ποσοστό των ασθενών με ΧΛΛ, οι οποίοι ανήκαν στο στάδιο B με μηδενικό γονότυπο GSTM1 (80%) δεν ήταν σημαντικά υψηλότερο σε σχέση με τους ασθενείς με GSTT1 μηδενικό γονότυπο (20%) $p=0.09$. Στο στάδιο C, η διαφορά μεταξύ των ποσοστών των δύο γονότυπων του GST, του M1 (55.5%) και του T1 (44.4%) ήταν ακόμα μικρότερη, $p=0.6$, N.S (Πίνακας 30)

Πίνακας 30: Κατανομή των γονότυπων του GST στους ΧΑΛ ασθενείς σύμφωνα με την ταξινόμηση κατά Binet

Στάδια κατά Binet	Γονότυποι GST		Σύνολο		P
	M1 μηδενικός	T1 μηδενικός	N	%	
A	11	2	13	48.1	0.002
B	4	1	5	18.5	N.S
C	5	4	9	33.3	N.S

Σχετικά με την κατανομή των GST γονοτύπων και της συσχέτισης τους με τα λευκά αιμοσφαίρια (WBC) των ΧΑΛ ασθενών, κατά την διάγνωση, δεν παρατηρήθηκε καμία στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των γονότυπων του GSTM1 ή του GSTT1 (μηδενικός/μη-μηδενικός) και των WBC. Συγκεκριμένα, για τον GSTM1 γονότυπο μετρήθηκε το mean±sd: M1 Μηδενικός = 48.01±62.5 και M1 μη-μηδενικός= 41.97±40.8, p=0.8=N.S. Αντίστοιχα, για τον GSTT1 γονότυπο μετρήθηκε το mean±sd: T1 Μηδενικός =53.5±66.7 και T1-μη μηδενικός= 43.95±54.8, p=0.7=N.S.

Αντίθετα, η εξέταση των WBC κατά την διάγνωση έδειξε μία στατιστικά σημαντική συσχέτιση με τα τρία στάδια της νόσου (σύμφωνα με την κατά Binet ταξινόμηση), p=0.01. Αναλυτικά, για τα WBC στο στάδιο A, το mean±sd ήταν 27.2 ±21.7, στο στάδιο B: 49.75± 84.6 και στο στάδιο C: 72.38±69.9. Παρατηρήθηκε, μία στατιστική σημαντική διαφορά μεταξύ των σταδίων A και C, p=0.002.

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Ο κίνδυνος που διατρέχει ένας άνθρωπος, μετά από έκθεσή του σε εξωγενή ή ενδογενή καρκινογόνα, μπορεί να διαφέρει ανάλογα με το γονότυπό του στα γονίδια μεταβολισμού και εξουδετέρωσης των τοξικών ουσιών.³³⁵ Στον μεταβολισμό των οργανικών καρκινογόνων σημαντικό ρόλο παίζει και η οικογένεια των γονιδίων του GST.³³² Ο μηχανισμός απενεργοποίησης των καρκινογόνων παραγόντων γίνεται μέσω της σύνδεσης ποικίλων αλκυλιούχων ενώσεων με την GST. Οι παραγόμενες ενώσεις είναι απολύτως διαλυτές στο H₂O και άμεσα ή μετά από περαιτέρω μεταβολισμό θα μεταφερθούν έξω από τα κύτταρα με μία ενεργό διαδικασία.^{336,337} Όπως αναφέρθηκε,³⁰⁷ από τις τέσσερις υποομάδες του GST: η άλφα (alpha), η μι (mu), η ρι (pi) και η θήτα (theta), τα ισοένζυμα M1 και T1 είναι πολυμορφικά στον άνθρωπο. Το 50% των ατόμων της καυκάσιας φυλής φέρουν έλλειμμα του γονιδίου GSTM1 σε ομοζυγωτία.³³⁸ Πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει ότι η ομόζυγη έλλειψη του γονιδίου αυτού έχει συσχετιστεί με την ανάπτυξη καρκίνου του πνεύμονα, της ουροδόχου κύστης, του παχέος εντέρου και του ακανθοκυτταρικού καρκίνου του δέρματος.³³⁹ Σύμφωνα με την πρόσφατη βιβλιογραφία,³⁴⁰ τα στοιχεία μίας μετανάλυσης από 31 δημοσιευμένες μελέτες (4635 ασθενείς) και μίας σταθμιστικής ανάλυσης (2334 ασθενείς) έδειξαν μία μέτρια συσχέτιση των GSTM1 και GSTT1 γονότυπων με τον κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου της κεφαλής και του τραχήλου. Ο κίνδυνος αυτός αυξάνει όταν η συσχέτιση αφορά τον συνδυασμό των μηδενικών γονότυπων των γονιδίων της GST: GSTT1, GSTM1 και GSTP1 Val105. Παρόμοιες μεταanalύσεις που αφορούν την συσχέτιση των γονότυπων της GST με άλλες κακοήθειες δεν αναφέρονται στην μέχρι τώρα βιβλιογραφία.

Βάσει των αποτελεσμάτων που παρουσιάζονται στον πίνακα 18, παρατηρείται αυξημένος κίνδυνος για την ανάπτυξη ΜΔΣ στους ασθενείς που φέρουν μηδενικό γονότυπο GSTM1. Η παρατήρηση αυτή επιβεβαιώνεται και από την συνδυαστική ανάλυση όλων των πιθανών γονότυπων των γονιδίων GSTM1 και GSTT1 (Πίνακας 20), καθώς στους ασθενείς με ΜΔΣ παρουσιάζεται αυξημένη επίπτωση των γονότυπων που συνδυάζονται με το μηδενικό γονότυπο του γονιδίου GSTM1. Αντίθετα, όταν οι ίδιοι γονότυποι συνδυάζονται με άλλους γονότυπους (μη μηδενικούς) του GSTM1, το αποτέλεσμα μεταξύ ασθενών και γενικού πληθυσμού είναι στατιστικώς μη σημαντικό. Επιπλέον, από τα αποτελέσματα της χρησιμοποίησης του νόμου των Hardy–Weinberg, που εφαρμόστηκε στις ομάδες πληθυσμού ξεχωριστά, για την εύρεση της κατανομής του γονότυπου σε αυτές, επιβεβαιώνονται οι παραπάνω παρατηρήσεις. Ο σχετικός κίνδυνος (O.R) για τα άτομα που έχουν μηδενικό γονότυπο του GSTM1 είναι 3 φορές μεγαλύτερος για την ανάπτυξη ΜΔΣ σε σχέση με τα άτομα του γενικού πληθυσμού. Ο κίνδυνος αυτός επιβεβαιώνεται επίσης και από την συνδυαστική ανάλυση των γονότυπων της GST, στην οποία, τα άτομα που φέρουν συνδυαστικά τον γονότυπο που περιλαμβάνει τον μηδενικό γονότυπο του M1 έχουν 2.6 φορές αυξημένο κίνδυνο να αναπτύξουν ΜΔΣ. Αυτή είναι μία παρατήρηση, που επιβεβαιώνει στατιστικά τον μηδενικό γονότυπο του M1 ως

επιβαρυντικό παράγοντα για την ανάπτυξη ΜΔΣ. Αντίθετα, ο συνδυαστικός γονότυπος: μη-μηδενικός GSTM1/ μη-μηδενικός GSTT1 φαίνεται να έχει μεγάλη προστατευτική επίδραση απέναντι στην ανάπτυξη του ΜΔΣ.

Τα αποτελέσματα της επίπτωσης του μηδενικού γονότυπου του GSTT1 γονιδίου, που παρατηρήσαμε στους ασθενείς με ΜΔΣ σε σύγκριση με τον γενικό πληθυσμό, έρχονται σε αντίθεση με τα τελευταία αποτελέσματα από τις έρευνες των Chen και συν.³⁴¹ Σύμφωνα με αυτά τα αποτελέσματα παρατηρήθηκε αυξημένο ποσοστό του γονιδίου του GSTT1 και όχι του GSTM1 στους ασθενείς με ΜΔΣ. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της μελέτης αυτής δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στην επίπτωση του μηδενικού γονότυπου του GSTT1 γονιδίου μεταξύ των ασθενών και του γενικού πληθυσμού για την ανάπτυξη ΜΔΣ. Με τα αποτελέσματα αυτά συμφωνούν και οι Basu και συν.,³⁴² οι οποίοι δεν παρατήρησαν σημαντική διαφορά στην συχνότητα του μηδενικού γονότυπου του GSTT1 στους λευκούς Βρετανούς με ΜΔΣ. Επιπρόσθετα, οι Atoyebi και συν.³⁴³ δεν βρήκαν επίσης στατιστικά σημαντικές διαφορές στις συχνότητες των μηδενικών γονότυπων του GSTM1 ή του GSTT1 μεταξύ των ατόμων της ομάδας ελέγχου και των ασθενών στον πληθυσμό της Μ. Βρετανίας. Οι διαφορές αυτές που παρατηρούνται στα αποτελέσματα της επίπτωσης των γονιδίων του GSTM1 και του GSTT1 πιθανόν να οφείλονται στους γονότυπους που σχετίζονται με την εθνική προέλευση κάθε ατόμου καθώς επίσης και με το περιβαλλοντικό φορτίο από συγκεκριμένους χημικούς παράγοντες.^{313,344}

Είναι γνωστό ότι υπάρχει μία αλληλεπίδραση γονιδίων-περιβάλλοντος, τέτοια ώστε η βιολογική απάντηση (καρκίνος) στην έκθεση στον καπνό και στα φυτοφάρμακα τροποποιείται από την γονιδιακή κατάσταση κάθε ατόμου.³¹³ Επειδή το γονίδιο GSTM1 συμμετέχει στην εξουδετέρωση των καρκινογόνων, σε αυξημένο γενετικό κίνδυνο βρίσκονται μόνο τα άτομα που εκτίθενται σε καρκινογόνα. Άτομα με έλλειψη του μέσου εξουδετέρωσης, αλλά χωρίς έκθεση σε καρκινογόνα δεν διατρέχουν αυξημένο κίνδυνο. Το κάπνισμα αποτελεί μία σημαντική έκθεση σε καρκινογόνα για την ανάπτυξη διαφόρων μορφών καρκίνου. Το γονίδιο GSTM1 κυρίως εξουδετερώνει μερικά από τα συστατικά του καπνού, που θεωρούνται δυνητικά καρκινογόνα, όπως τους πολυκυκλικούς αρωματικούς υδρογονάνθρακες, τις Ν-νιτροζαμίνες, τις αρωματικές αμίνες και τις αλδεΐδες.³⁴⁵ Πρόσφατες μελέτες³¹³ έχουν δείξει αυξημένο γενετικό κίνδυνο- σχεδόν διπλάσιο- για την ανάπτυξη του καρκίνου ουροδόχου κύστης σε καπνιστές με μηδενικό γονότυπο, σε σύγκριση με τους καπνιστές με μη μηδενικό γονότυπο. Κατά συνέπεια, η παρουσία του GSTM1 γονιδίου παίζει προστατευτικό ρόλο για τον προκαλούμενο από τον κάπνισμα καρκίνο της ουροδόχου κύστης. Στην εργασία αυτή, το ποσοστό των ατόμων με μηδενικό γονότυπο του γονιδίου GSTM1, που ανέπτυξαν ΜΔΣ ήταν παρόμοιο στους καπνιστές και μη (46.8% έναντι 53.1% αντίστοιχα). Επίσης, στην εργασία αυτή μελετήθηκε η επίπτωση των ασθενών με ΜΔΣ που φέρουν τον μηδενικό γονότυπο του GSTM1 και του GSTT1 γονιδίου και έχουν εκτεθεί ή όχι σε φυτοφάρμακα, στα πλαίσια του επαγγέλματος ή κάποιας κηπευτικής απασχόλησής τους. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι οι ΜΔΣ ασθενείς που είχαν

εκτεθεί σε φυτοφάρμακα έφεραν μηδενικό γονότυπο του GSTM1 σε ποσοστό σχεδόν 2.5 φορές μεγαλύτερο σε σχέση με τους ασθενείς που δεν εκτέθηκαν σε παρόμοια καρκινογόνα (41.5% έναντι 18.46%). Αντίθετα, το ποσοστό του μηδενικού γονότυπου του GSTT1 δεν διέφερε μεταξύ των ατόμων που εκτέθηκαν και μη (6.15% έναντι 7.69% αντίστοιχα). Ομοίως, με τα αποτελέσματα του μηδενικού γονότυπου του GSTM1, το ποσοστό του μη-μηδενικού γονότυπου του GSTT1 γονιδίου στους ΜΔΣ που είχαν εκτεθεί σε φυτοφάρμακα ήταν 1.5 φορές μεγαλύτερο σε σχέση με τους ασθενείς που δεν είχαν εκτεθεί (52.30% έναντι 33.8%). Παρόμοια αποτελέσματα έχουν παρουσιαστεί σε άλλες ^{346,347} διαφορετικές μελέτες για την επίπτωση του ΜΔΣ μετά από έκθεση σε χημικά καρκινογόνα, κυρίως παράγωγα αερίων από μηχανές καύσης.

Σχετικά με τους προγνωστικούς παράγοντες για τη θεραπεία και την επιβίωση των ΜΔΣ ασθενών, μόνο ο μηδενικός γονότυπος GSTT1 φαίνεται να έχει στατιστική σημαντικότητα μεμονωμένα με την B₂ μικροσφαιρίνη (Πίνακας 21). Τα αποτελέσματα της μελέτης αυτής επιβεβαιώνουν τα αποτελέσματα και άλλων ερευνητών, σύμφωνα με τα οποία η θεραπεία με rhuEpo είναι μία δραστική θεραπεία για την αναιμία που σχετίζεται με τα ΜΔΣ. ^{348,349} Στην μελέτη αυτή, ο ρυθμός ανταπόκρισης (44%) των ασθενών 12 εβδομάδες μετά την θεραπεία με rhuEpo ήταν παρόμοιος με άλλα δημοσιευμένα αποτελέσματα.³⁵⁰ Η μελέτη των ΜΔΣ κατά ομάδες έδειξε ότι οι ασθενείς που ανήκουν στις ομάδες χαμηλού κινδύνου: RA και RAS είχαν μεγαλύτερη πιθανότητα ανταπόκρισης (50%), ενώ αυτό δεν ίσχυε στις ομάδες υψηλού κινδύνου: RAEB και RAEBt. Άλλοι ερευνητές έχουν δημοσιεύσει παρόμοια αποτελέσματα.³⁵¹ Εν τούτοις, το αντικείμενο της εργασίας αυτής ήταν να συσχετίσει την επίδραση (στα πλαίσια της αποκατάστασης της φυσιολογικής ερυθροποίησης) της θεραπείας - με rhuEpo στους αναιμικούς ΜΔΣ ασθενείς - με τους γονότυπους GSTM1-T1 και να εκτιμήσει την επίδραση και των δύο αυτών παραγόντων στην ανταπόκριση στην θεραπεία.

Τα ΜΔΣ είναι συχνά ανθεκτικά στους χημειοθεραπευτικούς παράγοντες, γεγονός που σημαίνει ότι συχνά επιτυγχάνεται μερική ή καμία απάντηση. Με μία καλύτερη κατανόηση των μηχανισμών, που οδηγούν στην αντίσταση στα φάρμακα, επιτυγχάνεται και η καταλληλότερη προσέγγιση για μία αποτελεσματικότερη θεραπεία. Κατά συνέπεια, είναι σημαντικό να προσδιορίσουμε τους παράγοντες εκείνους που συμβάλλουν στην ανάπτυξη αντίστασης στα φάρμακα. Ένας τέτοιος πολύ σημαντικός παράγοντας είναι η γλουταθειόνη θειο-τρανσφεράση (GSTs).

Σε προηγούμενες μελέτες και σε αυτή την εργασία έχει δειχθεί ότι οι ομόζυγοι μηδενικοί γονότυποι της GST σχετίζονται με αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης του ΜΔΣ. ^{341,351} Επιπλέον, σε αυτή την εργασία, οι ΜΔΣ ασθενείς με ομόζυγη έλλειψη του GSTM1 γονιδίου φαίνεται να έχουν μικρότερη ειδική δράση απέναντι στην rhuEpo και κατά συνέπεια μεγαλύτερη απάντηση συνολικά στην θεραπεία σε σχέση με τον μηδενικό γονότυπο του GSTT1 γονιδίου. Ο ρυθμός απάντησης σε αυτούς που απάντησαν με GSTM1 μηδενικό γονότυπο ήταν 75%, ενώ για τους ασθενείς με M1 μη-

μηδενικό γονότυπο ήταν 25%. Το αποτέλεσμα αυτό συμφωνεί με την υπόθεση ότι η θεραπεία θα ήταν πιο επιτυχημένη στους ασθενείς με την μικρότερη δράση απέναντι στην απομάκρυνση του φαρμάκου, λόγω της παρουσίας της λιγότερο δραστικής μορφής του GSTM1.

Τα στοιχεία από την βιβλιογραφία για τον ρόλο των ισοενζύμων της GST στην πρόληψη σε σχέση με την ανταπόκριση σε ποικίλους θεραπευτικούς παράγοντες είναι αμφισβητήσιμα. Σε δύο μελέτες ασθενών με λευχαιμία δεν παρατηρήθηκε καμία σχέση μεταξύ της δράσης της GST και της απάντησης στην χημειοθεραπεία.³⁵² Σε μία μελέτη των Bai και συν.,³⁵³ η έκφραση της GSTP1 σε ασθενείς με μη-μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα σχετίστηκε σημαντικά με την απάντηση στην χημειοθεραπεία, που είχε σαν βάση της την σισπλατίνη, και την μακρά επιβίωση.

Συνεπώς, σύμφωνα με τα αποτελέσματά μας, ο μηδενικός γονότυπος του GSTM1 είναι συχνότερος στους ΜΔΣ ασθενείς, οι οποίοι ανταποκρίνονται στην θεραπεία με thUερο σε σχέση με αυτούς που δεν ανταποκρίνονται. Επιπλέον, εκτιμώντας συγχρόνως την τιμή του σχετικού κινδύνου, συμπεραίνουμε ότι οι ΜΔΣ ασθενείς με ομόζυγη έλλειψη του GSTM1 γονιδίου ανήκουν σε μία προνομιούχο ομάδα όσο αναφορά τον θετικό σχετικό παράγοντα κινδύνου για καλύτερη ανταπόκριση στη θεραπεία.

Τα επίπεδα ορού της ερυθροποιητίνης στους ασθενείς με ΜΔΣ ποικίλουν μεταξύ ασθενών με παρόμοιες συγκεντρώσεις αιμοσφαιρίνης,³⁵⁴ και ως εκ τούτου παρατηρείται και διαφορετική ανταπόκριση στην θεραπεία με thUερο. Τα χαμηλά επίπεδα της ενδογενούς ερυθροποιητίνης, όπως έχει ήδη δημοσιευθεί^{355,356} και αναφέρεται επίσης και στην παρούσα μελέτη, παίζουν προγνωστικό ρόλο στους ΜΔΣ ασθενείς, όταν τους χορηγείται θεραπευτικά thUερο. Συγκεκριμένα, οι ασθενείς, που ανταποκρίθηκαν στην θεραπεία με thUερο- η οποία τους χορηγήθηκε προκειμένου να βελτιώσουν την αναιμία τους λόγω του ΜΔΣ, είχαν στατιστικά σημαντικά χαμηλότερα επίπεδα της ερυθροποιητίνης του ορού, σε σχέση με τους ασθενείς που δεν ανταποκρίθηκαν στην χορηγούμενη θεραπεία. Στην παρούσα εργασία δεν βρέθηκαν άλλες μεταβλητές, που σχετίζονται με την ανταπόκριση στην θεραπεία. Εν τούτοις, τα επίπεδα της αιμοσφαιρίνης πριν την θεραπεία ήταν σχετικά υψηλότερα, όχι στατιστικά σημαντικά, στους ασθενείς που ανταποκρίθηκαν. Επίσης, μετά την χορηγούμενη θεραπεία των 12 εβδομάδων, τόσο στους ασθενείς που ανταποκρίθηκαν και μη, παρατηρήθηκε μία σχετική αύξηση, όχι στατιστικά σημαντική, των επιπέδων της αιμοσφαιρίνης. Επιπλέον, η θεραπεία με thUερο δεν είχε καμία ιδιαίτερη επίδραση στον αριθμό των αιμοπεταλίων και των λευκών αιμοσφαιρίων.

Συνεπώς, η thUερο φαίνεται να επάγει την βελτίωση των επιπέδων της αιμοσφαιρίνης και την διακοπή των μεταγίσεων, ιδιαίτερα στους ασθενείς με μηδενικό γονότυπο του GSTM1. Η επίδραση και η σχέση των ενζύμων του μεταβολισμού στην θεραπεία του καρκίνου και ιδιαίτερα στις αιματολογικές κακοήθειες αποτελεί ακόμα ένα μελλοντικό πεδίο έρευνας.

Σχετικά με την οξεία μη-λεμφοβλαστική ή μυελογενής λευχαιμία (ΟΜΛ), στην εργασία αυτή παρατηρήθηκε μη στατιστικά σημαντική διαφορά της συχνότητας του μηδενικού γονότυπου του GSTM1 μεταξύ των ασθενών με ΟΜΑ και των ατόμων του γενικού πληθυσμού. Αντίθετα, παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των ασθενών και των ατόμων του γενικού πληθυσμού, που φέρουν τον μηδενικό γονότυπο του GSTT1, γεγονός που σημαίνει ότι τα άτομα, που έχουν έλλειμμα του γονιδίου του GSTT1, έχουν επιβαρυντική θέση ως προς την ανάπτυξη της ΟΜΛ. Αυτό επιβεβαιώνεται και από το υψηλό O.R. (Πίνακας 25)

Τα αποτελέσματα της παρούσης εργασίας για την οξεία λεμφοβλαστική λευχαιμία (ΟΛΛ) έδειξαν ότι οι ασθενείς που έφεραν ομόζυγη έλλειψη των γονιδίων GSTM1 και GSTT1 είχαν μεγαλύτερη πιθανότητα να αποκτήσουν την νόσο, σε σχέση με τον γενικό πληθυσμό. Η στατιστικά αυτή σημαντική διαφορά ήταν ακόμα μεγαλύτερη στους ασθενείς με Μ1 μηδενικό γονότυπο και ο γονότυπος αυτός, ως επιβαρυντικός παράγοντας για την νόσο επιβεβαιώνεται και από το υψηλό O.R. (Πίνακας 26)

Αντίθετα, στους ασθενείς με χρόνια μυελογενή λευχαιμία (ΧΜΛ) δεν φαίνεται κανένας από τους δύο μηδενικούς γονότυπους να έχει επίπτωση στην ανάπτυξη της νόσου. Συγκεκριμένα, το O.R για τον GSTT1 γονότυπο, μετρήθηκε και ήταν κοντά στο 1, γεγονός που σημαίνει ότι θεωρείται ουδέτερος παράγοντας και δεν έχει καμία επίδραση στην ανάπτυξη της ΧΜΛ. (Πίνακας 27)

Παρόλο το πλήθος των εργασιών^{311,313,316,339,342,357,358} που έχουν δημοσιευθεί για την σχέση των ισοενζύμων της GST με την ανάπτυξη μιας σειράς κακοηθειών και ιδιαίτερα των αιματολογικών κακοηθειών (ΜΔΣ, ΟΛΛ και ΟΜΛ), μόνο μία μελέτη³⁵⁹ έχει εξετάσει ειδικά την σχέση μεταξύ του πολυμορφισμού της GST και της χρόνιας λεμφογενούς λευχαιμίας (ΧΛΛ). Σύμφωνα με αυτή την μελέτη δεν αποδείχθηκε καμία σχέση μεταξύ του γονότυπου του GSTM1 και της ΧΛΛ. Εν τούτοις, μία άλλη πρόσφατη μελέτη,³⁶⁰ έδειξε ότι τα άτομα, που έχουν συνδυασμό με περισσότερους από έναν δυνητικά επιβαρυντικούς γονότυπους, παρουσιάζουν αυξημένο κίνδυνο για να αναπτύξουν ΧΛΛ. Ο κίνδυνος αυτός μεγιστοποιείται όταν τα άτομα αυτά έχουν όλους τους επιβαρυντικούς γονότυπους. Παρόλο αυτά στην μελέτη αυτή δεν παρατήρηθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά των GSTM1 και GSTT1 γονότυπων μεταξύ ασθενών και της ομάδας ελέγχου.

Στην παρούσα εργασία, παρατηρήθηκε μία συσχέτιση μεταξύ των μηδενικών γονότυπων GSTM1 και GSTT1 και της ΧΛΛ, εφόσον υπάρχει μία στατιστικά σημαντική αύξηση της επίπτωσης των μηδενικών αυτών γονότυπων στους ΧΛΛ ασθενείς (Πίνακας 28). Στην αύξηση αυτή των ομοζυγωτών των GSTM1 και GSTT1 υπάρχει η πιθανότητα να συνέβαλε και η απώλεια της ετεροζυγωτίας των περιφερικών λευκοκυττάρων που χρησιμοποιήθηκαν για την εξαγωγή του DNA. Η απώλεια των αλληλόμορφων γονιδίων στα κύτταρα, που χρησιμοποιήθηκαν για την γενετική ανάλυση θα μπορούσε να αποτελέσει πηγή αμφισβητήσεων, διότι από την γονιδιακή ανάλυση δεν διακρίνονται πάντα οι καταστάσεις ομο- και ετεροζυγωτίας. Συνεπώς, σε αυτή την περίπτωση, έπρεπε να μελετηθεί η σχέση μεταξύ του αριθμού των λευκών αιμοσφαιρίων και των γονότυπων της GST. Τα

αποτελέσματα έδειξαν ότι δεν υπήρχε συσχέτιση μεταξύ των γονότυπων του GSTM1 ή του GSTT1 και του αριθμού των λευκών αιμοσφαιρίων. Επίσης, λαμβάνοντας υπ' όψιν τον υπολογισμό του σχετικού κινδύνου (O.R), τα άτομα με ομόζυγη έλλειψη του GSTM1 γονιδίου έφεραν μία πολύ μεγάλη τιμή του O.R, γεγονός που σηματοδοτεί μία έντονη προδιάθεση των ατόμων αυτών στην νόσο της ΧΛΑ. Παρόμοια, η μεγάλη τιμή του O.R, που υπολογίστηκε για τον μηδενικό γονότυπο του GSTT1, μας οδήγησε στο συμπέρασμα ότι και αυτός ο γονότυπος αποτελεί προδιαθεσικό παράγοντα για την απόκτηση της νόσου.

Σχετικά με τις δεσμευτικές ιδιότητες των ειδικών υποστρωμάτων της GST στο σώμα, παρατηρήθηκε ότι εκτός από τα ειδικά υποστρώματα, τα ισοένζυμα της GST αποτελούν ένα αλληλοκαλυπτόμενο, περιορισμένης εξειδίκευσης, υπόστρωμα έναντι μιας ποικιλίας υποστρωμάτων. Μία τέτοια αλληλοεπικάλυψη στο εξειδικευμένο υπόστρωμα προϋποθέτει ότι διαφορετικοί συνδυασμοί των γονότυπων της GST συμβάλλουν στην δημιουργία διαφορετικών επιπέδων δράσης της GST. Ως εκ τούτου, η συνδυαστική ανάλυση των γονότυπων GSTM1-T1 επιβεβαιώνουν την επίδραση των μηδενικών γονότυπων των GSTM1-T1 στην ΧΛΑ (Πίνακας 29). Σύμφωνα με τα στοιχεία της εργασίας αυτής, η συχνότητα του M1 μηδενικού/ T1 μη-μηδενικού γονότυπου είναι στατιστικά σημαντικά διαφορετική μεταξύ ασθενών και ατόμων της ομάδας ελέγχου και η σχετικά υψηλή τιμή του O.R επιβεβαιώνει την προδιαθεσικότητα του M1 μηδενικού γονότυπου ως παράγοντα κινδύνου για την ανάπτυξη της ΧΛΑ. Αυτό, ίσως και να είναι το αποτέλεσμα μιας συνεργικής δράσης μεταξύ των γονότυπων της GST.

Σύμφωνα με τα δεδομένα της παρούσης εργασίας, αυτές είναι οι υψηλότερες τιμές σχετικού κινδύνου για τον μηδενικό γονότυπο GSTM1 στις αιματολογικές κακοήθειες, που έχουν αναφερθεί μέχρι σήμερα (5.7).

Επιπλέον, τα άτομα που φέρουν τον συνδυασμό του M1 μη-μηδενικού/ T1 μη-μηδενικού γονότυπου φαίνεται να έχουν ένα πλεονέκτημα, στα πλαίσια της χαμηλότερης τιμής του σχετικού κινδύνου (O.R). Με αυτό τον τρόπο ενισχύεται η άποψη του προστατευτικού ρόλου που έχει η παρουσία ενός τέτοιου λειτουργικού ενζύμου στην απενεργοποίηση ορισμένων καρκινογόνων.

Μία δυνητική πηγή αμφιβολιών είναι η ύπαρξη μιας “ενδογενούς” επίδρασης, έτσι ώστε τα άτομα με προχωρημένη νόσο να έχουν μία μεγαλύτερη πιθανότητα να έχουν ένα “υψηλού κινδύνου” αλληλόμορφο (M1 μηδενικό, T1 μηδενικό). Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της εργασίας αυτής, η συσχέτιση των γονότυπων των ΧΛΑ ασθενών με τα στάδια της νόσου κατά Binet έδειξε ότι οι ασθενείς, οι οποίοι έχουν τον μηδενικό γονότυπο GSTM1 πιθανώς να ανήκουν κυρίως στο στάδιο A. Συνεπώς, δεν υπήρχαν στοιχεία για καμία σχέση μεταξύ του προχωρημένου σταδίου της νόσου και των γονότυπων της GST, εφόσον το στάδιο A θεωρείται ως ένα στάδιο της νόσου χαμηλού κινδύνου. Αντίθετα, τα στάδια της νόσου είχαν μία στατιστικά σημαντική συσχέτιση με τον αριθμό των λευκών αιμοσφαιρίων και ιδιαίτερα με τα στάδια A και C.

Συνεπώς, η μελέτη αυτή για την ΧΛΑ έχει δείξει ένα στατιστικά σημαντικά αυξημένο

κίνδυνο για την ανάπτυξη της νόσου, όταν σχετίζεται με τον GSTM1 και GSTT1 μηδενικό γονότυπο. Επιπλέον, μία συσχέτιση του συνδυαστικού μηδενικού διπλού γονότυπου GSTM1/GSTT1 αυξάνει ακόμα περισσότερο την σημαντικότητα των αποτελεσμάτων.

Η παρούσα εργασία έχει σαν βάση της έναν ομογενή πληθυσμό ασθενών από μία σχετικά περιορισμένη γεωγραφικά περιοχή. Η ομογένεια αυτή των ασθενών και των ατόμων της ομάδας ελέγχου ικανοποιεί όλες τις προϋποθέσεις, που απαιτούνται για τον σχεδιασμό και εκτέλεση μιας μελέτης, η οποία αφορά γονίδια που σχετίζονται με την ανάπτυξη κάποιας νόσου.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

1. Οι ασθενείς με ομόζυγη έλλειψη του GSTM1 γονιδίου έχουν στατιστικά σημαντικά αυξημένο κίνδυνο να αναπτύξουν ΜΔΣ. Αντίθετα το γονίδιο του GSTT1 δεν αποτελεί επιβαρυντικό παράγοντα.

2. Παρατηρήθηκε μεγαλύτερη κατανομή του μηδενικού γονότυπου του GSTM1 στους υπότυπους κατά FAB: RA/RAS και CMML.

3. Τα παραπάνω αποτελέσματα συμφωνούν με τα αποτελέσματα ορισμένων εργασιών και έρχονται σε αντίθεση με κάποιες άλλες. Οι διαφορές που παρατηρούνται στην επίπτωση των γονιδίων M1 και T1 πιθανόν να οφείλονται στους γονότυπους που σχετίζονται με την εθνική προέλευση κάθε ατόμου καθώς επίσης και με το περιβαλλοντικό φορτίο από συγκεκριμένους χημικούς παράγοντες.

4. Το ποσοστό των ατόμων με GSTM1 μηδενικό γονότυπο που ανέπτυξαν ΜΔΣ ήταν το ίδιο στους καπνιστές και στους μη καπνιστές, παρόλο που έχει αποδειχθεί σε ορισμένες εργασίες ότι υπάρχει αυξημένος γενετικός κίνδυνος (διπλάσιος) για την ανάπτυξη καρκίνου της ουροδόχου κύστης σε καπνιστές με μηδενικό γονότυπο σε σχέση με καπνιστές με μη μηδενικό γονότυπο.

5. Επειδή το γονίδιο GSTM1 συμμετέχει στην εξουδετέρωση των καρκινογόνων, σε αυξημένο γενετικό κίνδυνο βρίσκονται μόνο τα άτομα που εκτίθενται σε καρκινογόνα. Άτομα με έλλειψη του μέσου εξουδετέρωσης, αλλά χωρίς έκθεση σε καρκινογόνα δεν διατρέχουν αυξημένο κίνδυνο. Διαπιστώθηκε ότι οι ασθενείς με ΜΔΣ που είχαν εκτεθεί σε φυτοφάρμακα έφεραν τον GSTM1 μηδενικό γονότυπο σε ποσοστό 2.5 φορές μεγαλύτερο σε σχέση με τους ασθενείς που δεν εκτέθηκαν.

6. Η χορήγηση rhuEpo για 12 εβδομάδες ήταν δραστική για την θεραπεία της αναιμίας του ΜΔΣ, με ρυθμό ανταπόκρισης 44%. Οι ασθενείς, που ανήκαν στις ομάδες χαμηλού κινδύνου RA/RAS και στην CMML, είχαν αυξημένο ποσοστό ανταπόκρισης: 50% και 60% αντίστοιχα, ενώ αυτό δεν ίσχυε στις ομάδες υψηλού κινδύνου.

7. Η GST αποτελεί παράγοντα που συμβάλλει στην ανάπτυξη αντίστασης στα φάρμακα και επηρεάζει έτσι την ανταπόκριση στην θεραπεία. Παρατηρήθηκε ότι η θεραπεία με rhuEpo ήταν πιο πετυχημένη στους ΜΔΣ ασθενείς που έφεραν τον μηδενικό γονότυπο του GSTM1, λόγω της παρουσίας της λιγότερο δραστικής μορφής του M1 ως προς την ιδιότητα του να απομακρύνει το φάρμακο. Συγκεκριμένα, το 75% των ασθενών που ανταποκρίθηκαν στην θεραπεία είχαν μηδενικό γονότυπο του GSTM1.

8. Τα χαμηλά επίπεδα της ενδογενούς ερυθροποιητίνης αποτέλεσαν προγνωστικό παράγοντα για την ανταπόκριση των ΜΔΣ ασθενών στην θεραπεία που τους χορηγήθηκε με Epo. Άλλες μεταβλητές, που να σχετίζονται με την ανταπόκριση στην θεραπεία, δεν διαπιστώθηκαν.

9. Παρατηρήθηκε ότι η θεραπεία των ΜΔΣ με rHuEpo επάγει την βελτίωση των επιπέδων της Hb και την διακοπή των μεταγγίσεων και ιδιαίτερα στους ασθενείς με GSTM1 μηδενικό γονότυπο.

10. Άτομα με έλλειψη του GSTT1 γονιδίου ήταν σε επιβαρυντική θέση ως προς την ανάπτυξη της ΟΜΛ.

11. Ασθενείς που έφεραν τον μηδενικό γονότυπο του GSTM1 (κυρίως) και του GSTT1 είχαν αυξημένη πιθανότητα για την ανάπτυξη της ΟΛΛ.

12. Για τους ασθενείς με ΧΜΛ κανένας από τους δύο μηδενικούς γονότυπους δεν είχαν επίπτωση στην ανάπτυξη της νόσου.

13. Παρατηρήθηκε συσχέτιση μεταξύ του μηδενικού γονότυπου του GSTM1 και του GSTT1 με την ΧΛΛ. Επιπλέον, ο συνδυαστικός μη-μηδενικός γονότυπος GSTM1/ GSTT1 αποτελεί έναν προστατευτικό παράγοντα απέναντι στην ανάπτυξη της νόσου.

14. Δεν βρέθηκε συσχέτιση των GST γονότυπων και του προχωρημένου σταδίου της νόσου της ΧΛΛ.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Τα Μυελοδυσπλαστικά σύνδρομα (ΜΔΣ) αποτελούν μία ομάδα κλωνικών διαταραχών του πολυδύναμου αρχέγονου αιμοποιητικού κυττάρου και χαρακτηρίζονται από διαταραχές ωρίμανσης των κυττάρων του μυελού που οδηγούν σε περιφερικές κυτταροπενίες και αυξημένο κίνδυνο μετατροπής σε οξεία λευχαιμία. Η Γαλλική-Αμερικανική-Βρετανική (French-American-British, FAB) ταξινόμηση ανεγνώρισε πέντε υπότυπους των ΜΔΣ: Ανθεκτική αναιμία (RA), ανθεκτική αναιμία με δακτυλιοειδείς σιδηροβλάστες (RARS), δακτυλιοειδείς σιδηροβλάστες με περίσσεια βλαστών (RAEB), δακτυλιοειδείς σιδηροβλάστες με περίσσεια βλαστών σε εξαλλαγή (RAEBt) και χρόνια μυελομονοκυτταρική λευχαιμία (CMML). Η αιτιολογία του συνδρόμου είναι άγνωστη στη πλειοψηφία των περιπτώσεων. Εντούτοις παράγοντες όπως: α) η περιβαλλοντική και η επαγγελματική έκθεση σε καρκινογόνες ουσίες (φυτοφάρμακα, βενζόλιο και τα παράγωγά του) και β) η χημειοθεραπεία στα πλαίσια κάποιας κακοήθειας) έχουν σαφώς ενοχοποιηθεί στην παθογένεση της νόσου. Το ΜΔΣ εμφανίζεται κυρίως στον μεγαλύτερο ηλικιακό πληθυσμό, με μία μέση ηλικία μεταξύ 60 και 75 ετών, αλλά έχει περιστασιακά αναφερθεί και σε νεότερα άτομα, ακόμα και σε παιδιά. Η κατανομή του συνδρόμου δείχνει μία υπεροχή στους άνδρες.

Οι οξείες λευχαιμίες (ΟΛ) αποτελούν μία ομάδα κακόθων νόσων, οι οποίες προέρχονται είτε από το αρχέγονο μητρικό κύτταρο των λεμφοκυττάρων (οξεία λεμφοβλαστική λευχαιμία, ΟΛΛ), είτε από το μυελογενές κύτταρο (οξεία μυελογενής λευχαιμία, ΟΜΛ). Τα κύτταρα, που έχουν υποστεί εξαλλαγή, χαρακτηρίζονται από αυτόνομη αύξηση και αδυναμία διαφοροποίησης σε ώριμα κύτταρα με αποτέλεσμα την αύξηση των άωρων μορφών: λεμφοβλάστες στην ΟΛΛ και μυελοβλάστες στην ΟΜΛ. Οι λευχαιμικοί βλάστες αθροίζονται στον μυελό των οστών και καταστέλλουν την αύξηση και διαφοροποίηση των φυσιολογικών αιμοποιητικών κυττάρων. Το αποτέλεσμα στην ΟΛΛ και στην ΟΜΛ είναι η μειωμένη παραγωγή των φυσιολογικών ερυθρών, των λευκών αιμοσφαιρίων και των αιμοπεταλίων.

Η χρόνια λεμφογενής λειτουργία (ΧΛΛ) παριστάνει μία υπερπλασία του λεμφικού συστήματος (λεμφοϋπερπλαστικό σύνδρομο) λόγω κακοήθους μονοκλωνικής αύξησης των ώριμων λευκοκυττάρων (πιο συχνά των Β) και άθροιση αυτών στο αίμα, στο μυελό των οστών, στους λεμφαδένες, στον σπλήνα, στο ήπαρ και σε άλλα όργανα. Τα λεμφοκύτταρα έχουν παρατεταμένο χρόνο επιβίωσης υποθέτοντας την ύπαρξη μιας διαταραχής στην απόπτωση σαν κύρια παθογένεια της νόσου. Η έναρξη της νόσου είναι συνήθως ήπια (ανακαλύπτεται στα πλαίσια ενός συστηματικού ελέγχου). Συνήθης ηλικία εμφάνισης πάνω από 60 χρόνια με επικράτηση των ανδρών.

Η χρόνια μυελογενής λευχαιμία (ΧΜΛ) είναι μυελοϋπερπλαστικό σύνδρομο με έκφραση κυρίως από την κοκκιάδη σειρά, οφειλόμενο σε επίκτητη ανωμαλία των πολυδύναμων αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων (η νόσος αφορά την κοκκιάδη, ερυθρά, μεγακαρυοκυτταρική σειρά, τα Β λεμφοκύτταρα και τα Τ λεμφοκύτταρα). Προέρχεται από ένα πολυδύναμο αιμοποιητικό κύτταρο που

αποκτά τη μετάθεση t (9;22) που έχει σαν αποτέλεσμα έναν υβριδικό γόνο *bcr/ abl* που κωδικοποιεί την πρωτεΐνη p210, η οποία έχει αυξημένη ενδογενή δραστηριότητα κινάσης της τυροσίνης (σε σύγκριση με την φυσιολογική *c-abl* πρωτεΐνη). Εμφανίζεται με προοδευτική αύξηση περί την ηλικία των 40 ετών. Έχουν αναφερθεί και περιπτώσεις νέων ατόμων

Τα ένζυμα μεταβολισμού των φαρμάκων και των ξеноβιοτικών παραγόντων διαιρούνται σε δύο μεγάλες κατηγορίες. Τα ένζυμα της φάσης I (η οικογένεια των ισοενζύμων του κυτοχρώματος P-450 CYP, οι δευδρογενάσες και οι εστεράσες) αποδίδουν “μικρές” αλλαγές στα φάρμακα δημιουργώντας δραστικές θέσεις, στις οποίες μπορούν να συνδέονται με άλλα ενδοκυττάρια μόρια. Τα ένζυμα της φάσης II (η γλουταθειόνη θειο-τρανσφεράση GST, η N-ακετυλοτρανσφεράση NAT, η θειοπουρίνη S- μεθυλτρανσφεράση TPMT και οι UDP-γλυκουρονοσυλτρανσφεράσες) μεσολαβούν για την προσθήκη σχετικά ογκωδών μορίων στα φάρμακα, δημιουργώντας συνήθως υδατοδιαλυτές συνδέσεις, οι οποίες μπορεί να είναι λιγότερο τοξικές και να απεκκρίνονται αμεσότερα. Οι ενζυμικές αντιδράσεις της φάσης II είναι γενικά περισσότερο κυτταροπροστατευτικές.

Ο κίνδυνος για καρκίνο που διατρέχει ένας άνθρωπος, μετά από έκθεσή του σε εξωγενή ή ενδογενή καρκινογόνα, μπορεί να διαφέρει ανάλογα με το γονότυπό του στα γονίδια του μεταβολισμού. Στο μεταβολισμό των οργανικών καρκινογόνων σημαντικό ρόλο παίζει και η οικογένεια των γονιδίων του GST: μεγάλη ομάδα καταλυτικών και συνδετικών πρωτεϊνών. Ο μηχανισμός απενεργοποίησης των καρκινογόνων παραγόντων γίνεται μέσω της σύνδεσης ποικίλων αλκυλιούχων ενώσεων με την GST. Οι παραγόμενες ενώσεις είναι απολύτως διαλυτές στο H₂O και άμεσα ή μετά από περαιτέρω μεταβολισμό θα μεταφερθούν έξω από τα κύτταρα με μία ενεργό διαδικασία. Υπάρχουν τέσσερις υποομάδες της GST στα κύτταρα των θηλαστικών, η άλφα (alpha), η μι (mu), η πι (pi) και η θήτα (theta). Τα ισοένζυμα της GST, GSTM1 και GSTT1 είναι πολυμορφικά στον άνθρωπο. Το 50% των ατόμων της Καυκάσιας φυλής φέρουν έλλειμμα του GSTM1 γονιδίου σε ομοζυγωτία. Πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει ότι η ομόζυγη έλλειψη του γονιδίου αυτού έχει συσχετιστεί με την ανάπτυξη καρκίνου του πνεύμονα, της ουροδόχου κύστης, του παχέος εντέρου και με τον ακανθοκυτταρικό καρκίνο του δέρματος.

Ο σκοπός της παρούσης εργασίας ήταν: 1) Να εξετάσει τους γονότυπους των ισοενζύμων της γλουταθειονη-θειο-τρανσφεράσης (GST) M1(GSTM1) και T1 (GSTT1) στους ασθενείς με ΜΔΣ σε σχέση με τον γενικό πληθυσμό. 2) Να μελετήσει τους γονότυπους των GSTM1 και GSTT1 γονιδίων στους ασθενείς με ΜΔΣ σε σχέση με την έκθεσή τους σε χημικά καρκινογόνα και στο κάπνισμα. 3) Να εξετάσει αν οι αιματολογικές και βιοχημικές παράμετροι σχετίζονται με τους γονότυπους του GST και να λειτουργούν πιθανώς ως προγνωστικοί παράγοντες. 4) Να εξετάσει αν οι μηδενικοί γονότυποι (ομόζυγη έλλειψη των δύο αλληλόμορφων) GSTM1 και GSTT1 έχουν επίδραση στην βελτίωση της αναιμίας των ασθενών με ΜΔΣ, όταν τους χορηγείται ανθρώπινη ανασυνδυασμένη ερυθροποιητίνη και 5) Να εξετάσει τους γονότυπους των GSTM1 και GSTT1 γονιδίων στους ασθενείς με οξεία λεμφοβλαστική και οξεία μη-λεμφοβλαστική (ή μυελογενής) λευχαιμία σε σχέση

με τον γενικό πληθυσμό καθώς και ασθενείς με χρόνια λεμφοβλαστική και χρόνια μυελογενή λευχαιμία σε σχέση με τον γενικό πληθυσμό.

Μελετήθηκαν 65 ασθενείς με ΜΔΣ κατά την αρχική διάγνωση της νόσου, 35 άνδρες και 30 γυναίκες, ηλικίας 38-92 ετών. Με βάση τον μυελό και το περιφερικό πλακάκι ταξινομήθηκαν κατά FAB ως εξής: RA: 15 ασθενείς (23%), RARS: 17 ασθενείς (26.15%), RAEB: 15 ασθενείς (23%), RAEBt: 9 ασθενείς (13.84%) και CMML: 9 ασθενείς (13.84%). Επίσης, εξετάστηκαν 60 υγιή άτομα χωρίς ιστορικό κακοήθειας από τον γενικό πληθυσμό, 34 άνδρες και 26 γυναίκες, ηλικίας 35-86 ετών. Στην μελέτη αυτή συμπεριλήφθηκε και τυχόν επαγγελματική ή περιβαλλοντική έκθεση των ασθενών σε καρκινογόνους μεταβολίτες, όπως καπνός και φυτοφάρμακα. Η ομάδα ελέγχου επιλέχθηκε έτσι ώστε να είναι παρόμοιας ηλικίας, φύλου και συνηθειών καπνίσματος με την ομάδα των ασθενών. Τόσο οι ασθενείς όσο και τα άτομα του γενικού πληθυσμού προέρχονταν από τον αγροτικό πληθυσμό της Ηπείρου.

Κατά την διάγνωση εξετάστηκαν οι βιολογικές και αιματολογικές παράμετροι, όπως: η αιμοσφαιρίνη, ο απόλυτος αριθμός των ουδετερόφιλων (NEU), τα λευκά αιμοσφαίρια (WBC), τα αιμοπετάλια (PLT), η φεριττίνη (FER), η βιταμίνη B₁₂, η ερυθροποιητίνη του ορού (Epo), η B₂ μικροσφαιρίνη (B₂MG) και η γαλακτική αφυδρογονάση (LDH). Οι παράμετροι αυτές, ως δυνητικά προγνωστικοί παράγοντες, συσχετίστηκαν με τον γονότυπο του GST.

Στη συνέχεια, μία ομάδα ασθενών που μελετήθηκε, περιέλαβε 27 ασθενείς με ΜΔΣ (από τους 65 με ΜΔΣ, που εξετάστηκαν αρχικά), οι οποίοι έλαβαν θεραπεία με ανασυνδυασμένη ανθρώπινη ερυθροποιητίνη (tHuEpo) 150 U/kg/ημέρα βάρους σώματος, υποδόρια, τρεις φορές την εβδομάδα για 12 εβδομάδες.

Επίσης, μελετήθηκαν 30 ασθενείς με οξεία λευχαιμία, οι οποίοι με βάση τον μυελό το περιφερικό πλακάκι, την κυτταροχημεία και τον ανοσοφαινότυπο ταξινομήθηκαν ως εξής: οι 16 είχαν οξεία μη λεμφοβλαστική ή μυελογενή (ΟΜΛ) και οι 14 είχαν οξεία λεμφοβλαστική λευχαιμία (ΟΛΛ).

Στην συνέχεια μελετήθηκαν 37 ασθενείς με χρόνια λευχαιμία, εκ των οποίων οι 10 ασθενείς είχαν ΧΜΛ. Από τους 27 ασθενείς με ΧΛΛ και οι 27 είχαν ΧΛΛ (Κατά Binet: στάδιο Α 48,2%, στάδιο Β 18,55% και στάδιο C 33,3%).

Η μέθοδος που εφαρμόστηκε ήταν εξαγωγή DNA από 1ml περιφερικού αίματος ασθενών και ατόμων του γενικού πληθυσμού με την μέθοδο του NaCl. Στην συνέχεια, εφαρμόστηκε η μέθοδος της multiplex PCR για να εντοπιστεί η παρουσία (μη μηδενικός γονότυπος) ή η απουσία (μηδενικός γονότυπος) των GSTM1 και GSTT1 γονιδίων στο γενωμικό DNA των δειγμάτων. Τα προϊόντα της PCR διαχωρίζονται με την τεχνική της ηλεκτροφόρησης σε πηκτική αгарόζης 2%.

Η στατιστική ανάλυση έγινε με την χρήση του χ^2 και με τη δοκιμασία των Hardy-Weinberg εξετάστηκε η γενετική ισορροπία στις ομάδες που μελετήθηκαν. Σημαντικότητα ορίστηκε ως $p < 0.005$. Το Fisher's exact test και η Yates correction εφαρμόστηκαν, όπου ήταν απαραίτητο. Το OR

χρησιμοποιήθηκε προκειμένου να εκτιμηθεί ο σχετικός κίνδυνος των ασθενών για την ανάπτυξη του ΜΔΣ, της ΟΑΛ και της ΟΜΛ καθώς επίσης της ΧΜΛ και της ΧΛΛ. Σχετικά με την μελέτη που έλαβαν οι ασθενείς θεραπεία με rHuEpo, εφαρμόσαμε το independent και το dependent t-test προκειμένου να εξετάσουμε την στατιστική σημαντικότητα ορισμένων μεταβλητών, όπως η Epo, τα WBC, η Hb και τα PLT.

Βάσει των αποτελεσμάτων, παρατηρήθηκε αυξημένος κίνδυνος για την ανάπτυξη ΜΔΣ στους ασθενείς, σε σχέση με τα άτομα του γενικού πληθυσμού, που φέρουν μηδενικό γονότυπο GSTM1 (60% έναντι 33.3%). Ο σχετικός κίνδυνος (O.R) για τα άτομα που έχουν μηδενικό γονότυπο του GSTM1 είναι 3 φορές μεγαλύτερος για την ανάπτυξη ΜΔΣ σε σχέση με τα άτομα του γενικού πληθυσμού. Ο κίνδυνος αυτός επιβεβαιώνεται επίσης και από την συνδυαστική ανάλυση των γονότυπων της GST, στην οποία, τα άτομα που φέρουν συνδυαστικά τον γονότυπο που περιλαμβάνει τον μηδενικό γονότυπο του M1 έχουν 2.6 φορές αυξημένο κίνδυνο να αναπτύξουν ΜΔΣ. Αυτή είναι μία παρατήρηση, που επιβεβαιώνει στατιστικά τον μηδενικό γονότυπο του M1 ως επιβαρυντικό παράγοντα για την ανάπτυξη ΜΔΣ. Στα αποτελέσματα της επίπτωσης του μηδενικού γονότυπου του GSTT1 γονιδίου, που παρατηρήσαμε στους ασθενείς με ΜΔΣ σε σύγκριση με τον γενικό πληθυσμό, δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά (9.32% έναντι 6.66%). Σύμφωνα με τα αποτελέσματα πρόσφατων εργασιών, παρατηρούνται διαφορές στα αποτελέσματα, της επίπτωσης των γονιδίων του GSTM1 και του GSTT1, που πιθανόν να οφείλονται στους γονότυπους που σχετίζονται με την εθνική προέλευση κάθε ατόμου καθώς επίσης και με το περιβαλλοντικό φορτίο από συγκεκριμένους χημικούς παράγοντες. Είναι γνωστό ότι υπάρχει μία αλληλεπίδραση γονιδίων-περιβάλλοντος, τέτοια ώστε η βιολογική απάντηση (καρκίνος) στην έκθεση στον καπνό και στα φυτοφάρμακα τροποποιείται από την γονιδιακή κατάσταση κάθε ατόμου. Πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει αυξημένο γενετικό κίνδυνο- σχεδόν διπλάσιο- για την ανάπτυξη του καρκίνου ουροδόχου κύστης σε καπνιστές με μηδενικό γονότυπο, σε σύγκριση με τους καπνιστές με μη μηδενικό γονότυπο. Στην εργασία αυτή, το ποσοστό των ατόμων με μηδενικό γονότυπο του γονιδίου GSTM1, που ανέπτυξαν ΜΔΣ ήταν παρόμοιο στους καπνιστές και μη, ενώ οι ΜΔΣ ασθενείς που είχαν εκτεθεί σε φυτοφάρμακα έφεραν μηδενικό γονότυπο του GSTM1 σε ποσοστό σχεδόν 2.5 φορές μεγαλύτερο σε σχέση με τους ασθενείς που δεν εκτέθηκαν σε παρόμοια καρκινογόνα.

Σχετικά με τους προγνωστικούς παράγοντες για τη θεραπεία και την επιβίωση των ΜΔΣ ασθενών, μόνο ο μηδενικός γονότυπος GSTT1 φαίνεται να έχει στατιστική σημαντικότητα μεμονωμένα με την B₂ μικροσφαιρίνη.

Τα ΜΔΣ είναι συχνά ανθεκτικά στους χημειοθεραπευτικούς παράγοντες, γεγονός που σημαίνει ότι συχνά επιτυγχάνεται μερική ή καμία απάντηση. Η γλουταθειόνη θειο-τρανσφεράση (GSTs) αποτελεί ένα πολύ σημαντικό παράγοντα για την ανάπτυξη αντίστασης στα φάρμακα. Τα αποτελέσματα της μελέτης αυτής επιβεβαιώνουν τα αποτελέσματα και άλλων ερευνητών, σύμφωνα με τα οποία η θεραπεία με rHuEpo είναι μία δραστική θεραπεία για την αναιμία που σχετίζεται με τα

ΜΔΣ. Στην μελέτη αυτή, ο ρυθμός ανταπόκρισης (44%) των ασθενών 12 εβδομάδες μετά την θεραπεία με ριθυμίνη ήταν παρόμοιος με άλλα δημοσιευμένα αποτελέσματα, ενώ οι ασθενείς που ανήκαν στις ομάδες χαμηλού κινδύνου: RA και RAS είχαν μεγαλύτερη πιθανότητα ανταπόκρισης (50%). Επίσης, παρατηρήθηκε ότι οι ΜΔΣ ασθενείς με ομόζυγη έλλειψη του GSTM1 γονιδίου φαίνεται να έχουν μικρότερη ειδική δράση απέναντι στην ριθυμίνη και κατά συνέπεια καλύτερη απάντηση συνολικά στην θεραπεία σε σχέση με τον μηδενικό γονότυπο του GSTT1 γονιδίου. Ο ρυθμός απάντησης σε αυτούς που απάντησαν με GSTM1 μηδενικό γονότυπο ήταν 75%, ενώ για τους ασθενείς με M1 μη-μηδενικό γονότυπο ήταν 25%. Το αποτέλεσμα αυτό συμφωνεί με την υπόθεση ότι η θεραπεία θα ήταν πιο επιτυχημένη στους ασθενείς με την μικρότερη δράση απέναντι στην απομάκρυνση του φαρμάκου, λόγω της παρουσίας της λιγότερο δραστικής μορφής του GSTM1. Επιπλέον, εκτιμώντας συγχρόνως την τιμή του σχετικού κινδύνου, συμπεραίνουμε ότι οι ΜΔΣ ασθενείς με ομόζυγη έλλειψη του GSTM1 γονιδίου ανήκουν σε μία προνομιούχο ομάδα όσο αναφορά τον θετικό σχετικό παράγοντα κινδύνου για καλύτερη ανταπόκριση στη θεραπεία. Επίσης, τα χαμηλά επίπεδα της ενδογενούς ερυθροποιητίνης, χωρίς όμως να παρατηρήθηκαν άλλες μεταβλητές που σχετίζονται με την ανταπόκριση στην θεραπεία, παίζουν προγνωστικό ρόλο στους ΜΔΣ ασθενείς, όταν τους χορηγείται θεραπευτικά ριθυμίνη. Συνεπώς, η ριθυμίνη φαίνεται να επάγει την βελτίωση των επιπέδων της αιμοσφαιρίνης και την διακοπή των μεταγγίσεων, ιδιαίτερα στους ασθενείς με μηδενικό γονότυπο του GSTM1.

Σχετικά με την οξεία μη-λεμφοβλαστική ή μυελογενής λευχαιμία (ΟΜΛ), στην εργασία αυτή παρατηρήθηκε μη στατιστικά σημαντική διαφορά της συχνότητας του μηδενικού γονότυπου του GSTM1 μεταξύ των ασθενών με ΟΜΛ και των ατόμων του γενικού πληθυσμού. Αντίθετα, παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ των ασθενών και των ατόμων του γενικού πληθυσμού, που φέρουν τον μηδενικό γονότυπο του GSTT1 (31.25% έναντι 6.66%), γεγονός που σημαίνει ότι τα άτομα, που έχουν έλλειμμα του γονιδίου του GSTT1, έχουν επιβαρυντική θέση ως προς την ανάπτυξη της ΟΜΛ. Αυτό επιβεβαιώνεται και από το υψηλό O.R.

Τα αποτελέσματα της παρούσης εργασίας για την οξεία λεμφοβλαστική λευχαιμία (ΟΛΛ) έδειξαν ότι οι ασθενείς που έφεραν ομόζυγη έλλειψη των γονιδίων GSTM1 και GSTT1 είχαν μεγαλύτερη πιθανότητα να αποκτήσουν την νόσο, σε σχέση με τον γενικό πληθυσμό. Η στατιστικά αυτή σημαντική διαφορά ήταν ακόμα μεγαλύτερη στους ασθενείς με M1 μηδενικό γονότυπο (71.42% έναντι 33.3%) και ο γονότυπος αυτός, ως επιβαρυντικός παράγοντας για την νόσο επιβεβαιώνεται και από το υψηλό O.R.

Αντίθετα, στους ασθενείς με χρόνια μυελογενή λευχαιμία (ΧΜΛ) δεν φαίνεται κανένας από τους δύο μηδενικούς γονότυπους να έχει επίπτωση στην ανάπτυξη της νόσου. Συγκεκριμένα, το O.R για τον GSTT1 γονότυπο, μετρήθηκε και ήταν κοντά στο 1, γεγονός που σημαίνει ότι θεωρείται ουδέτερος παράγοντας και δεν έχει καμία επίδραση στην ανάπτυξη της ΧΜΛ.

Στην παρούσα εργασία, παρατηρήθηκε μία συσχέτιση μεταξύ των μηδενικών γονότυπων GSTM1 και GSTT1 και της ΧΛΛ, εφόσον υπάρχει μία στατιστικά σημαντική αύξηση της επίπτωσης των μηδενικών αυτών γονότυπων στους ΧΛΛ ασθενείς. Επίσης, λαμβάνοντας υπ' όψιν τον υπολογισμό του σχετικού κινδύνου (O.R), τα άτομα με ομόζυγη έλλειψη του GSTM1 γονιδίου έφεραν μία πολύ μεγάλη τιμή του O.R, γεγονός που σηματοδοτεί μία έντονη προδιάθεση των ατόμων αυτών στην νόσο της ΧΛΛ. Παρόμοια, η μεγάλη τιμή του O.R, που υπολογίστηκε για τον μηδενικό γονότυπο του GSTT1, μας οδήγησε στο συμπέρασμα ότι και αυτός ο γονότυπος αποτελεί προδιαθεσικό παράγοντα για την απόκτηση της νόσου. Σχετικά με τις δεσμευτικές ιδιότητες των ειδικών υποστρωμάτων της GST στο σώμα, παρατηρήθηκε ότι εκτός από τα ειδικά υποστρώματα, τα ισοένζυμα της GST αποτελούν ένα αλληλοκαλυπτόμενο, περιορισμένης εξειδίκευσης, υπόστρωμα έναντι μιας ποικιλίας υποστρωμάτων. Μία τέτοια αλληλοεπικάλυψη στο εξειδικευμένο υπόστρωμα προϋποθέτει ότι διαφορετικοί συνδυασμοί των γονότυπων της GST συμβάλλουν στην δημιουργία διαφορετικών επιπέδων δράσης της GST. Ως εκ τούτου, η συνδυαστική ανάλυση των γονότυπων GSTM1-T1 επιβεβαιώνουν την επίδραση των μηδενικών γονότυπων των GSTM1-T1 στην ΧΛΛ. Σύμφωνα με τα στοιχεία της εργασίας αυτής, η συχνότητα του M1 μηδενικού/ T1 μη-μηδενικού γονότυπου είναι στατιστικά σημαντικά διαφορετική μεταξύ ασθενών και ατόμων της ομάδας ελέγχου και θεωρείται ως ένας προδιαθεσικός παράγοντας –λόγω της σχετικά υψηλής τιμής του O.R – για την ανάπτυξη της ΧΛΛ. Αυτό, ίσως και να είναι το αποτέλεσμα μιας συνεργικής δράσης μεταξύ των γονότυπων της GST.

Σύμφωνα με τα δεδομένα της παρούσης εργασίας, αυτές είναι οι υψηλότερες τιμές σχετικού κινδύνου για τον μηδενικό γονότυπο GSTM1 στις αιματολογικές κακοήθειες, που έχουν αναφερθεί μέχρι σήμερα (5.7). Επίσης, η συσχέτιση των γονότυπων των ΧΛΛ ασθενών με τα στάδια της νόσου κατά Binet έδειξε ότι οι ασθενείς, οι οποίοι έχουν τον μηδενικό γονότυπο GSTM1 πιθανώς να ανήκουν κυρίως στο στάδιο A. Επομένως, δεν υπήρχαν στοιχεία για καμία σχέση μεταξύ του προχωρημένου σταδίου της νόσου και των γονότυπων της GST.

Συνεπώς, η μελέτη αυτή για την ΧΛΛ έχει δείξει ένα στατιστικά σημαντικά αυξημένο κίνδυνο για την ανάπτυξη της νόσου, όταν σχετίζεται με τον GSTM1 και GSTT1 μηδενικό γονότυπο. Επιπλέον, μία συσχέτιση του συνδυαστικού μηδενικού διπλού γονότυπου GSTM1 / GSTT1 αυξάνει ακόμα περισσότερο την σημαντικότητα των αποτελεσμάτων.

Η παρούσα εργασία έχει σαν βάση της έναν ομογενή πληθυσμό ασθενών από μία σχετικά περιορισμένη γεωγραφικά περιοχή. Η ομογένεια αυτή των ασθενών και των ατόμων της ομάδας ελέγχου ικανοποιεί όλες τις προϋποθέσεις για τον σχεδιασμό και εκτέλεση μιας μελέτης, η οποία αφορά γονίδια που σχετίζονται με την ανάπτυξη κάποιας νόσου.

Doctoral Thesis
Sophia E. Tsabouri, M.D.

ASSOCIATION OF THE GENOTYPES OF GLUTATHIONE SULFUR-TRANSFERASE WITH NEOPLASTIC DISEASES OF THE HAEMOPOIETIC TISSUE.

SUMMARY

The myelodysplastic syndromes (MDS) constitute a heterogenous group of clonal disorders of the pluripotent haemopoietic stem cell, characterized by maturational defects of bone marrow cells resulting in peripheral blood cytopenias and an increased risk for transformation to acute myelogenous leukemia. The French-American-British, FAB classification recognized five subtypes: Refractory anaemia (RA), refractory anaemia with ringed sideroblasts (RARS), ringed sideroblasts with excess blasts (RAEB), ringed sideroblasts with excess blasts in transformation (RAEBt) and chronic myelomonocytic leukemia (CMML). In the majority of the patients, the etiology of the syndrome is unknown. However, certain factors, such as: a) the environmental and occupational exposure to carcinogens (pesticides, benzene and its products) and b) chemotherapeutic agents (as a treatment of malignancies) have been implicated in the pathogenesis of the disorder. MDS occur primarily in the elderly population, with a median age between 60 and 75 years, but it has been occasionally reported in younger individuals and even in children. The sex distribution is balanced, despite earlier reports indicating a male preponderance.

Acute Leukemias (AL) consist a group of malignant diseases, which arise either from the multipotent hematopoietic stem cell of the lymphoid lineage (acute lymphoblastic leukemia, ALL) or the myeloid lineage (acute myeloblastic leukemia, AML). The cells, which have been transformed, are characterized from uncontrolled proliferation and defective differentiation to mature cells, resulting in accumulation of the premature cells: lymphoblasts in ALL and myeloblasts in AML. The leukemic blasts are accumulated in the bone marrow and suppress the increase and the differentiation of the normal hemopoietic cells. The result is the impaired production of the red blood cells, the white cells and the platelets.

Chronic lymphocytic leukemia (CLL) is an hematologic hyperplasia of the lymphic system (lymphohyperplastic syndrome) because of the malignant monoclonal increase of the mature white cells (particularly B cells) and their accumulation in the blood, bone marrow, lymph nodes, spleen, liver, and other organs. The lymphocytes have a long time survival, suggesting the disorder of apoptosis as a certain cause of the disease. The onset of the disease is usually mild and it is

accidentally revealed under a systemic health. The disease typically occurs in patients over the age of 60 years and usually affects men.

Chronic myeloblastic leukemia (CML) consists a hyperplastic syndrome with preponderance of the granulocytic lineage. It is an acquired abnormality of haemopoietic stem cells that is present in all dividing granulocytic, erythroid, megakaryocytic cells in the marrow, also in some B lymphocytes and probably in the minority of T lymphocytes. CML originates from a multipotent hematopoietic cell, which acquires the translocation t(9;22) resulting in a chimeric bcr/abl gene. This gene codes for a fusion protein of size 210kDa (p210), which has enhanced tyrosine kinase activity (comparing with the normal c-abl protein). This disease occurs in either sex, most frequently between the ages of 40 years. It has been occasionally reported in younger individuals.

Enzymes involved in the metabolism of drugs and xenobiotics are subdivided in two major categories. Phase I enzymes (CYP450s, dehydrogenases, and esterases) renders “small” changes onto drugs, sometimes creating reactive sites, which can covalently bind with other intracellular molecules. Phase II enzymes (glutathione sulfur-transferase GST, N-acetyltransferase NAT, thiopurine S-transferase TPMT and UDP-glucuronosyltransferases) involve the addition of relatively “bulky” groups onto the drug, most often creating a more water-soluble conjugate, which may be less toxic and more readily excretable. Thus, phase II reactions are generally cytoprotective.

Human cancer risk with exposure to endogenous or exogenous carcinogens may be modified by genetic variations in metabolic detoxification mechanisms. One important pathway for the metabolism of organic carcinogens involves the GST supergene family: a large family of catalytic and binding proteins. The detoxification mechanism of the carcinogens is established through the conjugation of various alkylating agents with GST. The compounds, which are produced are absolutely water-soluble and directly or after further metabolism, will be transferred out of the cell, through an active process. There are four subclasses of GST in mammalian cells: alpha, mu, pi and theta. Glutathione S-transferase isoenzymes, GSTM1 and GSTT1 have polymorphic deletions in humans. Up to 50% of the Caucasians inherit two deleted copies of the GSTM1 gene. Recent studies have shown that the homozygous null genotype of the GSTM1 gene has been associated with increased risk of lung cancer, bladder cancer, colorectal cancer and cutaneous tumors.

The aim of this study was: 1) To examine the genotypes of the isoenzymes of GST, GSTM1 and GSTT1 in MDS patients, compared with controls. 2) To study the genotypes of the GSTM1 and GSTT1 genes in MDS patients in association with their exposure to chemical carcinogens and to tobacco smoke. 3) To examine the impact of GST's genotypes on haematological and biochemical parameters with possible prognostic value for the syndrome. 4) To evaluate whether the GSTM1 and GSTT1 homozygous null genotypes have an impact on the response to recombinant human erythropoietin treatment in anemia of MDS patients and 5) To study the impact of GSTM1 and GSTT1 homozygous null genotypes on acute lymphoblastic leukemia and acute non-lymphoblastic

leukemia (myelogenous) leukemia, compared to controls and also the impact on chronic lymphoblastic leukemia and chronic myelogenous leukemia compared to controls, as well.

This study included 65 patients, at presentation, with MDS, 35 males and 30 females. The age of the patients ranged between 38-92 years. According to the criteria of the FAB group, 15 patients were classified as having RA (23%), 17 patients had RAS (26.15%), 15 patients had RAEB (23%), 9 patients had RAEBt (13.84%) and 9 patients had CMML (13.84%). We also studied 60 cancer-free controls, 34 men and 26 women; their age ranged from 35-86 years. In this study, any occupational or environmental exposure to carcinogens, smoke and pesticides, was also included. The control group was matched for age, smoking habits and sex ratio. Both patients and controls were recruited from the rural population of Ipiros.

At presentation, biological and hematological parameters, such as: haemoglobin (Hb), absolute count of neutrophils (NEU), white blood cells count (WBC), platelets, ferritin (FER), vitamin B₁₂, B₂ microglobulin (B₂MG), erythropoietin (Epo), lactate hydrogenase (LDH) were estimated. These parameters were correlated with GST genotypes in order to detect any possible association of these genotypes with putative prognostic factors.

Furthermore, this study included a group of 27 patients with MDS (a part of MDS patients group, that was studied primarily). The patients were treated with recombinant human erythropoietin (rhuEpo) of 150 U/kg/day subcutaneously three times per week for 12 weeks.

30 patients with acute leukemia were also examined. These patients, according to the bone marrow biopsy, blood smears, flow cytometry and immunophenotype, were classified as: 16 with acute non-lymphoblastic or myelogenous leukemia (AML) and 14 with acute lymphoblastic leukemia (ALL).

Additionally, 37 patients with chronic lymphoblastic leukemia (CLL) were studied. 10 of these patients had chronic myelogenous leukemia (CML). According to Binet classification, 27 patients with CLL were classified as: stage A 48.2%, stage B 48.2% and stage C 33.3%.

DNA was isolated from 1 ml of the peripheral blood of all the MDS patients and controls by the salt extraction method. Furthermore, the multiplex PCR method was used, in order to detect the presence (non null genotype) or the absence (null genotype) of the GSTM1 and GSTT1 genes in genomic DNA samples. PCR products were resolved on 2% agarose gel. Statistical analyses was performed by χ^2 test. Hardy-Weinberg equilibrium was used in order to compare the differences, observed between patients and controls and to elucidate the differences between the two groups. P-values less than 0.05 were considered statistically significant. Fisher's exact test and Yates correction were applied, where appropriate.

OR was used as an estimate of the relative risk of MDS, ALL, AML, CML and CLL patients with specific genotypes. Independent and dependent t-test was used to test statistical significance of certain variables, such as: Epo, WBC, Hb and PLT.

According to our data, the frequency of the GSTM1 null genotype among MDS patients was higher than among controls (60% vs. 33.3%). The OR of the GSTM1 null genotype for the development of MDS was estimated at three. This risk was also confirmed by the combined analyses of the GST's genotypes. This combined genotype carried an OR of 2.6 for MDS. These results confirm the GSTM1 null genotype as a putative risk factor for the development of MDS. Regarding the results of the incidence of the GSTT1 null genotype in MDS patients compared to controls, there was no statistical difference (9.32% vs. 6.66%). According to the data of other studies, divergent results are reported regarding the incidence of GSTM1 and GSTT1 null genotypes. These results among various populations may be due to the origin of nationality as well as to the environmental load of specific chemical factors. It is well known that there is a strong interaction between genes-environment. Human cancer risk, with exposure to smoke and pesticides, may be modified by genetic variations. Recent studies have shown increased genetic risk -almost double- for the development of the bladder cancer in smokers with null genotype, compared to smokers with non-null genotype. In the present study, the frequency of the GSTM1 null genotype among MDS patients was almost the same in smokers and non-smokers. However, the frequency of the GSTM1 null genotype in MDS patients, who were exposed to pesticides, was almost 2.5 times higher than MDS patients, who were not exposed to the same pesticides. Furthermore, GSTM1 null genotype was more frequent among MDS patients. Regarding the prognostic factors for the treatment and survival of MDS patients, only B₂ microglobulin was correlated positively with GSTT1 null genotype.

MDS are often resistant to chemotherapeutic agents, which implies that only partial response is achieved or no effect at all is found. Glutathione sulfur-transferase (GSTs) is an important factor for the development of drug resistance. The results of this study confirm the reports by other authors that therapy with rhuEpo is an effective treatment of anemia associated with MDS. In this study, the observed overall response rate (44%), after 12 weeks of rhuEpo as daily treatment in MDS patients was close to values, published in other reports. However, patients, who belonged to low-risk MDS: RA and RAS had a higher probability of response (50%). Furthermore, MDS patients with homozygous deletion of GSTM1 gene seem to show lower specific activity toward the rhuEpo and consequently to have better overall response to therapy than patients with GSTT1 null genotype. The response rate among responders with GSM1 null genotype was 75% while for the patients with GSTM1 non-null genotype was 25%. This result is consistent with the hypothesis that therapy could be more successful among patients with less activity in removal of the drug because of the presence of the less active, variant form of GSTM1. Taking into account the estimation of OR, MDS patients with an homozygous deletion of the GSTM1 gene are a privileged group in terms of a relative positive risk factor for responding better to their treatment. Moreover, low endogenous Epo levels, without detecting other reliable variables associated with response to treatment, play a predictive role of response to rhuEpo in patients with MDS. Hence, rhuEpo seemed to induce the improvement in the

Hb levels and the discontinuation of red cells blood transfusions especially in the MDS patients with GSTM1 null genotype.

Regarding acute non-lymphoblastic leukemia or myelogenous leukemia (AML), no statistically significant difference of GSTM1 null genotype among MDS patients was noticed. However, the frequency of the GSTT1 null genotype in AML patients is significantly higher than among controls (31.25 vs. 6.66%), which means that this specific genotype plays a defective role in the development of AML. This is also confirmed by the high O.R.

The results of this present study showed that patients, who carried an homozygous deletion of GSTM1 and GSTT1, seemed to be more susceptible to ALL development, compared to controls group. This statistically significant difference was even higher in patients with M1 null genotype (71.42% vs. 33.3%). The defective role of this genotype was also confirmed by the high O.R.

In contrast, neither genotype seemed to play a role on the development of CML. OR was estimated at 1 for GSTT1 genotype, which means that it was a neutral factor and had no effect on CML development.

In the present study, a correlation between GST's null genotypes and CLL was noticed, since these genotypes increased significantly in CLL patients. Additionally, taking into account, the estimation of OR, individuals with an homozygous deletion of GSTM1 gene carried a very high OR. This fact implies a strong susceptibility of these individuals on CLL. In addition, the high odds ratio of the GSTT1 null genotype suggested that this is also implicated in CLL.

Regarding binding properties of specific substrates by GSTs in the body, it has been suggested that, besides specific substrates, GST isoenzymes display overlapping limited substrate specificity toward a variety of substances. Such an overlap in substrate specificity suggests that different GST genotype combinations may confer varying levels of GST activity. Hence, the combined analysis of the GSTM1-T1 genotypes confirmed the impact of the GSTM1-T1 null genotypes on CLL. According to our data, the frequency of the M1 null/ T1 non-null genotype is significantly different between patients and controls and tends to be predisposing for the development of CLL with a relatively high odds ratio. This suggests a possible synergistic effect between GST genotypes.

According to our data, these are the highest odds ratios of GSTM1 null genotype in hematological malignancies, reported to date (5.7). Additionally, the correlation of CLL patients' genotypes with Binet stages suggested that patients with GSTM1 null genotype may be prone to stage A. Hence, there was no evidence for any relationship between the advanced stage of the disease and GST's status, since stage A is considered as a low-risk stage of the disease.

In conclusion, this study has shown a significantly increased risk of CLL, associated with the GSTM1 and GSTT1 null genotype. Furthermore, an association of the combined GSTM1/GSTT1 double null genotype is also increasing even more the significance of our results.

The present study is to our knowledge the first to deal with an homogenous patients

population from a relatively limited geographic area. This homogeneity of patients and controls satisfies contemporary aspects about the design and execution of studies involving disease associated genes.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Greenberg PL: The smoldering myeloid leukemic states. Clinical and biologic features. *Blood* 1983;61:1035-1044.
2. Koefler HP: Preleukemia. *Clin Hematol* 1986; 15: 829-841.
3. Linman JW, Bagby GC: The preleukemic syndrome (hemapoietic dysplasia). *Cancer* 1978;42:854-864.
4. Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT, et al: Proposals for the classification of the myelodysplastic syndromes. *Br J Haematology* 1982;51:189-199.
5. Jaffe ES, Harris NL, Stein H, Vardiman JW, eds. *World Health Organization Classification of Tumors: Pathology and Genetics Of Tumors of Haematopoietic and lymphoid Tissues*. Lyon, France: IARC Press, 2001.
6. Weber RFA, Geraedts JPM, Kerhofs H, et al: The preleukemic syndrome. I Clinical and hematological findings. *Acta Med Scan* 1980;207: 391-395.
7. Hamblin T: Clinical features of MDS. *Leuk Res* 1992;16: 89-93.
8. Blank J, Lange B: Preleukemia in children. *J Pediatr* 1981;98:565-568.
9. Passmore SJ, Hann JM, Stiller CA, et al: Pediatric myelodysplasia. A study of 68 children and a new prognostic system. *Blood* 1995;85:1742-1750.
10. Heyell A, Aul C, Derigs G, et al: Chronic myelomonocytic leukemia (CMML). Data of 56 patients. *Blut* 1989;59:303 (abstr).
11. Hamilton- Patterson JL: Preleukemic anemia. *Acta Hematol* 1949;2:309-316.
12. Block M, Jacobson LD, Bethard WF: Preleukemic human leukemia *JAMA* 1953;152: 1018-1028.
13. Sanz GF, Sanz MA, Vallespi T, et al: Two regression models and a scoring system for predicting survival and planning treatment in myelodysplastic syndromes. A multivariate analysis of prognostic factors in 370 patients. *Blood* 1989;74: 395-408.
14. Kouides P, Benett J: Myelodysplastic syndromes in Abeloff M, Armitage J, Lichter A, et al (eds). *Clinical Oncology*. New York, N.Y. Churchill Livingstone, 1995, pp 1997-1998.
15. Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT, et al. Proposals for the classification of the acute leukemia. French- American- British (FAB) cooperative group. *Br J Haematol* 1976;33: 451-8.
16. Mufti G: Chromosomal deletions in the myelodysplastic syndromes. *Leuk Res*, 1992; 15: 35-41.
17. Mecucci C, van den Berghe H: Cytogenetics. *Hematol Oncol Clin North Am* 1992;6: 522-541.
18. Coiffier B, Adeleine P, Viala JJ et al: Dysmyelopoietic syndromes. A search for prognostic factors in 193 patients. *Cancer* 1983;52: 83-90.
19. De Pree C, Cabrol C, Frossard JL, et al: Pseudoreticulocytosis in a case of myelodysplastic syndrome with translocation t (1:14) (q42;q32). *Semin Hematol* 1995;32: 232-236.

20. Kampmeier P, Anastasi J, Vardiman JW: Issues in the pathology of the myelodysplastic syndromes (review). *Hematol Oncol Clin North Am*, 1992; 6:501-522.
21. Farhi DC: Myelodysplastic syndromes and acute myeloid leukemia. Diagnostic criteria and pitfalls (review). *Pathol Ann* 1995;30: 29-57.
22. Economopoulos T, Karakassis D, Stathakis N, et al: Significance of bone marrow sideroblastosis in myelodysplastic syndromes (letter). *Eur J Haematol* 1990;45:118-120.
23. Maschek H, Gutzmer R, Choritz h, et al: Life expectancy in primary myelodysplastic syndromes: a prognostic score based upon histopathology from bone marrow biopsies of 569 patients. *Eur J Haematol* 1994;53: 280-287.
24. Dreyfus B: Preleukemic States. I. Definition and classification. II. Refractory anemia with an excess of myeloblasts in the bone marrow (smoldering acute leukemia). *Blood cells* 1978;2:33.
25. Coasguen JE, Garand r, Bizet M, et al: Prognostic implication and characterisation of the blast cell population in the myelodysplastic syndrome. *Leuk Res* 1991;15:1159-1165.
26. Solal-Celigny P, Desaint B, Herrera A, et al: Chronic myelomonocytic leukemia according to FAB classification. Analysis of 35 cases. *Blood* 1984; 63: 634-638.
27. Ho PI, Gibson J, Vincent P, et al: The myelodysplastic syndromes: Diagnostic criteria and laboratory evaluation [review]. *Pathology*1993;25:297-304.
28. Hamblin TJ and Oscier DG: The myelodysplastic syndromes – a practical guide. *Hematological Oncology* 1987;5:19-34.
29. Michaux JL, Martiat P: Chronic myelomonocytic leukemia (CMML)- A myelodysplastic or myeloproliferative syndrome? [review]. *Leuk. Lymph* 1993;9:35-41.
30. Anonymous: Recommendations for a morphologic, immunologic, and cytogenetic (MIC) working classification of the primary and therapy-related myelodysplastic disorders. Report of the workshop held in Scottsdale, AZ, USA on February 23-27, 1987. Third MIC Cooperative Study Group. *Cancer Genet Cytogenet* 1988;32: 1-10.
31. Fenaux P, Beuscart R, Lai JL, et al: Prognostic factors in adult myelomonocytic leukemia : an analysis of 107 cases. *J Clin Oncol* 1988;6:1417-1424.
32. Stprnilo AM, Moloney WC, Rosenthal DS, et al: Chronic myelomonocytic leukemia. *Leukemia* 1990;4:766-770.
33. Worsley A, Oscier DG, Stevens J, et al: Prognostic features of chronic myelomonocytic leukemia. A modified Bournemouth score gives the best prediction of survival. *Br J Haematol* 1988;68: 17-21.
34. Joseph AS et al: Natural history of smoldering leukemia. *Br J Cancer* 1982;46(2): 160-166.
35. Tefferi A, Hoagland HC, Therneau TM, te al: Chronic myelomonocytic leukemia: Natural history and prognostic determinants. *Mayo Clin Proc* 1989; 64: 1246-1254.

36. Kantarjian HM, Shtatrid M, Kurzrock R, et al: Significance and correlations of molecular analysis results in patients with Philadelphia chromosome- negative chronic myelogenous leukemia and chronic myelomonocytic leukemia. *Am J Med* 1988;85: 639-644.
37. Martiat P, Michaux JL, Rodhain J: Philadelphia- negative (Ph-) chronic myeloid leukemia (CML): Comparison with Ph+ CML and chronic myelomonocytic leukemia. The Groupe Français de Cytogenetique Hematologique. *Blood* 1991;78: 205-211.
38. Benett JM, Catovsky D, Daniel MT, et al: The chronic myeloid leukemia: guidelines for distinguishing chronic granulocytic, atypical chronic myeloid, and chronic myelomonocytic leukemia. Proposals by the French-American-British (FAB) Cooperative Leukemia Group. *Br J Haematol* 1994 ;87:746-754.
39. Weisdorf DJ, Oken MM, Johnson GJ, et al: Auer rod positive dysmyelopoietic syndrome. *Am J Haematol* 1981;11:397-402.
40. Scazec JY, Imbet M, Crofts M, et al: Myelodysplastic syndrome or acute myeloid leukemia? A study of 28 cases presenting with borderline features. *Cancer* 1985;55: 2390-2394.
41. Verhoef GE, Pittaluga S, De Wolf- Preters C, et al: FAB classification of myelodysplastic syndromes: Merits and controversies [review]. *Ann Hematol* 1995;71: 3-11.
42. Seymour JF, Estey EH : The prognostic significance of auer rods in myelodysplasia. *Br J Haematol* 1993;85: 67-76.
43. Pedersen- Bjergaard J: Radiotherapy and chemotherapy induced myelodysplastic and acute myeloid leukemia: a review. *Leuk Res* 1992;16:61.
44. Farrow A, Jacobs A, West RR: Myelodysplasia, chemical exposure and other environmental factors. *Leukemia* 1989;3:33-35.
45. Orazi A, Cattore Hi G, Soligo D, et al: Therapy related myelodysplastic syndromes: FAB classification, bone marrow histology, and immunohistology in the prognostic assessment. *Leukemia* 1993;7: 838-847.
46. Pedersen- Bjergaard J, Philip P, Larsen S et al: Chromosome aberrations and prognostic factors in therapy related myelodysplasia and acute non-lymphocytic leukemia. *Blood* 1990;76: 1083-1091.
47. Pedersen- Bjergaard J, Philip P: Balanced translocations involving chromosome bands 11q23 and 21q22 are highly characteristic of myelodysplasia and leukemia following therapy with cytostatic agents targeting at DNA topoisomerase II. *Blood* 1991;78: 1147-1148.
48. Goasguen JE, Matsus T, Cox C, et al: Evaluation of dysmyelopoiesis for remission and survival. *Leukemia* 1992;6:520-525.
49. Estienne MH, Fenaux P, Preudhomme C, et al : Prognostic value of dysmyelopoietic features in de novo acute leukemia : A report on 132 patients. *Clin Laboratory Haematol* 1990;12:57-65.

50. Kobayashi S, Seki K, Katayama N et al: [Clinical significance of micromegakaryocytes in de novo AML]. [Japanese]. *Rinsho Ketsueki-Jpn J Clin Hematol* 1993;34: 313-320.
51. Cuneo A, Fagoli F, Pazzi J, et al: Morphologic, immunologic and cytogenetic studies in acute myeloid leukemia following occupational exposure to pesticides and organic solvents. *Leuk Res* 1992;16:789-796.
52. Cuneo A, Van Orshoren A, Michaux JI, et al: Morphologic, immunologic and cytogenetic studies in erythroleukaemia; Evidence for multilineage involvement and identification of two distinct cytogenetic-clinical pathological types. *Br J Haematol* 1990;75:346-354.
53. Harris CE, Biggs JC, Concannon AJ, et al: Peripheral blood and bone marrow findings in patients with acquired immune deficiency syndrome. *Pathology* 1990;22: 206-211.
54. Karcher DS, Frost AR: The bone marrow in human immunodeficiency virus (HIV)-related disease. Morphology and clinical correlation. *Am J Pathol* 1991;95: 63-71.
55. Kaloutsi V, Kohlmeyer U, Maschek H, et al: Comparison of bone marrow and hematologic findings in patients with human immunodeficiency virus infections diseases. *Ann J Clin Pathol* 1994;101: 123-129.
56. Singh M, Bofinger A, Taylor K, et al. Myelodysplasia with myelofibrosis- A distinct subgroup within the myelodysplastic syndromes. *Pathology* 1994;26: 69-71.
57. Watts EJ, Majer RV, Green PJ, et al: Hyperfibrotic myelodysplasia: A report of three cases showing haematological remission following treatment with prednisolone. *Br J Haematol* 1991;78: 120-122.
58. Ohyashiki K, Sasao J, Ohyashiki JH, et al: Clinical and cytogenetic characteristics of myelodysplastic syndromes developing myelofibrosis. *Cancer* 1991;68: 178-183.
59. Imbert M, Nguyen D, Sultan C: Myelodysplastic syndromes (MDS) and acute myeloid leukemia (AML) with myeloid leukemia (AML) with myelofibrosis. *Leuk Res* 1992;16:51-54.
60. Dickstein JJ, Vardiman JW: Issues in the pathology and diagnosis of the chronic myeloproliferative disorders and the myelodysplastic syndromes and the myelodysplastic syndromes [review]. *Am J Clin Pathol* 1993;99:513-525.
61. Maschek H, Kaloutsi V, Rodriguez- Kaiser M, et al : Hyperplastic myelodysplastic syndrome: Incidence, morphology, cytogenetics, and prognosis. *Am Hematol* 1993;66: 117-122.
62. Tuzuner N, Bennett JM: Reference standards for bone marrow cellularity [letter]. *Leuk Res* 1994;18:559-564.
63. Tuzuner N, Cox C, Rowe JM, et al : Bone marrow cellularity in myeloid stem cell disorders: Impact of age correction. *Leuk Res* 1994;18: 559-564.
64. Howe RB, Bloomfield CD, McKenna RW: Hypocellular acute leukemia. *Am J Med* 1982; 72: 391-395.

65. Fohlmeister I, Fischer R, modder b, et al: Aplastic anemia and the hypocellular myelodysplastic syndrome: histomorphological, diagnostic, and prognostic features. *J Clin Pathol* 1985;38(11):1218-1224.
66. Coasguen JE, Bennett J. Classification and morphologic features of the myelodysplastic syndromes [review]. *Semin Oncol* 1992;19: 4-13.
67. Nand S, Godwin JE: Hypoplastic myelodysplastic syndrome. *Cancer* 1998; 62: 958-964.
68. De Planque MM, Bacigalup A, Wursch A et al: Long-term follow up of severe aplastic anemia in patients teated with antihymocyte globulin. *Br J Haematol* 1989;73: 121-126.
69. Tichelli A, Gratwohl A, Wursch A: Late haematological complications in severe aplastic anemia. *Br J Haematol* 1987;65: 413-418.
70. Fenaux P, Jouet JP, Zandecki m et al: Chronic and subacute myelomonocytic leukemia in the adult: A report of 60 cases with special reference to prognostic factors. *Br J Haematol* 1987;65: 101-106.
71. Raza A, Gezer S, Mundle S, et al: Apoptosis in bone marrow biopsy samples involving stromal and hematopoietic cells in 50 patients with myelodysplastic syndromes. *Blood* 1995;86: 268-276.
72. Williamson PJ, Kruger A, Reynolds PJ, Hamblin TJ, Oscier OG: Establishing the incidence of myelodysplastic syndromes. *Br J Haematol* 1987;65:307-311.
73. Aul C, Gatterman N, Schneider W: Age-related incidence and other epidemiological aspects of myelodysplastic syndrome. *Br J Haematol* 1992;82: 358-367.
74. Van den Berghe H, Vermaelen K, Mecucci C, Barbieri D and Tricot G: The 5q- anomaly. *Cancer Genetics and Cytogenetics* 1985;17: 189-225.
75. Boogaerts MA, Nielissen V, Roelant C, Goosens W: Blood neutrophil function in primary myelodysplastic syndromes. *Br J Haematol* 1983;55:217-227.
76. Cunningham J et al: The myelodysplastic syndromes: an analysis of prognostic factors in 226 cases from a single institution. *Br J Haematol* 1995;90: 602.
77. Pomeory C et al: Infection in myelodysplastic syndromes. *Am J Med* 1991;90: 338-344.
78. Morioka N et al: Neutrophilic dermatosis with myelodysplastic syndrome: nuclear segmentation anomalies of neutrophils in the skin lesion and in peripheral blood. *J Am Acad Dermatol* 1990;23:247-249.
79. Varma S et al: Sweet's syndrome in association with myelodysplastic syndrome. *Eur J Haematol* 1990;45:184-186.
80. Mufti GJ and Galton DAG, Eds: *The myelodysplastic syndromes*. Edinburgh, Churchill, Livingstone, 1992.

81. Colon-Otero G, Menke D, Hook CC: A practical approach to the differential diagnosis and evaluation of the adult patient in macrocytic anemia [review]. *Med Clin North Am*, 1992;76: 581-517.
82. Barti R, Frisch B, Baumgart R: Morphologic classification of the myelodysplastic syndromes (MDS). Combined utilization of the bone marrow aspirates and trephine biopsies. *Leuk Res* 1992;16:15-33.
83. Head DR: Kopecky K, Bennett JM, et al: Pathogenetic implications of internuclear bridging in myelodysplastic syndrome. An Eastern Cooperative Oncology/ Group/southwest Oncology Group Cooperative Study. *Cancer* 1989;64:2199-2202.
84. Hast R., Sideroblasts in myelodysplasia. Their nature and clinical significance [review]. *Scand J Haematol Suppl* 1986;45:53-55.
85. Garand R, Gardais J, Bizet M et al: Heterogeneity of acquired idiopathic sideroblastic anemia (AISA). *Leuk Res* 1992;16: 463-468.
86. Gattermann N, Aul C, Schneider W: Risk of leukemic transformation in two types of acquired idiopathic sideroblastic anemia (AISA). *Hematol Blut* 1990;33: 374-381.
87. Galton DA: The myelodysplastic syndromes. Part I. What are they? Part II. Classification [review]. *Scand J Haematol Suppl* 1986;45 : 11-20.
88. Widell S, Hellstrom-Lindberg E, Kock Y, et al: Peripheral blood neutrophil morphology reflects bone marrow dysplasia in myelodysplastic syndromes. *Am J Hematol* 1995;49:115-120.
89. Rosenthal DS and Molony WC: Refractory dysmyelopoietic anemia and acute leukemia. *Blood* 1984;63:314-318.
90. Rutu P: Granulocyte function in myelodysplastic syndromes [review]. *Scand J Haematol Suppl* 1986;45: 66-70.
91. Oguma S, Yoshida Y, Uchino H, et al: Infection in myelodysplastic syndromes before evolution into acute non-lymphoblastic leukemia. *Int J Hematol* 1994;60: 129-136.
92. Kuriyama K, Tononaga M, Matsuo T, et al: Diagnostic significance of detecting pseudo-Pelger-Heut anomalies and micro-megakaryocytes in myelodysplastic syndrome. *Br J Haematol* 1991;63:665-669.
93. Gerrard JN, McNicol A. Platelet storage pool deficiency, leukemia and myelodysplastic syndromes [review]. *Leuk Lymph* 1992;8: 277-281.
94. Raman BK, Van Slyck EJ, Riddle J, et al: Platelet function and structure in myeloproliferative disease, myelodysplastic syndrome, and secondary thrombocytosis. *Am J Clin Pathol* 1989;91: 647-655.
95. Coasguen JE, Bennett JM, Cox C, et al: Prognostic factors of myelodysplastic syndromes- A simplified 3-D scoring system. *Leuk Res* 1990; 14: 255-263.

96. Rosenfeld C, List A: An hypothesis for the pathogenesis of myelodysplastic syndromes: implications for new therapies. *Leukemia* 2000;14(1): 2-8.
97. Third MIC Cooperative Study Group: Morphologic, immunologic and cytogenetic (MIC) working classification of the primary myelodysplastic syndromes and therapy related myelodysplasias and leukemias. *Cancer Genet Cytogenet* 1987;32: 1-10.
98. Mecucci C: Molecular features of primary myelodysplastic syndromes with cytogenetic changes. *Leuk Res* 1998;22:293-302.
99. Willman CR: Molecular genetic features of myelodysplastic syndromes (MDS). *Leukemia* 1998; 12 Suppl 1: 52-56.
100. Karp JE, Smith MA: The molecular pathogenesis of treatment induced (secondary) leukemias: foundations for treatment and prevention. *Sem Oncol* 1997;24:103-113.
101. Greenberg P, Cox C, Lebeau M, Fenaux P, Morrelop, Sanz G, Sanz M, Vallespi T, Hamblin T, Oscier, Ohyashiki K, Toyama K, Aul C, Mufti G and Bennet J. International scoring System for evaluating prognosis in myelodysplastic syndromes. *Blood* 1997; 89(6):2079-2088.
102. White N, Nachera E, Asimakopoulos F, Bloxham D, Paul B, Green A: Deletion of chromosome 20q in myelodysplasia can occur in a multi-potent precursor of both myeloid and B.cells. *Blood* 1994; 83:2809-2816.
103. Haase D, Feuring-Buske M, Schafer C, et al: Cytogenetic analysis of the CD34+ subpopulations in AML and MDS characterized by the expression of the CD38 and CD117. *Leukemia* 1997; 11:647-649.
104. Le Beau MM, Espinosa R, Neuman WL, et al: Cytogenetic and molecular delineation of the smallest commonly deleted region of the chromosome 5 in malignant myeloid diseases. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993;90:5484-5488.
105. Johnson E, Cotter FE: Monosomy 7 and 7q- associated with myeloid malignancy. *Blood Rev* 1997;11: 46-55.
106. Sobulo DM, Borrow J, Tomek R, et al: MLL is fused to CBP, a histone acetyltransferase, in therapy- related acute myeloid leukemia with a t(11;16) (q23;p13.3). *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94: 8732-8737.
107. Lai JL, Preudhomme, Zandecki M, et al : Myelodysplastic syndromes and acute myeloid leukemia with 17p deletion : an entity characterized by specific dysgranulopoiesis and a high incidence of P53 mutations. *Leukemia* 1995;9: 370-381.
108. Prehal J, Thrpckmorton D, Carroll A, Fuson E, Gams R, Prehal T: A common progenitor for human myeloid and lymphoid cells. *Nature* 1978; 274: 501-591.
109. Wiemar J, Burchis J, De Gast G, Gerritsen W: Clonality in myelodysplastic syndromes. *Leuk Lymphoma* 1994;13:215-21.

110. Delforge M, Demuyehneck H, Verhoef G, et al. Patients with high risk myelodysplastic syndromes can have polyclonal or clonal haematopoiesis in complete haematological remission. *Br J Haematol* 1998;102: 486-494.
111. Patmasiriwat P, Fraiser G, Kantarjian H, Saunders GF: WT1 and GATA1 expression in myelodysplastic syndrome and acute leukemia. *Leukemia* 1999;13: 891-900.
112. Kitapawa M, Yamagushi S, Takahashi M, Tanizawa T, Hirokawa K, Karriyama R: Localization of Fas and Fas ligand in bone marrow cells demonstrating myelodysplasia. *Leukemia* 1998;12: 486-92.
113. Rajapaska R, Ginzton N, Rott LS, Greenberg PL: Altered omoprotein expression and apoptosis in myelodysplastic syndrome marrow cells. *Blood* 1996; 88(11): 4275-4287.
114. Gupta P, Niehans GA, LeRoy SC, et al: Fas ligand expression in the bone marrow in myelodysplastic syndromes correlated with FAB subtype and anemia, and predict survival. *Leukemia* 1999;13: 44-53.
115. Gershuk GM, Beckham C, Loken MR, et al: a role for tumor necrosis factor- α , Fas and Fas-ligand in marrow failure associated with myelodysplastic syndromes. *Br J Haematol* 1998;103:176-88.
116. Peddie CM, Wolf CR, McLellan LI, Collins AR, Bowen DT: Oxidative DNA damage in CD34+ myelodysplastic cells in associated with intracellular redox changes and elevated plasma tumor necrosis factor- α concentration. *Br J Haematol* 1997;99: 625-631.
117. Shetty V, Mundle S, Alri S, et al: Measurement of apoptosis, proliferation and three cytokines in 46 patients with myelodysplastic syndromes. *Leuk Res* 1999;20: 891-900.
118. Hellstrom-Lindeberg E, Kanter-Lewensohn L, Ost A: Morphological changes and apoptosis in bone marrow from patients with myelodysplastic syndromes treated with G-CSF and erythropoietin. *Leuk Res* 1997;21:415-425.
119. Ali A, Mundle S, Ragasa D, et al: Sequential activation of caspases during spontaneous apoptosis of bone marrow cells in myelodysplasia. *Blood* 1997;90: abstract 2321.
120. Parker LE, Fishlock KL, Mijoric A, Czepulkowski B, Pagliuca A, Mufti GJ: 'Low risk' myelodysplastic syndrome is associated with excessive apoptosis and an increased ratio of pro-versus anti-apoptotic bcl-2 related proteins. *Br J Haematol* 1998;103: 1075-82.
121. Davis RE, Greenberg PL: Bcl-2 expression by myeloid precursors in myelodysplastic syndromes: relation to disease progression. *Leuk Res* 1998 Sep; 22(9): 767-777.
122. Flores- Figueroa E, Gutierrez- Espindola G, Guerra-Rivera S, Pizzuto- Charez J, Mayani H: Hematopoietic progenitor cells from patients with myelodysplastic syndromes: in vitro colony growth and long term proliferation. *Leuk Res* 1999;23(4): 389-94.

123. Kitagawa M, Saito J, Kuwata T et al: Overexpression of tumor necrosis factor (TNF)- α and interferon (INF)- α by bone marrow cells from patients with myelodysplastic syndromes. *Leukemia* 1997;11:2049-2054.
124. Rios A, Canizo C, Sanz MA, et al: Bone marrow biopsy in myelodysplastic syndromes: Morphological characteristics and contributions to the study of prognostic factors. *Br J Haematol* 1990;75: 26-33.
125. Krause JR: Bone marrow biopsy. Edinburgh, Scotland, Churchill Livingstone, p.25, 1981.
126. Tricot G, De Wolf-Peeters C, Vlietinck R et al: Bone marrow histology in myelodysplastic syndromes.II. Prognostic value of abnormal localization of immature precursors in MDS. *Br J Haematol* 1984;58:217-225.
127. Mangi MH, Mufti GJ: Primary myelodysplastic syndromes: Diagnostic and prognostic significance of immunohistochemical assessment of bone marrow biopsies. *Blood* 1992;79:198-205.
128. Barret J, Saunthararajab Y, Moliderm J: Myelodysplastic syndrome and aplastic anemia: distinct entities or diseases linked by a common pathophysiology. *Seminars in Haematol* 2000;37:15-29.
129. Yoshida V: The aplasia- myelodysplasia enigma: a re-emerging question (editorial). *Int J Haematol* 1999;70: 65-67.
130. Soligo D, Delia D, Oriana A et al: Identification of CD34+ cells in normal and pathological bone marrow biopsies by QBEND 10 monoclonal antibody. *Leukemia* 1991;5:1026-1030.
131. Soligo D, Oriana A, Annaloro C, et al: CD 34 immunohistochemistry of bone marrow biopsies: Prognostic significance in primary myelodysplastic syndromes. *Am J Hematol* 1994;46:9-17.
132. Oertel J, Oertel B, Beyer J, et al: CD34 immunotyping of blasts in myelodysplasia. *Ann Hematol* 1994;68:77-80.
133. Sieff CA: Hematopoietic growth factors. *J Clin Invest* 79:1549-1557, 1987.
134. Greenberg PL: In vitro culture techniques defining biologic abnormalities in the myelodysplastic syndromes and myeloproliferative disorders. *Clin haematol* 1986;15: 973-993.
135. Nagler A, Ginzton N, Bangs C, et al: In vitro hemopoiesis in myelodysplastic syndrome patients treated with recombinant human granulocyte colony- stimulating factor. *Leukemia* 1995;9:30-39.
136. Chalevakis G, Karaoulis S, Yalouris AG, et al: Globin chain synthesis in myelodysplastic syndromes. *J Clin Pathol* 1991;44: 134-138.
137. Carpani G, Rosti A, Vorro N: T- lymphocyte subpopulation in myelodysplastic syndromes. *Acta Haematol* 1989;81: 173-175.
138. Copplestone JA, Mufti GJ, Hamblin TJ, et al: Immunological abnormalities in myelodysplastic syndromes. II. Coexistent lymphoid or plasma cell neoplasia. A report of 20 cases unrelated to chemotherapy. *Br J Haematol* 1986;63: 149-159.

139. Hoelzer D, Ganser A, Heimpel H: "Atypical" leukemias: Preleukemia, smoldering leukemia and hypoplastic leukemia. *Recent Results Cancer Res* 1984;93:69-101.
140. Ganser A, Hoelzer D: Clinical course of myelodysplastic syndromes. *Hematol Oncol Clin North Am* 1992;6:607-618.
141. Verhoef GEG, De Wolf- Peeters C, Van De Broeck J, et al: Update on the prognostic value of bone marrow histology in patients with myelodysplastic syndromes. *Blood* 1990; (suppl 1) (abstr) 76:332.
142. Μπουραντάς ΚΑ. Μαθήματα Αιματολογίας. Τυπογραφείο Πανεπιστημίου Ιωαννίνων. Ιωάννινα 1996.
143. Sanz GF, Sanz MA: Prognostic factors in myelodysplastic syndromes. *Leuk Res* 1992;16:77-86.
144. Mufti GJ, Stevens JR, Oscier DG, et al: Myelodysplastic syndromes. A scoring system with prognostic significance. *Br J Haematol* 1985;59: 425-433.
145. Aul C, Schneider W: Myelodysplastic syndromes. A prognostic factor analysis of 221 untrated patients. *Blut* 1988; (abstr) 57:234.
146. Varela GL, Chung C, Woll JE, et al: Modifications in the classification of primary myelodysplastic syndromes. The addition of a scoring system. *Haematol Oncol* 1985;3: 55-63.
147. Mufti G: Chromosomal deletions in myelodysplastic syndromes. *Leuk Res* 1992;15:35-41.
148. Yoshida Y: Hypothesis: apoptosis may be the mechanism responsible for the premature intramedullary cell death in the myelodysplastic syndrome. *Leukemia* 1993;7:144-146.
149. Parker JE, Fishlock KI, Czepulkowski B, Paglinca A, Mufti GJ: The relationship between Cd34+ cells apoptosis and proliferation alters during disease evolution in the myelodysplastic syndromes (MDS). *Br J Haematol* 1999;105: 69-.
150. Ganser A, Hoelzer D: Treatment of myelodysplastic syndromes with hematopoietic growth factors. *Hematol Oncol Clin North Am* 1992;6: 633-654.
151. Stebler C, Tichelli A, Dazzi H, et al: High dose recombinant human erythropoietin for treatment of anemia in myelodysplastic syndromes and paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: A pilot study. *Exp Hematol* 1990;18: 1204-1208.
152. Bhalla K, Birkhofer M, Arlin Z, et al: Effect of recombinant GM-CSF and IL-3 on the metabolism of cytosine arabinoside in normal and leukemic human bone marrow cells. *Leukemia* 1988;2: 810-813.
153. Negrin RS, Nagler A, Kobayashi Y, et al: Maintenance treatment of patients with myelodysplastic syndromes using recombinant human granulocyte colony stimulating factors. *Blood* 1990;76: 36-43.
154. Vaolhan-Raj S, Keating M, Le Maistre A, et al: Effects of recombinant human granulocyte macrophage colony stimulating factor in patients with myelodysplastic syndromes. *N Engl J Med* 1987;317: 1545-1552.

155. Shapiro S, Gershon H, Rosenbaum H, et al: Characterization of circulating erythrocytes from myelodysplastic syndromes treated with recombinant human erythropoietin. *Leukemia* 1993;7:1328-1333.
156. Kobayashi Y, Okabe T, Osawa K, et al: Treatment of myelodysplastic syndromes with recombinant human granulocyte colony-stimulating factor: A preliminary report. *Am J Med* 86:178-182, 1989.
157. Mauer AB, Ganser A, Seipelt G, Ottmann OG, Mentzel U, Geissler GR, Hoelzer D: Changes in erythroid progenitor cell and accessory cell compartments in patients with myelodysplastic syndromes during treatment with all- trans retinoic acid and haemopoietic growth factors. *Br J Haematol* 89: 449-456, 1995.
158. Bourantas KL et al: Treatment of 34 patients with myelodysplastic syndromes with 13-cis retinoic acid. *Eur J Haematol* 55:235- 239, 1995.
159. Aul C, Runde V, Gattermann N: All -trans retinoic acid in patients with myelodysplastic syndromes. Results of a pilot study. *Blood* 82:1967-1974, 1993.
160. Paquette RL, Koeffler HP: Differentiation therapy. *Hematol Oncol Clin North Am* 1992; 6: 687-706.
161. Ottmann OG, Ganser A, Seipelt G et al: Effects of recombinant human interleukin 3 on human hematopoietic progenitor and precursor cells in vivo. *Blood* 1990;76:1494-1502.
162. Autin JH, Weinberg DS, Rosenthal DS: Variable effect of recombinant human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor on bone marrow fibrosis in patients with myelodysplasia. *Exp Hematol* 1990;18: 266-270.
163. Ganser A, Lindemann A, Ottmann OG, et al: Sequential in vivo treatment with two recombinant human hematopoietic growth factors (interleukin-3 and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor) as a new therapeutic modality to stimulate hematopoiesis. *Blood* 1992;79: 2583-2591.
164. Legare RD, Gilliland DG: Myelodysplastic syndrome. *Curr Opin Hematol* 1995; 2:283-292.
165. Bernstein SF, Gilliland DG, Aster J, et al: A randomized trial of two doses of interleukin-3 in patients with myelodysplastic syndromes. *Leukemia* 1993;7: 696-701.
166. Ganser A, Ottmann DG, Seigelt G, et al: Effect of long-term treatment with recombinant human interleukin-3 in patients with myelodysplastic syndromes. *Leukemia* 1993;7: 696-701.
167. Bowen DT, Jacobs A, Cotes MP, et al: Serum erythropoietin and erythropoiesis in patients with myelodysplastic syndromes. *Eur J Haematol* 1990;44: 30-32.
168. Dührsen U, Hossfeld D: Hematopoietic growth factors and the treatment of tumor associated anemias. *Ann Hematol*, 1994;69: 213-221.

169. Di Raimondo F, Longo G, Cacciola E JR, Milone G, Palumbo GA, Cacciola RR, Alessi M, Gioustolisi R: A good response rate to recombinant erythropoietin alone may be expected in selected myelodysplastic patients. A preliminary clinical study. *Eur J Haematol* 1996;56:7-11.
170. Remacha AF, Arrizabalaga B, Villegas a et al: Identification of a subgroup of responders. The Spanish Erythropathology Group. *Haematologica* 1999;84(12):1058-1064.
171. Assano Y, Okamura s, Shibuya T, at al: Growth of clonogenic myeloblastic leukemia cells in the presence of human recombinant erythropoietin in addition to various human recombinant hematopoietic factors. *Blood* 1988;72: 1682-1686.
172. Uziel L, Fabrizi I, Zighetti ML, et al: A favourable effect of recombinant human erythropoietin in three cases of leukaemic transformation from chronic myelomonocytic leukemia. *Br J Haematol* 1992;80: 260-262.
173. Hellström-Lindeberg E, Ahlgren T, Beguin Y, et al: Treatment of anemia in myelodysplastic syndromes with granulocyte colony-stimulating factor plus erythropoietin: results from a randomized phase II study and long-term follow-up of 71 patients. *Blood* 1998; 92: 68-75.
174. Negrin RS, Stein R, Doherty K, Cornwell J, Vardiman J, Krantz S and Greenberg PL: Maintenance Treatment of the anemia of myelodysplastic syndromes with recombinant human granulocyte colony-stimulating factor and erythropoietin: Evidence of in vivo synergy. *Blood* 1996;87(10):4076-4081.
175. Voulgari PV, Hatzimichael EC, Tsiara S, Tzallas C, Drossos AA, Bourantas KL: Investigation for the presence of anti-erythropoietin antibodies in patients with myelodysplastic syndromes. *Eur J Haematol* 2001;66(1): 31-36.
176. Hellström-Lindeberg E, Negrin R, Stein R, et al: Erythroid response to treatment with G-CSF plus erythropoietin for the anemia of patients with myelodysplastic syndromes: proposal for a predictive model. *Br J Haematol* 1997;99: 344-351.
177. Smith MA, Parkinson DR, Cheson BD, et al: Retinoids in cancer therapy. *J Clin Oncol* 1992;10:839-864.
178. Ohno R: Differentiation therapy of myelodysplastic syndromes with retinoic acid . *Leuk Lymphoma* 1994;14: 401-409.
179. Kizaki M, Koefler HP: Differentiation- inducing agents in the treatment of myelodysplastic syndromes. *Sem Oncol* 1992;19: 95-105.
180. Wijermans PW, Lubbert M, Verhoef G, Bosley A, Ravoet C, Andre M, Kerrant A: Low dose 5-aza-2-deoxycytidine, a DNA hypomethylating agent, for the treatment of high risk myelodysplastic syndrome: a multicenter phase II study in elderly patients. *J Clin Oncol* 2000;18: 956-962.

181. Kornblith AB, Herndon L, Silverman LR, et al: the impact of 5-azacytidine on the quality of life of patients with myelodysplastic syndromes (MDS) treated in a randomized phase III trial of the Cancer and Leukemia Group B (CALGB). *Proc Am Soc Clin Oncol* 1998; 17: 49a.
182. Bourantas KL, Tsiara S, Christou L. Treatment of 34 patients with myelodysplastic syndromes with 13 cis-retinoic acid. *Hematol* 1995;55(4): 235-239.
183. Gore SD, Miller CB, Weng LJ, et al: Clinical development of sodium phenylbutyrate as a putative differentiating agent in myeloid malignancies. *Anticancer Res* 1997;17: 3938a.
184. List AF, Brasfield F, Heaton R, Glinssmann-Gibson B, Crook I, Taetle R, Capizzi R: Stimulation of hematopoiesis by Amifostine in patients with myelodysplastic syndromes. *Blood* 1997;90: 3364-3369.
185. Bowen DT, Denzlinger C, Brugger W et al: Poor response rate to a continuous schedule of Amifostine therapy for 'low/intermediate risk' myelodysplastic patients. *Br J Haematol* 1998;103: 785-787.
186. Koeffler HP, Hirji K, Itri L, et al: 1,25-dihydroxyvitamin D₃: In vivo and in vitro effects on human preleukemic and leukemic cells. *Cancer Treat Rep* 1985;69: 1399-1407.
187. Paquette RL, Koeffler HP: Differentiation therapy. *Hematol Oncol Clin North Am* 1992;6: 687-706.
188. Zhon JY, Norman AW, Chen DL, et al: 1,25(OH)₂-16ene-23yne vitamin D₃ prolongs survival time of leukemic mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990;87: 3929-3932.
189. Hassan HT, Grell S, Borrmann-Dansoll, et al: Effect of recombinant human interferons in inducing differentiation of acute megakaryoblastic leukemia blast cells. *Leuk Lymphoma* 1995; 16: 329-333.
190. Broxmeyer HE, Lu L, Platzer E, et al: Comparative analysis of the influences of human gamma, alpha and beta interferons on human multipotential (CFU-GEMM), erythroid (BFU-E) and granulocyte-macrophage (CFU-GM) progenitor cells. *J Immunol* 1983;131: 1300-1305.
191. Gisslinger H, Chott A, Likersch W, et al: Long term alpha interferon therapy in myelodysplastic syndromes. *Leukemia* 1990;4: 91-94.
192. Hellstrom-Lindeberg E, Robert KH, Garhrton G et al: A predictive model for clinical response to low dose Ara-C: A study of 102 patients with myelodysplastic syndromes or acute leukemia. *Br J Haematol* 1992;81: 503-511.
193. Miller KB, Kim K, Morrism FS et al: The evaluation of low dose cytarabine in the treatment of myelodysplastic syndromes. A phase III intergroup study. *Am Hematol* 1992;65: 162-168.
194. Kodama K, Morozumi M, Saitoh K, et al: Antitumor activity and pharmacology of 1-β-D-arabinofuranosylcytosine-5-stearylphosphate. An orally active derivative of 1-β-D-arabinofuranosylcytosine. *Jpn J Cancer Res* 1989;80:679-685.

195. Ohno R, Tatsumi N, Hirano M et al: Treatment of myelodysplastic syndromes with orally administered 1- β -D-arabinofuranosylcytosine-5-stearylphosphate. *Oncology* 1991;48:451-455.
196. Gerhartz HH et al: Phase III study of low dose araC alone vs LD-araC+IL3 in advanced myelodysplasia (EORTC-LCG protocol No, 06903). *Blood* 1996;88(suppl 1):580a.
197. Denzlinger C, Benz D, Bowen D, Gelly K, Brugger W, Kanz L: Low dose melphalan induces favourable responses in elderly people with high risk myelodysplastic syndromes or secondary leukemia. *Br J Haematol* 2000;108: 93-95.
198. Estey EH: New agents for the treatment of acute myelogenous leukemia: focus on topotecan and retinoids. *Leukemia* 1998;12Suppl 1: S13-15.
199. Wattel E, Guersi A, Hecquet B, Economopoulos T, et al: A randomized trial of hydroxyurea vs VP16 in adult chronic myelomonocytic leukemia. *Blood* 1996;88: 2480-2487.
200. Raza A, Qawi H, Lisak L et al: Patients with myelodysplastic syndromes benefit from palliative therapy with amifostine, pentoxifylline and ciprofloxacin with or without dexamethasone. *Blood* 1997;99: 699-705.
201. Armitage O, Dick FR, Needleman SW, et al: Effect of chemotherapy for the dysmyelopoietic syndrome. *Cancer Treatm Rep* 1981;65: 601-605.
202. Mertelsmann R, Thaler HT, To L, et al: Morphological classification, response to therapy, and survival in 263 adult patients with acute nonlymphoblastic leukemia. *Blood* 1980;56: 773-781.
203. Tricot G, Boogearns MA: The role of aggressive chemotherapy in the treatment of the myelodysplastic syndromes. *Br J Haematol* 1986;63: 477-483.
204. Estey E, Thall P, Andreeff M, et al: Use of granulocyte colony-stimulating factor before, during and after fludarabine plus cytarabine induction therapy of newly diagnosed acute myelogenous leukemia or myelodysplastic syndromes: Comparison with fludarabine plus cytarabine without granulocyte colony-stimulating factor. *J Clin Oncol* 1994;12: 671-678.
205. Ganser A, Heil G, Kolbe K, et al: Aggressive chemotherapy combined with G-CSF and maintenance therapy with interleukin-2 for patients with advanced myelodysplastic syndrome, subacute or secondary acute myeloid leukemia- Initial results. *Am Hematol* 1993;66: 123-125.
206. Fenaux P, Morel P, Rose C, et al: Prognostic factors in adult de novo myelodysplastic syndromes treated by intensive chemotherapy. *Br J Haematol* 1991;77: 497-501.
207. De Witte T, Muus P, De Pauw B, et al: Intensive chemotherapy for patients with myelodysplastic syndrome and acute myelogenous leukemia younger than 65 years. *Bone Marrow Transplant* 1989;4 (suppl 3): 33-35.
208. Estey E, Thall P, Beran M, Kantarjian H, Pievre S, Keating M: Effect of diagnosis (refractory anemia with excess blasts, refractory anemia with excess blasts in transformation, or acute myeloid leukemia (AML) on outcome of AML-type chemotherapy. *Blood* 1997;90(8): 2969-2977.

209. Ferrara F, Leoni F, Pinto A et al: Fludarabine, cytarabine, G-CSF and idarubicin (FLAG-IDA) for the treatment of high risk myelodysplastic syndromes. *Cancer* 1999;86: 2006-2013.
210. Beran M, Estey EH, O'Brien S et al: Topotecan and cytarabine is an active combination regimen in myelodysplastic syndromes and chronic myelomonocytic leukemia. *J Clin Oncol* 1999;17: 2819-2830.
211. Anderson JE, Appelbaum FR, Storb R: An update on allogeneic bone marrow transplantation for myelodysplastic syndrome. *Leuk Lymph* 1995;17: 95-99.
212. Marmont AM, Horowitz MM for the International Bone Marrow transplantation registry (IBMTR): Outcome of allogeneic bone marrow transplantation for myelodysplastic syndromes. *Bone Marrow Transplant* 1990;5 (suppl 2): 71.
213. Anderson JE, Appelbaum FR, Fisher LD, et al: Allogeneic bone marrow transplantation for 93 patients with myelodysplastic syndrome. *Blood* 1993;82: 677-681.
214. De Witte T, Zwann F, Hermans J, et al: Allogeneic bone marrow transplantation for secondary leukemia and myelodysplastic syndrome: A survey by the Leukemia working Party of the European Bone Marrow Transplantation group (EBMT). *Br J Haematol* 1990;74: 151-157.
215. Demuyneck H, Verhoef G, Emonds MD, Van der Schueren et al: Treatment of patients with myelodysplastic syndromes with allogeneic bone marrow transplantation from genotypically HLA-identical siblings and alternative donors. *Bone Marrow Transplant* 1996;17: 745-751.
216. Bjerke J, Anasetti C, Gooley T et al: Unrelated donor bone marrow transplantation for refractory anemia. *Blood* 1995;92 (suppl 1): 142a.
217. De Witte T, Suci S, Booghearts M, et al: Autologous or allogeneic stem cell transplantation (SCT) for high risk MDS and AML secondary to MDS (sAML) in patients <60 years. A joint study of the EORTC and the EBMT leukaemia groups (#2458). *Blood* 1995;86 (suppl 1): 618.
218. Delforge M, Demuyneck H, Van den Berghe P, et al: Polyclonal primitive hematopoietic progenitors can be detected in mobilized peripheral blood from patients with high risk myelodysplastic syndromes. *Blood* 1995;86: 3660-3667.
219. Hoffman R, Benz E, Shatt S, Furie B, Cohen L, Silberstein. *Hematology: Basic Principles and practice*. Second Edition, Churchill-Livingstone, 1996.
220. Charin C: Cytogenetic abnormalities in adult acute lymphoblastic leukemia: Correlations with hematologic findings and outcome. A collaborative study of the group Français de Cytogenetique. *Blood* 1996;87: 3135-3142.
221. Wetzler M, Dodge RK, Mrozek k et al: Prospective karyotype analysis in adult acute lymphoblastic leukemia: The Cancer and Leukemia Group B experience. *Blood* 1999;93: 3983-3993.

222. Hoelzer D, Thiel E, Ludwig WD et al: Follow-up of the first two successive German multicentre trials for adult ALL (01/81 and 02/84) German adult ALL Study Group. *Leukemia* 1993;7(suppl 2): S130-134.
223. Thienbaut A, Vermont JP, Degos L, et al: Adult acute lymphoblastic leukemia study testing chemotherapy and autologous and allogeneic transplantation. A follow-up report of the French protocol LALA 87. *Hematol Oncol Clin North Am* 2000;14: 1353-166.
224. Durant IJ, Prentice HG, Richards SM: Intensification of treatment for adults with acute lymphoblastic leukemia: results of the UK Medical Research council randomized trial UKALL XA. *Br J Haematol* 1997;99: 84-92.
225. Bigger JC, Horowitz MM, Gale RP, et al: Bone Marrow Transplants may cure patients with acute leukemia never achieving remission with chemotherapy. *Blood* 1992;80(4): 1090-1093.
226. Blume KG, Forman SJ, Krance RA, Henke M, Findley DO, Hill LR. Bone marrow transplantation for acute leukemia. *Hematol Und Blut Transfus* 1985;29: 39-41.
227. Gleissner B, Gokbuget N, Bartram CR, et al: Leading prognostic relevance of the BCR-ABL translocation in adult acute B-lineage lymphoblastic leukemia: a prospective study of the German Multicenter Trial Group and confirmed polymerase chain reaction analysis. *Blood* 2002;99: 1536-1543.
228. Allogeneic bone marrow transplantation for patients with high risk acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Oncol* 1990; 8: 820-830.
229. Arico M, Valsecchi MG, Camitta B, et al: Outcome of treatment in children with Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia. *N Engl J Med* 2000;342: 998-1006.
230. Todeschini G, Tecchio C, Meneghini V, et al: Estimated 6-year event free survival of 55% in 60 consecutive adult acute lymphoblastic leukemia patients treated with an intensive phase II protocol based on high induction dose of daunorubicin. *Leukemia* 1998;12: 144-149.
231. Sandler DP: Epidemiology of acute myelogenous leukemia. *Semin Oncol* 1998;14:359- 364.
232. Schwartz CL, Cohey HJ: Preleukemic syndromes and other syndromes predisposing to leukemia. *Pediatr Clin North Am* 1988; 35: 853-871.
233. Mac-Mahon B, Levy MA: Prenatal origin of childhood leukemia: Evidence from twins. *N Engl J Med* 270: 1082-, 1964.
234. Pui C et al: Secondary acute myeloid leukemia in children with acute nonlymphoblastic leukemia. *N Engl J Med* 1984; 321: 136.
235. Ladanyi M et al: Cytogenetic and immunohistochemical evidence for the germ cell origin of a subset of acute leukemias associated with mediastinal germ cell tumors. *JNCI* 1990;82: 221-227.
236. Garfinkel L, Boffetta P: Association between smoking and leukemia in two American Cancer Society prospective studies. *Cancer* 1990;65: 2356-2360.

237. Shimizu Y, Kato H, Schull WJ, Preston DL, Fujita S et al: Studies of the mortality of A-bomb survivors.9. Mortality 1950-1985: Part 1. Comparison of risk coefficients for site-specific cancer mortality based on the DS86 and T65DR shielded Kerma and organ doses. *Radiat Res.* 1989;11(3):502-524.
238. Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT, et al: Proposed revised criteria for the classification of acute myeloid leukemia. A report of the French-American-British Cooperative Group. *Ann Intern Med* 1985;103(4): 620-625.
239. Cheson BD, Cassileth PA, Head DR, et al: report of the National Cancer institute sponsored workshop on definition of diagnosis and response in acute myeloid leukemia. *J Clin Oncol* 1990;8(5): 813-819.
240. Béné MC, Bernier M, Casasnovas RD, et al: Acute myeloid leukemia M0: a haematological, immunophenotypic and cytogenetic characteristics and their prognostic significance: an analysis of 241 patients. *Br J Haematol* 2001;113(3): 737-745.
241. Golomb HM, Rowley JD, Vardimann JW, et al: "Microgranular" acute promyelocytic leukemia: a distinct clinical, ultra structural, and cytogenetic entity. *Blood* 1980;55(2): 253-259.
242. Larson RA, Williams SF, Le Beau MM, et al: Acute myelomonocytic leukemia with abnormal eosinophils and inv(16) or t(16;16) has a favorable prognosis. *Blood* 68(6): 1242-1249, 1986. Tallman MS, Neuberg D, Bennett JM et al: Acute megakaryocytic leukemia: The Eastern Cooperative Oncology Group experience. *Blood* 2000;96(7): 2405-2411.
243. Larson RA, Williams SF, Le Beau MM, et al: Acute myelomonocytic leukemia with abnormal eosinophils and inv(16) or t(16;16) has a favorable prognosis. *Blood* 1986; 68(6): 1242-1249.
244. Baer MR, Bloomfield CD: The clinical significance of biological characteristics of the cells in acute myeloid leukemia. *Annu Rev Med* 1991;42: 381-389.
245. Schwarzingler J et al: Prognostic significance of surface marker expression on blasts of patients with de novo acute myeloblastic leukemia. *J Clin Oncol* 1990;8: 423-430.
246. Bishop JF, Lowenthal RM, Joshua Det al: Etoposide in acute nonlymphocytic leukemia. Australian Leukemia study group. *Blood* 1990;75(1): 27-32.
247. Berman E, Heller G, Santorsa J, et al: Results of a randomized trial comparing idarubicin and cytosine arabinoside with daunorubicin and cytosine arabinoside in adult patients with newly diagnosed acute myelogenous leukemia. *Blood* 1991;77(8): 1666-1674.
248. Schoch C, Haferlach T, Haase D, et al: German AML Cooperative study group: Patients with de novo acute myeloid leukemia and complex karyotype aberrations show a poor prognosis despite intensive treatment: a study of 90 patients. *Br J Haematol* 2001;112(1):118-126.
249. Frankel SR, Eardley A, Heller G, et al: All-trans retinoic acid for acute promyelocytic leukemia. Results of the New York study. *Ann Intern Med* 1994;120(4): 278-286.

250. Frankel SR, Eardley A, Lauwers G, et al: The "retinoic acid syndrome" in acute promyelocytic leukemia. *Ann Intern Med* 1992;117(4): 292-296.
251. Scheinberg DA, Maslak P, Weiss M: Acute Leukemias In: Derita VT, Hellman S, Rosenberg SA, eds.: *Cancer: Principles and Practice of Oncology*. 6th ed. Philadelphia, Pa: Lippincott Williams & Wilkins, pp 2404-2432, 2001.
252. Hughes WT, Armstrong D, Bodey GP, et al: From the Infections Diseases Society of America. Guidelines for the use of antimicrobial agents in neutropenic patients with unexplained fever. *J Infect Dis* 1990 ;161(#): 381-396.
253. Geller RB : Use of cytokines in the treatment of acute myelocytic leukemia: a critical review. *J Clin Oncol* 1996;14(4): 1371-1382.
254. Prevention of Bacterial infection in neutropenic patients with hematologic malignancies. A randomized, multicenter trial comparing norfloxacin with ciprofloxacin. The GIMEMA Infections Program Gruppo Italiano Malattie Ematologiche Maligne dell'Adulto. *Am Intern Med* 1991;115(1): 7-12.
255. Vaughan WP, Karp JE, Burke PJ: Long chemotherapy free remission after single-cycle timed sequential chemotherapy for acute myelocytic leukemia. *Cancer* 1980;45(5): 859-865.
256. Mayer RJ, Davis RB, Schiffer CA, et al: Intensive chemotherapy in adults with acute myeloid leukemia. Cancer and Leukemia Group B. *N Engl J Med* 1994;331(14): 896-903.
257. Baker WJ, Rayer GL, weiss RB: Cytarabine and neurologic toxicity. *J Clin Oncol* 1991;9(4): 679-693.
258. Haupt HM, Hutchins GM, Moore GW: Ara-C lung: Noncardiogenic pulmonary edema complicating cytosine arabinoside therapy of leukemia. *Am J Med* 1981;70(2):256-261.
259. Gassileth PA, Anderson J, Lazarus HM, et al: Autologous bone marrow transplantation for acute myeloid leukemia in first remission. *J Clin Oncol* 1993;11(2): 314-319.
260. Zi Houn RA, Mandelli F, Willemze R, et al: Autologous or allogeneic bone marrow transplantation compared with intensive chemotherapy in acute myelogenous leukemia. European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC) and the Gruppo Italiano Malattie Ematologiche Maligne dell'Adulto (GIMEMA), Leukemia Cooperative Groups. *N Engl J Med* 1995;332(4): 217-223.
261. Biggs JC, Horowitz MM, Gale RP, et al: Bone marrow transplants may cure patients with acute leukemia never achieving remission with chemotherapy. *Blood* 1992;80(4): 1090-1093.
262. Petersen FB, Lynch MH, Clift RA, et al: Autologous bone marrow transplantation for patients with acute myeloid leukemia in untreated first relapse or in second complete remission. *J Clin Oncol* 1993;11(7): 1353-1360.
263. Gale PR et al: Chronic lymphocytic leukemia. Recent advances in biology and treatment. *Ann Intern Med* 1985;103:301.

264. Juliusson G, Gharion G: Chromosome aberrations in B cell chronic lymphocytic leukemia. *Cancer Genet Cytogenet* 1990;45:143-160.
265. Boggs DR, Sofferma Sa, Wintrobe MM, Cartwright GE: Factors influencing the duration of survival of patients with chronic lymphocytic leukemia. *Am J Med* 1966;40(2): 243-254.
266. Boggs DR, Fui E: Clinical studies of fever and infection in cancer. *Cancer* 1960;13: 1240.
267. Frisch B, Bartl R: Histologic classification and staging of chronic lymphocytic leukemia. *Acta Heaematol (Barel)* 1988;79: 140-152.
268. Han T et al: Prognostic significance of karyotypic abnormalities in B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Semin Hematol* 1987;24: 257-263.
269. Gray JL et al: Bone marrow and peripheral blood lymphocytosis in the prognosis of chronic lymphocytic leukemia. *Cancer* 1974;33:1169-1178.
270. Foon KA et al: Chronic lymphocytic leukemia: New insights into biology and therapy. *Ann Intern Med* 1990;113: 525-539.
271. Hayakawa K, Hardy RR: Normal, autoimmune and malignant CD5+ B cells. The Ly-1 B linkage? *Annu Rev Immunol* 1988;6: 197-218.
272. Wen T et al: Presence of clonal T cell population in chronic B lymphocytic leukemia and smoldering myeloma. *J Exp Med* 1990;171: 659-666.
273. Rai KR, Han T: prognostic factors and clinical staging in chronic lymphocytic leukemia. *Hematol Oncol Clin North Am* 1990;4: 447-456.
274. Binet JL et al: Chronic lymphocytic leukemia: recommendations for diagnosis, staging and response criteria. *Amm Intern Med* 1989;110: 236.
275. Montserrat E: Natural history of chronic lymphocytic leukemia. Implications for clinical management. *Haematologica* 2002;87(suppl 11): 9-11.
276. Sarfati M, Chevret S, Chastang C, Biron G, Stryckmans P, Delespesse G, et al: Prognostic importance of Serum soluble CD23 level in chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 1996;88: 4259-4264.
277. Hallek M, Langenmayer I, Nerl C, Knauf N, Dietzfelbinger H, Adorf D, et al: Elevated serum thymidine kinase levels identify a subgroup at high risk of disease progression in early non-smoldering CLL. *Blood* 1999;93: 1732-1737.
278. Hillmen P: Mablampath in chronic lymphocytic leukemia. *Hematologica* 2002;87 (Suppl 110): 47-49.
279. Keating M, Manshour T, O'Brien S, Wiendra W, Kantarjian H, Washington L, et al: A high proportion of molecular remission can be obtained with a fludarabine, cyclophosphamide, rituximab combination (FCR) in chronic lymphocytic leukemia (CLL). *Blood* 2002;11: a771(abstract).

280. Rai KR, Byrd JC, Peterson BL, Larson RA: A phase II trial of fludarabine followed by alemtuzumab (Campath-1H) in previously untreated chronic lymphocytic leukemia (CLL) patients with active disease: Cancer and Leukemia group b (CALGB) Study 19901. *Blood* 2002;100: a772 (abstract).
281. Rai KR, O'Brien, Cunningham c, Turkina AG, Ochoa L, Frankel SR, et al: Genasense (Bcl-2 Antisense) monotherapy in patients with relapsed or refractory chronic lymphocytic leukemia, phase I and II Results. *Blood* 2002;100: a1490 (abstract).
282. Cheson BD: New drugs: can they cure CLL? *Hematologica* 2002;87 (suppl 11): 56-58.
283. Byrd JC, Peterson BL, Morrison VA, Park K, Jacobson R, Hoke E, et al: Randomised 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 B9712 (GALGB 9712). *Blood* 2003;101: 6-14.
284. Estere J, Montserrat E, Dreger P, Meloni G, Pavletic S, Catovsky, et al: Stem cell transplantation (SCT) for chronic lymphocytic leukemia (CLL): outcome and prognostic factors after autologous and allogeneic transplants. *Blood* 2001;98 (suppl 1): 859.
285. Montserrat M: Should we transplant CLL? *Proceedings from Leukemia 2002. Towards the cure in leukemia & lymphoma* 2003; Suppl 44: S40.
286. Ries LAG, Miller BA, Hankey BF, Kosary CL, Havras A, Edwards BK (eds): *SEER Cancer Statistics Review, 1973-1991: Tables and Graphs*. Bethesda MD. National Cancer Institute 1994;NIH Pub. No. 94-2789, P.234.
287. Tew KD, Houghton PJ: *Preclinical and Clinical Modulation of Anticancer Drugs*. Boca Raton, FL: CRC Press, 1993.
288. Persson I, Johansson L, Ingelman Sundberg M: In vitro kinetics of two human CYP1A1 variant enzymes suggested to be associated with interindividual differences in cancer susceptibility. *Biochem Biophys Res Commun* 1997;231: 227-230.
289. Hanna IH, Dawling S, Roodi N, Guengerich FP, Par IFF: Cytochrome P450 1B1 (CYP 1B1) pharmacogenetics: association of polymorphisms with functional differences in estrogen hydroxylation activity. *Cancer Res* 2000;60: 3440-3444.
290. Raunio H, Rautio A, Gullsten H, Pelkonen O: Polymorphisms of CYP 2A6 and its practical consequences. *Br J Clin Pharmacol* 2001;52:357-363.
291. Ekins S, Wrighton SA: The role of CYP 2B6 in human xenobiotic metabolism. *Drug Metab Rev* 1999;31: 719-754.
292. Goldstein JA: Clinical relevance of genetic polymorphisms in the human CYP 2C subfamily. *Br J Clin Pharmacol* 2001;52: 349-355.
293. Leathart JBS, London SJ, Adams JD, Idle JR, Daly AK: CYP 2D6 phenotype-genotype relationships in African-Americans and Caucasians. *Pharmacogenetics* 1998; 8:529-542.

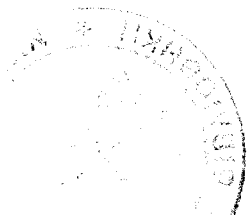
294. Pattern CJ, Thomas PE, Gun RL et al: Cytochrome P450 enzymes involved in acetaminophen activation by rat and human liver microsomes and their kinetics. *Chem Res Toxicol* 1993; 6: 511-518.
295. Evans DAP: N-acetyltransferase. *Pharmacol Ther* 1989;42: 157-234.
296. Hirvonen A: Polymorphic NATs and cancer predisposition in Vineis P. et al (Eds). *Metabolic polymorphisms and susceptibility to cancer*. Lyon, pp. 251-270, 1999.
297. Relling MV, Hancock ML, Rivere GK et al: Mercaptopurine therapy intolerance and heterozygosity at the thiopurine S-methyltransferase gene locus. *J Natl Cancer Inst* 1999;91: 2110-2008.
298. Relling MV, Rubnitz JE, Rivera GK, et al: High incidence of secondary brain tumors after radiotherapy and antimetabolites. *Lancet*;354: 34-39.
299. Booth J, Boyland E, Sims P: An enzyme from rat liver catalyzing conjugations with glutathione. *Biochem J* 1961;79: 516-524.
300. Guengerich FP: Enzymatic oxidation of xenobiotic chemicals. *CRC Crit Rev Biochem Mol Biol* 1990;25: 97-153.
301. Hayes JD and Pulford DJ: The glutathione S-transferase supergene family. Regulation of GST and the contributions of the isoenzymes to chemoprotection and drug resistance. *CRC Crit Rev Biochem Mol Biol* 1995;30: 445-600.
302. Van Heen HW and Konings WN: Multidrug transporters from bacteria to man: similarities in structure & function. *Semin Cancer Biol* 1997;8: 183-191.
303. Mc Lellan LI and Wolf CR: Glutathione and glutathione-dependent enzymes in cancer drug resistance. *Drug Resist Update* 1999;2: 153-164.
304. Sheehan D, Meade G, Foley VM and Dowd CA: Structure, function and evolution of glutathione transferases: implications for classification of non-mammalian members of an ancient enzyme superfamily. *Biochem J* 2001;360: 1-16.
305. Dirr HW, Reinemer Pand Huber R: X-ray crystal structures of cytosolic glutathione S-transferases. Implications for protein architecture, substrate recognition and catalytic function. *Eur J Biochem* 1994;220: 645-661.
306. Liu S, Zhang P, Ji X, Johnson WW, Gilliland GL and Armstrong RN: Contribution of tyrosine 6 to the catalytic mechanism of isoenzymes 3-3 of glutathione S-transferase. *J Biol Chem* 1992;267: 4296-4299.
307. Strange RC, Fryer AA: The glutathione S-transferases: Influence of polymorphisms on susceptibility to cancer. In Boffetta P, Caporaso N, Cuzik J, Lang M, Vineis P. (Eds). *Metabolic Polymorphisms and Cancer*. IARC Scientific publications, Lyon. No.148 ; 231-249, 1999.

308. Board PG: Identification of cDNAs encoding two human alpha class glutathione transferases (GSTA3 and GSTA4) and the heterologous expression of GSTa4-4. *Biochem J* 1998;330: 827-831.
309. Xu S, Wang Y, Roe B, Pearson WR: Characterisation of the human class mu glutathione S-transferase gene cluster and the GSTM1 deletion. *J Biol Chem* 1998; 273: 3517-3527.
310. Smith G, Stanley LA, Sim E, Strange RC and Wolf CR: Metabolic polymorphisms and cancer susceptibility. *Cancer Surv* 1995;25: 27-65.
311. Seidegard J, Pero RW, Markowitz MM, Roush G, Miller DG, Beattie FJ: Isoenzymes of glutathione transferase (class Mu) as a marker for the susceptibility to lung cancer: a follow up study. *Carcinogenesis* 1990;11: 33-36.
312. Lin HJ, Han C-Y, Bernstein Da, Hsia OW, Lin BK, Hardy S: Ethnic distribution of the glutathione transferases Mu1-1 (GSTM1) null genotype in 1473 individuals and application to bladder cancer susceptibility. *Carcinogenesis* 1994;15: 1077-1081.
313. Bell DA, Taylor JA, Paulson DF, Robertson CN, Mohler JL, Lucier GW: Genetic risk and carcinogen exposure: a common inherited defect of the carcinogen- metabolism gene glutathione S-transferase M1 (GSTM1) that increases susceptibility to bladder cancer. *J Natl Cancer Inst* 1993;85: 1159-1164.
314. Pemble S, Schroeder KR, Spencer SR, Meyer DJ, Hallier E, Bolt HM, Kettere B, Taylor JB: Human glutathione S-transferase theta (GSTT1): cDNA cloning and the characterization of a genetic polymorphism. *Biochem J* 1994; 300: 271-276.
315. Lee ETD, Wong JYY, yeoh PN, Gong NH: Glutathione S-transferase θ (GSTT) genetic polymorphism among Chinese, Malays and Indians in Singapore. *Pharmacogenetics* 1995;5: 332-334.
316. Harries LW, Stubbins MJ, Forman D, Howard GCW, Wolf CR: Identification of genetic polymorphism at the GSTP1 locus and association with susceptibility to bladder, testicular and prostate cancer. *Carcinogenesis* 1997;18: 641-644.
317. Yin Z, Ivanov VN, Habelsah H, Tew KD and Ronai Z: Glutathione S-transferase protects against H_2O_2 - induced cell death via coordinated regulation of stress kinases. *Cancer Res* 2000;60: 4053-4057.
318. Board PG, Baker RT, Chelvanayagam G, Jermin LS: Zeta, a novel class of glutathione S-transferases in a range of species from plants to humans. *Biochem J* 1997;328: 929-935.
319. Anderson ME: Glutathione: an overview of biosynthesis and modulation. *Chem. Biol Interact* 1998;11(2): 1-14.
320. Meister A, Anderson ME: Glutathione. *Ann Rev Biochem* 1983;52: 711-760.
321. Bannai S, Christensen HN, Vadgama JV, Ellory JC, Englesberg E, Guidotti GG, Cazzola GC et al: Amino acid transport systems. *Nature* 1984;311(5984): 308.

322. Bella DL, Hirschgerger LL, Hosokawa Y and Stipanuk MH: Mechanisms involved in the regulation of key enzymes of cysteine metabolism in rat liver in vivo. *Am J Physiol* 1999;276: e326-35.
323. Ranganathan S, Walsh ES, Godwin AK and Tew KD: Cloning, sequencing and expression of human colon glyoxalase-I. *J Biol Chem* 268: 5661-5667, 1993.
324. Tew KD: Glutathione-associated Enzymes In Anticancer Drug Resistance. *Cancer Research* 1994;54: 4313-4320.
325. Rebbeck TR: Molecular epidemiology of the human glutathione S-transferase genotypes GSTM1 and GSTT1 in cancer susceptibility. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1997; 6: 733-743.
326. Liu YH, Taylor I, Linko P, Lucier GW, Thompson L: Glutathione S-transferase μ in human lymphocyte and liver: role in modulating formation of carcinogen derived DNA adducts. *Carcinogenesis* 1993;12: 2269- 2275.
327. Moisio AL, Sistonen P, Mecklin JR, Jarninen H, Peltomaki P: Genetic Polymorphisms in carcinogen metabolism and their association to hereditary nonpolyposis colon cancer. *Gastroenterology* 1998;115: 1387-1394.
328. Goto I, Yoneda S, Yamamoto M, Kawajiri K: Prognostic significance of germ line polymorphisms of the CYP A1 and glutathione S-transferase genes in patients with non-small cell lung cancer. *Cancer Res* 1996;56: 3725-3730.
329. Hall AG, Autzen P, Cattan AR, Malcolm AJ, Cole M, Kernhan J, Reid MM: Express of mu class glutathione S-transferase correlates with event-free survival in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Cancer Res* 1994;54: 5251-5254.
330. Howells RE, Dhar KK, Hoban PR, Jones PW, Fryer AA, et al: Association between glutathione S-transferase GSTP1 genotypes, GSTP1 overexpression, and outcome in epithelial ovarian cancer. *Int J Gynecol Cancer* 2004;14(2):242-250.
331. Goldstein LI, Galski H, Fojo A, Willingham M, Lai SL, Gazdar a et al: Expression of a multidrug resistance gene in human cancers. *J Natl Cancer Inst* 81: 116-124, 1989.
332. Wiencke JK, Pemble S, Ketterer B, Kesley KT: Gene deletion of glutathione S-transferase theta: Correlation with induced genetic damage and potential role in endogenous mutagenesis. *Cancer Epidemiol Biomark Prevent* 1995;4: 253-259.
333. Mullis KB, Ferre F, Gibbs RA: The polymerase chain reaction. Birkhauser, 1994.
334. Mufti GJ, Stevens JR, Oscier DG, Hamblin TJ and Machin D: Myelodysplastic syndromes: a scoring system with prognostic significance. *Br J Hematol* 1985;59: 425-433.
335. Idle J: Is environmental carcinogenesis modulated by host polymorphism? *Mutat Res* 1991;247: 259-266.
336. Board PG, Coggan M, Johnston P, Ross V, Suzuki T, Webb G: Genetic heterogeneity of the human glutathione Transferases: a complex of gene families. *Pharmacol Ther* 1990;48: 357-369.

337. Ketterer B: Protective role of glutathione transferases in mutagenesis and carcinogenesis. *Mutat Res* 1988;202: 343-361.
338. Seidegard J, Vorachek WR, Pero RW, Pearson WR: Hereditary Differences in the expression of the human glutathione transferase active on trans-stilbene oxide are due to a gene deletion. *Proc Natl Acad Sci* 1988;85: 7293-7297.
339. Zhong S, Wyllie AH, Bernes D, Wolf CR, Spurr Nt: Relationship between the GSTM1 genetic polymorphism and susceptibility to bladder, breast and colon cancer. *Carcinogenesis* 1993;14: 1821-1824.
340. Hashibe M, Brennan P, Strange RC, Bhisey R, Cascorbi I, Lazarus P et al: Meta- and pooled analyses of GSTM1, GSTT1, GSTP1, and CYP1A1 genotypes and risk of head and neck cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2003; 12(12): 1509-1517.
341. Chen H, Shandler DP, Taylor JA, Shore DL, Liu E, Bloomfield CD et al: Increased risk for myelodysplastic syndromes in individuals with glutathione transferase theta 1 (GSTT1) gene defect. *Lancet* 1996;347: 295-297.
342. Basu T, Gale RE, Laugbcer S, Linch DC : Glutathione S-transferase theta 1 (GSTT1) gene defect in myelodysplasia and acute myeloid leukemia. *Lancet* 1997;349(9063): 1450.
343. Atoyebi W, Kusec R, Fiddler C, Peto EA, Boulwood J, Walnscoat JS: Glutathione S-transferase gene deletion in myelodysplasia. *Lancet* 1997;349: 1450-1451.
344. Nelson HH, Wiencke JK, Christiani DC, Cheng TJ, Zuo ZF, Schwartz BS, Lee BK, Spitz MR, Wang M, Xu X, et al: Ethnic differences in the prevalence of the homozygous deleted genotype of glutathione S-transferase theta. *Carcinogenesis* 1995;16: 1243-1245.
345. Warwick A, Sarhanis P, Redman C, Pemble S, Taylor JB, Kettere B et al: Theta class glutathione S-transferases GSTT1 genotypes and susceptibility to critical neoplasia: interactions with GSTM1, CYP2D6 and smoking. *Carcinogenesis* 1994;12: 2841-2845.
346. Nisse C, Lorthois C, Dorp V, Eloy E, Haguener JM, Fenaux P : Exposure to occupational and environmental factors in myelodysplastic syndromes with glutathione S-transferase theta 1 (GSTT1) gene defect. *Leukemia* 1996;9: 693-699.
347. West R, Stafford DA, Farrow A, Jacobs A: Occupational and environmental exposures and myelodysplasia: a case control study. *Leukemia Res* 1995;19: 127-139.
348. Terpos et al: For the Greek MDS Study Group: Prolonged administration of erythropoietin increases erythroid response rate in myelodysplastic syndromes: a phase II trial in 281 patients. *Br J Hematology* 2002;118(1): 174-180.
349. Hellström-Lindberg E: Efficacy of erythropoietin in the myelodysplastic syndromes: a meta-analysis of 205 patients from 17 studies. *British Journal of Hematology* 1995;89: 67-71.
350. Italian Cooperative Study Group for rhuEpo in Myelodysplastic Syndromes: A randomized double-blind placebo-controlled study with subcutaneous recombinant human erythropoietin in

- patients with low-risk myelodysplastic syndromes. *British Journal of Hematology* 1995;89: 67-71.
351. Board PG: Gene deletion and partial deficiency of the glutathione transferases (ligandin) system in man . *FeBS Lett* 1981;30;135(1): 12-14.
352. Joncourt F, Oberti-Schrammli AE, Stadler M, Buser K, Franseini L, Fey MF and Gerny T: Patterns of drug resistance parameters in adult leukemia. *Leuk Lymphoma* 1995;17: 101-109.
353. Bai F, Nakanishi Y, Kawasaki M, Takayama K, Yatsunami J, Pei XH, Tsuruta N, Wakamatsu K and Hara N: Immunohistochemical expression of glutathione S-transferase Pi can predict chemotherapy response in patients with carcinoma. *Cancer* 1996;78: 416-421.
354. Jacobs A, Clark RE: Pathogenesis and Clinical variations in the myelodysplastic syndromes. *Clinics in Haematol* 1986;15: 925-951.
355. Strenke L, Wallrik J, Celsing F, Hast R: Prediction of response to treatment with human recombinant erythropoietin in myelodysplastic syndromes. *Leukemia* 1993;7: 1324-1327.
356. Bourantas KL, Christou L, Tsiara St, Seferiadis K: Myelodysplastic syndromes: Erythropoietin level and treatment with recombinant human erythropoietin. *J Exp Clin Cancer Res* 1995;14(2); 205-209.
357. Vineis P, d'Errico A, Malatus N, Boffetta P: Overall evaluation and research perspectives. In: Vineis P, Malatus n, Lang M, et al. (eds). *Metabolic Polymorphisms and Susceptibility to Cancer*. IARC Scientific Publications No.148 Lyon, France: International agency for Research on Cancer: 403-506, 1999.
358. Lemos MC: Cabrita FJ, Silva HAM, Placido f, Regateiro FJ: Genetic polymorphism of CYP 2D6, GSTM1 and NAT susceptibility to haematological neoplasias. *Carcinogenesis* 1999;20: 1225-1229.
359. Yuille W, Condie A, Hudson C, Kote-Jarai z, Stone E, Eeles R, et al: Relationship between glutathione s-transferase M1, T1, and P1 polymorphisms and chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2002;19(11): 4216-4218.
360. Nanni O, Amadori D, Lugaresi C, et al: Chronic lymphocytic leukemias and non-Hodgkin's lymphomas by histological type in farming-animal breeding workers; a population case control study based on a priori exposure matrices. *Occup Environ Med* 1996 ;53: 652-657.



ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ

1. Tsabouri SE, Georgiou I, Alamanos I and Bourantas KL. Increased Prevalence of GSTM₁ Null Genotype in Patients with Myelodysplastic Syndrome: A Case-Control Study. *Acta Haematol* 2000; 104: 169-173.
2. Tsabouri SE, Georgiou I, Katsaraki A and Bourantas KL. Treatment of MDS patients with recombinant Human Erythropoietin and the role of GSTs. *J. Exp. Clin. Cancer Res.* (in press).