

Nowe markery prognostyczne przewlekłej białaczki limfocytowej

New prognostic factors in chronic lymphocytic leukemia

MAGDALENA MATYSIAK^{1/}, MARTA KARP^{2/}, LUCYNA KAPKA-SKRZYPCZAK^{1,3/}

^{1/} Katedra Biologii Medycznej i Badań Translacyjnych, Wyższa Szkoła Informatyki i Zarządzania w Rzeszowie

^{2/} Samodzielna Pracownia Hematoonkologii Doświadczalnej, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

^{3/} Katedra Biologii Molekularnej i Badań Translacyjnych, Instytut Medycyny Wsi im. W. Chodźki w Lublinie

Przewlekła białaczka limfocytowa to najczęstsza postać białaczki u osób dorosłych w krajach cywilizacji zachodniej. Jej przebieg kliniczny jest zróżnicowany, a terapia musi być dostosowana indywidualnie do każdego pacjenta. Przy ustalaniu strategii leczenia uwzględnia się wiek i ogólny stan chorego, stopień zaawansowania klinicznego choroby wg Rai'a lub Bineta oraz obecność markerów prognostycznych. Najlepiej poznane i najczęściej stosowane czynniki rokownicze to poziom markerów biochemicznych, ekspresja antygenu CD38 i białka ZAP-70 oraz stan mutacji w regionie zmiennym genu łańcucha ciężkiego immunoglobulin (immunoglobulin heavy chain variable genes, IG VH) w komórkach białaczkowych. Markery te posiadają nie tylko znaczenie rokownicze, ale także służą jako parametry monitorujące skuteczność leczenia. W związku z dynamicznym rozwojem biologii molekularnej wiele prac poświęcono badaniu nowych czynników, które umożliwią lepszą stratyfikację chorych. Do najważniejszych należą liczne zmiany cytogenetyczne, obecność mutacji genowych oraz profil ekspresji mikroRNA. Dużą uwagę poświęca się także roli czynników biorących udział w procesie angiogenezy. Wymienione czynniki mają znaczący wpływ na diagnostykę choroby i określenie kierunku terapii. Stale poszukuje się nowych markerów prognostycznych, które odzwierciedlałyby szacowaną długość przeżycia pacjenta oraz szanse powodzenia terapii. Celem pracy było podsumowanie dotychczasowej wiedzy na temat czynników prognostycznych w przewlekłej białaczce limfocytowej.

Słowa kluczowe: PBL, markery prognostyczne, anomalie cytogenetyczne, mutacje genowe, mikroRNA, angiogeneza

Chronic lymphocytic leukemia is the most common form of leukemia occurring in adult population in the western civilization. Its clinical course is differential, and therapy must be adapted individually to every patient. When determining the treatment, the factors such as age, state of patient, stage of disease according to Rai or Binet and presence of prognostic markers are taken into consideration. The best known and most frequently used prognostic factors are levels of biochemical markers, antigen CD38 and ZAP-70 expression and level of immunoglobulin heavy chain variable genes (IGVH) mutation in leukemic cells. These markers are not only meaningful in prognosis but also serve as monitoring parameters in the course of treatment. Due to dynamic development of molecular biology a lot of work is currently done searching for new factors that may be helpful in stratification of patients. The most important are numerous cytogenetic changes, gene mutations, and expression profile of microRNA. A lot of attention is also paid to study the role of factors occurring during angiogenesis. All of those factors have significant impact on disease diagnostics and treatment planning. New prognostic markers are constantly investigated, especially those which can determine probable life span and treatment success chances. The aim of this study was to summarize current knowledge about prognostic markers in chronic lymphocytic leukemia.

Key words: CLL, prognostic markers, cytogenetic anomalies, gene mutations, microRNA, angiogenesis

© Hygeia Public Health 2014, 49(3): 435-441

www.h-ph.pl

Nadesłano: 24.08.2014

Zakwalifikowano do druku: 25.08.2014

Adres do korespondencji / Address for correspondence

mgr Magdalena Matysiak

Zakład Biologii Medycznej i Badań Translacyjnych, Wyższa Szkoła Informatyki i Zarządzania w Rzeszowie

ul. Sucharskiego 2, 35-225 Rzeszów

e-mail: mmatysiak@wsiz.rzeszow.pl

Wykaz skrótów

Ang2 – angiopoetyna 2

ATM – kinaza serynowo-treoninowa

bFGF – zasadowy czynnik wzrostu fibroblastów

CD – antygen różnicowania komórkowego

c-IAP2 – drugi komórkowy inhibitor apoptozy

FBXW7 – F-box/WD repeat-containing protein 7

ICAM-1 – cząsteczka adhezji międzykomórkowej 1

IGVH – region zmienny genu dla łańcucha ciężkiego immunoglobulin

LPL – lipaza lipoproteinowa

miRNA – mikroRNA

NOTCH1 – neurogenic locus notch homolog protein 1

PBL – przewlekła białaczka limfocytowa

SF3B1 – podjednostka 1 czynnika 3B odpowiedzialnego za splicing RNA

TCL-1 – T-cell lymphoma 1

TP53 – gen kodujący białko p53

VEGF – naczyniowo-śródbłonkowy czynnik wzrostu

ZAP-70 – niereceptorowa kinaza tyrozynowa o masie 70 kDa

Wstęp

Przewlekła białaczka limfocytowa (PBL) to choroba limfoproliferacyjna, w przebiegu której dochodzi do akumulacji małych, morfologicznie dojrzałych limfocytów B. Jest najczęstszym typem białaczki występującym wśród osób dorosłych w krajach cywilizacji zachodniej. Choroba dotyka głównie osoby starsze, u 70-80% pacjentów jest diagnozowana po 55 roku życia, choć w ostatnich latach obserwowany jest wzrost zachorowań u osób młodszych. Średnia wieku w momencie diagnozy wynosi 72 lata [1].

PBL jest chorobą o zróżnicowanym przebiegu klinicznym, a u części chorych przez wiele lat ma ona charakter bezobjawowy [2]. Na przestrzeni lat zmieniały się kryteria rozpoznania PBL. Obecnie za podstawowe kryterium rozpoznania uznaje się wzrost liczby limfocytów we krwi obwodowej $\geq 5 \times 10^9/L$ utrzymujący się przez okres minimum 3 miesięcy oraz przekraczające 30% komórek jądrzastych zajęcie szpiku kostnego przez komórki limfoidalne. Niekorzystnie rokuje podwojenie liczby limfocytów w okresie do dwunastu miesięcy od postawienia diagnozy [3]. Po rozpoznaniu choroby dokonuje się oceny stopnia jej zaawansowania klinicznego. Do dziś w praktyce klinicznej największe znaczenie mają systemy klasyfikacyjne według Rai'a i Bineta. System przedstawiony przez Rai'a i wsp. [4] uwzględnia kliniczny rozwój limfadenopatii oraz parametry laboratoryjne – limfocytozę krwi obwodowej i szpiku kostnego, liczbę krwinek czerwonych oraz trombocytów. Binet i wsp. [5] zaproponowali system oparty na ocenie zajętych grup węzłowych, liczbie płytek krwi i stężeniu hemoglobiny.

Pomimo zakwalifikowania chorego do określonego stadium klinicznego, przebieg choroby może się różnić u pacjentów. Niezbędnym badaniem mającym na celu postawienie diagnozy jest określenie immunofenotypu komórek krwi obwodowej lub szpiku kostnego pacjenta. Immunofenotypowanie wykonywane jest za pomocą techniki cytometrii przepływowej z użyciem przeciwciał monoklonalnych skierowanych przeciwko antygenom powierzchniowym. Układ antygenów na powierzchni komórek nowotworowych pozwala na różnicowanie PBL z innymi chorobami limfoproliferacyjnymi. Komórki chorych na PBL posiadają na swojej powierzchni antygeny: CD19⁺CD20⁺CD23⁺CD43⁺CD79a⁺. Nowotworowe komórki wykazują także ekspresję powierzchniowych immunoglobulin oraz antygeny T-komórkowego CD5⁺ [2].

Powszechnie stosowane markery prognostyczne

Do najwcześniej zidentyfikowanych parametrów o wysokiej wartości klinicznej korelujących z progresją

przewlekłej białaczki limfocytowej należą: markery surowicze, ekspresja antygeny CD38 oraz niereceptorowej białkowej kinazy tyrozynowej o masie 70 kDA (*zeta associated protein*, ZAP-70) a także określenie stanu mutacji w regionie zmiennym genu łańcucha ciężkiego immunoglobulin (*immunoglobulin heavy chain variable genes*, IGVH).

Markerami surowiczymi wykorzystywanymi w prognozowaniu przebiegu przewlekłej białaczki limfocytowej są: stężenie dehydrogenazy mleczanowej, aktywność kinazy tymidynowej oraz poziom β -2-mikroglobuliny. Parametry te nie są wysoce specyficzne, ale ze względu na prostotę wykonania oznaczenia stanowią cenne uzupełnienie diagnostyki PBL.

Wysoki poziom dehydrogenazy mleczanowej koreluje ze skróceniem całkowitego czasu przeżycia pacjenta, obserwowany jest u chorych z niekorzystnymi anomaliami cytogenetycznymi oraz wysoką ekspresją CD38 i ZAP-70 [2, 6].

Aktywność kinazy tymidynowej koreluje ze stopniem namnażania komórek białaczkowych i szybką progresją choroby. Zaobserwowano zależność pomiędzy wysoką aktywnością tego enzymu, a stanem mutacji w genach IGVH oraz ekspresją ZAP-70 i CD38 [7-9].

Kolejnym parametrem biochemicznym jest poziom β -2-mikroglobuliny związany z klinicznym zaawansowaniem PBL i stopniem nacieczenia szpiku kostnego przez komórki nowotworowe [10]. Poziom β -2-mikroglobuliny powinien być rozpatrywany razem ze współczynnikiem przesączania kłębuszkowego [11].

Antygen błonowy CD38 powszechnie występuje na komórkach pochodzących z linii mieloidalnej. Ekspresja CD38 u chorych na PBL jest związana ze skróceniem czasu całkowitego przeżycia oraz gorszą odpowiedzią na leczenie farmakologiczne. Parametr ten koreluje z innymi czynnikami prognostycznymi takimi jak wiek chorego, zaawansowanie kliniczne choroby, rozlany typ nacieczenia szpiku kostnego, szybkie podwojenie limfocytozy oraz wysoka aktywność markerów surowiczych [12-15].

W zależności od ekspresji cytoplazmatycznej kinazy tyrozynowej ZAP-70, PBL określa się jako postać zmutowaną ZAP-ujemną bądź niezmutowaną ZAP-dodatnią. Postać ZAP-dodatnia charakteryzuje się gorszym rokowaniem dla chorego [16]. Kinaza ta wpływa na regulację transportu jądrowo-cytoplazmatycznego, a jej ekspresja wiąże się ze wzrostem aktywności sygnalizacyjnej zachodzącej przez receptor komórek B. Ekspresja ZAP-70 może zmieniać się w trakcie trwania choroby [17]. Do niedawna uważano, iż ekspresja ZAP-70 koreluje ze wzrostem aktywności antygeny CD38 i parametry te powinny być rozpatrywane wspólnie [18, 19]. W ostatnich

latach przeważa jednak pogląd, że poziom ekspresji ZAP-70 i CD38 jest niezależny [20].

Obecność lub brak mutacji w genach *IGVH* pozwala wyróżnić dwie postacie kliniczne PBL. Typ pierwszy, niezmutowany, wiąże się z gorszym rokowaniem oraz agresywniejszym przebiegiem choroby. Chorzy z typem drugim (zmutowanym) rokują lepiej. Mediana ich przeżycia jest stosunkowo długa i często przez długi okres czasu nie wymagają leczenia [21, 22]. U chorych z niezmutowaną postacią genu częściej wykrywane są niekorzystne anomalie cytogenetyczne [23]. Niezależnie od stanu mutacji *IGVH*, wyróżnia się grupę pacjentów z rearanżacją V3-21, którzy mają gorsze rokowanie [24, 25].

Nowe markery prognostyczne

Dzięki rozwojowi technik biologii molekularnej w praktyce klinicznej pojawiły się nowe, czułe i specyficzne markery predykcyjne PBL, a przydatność kolejnych biomarkerów jest weryfikowana w licznych badaniach naukowych.

Zaburzenia cytogenetyczne i mutacje genowe

Obecność anomalii cytogenetycznych stwierdza się u około 80% chorych na PBL. Stwierdzenie nieprawidłowości jest istotną wskazówką rokowniczą i służy do monitorowania skuteczności leczenia. Rozwój technik cytogenetycznych w tym fluorescencyjnej hybrydyzacji *in situ* oraz porównawczej hybrydyzacji genomowej, znacznie poprawił wykrywalność aberracji chromosomowych w komórkach białaczkowych [26, 27]. Zmiany powszechnie występujące w przebiegu PBL to: trisomia chromosomu 12, delecja ramienia krótkiego chromosomu 17 oraz delecje ramion długich chromosomów 13, 11 i 6. Defekty te mogą pojawiać się wtórnie jako wynik progresji choroby, a u części pacjentów obserwuje się równoczesne występowanie kilku anomalii [28, 29].

Delecja ramienia krótkiego chromosomu 17 jest niekorzystnym czynnikiem prognostycznym, związanym z szybszą progresją choroby i skróceniem mediany czasu całkowitego przeżycia [28]. U chorych z *del* 17p zaobserwowano skłonności do występowania trombocytopenii oraz niskiego stężenia hemoglobiny [30]. Anomalia ta polega na utracie genu supresorowego *TP53*, odgrywającego kluczową rolę w regulacji cyklu komórkowego i w procesie apoptozy. Chorzy z *del* 17p tracą gen supresorowy *TP53* i w konsekwencji stają się odporni na leczenie chemioterapeutykami, których mechanizm działania zależny jest od białka p53. Do środków takich zaliczamy między innymi powszechnie stosowane w terapii PBL analogi puryn [31, 32]. Oporność na tradycyjne leki zmusza do poszukiwania nowych form terapii, na czele z terapią immunologiczną [33].

Trisomia chromosomu 12 występuje u około 15% pacjentów z PBL. Jest związana z nietypową morfologią komórek nowotworowych, szybszą progresją choroby oraz brakiem mutacji w genach *IGVH* [34]. Istnieje związek pomiędzy występowaniem trisomii chromosomu 12 a mutacją w genach *NOTCH1* (*neurogenic locus notch homolog protein 1*) oraz *FBXW7* (*F-box/WD repeat-containing protein 7*). Aktywacja receptora Notch1 niezbędna jest do rozwoju grasicozależnej jak i grasiconezależnej populacji komórek T. Gen *FBXW7* koduje białka F-box, uczestniczące w cyklu komórkowym. Jednoczesne występowanie trisomii chromosomu 12 i mutacji w genach *NOTCH* i *FBXW7* wiąże się z wysoką dynamiką choroby [35]. Wykazano, że mutacja w genach *NOTCH* jest niezależnym niekorzystnym czynnikiem predykcyjnym w przebiegu PBL, zwiększającym ryzyko transformacji do chłoniaka rozlanego z dużych komórek B [36, 37].

Delecja ramienia długiego chromosomu 11 (15-20% chorych) ma znaczący wpływ na agresywny przebieg kliniczny PBL. Anomalia ta jest zazwyczaj wykrywana u osób młodych, u których średnia wieku w momencie diagnozy wynosi 55 lat. U chorych obserwuje się niski poziom hemoglobiny oraz trombocytopenię. Dochodzi także do zaawansowanej limfadenopatii, w tym do zajęcia węzłów śródpiersia i jamy brzusznej [38]. W traconym fragmencie genomu znajduje się między innymi obszar zawierający gen *ATM* (*ataxia telangiectasia mutated*) kodujący kinazę ATM odgrywającą istotną rolę w procesie apoptozy i naprawy DNA [39]. Ponadto, istnieje związek pomiędzy występowaniem *del* 11q a mutacją w genie kodującym podjednostkę 1 czynnika 3B odpowiedzialnego za splicing RNA (*RNA splicing factor 3B subunit 1, SF3B1*). Mutacja w genie *SF3B1* może być rozpatrywana jako niezależny czynnik prognostyczny, korelujący z agresywnym przebiegiem choroby i skróceniem czasu całkowitego przeżycia [40]. Również gen kodujący drugi komórkowy inhibitor apoptozy (*cellular inhibitor of apoptosis 2, c-IAP2*) może ulegać utracie na skutek delecji fragmentu chromosomu 11, co skutkuje niekorzystnym rokowaniem [41].

Delecje ramienia długiego chromosomu 6 są u chorych na PBL stwierdzane rzadziej niż inne anomalie cytogenetyczne (6-7%). Aberracja ta jest natomiast wykrywana w innych nowotworach hematologicznych między innymi w ostrej białaczce limfocytowej i chłoniaku Hodgkina [42]. Badania wykazały, że występowanie tej delecji wiąże się z obecnością podwyższonej ekspresji CD38 oraz nietypową morfologią komórek nowotworowych [43].

Delecja ramienia długiego chromosomu 13 jest najczęściej wykrywaną aberracją chromosomową u chorych na przewlekłą białaczkę limfocytową (ponad 50%). Delecję tego regionu opisuje się także

w przebiegu innych nowotworów hematologicznych. W przeciwieństwie do wyżej opisanych aberracji obecność tej zmiany cytogenetycznej wiąże się z korzystnym rokowaniem dla pacjenta. Delecja w tym fragmencie genomu powoduje utratę segmentu kodującego mikroRNA: miR-15a oraz miR-16-1 [44, 45].

Profil ekspresji mikroRNA

U chorych na PBL ściśle związane z występowaniem aberracji chromosomowych są zaburzenia w ekspresji mikroRNA (tab. I). MikroRNA biorą udział w regulacji ekspresji genów na poziomie posttranskrypcyjnym. Mają istotny wpływ na przebieg takich procesów jak apoptoza, angiogeneza i cykl komórkowy [46].

Delecja w regionie 13q14 związana jest z obniżoną bądź całkowicie zahamowaną ekspresją cząsteczek miR-15a oraz miR-16-1. Oba te elementy mogą wpływać na ilość białka antyapoptotycznego BCL-2 (*B-cell lymphoma 2*), wyciszając jego transkrypcję [44,47]. Wyższy poziom ekspresji miR-15a wykazano u pacjentów z delecją monoalleliczną w porównaniu do grupy z delecją bialleliczną [48]. Asslaber i wsp. [49] wykazali, że u chorych z zaburzeniami chromosomowymi obejmującymi gen kodujący białko p53 (del 17p) występuje niska ekspresja miR-34a. Niska ekspresja miR-34a korelowała z czasem do rozpoczęcia leczenia oraz zwiększoną aktywnością podziałową limfocytów, wiążąc się z gorszą prognozą dla pacjenta [49]. Z delecjami w regionie ramienia długiego chromosomu 11 związana jest z kolei nadekspresja białka onkogenego TCL-1 (*T-cell lymphoma 1*). Prawdopodobnie umiejscowione są tam aktywatory dla regulujących ekspresję TCL-1 miR-29b oraz miR-181b. Nieprawidłowa ekspresja TCL-1 wiąże się z szybką proliferacją komórek nowotworowych [50].

Niekorzystnie dla chorego rokuje ponadto wykrycie obniżonego poziomu miR-29c, miR-223 oraz miR-150. Badania prowadzone przez Stamatopoulou i wsp. [51] wykazały, że zmiany w ekspresji miR-29c oraz miR-233 korelują z poziomem kinazy ZAP-70 oraz stanem mutacji w genach *IGVH*. Mraz i wsp. [52] opisali ekspresję miR-150 w przebiegu PBL dowodząc, iż niska ekspresja miR-150 wiąże się ze skróceniem czasu całkowitego przeżycia, wysokim poziomem kinazy ZAP-70 i obecnością niezmutowanej postaci genów *IGVH*.

Czynniki angiogenne i molekuly adhezyjne

Angiogeneza jest procesem tworzenia nowych naczyń krwionośnych z istniejących już naczyń gospodarza. Odgrywa ona ważną rolę zarówno w procesach fizjologicznych jak i patologicznych, między innymi w procesie nowotworzenia. Uczestniczy we wzroście guzów i metastazie. Angiogeneza jest kontrolowana

Tabela I. Przykłady zaburzenia ekspresji miRNA w przewlekłej białaczkowej limfocytowej
Table I. Examples of miRNA expression disorder in chronic lymphocytic leukemia

| miRNA | Poziom ekspresji | Wpływ na PBL | Aberracja chromosomowa | Literatura |
|-------------------|------------------|--------------|------------------------|--------------|
| miR-15a, miR-16-1 | obniżony | Korzystny | Delecja 13q14 | [44, 47, 48] |
| miR-34a | obniżony | Niekorzystny | Delecja 17p | [49] |
| miR-29b, miR-181b | obniżony | Niekorzystny | Delecja 11p | [50] |
| miR-29c, miR-233 | obniżony | Niekorzystny | Brak związku | [51] |
| miR-150 | obniżony | Niekorzystny | Brak związku | [52] |

przez szereg czynników działających pro- i antyangiogenne. Do substancji o działaniu stymulującym proces angiogenezy zaliczamy między innymi naczyniowo-śródbłonkowy czynnik wzrostu (*vascular endothelial growth factor*, VEGF), zasadowy czynnik wzrostu fibroblastów (*basic fibroblast growth factor*, bFGF), angiopoetynę 2 (*angiopoietine 2*, Ang2) oraz molekuly adhezyjne [53].

VEGF jest najważniejszym czynnikiem biorącym udział w etapie inicjacji tworzenia nowych naczyń krwionośnych. Molica i wsp. [54] wykazali, iż poziom VEGF w osoczu chorych na PBL koreluje ze stadium zaawansowania klinicznego wg Rai'a, poziomem limfocytozy krwi obwodowej oraz typem histologicznym naciekania szpiku, a także poziomem β -2-mikroglobuliny [54]. Późniejsze prace tego zespołu udowodniły dodatnią korelację VEGF z innymi markerami prognostycznymi PBL – ekspresją CD38 i ZAP-70 oraz obecnością mutacji w genach *IGVH* [55].

bFGF to jeden z pierwszych wykrytych czynników o silnym działaniu proangiogenym. Wykazano, że chorzy na PBL mają wyższy poziom bFGF w porównaniu do grupy kontrolnej. Wysokie stężenia bFGF są związane z zaawansowaniem choroby oraz słabą odpowiedzią na leczenie chemioterapeutyczne [56, 57].

Poziom Ang2 uczestniczącej w dojrzewaniu naczyń krwionośnych koreluje ze stadium zaawansowania klinicznego białaczki wg Bineta [58]. Ponadto, znaleziono związek pomiędzy poziomem Ang2 a stanem mutacji w genach *IGVH*, ekspresją antygeny CD38 i białka ZAP-70 oraz poziomem β -2-mikroglobuliny. Maffei i wsp. [59] zasugerowali, że poziom Ang2 może być traktowany jako niezależny czynnik prognostyczny w przebiegu PBL.

Rozwój techniki cytometrii przepływowej umożliwił wykrywanie ekspresji antygenów różnicowania powierzchniowego (np. CD38) oraz molekul adhezyjnych. Molekuly adhezyjne pełnią w organizmie wiele funkcji fizjologicznych. Ich rola została potwierdzona także w przypadku procesów patologicznych. Cząsteczki adhezyjne biorą udział w przebiegu procesu

nowotworowego i przerzutowania, stymulują proces angiogenezy, oraz utraty ciągłości i integralności międzykomórkowej [60]. W literaturze pojawiają się doniesienia o potencjalnej roli niektórych molekuł adhezyjnych jako czynników prognostycznych w przebiegu PBL. Należą do nich między innymi cząsteczki CD49d oraz CD54.

Podjednostka alfa-4 integryny określana również jako cząsteczka CD49d to białko adhezyjne komórek śródbłonna. CD49d stanowi niekorzystny czynnik rokowniczy w przebiegu PBL. Badania dowodzą, że częstość występowania ekspresji CD49d koreluje z czynnikami klinicznymi (klasyfikacją wg Rai'a) oraz ekspresją CD38 i ZAP-70. Bulian i wsp. [61] przeprowadzili wielośrodkowe badania na grupie niemal 3 000 pacjentów wykazując, że ekspresja CD49d wiąże się ze spadkiem całkowitego czasu przeżycia oraz czasu do rozpoczęcia leczenia. Zasugerowali, że parametr ten może być stosowany samodzielnie, nie wymaga dodatkowego oznaczenia ekspresji antygeny CD38 i kinazy ZAP-70 [61]. Zucchetto i wsp. [62] wykazali ponadto, że wysoki poziom ekspresji CD49d u chorych na PBL koreluje z obecnością trisomii chromosomu 12.

Obecność białka CD54, znanego szerzej jako cząsteczka adhezji międzykomórkowej 1 (*intracellular adhesion molecule*, ICAM-1) stwierdza się między innymi na powierzchni komórek śródbłonna naczyniowego, układu krwiotwórczego, komórek mięśni gładkich oraz fibroblastów. Podwyższone stężenie formy rozpuszczalnej ICAM-1 (*soluble-ICAM*, sICAM-1) u chorych na PBL wiąże się z niekorzystnym rokowaniem oraz ryzykiem szybkiej progresji choroby [63]. Christiansen i wsp. [64] wykazali, że chorzy na PBL charakteryzują się wyższym poziomem sICAM-1 w porównaniu do grupy kontrolnej. W przeprowadzonym badaniu poziom sICAM-1 był związany z przebiegiem klinicznym choroby wg klasyfikacji Rai'a oraz Bineta, obecnością innych niekorzystnych czynników prognostycznych oraz występowaniem hepato- i splenomegalii [64].

Długość telomerów

Telomery to końcowe odcinki ramion chromosomów. Ich zadaniem jest ochrona chromosomu przed uszkodzeniami podczas procesów zachodzących przy podziale komórki. Wraz z kolejnymi podziałami komórki, telomery ulegają skróceniu, co prowadzi

do destabilizacji materiału genetycznego. Komórki nowotworowe są zdolne do wytwarzania dużych ilości telomerazy – enzymu odpowiedzialnego za dobudowanie brakującego terminalnego odcinka 3'-5' DNA. Mechanizm ten zapewnia komórkom nowotworowym nieśmiertelność. Grabowski i wsp. [65] wykazali, że w przypadku chorych na PBL długość telomerów oznaczona techniką real-time PCR koreluje ze stopniem zaawansowania klinicznego choroby wg Bineta oraz stanem mutacji w genach *IGVH* [65]. Nie udowodniono niezależnego znaczenia prognostycznego tego parametru, ale w połączeniu z oznaczeniem mutacji *IGVH* może być cennym uzupełnieniem diagnostyki. Długość telomerów wiąże się także z występowaniem innych czynników prognostycznych – ekspresją antygeny CD38 oraz kinazy ZAP-70 [66].

Lipaza lipoproteinowa

Wysoki poziom lipazy lipoproteinowej (LPL) jest niekorzystnym czynnikiem prognostycznym w przebiegu PBL związanym ze skróceniem mediany czasu całkowitego przeżycia oraz czasu wolnego od leczenia [67,68]. Parametr ten koreluje z innymi czynnikami prognostycznymi – stanem mutacji w genach *IGVH*, stopniem zaawansowania klinicznego wg klasyfikacji Bineta oraz poziomem ekspresji antygeny CD38 i kinazy ZAP-70. U chorych z wysokim poziomem LPL obserwuje się ponadto obecność niekorzystnie rokujących anomalii cytogenetycznych – del 17p oraz del 11q [69].

Podsumowanie

W wyniku ogromnego postępu, jaki nastąpił w biologii molekularnej na przestrzeni ostatnich lat, lista markerów prognostycznych PBL uległa znacznemu rozszerzeniu. Udało się zidentyfikować wartość rokowniczą nieznaną wcześniej czynników, a przydatność kolejnych jest weryfikowana w licznych badaniach naukowych. Ponieważ PBL wciąż pozostaje chorobą nieuleczalną, nadal istnieje potrzeba prowadzenia badań klinicznych na dużych grupach chorych, w których oceniona zostanie wartość prognostyczna nowych czynników. Przyczynią się one do wybrania najwłaściwszej metody terapii dla indywidualnego pacjenta tak, by była ona jak najbardziej skuteczna. Będą także punktem wyjścia do poszukiwań nowych sposobów leczenia, opartych na mechanizmach molekularnych.

Piśmiennictwo / References

1. Redaelli A, Laskin BL, Stephens JM, et al. The clinical and epidemiological burden of chronic lymphocytic leukaemia. *Eur J Cancer Care (Eng)* 2004, 13(3): 279-287.
2. Robak T, Kasznicki M. Przewlekłe białaczki limfocytowe. [w:] *Podstawy hematologii*. Dmoszyńska A, Robak T (red). Czelej, Lublin 2003: 269-277.
3. Eichhorst B, Dreyling M, Robak T, et al. Chronic lymphocytic leukemia: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 2011, 22(6): 50-54.
4. Rai KR, Sawitsky A, Cronkite EP. Clinical staging of chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 1975, 46(2): 219-234.
5. Binet JL, Auquier A, Dighiero G, et al. A new prognostic classification of chronic lymphocytic leukemia derived from a multivariate survival analysis. *Cancer* 1981, 48(1): 198-206.
6. Lee JS, Dixon DO, Kantarjian HM, et al. Prognosis of chronic lymphocytic leukemia: a multivariate regression analysis of 325 untreated patients. *Blood* 1987, 69(3): 929-936.
7. Matthews C, Catherwood MA, Morris TC, et al. Serum TK levels in CLL identify Binet stage A patients within biologically defined prognostic subgroups most likely to undergo disease progression. *Eur J Haematol* 2006, 77(4): 309-317.
8. Xu W, Cao X, Miao KR, et al. Serum thymidine kinase 1 concentration in Chinese patients with chronic lymphocytic leukemia and its correlation with other prognostic factors. *Int J Hematol* 2009, 90(2): 205-211.
9. Konoplev SN, Fritsche HA, O'Brien S, et al. High serum thymidine kinase I level predicts poorer survival in patients with chronic lymphocytic leukemia. *Am J Clin Pathol* 2010, 134(3): 472-477.
10. Di Giovanni S, Valentini G, Carducci P. Beta-2-microglobulin is a reliable tumor marker in chronic lymphocytic leukemia. *Acta Haematol* 1989, 81(4): 181-185.
11. Delgado J, Pratt G, Phillips N, et al. Beta2-microglobulin is a better predictor of treatment-free survival in patients with chronic lymphocytic leukaemia if adjusted according to glomerular filtration rate. *Br J Haematol* 2009, 145(6): 801-805.
12. Domingo-Domènech E, Domingo-Clarós A, González-Barca E, et al. CD38 expression in B-chronic lymphocytic leukemia: association with clinical presentation and outcome in 155 patients. *Haematologica* 2002, 87(10): 1021-1027.
13. Dürig J, Naschar M, Schmücker U, et al. CD38 expression is an important prognostic marker in chronic lymphocytic leukaemia. *Leukemia* 2002, 16(1): 30-35.
14. Thornton PD, Fernandez C, Giustolisi GM, et al. CD38 expression as a prognostic indicator in chronic lymphocytic leukaemia. *Hematol J* 2004, 5(2): 145-151.
15. Del Poeta G, Maurillo L, Venditti A, et al. Clinical significance of CD38 expression in chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2001, 98(9): 2633-2639.
16. Dürig J, Nüchel H, Cremer M, et al. ZAP-70 expression is a prognostic factor in chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia* 2003, 17(12): 2426-2434.
17. Vroblova V, Vrbacky F, Hrudkova M, et al. Significant change in ZAP-70 expression during the course of chronic lymphocytic leukemia. *Eur J Haematol* 2010, 84(6): 513-517.
18. Schroers R, Griesinger F, Trümper L, et al. Combined analysis of ZAP-70 and CD38 expression as a predictor of disease progression in B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia* 2005, 19(5): 750-758.
19. D'Arena G, Tarnani M, Rumi C, et al. Prognostic significance of combined analysis of ZAP-70 and CD38 in chronic lymphocytic leukemia. *Am J Hematol* 2007, 82(9): 787-791.
20. Hus I, Bojarska-Junak A, Dmoszyńska A, et al. ZAP-70 and CD38 expression are independent prognostic factors in patients with B-cell chronic lymphocytic leukaemia and combined analysis improves their predictive value. *Folia Histochem Cytobiol* 2008, 46(2): 147-152.
21. Hamblin TJ, Davis Z, Gardiner A, et al. Unmutated Ig VH genes are associated with a more aggressive form of chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 1999, 94(6): 1848-1854.
22. Damle RN, Wasil T, Fais F, et al. Ig VH gene mutation status and CD38 expression as novel prognostic indicators in chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 1999, 94(6): 1840-1847.
23. Stilgenbauer S, Bullinger L, Lichter P, et al. Genetics of chronic lymphocytic leukemia: genomic aberrations and V(H) gene mutation status in pathogenesis and clinical course. *Leukemia* 2002, 16(6): 993-1007.
24. Tobin G, Thunberg U, Johnson A, et al. Somatic mutated IgV(H)3-21 genes characterize a new subset of chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2002, 99(6): 2262-2264.
25. Karp M, Giannopoulos K. Antigen stimulation in the development of chronic lymphocytic leukemia. *Postepy Hig Med Dosw* 2013, 67: 1204-1213.
26. Glassman AB, Hayes KJ. The value of fluorescence in situ hybridization in the diagnosis and prognosis of chronic lymphocytic leukemia. *Cancer Genet Cytogenet* 2005, 158(1): 88-91.
27. Kolquist KA, Schultz RA, Slovak ML, et al. Evaluation of chronic lymphocytic leukemia by oligonucleotide-based microarray analysis uncovers novel aberrations not detected by FISH or cytogenetic analysis. *Mol Cytogenet* 2011, 4: 25.
28. Döhner H, Stilgenbauer S, Benner A, et al. Genomic aberrations and survival in chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med* 2000, 343(26): 1910-1916.
29. Grenda A, Budzyński M, Filip AA. Cytogenetyczne i molekularne uwarunkowania agresywnej postaci przewlekłej białaczki limfocytowej. *Acta Haematol Pol* 2014, 43: 18-25.
30. Lai YY, Huang XJ. Cytogenetic characteristics of B cell chronic lymphocytic leukemia in 275 Chinese patients by fluorescence in situ hybridization: a multicenter study. *Chin Med J (Engl)* 2011, 124(16): 2417-2422.
31. Zenz T, Häbe S, Denzel T, et al. Detailed analysis of p53 pathway defects in fludarabine-refractory chronic lymphocytic leukemia (CLL): dissecting the contribution of 17p deletion, TP53 mutation, p53-p21 dysfunction, and miR34a in a prospective clinical trial. *Blood* 2009, 114(13): 2589-2597.
32. Turgut B, Vural O, Pala FS, et al. 17p Deletion is associated with resistance of B-cell chronic lymphocytic leukemia cells to in vitro fludarabine-induced apoptosis. *Leuk Lymphoma* 2007, 48(2): 311-320.
33. Wierda WG, Kipps TJ, Mayer J, et al. Ofatumumab as single-agent CD20 immunotherapy in fludarabine-refractory chronic lymphocytic leukemia. *J Clin Oncol* 2010, 28(10): 1749-1755.
34. Rupniewska Z, Roliński J. Cytogenetyczna i molekularna analiza przewlekłej białaczki limfatycznej B-komórkowej. Część II. Aberracje chromosomu 12. *Acta Haematol Pol* 2001, 32(3): 267.

35. Falisi E, Novella E, Visco C, et al. B-cell receptor configuration and mutational analysis of patients with chronic lymphocytic leukaemia and trisomy 12 reveal recurrent molecular abnormalities. *Hematol Oncol* 2014, 32(1): 22-30.
36. Willander K, Dutta RK, Ungerback J, et al. NOTCH1 mutations influence survival in chronic lymphocytic leukemia patients. *BMC Cancer* 2013, 13: 274.
37. Villamor N, Conde L, Martínez-Trillos A, et al. NOTCH1 mutations identify a genetic subgroup of chronic lymphocytic leukemia patients with high risk of transformation and poor outcome. *Leukemia* 2013, 27(5): 1100-1116.
38. Cuneo A, Bigoni R, Rigolin GM, et al. Late appearance of the 11q22.3-23.1 deletion involving the ATM locus in B-cell chronic lymphocytic leukemia and related disorders. Clinico-biological significance. *Haematologica* 2002, 87(1): 44-51.
39. Stankovic T, Hubank M, Cronin D, et al. Microarray analysis reveals that TP53- and ATM-mutant B-CLLs share a defect in activating proapoptotic responses after DNA damage but are distinguished by major differences in activating prosurvival responses. *Blood* 2004, 103(1): 291-300.
40. Wan Y, Wu CJ. SF3B1 mutations in chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2013, 121(23): 4627-4634.
41. Rossi D, Fangazio M, Rasi S, et al. Disruption of BIRC3 associates with fludarabine chemorefractoriness in TP53 wild-type chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2012, 119(12): 2854-2862.
42. Merup M, Moreno TC, Heyman M, et al. 6q deletions in acute lymphoblastic leukemia and non-Hodgkin's lymphomas. *Blood* 1998, 91(9): 3397-3400.
43. Cuneo A, Rigolin GM, Bigoni R, et al. Chronic lymphocytic leukemia with 6q- shows distinct hematological features and intermediate prognosis. *Leukemia* 2004, 18(3): 476-483.
44. Calin G, Dumitru C, Shimizu M, et al. Frequent deletions and down-regulation of micro-RNA genes miR15 and miR16 at 13q14 in chronic lymphocytic leukemia. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002, 99(24): 15524-15529.
45. Giannopoulos K. Biologia i rokowanie w przewlekłej białaczce limfocytowej. *Acta Haematol Pol* 2010; 41: 433-440.
46. Grenda A, Budzyński M, Filip A. Biogeneza cząsteczek mikroRNA oraz ich znaczenie w powstawaniu i przebiegu wybranych zaburzeń hematologicznych. *Post Hig Med Dosw* 2013, 67: 174-185.
47. Calin G, Pekarsky Y, Croce CM. The role of microRNA and other non-coding RNA in the pathogenesis of chronic lymphocytic leukemia. *Best Pract Res. Clin Haematol* 2007, 20(3): 425-437.
48. Humplikova L, Kollinerova S, Papajik T, et al. Expression of miR-15a and miR-16-1 in patients with chronic lymphocytic leukemia. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub* 2013, 157(4): 284-293.
49. Asslaber D, Piñón JD, Seyfried I, et al. microRNA-34a expression correlates with MDM2 SNP309 polymorphism and treatment-free survival in chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2010, 115(21): 4191-4197.
50. Pekarsky Y, Santanam U, Cimmino A, et al. Tcl1 expression in chronic lymphocytic leukemia is regulated by miR-29 and miR-181. *Cancer Res* 2006, 66(24): 11590-11593.
51. Stamatopoulos B, Meuleman N, Haibe-Kains B, et al. MicroRNA-29c and microRNA-223 down-regulation has in vivo significance in chronic lymphocytic leukemia and improves disease risk stratification. *Blood* 2009, 113: 5237-5245.
52. Mraz M, Chen L, Rassenti LZ, et al. miR-150 influences B-cell receptor signaling in chronic lymphocytic leukemia by regulating expression of GAB1 and FOXP1. *Blood* 2014, 124(1): 84-95.
53. Banyś A, Buśaś L, Długosz E, i wsp. Angiogeneza w chorobie nowotworowej. *Farm Pol* 2009, 65(4): 247-250.
54. Molica S, Vitelli G, Levato D, et al. Clinicoprognostic implications of increased serum levels of vascular endothelial growth factor and basic fibroblastic growth factor in early B-cell chronic lymphocytic leukaemia. *Br J Cancer* 2002, 86(1): 31-35.
55. Molica S, Cutrona G, Vitelli G, et al. Markers of increased angiogenesis and their correlation with biological parameters identifying high-risk patients in early B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Leuk Res* 2007, 31(11): 1575-1578.
56. Gora-Tybor J, Blonski JZ, Robak T. Circulating proangiogenic cytokines and angiogenesis inhibitor endostatin in untreated patients with chronic lymphocytic leukemia. *Mediators Inflamm* 2003, 12(3): 167-171.
57. Gora-Tybor J, Blonski JZ, Robak T. Cladribine decreases the level of angiogenic factors in patients with chronic lymphocytic leukemia. *Neoplasma* 2002, 49(3): 145-148.
58. Martinelli S, Maffei R, Castelli I, et al. Increased expression of angiopoietin-2 characterizes early B-cell chronic lymphocytic leukemia with poor prognosis. *Leuk Res* 2008, 32(4): 593-597.
59. Maffei R, Martinelli S, Santachiara R, et al. Angiopoietin-2 plasma dosage predicts time to first treatment and overall survival in chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2010, 116(4): 584-592.
60. Kwiatkowski P, Godlewski J, Śliwińska-Jewsiewicka A, et al. Cell adhesion molecules in the process of carcinogenesis and metastasis. *Pol Ann Med* 2009, 16(1): 128-137.
61. Bulian P, Shanafelt TD, Fegan C, et al. CD49d is the strongest flow cytometry-based predictor of overall survival in chronic lymphocytic leukemia. *J Clin Oncol* 2014, 32(9): 897-904.
62. Zucchetto A, Caldana C, Benedetti D, et al. CD49d is overexpressed by trisomy 12 chronic lymphocytic leukemia cells: evidence for a methylation-dependent regulation mechanism. *Blood* 2013, 122(19): 3317-3321.
63. Krawczyk-Kuliś M, Dziaczkowska-Suszek J, Bartkowska-Chrobok A, et al. New prognostic factors in chronic lymphocytic leukemia diagnosed using an immunophenotypic method. *Acta Haematol Pol* 2013, 43(3): 271-276.
64. Christiansen I, Gidlöf C, Wallgren AC, et al. Serum levels of soluble intercellular adhesion molecule 1 are increased in chronic B-lymphocytic leukemia and correlate with clinical stage and prognostic markers. *Blood* 1994, 84(9): 3010-3016.
65. Grabowski P, Hultdin M, Karlsson K, et al. Telomere length as a prognostic parameter in chronic lymphocytic leukemia with special reference to VH gene mutation status. *Blood* 2005, 105(12): 4807-4812.
66. Brezinova J, Berkova A, Vcelikova S, et al. Telomere length, molecular cytogenetic findings, and immunophenotypic features in previously untreated patients with B-chronic lymphocytic leukemia. *Neoplasma* 2010, 57(3): 215-221.
67. Van Bockstaele F, Pede V, Janssens A, et al. Lipoprotein lipase mRNA expression in whole blood is a prognostic marker in B cell chronic lymphocytic leukemia. *Clin Chem* 2007, 53(2): 204-212.
68. Heintel D, Kienle D, Shehata M, et al. High expression of lipoprotein lipase in poor risk B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia* 2005, 19(7): 1216-1223.
69. Xu W, Li JY, Shen QD, et al. Expression level of lipoprotein lipase in Chinese patients with chronic lymphocytic leukemia and its correlation with other prognostic factors. *Int J Lab Hematol* 2009, 31(5): 552-559.