

Received: 05.06.2018
Accepted: 27.11.2018
Published: 12.03.2019

Zaburzenia układu immunologicznego u chorych na przewlekłą białaczkę limfocytową*

Deregulation of the immune system in patients with chronic lymphocytic leukemia

Katarzyna Skórka, Marlena Kot, Joanna Knap, Krzysztof Giannopoulos

Zakład Hematoonkologii Doświadczalnej Uniwersytet Medyczny w Lublinie

Streszczenie

Przewlekła białaczka limfocytowa (PBL) jest najczęstszą białaczką u osób dorosłych zamieszkanych w krajach cywilizacji zachodnich. Przebieg kliniczny choroby jest niezwykle heterogenny, a patogeniza wciąż nieznaną. Zaburzenia układu immunologicznego u chorych na PBL występują we wczesnych stadiach choroby i pogłębiają się podczas obserwacji klinicznej. Chorych na PBL charakteryzuje obniżona odpowiedź immunologiczna, a także procesy autoimmunizacji. Immunosupresja stwierdzana u chorych na PBL jest związana z zaburzeniami odpowiedzi zarówno nieswoistej jak i T-, B-komórkowej, co prowadzi do częstych i ciężkich infekcji. Układ immunologiczny chorych na PBL może być hamowany przez wiele czynników immunosupresyjnych występujących w mikrośrodowisku, w tym populacje komórek układu odporności, do których należą komórki supresorowe pochodzenia mieloidalnego (myeloid-derived suppressor cell - MDSC), limfocyty T regulatorowe (T regulatory cell - Treg) oraz nowo poznane limfocyty B regulatorowe (B regulatory cell - Breg). Dowiedzono również, że komórki PBL mogą wykorzystywać szlak PD-1/PD-L1 do regulacji odpowiedzi immunologicznej i ucieczki spod nadzoru układu immunologicznego. U chorych na PBL uogólnionej obniżonej odpowiedzi immunologicznej mogą towarzyszyć procesy autoimmunizacji objawiające się klinicznie jako cytopenie autoimmunologiczne. Do wtórnych cytopenii autoimmunologicznych komplikujących przebieg choroby należą: anemia autoimmunohemolityczna (autoimmunehemolytic anemia - AIHA), małopłytkowość autoimmunologiczna (immunethrombocytopenia purpura - ITP), aplazja krwinek czerwonych (pure red cell aplasia - PRCA) oraz autoimmunologiczna granulocytopenia (autoimmunegrulocytopenia - AG). Identyfikacja zaburzeń immunologicznych u chorych na PBL jest niezbędna do poznania biologii choroby oraz doboru odpowiednich schematów leczniczych opartych na modulacji układu odporności.

Słowa kluczowe:

przewlekła białaczka limfocytowa (PBL) • limfocyty T regulatorowe (Treg) • limfocyty B regulatorowe (Breg) • komórki supresorowe pochodzenia mieloidalnego (MDSC) • cytopenie autoimmunologiczne • hipogammaglobulinemia

Summary

Chronic lymphocytic leukemia (CLL) constitutes the most common leukemia in adults living in western countries. The clinical course of the disease is extremely heterogeneous and pathogenesis is still unknown. Immune system disorders in CLL patients are observed in the early stages of the disease and worsen during clinical observation. On the one hand, CLL patients are characterized by immunosuppression and on the other hand, autoimmune pro-

*Praca jest finansowana ze środków projektu badawczego w ramach działalności statusowej Uniwersytetu Medycznego w Lublinie MNmb 536 przyznanego dla KS oraz MNsd 462 przyznanego dla KG.

cesses. The immunosuppression observed in patients with CLL is associated with disorders of non-specific immune response as well as T-cell and B-cell response, leading to frequent and severe infections. The immune system of patients with CLL could be also inhibited by many immunosuppressive factors occurred in tumor microenvironment, including populations of immune cells, which include myeloid-derived suppressor cells (MDSCs), T regulatory cells (Treg) and the newly described B regulatory cells (Breg). It was shown that CLL cells can regulate immune response and escape from the surveillance of the immune system through the PD-1/PD-L signalling pathway. Interestingly, reduced immune response in CLL patients may be accompanied by autoimmune processes clinically manifested as autoimmune cytopenias. The secondary autoimmune cytopenias complicating the course of the disease include autoimmune hemolytic anemia (AIHA), immune thrombocytopenia purpura (ITP), pure red cell aplasia (PRCA) and autoimmune granulocytopenia (AG). Identification of immunological disorders in patients with CLL is necessary to understand the biology of the disease and to select appropriate treatment patterns based on modulation of the immune system.

Keywords: chronic lymphocytic leukemia (CLL) • regulatory T cells (Tregs) • regulatory B cells (Bregs) • myeloid-derived suppressor cell (MDSC) • autoimmune cytopenias • hypogammaglobulinaemia

GICID: 01.3001.0013.0876
DOI: 10.5604/01.3001.0013.0876
Word count: 5313
Tables: 4
Figures: 2
References: 91

Adres autorki: dr n. med. Katarzyna Skórka, Zakład Hematoonkologii Doświadczalnej, Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Chodźki 4a, 20-059 Lublin; e-mail: katarzyna.skorka7@gmail.com

Wykaz skrótów: **AG** – autoimmunologiczna granulocytopenia (autoimmune granulocytopenia); **AIC** – cytopenia autoimmunologiczna; **AIHA** – anemia autoimmunohemolityczna (autoimmune hemolytic anemia); **APC** – komórki prezentujące antygen (antigen presentig cell); **ARG1** – arginaza 1 (arginase 1); **BAFF** – czynnik aktywujący limfocyty B (B-cell activating factor); **Bcl-2** – chłoniak komórkowy 2 (B cell lymphoma-2); **bd** – brak danych; **Breg** – limfocyty B regulatorowe (B regulatory cell); **BTA** – bezpośredni test antyglobulinowy; **B10pro** – komórki progenitorowe B10; **CTLA4** – antygen 4 związany z limfocytym cytotoksycznym (cytotoxic T lymphocyte antigen 4); **COX-2** – cyklooksigenaza typu 2; **FOXP3** – czynnik transkrypcyjny odgrywający istotną rolę w regulacji odpowiedzi (fork-head box P3, scurfín); **GEP** – profilowanie ekspresji genów (gene expression profiling); **GITR** – receptor z rodziny TNF indukowany przez glikokortykosteroidy (glucocorticoid-induced TNF family receptor); **GM-CSF** – czynnik stymulujący tworzenie kolonii granulocytów i makrofagów (granulocyte-macrophage colony-stimulating factor); **HLA-G** – human leukocyte antigen G; **HSCs** – hematopoetyczne komórki macierzyste; **IDO** – 2,3-dioksygenazy indoloaminy (indoleamine 2,3-dioxygenase); **IFN** – interferon; **IGHV** – region zmienny łańcucha ciężkiego immunoglobulin (immunoglobulin variable heavy chain - IGHV); **IL-1, -2, -3, -4, -6, -10, -13** – interleukiny (IL-1; -2, -3, -4, -6, -10, -13); **IMCs** – niedojrzałe komórki mieloidalne; **iNOS** – indukowalna syntetaza tlenu azotu (inducible nitric-oxide-synthase); **ITP** – małopłytkowość autoimmunologiczna (immunethrombocytopenia purpura); **IVIg** – substytucja poliklonalna immunoglobulin drogą dożylną (intravenous immunoglobulin); **JAK** – kinaza Janusowa (Janus kinases); **MBL** – monoklonalna limfocytoza B-komórkowa; **M-CSF** – czynnik stymulujący wzrost kolonii makrofagów (macrophage-colony stimulating factor); **MDSC** – komórki supresorowe pochodzenia mieloidalnego (myeloid-derived supresor cell); **MDCS IDO hi** – MDSC charakteryzujących się dużą aktywnością enzymu IDO; **NK** – komórki naturalni zabójcy (natural killer); **PBL** – przewlekła białaczka limfocytowa; **PGE2** – prostaglandyna E (prostaglandin E2); **PD-L1, PD-L2** – ligandy receptora programowanej śmierci (programmed death ligand); **PRCA** – aplazja krwinek czerwonych (pure red cell aplasia); **ROS** – reaktywne form tlenu (reactive oxygen species); **SCF** – czynnik wzrostu komórek macierzystych; **SClg** – substytucja poliklonalna immunoglobulin drogą podskórną (subcutaneous immunoglobulin); **STAT-1** – transduktory sygnału i aktywatory transkrypcji 1 (signal transducer and activator of transcription 1); **STAT-3** – transduktory sygnału i aktywatory transkrypcji 3 (signal transducer and activator of transcription 3);

STAT-6 – transduktory sygnału i aktywatory transkrypcji 6 (signal transducer and activator of transcription 6); **TGF- β** – transformujący czynnik wzrostu (transforming growth factor- β); **Th** – limfocyty pomocnicze (helper T lymphocytes); **TNF** – czynnik martwicy nowotworu; **VEGF** – czynnik wzrostu śródbłonna naczyńowego (vascular endothelial growth factor).

WPROWADZENIE

Przewlekła białaczka limfocytowa (PBL), która wywodzi się z dojrzałych limfocytów, należy do najczęstszych nowotworów hematologicznych u osób dorosłych zamieszkających w krajach cywilizacji zachodnich. Kliniczny przebieg PBL jest bardzo różnorodny. W pewnej grupie chorych przebieg choroby jest stabilny przez kilka lat bez pogorszenia jakości życia, natomiast w pozostałych przypadkach szybko dochodzi do progresji choroby [35, 69]. Zaburzenia układu immunologicznego u chorych na PBL występują już we wczesnych stadiach choroby, dotyczą zarówno odporności wrodzonej jak i nabytej oraz pogłębiają się podczas obserwacji klinicznej [21]. Chorych na PBL charakteryzuje obniżona odpowiedź immunologiczna, a także procesy autoimmunizacji [35]. Częstość występowania wskaźników zaburzeń układu immunologicznego u chorych na PBL z podziałem na immunologiczne i kliniczne przedstawiono w tabeli 1. Obniżona uogólniona odpowiedź immunologiczna klinicznie ujawnia się zwiększoną częstością infekcji, a także nowotworów wtórnych. Obecnie wiele uwagi poświęca się interakcjom między klonem komórek białaczkowych a komórkami wykazującymi aktywność immunosupresyjną w obrębie mikrośrodowiska. Immunosupresja u chorych na PBL jest również wynikiem działania chemioterapii, należy jednak pamiętać, że natychmiastowa konieczność wdrożenia leczenia dotyczy jedynie 30% chorych. Identyfikacja zaburzeń immunologicznych u chorych na PBL jest niezbędna do poznania biologii choroby oraz doboru odpowiednich schematów leczniczych opartych na modulacji układu odporności.

IMMUNOSUPRESJA

Zaburzenia odpowiedzi nieswoistej

W czasie odpowiedzi immunologicznej nieswoistej u chorych na PBL występują nieprawidłowości neutrofilów, komórek NK (natural killer), monocytów oraz układu dopełniacza. Zaburzenia neutrofilów obejmują zmniejszoną zdolność do fagocytozy, chemotaksji oraz upośledzoną aktywność bakteriobójczą. Liczba monocytów jest zwiększona, ale zdolność do wytwarzania enzymów bakteriobójczych jest zmniejszona. Liczba komórek NK jest zwiększona, jednak funkcjonalnie komórki NK są nieprawidłowe i wykazują zmniejszoną aktywność cytotoxyczną [21, 59, 70].

Zaburzenia odpowiedzi T-komórkowej

Odpowiedź immunologiczna swoista zarówno T-komórkowa jak i B-komórkowa jest zmieniona. We krwi chorych na PBL dominuje populacja limfocytów CD5⁺CD19⁻.

Odsetek limfocytów T w krwi jest niewielki w stosunku do populacji limfocytów B. Jednak wykazano, że liczba bezwzględna limfocytów T u chorych na PBL jest wyższa niż u osób zdrowych [63]. Liczba limfocytów T w początkowych etapach choroby zwiększa się i wykazuje narastającą akumulację oraz wyczerpanie czynnościowe. Mechanizmy, które sprzyjają ekspansji limfocytów T mogą obejmować stymulację układu immunologicznego przez autoantygeny [21].

U chorych na PBL subpopulacje limfocytów T liczbowo i funkcjonalnie różnią się od stanu fizjologicznego. Populacją przeważającą są limfocyty CD8⁺, stąd stosunek komórek CD4⁺:CD8⁺ jest odwrócony [21, 73]. Wyniki analizy profilowania ekspresji genów (gene expression profiling – GEP) określającej profil genowy limfocytów T w krwi, udowodniły znaczące zmiany w ekspresji genów odpowiedzialnych za tworzenie cytoszkieletu i warunkujących cytotoxyczność limfocytów CD8⁺, tworzenie cytoszkieletu limfocytów CD4⁺ oraz ich różnicowanie w porównaniu do grupy kontrolnej [27]. Wykazano, że upośledzona zdolność tworzenia cytoszkieletu limfocytów T zaburza prawidłowe tworzenie synapsy immunologicznej, zmniejszając aktywność efektorową komórek [70].

Zaburzenia odpowiedzi B-komórkowej, hipogammaglobulinemia

Populacja limfocytów B obejmuje przede wszystkim funkcjonalnie niekompetentne limfocyty białaczkowe, klinicznie ujawniające się obniżonym poziomem przeciwciał, hipogammaglobulinemią. Hipogammaglobulinemia jest najistotniejszym klinicznie zaburzeniem odpowiedzi B-komórkowej i obserwowana jest nawet u 85% chorych na PBL [1, 7, 14, 38, 76]. Zaobserwowano, że u niewielkiego odsetka chorych (15%) stężenie immunoglobulin może pozostawać w zakresie wartości prawidłowych, ale prawdopodobieństwo rozwoju hipogammaglobulinemii w ciągu 7 lat wynosi 70%. Dowiedziano, że hipogammaglobulinemia może występować kilka lat przed rozpoznaniem PBL i jest zjawiskiem nieodwracalnym [15, 81]. Obniżony poziom przynajmniej jednej podklasy Ig obserwowany jest już we wczesnych stadiach PBL. Nasilenie hipogammaglobulinemii postępuje z czasem trwania i progresją choroby i obejmuje obniżenie poziomu trzech klas Ig (IgA, IgM, IgG). Największy spadek dotyczy podklasy IgG3 oraz IgG4 [74].

Rozwój hipogammaglobulinemii jest związany z wieloma mechanizmami. Dotyczy zarówno upośledzenia funkcjonalnego poliklonalnych limfocytów B z ekspresją CD5 jak i limfocytów pomocniczych (helper T lymphocytes - Th) [31]. U chorych wytwarzanie immu-

Tabela 1. Częstość występowania wyznaczników immunologicznych i klinicznych zaburzeń układu immunologicznego u chorych na PBL

Parametr	Odsetek u chorych na PBL [%]	Piśmiennictwo	
Immunologiczny	MDSC	9,82±7,4	[87]
	Treg	12,80	[5]
	Breg	4,00	[18]
	PD-1	47,20	[30]
	PD-L1	52,52	[30]
Kliniczny	AIHA	7-10	[89]
	ITP	1-5	[89]
	PRCA	< 1	[89]
	AG	0,17	[89]

MDSC – komórki supresorowe pochodzenia mieloidalnego, Treg – limfocyty T regulatorowe, Breg – limfocyty B regulatorowe, PD-1 – receptor programowanej śmierci 1, PDL-1 – ligand receptora programowanej śmierci, AIHA – anemia autoimmunohemolityczna, ITP – małopłytkowość autoimmunologiczna, PRCA – czystoczerwonokrwinkowa aplazja, AG – autoimmunologiczna granulocytopenia

noglobulin jest obniżone, ponieważ prawidłowa liczba poliklonalnych limfocytów B jest wyparta przez klon białaczkowy, a także z powodu upośledzenia stymulacji cytokinowej oraz zaburzonych interakcji z limfocytami T [43]. Hipogammaglobulinemia może być także skutkiem upośledzonej prezentacji antygenów z powodu zmniejszonej ekspresji cząsteczek układu MHC klasy I na limfocytach PBL, niskiej ekspresji immunoglobulin powierzchniowych oraz nadmiernego wytwarzania cytokin hamujących funkcję przeciwciał, takich jak np. czynnik martwicy nowotworów (transforming growth factor β - TGF- β) [3]. Hipogammaglobulinemia, może być następstwem terapii z użyciem leków, których mechanizm działania jest związany z hamowaniem aktywności prawidłowych limfocytów B, do których należą analogi puryn czy przeciwciała monoklonalne anty-CD20 [4, 7]. Liczne badania wykazały, że stopień hipogammaglobulinemii koreluje ze stadiem zaawansowania choroby, co jest związane z postępującym zmniejszonym wytwarzaniem immunoglobulin [14, 38, 76].

Badania dotyczące znaczenia poziomu IgG, IgA oraz IgM w czasie rozpoznania PBL są odmiennie. Rozman i wsp. [76] wykazali, że chorzy, u których poziom IgA lub

IgG jest niższy od 700 mg/dl żyją krócej w porównaniu do chorych, u których poziom IgA lub IgG przekracza 700 mg/dl. Zaobserwowano również, że poziom IgA ma większe znaczenie rokownicze od poziomu IgG. Natomiast inni dowodzą, że ocena poziomu immunoglobulin w czasie rozpoznania PBL nie pozwala przewidzieć całkowitego przeżycia chorych, dlatego ich stężenie powinno się monitorować w czasie trwania choroby [22]. Zgodnie z aktualnymi zaleceniami National Cancer Institute Working Group poziom immunoglobulin w surowicy chorych na PBL należy oznaczać zarówno w rutynowej praktyce klinicznej, jak i u chorych biorących udział w badaniach klinicznych [33, 34].

Znaczenie oceny poziomu immunoglobulin w surowicy chorych na PBL jest istotne, ponieważ skutkiem zaburzeń immunologicznych, w tym niedoboru immunoglobulin, może być częstsze występowanie zakażeń, które są główną przyczyną zgonu chorych [57]. Zakażenia u chorych na PBL mają najczęściej podłoże bakteryjne, podobnie jak u osób ze zdiagnozowaną pierwotną hipogammaglobulinemią [59]. Związek między zmniejszonym stężeniem poszczególnych klas immunoglobulin, a występowaniem zakażeń u chorych na PBL stał się

przedmiotem wielu badań. Jednak wyniki są niejednoznaczne; wykazano, że to niedobór IgG jest najistotniejszy i wiąże się z częstymi zakażeniami [22, 38]. Mimo że nie został określony punkt odcięcia dotyczący poziomu immunoglobulin, który warunkuje występowanie powikłań infekcyjnych, to postępujący spadek poziomu IgG wiąże się z częstszymi infekcjami [22]. U chorych na PBL najczęściej obserwuje się niedobór podklas IgG3 oraz IgG4, co może wyjaśniać występowanie częstych infekcje odpowiednio wirusami typu *Herpes* oraz zakażeniami w obrębie dróg oddechowych [59]. Istnieją doniesienia, które wykazały, że to właśnie selektywny niedobór podklas IgG3 oraz IgG4 jest najbardziej związany z częstszym występowaniem zakażeń [29]. Są również prace doświadczalne, które potwierdzają, że to niedobór IgA jest związany ze zwiększoną częstością zakażeń głównie dotyczących układu oddechowego [74]. Brak jest natomiast danych dotyczących związku między selektywnym niedoborem IgM i większą zapadalnością na zakażenia.

Substytucja immunoglobulinami chorych na PBL

Metody profilaktyki rozwoju infekcji obejmują: szczepienia ochronne przeciwko *Hemophilus influenzae* i *Pneumococcus* sp., doustne przyjmowanie antybiotyków, leków przeciwwirusowych i przeciwwgrzybiczych oraz substytucję ludzkich, humanizowanych, rekombinowanych, poliklonalnych immunoglobulin drogą podskórną (subcutaneous immunoglobulin – SCIG) lub dożylną (intravenous immunoglobulin – IVIG). Celem substytucji immunoglobulin jest zmniejszenie liczby infekcji oraz ich ciężkości przez zwiększenie poziomu swoistych przeciwciał. Skuteczność profilaktyki zakażeń za pomocą substytucji immunoglobulin została udowodniona u osób z pierwotnymi niedoborami odporności, np.: agammaglobulinemią sprzężoną z chromosomem X, zespołem hiper Ig-M, złożonych niedoborach odporności z hipogammaglobulinemią, a także u chorych na PBL [17, 44].

Przed rozpoczęciem terapii substytucyjnej należy oznaczyć poziom poliklonalnych immunoglobulin IgG, IgA oraz IgM, a także przeprowadzić szczegółowy wywiad dotyczący powikłań infekcyjnych [17]. Nasilenie hipogammaglobulinemii i ryzyko infekcji zwiększa się z postępem choroby, dlatego te parametry powinny być regularnie monitorowane. Substytucja immunoglobulinami jest wskazana u chorych, u których pozostałe metody profilaktyki okazały się nieskuteczne. Antybiotykoterapia trwająca trzy miesiące, nieprzynosząca oczekiwanych wyników powinna poprzedzać próbę rozważenia substytucji Ig [17]. U chorych z hipogammaglobulinemią oraz istotnym wywiadem infekcyjnym należy rozważyć profilaktyczną terapię substytucyjną Ig. Poziom immunoglobulin IgG uznawany za hipogammaglobulinemię wynosi najczęściej poniżej 400 mg/dl. Jednak zakres wartości w zależności od ustalonych norm referencyjnych mieści się między 700-1600 mg/dL. Chorzy z towarzyszącymi rozstrzeniami oskrzeli mogą wymagać większych dawek. Za istotny wywiad infekcyjny uznaje się zagrażającą życiu infekcję bakteryjną lub infekcje

nawracające, które wymagają hospitalizacji lub antybiotykoterapii dożylniej. Należy ocenić związek hipogammaglobulinemii z infekcją, wykluczając inne czynniki ryzyka rozwoju zakażeń bakteryjnych np. zapalenie błon śluzowych po chemioterapii. Ostre stany infekcyjne również są wskazaniem do podania immunoglobulin, jednak w tych przypadkach skuteczność nie została potwierdzona badaniami klinicznymi. Preparaty immunoglobulin są podawane podskórną i dożylną. Większość badań dotyczy preparatów IVIG, natomiast skuteczność preparatów SCIG może być porównywalna przy znacznie łagodniejszych działaniach niepożądanych. Do powikłań ogólnoustrojowych podczas stosowania Ig można zaliczyć wstrząs, nudności, wymioty, bóle stawów, kości i mięśni, zaczerwienienie twarzy, dreszcze, gorączkę, ból głowy. Rzadkimi działaniami niepożądanymi preparatów Ig są epizody zakrzepowo-zatorowe, niewydolność nerek oraz zaostrzenie niewydolności serca [17].

W oparciu o przeprowadzone badania kliniczne, dawkowanie Ig powinno się rozpocząć od dawki 0,4 g/kg masy ciała, co 3-4 tygodnie. Monitorowanie skuteczności działania preparatów Ig ocenia się na podstawie zmniejszenia częstości infekcji i uzyskania pożądanego stężenia Ig. Nie określono docelowego stężenia IgG, jednak przyjmuje się jako wartość powyżej 500-800 mg/dl. Oznaczenia stężenia IgG powinno się wykonać przed podaniem preparatu Ig i przez kilka pierwszych miesięcy do czasu uzyskania stabilnych stężeń w surowicy. W ciągu pierwszego roku terapii substytucyjnej Ig badania kontrolne powinny być przeprowadzane co 3 miesiące. Wymagane jest osiągnięcie najmniejszej skutecznej dawki. Jeśli działanie Ig jest dobre, następne badania kontrolne mogą się odbywać co 6-12 miesięcy [17]. Częstość występowania infekcji powinna być oceniana regularnie, a co ważne, ocena infekcji powinna zawierać częstość i nasilenie oraz etiologię zakażenia. Kontrola infekcyjna powinna dotyczyć szczególnie układu oddechowego, ponieważ skuteczność działania preparatów Ig najbardziej dotyczy tej lokalizacji. Nie ma badań dotyczących substytucji Ig u chorych z hipogammaglobulinemią bez infekcji. Jednak należy ściśle monitorować tę grupę chorych, ze względu na ryzyko rozwoju ciężkich infekcji [17, 44].

Czynniki immunosupresyjne w mikrośrodkowisku nowotworu, immunosupresyjne komórki układu odporności

Układ immunologiczny chorych na PBL jest hamowany przez wiele czynników immunosupresyjnych występujących w mikrośrodkowisku nowotworu, w tym populacje komórek układu odporności, do których należą komórki supresorowe pochodzenia mieloidalnego (myeloid-derived supresor cell - MDSC), limfocyty T regulatorowe (T regulatory cell - Treg), oraz nowo poznane limfocyty B regulatorowe (B regulatory cell - Breg) [21, 25, 45]. Komórki te w wyniku różnych mechanizmów hamujących układ odporności mogą sprzyjać rozwojowi choroby nowotworowej.

Komórki supresorowe pochodzenia mieloidalnego

Komórki supresorowe pochodzenia mieloidalnego są heterogenną populacją niedojrzałych i dojrzałych komórek wywodzących się z linii mieloidalnej. U osób zdrowych, niedojrzałe komórki linii mieloidalnej różnicują się w dojrzałe granulocyty, makrofagi lub komórki dendrytyczne, dlatego odsetek MDSC jest niewielki. Natomiast, w chorobach nowotworowych czy w przewlekłych stanach zapalnych w wyniku wytwarzania cytokin i innych substancji różnicowanie komórek prekursorowych ulega zahamowaniu, a odsetek MDSC znacząco się zwiększa [23]. Czynniki odpowiedzialne za aktywację i ekspansję MDSC przedstawiono w tabeli 2. W obrębie MDSC wyróżnia się dwie populacje: monocytarną i granulocytarną [80].

Aktywowane MDSC wykazują silne właściwości immunosupresyjne przez zdolność do wytwarzania arginazy-1 (arginase-1- ARG1), indukowalnej syntetazy tlenu azotu (inducible nitric-oxide-synthase - iNOS), reaktywnych form tlenu (reactive oxygen species - ROS), IL-10, IL-12, TGF-β, czynnika wzrostu śródbłonna naczyniowego (vascular endothelial growth factor - VEGF) oraz 2,3dioksygenazyindoloaminy (indoleamine 2,3-dioxygenase - IDO). MDSC nie tylko hamują proliferację limfocytów T, ale także indukują generację limfocytów T regulatorowych [45, 52, 62, 77]. Komórki MDSC mogą również indukować angiogenezę i sprzyjać rozprzestrzenianiu się nowotworu [45, 65].

Populacja MDSC jest immunofenotypowo zróżnicowana w chorobach nowotworowych i zależy od czynników wydzielanych przez otaczające je komórki charakterystyczne dla określonego typu nowotworu [45] (tabela 3). Do czynników mających udział w stymulacji powstawania MDSC, wytwarzanych przez komórki nowotworowe zalicza się: cyklooksygenazę-2, prostaglandynę E (prostaglandin E2 - PGE2), czynnik stymulujący wzrost kolonii makrofagów (macrophage-colony stimulating factor - M-CSF), czynnik stymulujący tworzenie kolonii granulocytów i makrofagów (granulocyte-macrophage colony-stimulating factor - GM-CSF), oraz VEGF (tabela 2). Wymienione czynniki stymulują mielopoezę i hamują różnicowanie się komórek prekursorowych do dojrzałych komórek przez aktywację szlaku kinazy Janusowej (Janus kinases - JAK) oraz STAT3 (Signal transducer and activator of transcription 3), zaangażowanych w wiele procesów komórkowych, takich jak proliferacja, apoptoza, różnicowanie komórki. STAT3 jest głównym czynnikiem transkrypcyjnym, który reguluje ekspansję komórek MDSC. Stała aktywacja czynnika STAT3 w progenitorowych komórkach szpikowych hamuje ich różnicowanie w dojrzałe komórki mieloidalne i promuje ekspansję komórek MDSC [23, 52].

Najnowsze badania [45] potwierdziły znaczenie MDSC u chorych na PBL. Wykazano, że odsetek komórek MDSC o immunofenotypie CD14⁺ HLA-DR^{lo} we krwi jest zwiększony u chorych nieleczonych, będących we wczesnym stadium PBL. Immunofenotyp MDSC u chorych na PBL

Tabela 2. Czynniki odpowiedzialne za proces ekspansji i aktywacji komórek MDSC

Proces ekspansji/aktywacji komórek MDSC	Czynniki	Źródło czynników	Mechanizmy przewodzenia sygnałów	Efekt komórkowy
Aktywacja	TGF-β	Aktywowane limfocyty oraz komórki zębowe	STAT1, NF-κβ, STAT6	Aktywacja komórek MDSC, iNOS oraz ARG1
	IL-4			
	IL-13			
Ekspansja	IFN	Komórki nowotworowe	JAK, STAT3	Hamowanie różnicowania dojrzałych komórek mieloidalnych
	IL-6			
	GM-CSF			
	VEGF			
	COX-2			
	Prostaglandyny			
	SCF			
M-CSF				

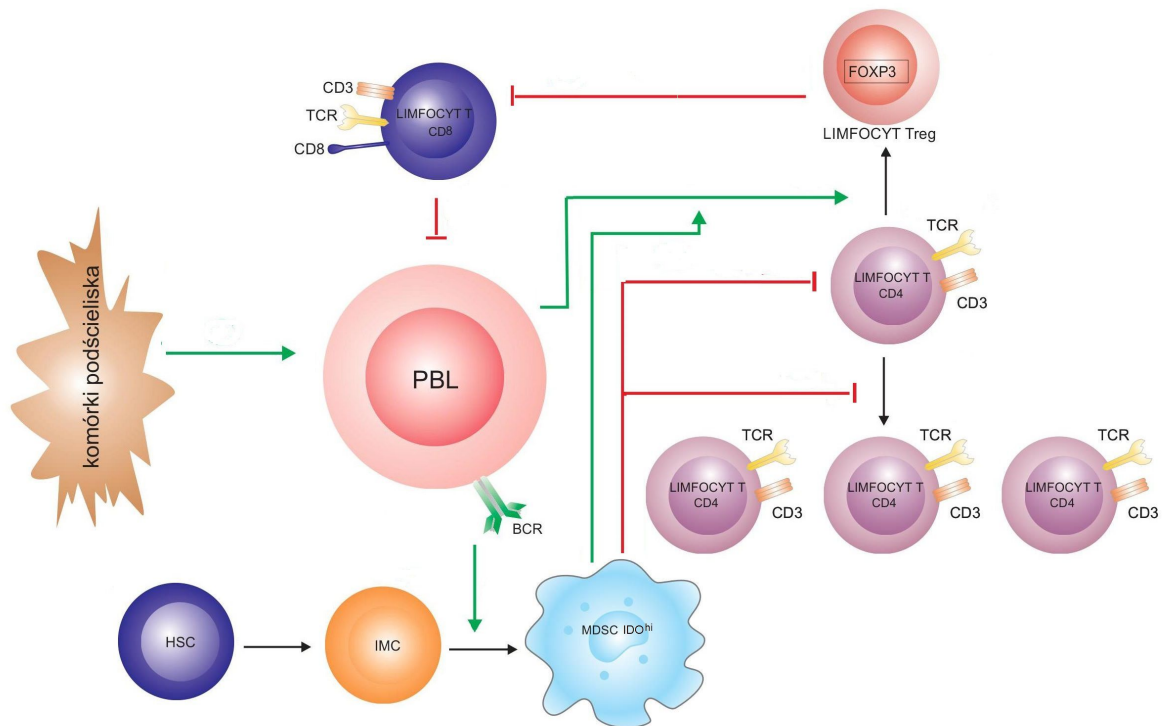
TGF-β – transformujący czynnik wzrostu β, IL-4, -13, -6 – interleukiny-4, -13, -6, IFN – interferon, GM-CSF – czynnik stymulujący tworzenie kolonii granulocytów i makrofagów, VEGF – czynnik wzrostu śródbłonna naczyniowego, COX-2 – cyklooksygenaza typu 2, SCF – czynnik wzrostu komórek macierzystych, M-CSF – czynnik stymulujący tworzenie kolonii makrofagów, STAT-1 – transduktory sygnału i aktywatory transkrypcji 1, STAT-6 – transduktor sygnału i aktywator transkrypcji 6, ARG1 – araginaza-1, iNOS – indukowalna syntetaza tlenu azotu.

obejmuje ekspresję markerów powierzchniowych charakterystycznych dla komórek linii mieloidalnej (CD11c, CD33) przy braku ekspresji markerów linii granulocytarnej. Na powierzchni MDSC występują cząsteczki adhezyjne, takie jak CD11b, CD62L oraz cząsteczki biorące udział w aktywacji makrofagów np.: receptor czynnika stymulującego tworzenie kolonii makrofagowych (CD115), receptor typu 2 TNF- α (CD120b) czy receptor α IL-4 (CD124). Obecność swoistego liganda 1 receptora programowanej śmierci PD-1 (programmed death ligand 1 - PD-L1) oraz HLA-G (human leukocyte antigen G) wskazują na immunosupresyjną aktywność komórek MDSC w stosunku do limfocytów T. Komórki MDSC u chorych na PBL charakteryzują się wyższą ekspresją PD-L1, HLA-G oraz CD62L w porównaniu do niedojrzałych monocytów osób zdrowych.

Dowodzono, że komórki MDSC charakteryzujące się wysoką ekspresjąIDO hamują aktywację oraz proliferację komórek T, ale także prowadzą do indukcji aktywacji oraz proliferacji limfocytów Treg w warunkach *in vitro*. Badania czynnościowe potwierdziły obecność wzajemnych interakcji między komórkami PBL, MDSC oraz Treg [45]. Wykazano, że komórki PBL mogą bezpośrednio pobudzać generowanie ze zdrowych mono-

cytów komórek MDSC z dużą aktywnością enzymuIDO (MDCS IDO hi), prowadzącą do konwersji konwencjonalnych limfocytów T do limfocytów Treg (ryc. 1). Hamujący wpływ komórek MDSC na limfocyty T wynika z dużej aktywnościIDO.IDO jest wewnątrzkomórkowym enzymem uczestniczącym w metabolizmie tryptofanu. Enzym ten katalizuje początkowy etap szlaku kinureninowego. Zarówno zmniejszenie tryptofanu jak i nagromadzenie kinureniny powoduje hamowanie limfocytów T i indukcję limfocytów Treg [45]. ObecnieIDO jest uważana za główny punkt kontrolny, wpływający na tolerancję immunologiczną związaną z nowotworem [45]. Wykazano, że przeciwciała przeciwkoIDO noszą działanie MDSC, co sugeruje, że farmakologiczne hamowanieIDO może doprowadzić do pobudzenia układu immunologicznego [64].

Dane dotyczące wpływu MDSC na rokowanie PBL są niejednoznaczne. Jitschin i wsp. [45] nie zaobserwowali zależności między liczbą MDSC, a ekspresją antygenu CD38, białka ZAP-70, poziomem β_2 -mikroglobuliny czy stanem mutacji genów kodujących region zmienny łańcucha ciężkiego immunoglobulin (immunoglobulin variable heavy chain



Ryc. 1. Interakcje między komórkami mikrośrodowiska a komórkami białaczkowymi PBL; komórki białaczkowe promują generację komórek supresorowych pochodzenia mieloidalnego (MDSC) z niedojrzałych komórek mieloidalnych. MDSC z wysoką ekspresją 2,3-dioksygenazy indoloaminy (MDSC IDOhi) hamują aktywację i proliferację limfocytów T CD4+ oraz zwiększają zdolność komórek PBL do oddziaływania na konwersję komórek dziewczyczych T CD4+ w Treg. Funkcje efektorowe limfocytów T CD8+ są hamowane przez limfocyty T regulatorowe (Treg), których powstawanie jest promowane przez komórki PBL. Sygnały protekcyjne komórki PBL odbierają przez bezpośrednie interakcje z komórkami podścieliska (np. przez CXCR3/CXCL12) [46]; HSCs – hematopoetyczne komórki macierzyste, IMCs – niedojrzałe komórki mieloidalne, MDSC- komórki supresorowe pochodzenia mieloidalnego, IDO - 2,3-dioksygenazy indoloaminy

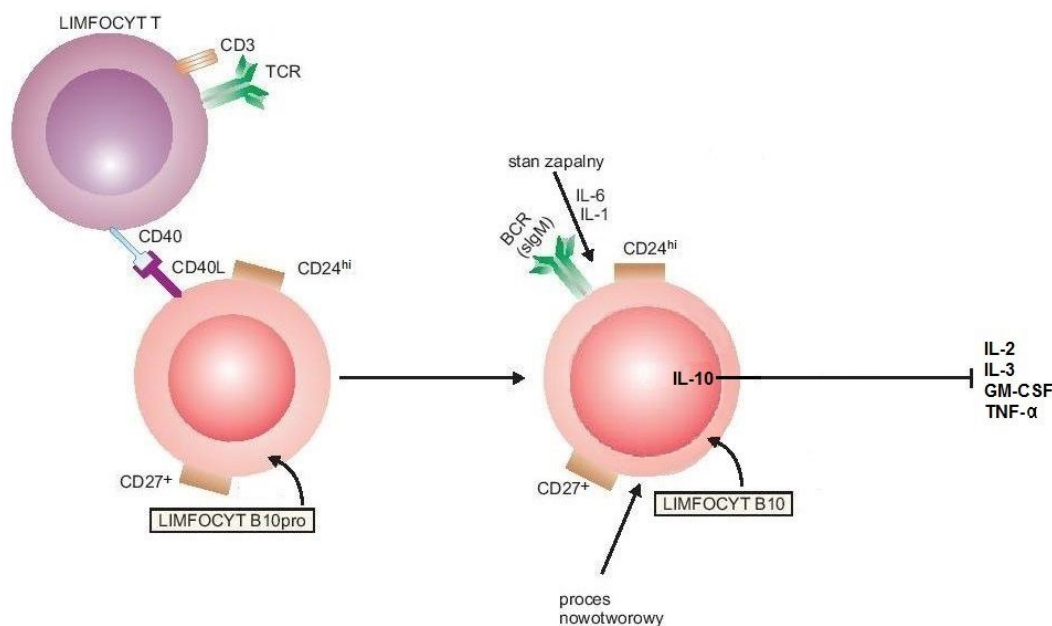
- IGHV). Natomiast Gustafson i wsp. [31] wykazali, że zwiększony odsetek komórek CD14⁺ HLA-DR^{lo} koreluje z krótszym czasem progresji PBL. Chorzy, którzy byli w stanie remisji przez 12 miesięcy po zakończeniu leczenia, mieli obniżony poziom komórek CD14⁺ HLA-DR^{lo}, porównywalny do poziomu obserwowanego u osób zdrowych [31]. Powyższe doniesienia wskazują, że populacja MDSC IDO^{hi} może pełnić rolę w regulacji układu immunologicznego w PBL tłumiąc odpowiedź przeciwnowotworową.

Limfocyty T regulatorowe

Treg są najlepiej poznaną populacją supresorową w PBL; tłumiąc nadmierną odpowiedź immunologiczną, utrzymują homeostazę układu odpornościowego. Hamowanie dotyczy innych komórek immunokompetentnych w tym limfocytów T cytotoksycznych oraz T pomocniczych zarówno pośrednio jak i bezpośrednio [11, 26]. Limfocyty Treg definiuje się jako komórki CD4⁺ z wysoką ekspresją receptora IL-2 (CD25) oraz cytoplazmatycznym białkiem FOXP3 (fork-headbox P3, scurfin), czyli o immunofenotypie CD4⁺CD25^{high}FOXP3⁺ [26]. Białko FOXP3 jest niezbędnym czynnikiem transkrypcyjnym do różnicowania dziewiczych limfocytów T w kierunku limfocytów Treg i nabywania przez nie aktywności supresorowej [88]. Markerem wykluczającym jest podjednostka α receptora IL-7 (CD127) [12]. Dodatkowymi markerami identyfikuj

ącymi Treg są antygen 4 związany z limfocytom cytotoksycznym (cytotoxic T lymphocyte antigen 4 - CTLA4) oraz receptor z rodziny TNF indukowany przez glikokortykosteroidy (glucocorticoid-induced TNF family receptor- GITR) [26, 72].

Zwiększony odsetek Treg we krwi obwodowej chorych na PBL w porównaniu do osób zdrowych potwierdzono w kilku badaniach (zakres 0,43-12,8%) [10, 24, 40, 41, 86]. Ponadto, dowiedziono, że zwiększony odsetek Treg wiąże się z progresją choroby [10, 24, 40, 41, 48]. Wykazano, że większa liczba lub odsetek Treg może mieć istotną i niezależną wartość prognostyczną w przewidywaniu chwili wdrożenia pierwszej linii leczenia u chorych na PBL w niskim i średnim stadium zaawansowania [9, 86]. Zaobserwowano, że bezwzględna liczba Treg oceniana u chorych w stadium 0 wg Rai może stratyfikować chorych pod względem czasu do wdrożenia pierwszej linii leczenia. Natomiast Wiess i wsp. [86] potwierdzili znaczenie prognostyczne odsetka Treg co do czasu pierwszego leczenia u chorych we wczesnym i pośrednim stadium choroby wg Rai. Analiza związku odsetka/liczby Treg z czynnikami rokowniczymi wykazała zależność między odsetkiem Treg a ekspresją CD38, stadium zaawansowania choroby, a także stanem mutacji IGHV [9, 24, 42, 86]. Ponadto dowiedziono, że liczba limfocytów Treg odwrotnie koreluje z czasem podwojenia limfocytów [16].



Ryc. 2. Mechanizm powstawania limfocytów B10 (Breg) [19]; prekursor - limfocyt B10pro immunofenotypie CD24^{hi}CD27⁺ pod wpływem stymulacji przez interakcję z limfocytami T (CD40/CD40L) i w obecności prozapalnych cytokin czy procesu nowotworowego, przekształca się do limfocyt B10. W wyniku wytwarzania IL-10 hamowane jest wytwarzanie pozostałych cytokin. Subpopulacja limfocytów B wydzielająca IL-10 jest określana jako komórki B10. Prekursorami limfocytów Breg, są komórki progenitorowe B10 (B10pro). Komórki B10pro przekształcają się do komórek B10 przez stymulację z udziałem cząsteczki CD40. Obie subpopulacje wykazują wysoki poziom ekspresji CD24 oraz ekspresję CD27, a markerem różnicującym jest ekspresja IL-10.

Mechanizm ekspansji Treg w PBL nie jest określony. Jak i wsp. [42] wykazali, że liczba Treg może się zwiększać w wyniku stymulacji ich proliferacji dzięki interakcjom CD27-CD70 w ośrodkach rozmnażania w węzłach chłonnych. Dodatkowym mechanizmem sprzyjającym przeżyciu Treg może być ich zmniejszona wrażliwość na apoptozę, która wynika ze zwiększonej ekspresji białka antyapoptotycznego Bcl-2 (B cell lymphoma-2).

W niektórych nowotworach hematologicznych (szpiczak plazmocytowy), komórki Treg wykazują zaburzenia czynnościowe [67]. Natomiast badania potwierdzają, że w PBL limfocyty Treg zachowują immunosupresyjną funkcję [24, 48]. Zaobserwowano, że większy odsetek Treg wiąże się ze zmniejszoną swoistą odpowiedzią limfocytów T CD8⁺ skierowanych przeciwko antygenom wirusowym i nowotworowym [24, 48]. Treg u chorych na PBL charakteryzują się zwiększoną ekspresją markera degranulacji CD107a, związanego z aktywnością cytotoksyczną komórek T, w porównaniu do grupy kontrolnej. W badaniach czynnościowych dowiedziono, że Treg izolowane od chorych na PBL, wykazują silne właściwości cytotoksyczne i mogą niszczyć autologiczne komórki nowotworowe *in vitro* [51].

Mechanizm hamowania efektorowych limfocytów T przez Treg w PBL nie jest dokładnie poznany. Lindqvist i wsp. [50] wskazują, że Treg mogą regulować proliferację limfocytów T przez uwalnianie rozpuszczalnego czynnika CD25, przez komórki CD4⁺ Treg. Wydaje się, że komórki Treg mogą hamować proliferację efektorowych komórek T i komórek nowotworowych w sposób zależny i niezależny od bezpośredniego kontaktu [41]. Wyniki badań sugerują, że funkcjonalnie aktywne limfocyty Treg, są zdolne do wzbudzenia ogólnej immunosupresji, zarówno efektorowych komórek T jak i nowotworowych, ale te ostatnie komórki wydają się nabywać odporność na ich działanie. Ekspansja komórek Treg, która jest związana z progresją choroby powoduje spadek limfocytów NKT-podobnych, które mają potencjał przeciwnowotworowy [40].

Niedawne doniesienia wskazują, że komórki PBL może mieć wpływ na zmianę konwencjonalnego immunofenotypu komórek T CD4⁺ w kierunku regulacyjnego immunofenotypu, zwiększając ekspansję komórek T CD4⁺FoxP3⁺ w mikrośrodowisku nowotworu. W badaniach czynnościowych Piper i wsp. [65] wykazali, że inkubacja komórek T CD4⁺ z komórkami białaczkowymi, prowadziła do sześciokrotnego wzrostu ekspresji FoxP3 w komórkach T CD4⁺ CD25⁺.

Limfocyty B regulatorowe

Limfocyty Breg to niewielka populacja komórek B, która pełni funkcje regulacyjne przez wydzielanie wielu rozpuszczalnych czynników, głównie IL-10. IL-10 hamuje syntezę cytokin prozapalnych i sprzyja różnicowaniu się limfocytów w limfocyty T regulatorowe [39, 54, 75]. Limfocyty Breg stanowią 4% populacji komórek B [75]. Sub-

populacja limfocytów B wydzielająca IL-10 jest określana jako komórki B10. Prekursorami limfocytów Breg, są komórki progenitorowe B10 (B10pro). Komórki B10pro przekształcają się do komórek B10 przez stymulację z udziałem cząsteczki CD40 (ryc. 2). Obie subpopulacje wykazują wysoki poziom ekspresji CD24 oraz ekspresję CD27, a markerem różnicującym jest ekspresja IL-10. Populacja limfocytów Breg, zwiększa swoją liczbę w stanach zapalnych, chorobach autoimmunizacyjnych czy chorobach nowotworowych prowadząc do hamowania odpowiedzi immunologicznej [18, 21].

Komórki PBL wykazują pewne podobieństwa do limfocytów Breg. Białaczkowe komórki PBL są anergiczne i mają niską ekspresję immunoglobulin powierzchniowych w tym IgM. Markery powierzchniowe typowe dla limfocytów Breg, takie jak CD19, CD24, CD27 czy CD38 są również charakterystycznym markerem dla komórek PBL [18]. Komórki białaczkowe wykazują ekspresję innych cząsteczek związanych z immunosupresyjną aktywnością Breg, w tym: CD39/CD73 (ektoenzym wytwarzający adenozyne hamującą proliferację limfocytów T), CD200 (cząsteczka negatywnie wpływająca na tworzenie synapsy aktywnej limfocytów T, hamująca wydzielanie IL-2 oraz IFN- γ przez limfocyty T CD4⁺, pobudzająca różnicowanie się limfocytów CD4⁺ w Treg, hamująca komórki prezentujące antygen (antygen presentig cell – APC) oraz negatywne cząsteczki kostymulatorowe CTLA-4 i PD-1 [13, 18, 21, 37].

Komórki PBL są zdolne do spontanicznego wytwarzania niewielkiej ilości IL-10, natomiast *in vitro* pod wpływem różnych czynników stymulujących w tym limfocytów T (CD40), produktów bakteryjnych (lipopolisacharyd, CPG-ODN), czy monocytów/makrofagów (B-cell activating factor - BAFF) ilość wytwarzanej IL-10 znacząco się zwiększa. Wykazano, że ilość uwalnianej IL-10 przez komórki B10 jest znacznie większa u chorych na PBL, w porównaniu do zdrowych ochotników, a odsetek komórek zdolnych do wydzielania IL-10 jest typowy dla chorych ze zmutowanymi *IGHV* [18]. Znaczenie limfocytów Breg w PBL nie jest dokładnie wyjaśnione, jednak powyższe badania wskazują, że zdolność komórek PBL do wytwarzania IL-10 w odpowiedzi na zewnętrzną stymulację może doprowadzić do zaburzeń układu immunologicznego i progresji choroby.

Receptor PD-1

Receptor programowanej śmierci 1 (programmed cell death protein 1 – PD-1) jest negatywnym regulatorem odpowiedzi immunologicznej. PD-1 ulega ekspresji na aktywowanych limfocytach T, B, komórkach NK, komórkach dendrytycznych i monocytach. Znaczenie interakcji między PD-1, a jego swoistymi ligandami PD-L1 oraz PD-L2 (programmed death ligand 2) najlepiej opisano dla limfocytów T. Ich połączenie generuje sygnał hamujący aktywację, proliferację oraz funkcje efektorowe limfocytów T [8, 30].

Tabela 3. Immunofenotyp charakteryzujący komórki MDSC w różnych typach nowotworów

Fenotyp MDSC	Typ nowotworu	Piśmiennictwo
IDO ^{hi} CD62L ^{hi} PD-L1 ^{hi} HLA-G ^{hi} CD11b+CD33+CD14+HLA-DR ^{-/lo}	przewlekła białaczka limfocytowa	[45]
CD11b+ CD33+ HLA-DR Lin	nowotwór piersi	[60]
CD14+HLA-DR ^{-/lo} STAT ^{hi} CD80+ CD83+ DC-Sign+	czerniak	[66]
CD14+HLA-DR ^{-/lo} CD11b+CD14-CD15+	rak nerkowokomórkowy	[20]
CD15+FSClo SSChi	gruczolakorak trzustki, jelita grubego i piersi	[78]
CD124+CD14+ CD124+CD15+ CD14+ HLA-DR ^{-/lo} S100A9	rak jelita grubego	[61]
CD14+HLA-DR ^{-/lo}	rak wątrobowokomórkowy	[87]
CD11+CD33+HLA-DR ^{-/lo} Lin1 ^{-/lo}	rak żołądka, przetyku	[86]
CD11b+CD14+CD33+ HLA-DR ^{-/lo}	nowotwory przewodu pokarmowego	[86]
CD11b ⁺ CD15 ⁺ CD33 ⁺ HLA-DR ⁻ CD14 ⁺ CD33 ⁺ HLA-DR ^{-/lo} CD15+CD33+ HLA-DR ⁻	glejak	[71]
CD11b+CD33+ HLA-DR ⁻	nerwiak zarodkowy	[28]
CD11+ HLA-DR ⁻ Lin ⁻ CD14+ HLA-DR ⁻ Lin ⁻ CD15+ HLA-DR ⁻ Lin ⁻ CD33+ HLA-DR ⁻ Lin ⁻	rak płaskonabłonkowy głowy i szyi	[47]

Wykazano, że komórki nowotworowe w tym PBL mogą wykorzystywać szlak PD-1/PD-L do regulacji odpowiedzi immunologicznej i ucieczki spod nadzoru układu immunologicznego [6, 8]. U chorych na PBL potwierdzono ekspresję PD-1 i PD-L1 na poziomie białkowym na powierzchni komórek białaczkowych CD5⁺CD19⁺. Zaobserwowano ich ekspresję również na poziomie molekularnym. Ekspresja PD-1 zarówno na poziomie mRNA jak i białkowym była wyższa u chorych w porównaniu do grupy kontrolnej, natomiast ekspresja PD-L1 wyłącznie na poziomie białkowym była wyższa na komórkach PBL w porównaniu do zdrowych limfocytów B. Udowodniona zależność między ekspresją PD-1 oraz PD-L1 na poziomie białkowym u chorych na PBL wskazuje na prawdopodobne zaangażowanie szlaku PD-1/PDL-1 w generację immunosupresyjnego środowiska nowotworu. Zaobserwowano natomiast brak zależności między ekspresją PD-1 na poziomie białkowym i molekularnym z parametrami klinicznymi chorych na PBL, np. wiek, płeć czy stadium zaawansowania choroby, a także uznanymi czynnikami rokowniczymi, takimi jak ekspresja ZAP-70, CD38 czy status mutacji IGHV [30].

Inne badania wykazały zwiększoną ekspresję PD-1 na

krążących limfocytach T CD4⁺ oraz CD8⁺ u chorych na PBL w porównaniu do limfocytów T CD4⁺ oraz CD8⁺ od podobnych wiekowo zdrowych ochotników. Potwierdzono zwiększoną ekspresję PD-L1 na limfocytach białaczkowych w porównaniu do limfocytów B osób zdrowych. Zwiększona ekspresja PD-1 i PD-L1 dotyczyła również proliferujących limfocytów T i limfocytów B. Dowiedziono, że w węzłach chłonnych jako kompartmentie proliferacji limfocyty T CD4⁺PD-1⁺ są w bliskim kontakcie z komórkami PBL wykazującymi ekspresję PDL-1. Co więcej, w badaniach czynnościowych z użyciem rekombinowanego rozpuszczalnego PD-L1 i przeciwciał blokujących anty-PD-1, udowodniono, że szlak PD-1/PDL przyczynia się do hamowania IFN-γ przez limfocyty T CD8⁺ oraz IL-4 przez limfocyty T CD4⁺ [6].

Autoimmunizacja

U chorych na PBL uogólnionej obniżonej odpowiedzi immunologicznej mogą towarzyszyć procesy autoimmunizacji. Cytopenie autoimmunologiczne są często stwierdzaną komplikacją w przebiegu PBL i mogą się pojawić u 10-20% chorych w zależności od stadium zaawansowania choroby i sposobu leczenia. Do

Tabela 4. Częstość występowania poszczególnych rodzajów cytopenii autoimmunohemolitycznych u chorych na PBL

Liczba chorych	Częstość AIHA (%)	Częstość ITP (%)	Częstość PRCA (%)	Zespół Evansa	Cytopenie ogółem (%)	Piśmiennictwo
964	5,7	0,9	bd	0,2	6,55	[19]
1270	bd	5	bd	bd	bd	[84]
1750	2,3	2	0,5	bd	4,3	[90]
960	6	2	bd	0,1	7	[58]

AIHA – anemia autoimmunohemolityczna, ITP – małopłytkowość autoimmunologiczna, PRCA – czystoczerwonokrwinkowa aplazja, bd – brak danych.

wtórnych cytopenii autoimmunologicznych pojawiających się w przebiegu tej choroby należą: anemia autoimmunohemolityczna (autoimmune hemolytic anemia - AIHA), małopłytkowość autoimmunologiczna (immunethrombocytopenia purpura - ITP), aplazja krwinek czerwonych (pure red cell aplasia - PRCA) oraz autoimmunologiczna granulocytopenia (autoimmune granulocytopenia - AG). Najczęstszymi postaciami są AIHA (7-10%) oraz ITP (7-10%); występowanie PRCA i AG należy do rzadkości (1%). Cytopenie autoimmunologiczne mogą się pojawić na każdym etapie choroby, zarówno w chwili diagnozy, w czasie przebiegu PBL, jak również przed rozpoznaniem [82]. Można je również zaobserwować w monoklonalnej limfocytocie B komórkowej (MBL) [55].

Zarówno niedokrwistość jak i małopłytkowość mogą wystąpić w wyniku wyparcia prawidłowej hematopojezy przez klon komórek białczkowych w zaawansowanych postaciach PBL. Natomiast podłoże autoimmunologiczne poszczególnych zaburzeń jest niezależne od etapu rozwoju choroby [79]. Istotne jest odróżnienie cytopenii autoimmunologicznych od cytopenii wynikających z nacieczenia szpiku kostnego, ponieważ inaczej rokują i wymagają innego leczenia [82]. Cytopenie na podłożu autoimmunizacji rokują lepiej niż spowodowane zajęciem szpiku kostnego, ponieważ lepiej poddają się leczeniu. Mogą występować w różnym stadium zaawansowania choroby, co nie rzadko prowadzi do zmiany standardowego leczenia.

Zaburzenia autoimmunologiczne występują z różną częstością. W tabeli 3 zestawiono badania przeprowadzone w dużych grupach chorych w ostatnich latach i częstość występowania poszczególnych cytopenii (tabela 4).

Patomechanizm rozwoju cytopenii autoimmunologicznych

W cytopenii autoimmunologicznych (AIC) 90% jest spowodowane występowaniem poliklonalnych przeciw-

ciał IgG typu ciepłego o dużym powinowactwie, które są skierowane przeciwko antygenom erytrocytarnym oraz antygenom błonowym płytek krwi. Przeciwciała typu ciepłego są wytwarzane przez nienowotworowe limfocyty B. W 14% białaczkowe limfocyty B wytwarzają przeciwciała typu zimnego klasy IgM [16, 82]. Głównym etapem rozwoju AIHA jest aktywacja autoreaktywnych limfocytów Th. Pobudzenie limfocytów pomocniczych zachodzi w procesie prezentacji antygeny przez APC. Rolę APC w tym przypadku odgrywają nowotworowe limfocyty B, które prezentują antygen Rh krwinek czerwonych. Innym antygenem, przeciwko któremu skierowane są przeciwciała jest białko B3 erytrocytów [32]. Wytwarzanie przeciwciał IgG jest Th-zależne i w przypadku rozwoju cytopenii autoimmunologicznych w PBL jest zgodne z tą regułą. Komórki PBL prawdopodobnie dostarczają sygnałów hamujących dla Treg, co zapobiega eliminacji autoreaktywnych limfocytów [11]. Przeciwciała następnie splaszczą erytrocyty i powodują ich lizę pod wpływem mechanizmu cytotoksyczności zależnej od przeciwciał lub cytotoksyczności zależnej od układu dopełniacza [36]. Dodatkowym procesem, który zaburza wytwarzanie komórek krwi jest blokowanie przez komórki NK oraz limfocyty cytotoksyczne procesu erytro- i megakariocytopojezy przez wydzielanie hamujących cytokin oraz przez ich bezpośrednie działanie [36, 82].

Znaczącym wydaje się związek między występowaniem określonych sekwencji *IGHV* („stereotypowe” BCR) a występowaniem odpowiednich cytopenii autoimmunologicznych. Zaobserwowano, że zwiększone ryzyko rozwoju ITP występuje u chorych z określonymi sekwencjami dla BCR określanymi jako subset #1 (*IGHV1-5-7/IGHD6-19/IGHJ4*) oraz subset #7 (*IGHV1-69* lub *IGHV3-30/IGHD3-3/IGHJ6*); natomiast rozwój AIHA towarzyszy subsetowi #3 (*IGHV1-69* i *IGHV4-30/IGHD2-2/IGHJ6*) [53, 82, 83]. Doniesienia te wskazują prawdopodobny wpływ stymulacji autoantygenu w rozwoju cytopenii autoimmunologicznych.

Lad i wsp. [49] wykazali obecność większej liczby limfocytów Th17 u chorych, u których wystąpiły cytopenie autoimmunologiczne. Ponadto zaobserwowano, że odsetki komórek Th17 były zwiększone u chorych z AIC, w porównaniu do chorych w zaawansowanym stadium PBL, lecz bez AIC. Stosunek komórek Treg/Th17 u chorych, u których wystąpiły AIC, skierowany był na korzyść limfocytów Th17. Być może bilans Treg/Th17 ma podstawowe znaczenie w patofizjologii AIC u chorych na PBL.

Czynniki sprzyjające wystąpieniu cytopenii

AIHA oraz ITP występują częściej u chorych z niekorzystnymi czynnikami rokowniczymi, takimi jak wysoki poziom β 2-mikroglobuliny, dodatnia ekspresja antygeny CD38 oraz białka ZAP-70, delecja 11q, rozlany typ naciekania szpiku, a także wysokie stężenie dehydrogenazy mleczanowej (lactase dehydrogenase - LDH) [58, 68]. Ryzyko wystąpienia AIHA zwiększa się wraz z progresją choroby. Innym czynnikiem predysponującym do rozwoju AIHA jest starszy wiek niezależnie od stadium zaawansowania choroby [2]. Znaczącym czynnikiem prognostycznym rozwoju AIHA lub ITP jest status mutacji *IGHV* [58, 68, 82]. Niezmutowany status dla *IGHV* jest związany z częstszym występowaniem cytopenii autoimmunologicznych [56].

Obraz kliniczny AIHA i ITP

Anemia autoimmunohemolityczna jest zdecydowanie najczęstszą z cytopenii autoimmunologicznych pojawiających się w przebiegu PBL. Jednak wymaga różnicowania z innymi przyczynami anemii (niedobór żelaza, witaminy B12, krwawienie, sepsa czy przewlekły stan zapalny). Rozwój anemii w przebiegu PBL może być również spowodowany wyparciem układu czerwonego ze szpiku kostnego przez komórki białaczkowe. W tym przypadku objawy rozwijają się powoli i występują w zaawansowanym stadium. AIHA może się pojawić na każdym etapie choroby i jest związana z wystąpieniem nagłych objawów. Jednak w pewnej grupie przypadków AIHA może się rozwijać przewlekle [36]. Dodatkowym objawem AIHA jest wzrost bilirubiny we krwi, klinicznie objawiający się żółtaczka powłok.

Zróżnicowanie AIHA na odmianę typu ciepłego oraz typu zimnego jest niezwykle ważne w diagnostyce, ocenie rokowania i doborze leczenia. AIHA typu zimnego, klasyfikowana jako choroba zimnych aglutynin jest rzadsza i jest spowodowana przeciwciałami w klasie IgM, które mogą wiązać dopełniacz i indukować wewnątrzcząstynową hemolizę. AIHA typu ciepłego wiąże się z obecnością przeciwciał w klasie IgG skierowanych przeciwko epitopom układu Rh, które są zdolne do indukcji zewnątrzcząstynowej hemolizy, występującej w śledzionie. Proces hemolityczny, który występuje wewnątrzcząstynowo niszczy erythrocyty z dziesięciokrotnie większą siłą niż hemoliza, która odbywa się w śledzionie. AIHA

może być spowodowane nie tylko autoprzeciwciałami, ale też alloprzeciwciałami u chorych po wielokrotnych transfuzjach oraz u wieloródek [82]. Visco i wsp. [84] wykazali, że czas od chwili rozpoznania do pojawienia się ITP wynosił 17 miesięcy, a wystąpienie ITP było związane z większą limfocytozą we krwi obwodowej oraz dodatnim bezpośrednim testem antyglobulinowym (BTA). Skrócony całkowity czas przeżycia u chorych z ITP wykazywał ścisłą korelację z występowaniem silnych krwawień. W odróżnieniu od AIHA, która wykazuje bliski związek z aktywnością PBL, wystąpienie ITP nie wiązało się z aktywnością choroby. W razie pojawienia się ITP rokowanie jest takie samo jak u chorych z małopłytkowością spowodowaną nacieczeniem szpiku kostnego. Rozwój ITP jest bardzo niekorzystnym czynnikiem prognostycznym. Wykazano, że intensywne leczenie immunosupresyjne chorych z ITP wiązało się z większą zachorowalnością i śmiertelnością z powodu infekcji. Inne badania sugerują ścisły związek między wystąpieniem ITP, a stanem mutacji *IGHV* [83]. Testy wykrywające przeciwciała przeciw płytkowe mają ograniczoną wartość diagnostyczną z powodu niewielkiej swoistości. Brak odpowiedniego testu wykrywającego przeciwciała skierowane przeciw płytkom stanowi główne ograniczenie interpretacji trombocytopenii pojawiającej się w przebiegu PBL. Pojawieniu się ITP w 30% przypadków może towarzyszyć AIHA (zespół Evansa) [82].

Wartość prognostyczna testu BTA

Test BTA pozostaje głównym testem diagnostycznym potwierdzającym występowanie AIHA. Dearden i wsp. [16] wykazali, że stadium zaawansowania C wg Bineta oraz wysoki poziom β 2-mikroglobuliny były niezależnymi czynnikami prognostycznymi pozytywnego wyniku testu BTA. Powyższe badania przeprowadzono w grupie 777 chorych leczonych fludarabiną lub chlorambucylem w monoterapii lub w połączeniu fludarabiny z cyklofosfamidem. U 14% chorych wykazano dodatni BTA przed leczeniem, natomiast u 28% chorych z dodatnim BTA rozwinęła się AIHA. Wykazano, że stosowanie fludarabiny w monoterapii powoduje częstsze występowanie AIHA oraz pozytywnego wyniku testu BTA, a także częstszą konwersję wyniku ujemnego do pozytywnego. Wynik testu BTA ma silną, niezależną korelację z rozwojem AIHA. Wykazano, że u co trzeciego chorego z pozytywnym BTA może wystąpić AIHA. Jednak zaobserwowano, że rozwój tej cytopenii może wystąpić także u 10-14% chorych z ujemnym BTA [46]. Wartość predykcyjna dodatnia dla testu BTA wynosi 30%, natomiast wartość predykcyjna ujemna 90%. Stwierdzono, że chorzy, u których rozwój AIHA korelował z dodatnim testem BTA mieli wyższy poziom retikulocytozy i przeciwciał przeciwko erythrocytom, większą liczbę krwinek białych oraz niższy poziom haptoglobiny niż chorzy z ujemnym BTA. Wykazano również, że chorzy z AIHA, u których wynik testu BTA był ujemny mieli łagodniejszą postać choroby i lepiej odpowiadali na leczenie steroidami [46].

Quinquenel i wsp. [68] wykazali, że dodatni BTA może być ważnym, niezależnym czynnikiem prognostycznym u cho-

rych w stadium zaawansowania A wg Bineta, niezależnie czy wystąpiła u nich AIHA. Analizę przeprowadzono w grupie 378 chorych na PBL, w której 56 chorych (14,8%) miało przynajmniej jeden pozytywny wynik testu BTA w czasie trwania choroby. Badacze nie wykazali związku między czasem pierwszego pozytywnego wyniku BTA a całkowitym czasem przeżycia. Jednak zaobserwowano, że chorzy z pozytywnym wynikiem BTA, u których nie zdiagnozowano AIHA, mieli bardziej agresywny przebieg choroby niż chorzy, u których doszło do rozwoju AIHA. Wśród 36 chorych z pozytywnym wynikiem testu BTA, u 22 wystąpił on przed leczeniem i dla tej grupy czas wolny od leczenia był wielokrotnie krótszy niż u chorych z ujemnym wynikiem testu BTA. Co więcej, w stadium zaawansowania A wg skali Bineta dodatni BTA był związany ze znacznie krótszym całkowitym czasem przeżycia. W grupie chorych ze stadium zaawansowania A wg skali Bineta z pozytywnym BTA zaobserwowano częste występowanie niezmutowanych genów *IGHV*. Przytoczone badania sugerują, że wynik testu BTA może być ważnym niekorzystnym czynnikiem rokowniczym i powinien być powtarzany w czasie obserwacji chorych na PBL.

PODSUMOWANIE

W ostatnich latach identyfikacja zaburzeń układu immunologicznego w PBL stała się przedmiotem licznych badań. Z jednej strony chorych na PBL charakteryzuje obniżona odpowiedź immunologiczna, a z drugiej procesy autoimmunizacji. Zaburzenia odpowiedzi swoistej oraz nieswoistej występują we wczesnych stadiach choroby, pogłębiając się podczas obserwacji klinicznej, a to wpływa na jakość życia chorych. Zarówno objawy immunosupresji w postaci częstych infekcji, jak i występowanie autoimmunizacji prowadzące do cytopenii autoimmunologicznych wynikają z zaburzeń funkcjonalnych, a także ilościowych komórek układu immunologicznego. Bardzo istotne są nieprawidłowe interakcje między klonem komórek białaczkowych

a komórkami wykazującymi aktywność immunosupresyjną w obrębie mikrośrodowiska. Częstość występowania wykładników immunologicznych i klinicznych zaburzeń układu immunologicznego u chorych na PBL jest zróżnicowana. Ważną rolę w immunosupresji, w tym ucieczce układu immunologicznego spod nadzoru immunologicznego, pełni szlak przekazywania PD-1/PDL-1. Istotnymi u chorych na PBL wykładnikami immunosupresyjnymi, oprócz poznanych wcześniej limfocytów Treg, są komórki MDSC, a także nowo poznane limfocyty Breg. Najistotniejszym zaburzeniem odpowiedzi B-komórkowej jest powszechnie obserwowana hipogammaglobulinemia. Oznaczenie poziomu immunoglobulin w surowicy chorych na PBL jest istotne, ponieważ następstwem ich niedoboru może być częstsze występowanie zakażeń, które są główną przyczyną zgonu chorych. Do skutecznych metod profilaktyki, zakażeń u chorych na PBL, u których pozostałe metody profilaktyki okazały się nieskuteczne należy substytucja immunoglobulin, której celem jest zmniejszenie liczby infekcji oraz ich ciężkości przez zwiększenie poziomu przeciwciał. Cytopenie autoimmunologiczne są często stwierdzaną komplikacją w przebiegu PBL i mogą się pojawić u 10-20% chorych w zależności od stadium zaawansowania choroby i sposobu leczenia. Najczęściej obserwowaną cytopenią jest AIHA, której występowanie potwierdza się za pomocą testu BTA. Przytoczone w artykule badania sugerują, że wynik testu BTA może być niekorzystnym czynnikiem rokowniczym i powinien być powtarzany w czasie obserwacji chorych na PBL.

KOŃCOWE WNIOSKI

Określenie wykładników immunosupresji oraz autoimmunizacji u chorych na PBL jest istotnym krokiem do poznania biologii tej heterogennej choroby, a także doboru odpowiednich schematów leczniczych w przyszłości, które będą oparte na modulacji układu odporności.

PIŚMIENNICTWO

- [1] Anderson L.A., Landgren O., Engels E.A.: Common community acquired infections and subsequent risk of chronic lymphocytic leukaemia. *Br. J. Haematol.*, 2009; 147: 444-449
- [2] Barcellini W., Capalbo S., Agostinelli R.M., Mauro F.R., Ambrosetti A., Calori R., Cortelezzi A., Laurenti L., Pogliani E.M., Pedotti P., Liso V., Girelli G., Mandelli F., Zanella A., GIMEMA Chronic Lymphocytic Leukemia Group: Relationship between autoimmune phenomena and disease stage and therapy in B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Haematologica*, 2006; 91: 1689-1692
- [3] Bartik M.M., Welker D., Kay N.E.: Impairments in immune cell function in B cell chronic lymphocytic leukemia. *Semin. Oncol.*, 1998; 25: 27-33
- [4] Bauer K., Rancea M., Roloff V., Elter T., Hallek M., Engert A., Skoetz N.: Rituximab, ofatumumab and other monoclonal anti-CD20 antibodies for chronic lymphocytic leukaemia. *Cochrane database Syst. Rev.*, 2012; 11: CD008079
- [5] Biancotto A., Dagur P.K., Fuchs J.C., Wiestner A., Bagwell C.B., McCoy J.P.: Phenotypic complexity of T regulatory subsets in patients with B-chronic lymphocytic leukemia. *Mod. Pathol.*, 2012; 25: 246-259
- [6] Brusa D., Serra S., Coscia M., Rossi D., D'Arena G., Laurenti L., Jakšić O., Fedele G., Inghirami G., Gaidano G., Malavasi F., Deaglio S.: The PD-1/PD-L1 axis contributes to T-cell dysfunction in chronic lymphocytic leukemia. *Haematologica*, 2013; 98: 953-963
- [7] Casulo C., Maragulia J., Zelenetz A.D.: Incidence of hypogammaglobulinemia in patients receiving rituximab and the use of intravenous immunoglobulin for recurrent infections. *Clin. Lymphoma Myeloma Leuk.*, 2013; 13: 106-111
- [8] Chang C.H., Qiu J., O'Sullivan D., Buck M.D., Noguchi T., Curtis J.D., Chen Q., Gindin M., Gubin M.M., van der Windt G.J., Tonc E., Schreiber R.D., Pearce E.J., Pearce E.L.: Metabolic competition in the tumor microenvironment is a driver of cancer progression. *Cell*, 2015; 162: 1229-1241
- [9] D'Arena G., D'Auria F., Simeon V., Laurenti L., Deaglio S., Mansueti G., Del Principe M.I., Statuto T., Pietrantonio G., Guariglia R., Innocenti I., Martorelli M.C., Villani O., De Feo V., Del Poeta G. i wsp.: A shorter time to the first treatment may be predicted by the absolute number of regulatory T-cells in patients with Rai stage 0 chronic lymphocytic leukemia. *Am. J. Hematol.*, 2012; 87: 628-631

- [10] D'Arena G., Laurenti L., Minervini M.M., Deaglio S., Bonello L., De Martino L., De Padua L., Savino L., Tarnani M., De Feo V., Cascavilla N.: Regulatory T-cell number is increased in chronic lymphocytic leukemia patients and correlates with progressive disease. *Leuk. Res.*, 2011; 35: 363-368
- [11] D'Arena G., Rossi G., Vannata B., Deaglio S., Mansueto G., D'Auria F., Statuto T., Simeon V., De Martino L., Marandino A., Del Poeta G., De Feo V., Musto P.: Regulatory T-cells in chronic lymphocytic leukemia and autoimmune diseases. *Mediterr. J. Hematol. Infect. Dis.*, 2012; 4: e2012053
- [12] D'Arena G., Simeon V., D'Auria F., Statuto T., Sanzo P.D., Martino L.D., Marandino A., Sangiorgio M., Musto P., Feo V.D.: Regulatory T-cells in chronic lymphocytic leukemia: actor or innocent bystander? *Am. J. Blood Res.*, 2013; 3: 52-57
- [13] Damle R.N., Ghiotto F., Valetto A., Albesiano E., Fais F., Yan X.J., Sison C.P., Allen S.L., Kolitz J., Schulman P., Vinciguerra V.P., Budde P., Frey J., Rai K.R., Ferrarini M. i wsp.: B-cell chronic lymphocytic leukemia cells express a surface membrane phenotype of activated, antigen-experienced B lymphocytes. *Blood*, 2002; 99: 4087-4093
- [14] Davey F.R., Kurec A.S., Tomar R.H., Smith J.R.: Serum immunoglobulins and lymphocyte subsets in chronic lymphocytic leukemia. *Am. J. Clin. Pathol.*, 1987; 87: 60-65
- [15] Dearden C.: Disease-specific complications of chronic lymphocytic leukemia. *Hematol. Am. Soc. Hematology Educ. Program*, 2008; 450-456
- [16] Dearden C., Wade R., Else M., Richards S., Milligan D., Hamblin T., Catovsky D., UK National Cancer Research Institute (NCRI), Haematological Oncology Clinical Studies Group, NCRI CLL Working Group: The prognostic significance of a positive direct antiglobulin test in chronic lymphocytic leukemia: a beneficial effect of the combination of fludarabine and cyclophosphamide on the incidence of hemolytic anemia. *Blood*, 2008; 111: 1820-1826
- [17] Dhalla F., Lucas M., Schuh A., Bhole M., Jain R., Patel S.Y., Misbah S., Chapel H.: Antibody deficiency secondary to chronic lymphocytic leukemia: Should patients be treated with prophylactic replacement immunoglobulin? *J. Clin. Immunol.*, 2014; 34: 277-282
- [18] DiLillo D.J., Weinberg J.B., Yoshizaki A., Horikawa M., Bryant J.M., Iwata Y., Matsushita T., Matta K.M., Chen Y., Venturi G.M., Russo G., Gockerman J.P., Moore J.O., Diehl L.F., Volkheimer A.D. i wsp.: Chronic lymphocytic leukemia and regulatory B cells share IL-10 competence and immunosuppressive function. *Leukemia*, 2013; 27: 170-182
- [19] Duek A., Shvidel L., Braester A., Berrebi A.: Clinical and immunologic aspects of B chronic lymphocytic leukemia associated with autoimmune disorders. *Isr. Med. Assoc. J.*, 2006; 8: 828-831
- [20] Finke J.H., Rini B., Ireland J., Rayman P., Richmond A., Golshayan A., Wood L., Elson P., Garcia J., Dreicer R., Bukowski R.: Sunitinib reverses type-1 immune suppression and decreases T-regulatory cells in renal cell carcinoma patients. *Clin. Cancer Res.*, 2008; 14: 6674-6682
- [21] Forconi F., Moss P.: Perturbation of the normal immune system in patients with CLL. *Blood*, 2015; 126: 573-581
- [22] Francis S., Karanth M., Pratt G., Starczynski J., Hooper L., Fegan C., Pepper C., Valcarcel D., Milligan D.W., Delgado J.: The effect of immunoglobulin VH gene mutation status and other prognostic factors on the incidence of major infections in patients with chronic lymphocytic leukemia. *Cancer*, 2006; 107: 1023-1033
- [23] Gabrilovich D.I., Nagaraj S.: Myeloid-derived suppressor cells as regulators of the immune system. *Nat. Rev. Immunol.*, 2009; 9: 162-174
- [24] Giannopoulos K., Schmitt M., Kowal M., Wlasiuk P., Bojarska-Junak A., Chen J., Rolinski J., Dmoszynska A.: Characterization of regulatory T cells in patients with B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Oncol. Rep.*, 2008; 20: 677-682
- [25] Giannopoulos K., Schmitt M., Wlasiuk P., Chen J., Bojarska-Junak A., Kowal M., Roliński J., Dmoszyńska A.: The high frequency of T regulatory cells in patients with B-cell chronic lymphocytic leukemia is diminished through treatment with thalidomide. *Leukemia*, 2008; 22: 222-224
- [26] Głowacka-Kosińska M.G., Giebel S.: Charakterystyka oraz znaczenie prognostyczne regulatorowych limfocytów T w nowotworach układu chłonnego. *Hematologia*, 2014; 5: 145-153
- [27] Görgün G., Holderried T.A., Zahrieh D., Neuberger D., Gribben J.G.: Chronic lymphocytic leukemia cells induce changes in gene expression of CD4 and CD8 T cells. *J. Clin. Invest.*, 2005; 115: 1797-1805
- [28] Gowda M., Godder K., Kmiecik M., Worschech A., Ascierto M.L., Wang E., Marincola F.M., Manjili M.H.: Distinct signatures of the immune responses in low risk versus high risk neuroblastoma. *J. Transl. Med.*, 2011; 9: 170
- [29] Griffiths H., Lea J., Bunch C., Lee M., Chapel H.: Predictors of infection in chronic lymphocytic leukaemia (CLL). *Clin. Exp. Immunol.*, 1992; 89: 374-377
- [30] Grzywnowicz M., Zaleska J., Mertens D., Tomczak W., Wlasiuk P., Kosior K., Piechnik A., Bojarska-Junak A., Dmoszynska A., Giannopoulos K.: Programmed death-1 and its ligand are novel immunotolerant molecules expressed on leukemic B cells in chronic lymphocytic leukemia. *PLoS One*, 2012; 7: e35178
- [31] Gustafson M.P., Abraham R.S., Lin Y., Wu W., Gastineau D.A., Zent C.S., Dietz A.B.: Association of an increased frequency of CD14+ HLA-DR lo/neg monocytes with decreased time to progression in chronic lymphocytic leukaemia (CLL). *Br. J. Haematol.*, 2012; 156: 674-676
- [32] Hall A.M., Vickers M.A., McLeod E., Barker R.N.: Rh autoantigen presentation to helper T cells in chronic lymphocytic leukemia by malignant B cells. *Blood*, 2005; 105: 2007-2015
- [33] Hallek M.: Chronic lymphocytic leukemia: 2015 Update on diagnosis, risk stratification, and treatment. *Am. J. Hematol.*, 2015; 90: 446-460
- [34] Hallek M., Cheson B.D., Catovsky D., Caligaris-Cappio F., Dighiero G., Döhner H., Hillmen P., Keating M.J., Montserrat E., Rai K.R., Kipps T.J., International Workshop on Chronic Lymphocytic Leukemia: Guidelines for the diagnosis and treatment of chronic lymphocytic leukemia: a report from the International Workshop on Chronic Lymphocytic Leukemia updating the National Cancer Institute-Working Group 1996 guidelines. *Blood*, 2008; 111: 5446-5456
- [35] Hamblin A.D., Hamblin T.J.: The immunodeficiency of chronic lymphocytic leukaemia. *Br. Med. Bull.*, 2008; 87: 49-62
- [36] Hamblin T.J.: Autoimmune complications of chronic lymphocytic leukemia. *Semin. Oncol.*, 2006; 33: 230-239
- [37] Herishanu Y., Pérez-Galán P., Liu D., Biancotto A., Pittaluga S., Vire B., Gibellini F., Njuguna N., Lee E., Stennett L., Raghavachari N., Liu P., McCoy J.P., Raffeld M., Stetler-Stevenson M. i wsp.: The lymph node microenvironment promotes B-cell receptor signaling, NF-kappaB activation, and tumor proliferation in chronic lymphocytic leukemia. *Blood*, 2011; 117: 563-574
- [38] Itälä M., Helenius H., Nikoskelainen J., Remes K.: Infections and serum IgG levels in patients with chronic lymphocytic leukemia. *Eur. J. Haematol.*, 1992; 48: 266-270
- [39] Iwata Y., Matsushita T., Horikawa M., DiLillo D.J., Yanaba K., Venturi G.M., Szabolcs P.M., Bernstein S.H., Magro C.M., Williams A.D., Hall R.P., St Clair E.W., Tedder T.F.: Characterization of a rare IL-10-competent B-cell subset in humans that parallels mouse regulatory B10 cells. *Blood*, 2011; 117: 530-541
- [40] Jadidi-Niaragh F., Jeddi-Tehrani M., Ansari-pour B., Razavi S.M., Sharifian R.A., Shokri F.: Reduced frequency of NKT-like cells in patients with progressive chronic lymphocytic leukemia. *Med. Oncol.*, 2012; 29: 3561-3569
- [41] Jadidi-Niaragh F., Yousefi M., Memarian A., Hojjat-Farsangi M., Khoshnoodi J., Razavi S.M., Jeddi-Tehrani M., Shokri F.: Increased

- frequency of CD8+ and CD4+ regulatory T cells in chronic lymphocytic leukemia: association with disease progression. *Cancer Invest.*, 2013; 31: 121-131
- [42] Jak M., Mous R., Remmerswaal E.B., Spijker R., Jaspers A., Yagüe A., Eldering E., Van Lier R.A., Van Oers M.H.: Enhanced formation and survival of CD4+ CD25hi Foxp3+ T-cells in chronic lymphocytic leukemia. *Leuk. Lymphoma*, 2009; 50: 788-801
- [43] Jamrozia K., Końska A.: Substytucja immunoglobulin u chorych na przewlekłą białaczkę limfocytową i szpiczaka plazmocytozowego. *Acta Haematol. Pol.*, 2015; 46: 233-241
- [44] Jamrozia K., Puła B., Walewski J.: Current treatment of chronic lymphocytic leukemia. *Curr. Treat. Options Oncol.*, 2017; 18: 5
- [45] Jitschin R., Braun M., Büttner M., Dettmer-Wilde K., Bricks J., Berger J., Eckart M.J., Krause S.W., Oefner P.J., Le Blanc K., Mackensen A., Moutonakos D.: CLL-cells induce IDOhi CD14+HLA-DRlo myeloid-derived suppressor cells that inhibit T-cell responses and promote TRegs. *Blood*, 2014; 124: 750-760
- [46] Kamesaki T., Toyotsuji T., Kajii E.: Characterization of direct antiglobulin test-negative autoimmune hemolytic anemia: a study of 154 cases. *Am. J. Hematol.*, 2013; 88: 93-96
- [47] Kotsakis A., Harasymczuk M., Schilling B., Georgoulis V., Argiris A., Whiteside T.L.: Myeloid-derived suppressor cell measurements in fresh and cryopreserved blood samples. *J. Immunol. Methods*, 2012; 381: 14-22
- [48] Lad D.P., Varma S., Varma N., Sachdeva M.U., Bose P.P.: Regulatory T-cells in B-cell chronic lymphocytic leukemia: their role in disease progression and autoimmune cytopenias. *Leuk. Lymphoma*, 2012; 54: 1012-1019
- [49] Lad D.P., Varma S., Varma N., Sachdeva M.U., Bose P., Malhotra P.: Regulatory T-cell and T-helper 17 balance in chronic lymphocytic leukemia progression and autoimmune cytopenias. *Leuk. Lymphoma*, 2015; 56: 2424-2428
- [50] Lindqvist C.A., Christiansson L.H., Simonsson B., Enblad G., Olsson-Strömberg U., Loskog A.S.: T regulatory cells control T-cell proliferation partly by the release of soluble CD25 in patients with B-cell malignancies. *Immunology*, 2010; 131: 371-376
- [51] Lindqvist C.A., Christiansson L.H., Thörn I., Mangsbo S., Paul-Wetterberg G., Sundström C., Tötterman T.H., Simonsson B., Enblad G., Frisk P., Olsson-Strömberg U., Loskog A.S.: Both CD4+ FoxP3+ and CD4+ FoxP3- T cells from patients with B-cell malignancy express cytolytic markers and kill autologous leukaemic B cells in vitro. *Immunology*, 2011; 133: 296-306
- [52] Łuczyski W., Krawczuk-Rybak M., Stasiak-Barmuta A.: Komórki supresyjne pochodzące z linii mieloidalnej - nowy mechanizm upośledzenia odporności w chorobach nowotworowych. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2008; 62: 18-22
- [53] Maura F., Visco C., Falisi E., Reda G., Fabris S., Agnelli L., Tuana G., Lionetti M., Guercini N., Novella E., Nichele I., Montaldi A., Autore F., Gregorini A., Barcellini W. i wsp.: B-cell receptor configuration and adverse cytogenetics are associated with autoimmune hemolytic anemia in chronic lymphocytic leukemia. *Am. J. Hematol.*, 2013; 88: 32-36
- [54] Mauri C., Bosma A.: Immune regulatory function of B cells. *Annu. Rev. Immunol.*, 2012; 30: 221-241
- [55] Mittal S., Blaylock M.G., Culligan D.J., Barker R.N., Vickers M.A.: A high rate of CLL phenotype lymphocytes in autoimmune hemolytic anemia and immune thrombocytopenic purpura. *Haematologica*, 2008; 93: 151-152
- [56] Mockridge C.I., Potter K.N., Wheatley I., Neville L.A., Packham G., Stevenson F.K.: Reversible anergy of sIgM-mediated signaling in the two subsets of CLL defined by VH-gene mutational status. *Blood*, 2007; 109: 4424-4431
- [57] Molica S.: Infections in chronic lymphocytic leukemia: risk factors, and impact on survival, and treatment. *Leuk. Lymphoma*, 1994; 13: 203-214
- [58] Moreno C., Hodgson K., Ferrer G., Elena M., Filella X., Pereira A., Baumann T., Montserrat E.: Autoimmune cytopenia in chronic lymphocytic leukemia: prevalence, clinical associations, and prognostic significance. *Blood*, 2010; 116: 4771-4776
- [59] Morra E., Nosari A., Montillo M.: Infectious complications in chronic lymphocytic leukaemia. *Hematol. Cell Ther.*, 1999; 41: 145-151
- [60] Mundy-Bosse B.L., Young G.S., Bauer T., Binkley E., Bloomston M., Bill M.A., Bekaii-Saab T., Carson W.E., Lesinski G.B.: Distinct myeloid suppressor cell subsets correlate with plasma IL-6 and IL-10 and reduced interferon-alpha signaling in CD4+ T cells from patients with GI malignancy. *Cancer Immunol. Immunother.*, 2011; 60: 1269-1279
- [61] Oberlies J., Watzl C., Giese T., Luckner C., Kropf P., Müller I., Ho A.D., Munder M.: Regulation of NK cell function by human granulocyte arginase. *J. Immunol.*, 2009; 182: 5259-5267
- [62] Ostrand-Rosenberg S., Sinha P.: Myeloid-derived suppressor cells: linking inflammation and cancer. *J. Immunol.*, 2009; 182: 4499-4506
- [63] Palma M., Gentilcore G., Heimersson K., Mozaffari F., Näsman-Glaser B., Young E., Rosenquist R., Hansson L., Österborg A., Mellstedt H.: T cells in chronic lymphocytic leukemia display dysregulated expression of immune checkpoints and activation markers. *Haematologica*, 2017; 102: 562-572
- [64] Pan P.Y., Ma G., Weber K.J., Ozao-Choy J., Wang G., Yin B., Divino C.M., Chen S.H.: Immune stimulatory receptor CD40 is required for T-cell suppression and T regulatory cell activation mediated by myeloid-derived suppressor cells in cancer. *Cancer Res.*, 2010; 70: 99-108
- [65] Piper K.P., Karanth M., McLarnon A., Kalk E., Khan N., Murray J., Pratt G., Moss P.A.: Chronic lymphocytic leukaemia cells drive the global CD4 + T cell repertoire towards a regulatory phenotype and leads to the accumulation of CD4 + forkhead box P3 + T cells. *Clin. Exp. Immunol.*, 2011; 166: 154-163
- [66] Poschke I., Moutonakos D., Hansson J., Masucci G.V., Kiessling R.: Immature immunosuppressive CD14+HLA-DR-/low cells in melanoma patients are Stat3hi and overexpress CD80, CD83, and DC-sign. *Cancer Res.*, 2010; 70: 4335-4345
- [67] Prabhala R.H., Neri P., Bae J.E., Tassone P., Shammas M.A., Allam C.K., Daley J.F., Chauhan D., Blanchard E., Thatte H.S., Anderson K.C., Munshi N.C.: Dysfunctional T regulatory cells in multiple myeloma. *Blood*, 2006; 107: 301-304
- [68] Quinquenel A., Al Nawakil C., Baran-Marszak F., Eclache V., Le-testu R., Khaloufi M., Boubaya M., Le Roy C., Varin-Blank N., Delmer A., Levy V., Ajchenbaum-Cymbalista F.: Old DAT and new data: positive direct antiglobulin test identifies a subgroup with poor outcome among chronic lymphocytic leukemia stage A patients. *Am. J. Hematol.*, 2015; 90: E5-E8
- [69] Rai K.R., Jain P.: Chronic lymphocytic leukemia (CLL) - then and now. *Am. J. Hematol.*, 2016; 91: 330-340
- [70] Ramsay A.G., Johnson A.J., Lee A.M., Gorgün G., Le Dieu R., Blum W., Byrd J.C., Gribben J.G.: Chronic lymphocytic leukemia T cells show impaired immunological synapse formation that can be reversed with an immunomodulating drug. *J. Clin. Invest.*, 2008; 118: 2427-2437
- [71] Raychaudhuri B., Rayman P., Ireland J., Ko J., Rini B., Borden E.C., Garcia J., Vogelbaum M.A., Finke J.: Myeloid-derived suppressor cell accumulation and function in patients with newly diagnosed glioblastoma. *Neuro Oncol.*, 2011; 13: 591-599
- [72] Read S., Greenwald R., Izcue A., Robinson N., Mandelbrot D., Francisco L., Sharpe A.H., Powrie F.: Blockade of CTLA-4 on CD4+CD25+ regulatory T cells abrogates their function in vivo. *J. Immunol.*, 2006; 177: 4376-4383
- [73] Riches J.C., Ramsay A.G., Gribben J.G.: T-cell function in chronic lymphocytic leukaemia. *Semin. Cancer Biol.*, 2010; 20: 431-438

- [74] Rossi D., Sozzi E., Puma A., De Paoli L., Rasi S., Spina V., Gozzetti A., Tassi M., Cencini E., Raspadori D., Pinto V., Bertoni F., Gattei V., Lauria F., Gaidano G. i wsp.: The prognosis of clinical monoclonal B cell lymphocytosis differs from prognosis of Rai 0 chronic lymphocytic leukaemia and is recapitulated by biological risk factors. *Br. J. Haematol.*, 2009; 146: 64-75
- [75] Rossi M., Gentile M., Toscano R., Recchia A.G., Bossio S., Caruso N., De Stefano L., Granata T., Pellicanò M., Vigna E., Tagliaferri P., Tassone P., Morabito F.: Enumeration of interleukin-10-positive B cells from peripheral blood of patients with chronic lymphocytic leukemia. *Leuk. Lymphoma*, 2014; 55: 1394-1396
- [76] Rozman C., Montserrat E., Vinolas N.: Serum immunoglobulins in B-chronic lymphocytic leukemia. Natural history and prognostic significance. *Cancer*, 1988; 61: 279-283
- [77] Safarzadeh E., Orangi M., Mohammadi H., Babaie F., Baradaran B.: Myeloid-derived suppressor cells: Important contributors to tumor progression and metastasis. *J. Cell. Physiol.*, 2018; 233: 3024-3036
- [78] Schmielau J., Finn O.J.: Activated granulocytes and granulocyte-derived hydrogen peroxide are the underlying mechanism of suppression of t-cell function in advanced cancer patients. *Cancer Res.*, 2001; 61: 4756-4760
- [79] Szczeklik A.: Podręcznik chorób wewnętrznych. Medycyna Praktyczna, Kraków 2013
- [80] Talmadge J.E., Gabrilovich D.I.: History of myeloid-derived suppressor cells. *Nat. Rev. Cancer*, 2013; 13: 739-752
- [81] Tsai H.T., Caporaso N.E., Kyle R.A., Katzmann J.A., Dispenzieri A., Hayes R.B., Marti G.E., Albitar M., Ghia P., Rajkumar S.V., Landgren O.: Evidence of serum immunoglobulin abnormalities up to 9.8 years before diagnosis of chronic lymphocytic leukemia: a prospective study. *Blood*, 2009; 114: 4928-4932
- [82] Visco C., Barcellini W., Maura F., Neri A., Cortelezzi A., Rodeghiero F.: Autoimmune cytopenias in chronic lymphocytic leukemia. *Am. J. Hematol.*, 2014; 89: 1055-1062
- [83] Visco C., Maura F., Tuana G., Agnelli L., Lionetti M., Fabris S., Novella E., Giaretta I., Reda G., Barcellini W., Baldini L., Neri A., Rodeghiero F., Cortelezzi A.: Immune thrombocytopenia in patients with chronic lymphocytic leukemia is associated with stereotyped B-cell receptors. *Clin. Cancer Res.*, 2012; 18: 1870-1878
- [84] Visco C., Ruggeri M., Laura Evangelista M., Stasi R., Zanotti R., Giaretta I., Ambrosetti A., Madeo D., Pizzolo G., Rodeghiero F.: Impact of immune thrombocytopenia on the clinical course of chronic lymphocytic leukemia. *Blood*, 2008; 111: 1110-1116
- [85] Walter S., Weinschenk T., Stenzl A., Zdrojowy R., Pluzanska A., Szczylik C., Staehler M., Brugger W., Dietrich P.Y., Mendrzyk R., Hilf N., Schoor O., Fritsche J., Mahr A., Maurer D. i wsp.: Multi-peptide immune response to cancer vaccine IMA901 after single-dose cyclophosphamide associates with longer patient survival. *Nat. Med.*, 2012; 18: 1254-1261
- [86] Weiss L., Melchardt T., Egle A., Grabmer C., Greil R., Tinhofer I.: Regulatory T cells predict the time to initial treatment in early stage chronic lymphocytic leukemia. *Cancer*, 2011; 117: 2163-2169
- [87] Wesolowski R., Markowitz J., Carson W.E.: Myeloid derived suppressor cells - a new therapeutic target in the treatment of cancer. *J. Immunother. Cancer*, 2013; 1: 10
- [88] Yagi H., Nomura T., Nakamura K., Yamazaki S., Kitawaki T., Hori S., Maeda M., Onodera M., Uchiyama T., Fujii S., Sakaguchi S.: Crucial role of FOXP3 in the development and function of human CD25+CD4+ regulatory T cells. *Int. Immunol.*, 2004; 16: 1643-1656
- [89] Zent C.S., Ding W., Reinalda M.S., Schwager S.M., Hoyer J.D., Bowen D.A., Jelinek D.F., Tschumper R.C., Call T.G., Shanafelt T.D., Kay N.E., Slager S.L.: Autoimmune cytopenia in chronic lymphocytic leukemia/small lymphocytic lymphoma: changes in clinical presentation and prognosis. *Leuk. Lymphoma*, 2009; 50: 1261-1268
- [90] Zent C.S., Ding W., Schwager S.M., Reinalda M.S., Hoyer J.D., Jelinek D.F., Tschumper R.C., Bowen D.A., Call T.G., Shanafelt T.D., Kay N.E., Slager S.L.: The prognostic significance of cytopenia in chronic lymphocytic leukaemia/small lymphocytic lymphoma. *Br. J. Haematol.*, 2008; 141: 615-621
- [91] Zirlik K.: MDSCs: the final frontier of the microenvironment in CLL? *Blood*, 2014; 124: 666-668

Autorzy deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.