دکتر عباس افراه
بورد تخصصی آزمایشگاه بالینی

مرور تازه‌ای بر لوسمی سلول مویی (Hairy-Cell Leukemia)

از سال ۱۹۵۸ لوسمی سلول مویی(HCL)، با ویژگی های مورفولوژی و بالینی بی همتایش، به عنوان یک پدیده متمایز شناخته شده است. در آن زمان، به دلیل کمبود نشانگرهای ایمونولوژی، به آن "leukemic reticuloendotheliosis" گفته شد. در سال ۱۹٦٦ شرک و دانلی، بر پایه ی نمای سیتوپلاسم در سلول های دو بیمار، برای این بدخیمی، اصطلاح Hairy cell leukemia را پیشنهاد کردند. برای سال ها، ریشه ی سلول HCL مورد بحث بوده است و در بیشتر بررسی ها تنها به منشا مونوسیتی سلول‌های لوسمیک اشاره شده است و دلیلش هم توان آن سلول ها در فاگوسیتوز ذرات لاتکس بود. سرانجام خواستگاه درست سلول B این لوسمی، با نمایش بازآرایی کلونال ژن های ایمونوگلوبولین مشخص شد و با بیان نشانگرهای سلولB تأیید شد. درمان این لوسمی،با معرفی اینترفرون آلفا، در دهه ۱۹۸۰ و به دنبال آن معرفی آنالوگ های پورین پیشرفت کرد.. عنصر دومی در حال حاضر معیاری برای پایش استاندارد است.

بهرروی،آسیب های ژنی زیربنایی HCL برای بیش از۵۰ سال،یعنی تا سال ۲۰۱۱ ، همچنان یک راز بود. تا با کشف جهش BRAF V600E، که فعال‌ساز مسیر سیگنالینگ RAF-MEK-ERK است،که به گونه ی پیکری و کلونی در همه بیماران وجود دارد، به سرعت منجر به پیشرفت روش‌های تشخیصی و درمانی تازه برای آن با هدف قرار دادن BRAF ، گردید.

ویژگی های اپیدمیولوژی و بالینی

HCL یک بدخیمی سلول B بالغ کوچک با رشد کندی است که در فرآیند درمان های مکرر و متوالی میان بهبودی و عود آن در نوسان است. شیوع این بدخیمی به نسبت دیگر لوسمی ها نادر است و ۱,٤ درصد از کل لنفوم‌ها را تشکیل می‌دهد. در اروپا و آمریکا، شیوع آن در میان جمعیت یکصد هزار نفر ۰,۲۸ تا ۰,۳۰ نمونه در سال است. شیوع آن در آسیا، آفریقا و کشورهای عربی کمتر از این آمار است. از آنجایی که درمان ها، اگرچه موثر هستند، اما بیماری را ریشه کن نمی کنند وبیماران مبتلا بیشتر دچار عود بیماری می شود، بدینروی، آمار شیوع HCL به گونه ای چشمگیر بالاتر از بروز آن است (۳,۱۲ مورد در هر ۱۰۰۰۰۰ نفر در اروپا، با تخمین حدود ۱۵۰۰۰ مورد در سال ۲۰۰۸). نمونه های نادری ازابتلای خانوادگی به HCL نیز گزارش شده است. سن ابتلا بین ۵۵ تا ٦۰ سال است و سهم مردان از این بیماری بیشتر از زنان (٤ به ۱) است. این بیماری در کودکان روی نمی دهد.

پس از تک درمانی با آنالوگ پورین، چنین به نظر می رسد که زمان درمان خط دوم برای زنان کمتر از ٦۰ سال، بیشتر از مردان در همان گروه سنی باشد. .از زمان معرفی آنالوگ های پورین برای درمان HCL، امید به زندگی بیماران مبتلا به این بیماری کمابیش همسان با مردم عادی است.

بیشتربیماران مبتلا به HCL با سیتوپنی با درجات متغیر و نمود درصد کمی از سلول های لوسمی در خون محیطی مراجعه می کنند، اما در ۱۰ تا ۱۵ درصد بیماران، لکوسیتوز همراه با شمار زیادی از سلول های HCL در خون محیطی دیده می شود. مونوسیتوپنی کمابیش در همه نمونه ها دیده می شود. بزرگی طحال شایع است (در ۸۰ تا ۸۵درصد بیماران وجود دارد)، و طحال می تواند بسیار بزرگ شود و مایه ی ناراحتی شکمی در ربع فوقانی چپ و نیز حتی

انفارکتوس طحال شود. علائم اصلی (مانند تعریق شبانه و کاهش وزن) نادر است. وجود علائم ناشی از سیتوپنی (خستگی، خونریزی و عفونت) بسته به درجه درگیری مغز استخوان و بزرگی طحال است.

در شرایطی ویژه، و درپی درمان با آنالوگ های پورین، به دلیل نوتروپنی و مونوسیتوپنی و طولانی شدن تخلیه سلول های T، تقریبا ۲۰ تا ۳۰ درصد بیماران ممکن است در طول دوره بیماری دچار عفونت های فرصت طلب شوند. درگیری جایگاه های خارج مدولاری، مانند غدد لنفاوی و استخوان، در بیماران مبتلا به HCL غیرعادی است و بیشتر در هنگام برگشت بیماری دیده می‌شود. تظاهرات خودایمنی، از جمله آرتریت مهاجر و واسکولیت، گهگاه در بیماران مبتلا به HCL گزارش شده است. در تقریبا ۲۰ درصد موارد، HCL به طور تصادفی پس از آزمایش وتشخیص سیتوپنی، ونیز بزرگی طحال تشخیص داده می شود.

ویژگی های پاتولوژی و ایمونوفنوتیپ

HCL با درگیری مغز استخوان، طحال و خون محیطی با سلول های B بالغ و کوچک تا متوسط که دارای سیتوپلاسم فراوان، هسته بیضی شکل یا شکافدار و کروماتین همگن بدون هستک و برجسته، مشخص می شود. سلول‌های لوسمی دارای برجستگی‌های سطحی نازک و محیطی هستند که به خوبی در لام خون محیطی دیده می‌شوند ودلیل نامگذاری این بیماری است.

در بیوپسی مغز استخوان معمولاً الگوی بافت شناسی «تخم مرغ سرخ شده» دیده می شود که علتش پخش شدن سیتوپلاسم زیادی پیرامون هسته های یاخته های توموری است .

در برخی نمونه ها، الگوی تراوش بینابینی، با حفظ نسبی چربی و سلول های خونساز طبیعی می نماید ، اما در نمونه های دیگر، تراوش درمغز استخوان به صورت منتشراست. این دو الگوی بافت شناسی ممکن است همزمان و با هم وجود داشته باشند، اما وجود درگیری فراگیر داخل سینوزوئیدی نادر است.

درشمار کمی از نمونه ها، مغزاستخوان چنان کم سلول (hypocellular) است که با کم خونی آپلاستیک قابل اشتباه است وبرای تشخیص باید از رنگ آمیزی ایمونوهیستوشیمی استفاده کرد. پدیده ای معمول در بیماران مبتلا به HCL که آسپیراسیون مغز استخوان را با چالش روبرو می کند، افزایش رتیکولین است. در این میان شاخص تکثیر سلولی Ki-67 و بسیار پایین است و تقسیم سلولی دیده نمی شود. در طحال، انتشار HCL به پالپ قرمز چنان است که پالپ سفید را از بین می برد و منجر به تشکیل دریاچه های از گلبول قرمز می شود، جایی که سلول های نئوپلاستیک مجموعه ای از گلبول های قرمز را احاطه می کنند. در درگیری کبد و غدد لنفاوی، به ترتیب انفیلتراسیون سینوزوئیدی و بین فولیکولی یا پاراکورتیکال دیده می شود.

سلول های HCL با شدت تمام نشانگرهای سلول B طبیعی، از جمله PAX5، CD22، CD20، CD19، و CD79a را بیان می کنند، اما با مشخصات ایمونوفنوتیپی نابجا، ومثبت بودن CD2، CD11c، CD103 و CD123 چهره ویژه خود را می نمایانند. سلول های HCL همچنین برای CD200، FMC7، DBA44 و T-bet مثبت هستند.

Cyclin D1 که درلنفوم سلول منتل (MCL) به دلیل جابجایی کروموزمی (14;11) (q13;q32) بیان بالایی دارد، در لوسمی مویی به علت فعال شدن MAPK توسط BRAF، به طور متغیر بیان می شود. حساس ترین و اختصاصی ترین نشانگرهای لوسمی مویی : Annexin A1 و پروتئین جهش یافته BRAF V600E هستند، که هر دو با رنگ آمیزی ایمنوهیستوشیمی و با بیوپسی نمونه های مغز استخوان، قابل تشخیص هستند. همچنین BRAF V600E را با بار روش ملکولی حساس و با نمونه خون کامل نیز قابل تشخیص است. می توان از روش های، PCR ویژه آلل یا توالی‌یابی هدفمند عمیق، هنگامی که شمار سلول‌های HCL در گردش پایین (کمتر از ۱۰ درصد) باشد، استفاده کرد. نمونه های از لوسمی مویی که از نظر انکسین A1 یا BRAF V600E منفی باشد، نادر است و یکی از نشانگرها مثبت خواهد بود.

Annexin A1 و BRAF V600E به ویژه در تشخیص HCL از بیماری هایی که HCL را تقلید می کنند مفید هستند – همانند واریانت HCL (لنفوم سلول B طحال یالوسمی باهسته برجسته نیز نامیده می شود)، لنفومای splenic marginal-zone lymphoma و splenic diffuse red pulp small B-cell lymphoma

این ها تصویر بالینی آسیب شناسی مشابهی با لوسمی مویی دارند، اما از نظر انکسین A1 و BRAF V600E منفی هستند که ارزش تشخیصی مهمی دارند، زیرا چنین بیماری هایی که همسانی با HCL دارند، پیش آگهی بدتری دارند و معمولاً به آنالوگ های پورین به خوبی پاسخ نمی دهند.

ویژگی های ژنتیکی

باز آرایی‌های ژن کلون ایمونوگلوبولین HCL در بیشتر نمونه ها، جهش سوماتیکی و تغییر درکلاس را نشان می دهد و نشان‌دهنده منشأ یک سلول B با آنتی‌ژن محیطی

است. HCL دارای مشخصات رونویسی متمایز، در هر دو سطح RNA پیام رسان و microRNA است، که مشابه مشخصات سلول های B حافظه پس از ژرمینال است، اما با بیان تغییر یافته کموکاین و گیرنده های چسبندگی. دراین پژوهش ها پروفایل بیان ژن، همچنین بینش‌های مولکولی را در مورد برخی از خواص زیستی HCL، از جمله ویژگی‌های مورفولوژیکی، فیبروز مغز استخوان ناشی از سلول‌های لوسمی، و الگوی انتشار سلول‌های لوسمی در جایگاه های آناتومی ویژه، ارائه کرده‌اند.

جهش فعال کننده کیناز BRAF V600E رویداد ژنتیکی کلون است که زمینه ساز بیماری زایی دست کم ۹۵ درصد از همه نمونه های HCL در کل گستره ی بالینی این بیماری است، و جهش در بازگشت بیماری، حتی چند دهه پس از آغاز HCL نیزپایدار است.

انکوژن BRAF (واقع در cytoband 7q34) یک سرین-ترئونین کیناز از خانواده RAF را کد می کند و یک جزء کلیدی از مسیر سیگنالینگ RAS-RAF-MEK-ERK است. از نظر فیزیولوژی، این آبشار سیگنال‌های بقا و تکثیر سلولی را که از گیرنده‌های سطحی (از جمله گیرنده تیروزین کینازها) می‌آیند، تنها زمانی که توسط لیگاندهای همزاد آنها درگیر می‌شوند، انتقال می‌دهد. جهش نقطه ای BRAF V600E جایگزین تیمین با آدنین در کدون اگزون می شود که منجر به جایگزینی والین(V) با اسید گلوتامیک (E) در اسید آمینه ۶۰۰ در بخش فعال سازی BRAF کیناز می شود. این جایگزینی فسفوریلاسیون بخش فعال سازی را تقلید می کند و منجر به فعالیت کیناز سازنده می شود. سیگنال دهی نابجای بعدی از طریق مسیر RAF-MEK-ERK38 ویژگی های کلیدی HCL را شکل می دهد، از جمله نشانه بیان منحصر به فرد آن، ظاهر مودار و مهار آپوپتوز.

سلول های HCL برای جهش BRAF V600E ناهمگون هستند، به جز نمونه های کمی (تقریبا ۲۰٪) که در آن آلل نوع وحشی در نتیجه حذف 7q از بین می رود. موارد نادری گزارش شده است که فاقد BRAF V600E هستند، اما دارای جهش‌های نادرست BRAF یا انتقال کروموزومی (t(7;14)(q34;q32 هستند که ناحیه سوئیچ IGH mu را با اینترون BRAF ترکیب می‌کنند. نتیجه آن یک پروتئین BRAF کوتاه است که فاقد دامنه N-ترمینال خود بازدارنده RAS است و مسیر MEK-ERK را به گونه‌ای فعال می‌کند که به مهارکننده‌های تایید شده BRAF در حال حاضر حساس نیست.

جهش MAP2K1 کیناز (که MEK1 کیناز نیز نامیده می شود) که هدف فسفریله شدن توسط BRAFاست، در واریانت HCL شایع است، ولی در نمونه های نادری BRAF V600E منفی بوده، اما نمایه فلوسایتومتری آن با HCL سازگار بوده است. بهر رو این نمونه ها برای انکسین A1 مورد آزمایش قرار نگرفته یا فاقد بیان قوی انکسین A1 بودند و بیشتر دارای بازآرایی IGHV4-34 بدون جهش یا حداقل جهش یافته بودند، که نمونه ای از واریانت HCL t است و نه HCL. از این رو امروزه درباره وجود MAP2K1 جهش یافته در HCL تردید وجود دارد.

HCL یک بیماری مونوژنیک و جهش یافته BRAF است، اما شمار کمی از نمونه ها دارای کپی های نابجای مکرر در آزمون سیتوژنتیک است، مانند حذف 7q یا 13q یا تریزومی۵ یا جهش ژن های دیگر در تعیین توالی مانند فاکتور رونویسی KLF2، مهار کننده چرخه سلولی CDKN1B/p27، و متیل ترانسفراز هیستون KMT2C/MLL3. این آسیب های ژنتیکی اضافی می توانند با BRAF V600E در پاتوژنز HCL همکاری کنند.

افزون بر وجود در کلون لوسمی، جهش BRAF V600E در سلول های بنیادی خونساز غیر لوسمی و پیش سازهای لنفوئیدی سلول B در بیماران مبتلا به HCL نیزیافت شده است.

هنوز مشخص نیست که آیا پیامد دگرگونی بدخیمی یک سلول B بالغ غیرلوسمی و جهش یافته BRAF، به دلیل آسیب های ژنی اضافی (که تنها در شمار کمی از نمونه ها هست) است یا مربوط به اپی ژنومیک مجازی است که فقط در مرحله تمایز سلول های B محیطی خاص رخ می دهد. دو یافته از سناریوی دوم نسبت به سناریوی اول پشتیبانی می کند. اول، تنها با مهار BRAF در کلون لوسمیک، چندین ویژگی تومور را که مخصوص HCL هستند از بین می رود. دوم، HCL همچنین زمانی روی می‌دهد که BRAF از نظر ژنتیکی در یک سلول B بالغ دچارتغییر شود. این تغییر باجابجایی IGH-BRAF روی می دهد، که خود محصول جانبی تعویض کلاس ایمونوگلوبولین در فرآیند پاسخ ایمنی محیطی است.

منبع:

https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMra2406376?query=TOC&cid=DM2364828_Subscriber&bid=-1718205581&logout=true#f1