

LEUCEMIA LIMFOCITARA CU CELULE MARI GRANULARE (LGL)

DEFINITIE

Leucemia limfocitara cu celule mari granulare (LGL) este cauzata de o proliferare a celulelor T citotoxice, fiind caracterizata clinic prin neutropenie, anemie si/sau trombocitopenie si o limfocitoza moderata. Aceasta implica invazia tisulara a maduvei hematolgene, splinei si ficatului.

EPIDEMIOLOGIE

Poate sa apara in asociere cu multiple boli autoimune, cel mai frecvent poliartrita reumatoida. In majoritatea cazurilor, are o evolutie indolenta. In America de Nord si Europa, LGL reprezinta 2-5%, pe cand in Asia 5-6%. Intr-un registru german, LGL este raportat ca fiind prezent la 0,72 cazuri la 1 milion de invidizi pe an¹, iar in registrul American s-au evidentiat ca existand 0,2 cazuri la 1 milion de persoane pe an²

PATOGENIE

In LGL, subsetul limfocitar este distinct morfologic, fiind mai mare decat majoritatea limfocitelor circulante si avand granulatii azurofile cu continut bogat in hidrolaze acide. Acestea cuprind 10-15% din celulele mononucleate din sangele periferic normal. Granulocite limfocitare mari deriva din doua mari linii: 85% prezinta fenotip cu celule NK, doar 15% derivand din celule T. In leucemia cu celule mari granulare (LGL) raporturile sunt inverse:

- celule de linie T CD3+: aproximativ 85% dintre limfocitele circulante sunt CD3+, CD57+, CD56-, reprezentand celule T citotoxice cu efect de antigen activat
- celule de linie NK CD3-: cele 15% din limfocitele granulare mari circulante sunt CD3-, CD56+. Celule NK poseda receptori specifici complexului major de histocompatibilitate 1 denumite “receptorul inhibitor de tip Ig celular killer (KIR)” si “receptorul de activare al celulelor killer (KAR)”. Interactiunile dintre acesti receptori si moleculele MCH cls 1 asupra celulelor tinta pot inhiba sau active citotoxicitatea mediate de celula NK

LGL poate fi impartita in 2 categorii:

- Leucemia cronica T (85%) si limfocitoza cu celule NK (10%), care sunt similar din punct de vedere al evolutiei bolii (indolente), caracterizate prin boli autoimune si citopenii.³
- leucemia cu limfocite mari granulare NK agresiva (5%) este o boala foarte rara, legata de infectia cu virus Ebstein Barr, observata mai ales la populatia asiatica tanara.^{4 5}

LGL este asociata cu o supravietuire globala medie intre 9-10 ani⁶

Expansionarea clonei LGL provine din stimularea cronica antigenic sustinuta de interleukina-15 si semnalului citokinic al factorului de crestere derivate din trombocite. Aceste celule leucemice sunt rezistente la apoptoza, datorita activarii constitutive a cailor Jak/STAT, MapK, Pi3k-Akt, RasRaf-1, MEK1/ERK, sfingolipide si NFkB. Activarea constitutive Stat3 este marca acestei boli limfoproliferative, evidentiindu-se la 40-70% dintre pacienti. Cateva mutatii somatice, incluzand Stat3, Stat5b si factorul de necroza tumorala alfa-indus al proteinei 3, au fost evidentiata in dezvoltarea LGL. 10% din pacientii decedea chiar daca aceasta este o boala indolenta, din cauza infectiilor severe recurente.⁴

Cauzele care duc la aparitia LGL nu sunt cunoscute, dar e important de inteles faptul ca nu este o boala ereditara.

Factorii de risc:

- varsta: mai des intalnita LGL la pacientii varstnici, doar 1 din 5 pacienti sub 50 ani sunt diagnosticati cu LGL

- prezenta unei gene denumite STAT-3 este anormala la pacientii cu LGL, nefiind inca cunoscut daca este cauza declansatoare de LGL.
- mediul: majoritatea LGL se dezvoltă la persoane care suferă de boli autoimune precum poliartrita reumatoidă (de asemenea, evidențiindu-se la LES, Sdr Sjogren, tiroidita autoimună, coagulopatii, vasculite, crioglobulinemii), astfel este sugerat faptul că suprastimularea sistemului imun poate fi o cauză de dezvoltare a LGL. A mai fost raportat faptul că prezenta hipertensiunii pulmonare în artera pulmonară este considerată o vasculopatie cu disfuncție endotelială care este asociată cu LGL.⁷

Boli asociate	Frecvență
Boli autoimune	15%–40%
Artrita reumatoidă	11%–36%
Vasculită	3%
Boala intestinală inflamatorie cronică	4%
Sindromul Sjogren-Gougerot	Rar
Polimiozită	Rar
Pseudopoliartrita Rizomelica	Rar
Poli/Multinevrită	Rar
Endocrinopatii	Rar
Boala celiacă	Rar
Citopenie autoimună	5%–10%
Trombocitopenie izolată	5%
Anemie hemolitică autoimună	3%
Purpura trombocitopenică autoimună	Rar
Sindromul Evans	Rar
Neoplazii solide sau hematopoietice	< 10%
Neoplasme solide	< 4%
Limfoproliferări de linie B	5%–7%
Mielodisplazie	< 4%
Leucemie acută	Rar
Leucemie limfatică cronică	Rar
Infecții virale (HIV, CMV, HCV, EBV)	Rar
Post-transplant	Rar
Hipertensiune pulmonară	Rar

Abrevieri : CMV, citomegalovirus; EBV, virus Epstein-Barr; HCV, virusul hepatitic C; HIV, virusul imunodeficienței umane

TABLOU CLINIC

Semne și simptome:

- Infecții recurente cauzate de neutropenie severă, acestea putând fi amenințatoare de viață; cele mai frecvente infecții sunt întâlnite la nivelul tegumentelor, orofaringelui, și perirectal, afectând pacienții într-un procent de 15-39%; infecțiile severe amenințatoare de viață le întâlnim la 5-10%
- Anemia care duce la oboseală și astenie fizică marcată, dispnee, dependent de transfuzie cu produse sangvine este evidențiată la 6-22% dintre pacienți, aplazia survenind în 8-19% dintre cazuri.
- Trombocitopenia este mai rar dezvoltată, fiind prezentă la mai puțin de 20% dintre pacienți
- Aproape 25% dintre pacienți prezintă splenomegalie care poate cauza dureri abdominale la nivelul hipocondrului stâng, mai ales după ingestie de alimente
- Spre deosebire de alte boli maligne hematologice, în mod normal nu există hepatomegalie și adenomegalii.
- Ulcerații aftoase bucale sunt frecvent observate

Pe lângă bolile autoimune asociate, anemia, infecțiile cauzate de neutropenie severă persistentă, putem observa în 5-10% dintre cazuri hipogamaglobulinemie⁸

DIAGNOSTIC:

- Examen morfologic
- Examen imunofenotipic
- Evidențierea clonalității

- Morfologic:

Limfocite de dimensiuni mari (15-18 μm), citoplasma abundentă cu granulații tipice azurofile, nucleu rotund sau reniform cu cromatină matură.

Doar în 40-50% cazuri, limfocitoza poate să existe la momentul diagnosticului. Clinicienii și morfologii trebuie să fie atenți la frotiul de sânge periferic pentru a-l corela cu clinica pacienților. Între celulele LGL și cele normale nu se poate face o diferențiere optică.

- Imunofenotipic:

Subtipul LGL-T cel mai predominant, care prezintă CD3+, CD8+, CD57+, pe când LGL-NK exprimă CD3-, CD8+, CD16+, CD56+. ⁹ Celulele din LGL pot exprima marker de celule NK citotoxice care exprimă CD16 (80%) și CD57 (100%), precum și receptori NK, imunoglobuline-like killer și CD94/NKG2. CD122 corespunde la lanțurile comune ale receptorilor de IL-2 și IL-15. CD3+/CD56+ LGL-T au o evoluție mai agresivă asociată cu mutația Stat5. ^{10 11} Un subset mai rar întâlnit este cel CD4+ cu sau fără asocierea CD8, pacienții care prezintă acest subset, rămânând de cele mai multe ori asimptomatici. Clona LGL poate prolifera din cauza citomegalovirus ^{12 13} precum și asocierea cu mutația Stat5b. ¹⁴

Fenotipul pentru LGL-NK este caracterizat astfel: CD2+/sCD3-/CD3e+/TCRαβ-/CD4-/CD8+/CD16+/CD56+ ¹⁵ Clonalitatea LGL-NK este greu de evaluat, deoarece aceste celule nu exprimă TCR. Expresia restricționată a izoformelor de activare ale receptorului imunoglobulinelor killer a fost folosită ca un marker surrogat pentru expansiunea monoclonală. ^{16 17}

Atunci când, din cauza panctiopeniei, numărului scăzut de limfocite sau absența dovedită a clonalității, nu se poate efectua diagnosticul, se va utiliza obligatoriu biopsia osteomedulară cu examen imunohistochimic. Majoritatea pacienților prezintă infiltrare medulară formată din mici grupuri de limfocite granulare mari localizate în sinusoidale. Sunt greu de identificat din cauza faptului că mimează precursorii granulocitari sau monocitari, astfel este nevoie de teste imunohistochimice. Grupuri de 8 celule CD81+/TiA-1 sau de 6 limfocite B1+ granzime sunt considerate a fi caracteristici histopatologice regăsite în LGL.

TRATAMENT

- În 60% dintre cazuri este necesar inițierea tratamentului
- Este recomandat inițierea tratamentului la pacienții care prezintă infecții recurente frecvente, anemie asociată cu neutropenie severă <500 neutrofile/mm³, sau neutropenie moderată între 500-1000/mm³ și cu boli autoimune care necesită tratament. ¹⁸
- Chiar dacă nu este considerată o boală hematologică vindecabilă, de cele mai multe ori, pacienții obțin un răspuns bun la tratament
- Cei mai mulți pacienți au parte de o supraviețuire îndelungată, cu o calitate bună a vieții
 - Imunosupresoarele – reduc activitate sistemului imun (methotrexat, ciclofosfamidă, ciclosporina A)
 - Inhibitori de analogi purinici (fludarabină, cladribină, pentostatin) – reduc numărul de limfocite
 - Splenectomie – dacă tratamentul administrat nu are eficiență, menținându-se splenomegalia
 - Noi terapii specifice bazate pe inhibitori de Jak/Stat sau inhibitori de citokine sunt în studii, așteptându-se rezultate promitatoare.

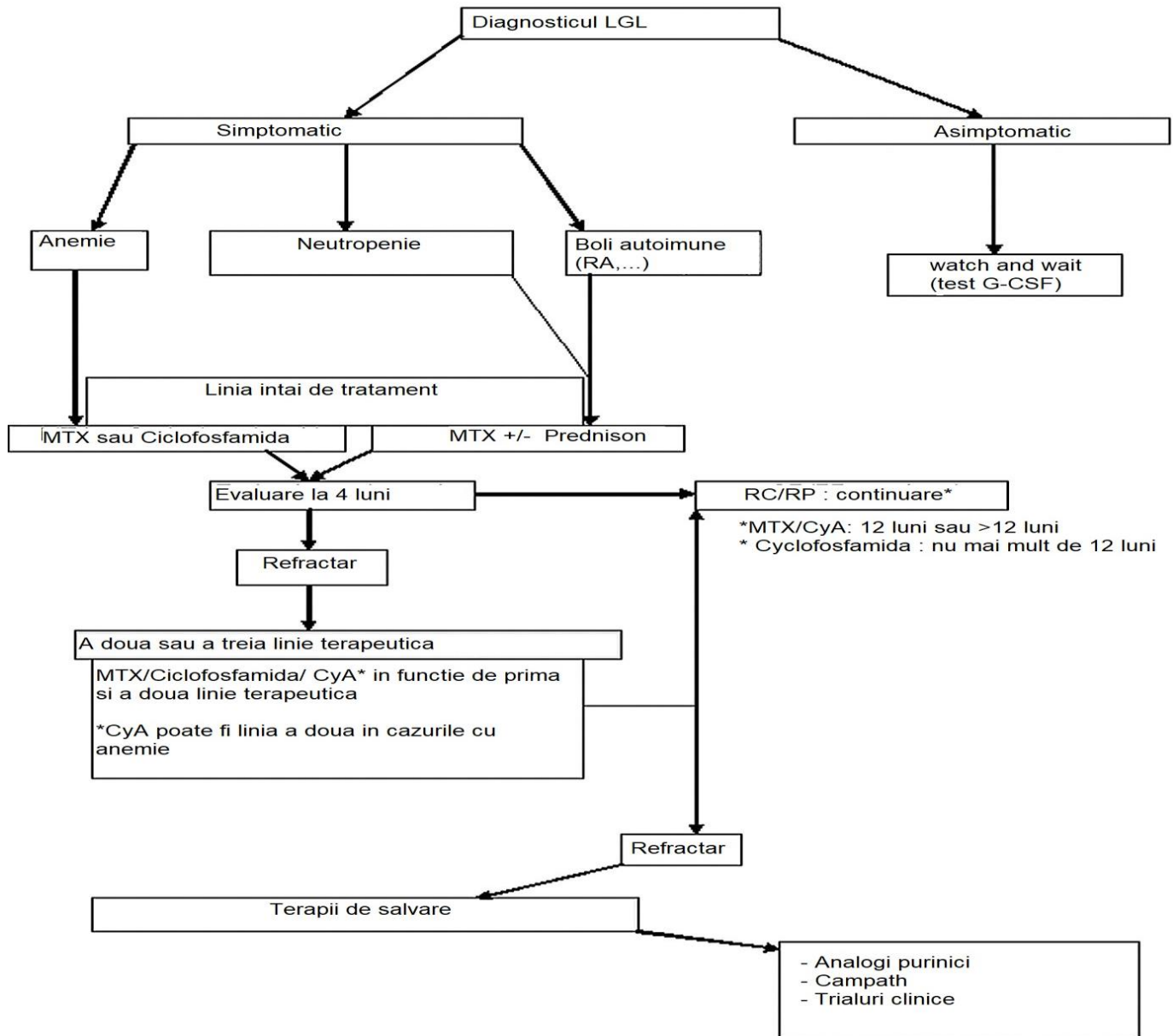
- Terapia de prima linie se bazeaza pe agenti orali imunosupresori precum:
 - Methotrexatul (10mg/7mp/sapt) sau
 - Ciclofosfamida (100mg/zi) sau
 - Ciclosporina A (3mg/kg/zi)

Pana la verificarea raspunsului , pacientii trebuie sa fie tratati minim 4 luni. Eficienta tratamentului este relatata in cateva studii retrospective, dar sunt putine trialuri valabile. MTX si Ciclofosfamida sunt principalele imunosupresoare folosite in tratamentul LGL. Rata de raspuns global nu depaseste 35%. Analiza de secventiere profunda a clonelor LGL reziduale dezvaluie faptul ca ciclofosfamida poate eradica clonele LGL, oferind un raspuns durabil, pe cand MTX si Ciclosporina A sunt asociate cu persistenta clonelor leucemice. Un trial clinic randomizat important este in desfasurare in Franta (NCT01976182) care investigheaza tratamentul de prima linie cu MTX vs cel cu ciclofosfamida, in urma caruia se va demonstra eficacitatea cea mai mare a unei dintre ele in tratamentul LGL. Daca este prezenta anemia, Ciclosporina A este preferata ca fiind de prima sau a doua linie¹⁹, mai ales in cazul aplaziei pure de linie rosie. In urma tratamentului LGL cu aceste 3 imunosupresoare, raspunsul clinic este obtinut, dar recaderea este frecventa din cauza persistentei clonei leucemice.

Tratament	Tipul studiului	Numar pacienti	ORR,% (Nr. pacienti)	RC (Nr. pacienti)
Methotrexat				
Sanikommu et al (2018) ⁸	Retrospectiv	34	44% (15)	
Bareau et al (2010) ⁷	Retrospectiv	36	44% (16)	14% (5)
Loughran et al (1994) ⁵²	Prospectiv	10	60% (6)	50% (5)
Loughran et al (2015) ⁴⁵	Prospectiv	54	38% (21)	5% (3)
Ciclofosfamida				
Sanikommu et al (2018) ⁸	Retrospectiv	22	47% (10)	
Moignet et al (2014) ⁵³	Retrospectiv	45	72% (32)	47% (21)
Poullot et al (2014) ⁵⁴	Retrospectiv	13	69% (9)	46% (6)
Dhodapkar et al (1994) ⁵⁵	Retrospectiv	16	63% (10)	38% (6)
Ciclosporina				
Sanikommu et al (2018) ⁸	Retrospectiv	44	45% (20)	
Osuji et al (2006) ⁵⁶	Retrospectiv	14	92% (13)	

- Tratamentul de linia a doua:
 - Analogi purinici (Fludarabina, cladribina, deoxycitofuridina** si bendamustina*) pot fi propuse in cazul recaderii sau in caz de boala refractara la prima linie de tratament. Aceste molecule au fost raportate ca avand un raspuns promitator (raspuns global de aprox 79%), in cazul catorva pacienti.²⁰
 - Polichimioterapia bazata CHOP-like (ciclofosfamida, doxorubicin, vincristin, prednisone) sau terapiile continand citarabina sunt ineficiente si toxice la pacientii cu LGL cronica. Aceste tratamente pot fi propuse in cazul cazurilor de LGL agresive. In cazul LGL refractare la terapiile anterioare, allotransplantul de celule stem poate fi luat in considerare. Intr-o serie de 15 pacienti care au primit auto sau allotransplant de celule stem, la 6 pacienti a fost pastrat raspunsul complet dupa transplant.²¹
 - Alemtuzumab* a fost propus la bolile refractare in serii limitate, cu o rata de raspuns globala de 60%, dar toxicitatea si disponibilitatea acestuia fiind limitata in utilizare.²²
 - Rituximabul*, anticorp monoclonal anti CD20, a fost utilizat paradoxal la pacientii care prezentau in acelasi timp poliartrita reumatoida si LGL cu un raspuns aparent.
- Splenectomia poate fi propusa in cazul splenomegaliei simptomatice asociate sau nu cu citopenie, cu o rata de raspuns globala de 56%, dar raspunsul sustinut este frecvent.²³
- Terapii noi:

Un trial de faza 2 care utilizeaza inhibitor de farnesiltransferaza, tipifarnib (Zarnestra), a inrolat un total de 8 pacienti. Rationamentul pentru acest trial a fost bazat pe datele preclinice care au evidentiat faptul ca Ras activate constitutional este o cale de supravietuire in LGL.²⁴ Cu toate acestea, nu a fost observat un raspuns hematologic, dar au fost evidentiata de scaderea a limfocitelor granulare mari in sange si in maduva hematogena, imbunatatirea hematopoeziei si cresterea coloniilor hematopoietice in vitro. A fost remarcata imbunatatirea in hipertensiunea pulmonara a unui pacient.²⁵



Bibliografie

- ¹ Dinmohamed AG, Brink M, Visser O, et al. Population-based analyses among 184 patients diagnosed with large granular lymphocyte leukemia in the Netherlands between 2001 and 2013. *Leukemia*. 2016;30:1449-1451. Google Scholar
- ² Shah MV, Hook CC, Call TG, et al. A population-based study of large granular lymphocyte leukemia. *Blood Cancer J*. 2016;6:e455. Google Scholar

- ³ Swerdlow SH, Campo E, Pileri SA, et al. The 2016 revision of the World Health Organization classification of lymphoid neoplasms. *Blood*. 2016;127:2375-2390. Medline, Google Scholar
- ⁴ Imamura N, Kuramoto A. Effect of splenectomy in aggressive large granular lymphocyte leukaemia. *Br J Haematol*. 1988;69:577-578. Google ScholarView Full Reference List
- ⁵ Suzuki R, Suzumiya J, Nakamura S, et al. Aggressive natural killer-cell leukemia revisited: large granular lymphocyte leukemia of cytotoxic NK cells. *Leukemia*. 2004;18:763-770. Google Scholar
- ⁶ Shah MV, Hook CC, Call TG, et al. A population-based study of large granular lymphocyte leukemia. *Blood Cancer J*. 2016;6:e455. Google Scholar
- ⁷ Zhang R, Shah MV, Loughran TP. The root of many evils: indolent large granular lymphocyte leukaemia and associated disorders. *Hematol Oncol*. 2010;28:105-117. Google Scholar
- ⁸ Viny AD, Lichtin A, Pohlman B, et al. Chronic B-cell dyscrasias are an important clinical feature of T-LGL leukemia. *Leuk Lymphoma*. 2008;49:932-938. Google Scholar
- ⁹ Lamy T, Moignet A, Loughran TP. LGL leukemia: from pathogenesis to treatment. *Blood*. 2017;129:1082-1094. Google Scholar
- ¹⁰ Rajala HLM, Eldfors S, Kuusanmäki H, et al. Discovery of somatic STAT5b mutations in large granular lymphocytic leukemia. *Blood*. 2013;121:4541-4550. Google Scholar
- ¹¹ Gentile TC, Uner AH, Hutchison RE, et al. CD3+, CD56+ aggressive variant of large granular lymphocyte leukemia. *Blood*. 1994;84:2315-2321. Medline, Google Scholar
- ¹² Garrido P, Ruiz-Cabello F, Bárcena P, et al. Monoclonal TCR-Vbeta13.1+/CD4+/NKa+/CD8-/dim T-LGL lymphocytosis: evidence for an antigen-driven chronic T-cell stimulation origin. *Blood*. 2007;109:4890-4898. Google Scholar
- ¹³ Rodríguez-Caballero A, García-Montero AC, Bárcena P, et al. Expanded cells in monoclonal TCR-alphabeta+/CD4+/NKa+/CD8-/dim T-LGL lymphocytosis recognize hCMV antigens. *Blood*. 2008;112:4609-4616. Google Scholar
- ¹⁴ Andersson E, Tanahashi T, Sekiguchi N, et al. High incidence of activating STAT5B mutations in CD4-positive T-cell large granular lymphocyte leukemia. *Blood*. 2016;28:2465-2468. Google Scholar
- ¹⁵ Semenzato G, Zambello R, Starkebaum G, et al. The lymphoproliferative disease of granular lymphocytes: updated criteria for diagnosis. *Blood*. 1997;89:256-260. Google Scholar
- ¹⁶ Zambello R, Falco M, Della Chiesa M, et al. Expression and function of KIR and natural cytotoxicity receptors in NK-type lymphoproliferative diseases of granular lymphocytes. *Blood*. 2003;102:1797-1805. Google Scholar
- ¹⁷ Scquizzato E, Teramo A, Miorin M, et al. Genotypic evaluation of killer immunoglobulin-like receptors in NK-type lymphoproliferative disease of granular lymphocytes. *Leukemia*. 2007;21:1060-1069. Google Scholar
- ¹⁸ Lamy T, Loughran TP. How I treat LGL leukemia. *Blood*. 2011;117:2764-2774. Google Scholar
- ¹⁹ Go RS, Tefferi A, Li CY, Lust JA, Phylly RL. Lymphoproliferative disease of granular T lymphocytes presenting as aplastic anemia. *Blood*. 2000;96:3644-3646. Google Scholar
- ²⁰ Zaja F, Baldini L, Ferreri AJ, et al. Bendamustine salvage therapy for T cell neoplasms. *Ann Hematol*. 2013;92:1249-1254. Google Scholar
- ²¹ Marchand T, Lamy T, Finel H, et al. Hematopoietic stem cell transplantation for T-cell large granular lymphocyte leukemia: a retrospective study of the European Society for Blood and Marrow Transplantation. *Leukemia*. 2016;30:1201-1204. Google Scholar
- ²² Dumitriu B, Ito S, Feng X, et al. Alemtuzumab in T-cell large granular lymphocytic leukaemia: interim results from a single-arm, open-label, phase 2 study. *Lancet Haematol*. 2016;3:e22-e29. Google Scholar
- ²³ Subbiah V, Viny AD, Rosenblatt S, Pohlman B, Lichtin A, Maciejewski JP. Outcomes of splenectomy in T-cell large granular lymphocyte leukemia with splenomegaly and cytopenia. *Exp Hematol*. 2008;36:1078-1083. Google Scholar
- ²⁴ Epling-Burnette PK, Bai F, Wei S, et al. ERK couples chronic survival of NK cells to constitutively activated Ras in lymphoproliferative disease of granular lymphocytes (LDGL). *Oncogene* 2004;23(57):9220-9229.
- ²⁵ Epling-Burnette PK, Sokol L, Chen X, et al. Clinical improvement by farnesyltransferase inhibition in NK large granular lymphocyte leukemia associated with imbalanced NK receptor signaling. *Blood* 2008;112(12):4694-4698.