

Revisão/ Review

Leucemia mielóide crônica e o sistema Fas-FasL *Chronic myeloid leukemia and the Fas-FasL system*

Ana Paula F. Bergantini¹

Fabiola A. Castro²

Ana M. Souza²

Agnes C. Fett-Conte³

Com os avanços terapêuticos que incluem o mesilato de imatinibe, o transplante de medula óssea e a infusão de linfócito do doador, a perspectiva de vida dos portadores de leucemia mielóide crônica (LMC) tem aumentado significativamente e a doença pode não ser fatal. No entanto, os mecanismos biológicos que privilegiam a seleção das células hematopoéticas malignas sobre as células normais na LMC, responsáveis pelo insucesso terapêutico em muitos casos, ainda não estão totalmente esclarecidos. Alterações no processo de apoptose celular e escape das células leucêmicas à resposta imune antitumoral poderiam explicar, em parte, a vantagem seletiva dessas células. O processo de apoptose celular pode ser desencadeado pelas vias intrínseca ou extrínseca. A extrínseca é dependente da interação de receptores de morte celular, como a ligação do receptor Fas com seu receptor, o Fas ligante (FasL). A expressão diminuída de Fas e aumentada de FasL na célula leucêmica podem aumentar sua sobrevivência tornando-a resistente à apoptose. Esse artigo descreve a relação entre LMC e o sistema Fas/FasL, sua possível importância no prognóstico e escape das células leucêmicas à resposta imune. Rev. bras. hematol. hemoter. 2005;27(2):120-125.

Palavras-chave: Leucemia mielóide crônica; sistema Fas/FasL; apoptose.

Introdução

A leucemia mielóide crônica (LMC) foi descrita como forma independente de leucemia há 150 anos, em pacientes que morreram em consequência de intensa leucocitose e hepato-esplenomegalia.¹ É uma doença mieloproliferativa clonal das células pluripotentes da medula óssea e constitui 14% de todas as leucemias, com uma incidência anual de 1,6 casos por 100 mil indivíduos. É mais freqüente em adultos entre 40 e 60 anos de idade e afeta ambos os sexos, mas com predominância no sexo masculino.^{2,3}

A radiação ionizante em altas doses é o fator de risco mais associado ao surgimento da LMC, enquanto a participação de agentes químicos, biológicos e a predisposição

genética, embora sugestivos, não parecem exercer muita influência no aparecimento da doença.^{4,5}

A progressão clínica da LMC pode ser dividida em três fases: crônica, acelerada e blástica. No início da fase crônica, que pode durar vários anos, a doença aparentemente é "benigna". Alguns pacientes são assintomáticos, mas outros apresentam fadiga, fraqueza, dores de cabeça, irritabilidade, febre, suor noturno e perda de peso. O diagnóstico é realizado pelos achados clínicos, citogenéticos e hematológicos do sangue periférico e medula óssea.^{6,7}

A fase acelerada surge após um período variável do diagnóstico, de poucos meses a vários anos, e caracteriza-se pelo aumento de blastos na medula óssea e no sangue periférico, leucocitose e basofilia no sangue periférico, anemia e

¹ Mestranda do Curso de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto – Famerp.

² Profa. Dra. do Departamento de Análises Clínicas, Toxicológicas e Bromatológicas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo – USP

³ Profa. Dra. do Departamento de Análises Clínicas, Toxicológicas e Bromatológicas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo – USP

⁴ Profa. Adjunta do Departamento de Biologia Molecular da Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto – Famerp.

Correspondência para: Agnes Cristina Fett-Conte
Serviço de Genética – Hospital de Base (Famerp/Funfarme)
Av Brigadeiro Faria Lima, 5544
15090-000 – São José do Rio Preto-SP
E-mail: genetica@famerp.br

trombocitopenia. Clinicamente, o paciente torna-se refratário ao tratamento empregado na fase crônica e pode apresentar progressão da hepato-esplenomegalia.

Posteriormente, a doença evolui para a fase blástica, definida hematologicamente pelo aumento de blastos leucêmicos (linfóides ou mielóides) no sangue periférico e/ou medula óssea (mais de 20%). Nesse estágio da doença, muitos pacientes evoluem para o óbito entre três e seis meses. A progressão para a fase acelerada e blástica parece estar associada, principalmente, à instabilidade genômica, o que predispõe ao aparecimento de outras anormalidades moleculares.^{6,7}

O tratamento da LMC pode ser realizado com hidroxiuréia, interferon- α (IFN- α), mesilato de imatinibe (Glivec®), transplante alogênico de medula óssea (TMO) e infusão de linfócito do doador (*donor lymphocyte infusion* - DLI) pós-reaçada de TMO. A única modalidade terapêutica considerada curativa é o TMO, cujo sucesso depende de múltiplos fatores que incluem a idade, a fase da doença e a histocompatibilidade entre o doador e o receptor.^{7,8,9}

Genética da LMC

A LMC está associada a uma alteração citogenética específica conhecida como cromossomo "Philadelphia" (Ph).^{10,11} Embora observado em outras leucemias e até mesmo em condições neoplásicas não hematopoéticas, ele é reconhecido como marcador citogenético da LMC e sua detecção tem implicações no diagnóstico, prognóstico e na terapêutica da doença.^{11,12} O cromossomo Ph resulta de uma translocação recíproca entre os braços longos dos cromossomos 9 e 22.¹³ Esta translocação t(9;22)(q34;q11) justapõe o oncogene *abl* (*Abelson Leukemia Virus*), mapeado no cromossomo 9, ao gene *bcr* (*Breakpoint Cluster Region*), mapeado no 22. Em condições normais, o gene *bcr* codifica uma proteína com função relacionada à regulação do ciclo celular, enquanto o gene *abl* codifica uma proteína tirosina-quinase.^{13,14} A proteína quimérica resultante da fusão *bcr-abl* apresenta uma atividade tirosina-quinase elevada, responsável pela patogênese da doença.¹⁵

O neogene *bcr-abl* é o responsável pelo processo molecular que determina a transformação da célula progenitora hematopoética normal em maligna. A célula leucêmica *bcr-abl* apresenta uma mieloproliferação contínua resultante, provavelmente, de três mecanismos principais: alteração da adesão das células progenitoras às células estromais e à matriz extracelular,¹⁶ manutenção de um sinal mitogênico constante¹⁷ e resistência à apoptose celular.¹⁸ A tirosina-quinase Bcr-abl confere à célula leucêmica uma alta resistência à morte celular independentemente do agente indutor deste processo.¹⁹ Contudo, estes mecanismos de resistência, que favorecem o crescimento e a vantagem proliferativa das células com o cromossomo Ph em relação às células normais, não foram totalmente elucidados.

Sistema Fas-FasL e o Processo de Morte Celular Programada

A apoptose, processo fisiológico de morte celular programada, desempenha um papel relevante na homeostase de diferentes tecidos, inclusive, do sistema hematopoético. Esse processo é caracterizado por diversas alterações morfológicas e bioquímicas das células e é de crucial importância para o desenvolvimento embrionário, maturação do sistema imune, defesa contra infecções virais e eliminação de tumores.^{20,21,22} Pode ser deflagrado por estímulos externos por meio da ativação de receptores específicos presentes na superfície celular (via extrínseca ou via receptor de morte celular), chamados receptores da morte, ou pelo estresse intracelular (via intrínseca ou mitocondrial).²³ Essas vias culminam com a ativação de proteases conhecidas como caspases executoras.²⁴ O processo é regulado por inúmeros fatores inibidores e ativadores. Entre os inibidores estão algumas proteínas da família Bcl-2 (*bcl-2*, *bcl-x_L*, *mcl-1*, *a1* e *bcl-w*) e da família IAP (*inhibitor of apoptosis protein*). Entre os ativadores estão o Fas, o DR4, o DR5, interferon-gama e outras proteínas membros da família Bcl-2 (*bad*, *bak*, *bax*, *harakiri* e *boK*).²⁵ O sistema Fas-FasL é constituído pelo receptor Fas (APO-1 ou CD95) e seu ligante, FasL, membros da família do fator de necrose tumoral (TNF).^{26,27,28}

Enquanto Fas é expresso na maioria das células do organismo, seu ligante FasL é observado nas membranas das células citotóxicas da resposta imune, hepatócitos, em linfócitos T ativados e em células oculares. A apoptose via Fas-FasL é desencadeada pela interação entre Fas e FasL. Quando ela ocorre, os receptores formam agregados que, na forma de trímeros, ligam-se à proteína adaptadora FADD (*Fas-associated death domain*) presente no citoplasma. Ocorre, então, a ligação dessas moléculas à pró-caspase-8, resultando na formação de um complexo denominado DISC (Death Inducing Signalling Complex), que culmina na auto-clivagem e ativação da caspase-8. A caspase-8 pode, assim, diretamente ou pela via mitocondrial, ativar a caspase-3 efetora, o que resulta na apoptose celular.^{23,29,30} O recrutamento e ativação da pró-caspase-8 são regulados por proteínas anti-apoptóticas, como o v-FLIP (*FADD-like ICE inhibitory proteins*) and c-FLIP. Essas proteínas competem com a caspase-8 pelo sítio de ligação do complexo Fas-FADD e inibem a apoptose celular.³¹

Por outro lado, na presença de sinais de estresse intracelular, como exposição à radiação ultravioleta, quimioterápicos, infecções, alterações metabólicas e redução de fatores de crescimento, ocorre a migração de proteínas pró-apoptóticas (*bax* e *bid*) do citoplasma para a mitocôndria, alterando sua permeabilidade e permitindo a liberação de outras proteínas pró-apoptóticas, como o citocromo C, o fator indutor de apoptose (AIF), DNAses e pró-caspases 2 e 9. O citocromo C se liga a uma proteína adaptadora (*apaf-1*),

ativando as caspases e culminando na apoptose pela via mitocondrial, que também é regulada por proteínas da família Bcl-2. As vias de morte e mitocondrial estão apresentadas na Figura 1.

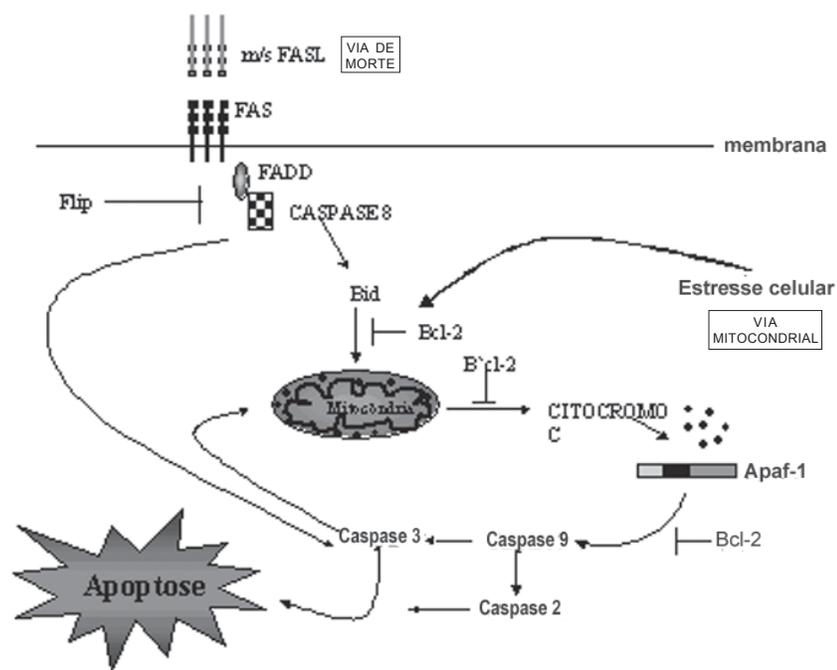


Figura 1. Esquema do processo de ativação da apoptose pela via dos receptores de morte celular (Fas-FasL) e pela via mitocondrial

Fas-FasL e o Processo Neoplásico

A deficiência e a exacerbação do sistema Fas-FasL já foram associados ao aparecimento de tumores, doenças auto-imunes e destruição tecidual. O descontrole do processo de apoptose devido à exacerbação parece estar relacionado com a etiopatogênese de algumas doenças hematológicas, como a síndrome mielodisplásica e a anemia aplástica grave.^{32,33} A deficiência já foi associada com a LMC e com leucemias linfóides.³⁴

O efeito da redução do processo de apoptose celular em tumores foi descrita inicialmente em células de linfomas foliculares, as quais apresentavam uma expressão aumentada do oncogene bcl-2. Posteriormente, foram descritas alterações na expressão de proteínas pró e antiapoptóticas em diferentes neoplasias hematológicas.³⁵ Por exemplo, o antígeno FasL, que fisiologicamente é expresso nas células efetoras da resposta imune (RI), já foi observado na superfície de diferentes tipos de neoplasias, inclusive em leucemias. Essas células neoplásicas podem se ligar aos linfócitos T ou células *natural killer* (NK) ativadas, que expressam o antígeno Fas, e conduzi-los à apoptose, resultando na inativação da RI antitumoral.^{36,37}

A expressão aumentada do FasL em células leucêmicas constitui, portanto, um dos mecanismos de escape dos clones malignos à RI antitumoral e à ação de drogas quimioterápicas.^{33,37,38}

Mais recentemente foi descrita uma molécula solúvel também relacionada à apoptose celular, a DcR3, secretada por diferentes tipos de células tumorais e capaz de se ligar ao FasL, bloqueando sua interação com Fas. A apoptose, nesse caso, também é inibida, e as células malignas podem escapar da RI mediada pelas células efetoras que expressam o FasL.³⁹

Outro fato interessante é que células leucêmicas secretam antígeno FasL solúvel (sFasL) capaz de promover a apoptose de células efetoras, impedindo que estas atuem na erradicação do clone maligno. Assim, o ligante FasL solúvel pode induzir a apoptose das células efetoras, como citado anteriormente, e diminuir o pool circulante de células da resposta imune.^{37,40-43}

A expressão simultânea do receptor Fas e seu ligante Fas-L em linfócitos maduros ativados por células neoplásicas pode, ainda, representar um mecanismo de autolimitação da RI. Nesse contexto, o antígeno Fas e a proteína bcl-2 são expressos de maneira equilibrada

nos leucócitos normais, porém, parece que, em leucemias, esta expressão se altera.^{44,45}

Alguns autores demonstraram, inclusive, que a expressão de proteínas anti e pró-apoptóticas constituem marcadores prognósticos, pois a maioria das drogas quimioterápicas citotóxicas e imunoterápicas atuam potencializando a apoptose celular pela via mitocondrial ou pelo aumento da expressão dos receptores de morte celular. Assim, por exemplo, as concentrações de sFas e sFasL seriam um parâmetro útil na determinação do prognóstico da leucemia e da resistência aos quimioterápicos.^{46,47,48}

Sistema Fas-FasL e Terapêutica na LMC

Na LMC, as células precursoras hematopoéticas malignas são mais resistentes à apoptose do que as células normais, devido à expressão da proteína tirosina-quinase bcr-abl, que prolonga a sobrevivência da célula 50. Esta proteína exerce sua capacidade antiapoptótica pelo aumento da expressão da proteína bcl-xL 49 e pela diminuição do Fas nas células malignas precursoras.⁵¹

Estudos quantitativos da expressão de bcl-2 e bad em células mononucleares de portadores de LMC mostraram que

essas proteínas estão expressas em níveis mais altos nesses pacientes do que em células de indivíduos normais. Esses mesmos estudos demonstraram que a detecção dessas proteínas teria importância para determinação do prognóstico do doente com LMC52. A expressão da proteína bcl-2 parece aumentar com a progressão da doença, o que reforça a hipótese de que, quando expressa em níveis altos, prolongaria a sobrevivência da célula leucêmica, tornando-a resistente à apoptose. O antígeno Fas, por sua vez, parece estar expresso em níveis normais ou diminuídos nas células mononucleares na LMC na fase crônica, o que conferiria maior resistência dessas células à apoptose, bem como às drogas químicas e imunoterápicas.^{19,53}

Pacientes portadores de LMC, como citado anteriormente, podem ser tratados com hidroxiuréia, IFN- α , IFN- α associado à citarabina, mesilato de imatinibe (Glivec®), TMO e DLI na recaída da doença pós-TMO.

A hidroxiuréia é um agente citostático paliativo, que promove o controle da proliferação celular pela inibição da síntese do DNA e que parece não apresentar efeito sobre a via extrínseca da apoptose celular mas, como todo quimioterápico, é capaz de induzir a apoptose celular por meio do estresse celular e da ativação da via intrínseca (mitocondrial). Já o IFN- α parece exercer um efeito imunomodulatório e antiproliferativo importante sobre as células mononucleares e precursoras (CD34⁺) dos pacientes portadores de LMC. Parece restaurar o número de células da resposta imune circulante, promover a ativação de células efetoras (T CD8 e NK) e estimular as células efetoras (T CD8, T CD4 e NK) a secretarem citocinas de padrão Th1 (IL-2 e IFN- γ). Todavia, seu efeito não se restringe apenas à ativação celular; o IFN- α potencializa a apoptose das células CD34⁺, por meio da elevação do número de células efetoras circulantes no sangue periférico que expressam o antígeno FasL (CD56/FasL e T CD8/FasL⁺) e do aumento da susceptibilidade da célula CD34⁺ à apoptose (aumento do número de células CD34/Fas⁺).^{54,55}

O IFN- α possui um papel chave no impedimento do escape do clone maligno à resposta imune, exercendo-o por meio de dois mecanismos de ação complementares, a citorredução (antiproliferativa e potencialização da apoptose) e a capacidade de potencializar a resposta imune, mediada pelas células T e NK.^{54,55} Associado com a citarabina, aumenta significativamente a resposta citogenética e a sobrevivência dos pacientes. A citarabina também é um agente citostático capaz de potencializar a apoptose celular pela via intrínseca, mas não há evidências na literatura de que seja capaz de modular a expressão dos antígenos Fas e FasL.⁵⁷

O mesilato de imatinibe na LMC age como um inibidor da tirosina quinase bcr-abl, que bloqueia diferentes vias de sinalização celular que estavam ativadas por esta proteína. Parece modular diferentes proteínas anti e pró-apoptóticas pertencentes às vias extrínseca e intrínseca da apoptose celular. Sozinho ou associado a diferentes drogas, como, por exemplo, o IFN- α , *in vitro* parece ser capaz de aumentar a

expressão do antígeno FasL nas células leucêmicas e restaurar sua expressão nas células efectoras da resposta imune (T e NK). O aumento da expressão de FasL nas células leucêmicas parece contribuir para a deflagração do mecanismo autócrino de ativação da via extrínseca da apoptose e conduzir a célula à morte. Por outro lado, as células efectoras citotóxicas passariam a exercer sua função normal e contribuir para uma resposta imune antileucêmica mais efetiva.⁵⁸

Outras drogas para o tratamento da LMC têm sido descritas na literatura e entre elas está o inibidor da tirosina-quinase BMS-354825 e os inibidores da farnesil-transferase. Seus efeitos nas vias de apoptose celular ainda não foram totalmente elucidados, contudo, os dados relatados na literatura sugerem que os inibidores da farnesil-transferase não são capazes de modular a expressão dos antígenos Fas e FasL.⁵⁹

O TMO visa a erradicação dos clones malignos dos pacientes e a restauração da sua hematopoese normal por meio da infusão de células-tronco da medula óssea de um doador normal. Nesse contexto, é extremamente importante que ocorra a reação do enxerto contra a leucemia (*graft-versus-leukemia effect- GVL*), ou seja, uma resposta imune das células imunocompetentes do doador contra as células leucêmicas do receptor. Parece que a apoptose das células leucêmicas provocada pela citotoxicidade mediada pelas células T e NK via Fas-FasL não é fundamental no GVL, mas sim na doença do enxerto contra o hospedeiro (*graft-versus-host-disease, GVHD*). Neste caso, o aumento da expressão desses antígenos exerceria um efeito deletério ao paciente.^{60,61}

Outra terapia que visa a ocorrência do efeito GVL em pacientes portadores de LMC é a DLI. A DLI é capaz de induzir a remissão hematológica e citogenética na maioria dos pacientes portadores de LMC que recaíram pós-TMO. Parece não modular a expressão dos antígenos Fas e FasL nas células mononucleares dos pacientes com LMC; então, a remissão hematológica e citogenética desses pacientes pós-DLI não deve estar associada ao aumento da expressão dos antígenos FasL e Fas, mas à potencialização da resposta imune antileucêmica.⁶²

Conclusão

Uma vez que as células leucêmicas podem ser erradicadas pela potencialização da apoptose celular via inibição da bcr-abl ou citotoxicidade celular via Fas-FasL, os estudos desses mecanismos parecem ser de grande importância para a terapia e prognóstico dos pacientes, inclusive, para a seleção daqueles indicados para a imunoterapia.

Os resultados obtidos a partir desses estudos podem auxiliar na compreensão dos eventos biológicos relacionados à etiopatogenia, progressão e resposta terapêutica. A elucidação desses mecanismos possibilitaria, inclusive, a modulação das drogas e imunoterapias utilizadas no tratamento da LMC, tornando-as mais efetivas.

Abstract

With therapeutic advances that include imatinib mesylate, bone marrow transplantation and donor lymphocyte infusion, life expectancy of chronic myeloid leukemia carriers has increased significantly and the disease might not be fatal. However, the biological mechanisms that favor the selection of malignant clone cells over normal cells, in most cases responsible for the lack of therapeutic success, are still unclear. Alterations in cellular apoptosis process and escape of the leukemic cells from the anti-tumor immune response can explain, in part, the selective advantages of these cells. The apoptosis process or programmed cell death can be triggered by intrinsic or extrinsic pathways. The extrinsic is dependent on the interaction of cell death receptors, such as the Fas receptor and its agonist, the Fas ligand (FasL). A diminished expression of Fas and increased of FasL in leukemic cell may increase its survival, thereby making it resistant to apoptosis. This paper describes the relation between chronic myeloid leukemia and the Fas/FasL system and its possible importance in prognosis and in escape of the leukemic cells from the immune system. Rev. bras. hematol. hemoter. 2005; 27(2):120-125.

Key words: Chronic myeloid leukemia; Fas/FasL system; apoptosis.

Referências Bibliográficas

- Henderson ES, Lister TA, Greaves MF. Leukemia. Philadelphia: W.B. Saunders; 1996. P. 619.
- Kantarjian HM, Giles FJ, O'Brien SM, Talpaz M. Clinical course and therapy of chronic myelogenous leukemia with interferon-alpha and chemotherapy. *Hematol Oncol Clin North Am* 1999; 12:31-80.
- Chopra R, Pu QQ, Elefanty AG. Biology of BCR-ABL. *Blood* 1999;13:211-29.
- Doll R, Smith PG. The long term effects of X radiation in patients treated for metrorrhagia haemorrhagica. *Br J Radiol* 1968;41:362-68.
- Lee SJ. Chronic myelogenous Leukaemia. *Br J Haematol* 2000; 111:993-1009.
- Faderl S, Talpaz M, Estrov Z, Kantarjian, H. Chronic myelogenous leukemia: biology and therapy. *Ann Intern Med* 1999; 131: 207-19.
- Sawyers CL. Chronic Myeloid Leukemia. *N Engl J Med* 1999; 340:1.330-40.
- Giles FJ, Kantarjian H, Cortes J. Novel therapies for patients with chronic myeloid leukemia. *Exp Rev Anticancer* 2004;4 (2):271-82.
- O'Brien SG, Guilhot F, Larson RA. Imatinib compared with interferon and low dose cytarabine for newly diagnosed chronic-phase in myeloid leukemia. *N Engl J Med* 2003;3 49:1.421-30.
- Nowell PC, Hungerford DA. A minute chromosome in human chronic granulocytic leukemia. *Science* 1960;132:1.497-98.
- Melo JV, Hughes TP, Apperley JF. Chronic Myeloid Leukemia. *Hematology* 2003;132-52.
- Kabrowski JHS, Witte ON. Consequences of BCR-ABL expression within the hematopoietic stem cell in chronic myeloid leukemia. *Stem Cells* 2000;18:399-408.
- Rowley JD. Letter: a new consistent chromosomal abnormality in chronic myelogenous leukaemia identified by quinacrine fluorescence and Giemsa staining. *Nature* 1970;243:290-93.
- Kalidas M, Kantarjian H, Talpaz M. Chronic Myelogenous Leukemia. *American Medical Association* 2001;286:895-98.
- Westermann J, Schlimper C, Ritcher G, et al. T cell recognition of bcr/abl in healthy donors and in patients with chronic myeloid leukemia. *Br J Hematol* 2004;125(2):213-6.
- Gordon MY, Dowling CR, Ridley GP, et al. Altered adhesive interactions with marrow stroma of hematopoietic progenitor cells in chronic myeloid leukemia. *Nature* 1987;328: 342-44.
- Puil L, Liu J, Gish G. Bcr-abl oncoproteins bind directly to activators of the Ras signaling pathway. *EMBO J* 1994;13:764-73.
- Bedi A, Zehnbauser BA, Barber JP, et al. Inhibition of apoptosis by BCR-ABL in chronic myeloid leukemia. *Blood* 1999;83: 2.038-44.
- Ravandi F, Kantarjian HM, Talpaz M, et al. Expression of apoptosis proteins in chronic myelogenous leukemia: associations and significance. *Cancer* 2001;91:1964-72.
- Kerr JFR, Wyllie AH, Currie AR. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer* 1972;36:239-57.
- Wyllie AH, Kerr JFR, Currie AR. Cell death: the significance of apoptosis. *Int Rev Cytol* 1980;68:251-306.
- Maurillo L, Poeta GD, Venditti A, et al. Quantitative analysis of Fas and bcl-2 expression in hematopoietic precursors. *Haematologica* 2001;86:237-43.
- Thorburn A. Death receptor-induced cell killing. *Cellular Signaling* 2004;16:139-44.
- Parolin MB, Reosan IJM. Apoptose como mecanismo de lesão nas doenças hepatobiliares. *Arq Gastroenterol* 2001; 38 (2): 138-144.
- Hale AJ, Smith CA, Sutherland LC, et al. Apoptosis: molecular regulation of cell death. *Eur J Biochem* 1996;236:1-26.
- Suda T, Takahashi T, Golstein P, Nagata S. Molecular cloning and expression of the Fas ligand, a novel member of the tumor necrosis factor family. *Cell* 1993;75:1169-7.
- Polaki V, Mitsiades CS, Mitsiades N. The role of Fas and FasL as mediators of anticancer chemotherapy. *Drug Resist Update* 2001; 4:233-42.
- Wood CM, Goodman PA, Vassilev AD, Uckun FM. CD95(APO-1/FAS) deficiency in infant acute lymphoblastic leukemia: detection of novel soluble Fas splice variants. *Eur J Haematol* 2003;70(3): 156-71.
- Pinkoski MJ, Green DR. Fas ligand, death gene. *Cell Death Differ* 1999;6:1.174-81.
- Patel T. Apoptosis in hepatic pathophysiology. *Clin Liver Dis* 2000;4:295-317.
- Scaffidi C, Schmitz I, Kramer PH, Peter MC. The role of c-FLIP in modulation of CD95-induced apoptosis. *J Biol Chem* 1999; 274(3):1541-8.
- Ramenghi U, Bonissoni S, Migliaretti G et al. Deficiency of the Fas apoptosis pathway without Fas gene mutations is a familial trait predisposing to development of autoimmune diseases and cancer. *Blood* 2000;95:3176-82.
- Debatin KM, Stahnke K, Fulda S. Apoptosis in hematological disorders. *Seminars Cancer Biol* 2003;13:149-158.
- Wickremasinghe RG, Hoffbrand AV. Biochemical and genetic control of apoptosis relevance to normal and hematological malignancies. *Blood* 2001;98:3541-43.
- Tsujimoto Y, Finger LR, Yunis J, et al. Cloning of the chromosome breakpoint of neoplastic B cells with the t(14;18) chromosome translocation. *Science* 1984;226:1097-99.
- Nagata S. Fas ligand and immune evasion. *Nat Med* 1996;2: 1.306-7.
- Buzyn A, Petit F, Ostankovitch M, et al. Membrane-bound Fas (APO-1/CD95) ligand on leukemic cells: a mechanisms of tumor immune escape in leukemia patients. *Blood* 1999;94:3.135-140.

38. Zeytun A, Hassunch M, Nagarkatti M, Nagarkatti P. Fas-FasL ligand-based interactions between tumor cells and tumor specific cytotoxic T lymphocytes: a lethal two-way street. *Blood* 1997; 90:1952-59.
39. Takahama Y, Yamada Y, Emoto K, et al. The prognostic significance of over-expression the decoy receptor for Fas ligand (DcR3) in patients with gastric carcinomas. *Gastric Cancer* 2002;5:61-68.
40. Lickliter JD, Kratzke, RA, Nguyen PL, et al. Fas ligand is highly expressed in acute leukemia and during the transformation of chronic myeloid leukemia to blast crisis. *Exp Hematol* 1999;27:1519-27.
41. Dhein J, Walczac H, Baumler C, et al. Autocrine T cell suicide mediated by APO-1 (Fas/CD95). *Nature* 1995;73:438-41.
42. Kamihira S, Yamada, Y. Soluble Fas(APO-1/CD95) isoform in adult T-cell leukemia. *Leuk Lymphoma* 2001;41:169-76.
43. Urbaniak-Kujda D, Jazweic B, Tomaszewska-Toponska B, et al. Expression of Fas receptor and soluble Fas ligand (sFasL) concentration in acute leukemia. *Po Arch Med Wewn* 2002; 108(3):873-85.
44. Molica S, Mannella A, Dattilo A et al. Differential expression of Bcl-2 oncoprotein and Fas antigen on normal peripheral blood and leukemic bone marrow cells. A flow cytometric analysis. *Haematologica* 1996;81:302-9.
45. Groneberg C, Pickartz T, Binder A, et al. Clinical relevance of CD95 (Fas/Apo-1) on T cells of patients with B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Exp Hematol* 2003;31(8):682-5.
46. Osorio LM, Aguillar-Satelises M, De Santiago A et al. Increased serum levels of soluble Fas in progressive B-CLL. *Eur J Haematol* 2001;66:342-6.
47. Kitada S, Andersen J, Akar S, et al. Expression of apoptosis-regulating proteins in chronic lymphocytic leukemia: correlations with in vitro and in vivo chemo responses. *Blood* 1998;91:3.379-3.389.
48. Silvestris F, Williams RC, Calvani N, et al. Serum elevations of soluble Fas(CD95/apo-1) concur in deregulating T cell Apoptosis during active lupus disease. *Clin Exp* 2002;2:13-27.
49. Amarante-Mendes GP, Mcgahon AJ. Bcl-2- independent Bcr-Abl-mediated resistance to apoptosis protection is correlated with up regulation of Bcl-xL. *Oncogene* 1998;16:1.383-90.
50. Deininger MWN, Goldman JM, Melo, JV. The molecular biology of chronic myeloid leukemia. *Blood* 2000;96:3343-56.
51. Sanches-Garcia I, Martin-Zanca D. Regulation of Bcl-2 gene expression by BCR-ABL is mediated by RAS. *J Mol Biol* 1997; 267:225-28.
52. Brady HJ. Apoptosis and leukemia. *Br J Haematol* 2003;123(4): 577-85.
53. Handa H, Hegde UP, Kotelnikov VM, et al. Bcl-2 and C-MYC expression, cell cycle kinetics and apoptosis during the progression of chronic myelogenous leukemia from diagnosis to blastic phase. *Leuk Res* 1997;21:479-89.
54. Selleri C, Maciejewski JP, Pane F, et al. Fas-Mediated modulation of Bcr/Abl in chronic myelogenous leukemia results in differential effects on apoptosis. *Blood* 1998;92:981-89.
55. Castro FA, Palma PVB, Marais FR, et al. Immunological effects of Interferon-Alpha in Chronic Myelogenous Leukemia. *Leuk Lymphoma* 2003;44:2061-67.
56. Voutsadakis IA. Interferon-alpha and pathogenesis of myelo-proliferative disorders. *Med Oncol* 2000;17:249-57.
57. Guilhot F, Chastang C, Michallet M, et al. Interferon Alfa-2b combined with cytarabine versus interferon alone in chronic myelogenous leukemia. French Chronic Myeloid Leukemia Study Group. *N Engl J Med* 1997;337(4):223-9.
58. Yin T, Wu Y-L, Sun H-P, et al. Combined effects of As4S4 and imatinib on chronic myeloid leukemia cells and BCR-ABL oncoprotein. *Blood* 2004;104:4.219-25.
59. Selleri C, Maciejewski JP, Montuori N, et al. Involvement of nitric oxide in farnesyltransferase inhibitor-mediated apoptosis in chronic myeloid leukemia cells. *Blood* 2003;102:1490-97.
60. Castro FA, Palma PVB, Morais FR, Voltarelli JC. Fas/FasL-Ligand Expression on lymphocytes subsets in chronic myelogenous leukemia patients after allogeneic bone marrow transplantation. *Rev Bras Hematol Hemoter* 2003;25(2):159.
61. Silver RT, Woolf SH, Hehlmann R, et al. An evidence-based analysis of the effect of busulfan, hydroxyurea, interferon and allogeneic bone marrow transplantation in treating the chronic phase of chronic myeloid leukemia: developed for the American society of hematology. *Blood* 1999;94:1.517-36.
62. Castro FA, Palma PVB, Morais FR, Voltarelli JC. Immunological effects of donor lymphocyte infusion for in patients with chronic myelogenous leukemia relapsing after bone marrow transplantation. *Braz J Med Res* 2004;37(2):201-6.

Avaliação: Editor e dois revisores externos.
 Conflito de interesse: não declarado

Recebido: 22/10/2004
 Aceito após modificações: 21/06/2005