¹Klinički Centar Srbije, Klinika za hematologiju²Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu

DA LI JE DANAS MOGUĆA INDIVIDUALIZACIJA TERAPIJE KOD BOLESNIKA SA HRONIČNOM LIMFOCITNOM LEUKEMIJOM?

IS IT POSSIBLE TO APPLY INDIVIDUAL TREATMENTS IN PATIENTS WITH CHRONIC LYMPHOCYTIC LEUKEMIA?

Bljana Mihaljević^{1,2}, Milena Todorović^{1,2}, Jelena Bila^{1,2}, Darko Antić^{1,2}

Sažetak

Hronična limfocitna leukemija (HLL) predstavlja najčešću hematološku malignu bolest čija incidenca dostiže 13 obolelih na 100 000 osoba starosne dobi iznad 65 godina. Imajući u vidu da se čak dve trećine bolesnika najpre samo kontroliše po postavljanju dijagnoze sa neizvesnim vremenom do progresije bolesti, najvažnija pitanja koja se postavljaju pred hematologa su vreme kada treba da se započne lečenje i izbor prve terapijske linije. Savremeni imunohemioterapijski pristup (fludarabin, ciklofosamid, rituximab) koji kombinuje purinske analoge i alikilišuće agense sa monoklonskim antitelima dovodi do terapijskog odgovora kod oko 90% bolesnika. Kod visokorizičnih bolesnika kod kojih postoji značajno veća šansa za brzi relaps bolesti odgovor je poboljšan primenom alogene transplantacije. Precizna stratifikacija bolesnika u odnosu na individualni rizik predstavlja presudan moment pre izbora nekog od navedenih terapijskih pristupa. Shodno tome, u toku je niz istraživanja koja za cilj imaju da definišu i razgraniče prognostičke (one koji će predvideti preživljavanje) i prediktivne (one koji će pomoći u izboru terapijskog modaliteta koji će ciljano uticati na biologiju bolesti) faktore koji bi bili uključeni u jedinstveni prognostički model sa ciljem da se obezbede tri najvažnije informacije: verovatnoća postizanja remisije, vreme do progresije bolesti i ukupno preživljavanje. Smatra se da takav model mora da sadrži standardne prognostičke faktore kao što je klinički stadijum bolesti, citogenetski status, mutacioni status, vrednost pojedinih serumskih markera uz planirano uključivanje novih parametara sa potvrđenim uticajem na tok bolesti što bi bilo testirano kroz multivarijantnu analizu.

Svi aktuelni terapijski modaliteti testiraju se kroz kliničke studije u kojima participiraju pacijenti koji zadovoljavaju stroge, uključujuće kriterijume, zasnovane između ostalog i na proceni performans statusa i prisustva komorbiditeta. S obzirom da je HLL

uglavnom bolest starijih osoba identifikuju se i komorbiditetni skorovi čija bi upotreba bila jednostavna u svakodnevnoj kliničkoj praksi a koji bi istovremeno adekvatno procenili ukupno stanje bolesnika čime bi se smanjio rizik od primene neodgovarajuće intenzivne terapije.

Cljučne reči: hronična limfocitna leukemija, terapija

Summary

Chronic lymphocytic leukemia (CLL) is the most common form of leukemia in adults. This disease can be defined as a clonal disease of unknown etiology characterized by progressive accumulation of functionally incompetent B lymphocytes in the blood, lymph nodes, spleen and bone marrow. In clinical practice, substantial variability can be noticed in the course of CLL. Some patients are asymptomatic at the time of the diagnosis and do not need to be treated for a long time. On the other hand, there are subgroups with rapid disease progression and early resistance to therapy. Identifying the optimal timing and the type of first - line treatment is a major issue in CLL.

This paper discusses treatment approaches according to individual risk profiles. While it is important to have prognostic markers, it is also critical to account for the difference between prognostic and predictive markers. A prognostic factor is a situation, condition or characteristic of a patient that can be used to estimate the outcome of the disease irrespective of the treatment given. Treatment response variable is an important difference when it comes to a predictive factor. A predictive factor is a condition or finding that predicts the differential efficacy of a particular therapy based on marker status (i.e. patients with presence or absence of a specific marker will respond differently to a specific treatment). Most factors associated with giving prognosis in CLL have not been proven yet to be a predictive impact.

The current therapeutic approach reflects clinical trial reality although many CLL patients

present with comorbidities and advanced age. Therefore we need to mark the significance of patients' tailored therapy aimed at avoiding treatment complications.

Key words: *chronic lymphocytic leukemia, therapy.*

Uvod

Hronična limfocitna leukemija (HLL) predstavlja hronično limfoproliferativno oboljenje koje se karakteriše patološkom proliferacijom monoklonskih B limfocita koji se morfološki diskretno razlikuju od normalnih i odlikuju se specifičnim imunofenotipom koji podrazumeva koekspresiju CD5 i CD23. Monoklonski imfociti se detektuju u perifernoj krvi, a sa prolimfocitima i paraimunoblastima formiraju infiltrate u koštanoj srži, slezini i limfnim žlezdama (1). Uprkos postojanju različitih podataka, smatra se da istorijat HLL započinje 1845. godine kada su Bennet i Virchow u nezavisnim radovima opisali bolesnike sa leukocitozom i uvećanjem limfnih žlezda, jetre i slezine. Od tada do danas, spoznaja HLL je podeljena u tri faze: prepoznavanje bolesti kao posebnog entiteta, započinjanje intenzivnih kliničkih ispitivanja i modernu eru. Svaki od navedenih perioda razlikuje se prema terapijskom pristupu (2).

Prva faza karakteriše se diferencijalnom dijagnozom HLL u odnosu na akutne leukemije i početak razlikovanja HLL od limfoma. U drugoj eri izdvajaju se radovi Galtona i Damesheka koji su istakli da je osnovni patogenetski mehanizam u HLL nakupljanje, a ne proliferacija imunološki nekompetentnih limfocita. U terapijskom smislu ovaj period su obeležili Chlorambucil i primena steroida. Dok je primena Chlorambucila i dalje ostala terapija izbora kod bolesnika sa komorbiditetima, već sredinom XX veka je utvrđeno da steroidi neće biti adekvatno rešenje za lečenje HLL zbog veće učestalosti teških i komplikovanih infekcija kod bolesnika koji su na taj način tretirani (2).

U trećoj eri HLL, dva glavna pravca istraživanja su usmerena na pitanja kada započeti lečenje bolesnika, koji su najvažniji prognostni faktori i kako prilagoditi terapiju celokupnom zdravstvenom stanju bolesnika koje nije uslovljeno samo tegobama uslovljenim hroničnom limfocitnom leukemijom. Usvojene su dve fundamentalne kliničke klasifikacije Rai i Binet krajem XX veka, a težište istraživanja je bilo prebačeno na molekularnu genetiku. Primena Chlorambucila ustupa mesto purinskim analogima, monoklonskim antitelima i inhibitorima angiogeneze (2).

Dijagnostički kriterijumi

Prema kriterijumima Internacionalne grupe za HLL (IWCLL) i američkog Nacionalnog Kancer Instituta (NCI), za postavljanje dijagnoze HLL potrebno je da se u perifernoj krvi detektuje više od

$5 \times 10^9/l$ monoklonskih limfocita ali isto tako, prema kriterijumima IWCLL dijagnoza HLL može da bude postavljena i kod bolesnika sa nižim brojem limfocita ako postoji citopenija ili je prisutna B simptomatologija (3,4). Imunofenotipske karakteristike se određuju floucitometrijskom analizom limfocitne populacije što omogućava diferencijalnu dijagnozu u odnosu na druge limfoproliferativne entitete koji se mogu prezentovati sa limfocitozom u krvnoj slici.

Shema 1: Diferencijalna dijagnoza CD19+ limfocitoza

Legenda

B-HLL	B hronična limfocitna leukemija
HCL	<i>hairy cell</i> leukemija
MCL	<i>mantle cell</i> limfom
FL	folikularni limfom
MZL	limfom marginalne zone

Kod jedne grupe bolesnika tumorska masa je predominantno skoncentrisana u limfnim žlezdama ili drugim organima bez infiltracije koštane srži. Maligne ćelije imaju iste imunofenotipske karakteristike kao u HLL i taj entitet je poznat kao limfom malih limfocita (SLL) (5,6,7).

Epidemiološki podaci

HLL je najčešća leukemija odraslih i incidenca je 2-6 slučajeva na 100 000 odraslih stanovnika godišnje. Retko se javlja kod osoba mlađih od 50 godina dok incidenca raste na 12.8/100000 kod osoba starijih od 65 godina (1). Važno je napomenuti da rođaci prvog stepena obolelih od HLL imaju tri puta veću verovatnoću da obole od HLL ili druge limfoproliferativne bolesti u odnosu na opštu populaciju (približno 5% bolesnika sa HLL imaju pozitivnu porodičnu anamnezu za HLL). Već postojanje dve osobe sa HLL u jednoj porodici definiše termin „familijarne“ HLL. Imunofenotipska ispitivanja su pokazala da 3-5% zdravih osoba starijih od 40 godina imaju monoklonsku limfocitozu (broj leukocita ispod $3.5 \times 10^9/l$). Kod rođaka prvog stepena obolelih od HLL, ta učestalost je 13.5-18% (5). Do sada nije

utvrđeno postojanje specifične mutacije koja dovodi do pojave „familijarne“ HLL, što ukazuje da verovatno veći broj gena učestvuje u razvoju ovog entiteta. Klinički značaj u smislu drugačijeg toka ili lošije prognoze kod bolesnika sa „familijarnom“ HLL nije dokazan (5).

Patofiziološki mehanizmi

Patofiziološki mehanizmi u HLL nisu u potpunosti definisani. Smatra se da se HLL karakteriše promenama u B-ćelijskom receptoru, specifičnim genetskim abnormalnostima (o čemu će biti više reči u daljem tekstu) i poremećajem apoptoze.

Nakupljanje zrelih B ćelija koje ne podležu apoptozi već ostaju u G0/G1 fazi ćelijskog ciklusa je karakteristika HLL. Pokazano je da u ćelijama HLL postoji povećana količina BCL2 proteina koja nije uzrokovana translokacijom u BCL2 genu. I ostali članovi BCL2 familije gena kao što su BCL-XL, BAG1 i MCL1 se pojačano ekspimiraju u HLL za razliku od BAX i BCL-XS proapoptotskih gena. Osim poremećene regulacije gena koji učestvuju u apoptozi dokazan je i poremećaj regulacije gena koji kontrolišu ćelijski ciklus. Tako u HLL postoji povećana količina negativnog regulatora ciklina odnosno CDKN1B - proteina koji zaustavlja ćelije u ranoj fazi ćelijskog ciklusa (5).

U HLL ćelijskim kulturama dolazi do apoptoze, što sugerise i na razmatranje uticaja mikrosredine na preživljavanje ćelija HLL-a *in vivo*. Smatra se da taj uticaj mikrosredine potiče od CD4 T ćelija koje ekspimiraju CD40 ligand i koje su aktivirane od strane malignih B ćelija lučenjem hemokina CCL17 i CCL22 koji privlače i aktiviraju T ćelije (5).

Izotopskim ispitivanjem je pokazano da osim poremećaja apoptoze postoji i uticaj proliferacije na formiranje B ćelijskog klon. Smatra se da se proliferativna aktivnost pojačava kada dođe do smanjivanja tumorske mase u perifernoj krvi gde procesi apoptoze nisu kompromitovani. U limfnim žlezdama, koštanoj srži i slezini, stimulacija B HLL ćelija putem CD31 sa endotelnih ćelija i CD154 sa T ćelija, utiče na pojačanu ekspresiju CD38 i ZAP-70 (zeta povezan protein) dovodeći do ćelijske deobe i pojačavanja rezistencije na apoptozu. Iz proliferativnih centara maligne ćelije prelaze u cirkulaciju gde se njihova aktivnost smanjuje, a zatim ih ponovo citokini ponovo privlače u proliferativne centre i ponavljaju ceo ciklus. CD38 se smatra pokazateljom boravka B HLL ćelije u u proliferativnom centru (5).

Definisanje pojma aktivne bolesti

Indikacija za lečenje HLL i prema NCI i prema IWCLL (3,4) je postojanje aktivne bolesti koja podrazumeva:

1. Kompromitovanu funkciju koštane srži što znači razvoj ili pogoršanje anemije i/ili trombocitopenije.
2. Simptomatsku ili progresivnu ili masivnu splenomegaliju (slezina se palpira najmanje 6cm ispod levog rebarnog luka).
3. Simptomatsku ili progresivnu ili masivnu limfadenopatiju (najmanje 10cm u prečniku).
4. Progresivnu limfocitozu koja se definiše kao povećanje broja limfocita za 50% tokom 2 meseca ili udvostručenje broja limfocita tokom 6 meseci.
5. Razvoj autoimune anemije i/ili trombocitopenije rezistentne na primenu kortikosteroida ili drugih standardnih metoda lečenja.
6. Postojanje B simptomatologije
 - ✓ Gubitak $\geq 10\%$ telesne težine unutar 6 meseci
 - ✓ Zamor (performans status ≥ 2).
 - ✓ Febrilnost $> 38^{\circ}\text{C}$ u trajanju od ≥ 2 nedelje bez potvrđene infekcije
 - ✓ Noćno znojenje koje traje duže od mesec dana bez potvrđene infekcije

Terapija

Oko 80% bolesnika sa HLL se dijagnostikuje u ranim stadijumima bolesti (npr Binet stadijum A ili B ili Rai stadijum O-II). Kod tih pacijenata nije neophodno odmah uvesti terapiju jer će kod većine bolesnika bolest imati indolentan tok. Dokazano je da pacijenti starosne dobi iznad 75 godina imaju dužinu životnog veka kao i pacijenti iste starosne dobi koji nemaju HLL što ukazuje da su uzroci smrti komorbiditeti a ne sama HLL. Nezavisno od starosne dobi potrebno je što pre proceniti koliki je rizik progresije bolesti odmah po postavljanju dijagnoze. Klinički tok HLL varira od bolesnika do bolesnika, tako da postoji grupa bolesnika koja nema simptome ili komplikacije bolesti i nikad ne zahteva lečenje, dok sa druge strane postoji grupa bolesnika sa agresivnom formom bolesti koja se karakteriše brзом progresijom i lošim terapijskim odgovorom. U tu svrhu koriste se različiti prognostički faktori ali su se do sada u kliničkoj praksi kao najznačajniji pokazali: nivo $\beta_2\text{M}$, ekspresija CD38, mutacija varijabilnog lanca IgVH kao i citogenetski nalaz. Imajući u vidu tehničke mogućnosti, troškove analiza kao i do sada objavljene rezultate istraživanja najznačajnija je korelacija sa citogenetskim nalazom (2,3).

Klinički	Molekularno-biološki
Starosna dob i pol bolesnika	IgV _H
Rai/Binet klasifikacija	CD38
LDH	Hromozomske abnormalnosti
Vreme udvostručavanja broja limfocita	ZAP-70
β ₂ M	Timidin kinaza
	CD23
	Angiogeneza
	LPL

Tabela 1. Prognostički faktori kod bolesnika sa HLL

Legenda	
LDH	nivo serumske laktat dehidrogenaze
β ₂ M	beta2 – mikroglobulin
ZAP-70	zeta povezan protein
LPL	ekspresija gena za lipoproteinsku lipazu

Obrazac hromozomskih aberacija u HLL-u je dosta različit u odnosu na druge leukemije i limfome. U najvećem broju hematoloških tumora, balansirane hromozomske abnormalnosti se javljaju kao najčešće promene, dok su u HLL-u najčešće aberacije nebalansirane delecije sa varijabilnim tačkama prekida na hromozomima: 13q, 11q, 17p i 6q, kao i trizomija hromozoma 12. Dokazano je da su pacijenti sa delecijom 17p terapijski najzahtevnija grupa bolesnika imajući u vidu da ne reaguju adekvatno na stanadardni terapijski pristup (2,3,6).

Dva osnovna problema koji se javljaju kod izbora terapijskog pristupa su značaj komorbiditeta i citogenetski nalaz i o njima će biti nešto više reči. Gotovo sve studije na kojima su zasnovani terapijski vodiči i preporuke su sprovedene na ispitanicima prosečne starosti od 55-60 godina koji nisu imali komorbiditete (20,21).

Imunohemioterapija koja podrazumeva primenu anti CD20 antitela i purinskih analoga se smatra standardnim terapijskim pristupom kod mlađih bolesnika sa HLL koji nemaju komorbiditete. Smatra se da se isti pristup može primeniti i kod starijih osoba bez komorbiditeta. Nezavisno od starosne dobi prva linija terapija kod bolesnika visokog rizika (del 17p) je tema mnogih istraživanja. Predlaže se primena anti CD52 antitela i alogena transplantacija (20,21).

Što se tiče bolesnika sa komorbiditetima ne postoje dokazi da oni dobro tolerišu standardnu imunohemioterapiju. Nedavni podaci pokazuju da monoterapija Chlorambucilom ima istu efikasnost ali bolju toleranciju nego primena Fludarabina. U tom smislu je primena Chlorambucila terapija izbora kod tih bolesnika. Takođe ne isključuje se u potpunosti primena Fludarabina ali svakako u nižim dozama. Terapija visoko rizičnih bolesnika može da

podrazumeva primenu anti CD 52 antitela ili Lenalidomida ali nije indikovana alogena transplantacija (3,20,21).

Nezavisno od godina bolesnici koji su u teškom stanju nemaju benefit od antileukemijske terapije već se povećava rizik daljeg pogoršanja. U tim slučajevima bitnije je da se radi na simptomatskoj terapiji nego na eradikaciji leukemijskog klon.

Shodno svemu navedenom odluka o terapijskom pristupu kod bolesnika sa HLL zavisi od:

1. Stadijuma bolesti
2. Stanja bolesnika
3. Postojanja genetskih promena utvrđenih FISH metodom
4. Odgovora na prethodni terapijski modalitet ako je primenjivan.

Nakon procene bolesnika na osnovu prethodne 4 preporuke preporučuje se sledeće:

1. Bolesnici u ranoj fazi bolesti Binet A, Binet B, Rai 0-II bez simptoma bolesti ne zahtevaju primenu terapije.
2. Kod bolesnika sa uznapredovalom bolesti Binet C, Rai O-II ili sa prisutnim simptomima treba započeti terapiju. (20,21)
3. Preporuke za lečenje prikazane su u tabelama 2 i 3..

Stadijum	Komorbiditeti	Del 17p, p53mut	Terapija
Binet A, B Rai 0-II	nebitno		ne
Aktivna bolest Rai III-IV Binet C	+	-	Chlorambucil, Bendamustin
	+	+	Alemtuzumab, Rituximab
	-	-	FCR
	-	+	FCR , Alemtuzumab (loš odgovor) Alogena transplantacija (studije)

FCR – Fludarabin, Cyclophosphamide, Rituximab

Tabela 2: Preporuke za lečenje nelečenih bolesnika sa HLL

Trajanje remisije	Komorbiditeti	Del 17p, p53mut	Terapija
> 2 godine	nebitno		Ponoviti prvu liniju
≤ 2 godine	+	-	studije
	+	+	Alemtuzumab, Rituximab, Lenalidomid studije
	-	nebitno	Alogena SCT (studije)

Tabela 3. Preporuke za lečenje bolesnika sa HLL u relapsu

Zaključak

Pretpostavlja se da će u narednom periodu broj obolelih od HLL starijih od 75 godina biti sve veći. Manji deo tih pacijenta će biti kandidat za primenu da imunohemioterapije dok će drugi deo bolesnika morati da primi drugačiju terapiju zbog komorbiditeta ili drugih zdravstvenih problema koji otežavaju saradnju bolesnika (nepokretnost, demencija). Trenutni terapijski modaliteti ne nude adekvatan benefit i u tom smislu trenutno je u toku veliki broj kliničkih studija koji ispituju terapijske modalitete kod osoba starije životne dobi sa komorbiditetima.

Napomena

Rad je usmeno izložen na mini-simpozijumu Kontroverze u hematologiji, na 41. simpozijumu Stremljenja i novine u medicini, Medicinski fakultet u Beogradu, 4.12.2012. godine.

Literatura

- Muller-Hermelink H, Montserrat E, Catovsky D, Campo E, Harris N, Stein H. Chronic lymphocytic leukaemia/small lymphocytic lymphoma. In: Swerdlow S, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri S, Stein H, Thiele J, Vardiman JW eds. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. Lyon: IARC; 2008. str. 180-2.
- Bosch F, Montserrat E. The Natural History of CLL: *Historical Perspective* In: Faguet G eds: Chronic lymphocytic leukemia Molecular Genetics, Biology, Diagnosis, and Management. New Jersey: Humana Press; 2004. str. 3-56.
- Hallek M, Cheson BD, Catovsky D, Caligaris-Cappio F, Dighiero G, Döhner H, et al. International Workshop on Chronic Lymphocytic Leukemia. Blood. 2008;111(12):5446-56.
- Cheson BD, Bennett JM, Grever M, Kay N, Keating MJ, O'Brien S, et al: National Cancer Institute-sponsored Working Group guidelines for chronic lymphocytic leukemia: revised guidelines for diagnosis and treatment. Blood. 1996;87(12):4990-7.
- Dighiero G, Hamblin TJ. Chronic lymphocytic leukaemia. Lancet. 2008;37:1017-29.
- Zenz T, Dohner H, Stilgenbauer H. Differential Diagnosis, Staging, and Prognostic Factors. In O'Brien S and Griben J eds Chronic Lymphocytic Leukemia. New York: Informa Healthcare; 2008. str. 103-120.
- Bosch F, Montserrat E. Prognostic indicators of CLL. In: Faguet G, eds: Chronic lymphocytic leukemia Molecular Genetics, Biology, Diagnosis, and Management. New Jersey: Humana Press; 2004. str. 201-18.
- Rai KR, Sawitsky A, Cronkite EP, et al. Clinical staging of chronic lymphocytic leukemia. Blood. 1975;46:219-234.
- Binet JL, Auduier A, Dighiero G, et al. A new prognostic classification of chronic lymphocytic leukemia derived from a multivariate survival analysis. Cancer. 1981;48:198-206.
- Montserrat E. Classical and new prognostic factors in chronic lymphocytic leukemia: where to now? Hematol J. 2002;3:7-9.
- Montserrat E, Gomis F, Vallespi T, et al. Presenting features and prognosis of chronic lymphocytic leukemia in younger adults. Blood 1991;78:1545-1551.
- Mauro FR, Foa R, Giannarelli D, et al. Clinical characteristics and outcome of young chronic lymphocytic leukemia patients: a single institution study of 204 cases. Blood 1999;94:448-454.
- Diehl LF, Karnell LH, Menck HR. The American College of Surgeons Commission on Cancer and the American Cancer Society. The National Cancer Data Base report on age, gender, treatment, and outcomes of patients with chronic lymphocytic leukemia. Cancer 1999;86:2684-2692.
- Catovsky D, Fooks J, Richards S. Prognostic factors in chronic lymphocytic leukaemia: the importance of age, sex and response to treatment in survival. A report from the MRC CLL 1 trial. MRC Working Party on Leukaemia in Adults. Br J Haematol. 1989;72:141-149.
- Rozman C, Montserrat E, Rodríguez-Fernández JM, et al. Bone marrow histologic pattern—the best single prognostic

- parameter in chronic lymphocytic leukemia: a multivariate survival analysis of 329 cases. *Blood*. 1984;64(3):642–648.
16. Bergmann MA, Eichhorst B, Busch R, et al. Prospective evaluation of prognostic parameters in early stage Chronic Lymphocytic Leukemia (CLL): results of the CLL1-Protocol of the German CLL Study Group (GCLLSG). *Blood (ASH Annual Meeting Abstracts)*. 2007;110:625.
 17. Montserrat E, Sanchez-Bisno J, Vinolas N, et al. Lymphocyte doubling time in chronic lymphocytic leukaemia: analysis of its prognostic significance. *Br J Haematol*. 1986;62:567–575
 18. Han T, Barcos M, Emrich L, et al. Bone marrow infiltration patterns and their prognostic significance in chronic lymphocytic leukemia: correlations with clinical, immunologic, phenotypic, and cytogenetic data. *J Clin Oncol*. 1984;2:562–570.
 19. Gentile M, Cutrona G, Neri A, Molica S, Ferrarini M, Morabito F. Predictive value of beta2-microglobulin (beta2-m) levels in chronic lymphocytic leukemia since Binet A stages. *Haematologica*. 2009;94(6):887-8.
 20. Hallek M, Pflug N. State of the art treatment of chronic lymphocytic leukemia. *Blood rev* 2011;25.1-9.
 21. Hallek M. State of the art treatment of chronic lymphocytic leukemia. *Hematology am soc educ program* 2009: 440-449.