Trans zlom 3 30.10.2006 9:44 Stránka 132
proLékaře.cz | 10.11.2026

Chronická B-lymfocytární leukemie Část II: Diagnostická kritéria a význam stanovení individuální prognózy nemocného

Papajík T., Jarošová M., Pikalová Z., Indrák K.
Hemato-onkologická klinika FN a LF UP v Olomouci

Souhrn
Chronická B-lymfocytární leukemie (B-CLL) představuje v našich zeměpisných oblastech nejčastěji diagnostikovanou leukemickou lymfoproliferaci dospělého věku. Přesné a jednoznačné určení diagnózy B-CLL s pomocí moderních technik imunocytologie má zásadní význam pro její odlišení od dalších subtypů leukemizovaných B-buněčných lymfoproliferací. Stanovení široké škály prognostických parametrů u pacientů s nízce a středně pokročilou chorobou poskytuje nezbytný rámec k úvaze o vhodnosti a intenzitě vedené léčby při použití řady nových terapeutických možností. Stanovení procenta mutací *IgV$_H$* genů, ZAP 70, exprese CD38, chromozomálních změn a mutací genu p53 představují v dnešní době nejmodernější nástroje k poznání biologického chování a potencionální agresivity leukemického klonu.
Klíčová slova: chronická B-lymfocytární leukemie, diagnóza, imunocytologie, cytogenetika, přestavba IgV$_H$, prognóza

Summary
Papajík T., Jarošová M., Pikalová Z., Indrák K.: B-cell chronic lymphocytic leukemia
Part II: Diagnostic criteria and the importance of individual patient's prognosis assessment

B-cell chronic lymphocytic leukemia (B-CLL) represents most common leukemia in Western Europe and North America adult population. Accurate diagnosis of the disease based on leukemic cell immunophenotype analysis has principal importance in differential diagnostic distinction of B-CLL from other leukemized B-cell malignancies. Determination of strong and independent prognostic parameters in early and intermediate disease stage patients could lead to consideration of appropriate therapeutic approach. Assessment of IgV$_H$ mutational status, ZAP70 and CD38 expression levels, genetic aberrations and p53 gene mutations constitute modern tools for understanding of biologic behavior and potential aggressiveness of leukemic clone.
Key words: B-cell chronic lymphocytic leukemia, diagnosis, immunocytology, cytogenetic, IgV$_H$ mutations, prognosis

Trans. Hemat. dnes, 12, 2006, No. 3, p. 132–139.

Úvod

Většina nemocných s chronickou B-lymfocytární leukemií (B-CLL) je dnes diagnostikována v asymptomatické fázi choroby při rutinním lékařském vyšetření, nejčastěji při pravidelné preventivní prohlídce, v rámci předoperačního screeningu nebo při vyšetření pro jiné onemocnění, které s diagnózou lymfatické leukemie přímo nesouvisí. Zatímco před 30 lety podíl nemocných, u nichž byla B-CLL diagnostikována v počátečním stadiu choroby, nedosahoval ani poloviny, v dnešní době tito pacienti tvoří 70–80 % ze všech nově diagnostikovaných případů (1, 2). Z toho jednoznačně vyplývá, že prvořadý význam v primárním preklinickém záchytu onemocnění má vyšetření parametrů krevního obrazu a jeho diferenciální rozpočet stanovený jak automatickým analyzátorem, tak především zkušenou hematologickou laborantkou při mikroskopické analýze.

Stanovení diagnózy B-CLL

Základním požadavkem pro diagnózu B-CLL je nález **více jak 5x10^9/l** malých, zrale vypadajících lymfocytů v periferní krvi (3, 4). Morfologicky jde ve většině případů (asi 85 %) o tzv. **typickou formu B-CLL**, kde více jak 90 % buněk tvoří homogenní populace malých až středně velkých lymfocytů maximálně o průměru 1,5krát větším, než je průměr erytrocytu (3, 5). Buněčný okraj je většinou nepravidelný, cytoplazma úzká, jádro má pravidelný obrys, nukleární chromatin bývá v typických shlucích, které jsou od sebe odděleny jasnějšími okrsky. Jadérka, pokud jsou přítomna, nejsou nápadná. Jen malé procento buněk (méně jak 10 %) může připomínat prolymfocyty (více jak 2krát větší než erytrocyty, s bohatší a světlejší cytoplazmou a viditelným jadérkem). Některé ojedinělé lymfocyty mohou nést lymfoplazmocytární znaky. Dobře známým je nález buněčných stínů v nátěrech periferní krve. Tento jev nazvaný Gumprechtův fenomén (Gumprechtovy buněčné stíny) vzniká poško-

Trans zlom 3 30.10.2006 9:44 Stránka 133
proLékaře.cz | 10.11.2026

zením membrány leukemické buňky při technickém zpracování a barvení preparátů (5).

Méně často se vyskytujícím (do 15 %) morfologickým typem choroby je tzv. **atypická forma B-CLL** (5). Tato podskupina se může ještě dále rozlišit na další dva podtypy:

1. **B-CLL se zvýšeným počtem (více jak 10 %) prolymfocytů (B-CLL/PL)**
2. **B-CLL s lymfoplazmocytární diferenciací a/nebo buňkami s naštípnutým jádrem**

B-CLL se zvýšeným počtem prolymfocytů (B--CLL/PL) byla popsána na konci 70. let. Tato morfologická varianta se může vyskytnout jak při diagnóze, tak se může vyvinout v průběhu onemocnění jako iniciální fáze transformace do prolymfocytární leukemie (PLL). B-CLL/PL bývá morfologicky charakterizována jako zvýšené zastoupení buněčné populace větších prolymfocytárních buněk s jadérkem (více jak 10 % a méně jak 55 %) vedle populace typických malých leukemických lymfocytů (3, 5). Ojedinělý výskyt bazofilních imunoblastů s jedním či dvěma jadérky je možný.

B-CLL s lymfoplazmocytární diferenciací a/nebo buňkami s naštípnutým jádrem obsahuje v buněčném nátěru jak typické buňky B-CLL, tak i lymfocyty s větší cytoplazmou, různou mírou její bazofilie a/nebo buňky s indentovaným či naštípnutým jádrem. Minimální hranice počtu těchto atypických buněk je více než 15 % z celé leukemické populace (3, 5).

V minulosti velká řada studií dokumentovala vztah mezi morfologickými variantami B-CLL a přítomností trisomie chromozomu 12, vyšší proliferační aktivitou, mutačním stavem IgV_H genů, pokročilým klinickým stadiem, nutností zahájit včasnou léčbu, zkráceným intervalem bez progrese choroby po léčbě a nízkým celkovým přežitím (6–8). U nemocných s B-CLL/PL a absolutním počtem prolymfocytů větším jak $15x10^9$/l byl popsán medián přežití kolem 2,5 roku a jejich prognóza se nelišila od nemocných s prolymfocytární leukemií (PLL). Dlužno podotknout, že takové morfologické hodnocení je zatíženou velkou subjektivní chybou, a tudíž velkou interobservační variabilitou výsledků. Ve velkých moderních studiích není většinou přikládán hodnocení morfologie prognosticky nezávislý význam a je dnes nahrazena jinými, objektivněji hodnotitelnými parametry – mutačním stavem IgV_H genů (atypická morfologie úzce koreluje s nemutovaným stavem IgV_H), expresí proteinu ZAP 70, přítomností vybraných genetických změn, hladinou β_2-mikroglobulinu, sérové tymidinkinázy a jinými (9).

Imunofenotyp buněk B-CLL

Důležitější než stanovení morfologických podtypů B-CLL je určení imunofenotypu nádorových elementů a jednoznačné potvrzení diagnózy B-CLL metodou průtokové cytometrie. Imunofenotyp B-CLL je velmi příznačný a v drtivé většině případů odlišuje onemocnění od jiných typů lymfoidních neoproliferací postihujících kostní dřeň a periferní krev (10, 11). Typická je přítomnost povrchového imunoglobulinu (sIg+), obvykle typu IgM, často s koexpresí IgD. Exprese IgG a IgA je výjimečná. Intenzita exprese je na rozdíl od ostatních B-lymfoproliferací velmi slabá. Dalším charakteristickým znakem na povrchu leukemických buněk je **CD5 antigen**. CD5 znak představuje základní marker fyziologických T-lymfocytů, ale vyskytuje se také u malého počtu normálních B-lymfocytů nalézajících se v plášťové zóně lymfatických folikulů a produkujících přirozené polyreaktivní protilátky.

Spolu s výskytem antigenu CD5 jsou na povrchu leukemických buněk exprimovány tzv. pan-B-buněčné antigeny – **CD19, CD20 a CD79a**. Exprese znaku CD19 je konstantní a silná, zatímco exprese CD20 molekuly může být velmi variabilní. Na povrchu některých leukemických buněk se nachází sotva 2000 molekul antigenu, zatímco u jiných klonů to může být až 70 000 vazebných míst (12). Tento fakt je důležitý, protože řada moderních léčebných schémat používá monoklonální protilátku proti antigenu CD20 – rituximab. Laboratorní studie potvrdily, že úroveň exprese CD20 výrazně koreluje s vazbou protilátky a aktivací komplementu, resp. s cytotoxicitou závislou na komplementu. Proto je určení pozitivity znaku CD20 a úroveň jeho exprese důležitým prvkem v úvaze o indikaci léčby B-CLL rituximabem.

Dalším konstantě nalézaným znakem na povrchu B-CLL lymfocytů je molekula **CD23** (5). Tento transmembránový protein funguje jako receptor pro IgE a zároveň jako adhezivní molekula lymfocytu, která reaguje s ligandem CD21, receptorem pro Epstein-Baarové virus. CD23 antigen je často odštěpen proteolytickými mechanismy a jako solubilní molekula (**sCD23**) se vyskytuje v séru (13–15). Funkce solubilní molekuly není úplně jasná, ale zdá se, že může ovlivňovat přežití leukemických lymfocytů a indukovat jejich proliferaci. Většina nemocných má hladinu s CD23 zvýšenou a její hodnota většinou koreluje s aktivitou a progresí onemocnění. Za mnohé ze studií uvádíme výsledky práce Sarfatiové a kolektivu (16), kteří pozorovali, že jedinci s hladinou sCD23 nad 574 U/ml (medián hodnot v souboru) mají významně horší přežití než nemocní s hladinou nižší (53 vs 100 měsíců, p = 0,0001). U nemocných ve stadiu A dle Bineta vyšší hladiny s CD23 než medián znamenaly kratší dobu do progrese choroby (medián 42 vs 88 měsíců, p = 0,0001). Autoři zároveň potvrdili, že zásadní vzestup sCD23 většinou znamená významné riziko progrese choroby a že hladina sCD23 stoupá dříve než kterékoliv standardní znaky, resp. dokáže tuto progresi včas odhalit.

Další důležitou molekulou, která se na povrchu buněk B-CLL vyskytuje, je molekula **CD38** (5). CD38 antigen se nachází na povrchu různých hemopoetických buněk (T-, B-lymfocyty, plazmatické buňky) a jeho buněčné funkce zahrnují jednak schopnost transdukovat signály potřebné pro regulaci buněčné proliferace a přežití (blokáda apoptózy a zvýšená exprese genu bcl-2 ve spolupráci s BCR komplexem) a jednak tento antigen funguje také jako adhezivní molekula kontaktu leukemických

Trans zlom 3 30.10.2006 9:44 Stránka 134
proLékaře.cz | 10.11.2026

buněk a endotelových povrchů (5, 17). Jeho přesná funkce v patogeneze B-CLL však není detailněji známa. CD38 se vyskytuje většinou u nemocných s agresivní chorobou bez ohledu v jakém stadiu se nacházejí a jeho exprese je spojena s nepříznivou prognózou a kratším přežitím nemocných. I když se CD38 vyskytuje výrazně častěji u nemocných s nemutovaným stavem IgV_H genů, jednoznačný a konstantní vztah mezi výskytem CD38 a mutačním stavem IgV_H neexistuje (18–20). Ačkoliv je výskyt antigenu CD38 v průběhu vývoje leukemického klonu konstantní (pozitivní/negativní), stupeň jeho exprese se může v průběhu onemocnění zvyšovat.

Asi u 10–15 % nemocných je přítomen znak **FMC7** a zdá se, že tito nemocní mají horší prognózu než nemocní bez výskytu tohoto antigenu, i když jednoznačné závěry multivariantních analýz přežití chybí (5). Stejně frekventní výskyt na povrchu buněk B-CLL mají i antigeny **CD22** a **CD79b**.

Variabilně jsou na povrchu buněk exprimovány znaky adhezivních molekul, např. CD44, CD54 nebo CD36. Jejich výskyt a intenzita jejich exprese může v řadě případů odrážet agresivitu leukemického klonu nebo pokročilost choroby, v rutinní diagnostice či prognostických schématech se neuplatňují (5).

Z hlediska diferenciálně diagnostického je v některých situacích dobré použít ke stanovení diagnózy tzv. skórovací systém dle Matutes (10). Jeho konstrukce je založena na bodování – 1 bod se přičte při nálezu markeru typickém pro B-CLL, v atypické situaci se bod nepočítá. 5 bodů celkem znamená zcela typický fenotyp, 3–4 body aberantní (ne zcela typickou) antigenní expresi, zisk 0–2 bodů diagnózu B-CLL nepodporuje. Skórovací systém podle Matutes přehledně uvádí tabulka 1.

Tab. 1. Skórovací systém diagnostiky B-chronické lymfatické leukemie založený na hodnocení imunofenotypu (dle Matutes, 1994).

Znak	Body	
	1	0
CD5	Pozitivní	Negativní
CD23	Pozitivní	Negativní
FMC 7	Negativní	Pozitivní
sIg	Slabě pozitivní	Středně až silně pozitivní
CD22/CD79b	Slabě pozitivní/ /negativní	Středně pozitivní/ /silně pozitivní

Cytologie a histologie kostní dřeně

Cytologický obraz s nálezem více jak 30 % charakteristických leukemických elementů byl donedávna požadován jako jedno z důležitých kritérií pro diagnostiku B-CLL (4, 11). V dnešních podmínkách není toto kritérium nezbytné, a tudíž se od aspirační cytologie kostní dřeně u nemocných s touto chorobou ustupuje. Diagnostické buňky se u nemocných vyskytují v periferní krvi, odkud lze odebrat jejich dostatečné množství pro všechna nezbytná diagnostická a prognostická vyšetření.

Také histologické vyšetření kostní dřeně, které bylo dříve vyžadováno u většiny nemocných, dnes požadujeme jen ve zcela nezbytných případech, a to většinou v některých specifických diferenciálně-diagnostických situacích a pak také při stanovení u odpovědi na léčbu po intenzivní terapii (21–23).

Histologický obraz kostní dřeně postižené B-CLL může být při stanovení diagnózy různý. V podstatě lze rozlišit 4 histologické obrazy – **intersticiální, nodulární, smíšený a difuzní** (5, 21). Difuzní obraz infiltrace kostní dřeně je spojen s totálním vyplněním dřeně leukemickými buňkami a vytlačením normální krvetvorby. Jeho výskyt dobře koreluje s pokročilostí choroby a biologickou agresivitou leukemických buněk (medián celkového přežití nemocných s difuzní infiltrací je zhruba 4 roky, u nedifuzních obrazů asi 14 let). Samostatná prognostická výpovědní hodnota typu infiltrace kostní dřeně však nepřevyšuje náročnost odběru (riziko pro nemocného a ekonomické náklady) a je dnes nahrazena celou paletou neinvazivně získaných prognostických ukazatelů (3, 9, 23).

Další laboratorní nálezy

U pokročilé choroby nalézáme různý stupeň anémie, hladina hemoglobinu pod 100–110 g/l bývá prognosticky závažným znakem (viz stážovací systémy). Výjimku tvoří nemocní, u nichž diagnostikujeme anémii hemolytickou (vyšší hodnota retikulocytů, LDH a bilirubinu aj.). Ta je imunitního původu a na počátku choroby se vyskytuje vzácněji než při její progresi. Stejnou diferenciálně diagnostickou pozornost musíme věnovat nálezu trombocytopenie, jejíž základní etiologie může být opět dvojího charakteru. Buď je způsobena útlumem fyziologické krvetvorby a odráží pokročilost onemocnění (pod $100x10^9$/l), nebo může být imunitního původu a při dobré léčebné odpovědi na imunosupresiva nemusí znamenat pro nemocného nepříznivou prognózu (3, 11).

U některých nemocných (cca 5 %) můžeme v séru nalézt malou hladinu paraproteinu, nejčastěji třídy IgM, nemocní v pokročilém stadiu mají snížené hladiny fyziologických imunoglobulinů (zpočátku IgM, později všech tříd) (11).

Klinický obraz

Jak bylo řečeno na počátku, 70–80 % nemocných je dnes při zjištění diagnózy B-CLL v počátečním stadiu choroby a 3/4 ze všech nemocných jsou zcela bez příznaků onemocnění (1–3, 24). Ze symptomů nemocní popisují nejčastěji lehčí únavu, slabost, sníženou toleranci fyzické námahy, u nemocných v pokročilém stadiu můžeme zachytit snížení hmotnosti, rekurentní infekty, symptomy anémie, krvácení, noční poty nebo subfebrilie. Až u 80 % nemocných můžeme při pečlivém klinickém vyšetření nalézt zvětšení některé z lymfatických uzlin na periferii, nejčastěji v oblasti krku, nadklíčků či podpaží (11). Daleko vzácnější bývá výskyt klinicky zjistitelné splenomegalie nebo hepatomegalie, ostatní orgány bývají při diagnóze choroby postiženy jen zcela výjimečně.

Prognostické ukazatele

Věk

Pokročilý věk býval v mnoha pracích paušálně ozna-

Trans zlom 3 30.10.2006 9:44 Stránka 135
proLékaře.cz | 10.11.2026

čován za nepříznivý prognostický faktor. V 90. letech několik analýz upozornilo na nebezpečí tohoto zjednodušení a potvrdilo, že vliv B-CLL na přežití jedinců pod 50 let a nad 50 let je velmi podobný (24, 25). V roce 1999 Mauro publikoval zajímavou retrospektivní práci hodnotící charakteristiky choroby a prognózu u 1011 nemocných s B-CLL mladších 55 let a starších 55 let (24). Zjistil, že klinické znaky při diagnóze se v těchto skupinách příliš neliší. Obě skupiny měly vyšší počet nádorových duplicit (8,3 % vs 10,7 %) ve srovnání se zdravou populací stejného věku. V mladší věkové skupině byl vyšší výskyt Richterova syndromu (5,9 % vs 1,2 %). V obou skupinách byla zhruba stejná pravděpodobnost celkového přežití (kolem 10 let), významně se však lišily příčiny úmrtí: přímý efekt leukemie dominoval u mladších nemocných, zatímco u starších pacientů převládala úmrtí z jiných primárních příčin než B-CLL (kardiovaskulární choroby, nádorové duplicity aj.). Z těchto údajů je zřejmé, že věk sám o sobě dnes není u B-CLL nezávislým prognostickým faktorem.

Pohlaví

B-CLL se vyskytuje zřetelně častěji u mužů než u žen (2, 3, 11). U mladších nemocných může být tento poměr až 3:1, s rostoucím věkem převaha mužů klesá a poměr se vyrovnává (ve skupině nad 55 let je to úhrnem 1,3:1). Zhruba polovina všech větších prací udává horší prognózu pro mužskou populaci, pohlaví však není potvrzeno jako nezávislý prognostický faktor (9). Jasné příčiny tendence k horší prognóze u mužů nejsou známy, spekuluje se o celkové větší zranitelnosti mužského genomu (větší frekvence genetických změn, spojení s daleko vyšším výskytem nemutovaného stavu IgV_H genů) (18).

Klinické parametry

Velikost lymfatických uzlin, přítomnost zvětšených lymfatických uzlin v mediastinu, zvětšení jater či sleziny dnes má samostatně relativně malou prognostickou váhu, stejně jako přítomnost B-symptomů nebo horší index klinické výkonnosti (performance status) (9).

Hematologické parametry

Anémie (hodnota hemoglobinu <100 g/l resp. <110 g/l) se všeobecně považuje za významný nezávislý nepříznivý prognostický faktor u B-CLL. Většina studií tento fakt ve svých multivariantních statistických analýzách potvrzuje (9, 26). Trombocytopenie (počet trombocytů <100x10^9/l) má již poněkud méně významné samostatné postavení a nepřináší ve vztahu k přítomnosti anémie další prognostickou výpověď (9). Z tohoto hlediska má i celkový počet lymfocytů v periferní krvi (>40–50x10^9/l) spíše pomocný význam pro hodnocení rizika raných stadií choroby (Binet A a B), ve stadiu Binet C praktickou hodnotu ztrácí (4, 9).

Stážovací systémy

V současnosti používané stážovací systémy (Rai, Binet) si stále zachovávají významné postavení v široké paletě ostatních prognostických ukazatelů (9, 27–30). Tyto systémy jsou v podstatě velmi podobné (pracují zhruba se stejnými základními údaji) a dovedou odlišit 3 základní skupiny nemocných – s dobrou, standardní a špatnou prognózou – ve vztahu k mediánu celkového přežití (tab. 2, 3). Binetův stážovací systém (používaný zejména v Evropě) má podle všech dosavadních rozborů větší a přesnější výpovědní hodnotu než systém dle Raie a stále si zachovává nezávislou prognostickou výpovědní hodnotu i při srovnání s moderními prognostickými parametry (29, 30).

Ve světové literatuře byla do dnešního dne publikována řada dalších stážovacích systémů – například The Total Tumor Mass Score (TTM, Jaksic a Vitale, 1981) a další (31). Systémy však nebyly lékařskou veřejností šířeji přijaty, z části pro svou relativní složitost (TTM) a hlavně proto, že nepodávají větší množství informací, než poskytuje klasické stážování dle Raie a Bineta.

Cytomorfologie leukemických buněk a charakteritstika postižení kostní dřeně

Prognostický přínos byl hodnocen výše.

Proliferační charakteristika nádorové populace

Na význam kinetiky leukemických lymfocytů upozornil již v roce 1966 Galton. Čas potřebný ke zdvojnásobení počtu periferních lymfocytů („lymphocyte doubling time“ – LDT) je jednoduchý a celkem validní ukazatel agresivity nádorové populace (32). Hodnoty pod 6 měsíců bývají spojeny s krátkým celkovým přežitím, hodnoty nad 12 měsíců obvykle ukazují na lepší prognózu choroby. V poslední době se ukazuje, že význam posouzení tohoto faktoru leží v časných stadiích choroby (zejména Binet A a zčásti i Binet B), naopak u pokročilé choroby (Binet C) se jeho samostatný význam stírá (9, 32).

Tab. 2. Klinický stážovací systém B-CLL – původní verze (Rai, 1975).

Stadium	Klinický nález	Medián přežití (měsíce)
0	Lymfocytóza	150
I	Lymfocytóza +lymfadenomegalie	101
II	Lymfocytóza+hepato- či splenomegalie	71
III	Lymfocytóza+anémie (Hb < 110 g/l)	19
IV	Lymfocytóza +trombocytopenie (tr < 100x10^9/l)	19

Tab. 3. Klinický stážovací systém B-CLL (Binet, 1981).

Stadium	Klinický nález	Počet nemocných	Medián přežití (měsíce)
A	≤ 2 postižené oblasti	60 %	108
B	≥ 3 postižené oblasti	30 %	60
C	Hb < 100 g/l nebo tr < 100x10^9/l	10 %	24

Pozn.: Postiženými oblastmi se rozumí zvětšené uzliny krční, podpažní, tříselné, zvětšená játra a zvětšená slezina

Trans zlom 3 30.10.2006 9:44 Stránka 136
proLékaře.cz | 10.11.2026

Stanovení nukleárního antigenu Ki-67 nebo proliferačního nukleárního antigenu (PCNA) může mít také pomocný prognostický význam (9, 11).

Imunofenotyp nádorových buněk, hladina solubilních antigenů v séru

Jejich prognostický význam byl hodnocen výše.

Exprese CD38 antigenu

V roce 1999 Damle s kolektivem upozornili na vysoce nepříznivou prognózu nemocných s expresí CD38 antigenu, pokud byl přítomen na více jak 30 % leukemických buněk a vztah výskytu tohoto parametru k nemutovanému stavu IgV_H genů (18). Medián přežití nemocných s vyšší expresí CD38 byl 10 let, u skupiny s nízkou nebo chybějící expresí tohoto mediánu nebylo dosaženo (p = 0,003). Další práce však upozornily na skutečnost, že exprese CD38 není jednoznačným obrazem mutačního stavu IgV_H genů a z tohoto pohledu se obě skupiny mohou překrývat. Navíc i z hlediska celkového přežití se nezdá být exprese CD38 nezávislým prognostickým faktorem a mutační stav nekopíruje. A i když se názory na jednoznačný prognostický význam exprese CD38 v poslední době liší, 2 reprezentativní pečlivě analyzované studie s velkým počtem nemocných nezávisle na sobě potvrzují, že analýza CD38 exprese má pomocný význam a její prognostická výpovědní hodnota je výrazně nižší než hodnota mutačního stavu IgV_H a určení genetických změn (11q-, 17p-, mutace p53 genu) u nemocných s B-CLL (19, 20, 30).

Laktát-dehydrogenáza (LDH)

Na rozdíl od ostatních lymfoidních malignit je její výpovědní hodnota u nemocných v časných stadií B--CLL poměrně malá. V posledních letech jen málo studií prokázalo nezávislý prognostický přínos tohoto parametru (9, 33).

β-2-mikroglobulin (β2M)

Tento protein o nízké molekulární hmotnosti je spojen s HLA komplexem. β2M bývá označován za velice silný nezávislý prognostický faktor u mnohočetného myelomu a indolentních lymfomů, kde koreluje s velikostí masy nádoru. Mnohé studie z poslední doby potvrzují jeho význam také u B-CLL. Keating a po něm i Hallek (34, 35) v multivariantních statistických analýzách potvrdili, že hodnoty nad 3,0–3,5 mg/l jsou spojeny s nepříznivou prognózou (vyšší aktivita choroby, větší nádorová masa, horší odpověď na podanou terapii, kratší interval bez progrese choroby a také kratší celkové přežití).

Sérová tymidinkináza (s-TK)

S-TK je buněčný enzym, který se účastní syntézy DNA. Její koncentrace v séru odráží množství dělících se buněk různých nádorů jako výraz proliferace nádorové masy. Tato vazba byla prokázána i u B-CLL. Podle prací Halleka a kolektivu hodnota nad 7,0 U/l predikuje progresi choroby do 1 roku u nemocných ve stadiu A (Binet) (35, 36). Nemocní s nízkými hodnotami s-TK ve stadiu Binet A měli medián do progrese choroby 49 měsíců, zatímco u pacientů ve stejném stadiu s vysokými hodnotami s-TK byl medián do progrese jen 9 měsíců (p = 0,001). Hladina s-TK se tak stává cenným prognostickým parametrem u časných stadií B-CLL, kde dokáže upozornit na možnost hrozící časné progrese leukemie. Další studie pak ukázala, že vyšší hodnoty s-TK (>15 U/L) mohou korelovat s nemutovaným stavem IgV_H genů a být tak cenným jednoduchým ukazatelem tohoto stavu (přesná predikce v 86 % případů).

Tab. 4. Četnost výskytu a vztah genetických změn k přežití nemocných s B-CLL (detekce změn metodou FISH, Döhner 1999).

Genetická změna	Výskyt	Medián přežití (roky)
13q-	36 %	>15,0
11q-	17 %	6,6
+12	15 %	10,9
17p-	8 %	3,6
6q-	7 %	11,0

Genetické změny nádorových buněk

Jednou z prvních komplexních analýz hodnotících význam genetických změn pro prognózu nemocných s B-CLL byla studie Juliussona a kolektivu, která vzešla ze spolupráce 11 center uvedených pod hlavičkou Mezinárodní pracovní skupiny pro chromozomy u CLL (IWCCLL) (38). Práce z roku 1990 shrnula data od 604 úspěšně konvenčně cytogeneticky vyšetřených nemocných. U 311 z nich (51 %) byly nalezeny chromozomální aberace. Nemocní s normálním karyotypem měli medián přežití 15 let, nemocní s jakoukoliv klonální změnou měli medián zhruba přežití poloviční (7,7 roku, p = 0,000001). Z hlediska multivariantní analýzy však tento údaj nenabyl prognostického významu, i když se v ní podařilo prokázat, že nezávislý prognostický význam má nález klonálních chromozomálních změn ve všech vyšetřených buňkách v metafázi (p = 0,0058). Práce poprvé poukázala na poměrně prognosticky příznivý význam nálezu změn na dlouhých ramenech chromozomu 13 a špatnou prognózu nemocných s komplexními změnami.

Nástup metod interfázové cytogenetiky znamenal výrazné upřesnění popisu prevalence nejčastějších genetických změn u nemocných s B-CLL a tím pádem i možnost analyzovat jejich skutečný prognostický význam (39–41). Döhnerova pilotní práce shrnující výsledky vyšetření genomu leukemických buněk fluorescenční in situ hybridizací (FISH) u 325 převážně nepředléčených nemocných, popsala genetické změny u 82 % pacientů (42). V multivariantní analýze měly zásadní prognostický dopad nálezy změn delece krátkých ramen chromozomu 17 (TFS 9 měsíců, OS 32 měsíců) a delece dlouhých ramen chromozomu 11 (TFS 13 měsíců, OS 79 měsíců). Delece 17p zvyšovala riziko úmrtí u nemocných bez rozdílu věku zhruba 8,1×, zatímco delece 11q toto riziko výrazně zvyšovala jen ve skupině nemocných do 55 let (cca 2,9×). Práce stejného autorského zázemí o dva roky později analýzu dále upřesnila a potvrdila, že změny 17p- a 11q- si zachovávají svou nezávislou prognostickou výpovědní hodnotu, která má navíc komplementární význam k údaji o mutačním stavu IgV_H genů.

Práce Osciera a kolegů potvrdila nezávislý prognostický význam delece 17p nebo mutace genu p53 (medián

Trans zlom 3 30.10.2006 9:44 Stránka 137
proLékaře.cz | 10.11.2026

přežití 47 měsíců), naproti tomu delece 11q v multivariantní analýze prognostický význam ztrácela (medián přežití 117 měsíců) (30). Je však nutné podotknout, že tato studie detekovala menší počet abnormálních genetických nálezů (69 %) než práce Döhnerova, taktéž prevalence 17p- a 11q- byla nižší (6 %, resp. 10 %).

Časté zprávy z poslední doby v souvislosti s prognosticky extrémně nepříznivým významem delece 17p hovoří o podobné nepříznivé roli mutace či dysfunkce genu p53 umístěném právě v oblasti 17p (30, 43). I když metodika detekce mutace/dysfunkce genu p53 není sjednocena a standardizována a význam tohoto stanovení není ověřen na velkých souborech nemocných, je zřejmé, že zvláště prospektivní opakované sledování výskytu těchto změn by mohlo pomoci v odhalení biologicky nepříznivého vývoje u řady nemocných s B-CLL. Dále je nutné zdůraznit, že ačkoliv výskyt delece 17p nebo mutace/dysfunkce genu p53 byl považován za jednoznačný ukazatel rezistence leukemického klonu k terapii založené na fludarabinu, některé recentní údaje tento poznatek negují (44).

Mutační stav IgV_H genů

Původní hypotézy o biologickém původu prekurzorů pro vznik B-CLL předpokládaly, že se v genomu těchto buněk nenacházejí somatické hypermutace genů pro variabilní regiony imunoglobulinových řetězců. Od poloviny 90. let minulého století však byla podána řada důkazů, že nejméně u 50 % případů B-CLL jsou takové mutace přítomny, tzn. že geny kódující variabilní oblast těžkých řetězců – V_H geny – mají méně než 98 % sekvenční homologie ve srovnání s příslušným mateřským (referenčním či „germline") genem. Tento objev nejenže přispěl ke změně pohledu na biologickou podstatu onemocnění, ale stanovení mutačního stavu IgV_H genů se stalo jedním z nejsilnějších prognostických ukazatelů u nemocných s B-CLL.

Hamblin a kolegové z pracoviště v Bournemouthu analyzovali 84 nemocných a zjistili, že u 38 z nich (45 %) je přítomen nemutovaný stav IgV_H genů, zatímco u 46 případů (55 %) detekovali somatické hypermutace (45). Pokud dále hodnotili obě skupiny pacientů, zjistili, že nemocní s nemutovaným stavem mají onemocnění v pokročilejším stadiu, s agresivnějším průběhem, atypickou morfologií, výskytem trisomie 12 a použitím V_H1-69 genu. Medián přežití pro nemocné s nemutovaným stavem byl 117 měsíců, pro jedince s mutovaným stavem 293 měsíců ($p = 0,001$). I když byli samostatně hodnoceni nemocní ve stadiu A dle Bineta, mediány přežití zůstávaly výrazně rozdílné – 95 versus 293 měsíců ($p = 0,0008$).

K podobným závěrům dospěla obdobná práce newyorských autorů (Damle a kolektiv), hodnotící 47 nemocných s typickou B-CLL. 24 jedinců (51 %) mělo nemutovaný status IgV_H genů, u 23 nemocných (49 %) byly somatické hypermutace zjištěny (18). Nemocní s nemutovaným stavem vyžadovali ve výrazně vyšším procentu léčebný zásah ($p = 0,0001$) a jejich medián přežití byl 9 let, zatímco medián přežití u pacientů s mutovaným stavem nebyl dosažen ($p = 0,0001$). Autoři zároveň podrobně zkoumali vztah exprese antigenu CD38 k celkovému přežití a mutačnímu stavu IgV_H genů. Medián přežití u nemocných s více jak 30% expresí CD38 byl 10 let, zatímco u skupiny s nižší expresí mediánu nebylo dosaženo a všichni nemocní žili po celou dobu sledování. Autoři na základě svých pozorování (všichni nemocní s více jak 30% expresí CD38 měli nemutovaný stav IgV_H genů) přijali hypotézu, že právě exprese CD38 je velmi úzce svázána s mutačním stavem. Tato hypotéza vyvolala poměrně rozsáhlé odborné diskuse a řada prací hypotézu (vztah exprese CD38 a mutačního stavu IgV_H genů) podrobila kritice, resp. ji vyvrátila.

Velmi zajímavé pozorování bylo publikováno v práci Tobina a kolegů, kteří potvrdili některé předchozí zprávy o tom, že nejen mutační stav IgV_H genů, ale i použití jednotlivých V_H genů může hrát velmi významnou biologickou a prognostickou roli (46). V souboru 119 nemocných s B-CLL potvrdili použití V_H1-69 genů u 25 % jedinců s nemutovaným stavem genů, zatímco podobný vysoký výskyt dalšího z genů – V_H3-21 – nalezli u 26 % vyšetřených s mutovaným stavem a tito nemocní měli poměrně krátký medián celkového přežití (63 měsíců). Pokud analýzu rozšířili na skupinu 265 nemocných z více center, pak se užití V_H3-21 vyskytlo u 31 (12 %) analyzovaných (21 s mutovaným a 10 s nemutovaným stavem) (47). Jejich medián přežití byl 83 měsíců. Pokud porovnali jednotlivé mediány přežití, zjistili, že skupina s nemutovaným stavem IgV_H měla medián přežití 64 měsíců, skupina s mutovaným stavem a použitím V_H3-21 72 měsíců a skupina s mutovaným stavem bez použití V_H3-21 pak 137 měsíců. Zároveň autoři dokumentovali, že procento mutací bylo u případů s použitím V_H3-21 poměrně nízké (cca 3,6 %) a tito nemocní tak mohou představovat jakousi hraniční skupinu mezi jedinci s mutovaným a nemutovaným stavem IgV_H genů.

Velké multivariantní statistické studie v poslední době definitivně potvrdily silnou a prognosticky nezávislou výpovědní hodnotu určení mutačního stavu IgV_H genů. Práce anglických a německých autorů z roku 2002 (Oscier a kol., Kröber a kol.) identifikovaly jako nejsilnější následující nezávislé prognostické faktory: stadium, mutační stav IgV_H genů, genetické změny 11q-, 17p- (nebo mutace p53 genu) (20, 30). Další týmy potvrdily komplementární výpovědní hodnotu mutačního stavu IgV_H genů a určení stadia dle Bineta, význam mutačního stavu a výskytu lékové rezistence a také to, že prognostický význam mutačního stavu se nestírá ani vysoce dávkovanou léčbou s podporou transplantace autologních kmenových buněk (29, 48).

ZAP-70

Práce zabývající se studiem úrovní exprese jednotlivých genů u nemocných s B-CLL zjistily, že jedním z odlišně exprimovaných genů u nemocných dle jejich mutačního stavu IgV_H genů je zeta-asociovaný protein o molekulární hmotnosti 70 kd (ZAP-70). Jde o cytoplazmatický protein s tyrosin-kinázovou aktivitou, který je fyziologicky přítomen jen v cytoplazmě přirozených zabíječů a T-lymfocytů, kde hraje důležitou roli v signál-

Trans zlom 3 30.10.2006 9:44 Stránka 138
proLékaře.cz | 10.11.2026

ních drahách spojených s T-buněčným receptorem (TCR).

Wiestner s kolegy potvrdili více než 5násobně vyšší expresi genu ZAP-70 u nemocných s nemutovanou formou IgV_H, celkovou schopnost ZAP-70 pro predikci mutačního stavu v 93% a význam pro odlišení jedinců s klinicky agresivním průběhem choroby vyžadující včasné zahájení terapie (49).

Důležitým krokem k širokému klinickému použití byl vývoj imunocytologického stanovení exprese ZAP-70 pomocí průtokové cytometrie, o němž bylo písemné podobě referováno již v roce 2003. Crespo a po něm Orchard s kolegy navíc potvrdili, že se exprese ZAP-70 genu shoduje se stanovením jeho proteinového produktu a že se nemění s vývojem choroby (50, 51). Medián přežití nemocných ZAP-70+ byl 9,3 roky, u ZAP-70- byl 24,4 roky (p = 0,0001). Pro srovnání medián přežití u nemutovaného stavu IgV_H byl 10,7 roků, u mutovaného stavu 25,8 roků (p = 0,0001). Nemocní ve stadiu Binet A s expresí ZAP-70 ve více jak 20 % buněk B-CLL měli medián přežití 90 měsíců, u nemocných s nízkou expresí proteinu nebyl medián dosažen (p = 0,01).

Závěr

V posledních letech se významně změnil názor na úlohu jednotlivých vyšetřovacích metod při stanovení přesné diagnózy B-CLL. Čistě morfologická kritéria ustupují do pozadí a hlavní metodou identifikace klonu leukemických buněk se stává imunocytologie. Díky použití průtokové cytometrie se většina diagnostických vyšetření uskutečňuje z periferní krve nemocného a ustupuje se od invazivních procedur jako je aspirace a trepanobiopsie kostní dřeně, jejichž diagnostický, ale i prognostický význam je nahrazen přesnějšími a objektivnějšími metodami.

Heterogenita možného klinického chování nemocných s B-CLL představuje výzvu pro přesné určení individuálního prognostického rizika zároveň se stanovením diagnózy jejich choroby. Vývoj moderních stratifikačních modelů v sobě zahrnuje řadu laboratorních parametrů odrážejících biologické, molekulární a genetické rysy chování a struktury leukemických buněk. Řada z nich je metodicky natolik vysoce sofistikovaných, že mohou být prováděny jen ve vysoce specializovaných laboratorně – klinických centrech. Jejich komplexním posouzením však můžeme identifikovat skupinu nemocných, kteří budou profitovat z časné, intenzivně vedené léčby, jejímž cílem bude dosažení kompletní remise choroby s co možná nejnižší hladinou reziduálních leukemických buněk v organismu, resp. jejich možné kompletní eradikace.

Literatura

1. **Rozman C, Montserrat E.** Chronic lymphocytic leukemia. N Engl J Med 1995; 333: 1052–1057.
2. **Sgambati MT, Linet MS, Devesa SS.** Chronic Lymphocytic Leukemia: Epidemiological, Familial, and Genetic Aspests. In: Chronic Lymphoid Leukemias (ed. by B.D. Cheson), Marcel Dekker, New York 2001, 33–62.
3. **Oscier D Fegan C, Hillmen P, et al.** Guidelines on the diagnosis and management of chronic lymphocytic leukemia. Br J Haematol 2004; 125: 294–317.
4. **Cheson BD, Bennett JM, Grever M, et al.** National Cancer Institute-sponsored working group guidelines for chronic lymphocytic leukemia: revised guidelines for diagnosis and treatment. Blood 1996; 87: 4990–4997.
5. **Matutes E, Polliack A.** Morphological and Immunophenotypic Features of Chronic Lymphocytic Leukemia. Rev Clin Exp Haematol 2000; 4: 22–47.
6. **Criel A, Verhoef G, Vlietinck R, et al.** Further characterization of morphologically defined typical and atypical CLL: a clinical, immunophenotypic, cytogenetic and prognostic study on 390 cases. Br J Haematol 1997; 97: 383–391.
7. **Matutes E, Oscier, Garcia-Marco, et al.** Trisomy 12 defines a group of CLL with atypical morphology: correlation between cytogenetic, clinical and laboratory features in 544 patients. Br J Haematol 1996; 92: 382–388.
8. **Oscier D, Matutes E, Copplestone A, et al.** Atypical morphology: an adverse prognostic factor for disease progression in stage A CLL independent of trisomy 12. Br J Haematol 1997; 98: 934–939.
9. **Hallek M, Hallek IK, Emmerich B.** Prognostic factors in chronic lymphocytic leukemia. Leukemia 1997; 11(Suppl 2): S4–S13.
10. **Matutes E, Owusu-Ankomah K, Morilla R, et al.** The immunological profile of B-cell disorders and proposal of a scoring system for the diagnosis of CLL. Leukemia 1994; 8: 1640–1645.
11. **Kipps TJ.** Chronic lymphocytic leukemia and related diseases. In: Williams Hematology, Fifth edition, McGraw-Hill Inc. 1995; 1017–1039.
12. **Golay J, Lazzari M, Facchinetti V, et al.** CD20 levels determine the in vitro susceptibility to rituximab and complement of B-cell chronic lymphocytic leukemia: further regulation by CD55 and CD59. Blood 2001; 98: 3383–3389.
13. **Schwarzmeier JD, Shehata M, Hilgarth M, et al.** The role of soluble CD23 in distinguishing stable and progressive forms of B-chronic lymphocytic leukemia. Leuk Lymph 2002; 43: 549–554.
14. **Molica S, Levato D, Cascavilla N, et al.** Clinico-prognostic implications of simultaneous increased serum levels of soluble CD23 and beta$_2$-microglobulin in B-cell chronic lymphocytic leukemia. Eur J Haematol 1999; 62: 117–122.
15. **Knauf WU, Langenmayer I, Ehlers B, et al.** Serum levels of soluble CD23, but not of soluble CD25 are predictive for disease progression in early stage B-cell chronic lymphocytic leukemia. Leuk Lymphoma 1997; 27: 523–532.
16. **Sarfati M, Chevret S, Chastang C, et al.** Prognostic importance of serum soluble CD23 level in chronic lymphocytic leukemia. Blood 1996; 88: 4259–64.
17. **Deaglio S, Capobianco A, Bergui L, et al.** CD38 is a signaling molecule in B-cell chronic lymphocytic leukemia cells. Blood 2003; 102: 2146–2155.
18. **Damle RN, Wasil T, Fais F, et al.** IgV gene mutation status and CD38 expression as novel prognostic indicators in chronic lymphocytic leukemia. Blood 1999; 94: 1840–1847.
19. **Ibrahim S, Keating M, Do KA, et al.** CD38 expression as an important prognostic factor in B-cell chronic lymphocytic leukemia. Blood 2001; 98: 181–186.
20. **Krober A, Seller T, Benner A, et al.** VH mutation status, CD38 expression level, genomic aberrations, and survival in chronic lymphocytic leukemia. Blood 2002; 100: 1410–1416.
21. **Geisler CH, Ralfkiaer E, Hansen MM, et al.** The bone marrow histological pattern has independent prognostic value in early stage chronic lymphocytic leukaemia. Br J Haematol 1986; 62: 47–54.
22. **Montserrat E, Rozman C.** Bone marrow biopsy in chronic lymphocytic leukemia: a review of its prognostic importance. Blood Cells 1987; 12: 315–326.
23. **Geisler CH, Hou-Jensen K, Jensen OM, et al.** The bone-marrow

Trans zlom 3 30.10.2006 9:44 Stránka 139
proLékaře.cz | 10.11.2026

infiltration pattern in B-cell chronic lymphocytic leukemia is not an important prognostic factor. Danish CLL Study Group. Eur J Haematol 1996; 57: 292–300.
24. **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.
25. **Montserrat E, Rozman C.** Current approaches to the treatment and management of chronic lymphocytic leukemia. Drugs 1994; 6: 1–9.
26. **Zwiebel JA, Cheson BD.** Chronic lymphocytic leukemia: Staging and prognostic factors. Semin Oncol 1998; 25: 42–59.
27. **Rai KR, Sawitsky A, Cronkite EP, et al.** Clinical staging of chronic lymphocytic leukemia. Blood 1975; 46: 219–234.
28. **Binet JL, Auquier A, Dighiero G, et al.** A new prognostic classification of chronic lymphocytic leukemia derived from a multivariate survival analysis. Cancer 1981; 48: 198–206.
29. **Vasconcelos Y, Davi F, Levy V, et al.** Binet's Staging System and VH genes are independent but complementary prognostic indicators in chronic lymphocytic leukemia. J Clin Oncol 2003; 21: 3928–3932.
30. **Oscier DG, Gardiner AC, Mould SJ, et al.** Multivariate analysis of prognostic factors in CLL: Clinical stage, IGVH gene mutational status, and loss or mutation of the p53 gene are independent prognostic factors Blood 2002; 100: 1177–1184.
31. **Jaksic B, Vitale B.** Total tumour mass score (TTM): a new parameter in chronic lymphocyte leukemia. Br J Haematol 1981; 49: 405–413.
32. **Montserrat E, Sanchez BJ, Vinolas N, et al.** Lymphocyte doubling time in chronic lymhocytic leukemia: analysis of its prognostic significance. Br J Haematol 1986; 62: 567–575.
33. **Desablens B, Garidi R, Lamour C.** Prognostic value of LDH and b2 microglobulin in B-CLL. Analysis of 275 patients. VII International Workshop on CLL1997; 81a.
34. **Keating M, Lerner S, Kantarjian H, Freireich E, O'Brien S.** The serum B2-microglobulin level is more powerful than stage in predicting response and survival in chronic lymphocytic leukemia (CLL). Blood 1995; 86: 606a.
35. **Hallek M, Wanders L, Ostwald M, et al.** Serum beta(2)-microglobulin and serum thymidine kinase are independent predictors of progression-free survival in chronic lymphocytic leukemia and immunocytoma. Leuk Lymphoma 1996; 22: 439–447.
36. **Hallek L, Langenmayer I, Nerl C, et al.** Elevated serum thymidine kinase levels identify a subgroup at high risk of disease progression in early non-smoldering chronic lymphocytic leukemia. Blood 1999; 93: 1732–1737.
37. **Magnac C, Porcher R, Davi F, et al.** Predictive value of serum thymidine kinase level for Ig-V mutational status in B-CLL. Leukemia 2003; 17: 133–137.
38. **Juliusson G, Oscier DG, Fitchett M, et al.** Prognostic subgroups in B-cell chronic lymphocytic leukemia defined by specific chromosomal abnormalitis. N Engl J Med 1990; 323: 720–724.
39. **Döhner H, Stilgenbauer S, Fischer K, et al.** Cytogenetic and molecular cytogenetic analysis of B-cell chronic lymphocytic leukemia: specific chromosome aberrations identify prognostic subgroups of patients and point to loci of candidate genes. Leukemia 1997; 11(Suppl. 2): S19–S24.
40. **Jarosova M, Jedlickova M, Holzerova M, et al.** Methods in molecular cytogenetics for determination of prognostically important chromosome changes in patients with chronic lymphatic leukemias. Čas Lek Česk 2000; 139: 564–9.
41. **Papajik T, Knotkova R, Jarosova M, et al.** Implication of new factors in the routine assessment of prognosis in chronic lymphocytic leukemia patients. Leuk Lymphoma 2001; 42(Suppl. 1): 17.
42. **Döhner H, Stilgenbauer S, Benner A, et al.** Genomic aberrations and survival in chronic lymphocytic leukaemia. N Engl J Med 2000; 343:1910–6.
43. **Thornton PD, Gruszka-Westwood AM, Hamoudi RA, et al.** Characterisation of TP53 abnormalities in chronic lymphocytic leukemia. Hematol J 2004; 5: 47–54.
44. **Döhner H, Fischer K, Bentz M, et al.** p53 gene deletion predict for poor survival and non-response to therapy with purine analogs in chronic B-cell leukemias. Blood 1995; 85: 1580–1589.
45. **Hamblin TJ, Davis Z, Gardiner A, et al.** Unmutated Ig V(H) genes are associated with a more aggressive form of chronic lymphocytic leukemia. Blood 1999; 94: 1848–1854.
46. **Tobin G, Thurnberg U, Johnson A, et al.** Somatically mutated Ig VH3-21 genes characterize a new subset of chronic lymphocytic leukemia. Blood 2002; 99: 2262–2264.
47. **Tobin G, Thurnberg U, Johnson A, et al.** Chronic lymphocytic leukemias utilizing the VH3-21 gene display highly restricted VL2-14 gene use and homologous CDR3s: implicating recognition of a common antigen epitope. Blood 2003; 101: 4952–4957.
48. **Dreger P, Stilgenbauer S, Benner A, et al.** The prognostic impact of autologous stem cell transplantation in patients with chronic lymphocytic leukemia: a risk-matched analysis based on the VH gene mutational status. Blood 2004; 103: 2850–2858.
49. **Wiestner A, Rosenwald A, Barry TS, et al.** ZAP-70 expression identifies a chronic lymphocytic leukemia subtype with unmutated immunoglobulin genes, inferior clinical outcome, and distinct gene expression profile. Blood 2003; 101: 4944–4951.
50. **Crespo M, Bosch F, Villamor N, et al.** ZAP-70 expression as surrogate for immunoglobulin-variable-region mutations in chronic lymphocytic leukemia. N Engl J Med 2003; 348: 1764–1775.
51. **Orchard JA, Ibbotson RE, Davis Z, et al.** Zap-70 evaluation by flow cytometry is a significant prognostic marker in B-CLL. Lancet 2004; 363: 105–111.

Podpořeno VZ MŠM 619 895 9205

MUDr. Tomáš Papajík, CSc.
Hemato-onkologická klinika LF UP a FN Olomouc
I.P.Pavlova 6
775 20 Olomouc
e-mail: tomas.papajik@fnol.cz

Došlo do redakce: 10. 1. 2006
Přijato: 6. 4. 2006