

Vlasatobunková leukémia – diagnostika, liečba a monoklonové protilátky

Greksák R.

Národný onkologický ústav, Oddelenie klinickej onkológie, Bratislava

Súhrn

Diagnostika a liečba vlasatobunkovej leukémie prekonala za posledných 25 rokov významný pokrok, ktorý sa prejavil v počte dosiahnutých odpovedí nielen na interferón- α (IFN- α), ale najmä po terapii purínovými analógmi 2-deoxykoformycínom a 2-chlórodeoxyadenozínom (2-dCF, 2-CdA). Stala sa u väčšiny pacientov dobre liečiteľnou s dlhodobým prežívaním bez príznakov choroby. U časti pacientov je leukémia rezistentná na štandardnú liečbu, alebo dochádza k relapsom po krátkej dobe remisie. Hľadajú sa nové liečebné modalítity, ktoré by dokázali zabezpečiť elimináciu vlasatých buniek aj v prípade relapsovanej a refraktérnej leukémie. Do pozornosti sa dostali monoklonové protilátky (rituximab), a rekombinantné imunotoxíny pozostávajúce z časti jedného reťazca imunoglobulínu s naviazaným pseudomonádovým toxínom (BL22, LMB-2). Mechanizmus účinku týchto liekov sa odlišuje od chemoterapie a IFN- α , a prináša efektívitu u predliečených pacientov. HCL v dnešnej dobe patrí medzi onkologické choroby s pomerne dobrou prognózou, a vďaka viacerým účinným terapeutickým možnostiam väčšina pacientov dosahuje dlhodobé prežívanie v remisii.

Kľúčové slová: imunotoxíny, interferón- α , monoklonové protilátky, purínové analógy, vlasatobunková leukémia

Summary

Greksák R.: Hairy cell leukemia – diagnostics, treatment and monoclonal antibodies

A significant progress was achieved in diagnostics and treatment of hairy cell leukemia (HCL) over in the past 25 years. It was accompanied by the achievement of important responses after treatment with interferon- α (IFN- α) but mainly with purine analogues 2-deoxycoformycine and 2-chlorodeoxyadenosine (2-DCF, 2-CdA). In most patients long-term survival without symptoms of disease may be achieved. There is a proportion of patients whose leukemia is resistant to standard treatment or relapse after a short period of remission. Search for new therapeutic modalities, that can ensure the elimination of hairy cells, is important for relapsed and refractory leukemia. Monoclonal antibodies (rituximab), and recombinant immunotoxins consisting of one chain of immunoglobulin bound with pseudomonas toxin (BL22, LMB-2), are in the centre of interest. The mechanism of action of these drugs is different from chemotherapy and IFN- α , and brings efficiency in pretreated patients. Presently, HCL is one of the oncological diseases with a relatively good prognosis with a majority of patients achieving long-term survival in remission thanks to available effective therapeutic options.

Key words: immunotoxins, interferon- α , monoclonal antibodies, purine analogs, hairy cell leukemia

Transfuzie Hematol. dnes, 16, 2010, No. 3, p. 158–165.

Úvod

Vlasatobunková leukémia (HCL), v minulosti známa ako leukemická retikuloendotelióza (*histiocytová leukémia, malígna retikulóza, lymfoidná myelofibróza*), je zriedkavá chronická, pomaly postupujúca lymfoproliferatívna choroba, ktorú prvýkrát ako samostatnú klinickopatologickú jednotku v roku 1958 definovala Bouronclová a kol. (1). Pre diagnózu je typická prítomnosť cirkulujúcich B-lymfocytov vyplavených z kostnej drene, a na ich povrchu svetelným i elektrónovým mikroskopom viditeľné nápadné výbežky cytoplazmy. Vlasaté B-lymfocyty vytvárajú charakteristický obraz infiltrácie kostnej drene a parenchýmu sleziny. Pre ich mikroskopický vzhľad vo fázovom kontraste sa v roku 1966 upustilo od pôvodného názvu leukemická retikuloendotelióza a nahradilo ho viac opisné pomenovanie vlasatobunková leukémia (HCL) (2).

Tento druh leukémie predstavuje približne 2 % z výskytu všetkých leukémií. Je prevažne chorobou mužov

stredného veku s mediánom 52 rokov v čase potvrdenia diagnózy. Existuje predomnancia výskytu u mužov oproti ženám v pomere 4 : 1. Dosaiaľ nebola zistená jednoznačná etiológia HCL. Predchádzajúca expozícia ionizujúceho žiarenia, drevnému prachu a organickým chemikáliám v pracovnom prostredí zvyšuje frekvenciu výskytu medzi niektorými súbormi pacientov oproti zdravej kontrolnej skupine (3, 4). Možný podiel na vzniku choroby sa predpokladá po opakovanom styku s benzénom, organickými fosforylovanými insekticídmi, alebo niektorými organickými rozpúšťadlami, avšak iné zdroje takúto súvislosť nepotvrdili. Uvažuje sa aj o asociácii medzi prekonanou infekčnou mononukleózou v minulosti.

Diagnostika a diferenciálna diagnostika

Vlasaté bunky (*hairy cells*) získali svoje pomenovanie podľa cytoplazmatických výbežkov, ktoré možno ako drobné vlásky, pseudopódie alebo mikrovili, pozorovať v krvnom nátere pomocou klasického mikroskopu, vo fázovom kontraste, alebo pod elektrónovým mikroskopom. I keď normálna funkcia a miesto pôsobenia bunky, z kto-

rej HCL vzniká nie sú presne známe, molekulovo-genetickými štúdiami sa potvrdil B-lymfocytový pôvod malígneho klonu. Existujú len raritné údaje, ktoré by potvrdzovali existenciu T-bunkovej varianty. HCL je odvodená od klonálnej expanzie buniek, ktoré vývojovo stoja medzi B-chronickou lymfocytovou leukémiou (CLL) alebo prolymfocytovou leukémiou (PLL) (variantná forma) na jednej strane, a bunkami plazmocytómu na strane druhej (5). Bunky sú zrelé, ale chýba im terminálna diferenciácia. Patria medzi mononukleárne elementy s excentricky alebo centrálnou uloženým jadrom. Jadierko býva nápadné pri variantnej forme a nie je typické pre klasickú HCL. Cytoplazma môže pri bežnom farbení pod svetelným mikroskopom zriedka obsahovať granule alebo hrubšie paličkovité inklúzie, ktoré sa zhodujú s ribozomálnym lamelárnym komplexom (6).

U väčšiny pacientov je prítomná pancytopenia, leukopénia je zvýraznená ťažkou monocytopeniou, preto medzi prvými diagnostickými testami nesmie chýbať vyšetrenie krvného obrazu a náteru periférnej krvi. Leukopénia je spojená s granulocytopeniou. Do 20 % prípadov prichádza s leukocytózou, kedy treba myslieť na variantnú formu. U viac ako 80 % býva trombocytopenia, často ťažkého stupňa. Zriedkavo sa pozoruje i kvalitatívna porucha agregácie trombocytov, ktorá sa môže upraviť efektívnou terapiou (7, 8, 9). Anémia, môže byť i ťažkého stupňa, obyčajne s normálnou hodnotou stredného objemu erytrocytov (MCV) a miernou anizocytózou a poikilocytózou. V 95 % sa podarí dokázať cirkulujúce vlasaté bunky v periférnej krvi.

V náteri z aspirátu kostnej drene chýbajú vložky pre retikulínovú fibrózu, tzv. *suchá punkcia*. Príležitostne sa však i pri „suchých punkciách“ môžu v chudobnom náteri zobraziť vlasaté bunky. Presnejšou metódou na diagnostiku je trepanobiopsia. Už pri malom zväčšení je obraz infiltrácie HCL charakteristický. V bioptickom materiáli bunky strácajú vlasatý povrch, prítomná je difúzna alebo fokálna infiltrácia jednotvárnymi bunkami s okrúhlymi, elipsovými alebo vretenovito stočenými jadrami, oddelenými od seba bohatým množstvom svetlej cytoplazmy v jemnej fibrilárnej sieti, ktorá oddeľuje jednotlivé bunky, a vytvára tak obraz podobný praženým vajciam tzv. *volským okám*. Cytoplazma je bledá a možno pozorovať jemnú sieť fibril oddeľujúcu každú z vlasatých buniek najmä pri farbení PAS (periodic acid-Schiff) a farbení na retikulín. Retikulínová fibróza je vždy evidentná a často veľmi nápadná. Je spôsobená extracelulárnou sekréciou fibronektínu. Infiltrácia v kostnej dreni môže vytvárať dilatované sínusy naplnené extravazálnymi erytrocytmi obdobne ako aj erytrocytárne jazierka a sínusy viditeľné na preparátoch zo sleziny. Infiltráty kostnej drene sa môžu šíriť a prerastať z medulárnej dutiny do povrchovej kortikálie a spôsobiť kortikálne osteolytické lézie. Difúzny typ infiltrácie kostnej drene s minimálnou alebo úplne chýbajúcou reziduálnou krvotvorbou je spojený s nepriaznivým priebehom ochorenia, v porovnaní s intersticiálnym postihnutím a perzistujúcou krvotvorbou ($p < 0,01$) (10).

Slezina je zväčšená s mediánom hmotnosti 1,300 g (11). Vlasaté bunky osídľujú červenú pulpu sleziny a biela pulpa časom atrofuje a zaniká. Včasné postihnutie sa vyznačuje fokálnou infiltráciou trabekúl a subendoteliálnymi infiltrátmi trabekulárných venúl. Charakteristickým nálezom sú erytrocytárne „červené“ jazierka, ktoré predstavujú červenými krvinkami naplnené priestory lemované vlasatými bunkami, ktoré narušili normálnu architektúru sínusov sleziny. Vo výnimočných prípadoch môže HCL postihovať iba slezinu. Infiltrácia pečene môže byť obojaká a to v oblastiach sínusov i v portálnych častiach. Postihnutie lymfatických uzlín je nápadné sínusoidálnou a intersticiálnou infiltráciou. Pre potvrdenie morfológických nálezov je dôležité cytochemické alebo imunocytochemické vyšetrenie. HCL prejavuje silnú cytoplazmatickú pozitivitu pri farbení na tartarát-rezistentnú kyslú fosfatázu (TRAP). Izoenzým 5 kyslej fosfatázy je na rozdiel od ostatných izoenzymov rezistentný na L-tartarát (kyselinu vínnu) (12).

Pri identifikácii vlasatých buniek pomôže i elektrónová mikroskopia, ktorá zobrazí cytoplazmatické vláskovité výbežky lemujúce celý povrch buniek, ako jemné brázdy alebo chĺpky. Ribozomálny lamelárny komplex vytvára membránovú štruktúru zloženú z koncentrických prstencov lamiel spojených ribozómami. Môže byť rozpoznateľný u približne polovice pacientov.

Vlasaté bunky majú na svojom povrchu fenotyp zrelého B-lymfocyту s expresiou jedného alebo početných ťažkých reťazcov imunoglobulínu s monotypickými ľahkými reťazcami. Prítomné sú receptory pre Fc fragment imunoglobulínov IgG a IgM, ale chýbajú väzbové miesta pre zložky komplementu. Na povrchu sa nachádzajú pan-B-lymfocytové antigény CD19, CD20 a CD22. Neprítomný je antigén CD21, ktorý sa stráca v neskoršom štádiu B-bunkovej ontogenézy. Zvyčajne tiež obsahujú i včasný antigén plazmatických buniek PCA-1. Diagnostický profil je najlepšie definovaný s použitím kombinácie pan-B-bunkových protilátok naväzovaných na antigény CD11c (LeuM5), CD25 a CD103 (Bly-7). Monoklonová protilátka Bly-7 vykazuje vysokú senzitivitu a špecifickosť. Viaže sa na antigén CD103, ktorý je asociovaný s podjednotkou α integrínovej molekuly B7, ktorá je zodpovedná za tzv. *homing* a adhéziu lymfocytov (13). HCL bola prvou B-bunkovou lymfoproliferatívnou chorobou, u ktorej sa rozpoznala expresia receptora pre interleukín-2 (IL-2), ktorým je antigén CD25. Hodnoty sérovej hladiny solubilného IL-2 receptora (IL-2R) sú vysoké u pacientov postihnutých HCL a výška hladiny koreluje s aktivitou choroby (14, 15). Použitím panelu piatich monoklonových protilátok, pomocou ktorých stanovujeme pri chronickej lymfocytovej leukémii tzv. CLL-skóre (16), získame pri HCL nízke skóre (0-1), kým pri CLL je skóre 4-5 (tab. 1.). Obdobne určujeme tzv. HCL-skóre. Panel pre vlasaté bunky pozostáva z protilátok voči antigénom CD11c, CD25, CD103 a HC2 (17). Pokiaľ sa dosiahne pozitivita u 3 alebo 4 znakov, je možné odlíšiť HCL (skóre 3-4) od ostatných B-bunkových lymfoproliferácií (skóre 0-1) (tab. 2).

Tab. 1. Skórovací systém pre CLL.

CLL-skóre	1 bod	0 bodov
CD5	+	-
CD23	+	-
SmIg	±	-
CD22Q	±	+
CD79B	±	+
FMC7	-	+

CLL: skóre často 4–5, zriedka 3

HCL, HCL-V: skóre často 1–3

B-NHL: skóre často 0–2

Tab. 2. Skórovací systém pre HCL.

HCL-skóre	1 bod	0 bodov
CD11c	+	-
CD25	+	-
CD103	+	-
HC2	+	-

HCL: skóre 3–4 (98 %); 4 (86 %)

HCL-V: skóre 3 (13 %); 4 (0 %); 1–2 (87 %)

SLVL: skóre 3–4 (0 %); 0–1 (96 %)

Pri imunohistochemickom vyšetrení trepanobiopsie sa vlasaté bunky farbja použitím protilátok viazaných antigénom CD20 (L26) a DBA.44. Pomocou L26 sa zobrazí povrchová membrána a zvýrazní sa strapatá bohatá cytoplazma. DBA.44 je bližšie nedefinovaný antigén. Jeho farbením sa identifikuje subpopulácia vlasatých buniek a ich granulárna cytoplazmatická, ako aj membránová štruktúra. DBA.44 je pozitívny aj u 30 % lymfómov nízkeho stupňa malignity. Kvalitná trepanobiopsická vzorka je nevyhnutná nielen pre stanovenie diagnózy, ale aj pre monitorovanie odpovede na terapiu. Detekcia a kvantifikácia minimálnej reziduálnej choroby (MRD) je pomocou hematoxylín-eozínového farbenia všeobecne nedostatočná a ťažko interpretovateľná. Preto sa na jej stanovenie využívajú imunocytochemické metódy s použitím aspoň jednej monoklonovej protilátky voči CD20, DBA.44 alebo TRAP. Intenzívna pozitivita farbených buniek v súlade s morfológickými charakteristikami, ktoré týmto vyniknú, sa považuje s vysokou istotou za dôkaz reziduálnej choroby.

Diagnózu HCL je možné stanoviť aj histologickým vyšetrením sleziny. V slezine sa dokáže infiltrácia červenej pulpy s tvorbou erytrocytárnych „červených“ jazierok s rozšírením sínusov a atrofiou bielej pulpy. Tento charakteristický obraz nie je možné nájsť u žiadnej inej B-lymfoproliferatívnej diagnózy, kde typicky dominuje postihnutie bielej pulpy.

Z cytogenetických nálezov viaceré zdroje poukazujú na nešpecifické neklonálne, alebo oligoklonálne abnormality, niektoré na klonálne poruchy zahrňujúce translokáciu 14q32 miesto pre IgH lokus, prestavbu 14q22-24 a boli zistené aj zmeny na chromozómoch 11 a 12. V jednej štúdií zaznamenali 40 % incidenciu zmien na 5 chromozóme. Prítomný je zvýšený prepis génu annexin-A1 (ANXA1) a jeho produkt ANXA1-proteín. Zvýšená expresia ANXA1 je špecifická pre HCL (18). Pomocou tes-

tu na ANXA1 je možné odlíšiť lymfoproliferatívne choroby ako sú splenický lymfóm z vilózných lymfocytov (SLVL), variantná HCL (HCL-V), prolymfocytová leukémia (PLL), lymfóm z marginálnej zóny (MZL) a lymfoplazmocytoidný lymfóm (LPL) (19).

Variantná forma (HCL-V) máva oproti klasickej forme zložitejší nález v karyotype. Okrem translokácie t(14;18)(q32;q21) charakteristickej pre folikulový lymfóm, sa pozorovala aj translokácia t(2;8)(p12;q24) vyskytujúca sa pri variantnej forme Burkittovho lymfómu. Pri variantnej HCL sa s vysokou incidenciou vyskytuje delecia p53 tumor supresorového génu, lokalizovaného na chromozóme 17p13. Medzi oboma formami existuje signifikantný rozdiel výskytu delécie tejto alely ($p < 0,01$) v prospech variantnej leukémie, čo koreluje s tendenciou k transformácii do blastickéj formy a nedostatočnej odpovedi na terapiu (20).

Variantná forma

Variantná forma HCL (HCL-V) predstavuje hybridnú klinickú jednotku medzi prolymfocytovou leukémiou a klasickou HCL, pričom jadro je podobné jadru prolymfocytu a cytoplazma je obdobná ako u typických vlasatých buniek. Reprezentuje približne 20 % prípadov HCL. Odlíšenie tejto variantnej formy je dôležité z dôvodu všeobecnej rezistencie na terapiu IFN- α a zriedkavé dosiahnutie kompletnej remisie (KR) po liečbe purínovými analógmi.

U pacientov s variantnou formou býva masívna splenomegália a výrazná leukocytóza s hodnotami leukocytov 40 až 60 x 10⁹/l. Bunky variantnej formy sú TRAP negatívne alebo len slabo pozitívne. Pri imunofenotypickej analýze je obvyčajne znak CD25 a HC2 negatívny, CD103 (Bly-7) je v nízkej miere niekedy exprimovaný, CD11c je takmer vždy pozitívny, prítomná je i expresia IgG ťažkých reťazcov na povrchu buniek (17) (tab. 3.). Rozlíšenie oboch foriem je založené na odlišnej štruktúre jadra, ktoré je okrúhle a centrálné uložené, so zreteľným jadričkom, prítomnosti leukocytózy a chýbaní monocytopenie. Nález v biopsii kostnej drene a slezine je rovnaký ako pri klasickej HCL (tab. 4.). Pre nízky stupeň retikulárnej fibrózy je kostná dreň ľahko aspirovateľná. HCL-skóre vychádza pre väčšinu variantných foriem na 1-2, pri klasickej forme je 3–4 (tab. 2.) (17). Pre variantnú formu neexistuje dosiaľ adekvátna liečebná stratégia. Len zriedkavo sa docieli KR, a to zvyčajne po 3 až 4 cykloch liečby 2-CdA. Zatiaľ sa nedokázala lepšia efektivita a dosiahnutie dlhodobej KR iným liekom ako 2-CdA (21). U pacientov s veľkou splenomegáliou je možné ako paliatívnu liečbu zvoliť splenektómiu, ktorá môže byť klinicky prínosná.

Klinický obraz

V klinickom obraze sa zvyčajne manifestujú príznaky súvisiace s hematologickými abnormalitami vyplývajúcimi z podstaty choroby. Cirkulujúce vlasaté bunky sa v periférnej krvi identifikujú u 95 %, pancytopenia je prítomná u 70 %, splenomegália u 60–70 % (90 % u pokročí-

Tab. 3. Imunofenotypové a morfológické rozdiely medzi HCL a HCL-V.

	HCL	HCL-V
Jadierko	-	+
Jadrový chromatín	retikulárny	kondenzovaný, hrubý
TRAP	+++	±
HC2	++	±
CD25	++	±
CD11c	+++	++
CD103	+++	±
CD20	++	++
CD19	++	++
SmIg	+++	++
CD22	++	++

lych štádií), hepatomegália u 40–50 % a abdominálna lymfadenopatia u 15–20 % chorých. Približne 25 % pacientov má zvýšenú únavnosť, malátnosť, celkovú slabosť, často v spojitosti s prebiehajúcou infekciou, nálezom splenomegálie, alebo abnormálnym počtom krviniek v krvnom obraze. Pri progresii a pretrvávaní leukémie narastá i počet krvácajúcich a infekčných komplikácií. Menej ako 10 % pacientov má periférne lymfatické uzliny väčšie ako 2 cm. Počítačovou tomografiou (CT) je možné pri vstupnom vyšetrení zobrazit' mediastinálnu alebo retroperitoneálnu lymfadenopatiu až u jednej tretiny prípadov. Klasická HCL je charakteristická výskytom leukopénie, do 20 % pacientov prichádza s leukocytózou a niekedy sa v periférnom nátere vlasaté bunky nepodarí nájsť pod mikroskopom.

Pacienti sú náchylní na bakteriálne infekcie, mykotické, aj atypické mykobakteriálne zápaly. Výskyt infekcií nekoreluje s predchádzajúcou splenektómiou alebo systémovou terapiou, ale je závislý od stupňa neutropénie a monocytopénie (22). Prítomná je porucha T-bunkovej imunity, ťažká monocytopénia, neutropénia a pokles antigén-prezentujúcich dendritických buniek.

HCL býva niekedy asociovaná s imunologickými poruchami prebiehajúcimi pod obrazom leukocytoklastickej vaskulitídy alebo polyarthritis nodosa, ktoré sa manifestujú už vo včasnom štádiu leukémie horúčkou, artralgiami, nodóznym erytémom, kožným nálezom a periférnou neuropatiou. Z autoimunitných porúch (15 % chorých) možno pozorovať i temporálnu arteritídu, kryoglobulinémiu,

glomerulonefritídu, autoimúnnu hemolytickú anémiu, imúnnu trombocytopéniu, reumatoidnú artritídu, tyroiditídu, pernicióznou anémiu, ulceratívnu kolitídu, antikardiolipínový syndróm a výskyt protilátky voči faktoru VIII (22). Raritne sa nájdu kožné manifestácie v podobe nodulov, plakov alebo makulopapulárneho exantému. Častejšie sa pozorujú infekcie kože vrátane fascitídy, celulitídy a pustulózných lézií spôsobených pyogénnymi baktériami, mykotické lézie, ale aj prejavy vaskulitídy, Sweetovho syndrómu a pyoderma gangrenosum. V súvislosti s HCL sa našli i autoimunitné prípady výskytu sklerodermie, polymyozitídy, sarkoidózy, vitiliga a Lambert-Eatonovho myastenického syndrómu. Postihnutie skeletu patrí medzi menej frekvencované komplikácie. Manifestuje sa ako difúzna osteoporóza, alebo častejšie ako lytické lézie axiálneho skeletu, najmä proximálneho femuru.

Liečba

Pacienti s HCL vyžadujú liečbu za účelom korekcie cytopénie a úpravy klinických ťažkostí v súvislosti s anemickým syndrómom, opakovanými infekciami a krvácaním. U niektorých asymptomatických prípadov, pri menej závažnej cytopénii, s miernou splenomegáliou, je možné zaujať stratégiu „watch-and-wait“, kedy sa pacient pozoruje a terapia sa zaháji až pri progresii choroby. Odklad liečby v tomto prípade nezhoršuje jej výsledky ani dobu prežívania. Hematologické kritériá pre začatie liečby zahŕňajú signifikantnú anémiu vyjadrenú prinajmenšom stredným stupňom hladiny hemoglobínu ($Hg < 80-100 \text{ g/l}$), trombocytopéniu ($Tr < 50-100 \times 10^9/l$), alebo neutropéniu ($Neu < 0,5-1,0 \times 10^9/l$). Na zahájenie terapie má vplyv okrem počtu krvných elementov aj evidentná tendencia ich poklesu v časovom slede. Medzi menej časté indikácie k liečbe patrí leukocytóza v periférnej krvi s vysokým zastúpením vlasatých lymfocytov, opakujúce sa infekcie, symptomatická splenomegália, masívna tzv. bulky alebo bolestivá lymfadenopatia (23), B-symptómy (zvýšená telesná teplota, nočné potenie, strata na hmotnosti o 10 % za obdobie posledných 6 mesiacov), autoimúnnne poruchy vrátane vaskulitídy a osteolytické postihnutie skeletu.

Splenektómia bola v minulosti jediná štandardná liečebná modalita, a to pred rokom 1980, pred érou IFN- α

Tab. 4. Niektoré charakteristické laboratórne a patologické nálezy v diferenciálnej diagnostike.

	HCL	HCL-V	SLVL	MZL/MBL
Morfológia jadra	elipsovité, obličkovité	okružle	okružle	nepriavidelné
Morfológia chromatinu	jemný, retikulárny, ± nukleolus	hrubý, centrálny nukleolus	hrubý, ± nukleolus	hrubý
Morfológia cytoplazmy	modrošedá, bohatá	modrošedá, bohatá	bazofilná, úzka	bledá, bohatá
Cytoplazmatické výbežky	po celom obvode	po celom obvode	len na póloch	nie
Monocytopénia	+	-	-	-
TRAP farbenie	+++	±	±	±
Aspirácia KD	- (suchá punkcia)	+	+	+
Postihnutie sleziny	červená pulpa	červená pulpa	biela pulpa	biela pulpa
CD22	++	++	++	++
CD11c	+++	++	+	±
CD25	++	±	±	±
CD103 (Bly-7)	+++	±	-	-

Tab. 5. Liečebné schémy.

2-chlórodeoxyadenozín (kladribín, 2-CdA)			
0,14 mg/kg/deň	i.v. v 500 ml FR	i.v. tečie 2 h	deň: 1, 2, 3, 4, 5
0,14 mg/kg/deň	s.c.	s.c. bolus	deň: 1, 2, 3, 4, 5
0,09 mg/kg/deň	i.v. kontinuálne	i.v. tečie 24 h	deň: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7
0,14 mg/kg/deň	i.v. v 500 ml FR	i.v. tečie 2 h	deň: 1, 8, 15, 22, 29
2-deoxykoformycín (pentostatín, 2-dCF)			
4 mg/m ² /deň	i.v.	i.v. tečie 6 min.	každých 14 dní do max odpovede + 2 (6-12x)
Interferón- α (IFN- α)			
3 x 10 ⁶ jednotiek/deň	s.c.	s.c. bolus	3x v týždni 12–18 mesiacov

a purínových analógov. Po splenektómii dochádza takmer u všetkých pacientov k určitej korekcii cytopénie (11). Úplná normalizácia hematologických parametrov je možná u približne 40 % a 5-ročné prežívanie dosahuje okolo 75 % chorých. Vzhľadom na možnosť použiť efektívne systémové lieky a fakt, že 50 % pacientov po splenektómii vyžaduje systémovú liečbu v priebehu doby s mediánom 8,3 mesiaca (24) sa splenektómia ako primárna liečba uplatňuje len v ojedinelých prípadoch. Vybratím sleziny nie je možné dosiahnuť patologickú remisiu v kostnej dreni a po čase dochádza k progresii choroby.

IFN- α predstavuje historicky prvú systémovú liečbu, ktorá dokáže parciálne eradikovať vlasaté bunky z kostnej drene. Prvá správa o úspešnom použití čiastočne purifikovaného humánneho leukocytárneho IFN- α v tejto indikácii bola publikovaná v roku 1984 (25). Celkový počet odpovedí na terapiu IFN- α je 80–90 %, väčšinu tvoria parciálne remisie (PR), kompletné remisie (KR) predstavujú 5–30 %. Celkové prežívanie v 5 roku po liečbe presahuje 85 % (26, 27) a typ odpovede, či sa jedná o PR alebo KR, neovplyvňuje percento prežívania (28). U väčšiny sa relaps vyskytne po priemernom intervale 18–25 mesiacov od ukončenia podávania IFN- α . Malé percento pacientov s nízkym stupňom infiltračie kostnej drene môže dlhodobo prežívať bez príznakov choroby (29). Aj keď je IFN- α pri HCL účinným liekom, jeho potenciál nie je kuratívny a v prvej línii liečby je nahradený podávaním purínových analógov. IFN- α stráca na význame i pre nutnosť niekoľkomesačnej parenterálnej aplikácie a nepriaznivé spektrum nežiadúcich účinkov.

2-deoxykoformycín (pentostatín, 2-dCF) bol prvým purínovým analógom, ktorý sa použil v klinickej praxi. Úspešné použitie 2-dCF v dávke 5 mg/m² u pacienta s diagnózou HCL bolo prvýkrát publikované v roku 1984 (30). Od toho roku prebehlo viacero štúdií s použitím 2-dCF v rôznych režimoch a dávkach. Počet celkových odpovedí na 2-dCF predstavuje 83–100 %, z toho KR 42–89 %. Odporúčaná dávka je 4 mg/m² intravenózne každých 14 dní do maximálnej odpovede na liečbu (tab. 5). Počet podaní odporúčaných na dosiahnutie dostatočného efektu varíruje medzi 1–29, s priemerným počtom 8 cyklov terapie. Relapsy možno pozorovať u 10–48 % s mediánom 29–71 mesiacov po ukončení aplikácie 2-dCF (31, 32). Použitie 2-dCF je efektívne a dosahuje dostatočné odpovede aj u pacientov, ktorých choroba je rezistentná

na IFN- α , alebo u ktorých nastal relaps po absolvovanej terapii IFN- α v minulosti (33). Pacienti, ktorí sú rezistentní alebo netolerujú 2-dCF môžu odpovedať na následne podávaný 2-CdA (z 5 prípadov 4 KR, 1 PR) (34).

Poznatok o efektivite 2-chlórodeoxyadenozínu (kladribín, 2-CdA) pri liečbe HCL pochádza z roku 1990 (35). Na základe predklinických testov sa zistilo, že na maximálnu eradikáciu vlasatých buniek je dôležitá prolongovaná expozícia lymfocytov voči 2-CdA. Z dosiahnutých pozorovaní vzniklo odporúčanie na aplikáciu 2-CdA formou kontinuálnej intravenózne infúzie. Celkových odpovedí sa dosahuje v rozpätí 87–100 %, z toho KR 75–91 %. Dosiahnuté remisie sú dlhotrvajúce a výskyt relapsov sa udáva u 12–29 % pri mediáne doby sledovania pacientov v rozsahu 45–72 mesiacov (31, 36, 37). U 27 % pacientov s relapsom, ktorí dosiahli po iniciálnej liečbe 2-CdA kompletnú remisiu, medián prežívania do progresie predstavoval 37,4 mesiacov (38). Najčastejšie používaným režimom 2-CdA bola forma kontinuálnej 24-hodinovej intravenózne infúzie v dávke 0,09–0,1 mg/kg/deň, 7 dní za sebou. V posledných rokoch sa dokázala identická efektivita aj u schém líšiacich sa dávkou, dĺžkou a formou podávania 2-CdA (tab. 5.). Denná dvojhodinová intravenózna infúzia 5 dní za sebou v dávke 0,14 mg/kg/deň je rovnako účinná ako kontinuálna 7-dňová infúzna schéma, s celkovým počtom odpovedí u 96 %, z toho KR 77 %. Subkutánna aplikácia 2-CdA má obdobnú biologickú dostupnosť a polčas eliminácie (AUC) ako intravenózna infúzia a zdá sa byť rovnako efektívna. Po subkutánnom podaní sa nepozorovali lokálne reakcie a ani celková toxicita nie je výraznejšia (39). 2-CdA je dobre tolerovaný liek s minimálnym výskytom nežiadúcich účinkov. Febrility sa dostavia u 40 % pacientov, identifikácia infekčného agens je však zriedkavá. Febrility koincidujú s apoptózou a vymiznutím vlasatých buniek a vznikajú dôsledkom uvoľnenia bunkových cytokínov. Pátranie po infekčnom agens však nie je v čase leukopénie zanedbaniahodné. Väčšina pacientov dosiahne kompletnú patologickú remisiu do 3 mesiacov, proťahovaná odpoveď na liečbu však môže pokračovať až do 6 mesiacov. Pacienti s relapsom odpovedajú aj na ďalšiu terapiu 2-CdA (40), avšak trvanie odpovede býva s každým nasledujúcim relapsom progresívne kratšie.

Liečba purínovými analógmi významne zlepšila prežívanie pacientov s HCL. Prítomnosť MRD u tých, ktorí

dosiahli KR po liečbe IFN- α alebo purínovými analógmi, sa vyšetruje viacerými metódami so snahou identifikovať relevantnosť nálezu vo vzťahu k dĺžke trvania remisie a následnému priebehu choroby (41). V závislosti od použitej techniky je možné MRD v rôznej miere detegovať v kostnej dreni takmer u všetkých pacientov, u ktorých predpokladáme KR. PCR (polymerase chain reaction) vyšetrením je možné stanoviť infiltráciu vlasatými bunkami na úrovni 0,001 až 0,1 %. Prietoková cytometria dokáže odhaliť monoklonové B-bunky v rozsahu 0,01 až 0,05 %. V niektorých štúdiách sa použitie prietokovej cytometrie ukázalo ako vhodná alternatíva za účelom stanovenia MRD oproti IHC metóde (CD20+, DBA.44+, TRAP+). Prietoková cytometria vie rozpoznať reziduálne vlasaté bunky s vysokou špecifitou, negatívny nález v periférnej krvi nevyklučuje prítomnosť MRD v kostnej dreni (42). Existuje súvislosť medzi prítomnosťou MRD a zvýšeným rizikom včasného relapsu u pacientov s KR po liečbe 2-dCF alebo 2-CdA. Stanovené štvorročné bezrelapsové prežívanie v skupine pacientov s MRD bolo 55 %, u pacientov MRD-negatívnych až 80 % (43). Pretrvávajúca prítomnosť MRD by tak vysvetľovala zvýšený výskyt relapsov do 5 rokov od ukončenia primárnej liečby, ďalšie relapsy sa pozorujú pri dlhodobom sledovaní pacientov.

Monoklonové protilátky

V dobe úspešného používania monoklonových protilátok pri liečbe lymfoproliferatívnych malignít (non-Hodgkinov lymfóm, CLL) predstavuje HCL ďalšiu z rady diagnóz, kde aplikácia cielených monoklonových protilátok a imunotoxínov môže pomôcť zvládnuť chorobu v prípadoch rezistencie na štandardnú liečbu, pri prepuknutí relapsu, alebo pri eliminácii MRD (44). Pri HCL sa stretávame s podstatne väčšou denzitou CD20 antigénu na povrchu buniek v porovnaní s CLL (45). Rituximab (anti-CD20, Rituxan, Mabthera) sa preto stal potenciálnym liekom aj pre liečbu HCL. Viaceré správy tento predpoklad o účinnosti rituximabu potvrdili (46, 47, 48). Optimálna schéma podávania zatiaľ nebola definovaná. Dostatočná by mala byť dávka 375 mg/m² raz za týždeň, ale počet podaní sa v jednotlivých štúdiách líši od 4 po 8 cyklov. Zdá sa, že po 8 cykloch je väčší počet liečebných odpovedí než možno dosiahnuť 4 aplikáciami rituximabu (49). I po ukončení podávania je možné s odstupom pozorovať pokračujúcu liečebnú odpoveď potvrdenú vyšetrením kostnej drene a to i na molekulovej úrovni (50). U predliečených pacientov s relapsovanou alebo refraktérnou HCL sa v štúdiách pozorovalo po monoterapii rituximabom 25–80 % celkových liečebných odpovedí, z toho 10–55 % KR. Percento dosiahnutých odpovedí závisí od intenzity predliečenosti pacienta (49). Terapiu rituximabom je možné použiť u pacientov s relapsom alebo chorobou progresujúcou na purínových analógoch a IFN- α . Aj pri HCL ide o efektívny a dobre tolerovaný liek s nízkym spektrom nežiaducich účinkov. Za účelom stanovenia účinnosti v 1. línii, pri eliminácii MRD, a v kombinácii s purínovými analógmi, sú nutné výsledky ďalších štúdií (51).

Vychádzajúc z údajov literatúry o použití monoklonovej protilátky anti-CD52 (alemtuzumab, Campath-1H, Mabcampath) pri CLL, sa hľadá možnosť uplatniť tento liek i u pacientov s refraktérnou HCL (52). Prietokovou cytometriou sa podarilo pri klasickej i variantnej forme (HCL-V) stanoviť antigén CD52 na povrchu 92–100 % malígnych buniek všetkých vyšetovaných pacientov (53). Pri CLL sa lepšia účinnosť alemtuzumabu pozorovala v infiltrovanej kostnej dreni a periférnej krvi oproti vplyvu na masívnu „bulky“ lymfadenopatiu. Rápidny pokles malígnych lymfocytov v periférnej krvi sa dosiahol u 97 %, vymiznutie lymfadenopatie len u 7 % pacientov (54). Táto skúsenosť by predurčovala použitie alemtuzumabu aj pri HCL. Otázny zostáva vplyv na vyskytujúcu sa splenomegáliu. Doteraz neexistujú výsledky štúdií, ktoré by odhalili rozsah odpovedí na túto monoklonovú protilátku pri HCL. Je možné sledovať raritné správy vo forme kazuistik kedy sa alemtuzumab ako experimentálny liek použil po zlyhaní viacľíniovej chemoterapie, IFN- α a rituximabu (52).

Imunotoxíny

Z experimentálnych rekombinantných imunotoxínov, zložených z variabilnej domény monoklonovej protilátky (anti-CD22, anti-CD25) naviazanej na exotoxín-A baktérie *Pseudomonas*, získali pozornosť v štúdiách fázy I imunotoxín BL22 a LMB-2. HCL je senzitívna na BL22 (anti-CD22) vzhľadom na vysokú expresiu antigénu na povrchu buniek (5000–70 000 na 1 bunku) oproti ostatným lymfoproliferatívnym diagnózam (CLL 350–1000 na 1 bunku) (55). Rekombinantný imunotoxín BL22 preukázal sľubné výsledky u ťažko predliečených pacientov. V štúdiu fázy I priniesol u 80 % pacientov liečebnú odpoveď (61 % KR, 19 % PR) (56). Jeho efektívnosť vyplýva z odlišného mechanizmu účinku oproti purínovým analógom cestou internalizácie exotoxínu endocytózou do vnútra CD22-pozitívnej bunky. Tu je molekula rozštiepená oddelením exotoxínového fragmentu, ktorý v cytoplazme katalyzuje ADP-ribozyláciu elongačného faktora 2 (ADP-r-EF2) a zapríčiňuje apoptózu leukemickej bunky (57). Na povrchu chemorezistentných vlasatých buniek pretrvávajú vysoká pozitivita CD22 antigénu, čo vysvetľuje účinnosť aj u pacientov s variantnou formou, ktorá býva rezistentná na chemoterapiu, avšak intenzívne exprimuje CD22 (58). Indikácia LMB-2 je obdobná ako pri imunotoxíne BL22 u refraktérnych foriem HCL. V prípade parciálnych remisí sa pozorovala 98–99,8 % redukcia počtu vlasatých buniek v periférnej krvi. Klinická účinnosť sa u väčšiny prípadov prejavila do 1 týždňa. Odpovede na liečbu boli trvalejšieho charakteru, u pacienta v KR táto pretrvávala viac ako 20 mesiacov, u niekoľkých ďalších odpovedí (PR) sa ich trvanie pohybovalo nad 6 mesiacov. U pacientov s refraktérnou HCL sa napriek predliečeniu a chýbaniu účinnosti predchádzajúcich terapeutických postupov dostavila efektívnosť i keď profil nežiaducich účinkov oboch imunotoxínov je výrazne širší oproti rituximabu (59). Tieto monoklonové protilátky sú schopné doručiť toxín s cytotoxickým účinkom do vnú-

tra bunky a zabezpečiť tak selektívnu deštrukciu malígnych buniek s minimálnym ovplyvnením zdravých buniek a tkanív. Naviac oproti klasickým monoklonovým protilátkam imunotoxíny nevyžadujú pre uplatnenie svojho účinku spoluúčasť pacientovho imunitného systému, ktorý je u ťažko predliečených pacientov oslabený. Pravdepodobne aj tento fakt môže byť vysvetlením, prečo imunotoxíny (BL22, LMB-2) dokážu navodiť odpoveď, či prinajmenšom klinické zlepšenie aj tam, kde zlyhala liečba klasickými monoklonovými protilátkami a chemoterapiou.

Záver

Od 80. rokov minulého storočia pokroky v oblasti diagnostiky a liečby HCL významne zlepšili prognózu pacientov trpiacich na túto chorobu. Klinický obraz so splenomegáliou, nález cytopénie v periférnej krvi, infiltrácia kostnej drene, charakteristické morfológické znaky spolu s typickým profilom CD antigénov na povrchu buniek dokážu pomerne rýchlo a jednoducho potvrdiť túto diagnózu. Liečba purínovými analógmi a IFN- α u väčšiny pacientov prináša dlhotrvajúce remisie a tak sa z nevyliciteľnej a fatálnej choroby stala diagnóza s pomerne dobrou prognózou a dlhým prežívaním chorých. Nové metódy liečby sú stále predmetom výskumu za účelom zlepšenia prognózy u tých pacientov, ktorých HCL je rezistentná na terapiu alebo trpia jej včasným relapsom. Prebiehajúce klinické štúdie zaoberajúce sa monoklonovými protilátkami a rekombinantnými imunotoxínmi by mali ozrejmiť význam a postavenie týchto liekov. HCL tak predstavuje onkologickú chorobu, ktorá napriek stále nepresne známej biológii, patogenéze a etiológii, môže byť úspešne kontrolovaná a liečená pri použití adekvátnych liečebných postupov.

Literatúra

1. Bouroncle BA, Wiseman BK, Doan CA. Leukemic reticuloendotheliosis. *Blood* 1958; 13: 609-630.
2. Schrek R, Donnelly WJ. Hairy cells in blood in lymphoreticular neoplastic disease and flagellated cells of normal lymph nodes. *Blood* 1966; 27: 199-211.
3. Oleske D, Golomb HM, Farber MD, Levy PS. A case-control inquiry into the etiology of hairy cell leukemia. *Am J Epidemiol* 1985; 121: 675-683.
4. Stewart DJ, Keating MJ. Radiation exposure as a possible etiologic factor in hairy cell leukemia. *Cancer* 1980; 46: 1577-1580.
5. Foroni L, Catovsky D, Luzzato L. Immunoglobulin gene rearrangements in hairy cell leukemia and other chronic B-cell lymphoproliferative disorders. *Leukemia* 1987; 4: 389-392.
6. Katayama I. Bone marrow in hairy cell leukemia. *Hematol Oncol Clin North Am* 1988; 2: 585-602.
7. Levine PH, Katayama I. The platelet in leukemic reticuloendotheliosis. Functional and morphological evidence of a qualitative disorder. *Cancer* 1975; 36: 1353-1358.
8. Rosove MH, Naeim F, Harwig S, Sigelboim J. Severe platelet dysfunction in hairy cell leukemia with improvement after splenectomy. *Blood* 1980; 55: 903-906.
9. Depuy E, Sigaux F, Brychaert MC, et al. Platelet acquired defect in PDGF and β -thromboglobulin content in hairy cell leukemia:

improvement after interferon therapy. *Brit J Haematol* 1987; 65: 107-110.

10. Podzimek K, Kerekeš Z, Chrobák L, et al. The value of bone marrow biopsy in the prognosis of hairy cell leukemia. *Neoplasma* 1994; 41: 325-330.
11. Golomb HM, Vardiman JW. Response to splenectomy in 65 patients with hairy cell leukemia: an evaluation of spleen weight and bone marrow involvement. *Blood* 1982; 61: 349-352.
12. Li CY, Yam LT, Lam KW. Studies of acid phosphatase isoenzymes in human leukocytes: demonstration of isoenzyme specificity. *J Histochem Cytochem* 1970; 18: 901-910.
13. Micklem KJ, Dong Y, Willis A, et al. HML-1 antigen on mucosa-associated T cells, activated cells, and hairy leukemic cells is a new integrin containing the $\beta 7$ subunit. *Am J Pathol* 1991; 139: 1297-1301.
14. Steis RG, Marcon L, Clark J, et al. Serum soluble IL-2 receptor as a tumor marker in patients with hairy cell leukemia. *Blood* 1988; 71: 1304-1309.
15. Chrobák L, Podzimek K, Plišková L, et al. Serum soluble IL-2 receptor as a reliable and noninvasive marker of disease activity in patients with hairy cell leukemia. *Neoplasma* 1996; 43: 321-325.
16. Moreau EJ, Matutes E, A'Hern RP, et al. Improvement of the chronic lymphocytic leukemia scoring system with the monoclonal antibody SN8 (CD79b). *Am J Clin Pathol* 1997; 108: 378-382.
17. Matutes E, Morilla R, Owusu-Ankomah K, Houlihan A, Meeus P, Catovsky D. The immunophenotype of hairy cell leukemia (HCL). Proposal for a scoring system to distinguish HCL from B-cell disorders with hairy or villous lymphocytes. *Leukemia Lymph* 1994; 14: 57-61.
18. Basso K, Liso A, Tiacci E, et al. Gene expression profiling of hairy cell leukemia reveals a phenotype related to memory B cells with altered expression of chemokine and adhesion receptors. *J Exp Med* 2004; 199: 59-68.
19. Falini B, Tiacci E, Liso A, et al. Simple diagnostic assay for hairy cell leukaemia by immunocytochemical detection of annexin A1 (ANXA1). *Lancet* 2004; 363: 1869-1871.
20. Vallianatou K, Brito-Babapulle V, Matutes E, Atkinson S, Catovsky D. p53 deletion and trisomy 12 in hairy cell leukemia. *Leukemia Res* 1999; 23: 1041-1045.
21. Palomera L, Domingo JM, Sola C, et al. Cladribine therapy in hairy cell leukemia variant. A report of three cases. *Haematologica* 2002; 87: 107-108.
22. Polliack A. Hairy cell leukemia: biology, clinical diagnosis, unusual manifestations and associated disorders. *Rev Clin Exp Hematol* 2002; 6: 366-388.
23. Žák P. Vlasatobuněčná leukemie (In: *Leukemie*, 1. vyd.), Avicenum, Grada Publishing, Praha 2002; 336-339, ISBN 80-7169-991-8.
24. Golde DW. Therapy of hairy-cell leukemia. *N Engl J Med* 1982; 307: 495-496.
25. Quesada JR, Reuben J, Manning JT, Hersh EM, Gutterman JU. Alpha interferon for induction of remission in hairy cell leukemia. *N Engl J Med* 1984; 310: 15-18.
26. Berman E, Heller G, Kempin S, Gee T, Tran LL, Clarkson B. Incidence of response and long-term follow-up in patients with hairy cell leukemia treated with recombinant interferon-alpha-2a. *Blood* 1990; 75: 839-845.
27. Frassoldati A, Lamparelli T, Federico M, et al. Hairy cell leukemia: a clinical review based on 725 cases of the Italian Cooperative Group (ICGHCL). *Leukemia Lymph* 1994; 13: 307-316.
28. Damasio EE, Clavio M, Masoudi B, et al. Alpha-interferon as induction and maintenance therapy in hairy cell leukemia: a long-term follow-up analysis. *Eur J Haematol* 2000; 64: 47-52.
29. Zinzani PL, Lauria F, Salvucci M, et al. Hairy cell leukemia and α -interferon treatment: long term responders. *Haematologica* 1997; 82: 152-155.
30. Spiers ASD, Parekh SJ, Bishop SJ. Hairy cell leukemia: Induction of complete remission with pentostatin (2-deoxycoformycin). *J Clin Oncol* 1984; 2: 1336-1342.
31. Dearden CE, Matutes E, Hilditch BL, Swansbury GJ, Catovsky D. Long-term follow-up of patients with hairy cell leukemia after tre-

- atment with pentostatin or cladribine. *Brit J Haematol* 1999; 106: 515-519.
32. Ribeiro P, Bouaffia F, Peaud PY, et al. Long-term outcome of patients with hairy cell leukemia treated with pentostatin. *Cancer* 1999; 85: 65-71.
 33. Golomb HM, Dodge R, Mick R, et al. Pentostatin treatment for hairy cell leukemia patients who failed initial therapy with recombinant alpha-interferon: a report of CALGB study 8515. *Leukemia* 1994; 8: 2037-2040.
 34. Saven A, Piro LD. Complete remissions in hairy cell leukemia with 2-chlorodeoxyadenosine after failure with 2-deoxycoformycin. *Ann Intern Med* 1993; 119: 278-283.
 35. Piro LD, Carrera CJ, Carson DA, Beutler E. Lasting remissions in hairy cell leukemia induced by a single infusion of 2-chlorodeoxyadenosine. *N Engl J Med* 1990; 322: 1117-1121.
 36. Saven A, Burian C, Koziol JA, Piro LD. Long term follow up of patients with hairy cell leukemia after cladribine treatment. *Blood* 1998; 92: 1918-1926.
 37. Chadha P, Rademaker AW, Mendiratta P, et al. Treatment of hairy cell leukemia with 2-chlorodeoxyadenosine (2-CdA): Long-term follow-up of the Northwestern University experience. *Blood* 2005; 106: 241-246.
 38. Robak T, Blasinska-Morawiec M, Blonski J, et al. 2-chlorodeoxyadenosine (cladribine) in the treatment of hairy cell leukemia and hairy cell leukemia variant: 7-year experience in Poland. *Eur J Haematol* 1999; 62: 49-56.
 39. Juliusson G, Haldal D, Hippe E, et al. Subcutaneous injections of 2-chlorodeoxyadenosine for symptomatic hairy cell leukemia. *J Clin Oncol* 1995; 13: 989-995.
 40. Žák P. Vlasatobuněčná leukemie a přínos 2-chlorodeoxyadenosinu v léčbě. *Nucleus, Hradec Králové* 2006, 44-45, ISBN 80-87009-03-7.
 41. Žák P, Chrobák L, Dědic K. Minimal residual disease, its detection and significance in hairy cell leukemia. *Acta Medica (Hradec Králové)* 1999; 42: 85-88.
 42. Bengio R, Narbait MI, Sarmiento MA, Palacios MF, Scolnik MP. Comparative analysis of immunophenotypic methods for the assessment of minimal residual disease in hairy cell leukemia. *Haematologica* 2000; 85: 1227-1229.
 43. Tallman MS, Hakimian D, Kopecky KJ, et al. Minimal residual disease in patients with hairy cell leukemia in complete remission treated with 2-chlorodeoxyadenosine or 2-deoxycoformycin and prediction of early relapse. *Clin Cancer Res* 1999; 5: 1665-1670.
 44. Ravandi F, Jorgensen JL, et al. Eradication of minimal residual disease in hairy cell leukemia. *Blood* 2006; 107: 4658-4662.
 45. Ginaldi L, De Martinis M, Matutes E, et al. Levels of expression of CD19 and CD20 in chronic B cell leukaemias. *J Clin Pathol* 1998; 51: 364-369.
 46. Hagberg, G. Chimeric monoclonal anti-CD20 antibody (rituximab) – an effective treatment for a patient with relapsing hairy cell leukemia. *Med Oncol* 1999; 16: 221-222.
 47. Hoffman M, Auerbach L. Bone marrow remission of hairy cell leukaemia induced by rituximab in a patient refractory to cladribine. *Brit J Haematol* 2000; 109: 900-901.
 48. Hagberg H, Lundholm L. Rituximab, a chimaeric anti-CD20 monoclonal antibody, in the treatment of hairy cell leukemia. *Brit J Haematol* 2001; 115: 609-611.
 49. Thomas DA, O'Brien S, Bueso-Ramos C, et al. Rituximab in relapsed or refractory hairy cell leukemia. *Blood* 2003; 102: 3906-3911.
 50. Cervetti G, Galimberti S, Andreazzoli F, et al. Rituximab as treatment for minimal residual disease in hairy cell leukaemia. *Eur J Haematol* 2004; 73: 412-417.
 51. Zenhäusern R, Simcock M, et al. Rituximab in patients with hairy cell leukemia relapsing after treatment with 2-chlorodeoxyadenosine (SAKK 31/98). *Haematol* 2008; 93: 1426-1428.
 52. Fietz T, Rieger K, Schmittel A, Thiel E, Knauf W. Alemtuzumab (Campath-1H) in hairy cell leukaemia relapsing after rituximab treatment. *Hematol J* 2004; 5: 451-452.
 53. Quigley MM, Bethel KJ, Sharpe RW, Saven A. CD52 expression in hairy cell leukemia. *Am J Hematol* 2003; 74: 227-230.
 54. Schulz H, Winkler U, Staak JO, et al. The monoclonal antibodies Campath-1H and Rituximab in the therapy of chronic lymphocytic leukemia. *Onkologie* 2000; 23: 526-532.
 55. Kreitman RJ, Margulies I, Stetler-Stevenson M, et al. Cytotoxic activity of disulfide-stabilized recombinant immunotoxin RFB4(dsFv)-PE38 (BL22) towards fresh malignant cells from patients with B-cell leukemias. *Clin Cancer Res* 2000; 6: 1476-1487.
 56. Kreitman RJ, Squires DR, Stetler-Stevenson M, et al. Phase I trial of recombinant immunotoxin RFB4(dsFv)-PE38 (BL22) in patients with B-cell malignancies. *J Clin Oncol* 2005; 23: 6719-6729.
 57. Kreitman RJ. Immunotoxins in cancer therapy. *Curr Opin in Immunol* 1999; 11: 570-578.
 58. Matutes E, Wotherspoon A, Brito-Babapulle V, et al. The natural history and clinico-pathological features of the variant form of hairy cell leukemia. *Leukemia* 2001; 15: 184-186.
 59. Kreitman RJ, Wilson WH, Bergeron K, et al. Efficacy of the anti-CD22 recombinant immunotoxin BL22 in chemotherapy-resistant hairy cell leukemia. *N Engl J Med* 2001; 345: 241-247.

MUDr. Radoslav Greksák
Národný onkologický ústav
Oddelenie klinickej onkológie
Klenová 1
833 10 Bratislava
radoslav.greksak@nou.sk

Doručeno do redakce: 5. 11. 2009
Přijato po recenzii: 16. 3. 2010