

UNIVERZITA PARDUBICE

FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2024

Barbora Auředníková

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická

Léčba vlasatobuněčné leukémie
Bakalářská práce

University of Pardubice
Faculty of chemical technology

Treatment of Hairy Cell Leukemia
Bachelor thesis

2024

Barbora Auředníková

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2023/2024

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Barbora Auředníková**
Osobní číslo: **C21144**
Studijní program: **B3912 Speciální chemicko-biologické obory**
Studijní obor: **Zdravotní laborant**
Téma práce: **Léčba vlasatobuněčné leukémie**
Téma práce anglicky: **Treatment of Hairy Cell Leukemia**
Zadávající katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

Zásady pro vypracování

1. Vypracujte bakalářskou práci na téma možnosti léčby vlasatobuněčné leukémie. V úvodní části textu nejprve definujte a obecně charakterizujte vlasatobuněčnou leukémii. Dále popište její první příznaky a další symptomy, kterými se u pacientů projevuje. V souvislosti s tím se zaměřte i na shrnutí aktualně používaných diagnostických metod.
2. V hlavní části bakalářské práce definujte aktuální možnosti léčby vlasatobuněčné leukémie včetně využití interferonu α , purinových analogů a monoklonální protilátky rituximab. Dále se také zaměřte na nové možnosti léčby včetně využití specifických inhibitorů a popište mechanismy jejich působení. V práci také zmiňte aktuální data úspěšnosti léčby pacientů trpících vlasatobuněčnou leukémií.
3. Pro zpracování kompilačního textu bakalářské práce čerpejte z odborných článků publikovaných v recenzovaných zahraničních časopisech. Jejich vyhledávání provádějte prostřednictvím elektronických vědeckých databází, jako jsou např. *NCBI Pubmed*, *ScienceDirect*, *Web of Science*, *Scopus*, apod.

Rozsah pracovní zprávy: **25 s.**
Rozsah grafických prací: **dle potřeby**
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:
podle pokynů vedoucího bakalářské práce

Vedoucí bakalářské práce: **RNDr. Jiří Handl, Ph.D.**
Katedra biologických a biochemických věd
Konzultant bakalářské práce: **Mgr. Štěpánka Jelínková**
Katedra biologických a biochemických věd
Datum zadání bakalářské práce: **22. prosince 2023**
Termín odevzdání bakalářské práce: **1. července 2024**

prof. Ing. Petr Němec, Ph.D. v.r.
děkan

L.S.

doc. RNDr. Tomáš Roušar, Ph.D. v.r.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 29. února 2024

Prohlašuji:

Práci s názvem Léčba vlasatobuněčné leukémie jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 7/2019 Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 20. 6. 2024

Barbora Auředníková v.r.

PODĚKOVÁNÍ

Chtěla bych velmi poděkovat panu RNDr. Jiřímu Handlovi, Ph.D. a Mgr. Štěpánce Jelínkové za odborné vedení, cenné rady, věnovaný čas a dobrou komunikaci během vypracovávání této bakalářské práce.

ANOTACE

Tato bakalářská práce se zabývá léčbou vlasatobuněčné leukémie, jejími druhy, účinky, mechanismem působení a úspěšností. V úvodu je popsána obecná charakteristika vlasatobuněčné leukémie společně s používanými diagnostickými metodami. Hlavní část bakalářské práce je věnována jednotlivým druhům léčby, přičemž jsou podrobně popsány způsoby léčby, mechanismus působení a úspěšnost dané léčby. Závěr obsahuje prognózu pacientů s vlasatobuněčnou leukémií.

KLÍČOVÁ SLOVA

Vlasatobuněčná leukémie, purinové analogy, rituximab, vemurafenib, dabrafenib

TITLE

Treatment of Hairy Cell Leukemia

ANNOTATION

This bachelor's thesis focuses on the treatment of hairy cell leukemia, its types, effects, mechanism of action, and success rates. The introduction describes the general characteristics of hairy cell leukemia along with the diagnostic methods used. The main part of the thesis is devoted to individual types of treatment, detailing the treatment methods, mechanism of action, and success rates of each treatment. The conclusion summarizes the prognosis for patients with hairy cell leukemia.

KEYWORDS

Hairy Cell Leukemia, purine analogues, rituximab, vemurafenib, dabrafenib

OBSAH

| | |
|---|----|
| SEZNAM ILUSTRACÍ A TABULEK | 10 |
| SEZNAM ZKRATEK..... | 11 |
| ÚVOD..... | 14 |
| 1 Vlasatobuněčná leukémie..... | 15 |
| 1.1 Obecná charakteristika..... | 15 |
| 1.2 Příznaky a symptomy..... | 15 |
| 1.3 Příčina | 16 |
| 1.4 Vyšetřovací metody..... | 16 |
| 1.4.1 Krevní obraz | 17 |
| 1.4.2 Morfologie buněk HCL | 17 |
| 1.4.3 Vyšetření kostní dřeně..... | 18 |
| 1.4.4 Cytochemické vyšetření..... | 19 |
| 1.4.5 Průtoková cytometrie a imunofenotypizace | 19 |
| 1.4.6 Cytogenetické a molekulárně genetické nálezy..... | 23 |
| 1.4.7 Zobrazovací techniky..... | 24 |
| 1.5 Diagnostika | 25 |
| 1.6 Indikace k léčbě | 25 |
| 2 Léčba HCL | 27 |
| 2.1 Splenektomie | 28 |
| 2.2 Léčba α -interferony | 28 |
| 2.3 Purinové analogy | 29 |
| 2.4 Léčba monoklonálním rituximabem..... | 29 |
| 2.5 Kombinace léčby purinovými analogy a rituximabem..... | 30 |
| 2.6 Imunotoxiny..... | 30 |
| 2.7 Kontraindikace k léčbě PA..... | 33 |
| 3 Léčba pomocí inhibitorů..... | 34 |

| | | |
|-------|--|----|
| 3.1 | Inhibitory BRAF a MEK | 34 |
| 3.1.1 | Mechanismus působení BRAF a MEK inhibitorů..... | 37 |
| 3.2 | Inhibitor Bruton tyrozinkinázy | 39 |
| 3.2.1 | Mechanismus účinku inhibitoru BTK..... | 41 |
| 4 | Léčba relabující HCL | 43 |
| 5 | Nově vyvíjené způsoby léčby..... | 44 |
| 5.1 | Léčba pomocí chimérických antigenních receptorů | 44 |
| 5.2 | Léčba pomocí onkoembryonálního antigenu ROR1 a ROR2..... | 45 |
| 6 | Vyhodnocení léčby a prognóza..... | 46 |
| | ZÁVĚR | 49 |
| | SEZNAM CITACÍ | 50 |

SEZNAM ILUSTRACÍ A TABULEK

Seznam obrázků

| | |
|--|----|
| Obrázek 1: Buňky vlasatobuněčné leukémie s cytoplasmatickými výběžky | 17 |
| Obrázek 2: Hypercelulární dřev s difuzním infiltrátem buněk vlasatobuněčné leukémie | 18 |
| Obrázek 3: Analýza průtokovou cytometrií prokazující koexistující vlasatobuněčnou leukémií a monoklonálních B-buněk konzistentní s chronickou lymfocytární leukémií 20 | |
| Obrázek 4: Průtoková cytometrická imunofenotypizace (FCI) normálních B lymfocytů a HCL..... | 21 |
| Obrázek 5: HCL imunofenotyp CD123, CD103,CD200 a CD19 pozitivní | 23 |
| Obrázek 6: Vývoj léčby HCL | 27 |
| Obrázek 7: Působení BL22 | 32 |
| Obrázek 8: CD20 imunohistochemické vyšetření biopsie kostní dřevě | 35 |
| Obrázek 9: Ukazuje výsledky imunohistochemického testování vzorků kostní dřevě... 36 | |
| Obrázek 10: Potlačení cyklinu D1 | 37 |
| Obrázek 11: Průtoková cytometrická exprese povrchového CD25 v krevních leukemických buňkách | 38 |
| Obrázek 12: Ztráta výběžků po inhibici BRAF | 39 |
| Obrázek 13: Schéma znázorňující, jak může ibrutinib ovlivnit signalizace BCR a CXCR4 v HCL | 42 |
| Obrázek 14: CAR T buněčná terapie | 44 |

Seznam tabulek

| | |
|--|----|
| Tabulka 1: Nežádoucí účinky u léčby pomocí inhibitoru Bruton tyrozinkinázy | 40 |
|--|----|

SEZNAM ZKRATEK

| | |
|----------------|---|
| ADP | adenosindifosfát |
| ADP-r-EF2 | adenosindifosfát ribosylovaný elongační faktor 2 |
| AKT | protein kinázy B |
| ALP | alkalická fosfatáza |
| ALT | alaninaminotransferáza |
| ANXA1 | annexin A1 |
| AST | aspartátaminotransferáza |
| BAFF-R | receptor faktoru aktivujícího B buňky |
| BCR | B-buněčný receptor |
| BL22 | rekombinantní imunotoxin |
| BLNK | B-buněčný linker |
| BRAF | protein B-Raf |
| BTL | Bruton tyrozinkináza |
| CAR | chimérický antigenní receptor |
| CCND1 | cyklin D1 |
| CD | <i>Cluster of Differentiation</i> |
| CDKN1B | tumor supresorový gen |
| CLL | chronická lymfocytární leukémie |
| CRCL12 | chemokinový ligand motivu C-X-C 12 |
| CT | výpočetní tomografie |
| CXCR4 | chemokinový receptor |
| DBA.44 | transmembránový glykoprotein |
| DNA | deoxyribonukleová kyselina |
| <i>E. coli</i> | <i>Escherichia coli</i> |
| ERK | extracelulární signál-regulovaná kináza |
| ETV5 | transkripční faktor kódovaný genem ETV5 |
| FCI | průtoková cytometrická imunofenotypizace |
| FSC | <i>forward scatter</i> |
| G | G-regulační protein |
| G-CSF | granulocytové kolonie stimulující faktor |
| GM-CSF | granulocyt-makrofágové kolonie stimulující faktor |
| HCD | horní cesty dýchací |

| | |
|----------------------|--|
| HCL | vlasatobuněčná leukémie |
| HER2 | humánní epidermální receptor 2 |
| HLA | hlavní histokompatibilní komplex |
| HUS | hemolyticko-uremický syndrom |
| IGHV | variabilní oblast těžkého řetězce imunoglobulinu |
| IKK | IkappaB kináza |
| IL-3 | interleukin 3 |
| IL-6 | interleukin 6 |
| KDM6A | X-vázaný lidský gen |
| KLF2 | transkripční faktor |
| KO | krevní obraz |
| KP1 | specifická protilátka |
| LYN | tyrosin-proteinkináza Lyn |
| mAb | monoklonální protilátka |
| MAFF | regulator genu v chondrocytech |
| MAPK | <i>Mitogen-Activated Protein Kinase</i> |
| MEK | mitogen-aktivovaná proteinkináza |
| MRI | magnetická rezonance |
| NFκB | nukleární faktor kappa B |
| NK buňka | <i>Natural Killer cell</i> |
| P | fosforylace |
| <i>P. aeruginosa</i> | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> |
| PA | purinový nukleosidový analog |
| PD-1 | povrchový protein |
| PET | pozitronová emisní tomografie |
| PIP2 | fosfatidylinositol-4,5-bisfosfát |
| PIP3 | fosfatidylinositol 3,4,5 trifosfát |
| PK | periferní krev |
| PKCβ | proteinkináza C beta typu |
| PLCγ2 | 1-fosfatidylinositol-4,5-bisfosfátfosfodiesteráza gama-2 |
| RAF | serinová/threoninkinázová rodina |
| RAS | <i>Rapidly Accelerated Fibrosarcoma</i> |
| ROR1 a ROR2 | transmembránový receptor tyrosin-proteinkináza |

| | |
|---------------|---|
| SSC | <i>side scatter</i> |
| SYK | tyrosin-proteinkináza Syk |
| TNF- α | tumor nekrotický faktor alfa |
| TP53 | tumor supresorový gen pro protein 53 |
| TRAP | kyselá fosfatáza rezistentní na vinan |
| TROP-2 | transmembránový onkoprotein 2 |
| V600E | změna aminokyseliny z valinu na glutamát v poloze 600 |
| WHO | Světová zdravotnická organizace |
| α -IFN | interferon alfa |

ÚVOD

Vlasatobuněčná leukémie je málo časté B-lymfoproliferativní onemocnění, které postihuje častěji muže než ženy. Onemocnění je charakterizováno přítomností „vlasatých“ buněk v kostní dřeni a periferní krvi. Mezi metody používané k diagnostice vlasatobuněčné leukémie řadíme vyšetření základního krevního obrazu spolu se stanovením počtu jednotlivých krevních buněk, vyšetření kostní dřene, imunofenotypizaci, cytochemická vyšetření, zhodnocení morfolgie „vlasatých“ buněk a cytogenetická a molekulárně genetická vyšetření.

Vlasatobuněčná leukémii není zcela vyléčitelnou nemocí, ale existuje řada vysoce účinných léčebných možností. První používanou metodou byla splenektomie, ta byla po objevení purinových analogů používána již v krajních případech. Purinové analogy jsou zatím nejúčinnější léčbou. Nicméně se také používá léčba alfa interferony, rituximabem nebo kombinace rituximabu s purinovými analogy a léčba pomocí imunotoxinů.

Novější druhy léčby cílí především na blokování aktivačních signálů a indukci apoptózy. Nejvyužívanějšími inhibitory jsou vemurafenib a dabrafenib, který blokuje aktivační signál zmutovaného proteinu BRAF, čímž brání růstu a proliferaci rakovinných buněk. Ibrutinib je inhibitor Brutonova tyrosinkinázového proteinu, který blokuje signální dráhy, čímž brání růstu a proliferaci rakovinných buněk vlasatobuněčné leukémie.

V současné době probíhá několik studií, které zkoumají nové možnosti léčby vlasatobuněčné leukémie. Jedna ze studií se zaměřuje na použití onkoembryonálních antigenů ROR1 a ROR2, druhá pak na léčbu pomocí chimérických antigenních receptorů T-buněk. Studie, které aktuálně probíhají a nové studie, jež se zabývají možnostmi léčby a vývojem nových léčiv jsou stále velice žádoucí, protože přinášejí naději pacientům, u kterých aktuálně dostupné možnosti léčby selhávají.

1 Vlasatobuněčná leukémie

1.1 Obecná charakteristika

Vlasatobuněčná leukémie (HCL) je B-lymfoproliferativní onemocnění, které je od roku 2008 uznávané Světovou zdravotnickou organizací (WHO) jako samostatná diagnóza a v roce 2017 byla klasifikována WHO do kategorie lymfoidních novotvarů. HCL vzniká z pozdě aktivovaných B-buněk (Troussard et al., 2022). HCL představuje 2 % nových leukémií a je čtyřikrát až pětkrát častější u mužů než u žen. Medián věku při diagnóze je 52-63 let u mužů a 51-59 let u žen (Epperla et al., 2022). Výskyt je přibližně třikrát vyšší u bělošské populace než u černošské populace (Dores et al., 2008). HCL byla poprvé popsána v roce 1958 Berthou Bouronclovou, která onemocnění popsala na souboru 26 pacientů s pancytopenií, splenomegalií a morfologicky typickými mononukleárními buňkami v periferní krvi a kostní dřeni. Onemocnění nazvala „leukemickou retikuloendoteliózou“ (Bouroncle et al., 1958). Leukemické buňky byly Schreckem a Donnellym pojmenovány jako vlasaté na základě jejich charakteristického morfologického vzhledu. Pojmenování vlasatobuněčná leukémie pochází od Ghadialliho a spol. (Ghadially a Skinnider, 1972) a Flandrina (Flandrin et al., 1973). HCL je obecně dělena na dva typy, a to na klasický a variantní. Klasický typ HCL představuje 95 % HCL (Cross a Dearden, 2020).

1.2 Příznaky a symptomy

Příznaky související s aktivitou základního onemocnění se vyskytují u 75 % nemocných (Žák, 2006). Asymptomatictí pacienti tvoří skupinu 25 % nemocných, kterým je náhodně zjištěna splenomegalie nebo pancytopenie (Jansen et al., 2004). Onemocnění společně s příznaky má postupný průběh (Dietrich et al., 2015). Nejčastějším příznakem je celková únava a slabost u 80 % všech pacientů, která je způsobena v důsledku anémie (Cross a Dearden, 2020). Bolest břicha, která je způsobena splenomegalií, je přítomna u 25 % pacientů (Cross a Dearden, 2020). Infekce je přítomna u 40 % pacientů, kdy nejčastějšími typy infekcí jsou zápal plic a septikémie. Infekce pozorované u HCL spadají do dvou hlavních kategorií. Bakteriální infekce spojené s neutropenií a oportunní infekce charakteristické pro poškozený imunitní systém. Infekce významně souvisejí s léčbou kortikosteroidy. Původcem těchto bakteriálních infekcí bývají nejčastěji gramnegativní tyčinkovité mikroorganismy. Mezi nejdůležitější z nich patří *P. aeruginosa* a *E. coli* (Bouza et al., 1978). Krvácení a tvorba podlitin je u 30 % pacientů a je nejčastěji způsobena trombocytopenií (Cross a Dearden, 2020). Mezi další méně

časté symptomy patří teplota a pocení, které mohou být navíc doprovázeny přidruženými infekčními onemocněními, kostními lézemi nebo může být postižena i kůže různými infekčními agens (Žák, 2006). Splenomegalie a pancytopenie jsou charakteristické pro HCL (Dietrich et al., 2015). U 90 % pacientů nalezneme výraznou splenomegalii (Golomb, 1978). Nejčastěji je postižena kostní dřev a slezina. Zatímco játra, lymfatické uzliny a kůže jsou neobvyklými místy postižení (Rahman et al., 2018).

1.3 Příčina

Buňky, které jsou považovány za ty, jež jsou s původem HCL spojeny, jsou pozdě aktivované B-lymfocyty paměti postgerminálního centra. Tyto lymfocyty se aktivují v reakci na specifické antigeny a následně přežívají v organismu řadu let. V případě HCL se lymfocyty stávají maligními a akumulují se v kostní dřev, krvi a také slezině. V některých případech se mohou do procesu zapojit i B-lymfocyty marginální zóny sleziny. U HCL byla charakterizována celogenomová metylace DNA promotoru HCL, tato metylace vede k potlačení exprese genů regulující růst a diferenciaci B-lymfocytů. Dále je s HCL spojena přítomnost somatické mutace proteinu B-Raf (BRAF) V600E (Arribas et al., 2019). U 90 % pacientů byl zároveň detekován mutovaný profil variabilní oblast těžkého řetězce imunoglobulinu (IGHV), což vede k produkci abnormálního imunoglobulinu. Mutace v této oblasti tak může ovlivnit schopnost imunitního systému reagovat na různé infekce nebo patologické stavy (Forconi et al., 2009; Arons et al., 2011).

1.4 Vyšetřovací metody

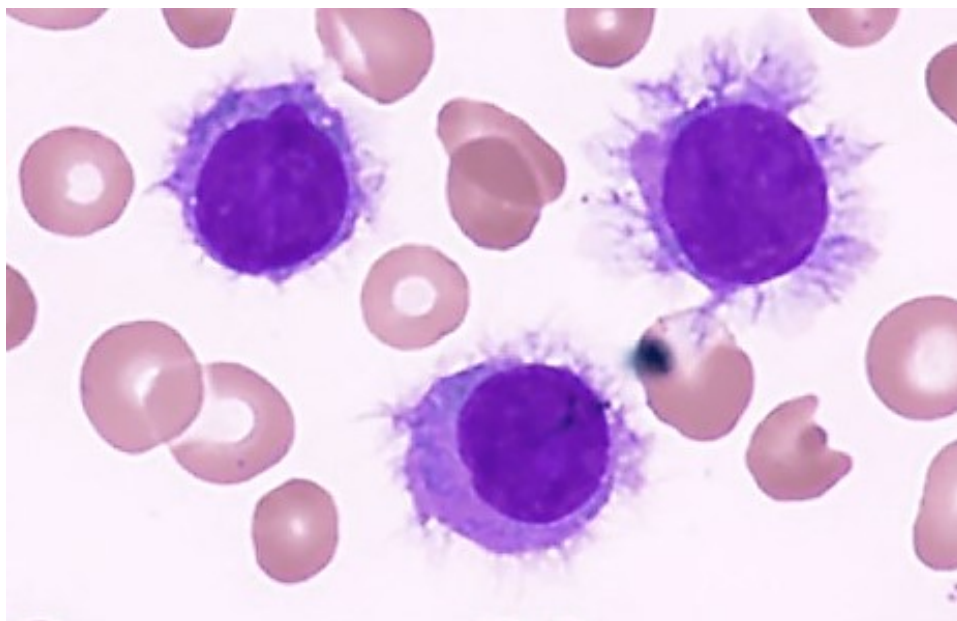
Mezi vyšetřovací metody používané k diagnóze HCL patří základní vyšetření krevního obrazu, používané ke stanovení počtu různých typů krvinek, včetně bílých krvinek. Trepanobioptické vyšetření kostní dřevě k průkazu leukemické populace v kostní dřev. Imunofenotypizace pomocí průtokové cytometrie slouží k analýze povrchových proteinů na buňkách, což umožňuje identifikaci specifických typů buněk. Dalšími metodami jsou cytochemická vyšetření, morfologie vlasatých buněk, cytogenetická a molekulárně genetická vyšetření. Málo používaným diagnostickým testem je počítačová tomografie a magnetická rezonance, které slouží k odhalení kostních lézí (Gupta et al., 2015; Gupta et al., 2020; Maitre et al., 2022).

1.4.1 Krevní obraz

Pancytopenie je charakteristickým nálezem u HCL, kdy stupeň cytopenie může být různý. Pancytopenie je přítomna u 50-60 % pacientů s HCL (Chrobák, 1999; Žák, 2006). Anémie je přítomna až u 88 % pacientů (Gujral et al., 2012). Jedná se o anémii s průměrnou hodnotou hemoglobinu 75 g/l, v rozmezí 37-105 g/l (Gupta et al., 2015). Anémie jsou nejčastěji normocytární, normochromní nebo mírně makrocytární. Makrocytóza není ve většině případů provázena sníženou hladinou vitamínu B₁₂ nebo kyseliny listové (Chrobák, 1999; Žák, 2006). Leukopenie je u 71 % pacientů s HCL, zbylí pacienti mají počet leukocytů v normě, ve zcela výjimečných případech mohou mít leukocytózu (Gupta et al., 2015). Téměř ve všech případech HCL je přítomna monocytopenie (Žák, 2006; Gujral et al., 2012; Gupta et al., 2015). Počet krevních destiček je typicky snížený, obvykle je 60-80 % pacientů trombocytopenických (Gujral et al., 2012; Gupta et al., 2015). Průměrný počet krevních destiček je 65,5 x 10⁹/l (Gupta et al., 2015).

1.4.2 Morfologie buněk HCL

Charakteristickým nálezem u HCL je přítomnost vlasatých buněk (Obr. 1). Typické vlasaté buňky jsou mononukleární s bohatou monocytoidní cytoplasmou, průměr buňky se pohybuje v rozmezí 10-25 μm (Quest a Johnston, 2015). Jádro je ve většině případů kulaté, ale mohou být také přítomna jádra prstencová, oválná, ledvinovitá, stočená či laločnatá (Shao et al., 2013; Lemež a Kačírková, 2014). Chromatinová struktura jádra je homogenní. Chromatin je o něco méně kondenzovaný, než u normálních

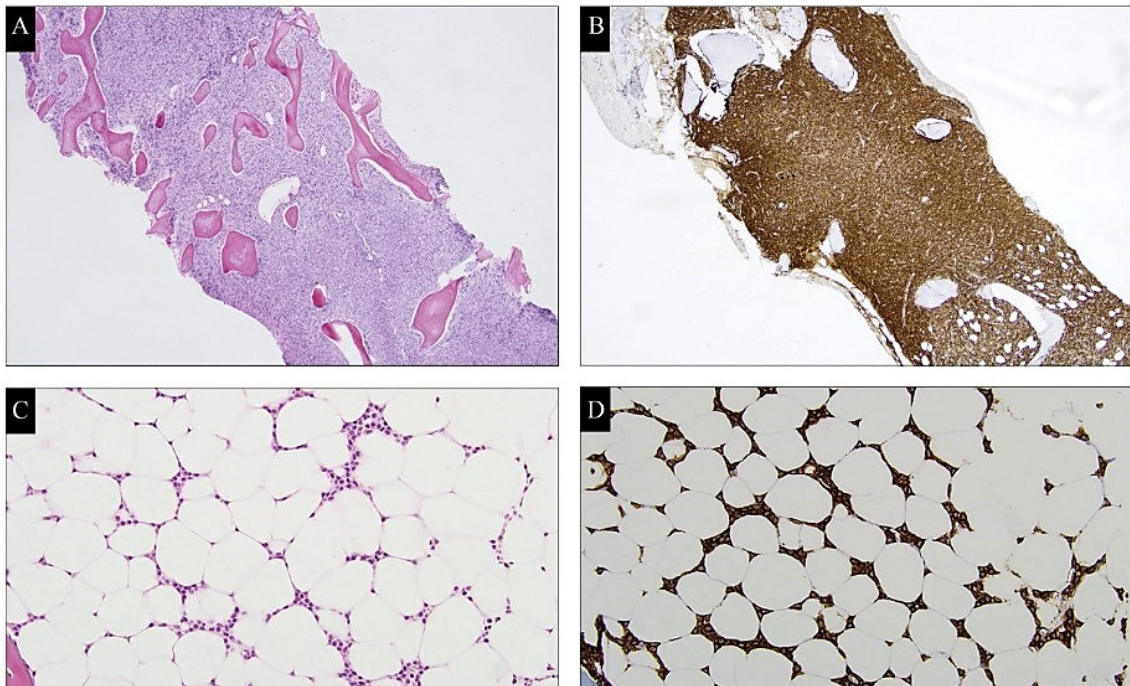


Obrázek 1: Buňky vlasatobuněčné leukémie s cytoplasmatickými výběžky; (upraveno dle Ikebe et al., 2016).

lymfocytů (Lemež a Kačírková, 2014). Jádérko je až v 80 % případů nepřítomné, ve zbylých případech je malé a nepatrné (Shao et al., 2013). Cytoplasma buňky je světle šedomodrá s typickými cytoplasmatickými výběžky, které jsou přítomné u 94 % vlasatých buněk (Lemež a Kačírková, 2014; Shao et al., 2013).

1.4.3 Vyšetření kostní dřeně

Histologické vyšetření kostní dřeně je doporučováno u všech nově diagnostikovaných pacientů (Katayama, 1988). HCL indukuje tvorbu fibronektinu, ten je základem retikulinových vláken, která znesnadňují případnou aspiraci kostní dřeně (Žák, 2006). Více než 99 % pacientů má infiltrovanou kostní dřeň, která se prokáže při trepanobiopsii (Golomb, 1978). Trepanobiopstické vyšetření umožňuje prokázat leukemickou populaci a stanovit stupeň leukemické infiltrace, odhad zbývající fyziologické hematopoetické tkáně a posoudit stupeň fibrotizace dřeně. Rozlišují se fokální, intersticiální a difúzní infiltrace většinou s mononukleárními leukemickými elementy s ovaloidním či „naštípnutým“ jádrem (Žák, 2006). Celkový počet buněk v kostní dřeni je u 54 % pacientů zvýšený, ale ve 13-28 % případů je kostní dřeň hypoplastická až aplastická (Obr. 2). U 55 % pacientů je kostní dřeň infiltrována difúzně. Kostní dřeň u 63 % pacientů má výrazně potlačenou hematopoézu. Úroveň infiltrace kostní dřeně v míře 75-100 % je pozorovatelná u 73 % pacientů (Shao et al., 2013).



Obrázek 2: **Hypercelulární dřeň s difúzním infiltrátem buněk vlasatobuněčné leukémie** (A, barvení hematoxylin-eosin; B, imunochemické barvení CD20, zvětšení 400×); **Hypocelulární dřeň s intersticiálním infiltrátem buněk vlasatobuněčné leukémie** (C, barvení hematoxylin-eosin, zvětšení 1000×; D, imunochemické barvení CD20, zvětšení 400×); (upraveno dle Shao et al., 2013).

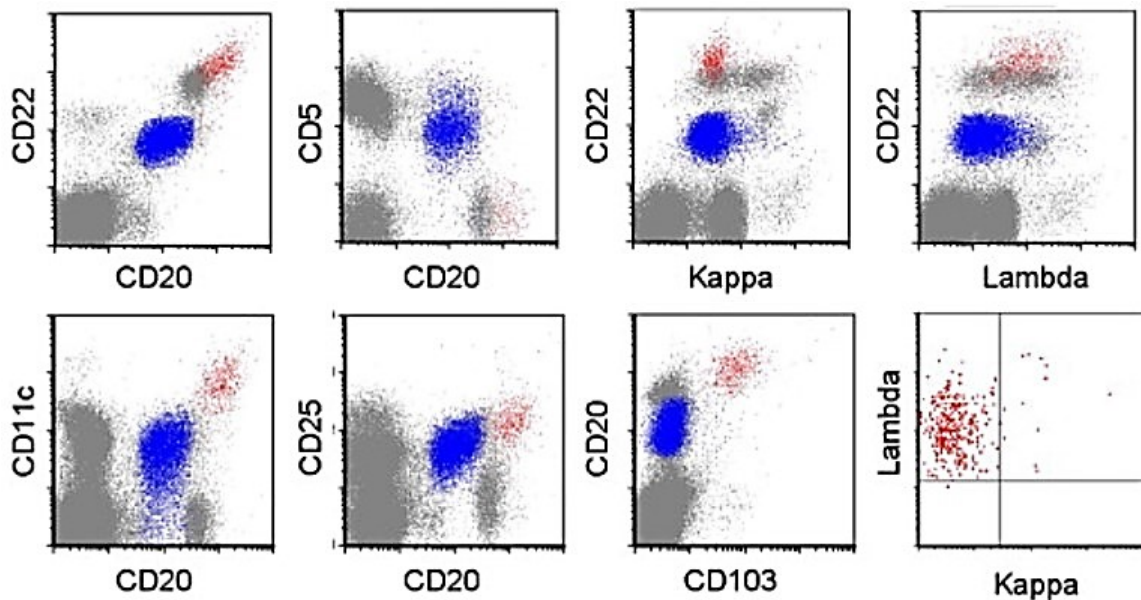
1.4.4 Cytochemické vyšetření

Dříve než byly k diagnostice HCL zavedeny monoklonální protilátky, byla užitečným a široce používaným testem standardní cytochemické vyšetření (Matutes, 2006). Nejpoužívanějším cytochemickým vyšetřením je detekce aktivity enzymu kyselé fosfatázy rezistentní na vinan (TRAP) (Gupta et al., 2020). K detekci aktivity TRAP se používají aspiráty periferní krve a trepanobiopsie kostní dřeně (Akkaya et al., 2005). Jedná se o jednoduchou, citlivou a poměrně specifickou metodu pro detekci buněk HCL využívanou v diagnostice HCL (Janckila et al., 1995). Za určitých podmínek má cytochemická enzymová aktivita TRAP svá omezení, příkladem jsou leukopeničtí pacienti, kteří mají relativně malý počet nádorových buněk v periferní krvi. Detekce TRAP není možná ani v aspirátu kostní dřeně kvůli zvýšenému počtu retikulinových vláken v kostní dřeni (Akkaya et al., 2005). Při trepanobiopsiích TRAP barví i nenádorové buňky, jako jsou erytroidní prekurzory, makrofágy, megakaryocyty a osteoklasty. TRAP pozitivní erytroidní prekurzory, makrofágy a osteoklasty jsou však morfologicky odlišné a na základě jejich cytologických charakteristik nejsou zaměňovány s vlasatými buňkami (Akkaya et al., 2005). Při průkazu TRAP se používá duální barvení PAX5/TRAP v trepanobiopsiích kostní dřeně. TRAP je pozitivní u 95 % případů HCL (Gupta et al., 2020). TRAP může být pozitivní také u několika neoplastických onemocnění. Pokud není k dispozici imunofenotypizace, je cytochemické barvení TRAP užitečným a citlivým diagnostickým testem (Konkay et al., 2014). Cytochemické barvení TRAP lze použít k odlišení variantní HCL a klasické HCL, kdy variantní HCL je oproti klasické HCL na TRAP negativní (Robak, 2011). Duální barvení je novým citlivým nástrojem pro hodnocení postižení kostní dřeně u HCL, a to i v případech s minimálním onemocněním (Gupta et al., 2020).

1.4.5 Průtoková cytometrie a imunofenotypizace

Průtoková cytometrie je pro diagnostiku HCL nezbytná, jelikož odhaluje jedinečné imunofenotypové charakteristiky (Cenariu et al., 2023). Metoda je extrémně citlivá, detekuje HCL buňky na úrovni 0,01 % (Shao et al., 2013). Použití průtokové cytometrie je také důležité při odlišení HCL od jiných chronických lymfoproliferativních onemocnění s podobnými cytologickými rysy, jako je tomu v případě variantní HCL nebo difuzního velkobuněčného B-buněčného lymfomu, čímž se zvyšuje senzitivita a specifita pro diagnostiku (Cenariu et al., 2023). Buňky HCL se fenotypově neliší od žádných ze známých subpopulací B buněk (Basso et al., 2004). K rozlišení různých

buněčných entit byl vyvinut imunologický skórovací systém. V rámci něj byl jeden bod přiřazen každému ze čtyř markerů (CD11c, CD25, CD103, CD123), když byl daný marker exprimován. V případě, že nebyl exprimován žádný marker, tak nebyl v rámci skórovacího systému přiřazen ani žádný bod (Obr. 3). Skóre 3 anebo 4 je pozorováno v 98 % případů HCL, zatímco skóre nižší než 3 u jiných poruch podobných HCL (Maitre et al., 2022).



Obrázek 3: Analýza průtokovou cytometrií prokazující koexistující vlasatobuněčnou leukémii a monoklonálních B-buněk konzistentní s chronickou lymfocytární leukémií. Analýza ukazuje mononukleární buňky, jak je určeno charakteristikami FSC a SSC, s HCL buňkami ohraničenými červenými oblastmi a CLL buňkami uzavřenými jako modrémi oblastmi. Buňky chronické lymfocytární leukémie exprimovaly slabý CD20, slabý CD22, slabý CD11c, střední CD25 a CD5 a vykazovaly slabou restrikcí lehkých řetězců kappa. Buňky vlasatobuněčné leukémie byly pozitivní na CD20, CD11c, CD25 a CD103. Buňky vlasatobuněčné leukémie byly omezeny lambda lehkým řetězcem, když byly uzavřeny na světlých CD11c pozitivních B-buňkách; (upraveno dle Shao et al., 2013).

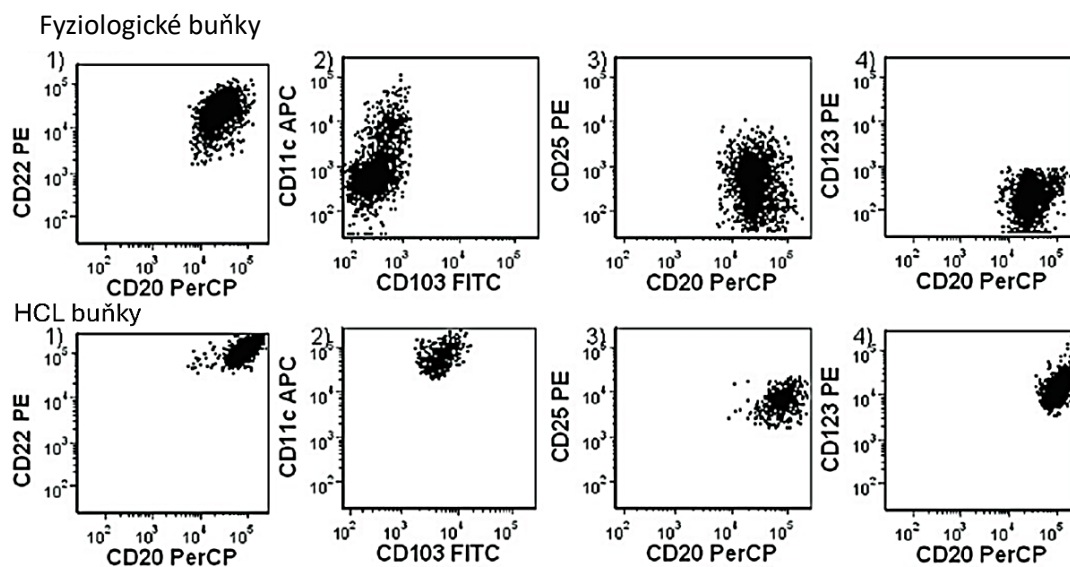
CD103 je povrchový glykoprotein buňky reprezentující αE podjednotku heterodimerního integrinu $\alpha E\beta 7$. Byla objevena zvýšením monoklonální protilátky B-ly7 přímo proti HCL. CD103 má až 100% senzitivitu u HCL, nicméně asi u 75 % případů variantní HCL a u třetiny indolentních B-lymfomů sleziny vykazuje CD103 také pozitivitu (Tóth-Lipták et al., 2015). CD103 se prokázala jako pozitivní u 80 % pacientů s HCL a pozitivní u 33 % pacientů bez HCL s jiným onemocněním (Maitre et al., 2022).

Detekce CD11c, řetězce integrinu αX , má stanovenou diagnostickou hodnotu v HCL, používá se hlavně v kombinaci s CD25 a CD103. Monoklonální protilátka 5D11 je experimentální léčivo, která patří do skupiny monoklonálních protilátek mířících na humánní epidermální receptor 2 (HER2) a transmembránový

onkoprotein 2 (TROP-2). Monoklonální protilátka 5D11 byla zavedena pro imunohistochemické barvení antigenu CD11c ve vzorcích, které jsou fixovány formalínem a zalité v parafínu. Byla popsána jako úspěšně senzitivní a specifický marker HCL (Tóth-Lipták et al., 2015). HCL buňky jsou tak charakterizovány vysokou mírou exprese CD11c (Basso et al., 2004).

CD25, alfa řetězec receptoru lidského interleukinu-2, je široce používaný marker pro diagnostiku HCL. Díky monoklonální protilátce 4C9 je možné kvalitativně identifikovat molekulu CD25 v parafínových vzorcích. Protilátka je vhodná pro diagnostiku HCL v biopsiích z kostní dřeně provedených imunohistochemickým barvením. Molekula CD25 vykazuje pozitivitu u každého případu HCL (Cenariu et al., 2023). CD25 je pozitivní téměř u poloviny případů chronické lymfocytární leukémie a lymfomů z pláštěových buněk. Pozitivitu CD25 vykazují také aktivované nenádorové B a T lymfocyty (Tóth-Lipták et al., 2015). Monoklonální B-buňky exprimují CD25 pouze ve 3 % případů (Maitre et al., 2022).

CD123, α -řetězec receptoru interleukinu-3, pomáhá při diagnóze HCL průtokovou cytometrií. Proti fixačně rezistentnímu epitopu CD123 jsou k dispozici monoklonální protilátky, které mohou usnadnit jeho průkaz ve vzorcích HCL zalitých v parafínu (Tóth-Lipták et al., 2015). CD123 je pozitivní u 97 % pacientů s HCL (Obr. 4) (Maitre et al., 2022). Monoklonální B-buňky exprimují CD123 v 16 % případů. CD123 je pozitivní u 22 % pacientů s nemocí podobnou HCL (Maitre et al., 2022).



Obrázek 4: Průtoková cytometrická imunofenotypizace (FCI) fyziologických B lymfocytů a HCL. (A) Fyziologický B-buněčný FCI vzor: (1) střední CD20 a CD22; (2) spektrum CD11c od slabého po negativní a negativní pro CD103; (3) spektrum CD25 od slabého po negativní; a (4) CD123 negativní. (B) HCL buňky mají (1) jasnější než normální CD20 a CD22; (2) homogenní, jasnější než normální CD11c a střední CD103; (3) jasně homogenní CD25; a (4) CD123 pozitivní; (upraveno dle Stetler-Stevenson a Tembhare, 2011).

Annexin A1 (ANXA1) je protein, který hraje komplexní roli v zánětlivé odpovědi (Sherman et al., 2011). Pomocí profilování genové exprese byla identifikována upregulace ANXA1 (Basso et al., 2004). ANXA1 byl následně zaveden jako specifický imunohistochemický marker pro diagnostiku HCL (Falini et al., 2004). ANXA1 je 100 % specifický, senzitivní a přesný marker. Nicméně tento marker vykazuje ekvivalentně silné cytoplazmatické a jaderné barvení v i granulocytární řadě, což by mohlo způsobovat obtíže při hodnocení vzorků kostní dřeně. Je proto důležité v diagnostice HCL použít i další imunohistochemické markery (Tóth-Lipták et al., 2015).

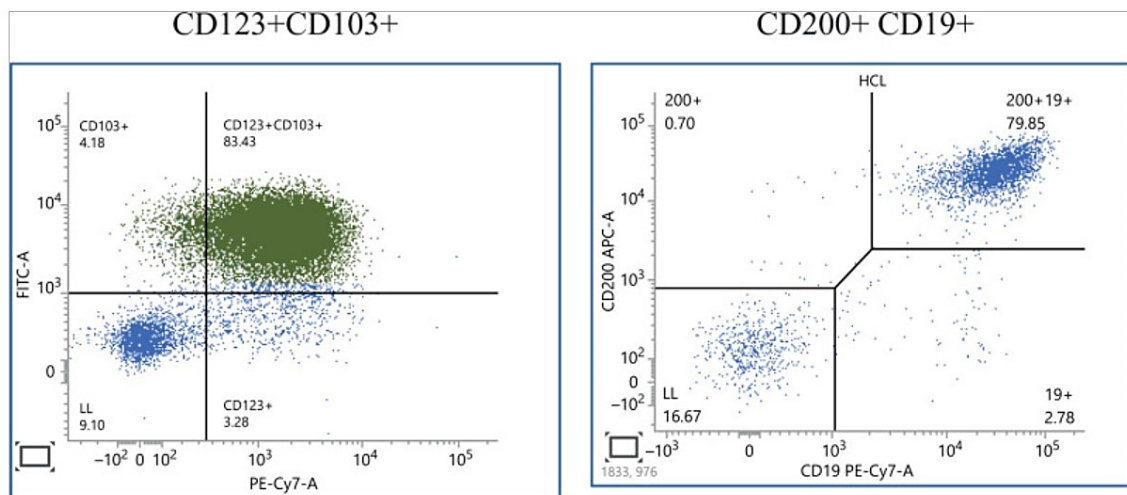
V buňkách HCL dochází i k expresi cyklinu D1 (Sherman et al., 2011). Cyklin D1 vykazuje vysokou specifitu a přesnost u HCL. Cyklin D1 vykazuje jaderné barvení s proměnlivou intenzitou, není tak vhodný pro diagnostiku HCL ve vzorcích kostní dřeně s nízkým obsahem nádorových buněk (Tóth-Lipták et al., 2015). Většina případů HCL vykazuje slabou nebo fokální pozitivitu, pouze menšina případů vykazuje jednotnou a silnou pozitivitu (Sherman et al., 2011).

DBA.44 je transmembránový glykoprotein, který je exprimován na povrchu buněk různých tkání. Monoklonální protilátka DBA.44 identifikuje fixačně rezistentní B-buněčný diferenciační antigen, který vykazuje pozitivitu u HCL (Helene et al., 1992). Z počátku diagnostiky HCL byl DBA.44 považován za standardní imunohistochemické barvení. Dle novějších studií však vyplývá, že tento marker nedokáže rozlišit HCL a nemoci podobné HCL, jako je malobuněčný B-lymfom sleziny, který je pozitivní v 73,3 % případů (Tóth-Lipták et al., 2015). Tímto markerem mohou být často detekovány rozptýlené nezhoubné lymfocyty v reaktivních podmínkách, takže identifikace reziduálních nádorových buněk pouze s tímto markerem je obtížná (Went et al., 2005). Nicméně všechny případy chronické lymfocytární leukémie B-buněčného typu, lymfoplazmocytární lymfom/ Waldenströмова makroglobulinémie a *mantle cell* lymfom jsou konzistentně DBA.44 negativní (Tóth-Lipták et al., 2015).

T-bet, je transkripční faktor, který hraje klíčovou roli v regulaci imunitního systému. Exprese T-bet, transkripčního faktoru spojeného s T-buňkami, byla popsána v nádorových buňkách HCL (Dorfman et al., 2004). Exprese T-bet je používána jako účinný marker minimální reziduální nemoci, což jsou buňky nádorů, které v organismu přetrvávají v minimálním množství po dosažení klinické remise, zjišťované a zjištěitelné jen velmi citlivými metodami. T-bet vykazuje 100% míru positivity u HCL, nicméně marker je také pozitivní u dalších onemocnění jako jsou malé B-buněčné lymfomy

a reaktivní T-lymfocyty. Díky svému silnému homogennímu jadernému barvení je marker užitečný při diagnostice minimální infiltrace HCL v kostní dřeni (Jöhrens et al., 2007).

CD200 je membránový glykoprotein exprimovaný na povrchu buněk, který má imunopresivní účinky. Přestože CD200 je konzistentně exprimován na buňkách HCL k diagnóze HCL se nepoužívá nebo jen zřídka v kombinaci s jinými markery (Obr. 5). CD200 je exprimován na řadě dalších novotvarů odvozených od B lymfocytů (Brunetti et al., 2009).



Obrázek 5: HCL imunofenotyp CD123, CD103, CD200 a CD19 pozitivní; (upraveno dle Janus a Robak, 2022)

Protilátka KP1 je specifická protilátka, která cílí na antigen CD68. CD68 je glykoprotein exprimovaný na povrchu buněk mononukleárního fagocytárního systému. KP1 je široce používaný monocytový/makrofágový marker. U HCL byl KP1 pozitivní, ale k diagnostice se používá jen zřídka, jelikož je pozitivní v makrofázích, v myeloidních buňkách a u nemocí podobných HCL (Kreft et al., 1997; Tóth-Lipták et al., 2015).

1.4.6 Cytogenetické a molekulárně genetické nálezy

Mutace genu BRAF V600E je přítomna u 100 % pacientů s HCL. Protein BRAF patří do rodiny serinové/threoninkinázové RAF, je součástí signální dráhy mitogen-aktivované proteinkinázové kaskády; *Rapidly Accelerated Fibrosarcoma - Raf Activity Factor - Mitogen-Activated Protein Kinase* (RAS-RAF-MAPK). Tato dráha hraje hlavní roli v regulaci buněčného přežití, proliferaci a diferenciaci. Mutace BRAF aktivují dráhu mitogen-aktivované proteinkinázy s extracelulární signál-regulovanou kinázou (MEK-ERK), což vede ke zvýšené buněčné proliferaci, přežití, a nakonec k neoplastické transformaci. U pacientů jinými lymfoproliferativními onemocněními je mutace BRAF

negativní (Tiacci et al., 2011). Mutace spočívá v nahrazení thyminu adeninem v exonu 15 BRAF na pozici 1799 sekvence kódující gen umístěné v chromozomu 7q34. To vyvolává změnu aminokyseliny z valinu na glutamát v poloze 600 (V600E) proteinové sekvence. Vše nakonec vede k aberantní aktivaci onkogenní kinázy BRAF a tím i navazující signální dráhy MEK-ERK (Tiacci et al., 2017). Někteří pacienti HCL však mutaci BRAF V600E postrádají, mohou ale mít alternativní mutace BRAF. Alternativní mutací je například mutace v exonu 11 genu BRAF (Tschernitz et al., 2014).

KLF2 je transkripční faktor kontrolující homeostázu a diferenciaci zralých subpopulací B-buněk, včetně B buněk marginální zóny, kde se také nacházejí paměťové B buňky (Tiacci et al., 2017). Mutace genu KLF2 je přítomna u 15 % pacientů s HCL (Maitre et al., 2018). Mutace KLF2 v HCL spočívají v náhradě aminokyselin, zatímco u jiných nádorů tyto mutace také zahrnují destruktivní varianty, jako jsou posunové mutace (Tiacci et al., 2017).

CDKN1B je tumor supresorový gen, který kóduje inhibitor cyklin-dependentní kinázy p27. Mutace tohoto genu je přítomna u 16 % pacientů s HCL (Tiacci et al., 2017). Pacienti s mutací CDKN1B mají atypický imunofenotyp HCL s expresí CD10. Expresí CD10 je u HCL vzácná, současné době však žádná studie neprokázala korelaci mezi mutací CDKN1B a expresí CD10 (Maitre et al., 2018).

Mutace genu TP53 se pohybuje v rozmezí 0-20 % pacientů s HCL. TP53 je lidský gen, který kóduje protein p53. Tento protein je jedním z nejdůležitějších supresorů nádorů a hraje klíčovou roli v ochraně integrity genomu buněk. Mutace genu TP53 je častější u variantní formy HCL, a to s mírou mutací až u 30 % pacientů (Maitre et al., 2022).

KDM6A je X-vázaný lidský gen, který kóduje protein lysin demethylázy. Tento gen odstraňuje dimethylové a trimethylové skupiny z lysinu 27 histonu 3 (Maitre et al., 2022). Mutace KDM6A vedou ke ztrátě funkcí (Maitre et al., 2018).

1.4.7 Zobrazovací techniky

Počítačová tomografie kostí a magnetická rezonance jsou nejúčinnější metody při hodnocení lézí způsobujících bolest kostí a kloubů. Úloha magnetické rezonance je důležitá hlavně u pacientů, kteří mají nespecifické nebo žádné rentgenografické změny, se zvýšeným vychytáváním radionuklidů v kostních lézích, což naznačuje pozitivní kostní sken. Změny rentgenografů a kostních skenů lze potvrdit pomocí magnetické rezonance (Robak et al., 2020). Skeletální postižení je u HCL vzácné vykytuje se přibližně u 3 % nemocných (Robak et al., 2021). Projevy kosterní HCL jsou osteolytické

a osteoblastické léze, těžká osteoporóza a aseptická nekróza hlavičky femuru. Osteolýza je nečastějším radiologickým nálezem pozorovaným u 77 % pacientů. Pomocí PET skenu lze indikovat metabolickou aktivitu kostí pro absorpci. Poskytuje tak užitečné funkční informace u pacientů s jemnými abnormalitami. PET je specifitější a citlivější než MRI a jiné zobrazovací metody a dokáže odhalit onemocnění kostí dříve (Robak et al., 2020).

1.5 Diagnostika

Diagnóza HCL je navržena na základě klinického obrazu pacienta. Potvrzení diagnózy HCL je pomocí laboratorních nálezů včetně kompletního krevního obrazu s kontrolou nátěru periferní krve, aspirace kostní dřeně a trepanobiopsie s hodnocením morfologie kostní dřeně, imunohistochemií, průtokovou cytometrií a testováním pro identifikaci mutace V600E BRAF (Grever et al., 2017). V případech, kdy není diagnóza zcela jasná či nesplňuje konsenzuální kritéria je možné využít barvení pro annexin-1 nebo PD-1, tyto markery jsou exprimovány na buňkách HCL (Kumar et al., 2020). Doplnujícím vyšetřením může být rentgen hrudníku u pacientů s podezřením na pneumonii, která je u pacientů s HCL poměrně častá, nebo CT či ultrazvuk k vyhodnocení organomegalii zejména sleziny a jater (Robak et al., 2020).

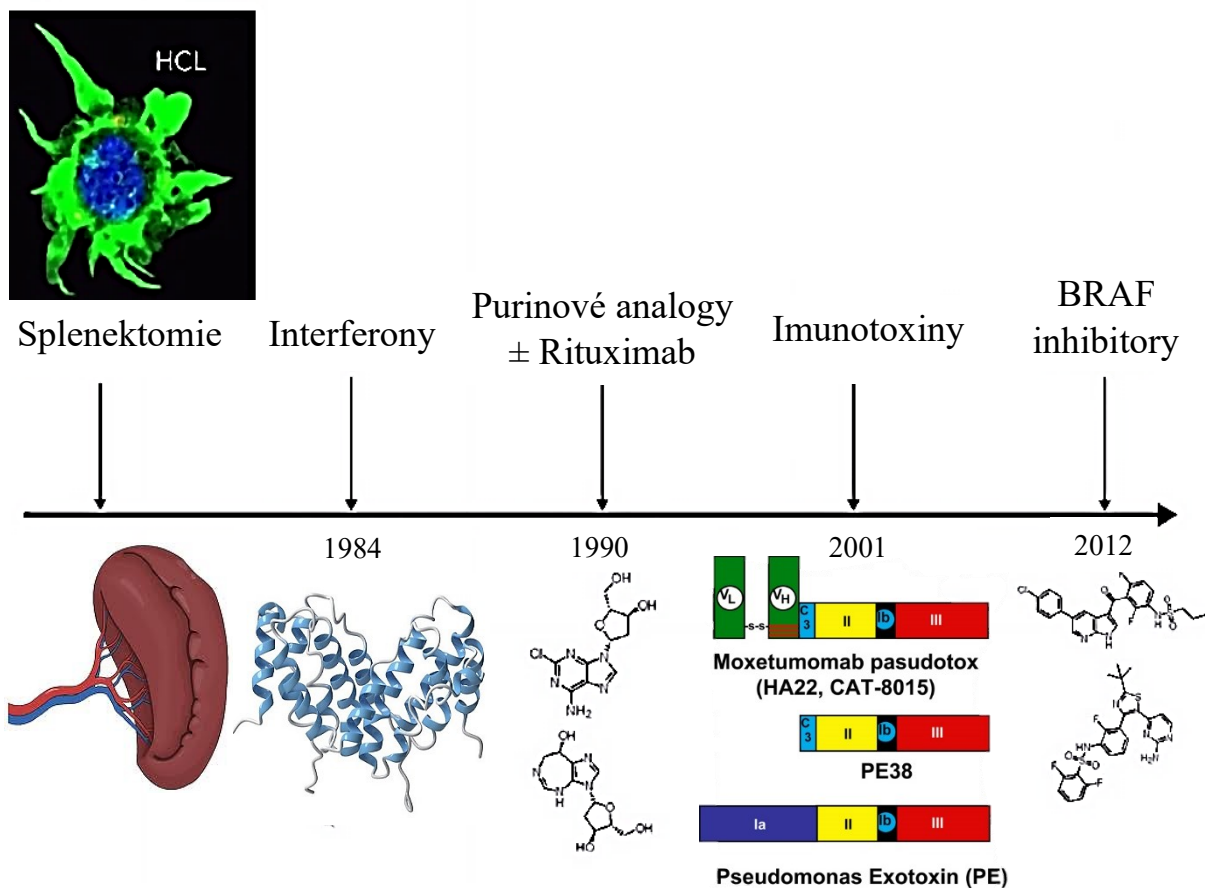
1.6 Indikace k léčbě

U asymptomatických pacientů není léčba indikována, jelikož jejich onemocnění je stabilní, tak není nutná žádná léčba. Neléčení pacienti by měli být pečlivě sledováni s kompletní anamnézou, fyzikálním vyšetřením a kompletním krevním obrazem s diferenciálním testem každých 3-6 měsíců. V případě, že pacienti přestanou být asymptomatictí či začnou splňovat kritéria pro léčbu jsou léčeni (Robak et al., 2015). Obecně platí, že terapeutické látky, které jsou při léčbě HCL používány, jsou poměrně účinné, ale imunosupresivní. Vzhledem k imunosupresivním účinkům se léčbu doporučuje zahájit dříve, než krevní parametry klesnou na nebezpečně nízkou úroveň nebo než se u pacienta objeví aktivní infekce (Grever et al., 2017). Léčba by měla být zahájena u pacientů se symptomatickým onemocněním (Robak et al., 2015). Kritéria pro zahájení léčby mohou být odlišná v závislosti na tom, zda je pacient léčen v klinické studii či odborné praxi. V odborné praxi je léčba indikována je-li přítomen alespoň jeden z příznaků aktivního onemocnění (Cornet et al., 2014). Nejčastější přijímanou indikací k léčbě je cytopenie, která zahrnuje alespoň jedenu z následujících hodnot: neutrofilů $<1-1,5 \times 10^9$ buňky/l, hemoglobin $<10-12$ g/dl a krevní destičky $<100 \times 10^9$ buněk/l (Grever et al., 2017). Dalším kritériem i indikací léčby je

symptomatická splenomegalie či hepatomegalie (Robak et al., 2015; Grever et al., 2017). Dalšími kritérii může být maligní lymfocytóza >5 nebo $>20 \times 10^9/l$ nebo progredující lymfocytóza, zvětšující se lymfatické uzliny >2 cm v krátké časové ose, časté infekce, nevysvětlitelný úbytek hmotnosti >10 % za předchozích 6 měsíců a systémové příznaky (Robak et al., 2015; Kreitman, Arons, 2022). U pacientů po relapsu je důležité určit, zda jsou cytopenie způsobeny progresivním onemocněním nebo toxicitou z předchozí léčby (Kreitman, Arons, 2022).

2 Léčba HCL

Vlasatobuněčnou leukemii zatím nelze zcela vyléčit žádnou z aktuálně dostupných terapií, k dispozici je široká škála vysoce účinných léčebných možností, které dokáží dosáhnout dlouhodobé remise a výrazně zlepšit kvalitu života pacientů. Nejpoužívanější terapií je léčba purinovým nukleosidovým analogem (PA), mezi nejpoužívanější PA patří kladribin a pentostatin. Léčba PA patří mezi nejúčinnější terapie pro HCL. Dále je k léčbě využívána imunoterapie, která využívá imunitní systém pacienta k napadení a zničení nádorových buněk, léčba pomocí inhibitorů, kterými je inhibitor genu kódující BRAF a inhibitor mitogen aktivované proteinkinázy (MEK), či imunotoxinů, které kombinují monoklonální protilátku s toxinem, který cílí na B-lymfocyty (Obr. 6). Splenektomie byla běžnou léčbou HCL v dřívější době. V současné době se vzhledem k vysoké účinnosti jiných terapií používá splenektomie pouze v krajních případech (Grever et al., 2017).



Obrázek 6: Vývoj léčby HCL; (upraveno dle Falini et al., 2022).

2.1 Splenektomie

Před zavedením α -interferonu a PA v 70. a 80. letech 20. století byla splenektomie jedinou účinnou terapií. Splenektomií dojde k odstranění velké nádorové masy a zrušení hypersplenismu. Ve většině případů však nedojde k úplnému vymizení leukemické populace a vyléčení. Po splenektomii je celkové přežití 5 let u 39-72 % pacientů (Žák, 2006). Vlastní splenektomie není zcela bez rizika, je spojená s 0-3% mortalitou, což je však relativně nízká hodnota, nicméně je doprovázena dalšími riziky a komplikacemi jako je infekce, trombóza, pooperační krvácení, atelaktáza, sepse a imunosuprese (Golomb, Vardiman, 1983). Od 21. století je splenektomie indikována pouze při ruptuře sleziny a v případech, kdy není možné zahájit léčbu chemoterapií (Žák, 2006).

2.2 Léčba α -interferony

Interferon- α je látka, která zvyšuje aktivitu NK buněk, zvyšuje expresi HLA antigenů II. třídy a snižuje expresi integrovaných molekul na povrchu vlasaté leukemické buňky. Dále byla také popsána snížená sekrece některých cytokinů, a to přesněji G-CSF, GM-CSF, IL-3 a IL-6. Na základě některých studií bylo prokázáno, že dochází ke zvýšení autokrinní sekrece TNF- α , který je schopen navodit apoptózu vlasatých leukemických buněk. Ze studií tedy vyplývá, že léčba α -interferony (α -IFN) vede nepřímo ke snížení proliferální a diferenciací aktivity vlasatých leukemických buněk a indukuje apoptózu (Žák, 2006).

Terapie α -IFN, kterými mohou být například α_{2a} -Roferon, α_{2b} -Intron, α_{2c} -Beroferon, α -N1 Welferon, byla neúčinnějším léčebným přístupem, který v 80. a 90. letech postupně nahradil splenektomii (Žák, 2006). V kontrolovaných studiích bylo prokázáno, že u 75–90 % pacientů léčených α -IFN došlo ke kladné léčebné odpovědi. Kompletní remise však bylo dosaženo pouze u 10-15 % pacientů, ve většině případů se jednalo jen o parciální remise. Došlo tedy k normalizaci jednoho z parametrů krevního obrazu (KO) a zároveň nedošlo ke zhoršení ostatních parametrů (Golomb et al., 1986).

Léčebné kúry α -IFN je nutné provádět 3krát týdně. Během prvních 2 měsíců dochází u takto léčených pacientů k poklesu hemoglobinu a leukocytů. Léčba α -IFN má četné mírné nebo středně závažné nežádoucí účinky. Patří mezi ně například *flu-like syndrom*, zvýšená únava, kožní změny, vzestup jaterních transamináz a neuropatie. Medián selhání léčby u α -IFN je 6-31 měsíců, v případě relapsu bylo opětovné léčení α -IFN účinné. Léčba HCL α -IFN však v současné době není příliš často indikována

vzhledem k nežádoucím účinkům a účinnějším možnostem léčby. Léčba α -IFN je používána pouze ve vzácných případech, a to například u pacientů se závažnou cytopenií před zahájením další terapie (Žák, 2006).

2.3 Purinové analogy

Léčba purinovými analogy, které se běžně používají jako monoterapie, byla první velmi účinnou léčebnou metodou u HCL. Jako purinové analogy se používají pentostatin a kladribin. Kladribin je derivát adeninu, který je intracelulárně přeměněn na kladribin trifosfát, který je zabudován do DNA, čímž je zabráněno dělení buňky (Hoofnagle et al., 2013).

Pentostatin je inhibitor přechodného stavu hlavního meziproduktu adenosindeaminázy. Způsobuje akumulaci intracelulárního adenosinu a deoxyadenosinu, které blokují syntézu DNA inhibicí ribonukleotidreduktázy. Tato nerovnováha nukleotidových poolů je zvláště toxická pro lymfocyty (Hoofnagle et al., 2013).

Kladribin a pentostatin dosahují míry kompletní remise okolo 70-90 % a intervalů bez léčby, které přesahují až 10 let (Else et al., 2009; Saven et al., 1998). Během léčebné kúry se pentostatin podává jednou za 14 dní a to 3-12 měsíců, zatímco terapie kladribinem probíhá v jedné 5-7denní kúře (ERSAL et al., 2023). Pentostatin a kladribin mají podobný mechanismus toxicity. Ta se projevuje neutropenií, horečkou především v prvním měsíci léčby, snížením CD4+ T-buněk trvajícím 40-52 měsíců a dlouhodobou neuropatií (Seymour et al., 1997; Saven et al., 1998). Vzhledem k podobné toxicitě a téměř stejným účinkům léčby se běžněji používá kladribin, jelikož má kratší dobu léčebné kúry.

Pacienti, kterým je pravidelně se sledován počet krvinek a vyžadují další léčbu, je medián času relapsu po prvním podání léčby přibližně 16 let (Else et al., 2009). Doba mezi první a druhou léčbou je kratší u pacientů, kterým byla stanovena diagnóza před 40. rokem života. Mladší pacienti vyžadují výrazně více sérií léčby v průběhu sledování (Getta et al., 2016). Z dlouhodobých výzkumů a studií není známo, jaké procento pacientů je vyléčeno purinovými analogy. Některé studie naznačují, že u některých pacientů může dojít k úplnému vyléčení, nicméně relaps je u HCL poměrně častý. Stále tak narůstá počet pacientů, kteří vyžadují další léčebné metody.

2.4 Léčba monoklonálním rituximabem

Rituximab je v rámci léčby HCL nejčastěji používanou monoklonální protilátkou. Jedná se o protilátku namířenou proti antigenu CD 20. Rituximab indukuje apoptózu u CD 20 pozitivních buněk. Apoptóza je indukována buď zprostředkováním cytotoxicity

závislé na komplementu nebo cytotoxicity zprostředkované buňkami závislými na protilátkách. Samostatná léčba rituximabem se používá jen velmi zřídka (Villamor et al., 2003). V jedné studii byl rituximab jako monoterapie schopen dosáhnout kompletní remise pouze u 13 % pacientů s relapsem onemocnění (Burotto et al., 2013).

2.5 Kombinace léčby purinovými analogy a rituximabem

Na základě klinických studií bylo zjištěno, že přidáním rituximabu k PA, především ke kladribinu, zvyšujeme míru kompletního remise. Potenciální výhodou současného podání rituximabu a PA je synergie. Potencionální výhody u opožděného podání rituximabu, o více jak 6 měsíců po podání PA, je částečné obnovení imunity, včetně T a B lymfocytů. Vzniká menší riziko trombocytopenie a transfuzí krevních destiček. A také menší nebo dokonce žádnou potřeba steroidní profylaxe infuzních reakcí. U některých pacientů nebylo již třeba rituximab podávat, z důvodu remise. Přidání rituximabu k léčbě PA je lepší nežli samotná terapie PA. Toxicita je srovnatelná jak u současného podání rituximabu, tak u opožděného podání. Hlavním rozdílem je rychlá přechodná trombocytopenie. U pacientů léčených současným podáním léčiv je výrazně vyšší počet neutrofilů i krevních destiček než u pacientů s opožděnou léčbou a to do 4 týdnů po ukončení léčby.

Studie prokazují, že 100% míry kompletní remise lze dosáhnout přidáním rituximabu jeden měsíc po kladribinu. Léčba rituximabem v kombinaci s PA je používána hlavně u pacientů s relapsem, lékem první volby je stále používána léčba samostatnými PA. Léčba kladridin-rituximab je jako léčebná metoda první volby využívána jen u variantní HCL (Chihara et al., 2016; Chihara et al., 2020).

2.6 Imunotoxiny

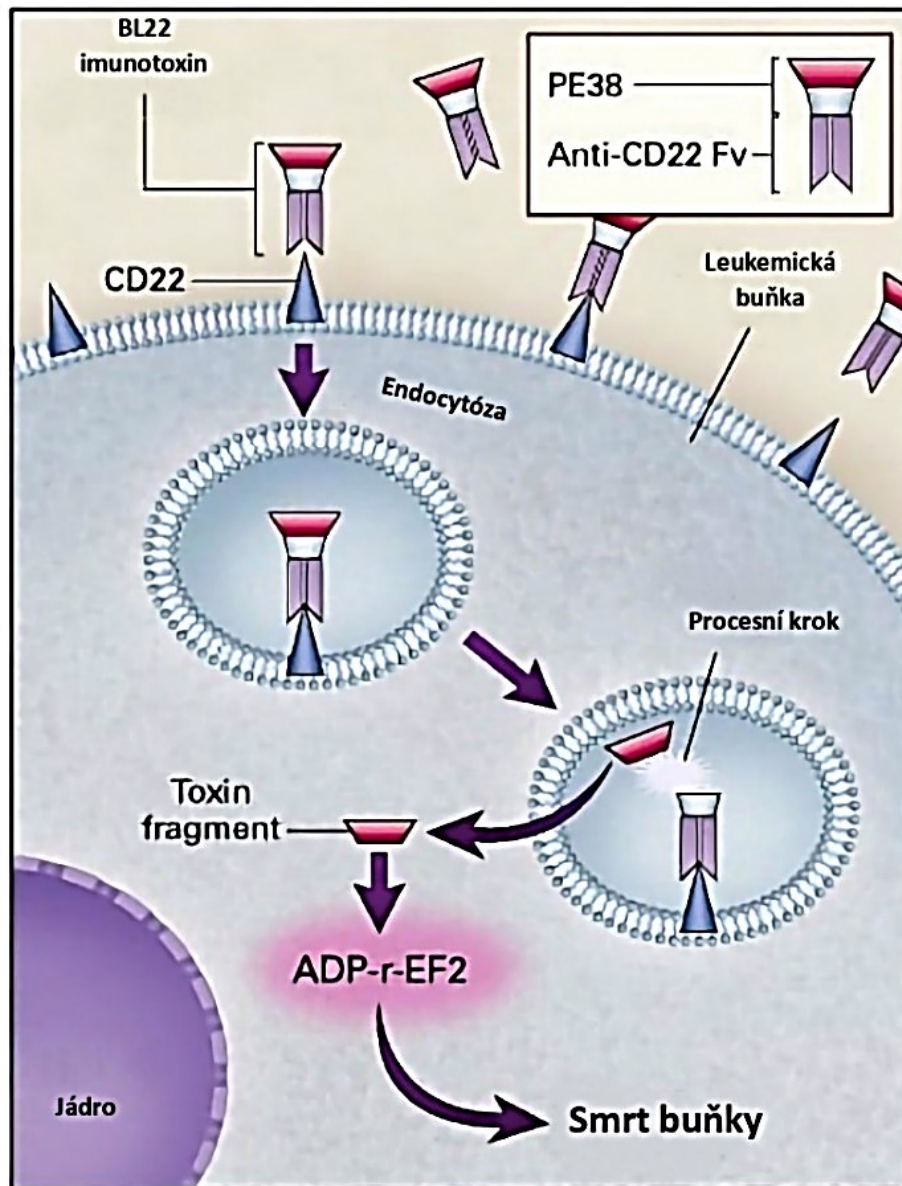
Léčba imunotoxiny se používá po neúspěšných léčbách PA, a dalšími léčbami. Bylo zjištěno, že v léčbě HCL u pacientů rezistentních vůči léčbě PA se dá využít rekombinantní imunotoxin BL22. Právě BL22 vyvolal kompletní remisi u 69 % pacientů a částečnou remisi u 13 % pacientů. U zbylých pacientů nedošlo k odpovědi. Pravděpodobně dostali neadekvátní léčbu, z důvodu přítomnosti již existujících protilátek neutralizující toxiny nebo byly podávány nízké dávky imunotoxinu. Vzhledem k nízké toxicitě bylo umožněno BL22 podávat ve více cyklech léčby většině pacientům (Kreitman et al., 2001). Větší míra odpovědi byla u pacientů s normální nebo mírně zvětšenou slezinou, než u pacientů po splenektomii nebo se zvětšenou slezinou. Zvětšená slezina může představovat bariéru pro penetraci nádoru a snížení plazmatické hladiny

BL22. K těsnějšímu shlukování vlasatých leukemických buněk v kostní dřeni dochází u pacientů po splenektomii. Pacienti po splenektomii měli nízkou míru odpovědi po jednom cyklu léčby, ale opakováním cyklů léčby bylo u některých pacientů dosaženo kompletní remise (Kreitman et al., 2009).

Moxetumomab pasudotox je vysokoafinitní derivát BL22, který obsahuje společně s vazebným fragmentem anti-CD22 protilátky fúzované s exotoxinem *Pseudomonas*. U 46 % pacientů bylo dosaženo kompletní remise, většinou trvalé. Kompletní remise dosáhli pouze pacienti, kteří dříve nepodstoupili splenektomii. Hlavním nežádoucím účinkem při využití vysokoafinitního derivátu BL22 je hemolyticko-uremický syndrom (HUS). HUS vzniklý při léčbě BL22 byl vyvolán CD22, protože nebyl pozorován v imunotoxinu *pseudomonas*, existovala obava, že moxetumomab pasudotox způsobí HUS při nižších dávkách než BL22 vzhledem k jeho vyšší vazebné afinitě k CD22. Bylo zjištěno, že HUS související s BL22 využíval nescifickou vazbu nesouvisející s CD22, tudíž bylo možné se jí částečně vyhnout, a to zvýšením afinity imunotoxinu k CD22. Pacienti, kteří užívali moxetumomab pasudotox, musí být nadále sledováni vzhledem k možnosti vyvinutí tohoto nežádoucího účinku (Kreitman et al., 2012).

Medián trvání kompletní remise i hematologické remise byl přibližně pětkrát delší u pacientů s negativní minimální reziduální nemocí, buňky nádorů, které v organismu přetrvávají v minimálním množství po dosažení klinické remise, zjišťované a zjistitelné jen velmi citlivými metodami, oproti pacientům s pozitivní minimální reziduální nemocí, léčených moxetumomabem pasudotoxem. Dlouhodobé trvání hematologické remise z kompletní remise u pacientů negativních na minimální reziduální nemoc, je důležitým zjištěním vzhledem k tomu, že znovuobjevení cytopenií má větší klinický význam nežli znovuobjevení leukemických buněk. Moxetumomab pasudotox vede k menší myelotoxicitě a imunosupresi než PA, a nezvyšuje tak náchylnost k infekcím. Pokud během léčby dojde k výskytu HUS nebo syndromu kapilárního úniku, je důležité sledování pacientů. Tyto stavy jsou zvládnutelné a reverzibilní, současnou strategií v prevenci HUS zahrnují perorální hydrataci a intravenózní suplementaci tekutin před a po každé dávce léčby, a perorální podání dexametazonu u pacientů, kteří mají horečku či nauzeu (Kreitman et al., 2021).

BL22 se váže na CD22, vstupuje do buňky pomocí endocytózy. Je zpracován a translokován do cytosolu, kde katalyzuje ADP ribosylaci elongačního faktoru 2 (ADP-r-EF2) a následně způsobuje smrt leukemické buňky (Obr. 7) (Kreitman, 1999).



Obrázek 7: **Působení BL22**; PE38 - Pseudomonas exotoxin A mutace 38, ADP-r-EF2 - adenosindifosfát ribosylovaný elongační faktor 2; (upraveno dle Kreitman et al., 2001).

2.7 Kontraindikace k léčbě PA

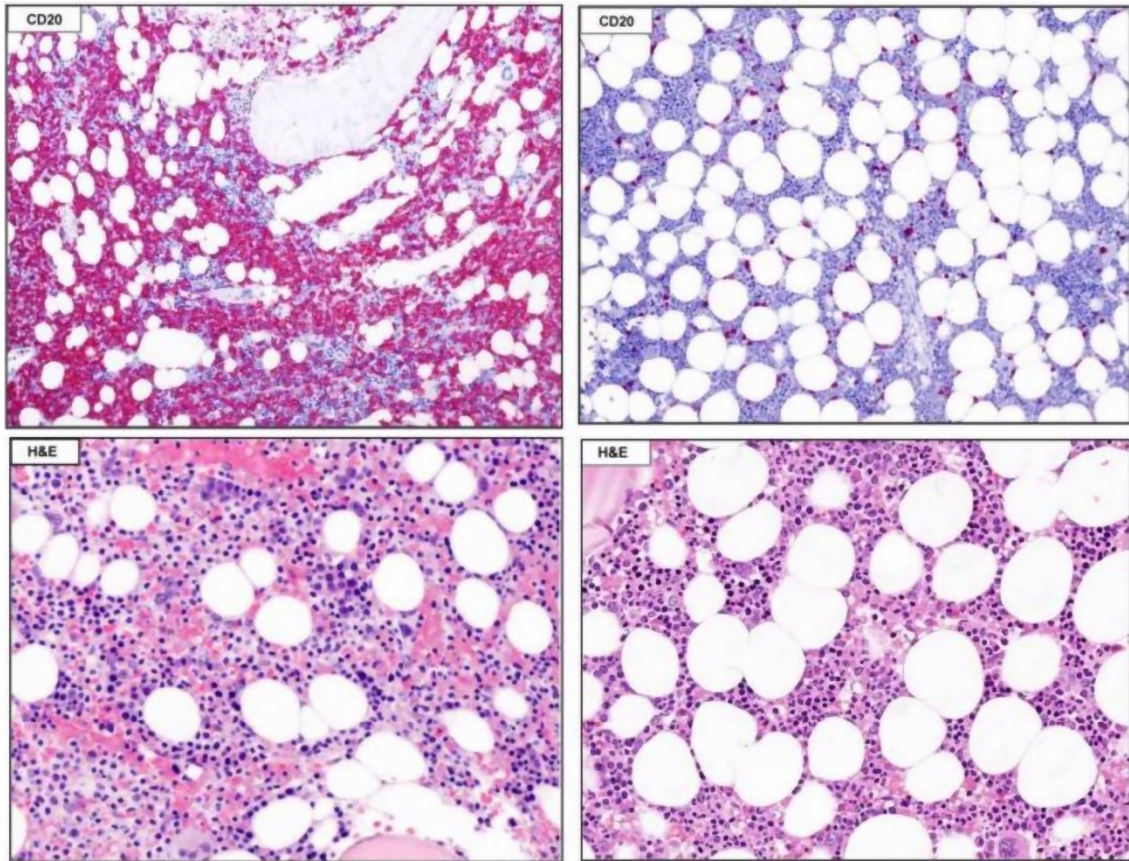
Kontraindikace k léčbě PA mají pacienti s aktivními infekcemi, významnou renální dysfunkcí, těhotenstvím nebo neurologickými abnormalitami. Této skupině pacientů se běžně podává léčba α -interferony, ke zvýšení počtu krvinek v periferní krvi (PK), a může sloužit jako základ k definitivní léčbě. Jakmile dojde k vyřešení kontraindikace pomocí léčby α -interferony. Vemurafenib, perorální inhibitor BRAF, má významnou aktivitu jeli užíván buď v monoterapii či v kombinaci s rituximabem. Tato kombinace se používá u pacientů s kontraindikací k PA, jež mají mutaci V600E genu BRAF (Moore et al., 2021).

HCL během těhotenství je velmi vzácná, ale potenciálně zvládnutelná. Léčba by se měla u těhotných žen zahajovat pouze tehdy, jeli to nezbytně nutné. Terapeutickými možnostmi jsou PA, splenektomie, α -interferony nebo rituximab. Zvolení vhodné léčby závisí na mnoha faktorech, včetně fáze těhotenství, rychlosti progresu onemocnění a odpovědi na předchozí léčbu, pokud nějaká byla. Při užívání rituximabu, během těhotenství nebo před, nebyl pozorován žádný nadměrný výskyt závažných nežádoucích účinků, i když ve studiích na zvířatech bylo prokázáno, že rituximab je teratogenní látka. Dosud dostupné studie však nejsou dostatečné pro dokumentaci bezpečnosti či doporučení podávání rituximabu během či před těhotenstvím (Perrotta et al., 2021). Používanými terapeutickými možnostmi jsou léčba α -interferony, jež vedou k částečným remisím, a splenektomie, která bývá použita jako dočasné řešení, než je možno zahájit léčbu PA (Troussard et al., 2022).

3 Léčba pomocí inhibitorů

3.1 Inhibitory BRAF a MEK

Při léčbě pomocí inhibitorů BRAF a MEK se perorálně podává vemurafenib, dvakrát denně po dobu 16-18 měsíců. Léčba je rychlá a vysoce účinná, s 96-100% mírou odpovědi u pacientů, kteří byli předléčeni předchozí léčbou, ale téměř polovina těchto pacientů nereagovala na poslední předchozí léčbu. Medián doby do odpovědi je 8-12 týdnů a míra kompletní remise je 35 % (Obr. 8). Počáteční léčba vemurafenibem byla omezena na několik měsíců. Důvodem byla obava z vyvinutí sekundárních nádorů indukovaných vemurafenibem. V obou studiích byly na konci léčby konzistentně přítomny reziduální vlasaté buňky kostní dřeně s jejich přidruženou alelovou zátěží BRAF-V600E, a to i po kompletní remisi. Přibližně u poloviny hodnotitelných pacientů vykazovaly tyto buňky perzistentní fosfo-ERK expresi navzdory dlouhodobé přetrvávající expozici vemurafenibu, což pravděpodobně korelovalo s vyšší reziduální leukemickou zátěží a kratším přežitím bez progresu. To naznačuje, že přinejmenším u některých pacientů se u leukemických buněk vyvinou alternativní mechanismy pro reaktivaci MEK/ERK, aby se vyhnuly blokádě BRAF. Toxicita vemurafenibu je spojena zejména s kožní toxicitou, hlavně vyrážkou a fotosenzitivitou. Dále také s artralgií, tedy bolestí kloubů, artritidou, zánětem kloubů, horečkou a zvýšením hladiny bilirubinu v krvi. Dalšími poměrně častými nežádoucími účinky souvisejícími s lékem jsou kožní papilomy, alopecie, palmární/plantární hypercheratóza/dysestézie, únava a zvýšení sérové lipázy, transaminázy, alkalická fosfatáza nebo fibrinogen. (Tiacci et al., 2015).

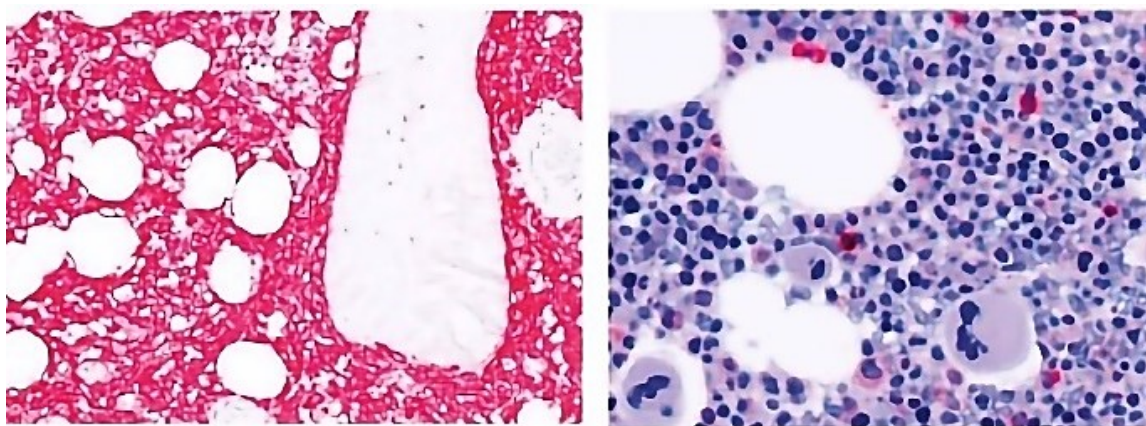


Obrázek 8: **CD20 imunohistochemické vyšetření biopsie kostní dřeně** u pacienta vykazující ~75% leukemickou infiltraci na začátku léčby (vlevo) a pouze několik ($\leq 10\%$) reziduálních rozptýlených vlasatých buněk po 8 týdnech podávání vemurafenibu (vpravo). Barvení hematoxylin-eosinem biopsie kostní dřeně u pacienta vykazujícího infiltraci leukemickými HCL buňkami se širokou, jasnou cytoplazmou rozpoznatelnou morfológií na začátku léčby (vlevo), ale ne po 8 týdnech podávání vemurafenibu (vpravo); (upraveno dle Tiacci et al., 2015).

Dalším lékem, který se používá jako BRAF inhibitor je dabrafenib. Studie Tiacci et al., 2021 byla zaměřena na studium působení Dabrafenibu podávaného perorálně v dávce 150 mg dvakrát denně po dobu 8 týdnů, následovaný dalšími 4 týdny, pokud po prvních 8 týdnech nebylo dosaženo kompletní remise. Hodnocení odpovědi bylo prováděno každé 4 týdny po podání dabrafenibu pomocí ultrazvuku sleziny a vyšetření kostní dřeně. Sledování krevního obraz a chemického složení se provádělo každý týden během prvních 4 týdnů, poté každé 2 týdny během léčby a každé 3 měsíce během sledování. Toxicita dabrafenibu je podobná jako u vemurafenibu. Krátká léčba dabrafenibem bezpečně a rychle vyvolala objektivní odpovědi a významný klinický přínos u všech pacientů s relabujícím nebo refrakterním onemocněním HCL, včetně několika pacientů dříve léčených vemurafenibem. Dabrafenib tak může být alternativou k vemurafenibu u pacientů s HCL. Léčba může být pro pacienty, kteří dosud nebyli léčeni pomocí BRAF inhibitorů, tak pro pacienty, kteří nejsou schopni tolerovat léčbu vemurafenibu. Hloubka kompletní remise u vemurafenibu nebo dabrafenibu u relabujících

HCL je nižší než u léčby pomocí imunotoxinu moxetumomabu pasudotoxu (Tiacci et al., 2021) (A).

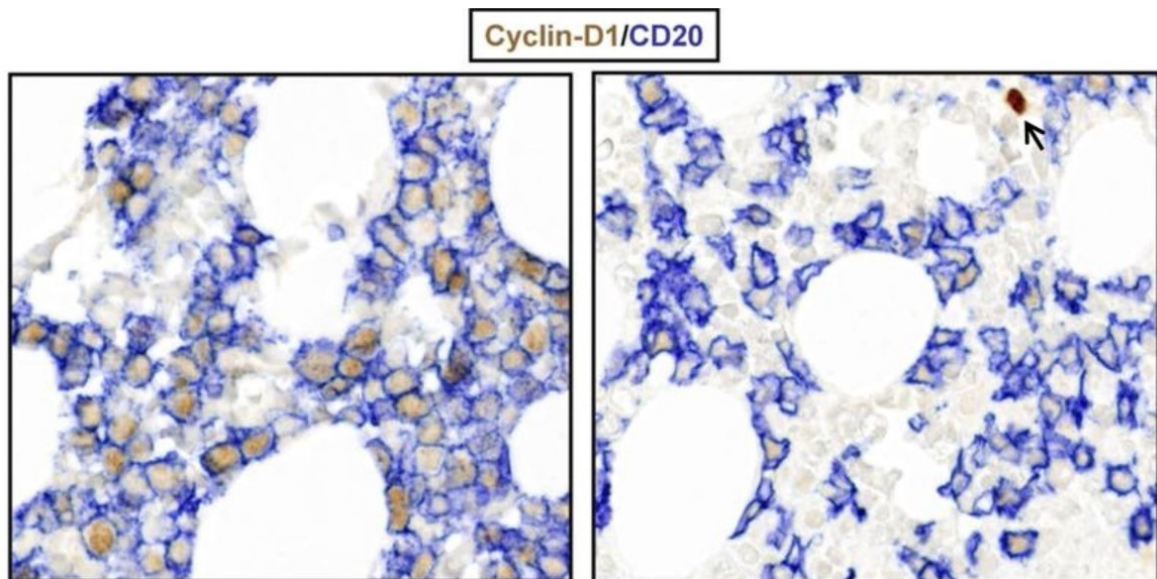
Léčba BRAF a MEK inhibitory se také používá v kombinaci například s rituximabem. Vemurafenib společně s rituximabem je krátkou a bezpečnou léčbou. Terapie je schopna rychle vyvolat hlubokou a trvalou kompletní remisi u pacientů s relabující či refrakterní HCL. Přidání rituximabu k vemurafenibu vede k více než zdvojnásobení procenta pacientů s kompletní remisí a zkrácení doby mediánu do kompletní remise na polovinu než u podání samotného vemurafenibu. Kompletní remise dosáhne více jak 87 % pacientů s mediánem 4 týdnů do dosažení kompletní remise (Obr. 9). Celkem 65 % pacientů, kteří dosáhli kompletní remise bylo negativních na minimální reziduální nemoc, přežití bez relapsu tak bylo 85 % při mediánu sledování 34 měsíců. Na základě průzkumných analýz bylo zjištěno, že pacienti, kteří byli dříve léčeni inhibítorem BRAF v rámci monoterapie měli hlubší a delší odpověď na následnou léčbu vemurafenibem a rituximabem než při předchozí monoterapii (Tiacci et al., 2021)(B). Kombinace dabrafenibu a trametinibu je ideální kombinací pro pacienty s relabující HCL, kteří preferují perorální režim s vysokou pravděpodobností kompletní remise, včetně kompletní remise bez minimální reziduální nemoci. Také je vhodná pro pacienty, kteří nemohou tolerovat rituximab. Objektivní míra odpovědi je 89 %, přičemž kompletní remise dosáhne 65 % pacientů. Nežádoucí účinky, kterými bývá například horečka, lze řešit buď přerušením terapie, úpravou dávky či jinými medikamenty (Kreitman et al., 2023).



Obrázek 9: Ukazuje výsledky imunohistochemického testování vzorků kostní dřeně – biopsie získané od reprezentativního pacienta s leukémií z vlasatých buněk (HCL), který měl na začátku masivní leukemickou infiltraci (obrázek vlevo; Červené barvení CD20), které vymizelo po prvním léčebném cyklu (4 týdny vemurafenibu a dvě dávky rituximabu) a vedlo ke kompletní remisí bez leukemických vlasatých buněk (obrázek vpravo); (upraveno dle Tiacci et al., 2021).

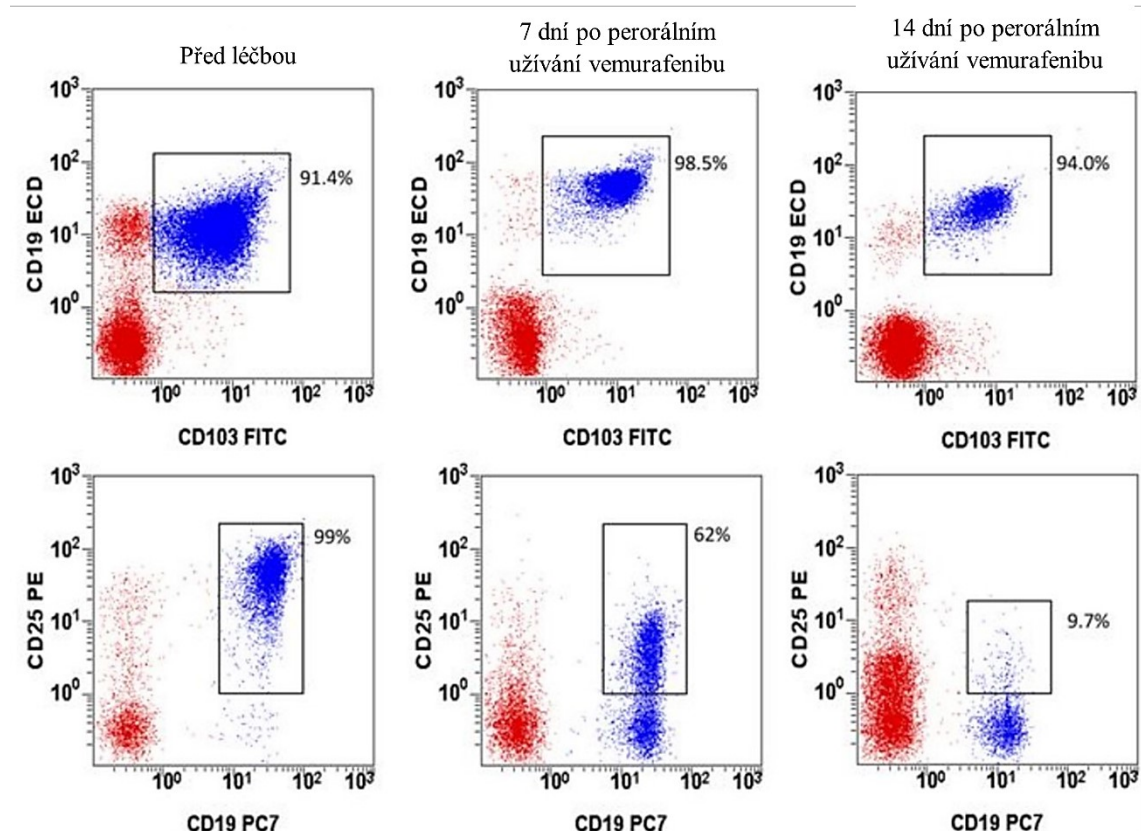
3.1.1 Mechanismus působení BRAF a MEK inhibitorů

Vemurafenib, dabrafenib a trametinib jsou látky, které způsobují silnou defosforylaci kinasy regulované extracelulárním signálem (MEK/ERK) a potlačují transkripční výstup dráhy BRAF-MEK-ERK v HCL. Inhibice BRAF ovlivňuje profil HCL v celém genomu snížením jeho specifického expresního podpisu a markerů. Transkripčními cíli dráhy BRAF-MEK-ERK jsou například geny MAFF, ETV5, cyklin D1 (CCND1). Studie Pettirossi et al., 2015 prokazuje, že i další geny, které byly regulovány vemurafenibem zahrnovaly geny kódující proteiny, které jsou v HCL diagnostickými markery, například CD25 a tartát-rezistentní kyselou fosfatázu (TRAP). U jednoho pacienta se exprese cyklinu D1 v buňkách HCL imunohistochemicky posunula ze silné na slabou v biopsii kostní dřeně odebrané na začátku léčby a po 14 dnech užívání vemurafenibu (Obr. 10) (Pettirossi et al., 2015).



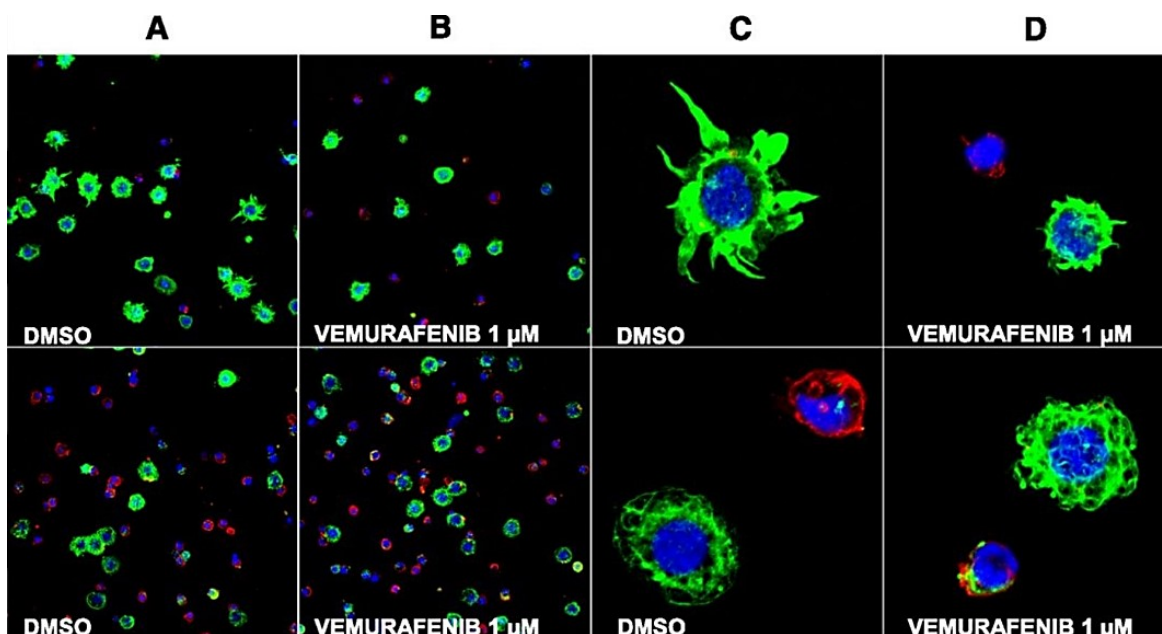
Obrázek 10: **Potlačení cyklinu D1** (hnědé nukleární barvení), šipka označuje cyklin D1+ (vnitřní kontrolu); (upraveno dle Pettirossi et al., 2015).

U dalšího pacienta se exprese CD25 změnila z 99 % leukemických vlasatých buněk na počátku léčby na 62 % po 7 dnech podávání vemurafenibu a na 9,7 % po 14 dnech užívání léčiva, exprese CD25 byla pozorována pomocí průtokové cytometrie (Obr. 11) (Pettirossi et al., 2015).



Obrázek 11: Průtoková cytometrická exprese povrchového CD25 v krevních leukemických buňkách (koexprimujících CD19 a CD103; modrá část CD45+), červená část představuje zbytek CD45+ krevních buněk; (upraveno dle Pettirossi et al., 2015).

Inhibice BRAF nebo MEK způsobuje ztrátu vlasaté morfologie v živých HCL buňkách, ale ne v buňkách, které jsou pouze HCL podobné. Při mikroskopickém pozorování bylo zjištěno, že HCL buňky, které jsou ošetřené inhibítorem BRAF vykazovaly značnou ztrátu „vlasatých“ výběžků a staly se hladšími a menšími, dokud ještě byly živé. Tato změna u HCL podobných buněk nenastala (Obr. 12). Inhibice BRAF/MEK tak indukuje ztrátu životaschopnosti v důsledku apoptózy v primárních HCL buňkách, a ne v buňkách podobných HCL (Pettirossi et al., 2015).



Obrázek 12: **Ztráta výběžků po inhibici BRAF.** První řádek ukazuje buňky pacienta s HCL, druhý řádek ukazuje buňky pacienta podobné HCL. U pacienta s HCL dochází ke ztrátě výběžků po inhibici BRAF; (upraveno dle Pettrossi et al., 2015).

3.2 Inhibitor Bruton tyrozinkinázy

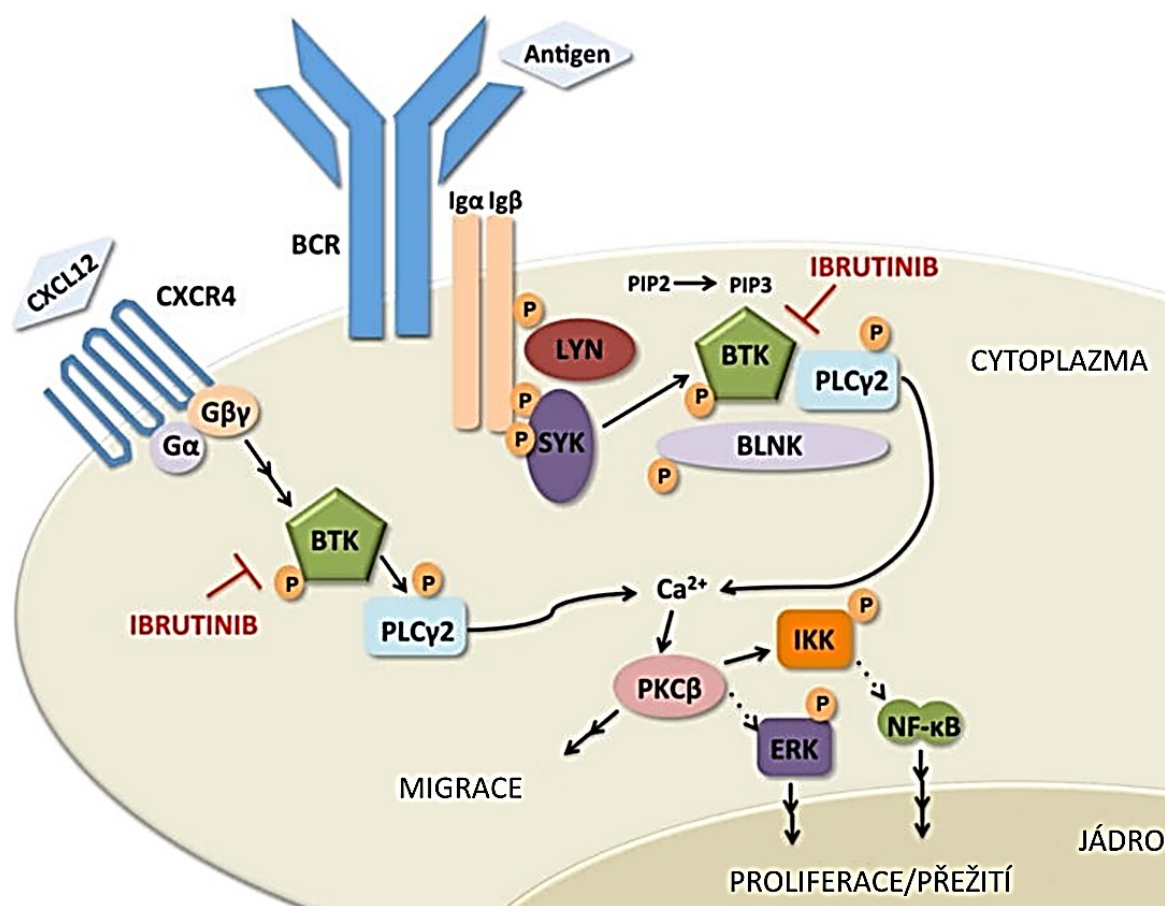
Signalizace B-buněčného receptoru (BCR) hraje velkou roli v progresi několika B lymfocytárních malignit, ale její role u HCL není zcela jednoznačná. Bruton tyrozinkináza (BTK) je klíčová v BCR signalizaci, migraci a adhezi, může být zaměřena pomocí ibrutinibu, selektivního ireverzibilního inhibitoru BTK (Sivina et al., 2014). Ibrutinib se podává perorálně jednou denně. Léčbu doprovázejí časté nežádoucí účinky, které jsou shrnuty v tabulce č. 1 (Rogers et al., 2021). Buňky HCL mohou být aktivovány prostřednictvím BCR, což zahrnuje downstream aktivaci BTK. Ibrutinib, inhibitor BTK, má přímý účinek na buňky HCL, inhibuje signalizaci downstream BCR a chemokinového receptoru (CXCR4), které jsou kritické pro přežití a proliferaci buněk HCL (Sivina et al., 2014). Ibrutinib má podstatný terapeutický přínos s trvalou kontrolou u pacientů s HCL, kteří mají relabující či refrakterní onemocnění nebo mají vHCL. Léčba je vhodná pro pacienty, u kterých nemusí být dobře tolerována chemoterapie PA (Rogers et al., 2021).

Tabulka 1: **Nežádoucí účinky u léčby pomocí inhibitoru Bruton tyrozinkinázy.** Výčet nežádoucích účinků klasifikovaných dle jednotlivých stupňů závažnosti vyjádřený počtem pacientů a procentem pacientů trpících danými nežádoucími účinky. Celkový počet pacientů byl 37 (100 %). Stupeň 1-2 jsou mírné až středně závažné nežádoucí účinky a nevyžadují obvykle žádnou intervenci, stupeň ≥ 3 jsou závažné nežádoucí účinky a mohou vyžadovat hospitalizaci, přerušení léčby nebo jiné intervence; (upraveno dle Rogers et al., 2021).

| Nežádoucí účinky | Stupeň 1-2 | | Stupeň ≥ 3 | | Σ všech stupňů | |
|---------------------------------|------------|----------|-----------------|----------|-----------------------|----------|
| | počet | procenta | počet | procenta | počet | procenta |
| Průjem | 22 | 59 | 0 | 0 | 22 | 59 |
| Únava | 20 | 54 | 0 | 0 | 20 | 54 |
| Myalgie | 20 | 54 | 0 | 0 | 20 | 54 |
| Nevolnost | 19 | 51 | 0 | 0 | 19 | 51 |
| Infekce HCD | 15 | 41 | 2 | 5 | 17 | 46 |
| Chudokrevnost | 14 | 38 | 2 | 5 | 16 | 43 |
| Modřiny | 16 | 43 | 0 | 0 | 16 | 43 |
| Hypertenze | 12 | 32 | 4 | 11 | 16 | 43 |
| Bolest hlavy | 15 | 41 | 0 | 0 | 15 | 41 |
| Snížený počet krevních destiček | 7 | 19 | 8 | 22 | 15 | 41 |
| Artralgie | 14 | 38 | 0 | 0 | 14 | 38 |
| Snížený počet lymfocytů | 6 | 16 | 7 | 19 | 13 | 35 |
| Snížený počet neutrofilů | 5 | 14 | 8 | 22 | 13 | 35 |
| Snížený počet bílých krvinek | 5 | 14 | 8 | 22 | 13 | 35 |
| Hyperurikémie | 11 | 30 | 0 | 0 | 11 | 30 |
| Zvýšený kreatinin | 10 | 27 | 0 | 0 | 10 | 27 |
| Hyperglykémie | 10 | 27 | 0 | 0 | 10 | 27 |
| Zvýšená hladina ALP | 9 | 24 | 0 | 0 | 9 | 24 |
| Zvýšená hladina AST | 8 | 22 | 0 | 0 | 8 | 22 |
| Zvýšený bilirubin v krvi | 7 | 19 | 1 | 3 | 8 | 22 |
| Hypoalbuminémie | 7 | 19 | 0 | 0 | 7 | 19 |
| Hypokalcémie | 7 | 19 | 0 | 0 | 7 | 19 |
| Plicní infekce | 1 | 3 | 6 | 16 | 7 | 19 |
| Zvracení | 6 | 16 | 1 | 3 | 7 | 19 |
| Zvýšená hladina ALT | 6 | 16 | 0 | 0 | 6 | 16 |
| Fibrilace síní | 6 | 16 | 0 | 0 | 6 | 16 |
| Dušnost | 5 | 14 | 1 | 3 | 6 | 16 |
| Sinusová bradykardie | 6 | 16 | 0 | 0 | 6 | 16 |
| Infekce močových cest | 5 | 14 | 1 | 3 | 6 | 16 |
| Zvýšený počet lymfocytů | 3 | 8 | 2 | 5 | 5 | 14 |
| Kožní infekce | 4 | 11 | 1 | 3 | 5 | 14 |
| Srdeční selhání | 0 | 0 | 2 | 5 | 2 | 5 |

3.2.1 Mechanismus účinku inhibitoru BTK

Aktivace BCR může být indukována antigenem nebo může být nezávislá na ligandu a spouští tak kaskádu signalizačních událostí, které normálně způsobují selekci, proliferaci, diferenciaci a produkci protilátek B lymfocytů. Fyziologická signalizace BCR umožňuje expanzi antigen-specifických B buněk a eliminaci nežádoucích, autoimunitních B buněk. U pacientů s HCL dochází k deregulaci signalizace BCR, která podporuje abnormální proliferaci a přežití nádorových B-lymfocytů. Tato deregulace zahrnuje konstitutivní aktivaci BTK, kinázy klíčové pro downstream signalizaci BCR. Signalizace BCR tak umožňuje expanzi vybraných, antigen-specifických B buněk a detekci nežádoucích, samovolně reagujících B buněk. Ibrutinib inhibuje downstream signalizaci BCR, čímž se sníží hladiny BCR-indukovaného aktivovaného p44/45 MAPK a protein kinázy B (AKT). Po stimulaci antigenem signalizace BCR indukuje fosforylaci LYN a SYK, která iniciuje signální kaskádu způsobující downstream aktivaci BTK. Dále indukuje uvolňování vápníku a spouští tak signální kaskádu vedoucí k proliferaci a přežití nádorových B-lymfocytů. BTK je zabudován do signálního komplexu v plazmatické membráně prostřednictvím připojení jeho pleckstrinové homologní domény, proteinová doména s klíčovou rolí v interakcích s dalšími molekulami, k fosfatidylinositol 3,4,5 trifosfátu (PIP3). Následně dochází k fosforylaci BTK, a proto se indukuje uvolňování vápníku, což iniciuje signální kaskádu s následnou indukcí buněčné proliferace a přežití (Obr. 13). BTK se také podílí na signalizaci CXCR4, který je důležitý zejména při migraci buněk a mohl by tak být vhodným cílem pro ibrutinib (Sivina et al., 2014).



Obrázek 13: Schéma znázorňující, jak může ibrutinib ovlivnit signalizace BCR a CXCR4 v HCL (BCR - B-buněčný receptor, LYN - Tyrosin-proteinkináza Lyn, SYK - Tyrosin-proteinkináza Syk, BTK - Bruton tyrozinkináza, PIP2 - Fosfatidylinositol-4,5-bisfosfát, PIP3 – Fosfatidylinositol-3,4,5-trisfosfát, PLCγ2 - 1-Fosfatidylinositol-4,5-bisfosfátfosfodiesteráza gama-2, BLNK - B-buněčný linker, CXCR4 - chemokinový receptor, CXCL12 - Chemokinový ligand motivu C-X-C 12, G – G-regulační protein, PKCβ - Proteinkináza C beta typu, IKK - IkappaB kináza, ERK - Extracelulární signálem regulovaná kináza, NFκB - nukleární faktor kappa B, P – fosforylace); (upraveno dle Sivina et al., 2014).

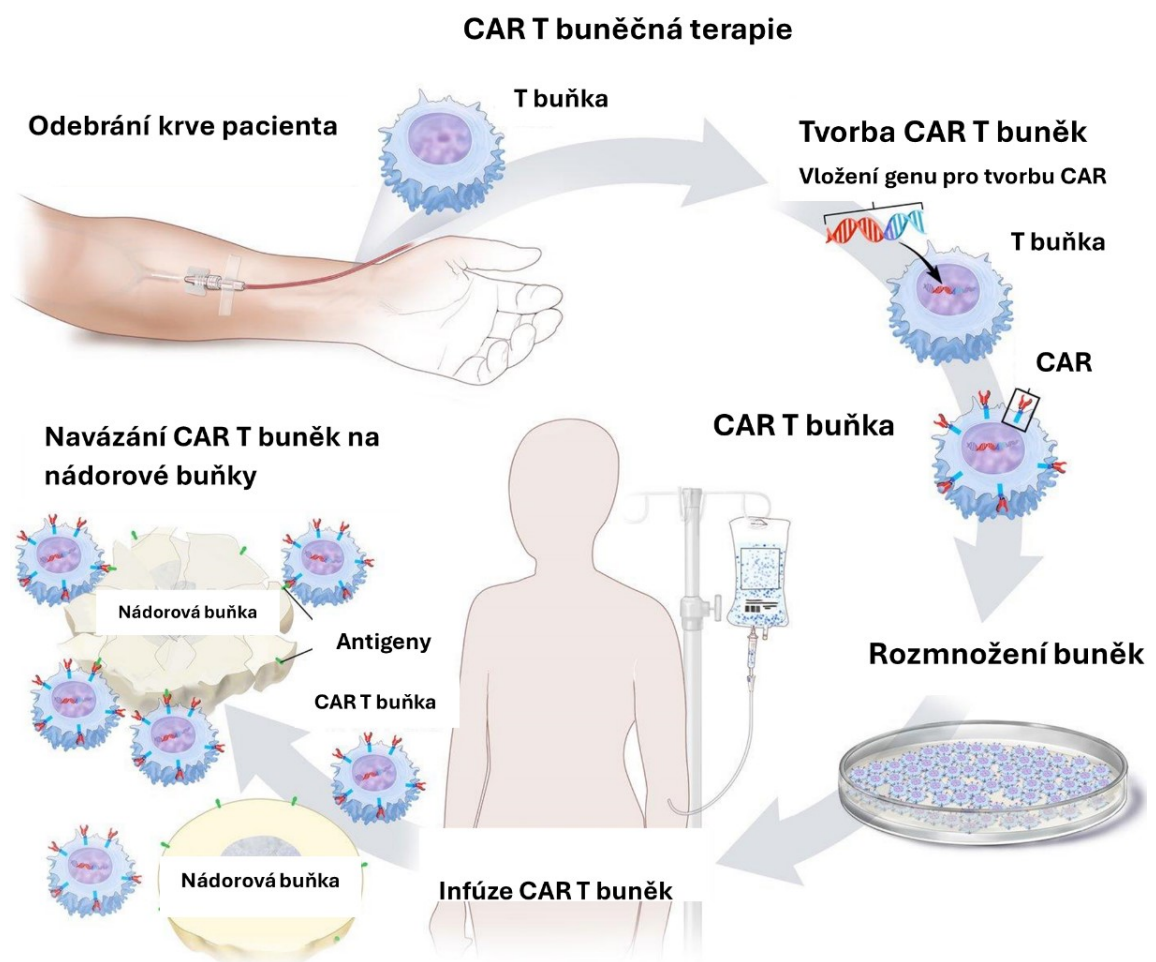
4 Léčba relabující HCL

Léčba relabujícího/refrakterního onemocnění závisí na počáteční terapii, kterou pacient podstoupil, odpovědi na předchozí terapii a načasování recidivy. U pacientů, u kterých proběhla počáteční odpověď v době 24 měsíců a delší je vhodná jako následná terapie kombinace PA s rituximabem (Mendez-Hernandez et al., 2023). U pacientů s kratší dobou odpovědi než 24 měsíců by měla být jako další léčba zvolena alternativní léčba k počáteční léčbě PA. Jako alternativní léčby mohou být použity BRAF inhibitory, rekombinantní imunokonjugáty cílené na CD22 a inhibitory BTK (Troussard et al., 2022; Grever et al., 2017). Obecně platí, že první remise je trvalejší než následné remise a je spojena s vyšším procentem kompletních remise. Přesto lze pomocí opakované léčby dosáhnout druhé nebo vyšší úplné remise. Při rozhodování o opakované léčbě je třeba zhodnotit předchozí léčbu a vzít v úvahu zařazení pacienta do skupiny s vysokým rizikem. Pacient může být léčen experimentální léčbou, pokud byly identifikovány znaky nepříznivé diagnózy, jako je například těžká anémie, slezina více než 10 cm pod levým spodním žebrem, atypický imunofenotypický profil, mutace genu p53, nezmutovaný IGHV a absence mutace BRAFV600E. Může být pacient léčen experimentálními léčbami (Grever et al., 2017). Dle studie Chihara et al. vede alogenní transplantace hematopoetických buněk u relabujícího/refrakterního HCL umožnilo dlouhodobé přežití u významného procenta pacientů, kteří již dříve podstoupili mnoho léčebných cyklů a jejichž možnosti další léčby byly omezené. Transplantaci prodělalo 24 pacientů z 19 transplantačních center, medián věku při transplantaci byl 50 let. Kompletní remise bylo dosaženo u 59 % pacientů, mortalita bez relapsu se vyskytla u 14 % pacientů. Alogenní transplantace hematopoetických buněk představuje potencionální terapeutickou možnost pro pacienty s HCL, kteří prodělali mnoho léčebných cyklů. Důležitým faktorem pro dosažení optimálních výsledků je pečlivý výběr pacientů vhodných pro alogenní transplantaci hematopoetických buněk. V úvahu je nutné vzít věk, celkový zdravotní stav a komorbidní onemocnění pacientů. Před transplantací je nutné provést přípravu pacienta, která zahrnuje chemoterapii a/nebo radiační terapii k minimalizaci nádorové masy a potlačení imunitního systému. Alogenní transplantace hematopoetických buněk je spojena s rizikem závažných komplikací, jako je infekce, *graft-versus-host disease* a transplantační toxicita (Chihara et al., 2023).

5 Nově vyvíjené způsoby léčby

5.1 Léčba pomocí chimérických antigenních receptorů

Terapie pomocí chimérických antigenních receptorů (CAR) je T-buněčná terapie, při které je imunitní systém naprogramován k útoku na rakovinné buňky. T buňky se odebírají z krve pacienta s HCL a jsou následně geneticky upraveny tak, aby na jejich povrchu byly CAR. Poté jsou takto modifikované T buňky pomocí infuze podány pacientovi (Obr. 14). Studie se snaží zjistit, zda CAR mohou pomoci T buňkám při identifikaci a napadání buněk HCL v celém těle a zdali je případná léčba bezpečná (Kreitman, 2022).



Obrázek 14: CAR T buněčná terapie; (upraveno dle Kreitman, 2022).

Zkoumá se také léčba CAR v kombinaci s B buněčný antivazebným faktorem (BAFF). Za normálních podmínek kostní dřeň produkuje kmenové buňky, které se mimo jiné stávají časnými B buňkami. Během dozrávání B buňky, buňka získává určité receptory na svém buněčném povrchu. Jedním z nich je receptor faktoru aktivujícího B buňky (BAFF-R). BAFF je protein, který se může vázat na tento receptor a napomáhá přežití zralých B buněk. HCL exprimují všechny tři receptory BAFF. Vyvinuly se tak BAFF-CAR-T buňky, které cílí na všechny tři BAFF receptory po sobě. BAFF CAR-T buňky se navážou na BAFF-receptory na buňkách HCL a aktivují T lymfocyty, které nakonec zabijí buňky HCL. Léčba využívá BAFF-CAR na bázi ligandu, BAFF vystupuje jako ligand, který se může vázat na všechny tři receptory BAFF, které jsou exprimovány maligními B buňkami včetně HCL. Receptory nejsou exprimovány žádnými fyziologickými buňkami v kostní dřeni. Tento přístup je tak velkým příslibem, jak specificky zabít buňky HCL bez dalších vedlejších účinků. CAR-T buňky se zaměřují specificky na buňky HCL, aniž by ovlivnily fyziologické buňky, výjimkou jsou podskupiny zralých B buněk (Parameswaran, 2023).

5.2 Léčba pomocí onkoembryonálního antigenu ROR1 a ROR2

Transmembránový receptor tyrosin-proteinkináza (ROR1 a ROR2) je na povrchu HCL buněk. ROR1 a ROR2 jsou proteiny, které hrají zásadní roli při tvorbě orgánů v embryu, ale na povrchu buněk zdravého dospělého jedince se již nenacházejí. ROR1 je pozorovatelný na rakovinných buňkách, které tento protein využívají k podpoře pohybu, přežití, proliferaci a sebeobnovení. Byla vytvořena první vysoce specifická monoklonální protilátka (mAb) proti ROR1, která může blokovat funkci ROR1. Protilátka mAb se může používat jako takzvaná „nahá“ protilátka nebo jako konjugát protilátka-lék, který se skládá z mAb proti ROR1 spojeného s toxinem, který může být dodáván do rakovinné buňky. Nově vyvinutá mAb specifická pro ROR2 se váže pouze na ROR2 nikoliv na ROR1 a jiné proteiny, normální krevní buňky nebo tkáně po porodu. Silně se váže pouze na buňky HCL. ROR1 a ROR2 tak představuje cíle specifické pro rakovinu, které se dají použít k zabíjení HCL buněk, včetně kmenových buněk HCL, které jsou potenciálně zodpovědné za návrat onemocnění po počáteční terapii. Studie sleduje, jak tyto proteiny ovlivňují expresi genů, které podporují přežití a sebeobnovu buněk HCL (Kipps, 2022).

6 Vyhodnocení léčby a prognóza

Pro dosažení kompletní remise je potřeba aby došlo k eliminaci buněk HCL neimunologickým Wrightovým barvením a hematoxylin/eosinem barvením kostní dřeně a krve pacienta. Kompletní remise je definována obnovou krevního obrazu. Hodnota neutrofilů v periferní krvi by se měla pohybovat nad hranicí $1,5 \times 10^9$ buněk/l krve. Hodnota hemoglobinu by měla být alespoň 110 - 120 g/l. Hladina trombocytů by musí být vyšší než 100×10^9 /l (Wierda et al., 2017; Cornet et al., 2014). Pokud je nedostatek železa je možné zanedbat hodnoty hemoglobinu, jelikož nedostatečné zásoby železa omezují tvorbu a obnovu erytrocytů (Kreitman a Arons, 2022). Splenomegalie by se měla hodnotit pomocí CT nebo MRI, mělo by dojít ke zmenšení o >25 % od výchozího stavu nebo na hodnotu <17 cm (Kreitman et al., 2018). Pro posouzení organomegalie a lymfatických uzlin se vyžaduje použití ultrazvuku nebo CT (Robak et al., 2015). Velikost lymfatických uzlin by měla být redukována na <2 cm (Kreitman a Arons, 2022).

Částečná remise s minimální reziduální nemocí je stanovována pomocí aspirační průtokové cytometrie kostní dřeně. Počet B-lymfocytů by měl být přibližně stejný jako počet T-lymfocytů, většina B-lymfocytů by měla odpovídat charakteristickému fenotypu HCL, což zahrnuje exprese CD19, CD20, CD11c, CD22 a slabou expresi CD103 (Kreitman a Arons, 2022).

Částečná remise je definována jako významné zlepšení klinických a laboratorních parametrů po léčbě HCL. Kritéria pro částečnou remisi vyžadují ≥ 50 % snížení velikosti hmatné sleziny, jater a lymfatických uzlin a vymizení cytopenií na hodnoty požadované pro částečnou remisi. Hematologické hodnoty neutrofilů, hemoglobinu a krevních destiček by se měli zlepšit o ≥ 50 % (Kreitman a Arons, 2022). Pacienti, kteří byli na začátku léčby závislí na transfuzi erytrocytů, se musí hodnoty hemoglobinu zlepšit alespoň na hodnotu 90 g/l (Kreitman et al., 2012). Populace HCL buněk musí být snížena o ≥ 50 % jak v kostní dřeni, tak i v periferní krvi (Tiacci et al., 2015).

Kritéria pro progresivní onemocnění vyžadují ≥ 25 % zhoršení cytopenií, které nejsou způsobeny toxicitou, nebo ≥ 25 % zhoršení hepatosplenomegalie, hodnocené na základě fyzikálního vyšetření, zobrazovacích metod nebo laboratorních testů. Kromě těchto kritérií se v některých případech zohledňuje také klinický stav pacienta, včetně symptomů, jako je únava, horečka, noční pocení a zvětšené lymfatické uzliny (Grever et al., 2017). Pacienti, kteří nespĺňují kritéria pro kompletní remisi, částečnou remisi a progresivní onemocnění, jsou považovány za pacienty se stabilizovaným

onemocněním, což znamená, že se jejich onemocnění nezhoršuje, ale ani nereaguje na léčbu, aby dosáhlo remise (Kreitman a Arons, 2022).

Po dokončení léčby a vyhodnocení klinické odpovědi s hodnocením kostní dřeně by měli být pacienti s HCL pravidelně sledováni rutinními fyzickými vyšetřeními a vyšetřením periferního krevního obrazu. Recidiva přetrvávajících cytopenií by měla být sledována pomocí opakovaného vyšetření kostní dřeně. Někteří pacienti mohou trpět autoimunitním onemocněním. Zatímco některé z těchto autoimunitních onemocnění jsou považovány za sekundární k dysfunkční imunitní odpovědi spojené se základním maligním procesem, jiné mohou být primární a mohou dokonce hrát roli v patogenezi HCL. Mezi sekundární autoimunitní onemocnění vyskytující se u pacientů s HCL patří Gravesova choroba, vitiligo, perniciózní anémie a myasthenia gravis. Primárními autoimunitními onemocněními jsou například revmatoidní artritida, celiakie, Crohnova choroba a lupus erythematoses. Autoimunitní komplikace mohou pro pacienty s HCL představovat závažné klinické problémy. Léčba autoimunitních komplikací závisí na typu postiženého orgánu a závažnosti symptomů, léčba může zahrnovat kortikosteroidy, imunosupresiva či biologickou léčbu (Dasanu et al., 2015). Pacienti, kteří byli léčeni pomocí PA jsou vystaveni riziku infekce až jeden rok po dokončení léčby, vyžadují tak pečlivé sledování (Getta et al., 2016). Nejčastější příčinou úmrtí pacientů, kteří podělali HCL, jsou bakteriální, virové a oportunní infekce. Purinové analogy prodlužují supresi imunitních efektorových buněk, jako jsou $CD4^+$ T lymfocyty a indukují hlubokou a prodlouženou neutropenií. Pacienti musí být poučeni o prevenci infekce a musí se naučit indikace pro vyhledání lékařské péče (Grever et al., 2017). Studie zjistily výskyt druhých primárních malignit u pacientů s HCL v rozmezí 7,3 – 24 %. Střední doba od diagnózy HCL do sekundárního karcinomu se liší podle věku, přičemž pacienti, kteří byli v době diagnózy ve věku mladším než 40 let, měli medián doby 19 let ve srovnání se 4 roky u pacientů starších 40 let (Paillassa et al., 2020). Výskyt sekundárních malignit se u starších pacientů zvyšuje s větším počtem linií léčby (Getta et al., 2016). Sekundární malignity jsou spojeny se samotnou patologií a s vnitřními imunitními změnami vyvolanými HCL, které snižují protinádorovou obranu (Wiber et al., 2020). Nejčastějšími sekundárními zhoubnými malignitami jsou kožní nádory (Wiber et al., 2020). Některé studie uvádějí zvláště zvýšené riziko vzniku non-Hodgkinových B-buněčných lymfomů (Hisada et al., 2007; Zheng et al., 2019; Cornet et al., 2014). Dalšími sekundárními karcinomy mohou být nemelanomový karcinom kůže, maligní melanom a karcinom prostaty. Ačkoli souvislost mezi rakovinou prostaty a HCL nebyla prokázána, v sérii více

než 1000 mužů, kteří podstoupili radikální prostatektomii pro rakovinu prostaty, bylo zjištěno, že 13 mužů mělo souběžnou hematologickou malignitu, devět chronických lymfocytárních leukémií, tři Hodgkinovy lymfomy a jedna leukémie z vlasatých buněk (Hisada et al., 2007).

ZÁVĚR

Vlasatobuněčná leukémie představuje vzácný typ rakoviny krve s charakteristickou akumulací "vlasatých" B-lymfocytů v krvi a slezině. Ačkoliv se jedná o chronické onemocnění, moderní léčebné přístupy nabízí pacientům s vlasatobuněčnou leukémií nadějnou prognózu s možností dosažení dlouhodobé remise, a v některých případech mohou být pacienti i zcela vyléčeni. Hlavní léčbou je v současné době stále léčba purinovými analogy, a to díky své šetrnosti k nenádorovým fyziologickým buňkám a cílenému působení na rakovinné buňky s vysokou mírou proliferace. Alternativou k léčbě purinovými analogy nebo doplňkem této léčby jsou často monoklonální protilátky. Využíván je v kombinaci s purinovými analogy zejména rituximab, a to z důvodu vzájemného doplnění a zesílení léčebného účinku. Léčba pomocí této kombinace má významně vyšší míru remisí ve srovnání s monoterapií purinovými analogy. U pacientů s rezistencí na purinové analogy a rituximab je využívána léčba pomocí imunotoxinů, která dosahuje vysoké účinnosti a vyvolává trvalé remise.

Novějším přístupem léčby je využití inhibitorů signalizačních cest. Na rozdíl od tradiční léčby, které obecně působí na rychle se dělící buňky, inhibitory blokují konkrétní signalizační cesty, které podporují růst a přežití rakovinných buněk. Ibrutinib je inhibitor Brutonovy tyrosinkinázy, která hraje klíčovou roli v signalizační dráze B-lymfocytů, blokuje tuto signalizační dráhu, čímž brání přežití a růstu rakovinných buněk. Ibrutinib schválenou léčbou pro pacientů, kteří nereagovali na jiné standardní léčebné postupy. Vemurafenib a dabrafenib jsou inhibitory BRAF, blokují abnormální signály podporující růst a dělení rakovinných buněk s touto mutací. BRAF inhibitory vyvolávají vysokou míru remise, zlepšují celkové přežití a dosahují rychlé remise.

Revolučním přístupem k léčbě HCL je použití chimérického receptoru antigenu na T-lymfocytech. Tato terapie využívá vlastní imunitní buňky pacienta, T-lymfocyty, k cílení a destrukci rakovinných buněk. Další právě probíhající studie se zaměřuje na léčbu pomocí onkoembryonálního antigenu ROR1 a ROR2. Oba tyto nové léčebné přístupy by mohly zvýšit procento remise a mohly by být novou a účinnou léčbou HCL.

SEZNAM CITACÍ

- 1) AKKAYA, Hampar; DOGAN, Oner; AGAN, Mehmet a DINCOL, Guncag, 2005. The value of tartrate resistant acid phosphatase (TRAP) immunoreactivity in diagnosis of hairy cell leukemia. *APMIS*. 113(3), s. 162-166. ISSN 0903-4641. DOI: 10.1111/j.1600-0463.2005.apm1130302.x.
- 2) ARONS, Evgeny; ROTH, Laura; SAPOLSKY, Jeffrey; SUNTUM, Tara; STETLER-STEVENSON, Maryalice et al., 2011. Evidence of canonical somatic hypermutation in hairy cell leukemia. *Blood*. 117(18), s. 4844-4851. ISSN 0006-4971. DOI: 10.1182/blood-2010-11-316737.
- 3) ARRIBAS, Alberto J.; RINALDI, Andrea; CHIODIN, Giorgia; KWEE, Ivo; MENSAH, Afua Adjeiwaa et al., 2019. Genome-wide promoter methylation of hairy cell leukemia. *Blood Advances*. 3(3), s. 384-396. ISSN 2473-9529. 10.1182/bloodadvances.2018024059.
- 4) BASSO, Katia; LISO, Arcangelo; TIACCI, Enrico; BENEDETTI, Roberta; PULSONI, Alessandro et al., 2004. Gene Expression Profiling of Hairy Cell Leukemia Reveals a Phenotype Related to Memory B Cells with Altered Expression of Chemokine and Adhesion Receptors. *The Journal of Experimental Medicine*. 199(1), s. 59-68. ISSN 1540-9538. DOI: 10.1084/jem.20031175.
- 5) BOURONCLE, Bertha A.; WISEMAN, Bruce K. a DOAN, Charles A., 1958. Leukemic Reticuloendotheliosis. *Blood*. 13(7), s. 609-630. ISSN 0006-4971. DOI: 10.1182/blood.V13.7.609.609.
- 6) BOUZA, E; BURGALETA, C a GOLDE, DW, 1978. Infections in hairy-cell leukemia. *Blood*. 51(5), s. 851-859. ISSN 0006-4971. DOI: 10.1182/blood.V51.5.851.851.
- 7) BRUNETTI, Lorenzo; DI NOTO, Rosa; ABATE, Giovanna; GORRESE, Marisa; GRAVETTI, Angela et al., 2009. CD200/OX2, a cell surface molecule with immunoregulatory function, is consistently expressed on hairy cell leukaemia neoplastic cells. *British Journal of Haematology*. 145(5), s. 665-667. ISSN 0007-1048. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2009.07644.x.
- 8) BUROTTO, Mauricio; STETLER-STEVENSON, Maryalice; ARONS, Evgeny; ZHOU, Hong; WILSON, Wyndham et al., 2013. Bendamustine and Rituximab in Relapsed and Refractory Hairy Cell Leukemia. *Clinical Cancer Research*. 19(22), s. 6313-6321. ISSN 1078-0432. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-13-1848.
- 9) CENARIU, Diana; RUS, Ioana; BERGTHORSSON, Jon Thor; GREWAL, Ravnit; CENARIU, Mihai et al., 2023. Flow Cytometry of CD5-Positive Hairy Cell Leukemia. *Mol Diagn Ther*. 27(5), s. 593-599. ISSN 1177-1062. DOI: 10.1007/s40291-023-00658-x.
- 10) CORNET, Edouard; DELMER, Alain; FEUGIER, Pierre; GARNACHE-OTTOU, Francine; GHEZ, David et al., 2014. Recommendations of the SFH (French Society of Haematology) for the diagnosis, treatment and follow-up of hairy cell leukaemia. *Annals of Hematology*. 93(12), s. 1977-1983. ISSN 0939-5555. DOI: 10.1007/s00277-014-2140-y.
- 11) CORNET, Edouard; TOMOWIAK, Cécile; TANGUY-SCHMIDT, Aline; LEPRETRE, Stéphane; DUPUIS, Jehan et al., 2014. Long-term follow-up and second malignancies in 487 patients with hairy cell leukaemia. *British Journal of Haematology*. 166(3), s. 390-400. ISSN 0007-1048. DOI: 10.1111/bjh.12908.

- 12) CROSS, Matthew a DEARDEN, Claire, 2020. Hairy Cell Leukaemia. *Current Oncology Reports*. 22(5). ISSN 1523-3790. DOI: 10.1007/s11912-020-00911-0.
- 13) DASANU, Constantin A.; VAN DEN BERGH, Magali; PEPITO, Donna a ALVAREZ ARGOTE, Juliana, 2015. Autoimmune disorders in patients with hairy cell leukemia: are they more common than previously thought?. *Current Medical Research and Opinion*. 31(1), s. 17-23. ISSN 0300-7995. DOI: 10.1185/03007995.2014.971358.
- 14) DIETRICH, S.; ANDRULIS, M. a ZENZ, T., 2015. Haarzelleukämie. *Der Internist*. 56(4), s. 381-390. ISSN 0020-9554. DOI: 10.1007/s00108-014-3599-2.
- 15) DORES, Graça M.; MATSUNO, Rayna K.; WEISENBURGER, Dennis D.; ROSENBERG, Philip S. a ANDERSON, William F., 2008. Hairy cell leukaemia: a heterogeneous disease?. *British Journal of Haematology*. 142(1), s. 45-51. ISSN 0007-1048. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2008.07156.x.
- 16) DORFMAN, David M.; HWANG, Eun Sook; SHAHSAFAEI, Aliakbar a GLIMCHER, Laurie H., 2004. T-bet, a T-Cell–Associated Transcription Factor, Is Expressed in a Subset of B-Cell Lymphoproliferative Disorders. *American Journal of Clinical Pathology*. 122(2), s. 292-297. ISSN 0002-9173. DOI: 10.1309/AQQ2DVM75DVY0PWP.
- 17) ELSE, Monica; DEARDEN, Claire E.; MATUTES, Estella; GARCIA-TALAVERA, Juan; ROHATINER, Ama Z. S. et al., 2009. Long-term follow-up of 233 patients with hairy cell leukaemia, treated initially with pentostatin or cladribine, at a median of 16 years from diagnosis. *British Journal of Haematology*. 145(6), s. 733-740. ISSN 00071048. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2009.07668.x.
- 18) EPPERLA, Narendranath; ZHAO, Qihong; ANGHELINA, Mirela; NEAL, Jasmine; BLACHLY, James Stewart et al., 2022. Impact of sex on outcomes in patients with hairy cell leukemia (HCL): An HCL Patient Data Registry (PDR) analysis. *Journal of Clinical Oncology*. 40(16), s. 7577-7577. ISSN 0732-183X. DOI: 10.1200/JCO.2022.40.16_suppl.7577.
- 19) ERSAL, Tuba; ÖZKALEMKAŞ, Fahir; ÖZKOCAMAN, Vildan; PINAR, İbrahim Ethem; YALÇIN, Cumali et al., 2023. Subcutaneous and Intravenous Cladribine Treatment of Hairy Cell Leukemia Patients: Do We Still Need Intravenous Cladribine?. *Turkish Journal of Internal Medicine*. 5(2), s. 109-116. ISSN 2687-4245. DOI: 10.46310/tjim.1239905.
- 20) FALINI, Brunangelo; TIACCI, Enrico; LISO, Arcangelo; BASSO, Katia; SABATTINI, Elena et al., 2004. Simple diagnostic assay for hairy cell leukaemia by immunocytochemical detection of annexin A1 (ANXA1). *The Lancet*. 363(9424), s. 1869-1871. ISSN 01406736. DOI: 10.1016/S0140-6736(04)16356-3.
- 21) FLANDRIN, G.; DANIEL, M.T.; FOURCADE, M. a CHELLOUL, N., 1973. Leucémie à "tricholeucocyte" (hairy cell leukemia). Etude clinique et cytologique de 55 observations [Hairy cell leukemia (tricholeukocyte leukemia)]. *Nouv Rev Fr Hematol*. 13(5), s. 609-40. DOI: pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/4280549/.
- 22) FORCONI, Francesco; SOZZI, Elisa; CENCINI, Emanuele; ZAJA, Francesco; INTERMESOLI, Tamara et al., 2009. Hairy cell leukemias with unmutated IGHV genes define the minor subset refractory to single-agent cladribine and with more aggressive behavior. *Blood*. 114(21), s. 4696-4702. ISSN 0006-4971. DOI: 10.1182/blood-2009-03-212449.

- 23) GETTA, Bartłomiej M.; WOO, Kaitlin M.; DEVLIN, Sean; PARK, Jae H.; ABDEL-WAHAB, Omar et al., 2016. Treatment outcomes and secondary cancer incidence in young patients with hairy cell leukaemia. *British Journal of Haematology*. 175(3), s. 402-409. ISSN 0007-1048. DOI: 10.1111/bjh.14207.
- 24) GHADIALLY, F.N. a SKINNIDER, L.F., 1972. Ultrastructure of hairy cell leukemia. *Cancer*. 29(2), s. 444-452. ISSN 0008-543X. DOI: 10.1002/1097-0142(197202)29:2<444::AID-CNCR2820290229>3.0.CO;2-G.
- 25) GOLOMB, H.M.; JACOBS, A.; FEFER, A.; OZER, H.; THOMPSON, J. et al., 1986. Alpha-2 interferon therapy of hairy-cell leukemia: a multicenter study of 64 patients. *Journal of Clinical Oncology*. 4(6), s. 900-905. ISSN 0732-183X. DOI: 10.1200/JCO.1986.4.6.900.
- 26) GOLOMB, H.M. a VARDIMAN, J.W., 1983. Response to splenectomy in 65 patients with hairy cell leukemia: an evaluation of spleen weight and bone marrow involvement. *Blood*. 61(2), s. 349-352. ISSN 0006-4971. DOI: 10.1182/blood.V61.2.349.349.
- 27) GOLOMB, Harvey M., 1978. Hairy Cell Leukemia. *Annals of Internal Medicine*. 89(5). ISSN 0003-4819. DOI: 10.7326/0003-4819-89-5-677.
- 28) GOLOMB, Harvey M., 1978. Hairy Cell Leukemia. *Annals of Internal Medicine*. 89(5). ISSN 0003-4819. DOI: 10.7326/0003-4819-89-5-677.
- 29) GREVER, Michael R.; ABDEL-WAHAB, Omar; ANDRITSOS, Leslie A.; BANERJI, Versha; BARRIENTOS, Jacqueline et al., 2017. Consensus guidelines for the diagnosis and management of patients with classic hairy cell leukemia. *Blood*. 129(5), s. 553-560. ISSN 0006-4971. DOI: 10.1182/blood-2016-01-689422.
- 30) GUJRAL, Sumeet; GALANI, KomalS; SUBRAMANIAN, PG; GADAGE, VijayaS; RAHMAN, Khaliqur et al., 2012. Clinico-pathological profile of Hairy cell leukemia: Critical insights gained at a tertiary care cancer hospital. *Indian Journal of Pathology and Microbiology*. 55(1). ISSN 0377-4929. DOI: 10.4103/0377-4929.94858.
- 31) GUPTA, ArvindKumar; SACHDEVA, ManUpdesh Singh; AHLUWALIA, Jasmina; DAS, Reena; NASEEM, Shano et al., 2015. Haematological profile of 21 patients with hairy cell leukaemia in a tertiary care centre of north India. *Indian Journal of Medical Research*. 142(4). ISSN 0971-5916. DOI: 10.4103/0971-5916.169204.
- 32) GUPTA, Gaurav K; SUN, Xiaoping; YUAN, Constance M; STETLER-STEVENSON, Maryalice; KREITMAN, Robert J et al., 2020. Usefulness of Dual Immunohistochemistry Staining in Detection of Hairy Cell Leukemia in Bone Marrow. *American Journal of Clinical Pathology*. 153(3), s. 322-327. ISSN 0002-9173. DOI: 10.1093/ajcp/aqz171.
- 33) HELENE, Hounieu; CHITTAL, Shashikant M.; AL SAATI, Talal; DE MASCAREL, Antoine; SABATTINI, Elena et al., 1992. Hairy Cell Leukemia: Diagnosis of Bone Marrow Involvement in Paraffin-Embedded Sections with Monoclonal Antibody DBA.44. *American Journal of Clinical Pathology*. 98(1), s. 26-33. ISSN 1943-7722. DOI: 10.1093/ajcp/98.1.26.
- 34) HISADA, Michie; CHEN, Bingshu E.; JAFFE, Elaine S. a TRAVIS, Lois B., 2007. Second Cancer Incidence and Cause-Specific Mortality Among 3104 Patients With Hairy Cell Leukemia: A Population-Based Study. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*. 99(3), s. 215-222. ISSN 1460-2105. DOI: 10.1093/jnci/djk030.
- 35) HOOFNAGLE, Jay H.; SERRANO, Jose; KNOBEN, James E. a NAVARRO, Victor J., 2013. LiverTox: A website on drug-induced liver injury. *Hepatology*. 57(3), s. 873-874. ISSN 02709139. DOI: 10.1002/hep.26175.

- 36) CHIHARA, Dai; ARONS, Evgeny; STETLER-STEVENSON, Maryalice; YUAN, Constance M.; WANG, Hao-Wei et al., 2020. Randomized Phase II Study of First-Line Cladribine With Concurrent or Delayed Rituximab in Patients With Hairy Cell Leukemia. *Journal of Clinical Oncology*. 38(14), s. 1527-1538. ISSN 0732-183X. DOI: 10.1200/JCO.19.02250.
- 37) CHIHARA, Dai; GRAS, Luuk; ZINGER, Nienke; KRÖGER, Nicolaus; MAYER, Jiri et al., 2023. Allogeneic hematopoietic cell transplant for hairy cell leukemia: EBMT experience. *Haematologica*. 108(6), s. 1676-1679. ISSN 1592-8721. DOI: 10.3324/haematol.2022.281754.
- 38) CHIHARA, Dai; KANTARJIAN, Hagop; O'BRIEN, Susan; JORGENSEN, Jeffrey; PIERCE, Sherry et al., 2016. Long-term durable remission by cladribine followed by rituximab in patients with hairy cell leukaemia: update of a phase II trial. *British Journal of Haematology*. 174(5), s. 760-766. ISSN 0007-1048. DOI: 10.1111/bjh.14129.
- 39) CHROBÁK, Ladislav, 1999. *Leukémie s vlasatými buňkami*. První. Praha: Galén. ISBN 80-726-2019-3.
- 40) IKEBE, Taichi; SASAKI, Hitohiro; TAKATA, Hiroyuki; MIYAZAKI, Yasuhiko; OHTSUKA, Eiichi et al., 2016. Toxoplasmic Encephalitis with Untreated Hairy Cell Leukemia Variant. *Internal Medicine*. 55(21), s. 3175-3180. ISSN 0918-2918. DOI: 10.2169/internalmedicine.55.6668.
- 41) JANCKILA, AJ; CARDWELL, EM; YAM, LT a LI, CY, 1995. Hairy cell identification by immunohistochemistry of tartrate-resistant acid phosphatase. *Blood*. 85(10), s. 2839-2844. ISSN 0006-4971. DOI: 10.1182/blood.V85.10.2839.bloodjournal85102839.
- 42) JANSEN, J.; DEN OTTOLANDER, G.J.; TE VELDE, J. a LOPES CARDOZO, P., 2004. Clinical Differential Diagnosis of Hairy-Cell Leukaemia. *Acta Haematologica*. 64(4), s. 181-194. ISSN 0001-5792. DOI: 10.1159/000207249.
- 43) JANUS, Agnieszka a ROBAK, Tadeusz, 2022. Hairy Cell Leukemia. *Leukemia*. s. 33-52. ISBN 9780645332070. DOI: 10.36255/exon-publications-leukemia-hairy-cell-leukemia.
- 44) JÖHRENS, Korinna; STEIN, Harald a ANAGNOSTOPOULOS, Ioannis, 2007. T-bet Transcription Factor Detection Facilitates the Diagnosis of Minimal Hairy Cell Leukemia Infiltrates in Bone Marrow Trepines. *American Journal of Surgical Pathology*. 31(8), s. 1181-1185. ISSN 0147-5185. DOI: 10.1097/PAS.0b013e318031045b.
- 45) KATAYAMA, Isao, 1988. Bone Marrow in Hairy Cell Leukemia. *Hematology/Oncology Clinics of North America*. 2(4), s. 585-602. ISSN 08898588. DOI: 10.1016/S0889-8588(18)30586-0.
- 46) KIPPS, Thomas, 2022. *Targeting Oncoembryonic Antigens ROR1 and ROR2 For Therapy Of Patients With Hairy Cell Leukemia*. DOI: www.lls.org/award/targeting-oncoembryonic-antigens-ror1-and-ror2-therapy-patients-hairy-cell-leukemia.
- 47) KONKAY, Kaumudi; UPPIN, Megha S.; UPPIN, Shantveer G.; RAGHUNADHA RAO, D.; GEETHA, CH. et al., 2014. Hairy Cell Leukemia: Clinicopathological and Immunophenotypic Study. *Indian Journal of Hematology and Blood Transfusion*. 30(3), s. 180-186. ISSN 0971-4502. DOI: 10.1007/s12288-013-0231-x.
- 48) KREFT, A.; BÜSCHE, G.; BERNHARDS, J. a GEORGII, A., 1997. Immunophenotype of hairy-cell leukaemia after cold polymerization of methyl-methacrylate embeddings from 50

- diagnostic bone marrow biopsies. *Histopathology*. 30(2), s. 145-151. ISSN 0309-0167. DOI: 10.1046/j.1365-2559.1997.d01-581.x.
- 49) KREITMAN, Robert J, 1999. Immunotoxins in cancer therapy. *Current Opinion in Immunology*. 11(5), s. 570-578. ISSN 09527915. DOI: 10.1016/S0952-7915(99)00005-9.
- 50) KREITMAN, Robert J, 2022. *Clinical trial researches CAR T-cell therapy for hairy cell leukemia*. DOI: ccr.cancer.gov/news/article/clinical-trial-researches-car-t-cell-therapy-for-hairy-cell-leukemia.
- 51) KREITMAN, Robert J. a ARONS, Evgeny, 2022. Diagnosis and treatment of hairy cell leukemia as the COVID-19 pandemic continues. *Blood*. 51. ISSN 0268960X. DOI: 10.1016/j.blre.2021.100888.
- 52) KREITMAN, Robert J.; DEARDEN, Claire; ZINZANI, Pier Luigi; DELGADO, Julio; KARLIN, Lionel et al., 2018. Moxetumomab pasudotox in relapsed/refractory hairy cell leukemia. *Leukemia*. 32(8), s. 1768-1777. ISSN 0887-6924. DOI: 10.1038/s41375-018-0210-1.
- 53) KREITMAN, Robert J.; DEARDEN, Claire; ZINZANI, Pier Luigi; DELGADO, Julio; ROBAK, Tadeusz et al., 2021. Moxetumomab pasudotox in heavily pre-treated patients with relapsed/refractory hairy cell leukemia (HCL): long-term follow-up from the pivotal trial. 14(1). ISSN 1756-8722. DOI: 10.1186/s13045-020-01004-y.
- 54) KREITMAN, Robert J.; MOREAU, Philippe; RAVANDI, Farhad; HUTCHINGS, Martin; GAZZAH, Anas et al., 2023. Dabrafenib plus trametinib in patients with relapsed/refractory BRAF V600E mutation–positive hairy cell leukemia. *Blood*. 141(9), s. 996-1006. ISSN 0006-4971. DOI: 10.1182/blood.2021013658.
- 55) KREITMAN, Robert J.; STETLER-STEVENSON, Maryalice; MARGULIES, Inger; NOEL, Pierre; FITZGERALD, David J.P. et al., 2009. Phase II Trial of Recombinant Immunotoxin RFB4(dsFv)-PE38 (BL22) in Patients With Hairy Cell Leukemia. *Journal of Clinical Oncology*. 27(18), s. 2983-2990. ISSN 0732-183X. DOI: 10.1200/JCO.2008.20.2630.
- 56) KREITMAN, Robert J.; TALLMAN, Martin S.; ROBAK, Tadeusz; COUTRE, Steven; WILSON, Wyndham H. et al., 2012. Phase I Trial of Anti-CD22 Recombinant Immunotoxin Moxetumomab Pasudotox (CAT-8015 or HA22) in Patients With Hairy Cell Leukemia. *Journal of Clinical Oncology*. 30(15), s. 1822-1828. ISSN 0732-183X. DOI: 10.1200/JCO.2011.38.1756.
- 57) KREITMAN, Robert J.; WILSON, Wyndham H.; BERGERON, Karen; RAGGIO, Miranda; STETLER-STEVENSON, Maryalice et al., 2001. Efficacy of the Anti-CD22 Recombinant Immunotoxin BL22 in Chemotherapy-Resistant Hairy-Cell Leukemia. *New England Journal of Medicine*. 345(4), s. 241-247. ISSN 0028-4793. DOI: 10.1056/NEJM200107263450402.
- 58) KUMAR, Priyadarshini; GAO, Qi; CHAN, Alexander; LEWIS, Natasha; SIGLER, Allison et al., 2020. Hairy cell leukemia expresses programmed death-1. *Blood Cancer Journal*. 10(11). ISSN 2044-5385. DOI: 10.1038/s41408-020-00384-1.
- 59) LEMEŽ, P. a KAČÍRKOVÁ, P., 2014. Variations of hairy cell nuclei shapes with regard to ring-shaped nuclei simulating dysplastic neutrophilic granulocytes and review of the literature. *International Journal of Laboratory Hematology*. 36(5), s. 580-586. ISSN 1751-5521. DOI: 10.1111/ijlh.12195.
- 60) MAITRE, Elsa; BERTRAND, Philippe; MAINGONNAT, Catherine; VIAILLY, Pierre-Julien; WIBER, Margaux et al., 2018. New generation sequencing of targeted genes in the

classical and the variant form of hairy cell leukemia highlights mutations in epigenetic regulation genes. *Oncotarget*. 9(48), s. 28866-28876. ISSN 1949-2553. DOI: 10.18632/oncotarget.25601.

- 61) MAITRE, Elsa; CORNET, Edouard; SALAÛN, Véronique; KERNEVES, Pauline; CHÈZE, Stéphane et al., 2022. Immunophenotypic Analysis of Hairy Cell Leukemia (HCL) and Hairy Cell Leukemia-like (HCL-like) Disorders. *Cancers*. 14(4). ISSN 2072-6694. DOI: 10.3390/cancers14041050.
- 62) MAITRE, Elsa; TOMOWIAK, Cécile; LEBECQUE, Benjamin; BIJOU, Fontanet; BENABED, Khaled et al., 2022. Deciphering Genetic Alterations of Hairy Cell Leukemia and Hairy Cell Leukemia-like Disorders in 98 Patients. *Cancers*. 14(8). ISSN 2072-6694. DOI: 10.3390/cancers14081904.
- 63) MATUTES, Estella, 2006. Immunophenotyping and Differential Diagnosis of Hairy Cell Leukemia. *Hematology/Oncology Clinics of North America*. 20(5), s. 1051-1063. ISSN 08898588. DOI: 10.1016/j.hoc.2006.06.012.
- 64) MENDEZ-HERNANDEZ, Andres; MOTURI, Krishna; HANSON, Valeria a ANDRITSOS, Leslie A., 2023. Hairy Cell Leukemia: Where Are We in 2023?. *Current Oncology Reports*. 25(8), s. 833-840. ISSN 1523-3790. DOI: 10.1007/s11912-023-01419-z.
- 65) MOORE, Jeremiah E.; DELIBERT, Kendra; BARAN, Andrea M.; EVANS, Andrew G.; LIESVELD, Jane L. et al., 2021. Targeted therapy for treatment of patients with classical hairy cell leukemia. *Leukemia Research*. 102. ISSN 01452126. DOI: 10.1016/j.leukres.2021.106522.
- 66) PAILLASSA, Jerome; CORNET, Edouard; NOEL, Stephanie; TOMOWIAK, Cecile; LEPRETRE, Stephane et al., 2020. Analysis of a cohort of 279 patients with hairy-cell leukemia (HCL): 10 years of follow-up. *Blood Cancer Journal*. 10(5). ISSN 2044-5385. DOI: 10.1038/s41408-020-0328-z.
- 67) PARAMESWARAN, Reshmi, 2023. *A novel BAFF CAR-T for treatment of HCL*. DOI: www.lls.org/award/novel-baff-car-t-treatment-hcl.
- 68) PERROTTA, Kirstie; KIERNAN, Elizabeth; BANDOLI, Gretchen; MANASTER, Rachel a CHAMBERS, Christina, 2021. Pregnancy outcomes following maternal treatment with rituximab prior to or during pregnancy: a case series. *Rheumatology Advances in Practice*. 5(1). ISSN 2514-1775. DOI: 10.1093/rap/rkaa074.
- 69) PETTIROSSI, Valentina; SANTI, Alessia; IMPERI, Elisa; RUSSO, Guido; PUCCIARINI, Alessandra et al., 2015. BRAF inhibitors reverse the unique molecular signature and phenotype of hairy cell leukemia and exert potent antileukemic activity. *Blood*. 125(8), s. 1207-1216. ISSN 0006-4971. DOI: 10.1182/blood-2014-10-603100.
- 70) QUEST, Graeme R. a JOHNSTON, James B., 2015. Clinical features and diagnosis of hairy cell leukemia. *Best Practice & Research Clinical Haematology*. 28(4), s. 180-192. ISSN 15216926. DOI: 10.1016/j.beha.2015.10.017.
- 71) RAHMAN, Khaliqur; KUMARI, Surabhi; SINGH, Manish Kumar; GUPTA, Ruchi; YADAV, Geeta et al., 2018. Atypical presentation of hairy cell leukemia. *Journal of Cancer Research and Therapeutics*. 14(5), s. 1130-1134. ISSN 0973-1482. DOI: 10.4103/0973-1482.188432.
- 72) ROBAK, Pawel; JESIONEK-KUPNICKA, Dorota; KUPNICKI, Piotr; POLLIACK, Aaron a ROBAK, Tadeusz, 2021. Multifocal osteolytic lesions in hairy cell leukemia—the

- importance of PET/CT in diagnosis and assessment. *Annals of Hematology*. 100(6), s. 1641-1645. ISSN 0939-5555. DOI: 10.1007/s00277-020-04121-3.
- 73) ROBAK, Pawel; JESIONEK-KUPNICKA, Dorota; KUPNICKI, Piotr; POLLIACK, Aaron a ROBAK, Tadeusz, 2020. Bone lesions in hairy cell leukemia: Diagnosis and treatment. *European Journal of Haematology*. 105(6), s. 682-691. ISSN 0902-4441. DOI: 10.1111/ejh.13505.
- 74) ROBAK, T.; MATUTES, E.; CATOVSKY, D.; ZINZANI, P.L. a BUSKE, C., 2015. Hairy cell leukaemia: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Annals of Oncology*. 26(5), s. 100-107. ISSN 09237534. DOI: 10.1093/annonc/mdv200.
- 75) ROBAK, Tadeusz, 2011. Hairy-cell leukemia variant: Recent view on diagnosis, biology and treatment. *Cancer Treatment Reviews*. 37(1), s. 3-10. ISSN 03057372. DOI: 10.1016/j.ctrv.2010.05.003.
- 76) ROGERS, Kerry A.; ANDRITSOS, Leslie A.; WEI, Lai; MCLAUGHLIN, Eric M.; RUPPERT, Amy S. et al., 2021. Phase 2 study of ibrutinib in classic and variant hairy cell leukemia. *Blood*. 137(25), s. 3473-3483. ISSN 0006-4971. DOI: 10.1182/blood.2020009688.
- 77) SAVEN, Alan; BURIAN, Carol; KOZIOL, James A. a PIRO, Lawrence D., 1998. Long-Term Follow-Up of Patients With Hairy Cell Leukemia After Cladribine Treatment. *Blood*. 92(6), s. 1918-1926. ISSN 1528-0020. DOI: 10.1182/blood.V92.6.1918.
- 78) SEYMOUR, JF; TALPAZ, M a KURZROCK, R, 1997. Response duration and recovery of CD4 lymphocytes following deoxycoformycin in interferon- α -resistant hairy cell leukemia: 7-year follow-up. *Leukemia*. 11(1), s. 42-47. ISSN 0887-6924. DOI: 10.1038/sj.leu.2400513.
- 79) SHAO, Haipeng; CALVO, Katherine R.; GRÖNBORG, Marlene; TEMBHARE, Prashant R.; KREITMAN, Robert J. et al., 2013. Distinguishing hairy cell leukemia variant from hairy cell leukemia: Development and validation of diagnostic criteria. *Leukemia Research*. 37(4), s. 401-409. ISSN 01452126. DOI: 10.1016/j.leukres.2012.11.021.
- 80) SHERMAN, Michael J.; HANSON, Curtis A. a HOYER, James D., 2011. An Assessment of the Usefulness of Immunohistochemical Stains in the Diagnosis of Hairy Cell Leukemia. *American Journal of Clinical Pathology*. 136(3), s. 390-399. ISSN 1943-7722. DOI: 10.1309/AJCP5GE1PSBMBZTW.
- 81) SIVINA, Mariela; KREITMAN, Robert J.; ARONS, Evgeny; RAVANDI, Farhad a BURGER, Jan A., 2014. The bruton tyrosine kinase inhibitor ibrutinib (PCI -32765) blocks hairy cell leukaemia survival, proliferation and B cell receptor signalling: a new therapeutic approach. *British Journal of Haematology*. 166(2), s. 177-188. ISSN 0007-1048. DOI: 10.1111/bjh.12867.
- 82) STETLER-STEVENSON, Maryalice a TEMBHARE, Prashant R., 2011. Diagnosis of hairy cell leukemia by flow cytometry. *Leukemia & Lymphoma*. 52(2), s. 11-13. ISSN 1042-8194. DOI: 10.3109/10428194.2011.570820.
- 83) TIACCI, Enrico; DE CAROLIS, Luca; SIMONETTI, Edoardo; CAPPONI, Monia; AMBROSETTI, Achille et al., 2021. Vemurafenib plus Rituximab in Refractory or Relapsed Hairy-Cell Leukemia. *New England Journal of Medicine*. 384(19), s. 1810-1823. ISSN 0028-4793. DOI: 10.1056/NEJMoa2031298.
- 84) TIACCI, Enrico; DE CAROLIS, Luca; SIMONETTI, Edoardo; MERLUZZI, Mara; BENNATI, Antonio et al., 2021. Safety and efficacy of the BRAF inhibitor dabrafenib in

- relapsed or refractory hairy cell leukemia: a pilot phase-2 clinical trial. *Leukemia*. 35(11), s. 3314-3318. ISSN 0887-6924. DOI: 10.1038/s41375-021-01210-8.
- 85) TIACCI, Enrico; PARK, Jae H.; DE CAROLIS, Luca; CHUNG, Stephen S.; BROCCOLI, Alessandro et al., 2015. Targeting Mutant BRAF in Relapsed or Refractory Hairy-Cell Leukemia. *New England Journal of Medicine*. 373(18), s. 1733-1747. ISSN 0028-4793. DOI: 10.1056/NEJMoa1506583.
- 86) TIACCI, Enrico; PETTIROSSI, Valentina; SCHIAVONI, Gianluca a FALINI, Brunangelo, 2017. Genomics of Hairy Cell Leukemia. *Journal of Clinical Oncology*. 35(9), s. 1002-1010. ISSN 0732-183X. DOI: 10.1200/JCO.2016.71.1556.
- 87) TIACCI, Enrico; TRIFONOV, Vladimir; SCHIAVONI, Gianluca; HOLMES, Antony; KERN, Wolfgang et al., 2011. BRAF Mutations in Hairy-Cell Leukemia. *New England Journal of Medicine*. 364(24), s. 2305-2315. ISSN 0028-4793. DOI: 10.1056/NEJMoa1014209.
- 88) TÓTH-LIPTÁK, Judit; PIUKOVICS, Klára; BORBÉNYI, Zita; DEMETER, Judit; BAGDI, Enikő et al., 2015. A Comprehensive Immunophenotypic Marker Analysis of Hairy Cell Leukemia in Paraffin-Embedded Bone Marrow Trepine Biopsies—A Tissue Microarray Study. *Pathology & Oncology Research*. 21(1), s. 203-211. ISSN 1219-4956. DOI: 10.1007/s12253-014-9807-5.
- 89) TROUSSARD, Xavier; MAÎTRE, Elsa a CORNET, Edouard, 2022. Hairy cell leukemia 2022: Update on diagnosis, risk-stratification, and treatment. *American Journal of Hematology*. 97(2), s. 226-236. ISSN 0361-8609. DOI: 10.1002/ajh.26390.
- 90) TROUSSARD, Xavier; MAÎTRE, Elsa a CORNET, Edouard, 2022. Hairy cell leukemia 2022: Update on diagnosis, risk-stratification, and treatment. *American Journal of Hematology*. 97(2), s. 226-236. ISSN 0361-8609. DOI: 10.1002/ajh.26390.
- 91) TSCHERNITZ, Sebastian; FLOSSBACH, Lucia; BONENGEL, Margrit; ROTH, Sabine; ROSENWALD, Andreas et al., 2014. Alternative BRAF mutations in BRAF V600E-negative hairy cell leukaemias. *British Journal of Haematology*. 165(4), s. 529-533. ISSN 00071048. DOI: 10.1111/bjh.12735.
- 92) VILLAMOR, Neus; MONTSERRAT, Emili a COLOMER, Dolors, 2003. Mechanism of action and resistance to monoclonal antibody therapy. *Seminars in Oncology*. 30(4), s. 424-433. ISSN 00937754. DOI: 10.1016/S0093-7754(03)00261-6.
- 93) WENT, Philip Th; ZIMPFER, Annette; PEHRS, Ann-Christine; SABATTINI, Elena; PILERI, Stefano A et al., 2005. High Specificity of Combined TRAP and DBA.44 Expression for Hairy Cell Leukemia. *American Journal of Surgical Pathology*. 29(4), s. 474-478. ISSN 0147-5185. DOI: 10.1097/01.pas.0000155152.56736.06.
- 94) WIBER, Margaux; MAITRE, Elsa; PONCET, Jean-Marc; DUCHENET, Virginie; DAMAJ, Gandhi et al., 2020. A population-based study of hairy cell leukemia over a period of 20 years. *Cancer Treatment and Research Communications*. 25. ISSN 24682942. DOI: 10.1016/j.ctarc.2020.100236.
- 95) WIERDA, William G.; BYRD, John C.; ABRAMSON, Jeremy S.; BHAT, Seema; BOCIEK, Greg et al., 2017. Hairy Cell Leukemia, Version 2.2018, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. *Journal of the National Comprehensive Cancer Network*. 15(11), s. 1414-1427. ISSN 1540-1405. DOI: 10.6004/jnccn.2017.0165.

- 96) ZHENG, Guoqiao; CHATTOPADHYAY, Subhayan; SUD, Amit; SUNDQUIST, Kristina; SUNDQUIST, Jan et al., 2019. Second primary cancers in patients with acute lymphoblastic, chronic lymphocytic and hairy cell leukaemia. *British Journal of Haematology*. 185(2), s. 232-239. ISSN 0007-1048. DOI: 10.1111/bjh.15777.
- 97) ŽÁK, Pavel, 2006. *Vlasatobuněčná leukémie a přínos 2-chlorodeoxyadenosinu v léčbě*. 1. Nucleus. ISBN 80-87009-03-7.