

Új utak a hajas sejtes leukémia és a rokon kórképek diagnosztikájában és kezelésében

SÁRI ESZTER¹, RAJNAI HAJNALKA², DÉNES KITTI², BÖDÖR CSABA², CSOMOR JUDIT², KÖRÖSMEZEY GÁBOR¹, TÁRKÁNYI ILONA¹, HANNA EID², NAGY ZSOLT¹, DEMETER JUDIT¹

Semmelweis Egyetem, ¹I. Sz. Belgyógyászati Klinika, ²I. Sz. Patológiai és Kísérleti Rákkutató Intézet, MTA-SE Lendület Molekuláris Onkohematológia Kutatócsoport

Levelezési cím:

Dr. Demeter Judit, Semmelweis Egyetem, I. Sz. Belgyógyászati Klinika, 1078 Budapest, Korányi S. u. 2/A, tel.: +36 20 825 8644, e-mail: demeter.judit@med.semmelweis-univ.hu

Közlésre érkezett:

2016. március 21.

Elfogadva:

2016. április 15.

A hajas sejtes leukémia és a rokon kórképek (HSL-variáns és szplenikus marginális zóna limfóma, SMZL) elkülönítő diagnosztikája igen nagy jelentőségű, mivel a betegek kezelése és a betegség kórjósata nagymértékben különböznek egymástól. 2011 óta a hajas sejtes leukémia elkülönítését jelentősen megkönnyíti a melanómában már ismert onkogén szomatikus mutáció, a *BRAF* V600E felfedezése a hajas sejtekben. Ennek a genetikai eseménynek a megismerése tette lehetővé a terápiás fegyvertár *BRAF*-gátlószerekkel való bővítését. A betegség kezelésére első vonalban továbbra is purinnukleozid-analógok, elsősorban a cladribin javasoltak. Munkánkban ismertetjük a diagnosztika főbb lehetőségeit és nehézségeit, valamint a standard terápiás lehetőségeket, és ismertetjük egy molekulárisan célzott *BRAF*-gátlószerezrel, a vemurafenibbel végzett kezelés eddigi eredményeit. A fentiekben túlmenően összefoglaljuk saját tapasztalatainkat, melyet a klinikánkon gondozott, ill. konzultált, hajas sejtes leukémiában szenvedő 75 beteg kezelése, illetve nyomon követése során nyertünk. Magyar Onkológia 60:137–144, 2016

Kulcsszavak: hajas sejtes leukémia, cladribin, vemurafenib, *BRAF*

*Differential diagnosis of hairy cell leukemia (HCL) and related disorders (hairy cell leukemia variant and splenic marginal zone lymphoma) is of utmost importance since the treatment and prognosis of these lymphomas differ. Since 2011 diagnosis of hairy cell leukemia has been easier because of discovery of the disease defining somatic mutation *BRAF* V600E mutation, which has been also known as driver mutation in malignant melanoma. The presence of this mutation enabled targeted molecular therapy in HCL as well. As first line therapy purine nucleoside analogues are the gold standard, but refractory/relapsed patient are candidates for targeted *BRAF*-inhibitor therapy. This manuscript serves as guidance in making diagnosis and standard treatment of HCL, and summarizes newest data about molecular therapy, including our single center experience collected from 75 patients.*

Sári E, Rajnai H, Dénes K, Bödör C, Csomor J, Körösmezey G, Tárkányi I, Eid H, Nagy Z, Demeter J. Novelities in the diagnostics and therapy of hairy cell leukemia. *Hungarian Oncology* 60:137–144, 2016

Keywords: hairy cell leukemia, cladribine, vemurafenib, *BRAF*

Rövidítések:

HSL: hajas sejtes leukémia, **HSLv:** hajas sejtes leukémia variáns, **ANC:** abszolút neutrofilszám, **HGB:** hemoglobin, **trc:** trombocita, **PA:** purin-nukleozid-analóg, **MAPK:** mitogénasszociált proteinkináz, **MRD:** minimális reziduális betegség, **CR:** komplett remisszió, **PR:** parciális remisszió

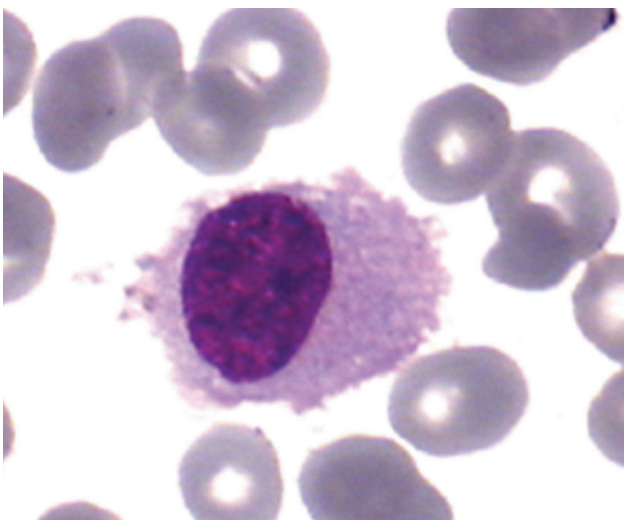
BEVEZETÉS

A hajas sejtes leukémia (HSL) egy indolens krónikus B-sejtes limfoproliferatív betegség. A betegséget az atípusos monocitoid morfológiájú limfocitákról nevezték el, melyek perifériás kenetben is felismerhetők a sejtfelszín körülölelő citoplazmnyúlványokról („hajas”, „szőrös” sejtek), de ehhez a kenet gondos áttekintése szükséges, mivel típusos esetben a beteg leukopéniás.

Bár a HSL-re pancitopénia jellemző, az esetek kb. 10%-ában a vérkép leukémiás. Fizikális vizsgálat során a splenomegália jellemző, a betegek a kórkép felismerésekor az esetek egy részében tünetmentesek.

A HSL a ritka hematológiai betegségek közé tartozik, a felnőttkori leukémiák 2%-át teszi ki. Férfiak körében mintegy 4-szer gyakrabban fordul elő, az átlagéletkor a betegség felfedezésekor kb. 50 év. A betegek leggyakrabban fáradékonyság vagy hasi teltségérzés, fájdalom miatt fordulnak orvoshoz, de számos esetben véletlenszerűen, szűrővizsgálat kapcsán derül ki.

A pancitopéniát a csontvelői infiltráció, a visszaszorult hemopoézis, illetve kisebb részben a hiperszplénia okozza. A csontvelő-elégtelenség a leukémiás infiltrációval és a retikulinfelszaporodással magyarázható. A hajas sejtek által termelt citokinek közül a TNF-alfa a hajas sejtek autokrin növekedési faktora, ugyanakkor ez a citokin maga is blokkolja a mielopoézist (1, 2).



1. ÁBRA. Hajas sejtek perifériás kenetben (saját képanyag)

A betegek 80%-ában fordul elő legalább egy vonalbeli szignifikáns citopénia (ANC <1000/μl, vagy Hgb <100 g/l vagy trc <100 G/l), jellemző a monocitopénia, és figyelemre méltó aspecifikus eltérés a hipokoleszterinémia is (3) (1. ábra).

Szőrös sejtek nem csak hajas sejtes leukémiában fordulnak elő: míg a hajas sejtes leukémia kóros limfocitáin számos, hosszú citoplazmnyúlvány észlelhető a teljes sejt felszínén, addig szplénikus marginális zóna limfómában keskenyebb, rövidebb citoplazmnyúlványok láthatóak, míg a HSL-variáns sejtek szőrös felszíne mellett szembeötlő a rögös kromatin-állomány, a kerek, kicsiny mag, centrális nukleolusszal.

Bár a hajas sejtekre specifikus monoklonális antitest nem ismert, a sejtek immunfenotípusa jellegzetes, így a perifériás vérminta áramlási citometriás vizsgálata is igazolhatja a diagnózist: jellemző az erős CD11c-, CD19-, CD20-, CD22-expresszió, amelyet CD25-, CD103- és CD123-pozitivitás kísér. Az immunmarkerek értékelésében egyszerű és könnyen alkalmazható a Matutes-score, amely a HSL-variánstól és SMZL-től való differenciálást segíti (4).

Ha a perifériás vérből nem igazolható HSL, a csontvelő hisztológiai vizsgálata révén ilyen esetekben is eljuthatunk a helyes diagnózishoz, ill. a csontvelő-hisztológia minden esetben fontos további információkat ad (architektúra, a szöveti infiltráció mértéke, a normális hemopoézis visszaszorultságának foka). A csontvelő-biopsziás minta morfológiai és immunhisztokémiai vizsgálata diagnosztikus értékű, míg a csontvelő-aspiráció során a felszaporodott retikulinst-hálózat miatt jellemző a punctio sicca. A csontvelő a diagnózis idején a betegek 99%-ában hajas sejtekkel infiltrált. A kezdetben intersticiális csontvelői infiltráció előrehaladott esetben „lépésmezszerűvé” alakulhat, a hajas sejtek nukleuszát haloszerű citoplazma övezi (maguk a hajas sejtek tükrötjásra emlékeztetnek). A csontvelői hajas sejtek immunfenotípusa megegyezik a perifériás vérnél említett fenotípussal. Immunhisztokémiaiilag a B-sejtes limfoproliferatív betegségek közül az annexin-A1-pozitivitás igen jellemző HSL-re, és ehhez járul még a DBA.44- (egér monoklonális HSL-antitest), TRAP- (tartarátrezisztens savanyú foszfatáz), T-bet-, HBME-1- (Hector Battifora mesothelial epitope-1) festődés is (5). A HSL egy jelentős hányadában ciklin-D1- és SOX11-pozitivitás is megfigyelhető, a diagnosztikus eszköztárat pedig 2011 óta bővíti a BRAF V600E mutáció jelenlétének kimutatása. Jelenlegi ismereteink szerint a BRAF-mutáció a klasszikus hajas sejtes leukémiás esetek közel 100%-ában jelen van.

BRAF V600E MUTÁCIÓ HAJAS SEJTÉS LEUKÉMIÁBAN

2011-ben egy olasz munkacsoport egy HSL-ben szenvedő beteg genomjának szekvenálásával 5 szomatikus mutációt igazolt (6). A BRAF gén e mutációjának jelenléte más humán daganatokban régóta ismert: a malignus melanómák kb. 40-60%-ában, papillaris pajzsmirigyák esetén kb. 30-40%-ban, míg vastagbélrákban kb. 15-20%-ban mutatható ki (7). A BRAF gén 600. kodonjában bekövetkező timin > adenin báziscsere egy valin > glutaminsav aminosavcserét eredmé-

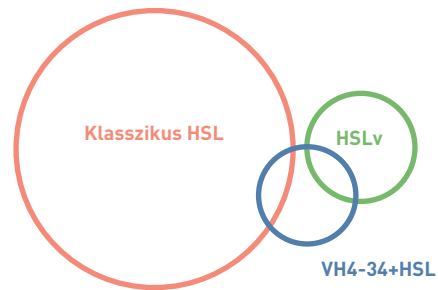
nyez. A BRAF fehérje a RAF-család tagja, amely intracelluláris szerin/treonin kinázként a kulcsfontosságú MAPK jelátviteli út részeként működve szabályozza a sejt differenciálódást, proliferációt és túlélést. Az első közlemény szerint a hajas sejt leukémiás minták mindegyike hordozta ezt a mutációt. Ugyanakkor egyéb indolens szplénikus B-sejt limfoproliferatív betegségekben ez a mutáció nem volt kimutatható (6). Ezt a megfigyelést más munkacsoportok eltérő, akár a napi rutin gyakorlatban is alkalmazható, különböző specificitású és szenzitivitású módszerekkel igazolták: allélspecifikus PCR, kvantitatív real-time PCR, piroszekvenálás, nagy felbontású olvadáspont-analízis (HRMA) és immunhisztokémiai vizsgálat (BRAF V600E fehérje elleni antitest, VE1). A fent nevezett eljárások csontvelő-, lép-, nyirokcsomó-mintákon, vagy akár vérből is elvégezhetőek, bár utóbbinál különösen fontos a mintában a tumorsejtarány meghatározása (például áramlási citometriával), hiszen az adott vizsgálómódszer érzékenységi küszöbe alatti tumorsejtarány esetén álnegatív eredményt kaphatunk.

2009-ben Arons és munkatársai publikálták azon megfigyelésüket, mely szerint purinnukleozid-analóg (PA) terápiára rosszul reagáló HSL-es betegeknek egy visszatérő immunglobulin-nehézlánc génátrendeződést (IGHV 4-34) észleltek (8). (Ez a génátrendeződés nemcsak HSL-ben, illetve HSL-variánsban fordul elő, hiszen ismert a potenciális jelenléte a sztereotipikus BCR-ral rendelkező alcsoportban is.) Ennek a szubpopulációnak a további sajátossága, hogy bár az immunfenotípus alapján a HSL-hez sorolható, klinikai jellemzőiben mégis inkább a HSL-variánshoz áll közelebb: leukocitózissal, limfadenomegáliával jár, szuboptimálisan reagál kemoterápiára, és a betegek betegségmentes és teljes túlélése is rövidebb. Érdemes megjegyezni, hogy az IGHV 4-34 génátrendeződés variáns típusú HSL-ben mintegy 40%-ban, a klasszikus HSL-ben pedig az esetek kb. 10%-ában mutatható ki (8).

A fenti molekuláris vizsgálatoknak (IGHV 4-34- génátrendeződés, BRAF V600E mutáció) köszönhetően a HSL-en belül ma már meg tudunk különböztetni egy olyan alcsoportot, amely prognosztikailag kedvezőtlen, és ez a felismerés a kezelési döntést is befolyásolja (9) (2. ábra).

HAJAS SEJTES LEUKÉMIA – VARIÁNS TÍPUS

A hajas sejt leukémia variáns típusát (HSLv) a 2008-as WHO-klasszifikációban nyilvánították a HSL-től eltérő entitásnak. Ez a HSL-nél tízszer ritkábban előforduló betegség, amely elsősorban idősebb férfiakat érint, kifejezett szplénomegáliával, limfocitózissal és citopéniával jár, monocitopénia nélkül. A neopláziás sejtek morfológiája egyaránt emlékeztet a hajas sejtekére, illetve a prolimfocitákéra. A variáns esetek karakterisztikus immunfenotípusa az intenzív CD20-pozitivitás, a CD22-, CD11c-pozitivitás, esetenként CD103-expresszió, a CD25-negativitás mellett. A csontvelői infiltráció intersticiális és/vagy intraszinusoidális. Az immunglobulin nehézlánc génjének átrendeződése az esetek nagy részében



2. ÁBRA. Az IGHV4-34 génátrendeződés jelenléte HSL és HSL-variáns entitásokban (8). HSL: hajas sejt leukémia; HSLv: hajas sejt leukémia variáns; VH4-34+ HSL: IGHV 4-34 génátrendeződéssel járó hajas sejt leukémia

az IGHV4-34 géncsalád érintettségével zajlik. Specifikus kromoszómaabnormalitás nem ismert, de gyakori a 17p13 régió deléciója, illetve a TP53 gén mutációja. Alacsony esetben mintegy 50%-ban volt jelen a MAP2K1 gén mutációja. A HSL-lel ellentétben, a folyamatban a BRAF gén minden esetben vad típusúnak bizonyult (10, 11).

A betegség lefolyása krónikus, az átlagos túlélési idő 7-9 év. A betegek refrakterek PA-ra, a leghatásosabb kezelés a cladribin és rituximab kombinációja (12).

DIFFERENCIÁLDIAGNÓZIS

Elkülönítési problémát azok a B-sejt limfoproliferatív betegségek képeznek, melyek szintén szplénomegáliával járnak, tapintható nyirokcsomók nélkül. Ide tartozik a limfoplazmocitózis limfóma (LPL), B-sejt prolimfocitózis leukémia (B-PLL), szplénikus marginális zóna limfóma (SMZL), hajas sejt leukémia variáns (HSLv), és a szplénikus diffúz vörös pulpa B-sejt limfóma (SDRPL). Kétséges esetekben, ha a csontvelő nem infiltrált, vagy a morfológiai és immunocitokémiai vizsgálatok alapján a betegség pontos jellemzése nem lehetséges, diagnosztikus célzatú szplenektomia válhat szükségessé (1. táblázat).

A HAJAS SEJTES LEUKÉMIA KEZELÉSE

A HSL kezelésében az arany standard a purinnukleozid-analógok (PA), azon belül is a cladribin. Az 1980-as évek közepéig a betegek várható élettartama 4 év volt, csupán a szplenektomia kínálkozott terápiás eszközként. Míg a szplenektomia gyakran javította a perifériás sejtszámokat, csekély hatása volt ugyanakkor a csontvelői érintettségére. Az 1980-as évek közepétől alkalmazott interferon-alfa (IFN-alfa) már nagy előrelépést jelentett, hiszen a válaszadási arány 80%-os volt, bár a komplett remissziós ráta csupán 10%-ra volt tehető (13). A purinnukleozid-analógok családjába tartozó pentosztatin jelentősen emelt ezeken az arányokon, és tartós remissziót eredményezett a betegek 76-87%-ában, ezáltal szignifikánsan megnyújtva a várható túlélést (14).

1. TÁBLÁZAT. A HSL és rokon betegségek főbb differenciáldiagnosztikai eszközei

MARKER	HSL	HSL-V	SDRPL	SMZL
CD19, CD20, CD22	++++	+++	+++	++
Felszíni Ig	+++	+++	+++	+++
CD11c	+++	++	++	+
CD25	+++	+/-	+	+
CD103	+++	+	+	+
CD123	+++	+	+	--
Annexin A1	+++	-	ritkán +	-
Jellegzetes génmutáció	BRAF V600E	MAP2K1	-	KLF2
Ennek előfordulási gyakorisága	100%	< 50%	-	50%
Csontvelői infiltráció mintázata	IN	IS, IN	IS	IS, N, IN

++++ erősen pozitív; +++ pozitív; +/- döntően pozitív; +/- ritkán pozitív; - negatív; IN: intersticiális; IS: intraszinusoidális; N: noduláris; P: paratrabekuláris

1990-ben Piro és munkatársai írtak először egy 7 napos cladribin infúziós kúráról, amellyel 93%-os komplett remissziós arányt értek el (15). A cladribint a 2000-es évektől már szubkután módon is alkalmazták, mindkét módszer biztonságos és egyformán hatásos. Utóbbi mellett szól az ambulanter alkalmazás lehetősége (pl. 5 napig napi 0,14 mg/ttkg). Mintegy 25 évvel később már általánosan elfogadottá vált a tény, hogy mind a pentosztatin, mind a cladribin igen eredményes HSL-ben, és képesek megváltoztatni a betegség természetes kórfolyását. Manapság már a betegek várható élettartama nem tér el az átlagos egészséges populációtól, de sajnos 40%-uknál még mindig relapsussal kell számolni, amely miatt további kezelési alternatívák kutatása volt kívánatos (16).

A hajas sejtek felszíni CD20-expressziója még a többi érett B-sejtes neopláziában kimutatottnál is intenzívebb. A monoklonális CD20-ellenes antitesttel való kezelést ma már nemcsak a refrakter esetekben, hanem PA-kezelésre nem alkalmas, alacsony tumortömegű betegeknél is nagy hatékonysággal alkalmazzuk, 375 mg/m² adagban iv, heti egyszer 4–8 hétig. Az első infúzió adásánál heves citokin-fel szabadulási szindróma várható, de egyéb kedvezőtlen mellékhatása nincs, nagy előnye, hogy nem mielotoxikus.

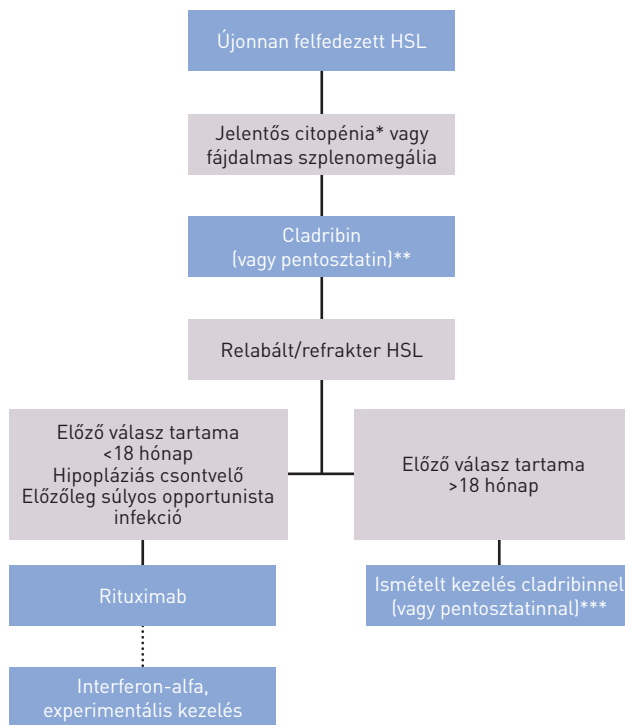
Hajas sejtes leukémiában vitatott a minimális reziduális betegség (MRD) jelentősége. Egyes adatok szerint az MRD+ komplett remisszióba (CR) kerülő betegeknél nagyobb a relapszus esélye, mint MRD- esetben (17). Ezért került előtérbe a kemoimmunterápia (cladribin, majd rituximab) szerepe HSL-ben is.

Az immunkonjugátumok is egy lehetséges, de csak az USA-ban vizsgált kezelési mód: ezek a rekombináns immunitoxinok egy monoklonális antitestfragmenst ötvöznek egy bakteriális toxinnal. Az LMB-2 a CD25, a BL22 (moxetumomab pasudotox) pedig a CD22 antigént célozza meg, így utóbbi HSLV-ben is alkalmazható (18).

Új terápiás lehetőség HSL-ben a rekombináns immunitoxinok, a Bruton-tirozinkináz-gátlók és a BRAF- vagy MEK-gátlók alkalmazása a relabált/refrakter betegcsoportban (3. ábra).

BRAF-GÁTLÓSZEREK A HSL KEZELÉSÉBEN

A BRAF V600E mutáció, mint a hajas sejtes leukémia patogenezisében döntő szerepet játszó genetikai esemény felfedezését követően a mutáns fehérje funkciójának blokkolásával kísérelték meg a leukemogenezis gátlását. A BRAF ismert, és az onkológiai gyakorlatban felhasznált, hazánkban is törzskönyvezett gátlószerei a vemurafenib és a dabrafenib. Az első, vemurafenibbel kezelt refrakter HSL-es beteg azonnali és jelentős választ mutatott (21). A gyógyszer kiváltotta hatások sokrétűek: a MEK/ERK jelátviteli útvonal látványos



3. ÁBRA. A hajas sejtes leukémia kezelési algoritmus (19, 20). *ANC <1500/μl, Hgb <120 g/l, trc <100 G/L. **A cladribint preferáljuk szubkután beadhatósága, ugyanazon hatás eléréséhez szükséges kisebb ciklusszám (egyetlen kezelési ciklus) és kedvezőbb mellékhatásprofilja miatt. ***Mivel a cladribin és a pentosztatin között nincs keresztrezisztencia, hatástalanság esetén a másik szerre lehet váltani

defoszforilációja, az útvonal transzkripciós aktivitásának redukálása, a HSL-specifikus génexpressziós mintázat elvesztése, a HSL-markerek közül a CD25, TRAP és ciklin D1 elvesztése, a „hajas” sejtfelszín elsimítása, és végső soron apoptózis [20]. A kezdeti esetközlésekben gyors és csaknem valamennyi esetben komplett remisszióról számoltak be [21, 23, 24]. A vemurafenib adagja HSL-es betegekben napi 2×240 mg-tól az onkológiai gyakorlatban alkalmazott dózísig, 2×960 mg-ig terjedhet [22, 23, 25]. Tisztázatlan kérdés a kezelés optimális időtartama, leggyakrabban a szert 56 napig szedték a betegek, de 167 napig tartó kezeléstről is beszámoltak [25]. A vemurafenibkezelés fő előnyei az orális alkalmazhatóság, a hematológiai toxicitás teljes hiánya, a gyorsan jelentkező válasz. A vemurafenib akár áthidaló, ún. bridging terápiaként is szerepet játszhat olyan esetekben, ahol pl. súlyos infekció miatt a purinanalog-kezelés kontra-indikált, azonban az alapbetegség kezelésének elmaradása esetén a tartós infekciókontroll sem valósítható meg. Ilyen helyzetben néhány hetes BRAF-gátló kezelés a perifériás sejtszámok javításával alkalmassá teheti a beteget a cladribinkezelésre [26].

Nem sokkal ezen anekdotikus esetközlemények után az USA-ban és Európában is fázis 2 vizsgálatok indultak, standard dózissal (2×960 mg) vemurafenibbel [26]. Az amerikai vizsgálatba 26, PA-rezisztens/intoleráns, vagy PA-ra szuboptimálisan reagáló beteget vontak be. A betegek 4 hetes ciklusokban 2×960 mg adagú vemurafenibkezelésben részesültek, 3 cikluson át. A PR-be vagy MRD+ komplett remisszióba kerülő betegek további 3 cikluson át folytathatták a terápiát. Az átlagéletkor 62 év volt [49–77], a korábbi kezelések száma átlagosan 3 [1–7]. A leggyakoribb mellékhatás a bőrkirivulás, fényérzékenység, artralgia, kéz-láb szindróma, lázas neutropénia és tumorlízis-szindróma volt. A kezelés alatt a betegeknél újkeletű laphámrák (3/26), illetve bazalióma alakult ki (1/26), amelyeket sebészi úton eltávolítottak. Tizennégy beteg szorult 50%-os dóziscsökkentésre. Minden beteg vérképe normalizálódott, 10/24 beteg pedig CR-be került. Mindezek megerősítették, hogy a vemurafenib hatásos a relabált/refrakter HSL kezelésében, és az eredmények klinikailag is alátámasztják a MAPK útvonal alapvető szerepét HSL-ben.

Ezzel párhuzamosan zajlott egy olasz, egykarú fázis 2 vizsgálat, amelynek interim eredményeit már 2015-ben közzölték [27]. 28 relabált/refrakter HSL-es beteget vontak be. A vemurafenibkezelés átlagosan 16 hétig tartott, 2×960 mg adagban, és 17/28 betegnél történt dóziscsökkentés. A gyógyszer okozta mellékhatások ugyan gyakoriak voltak, de jellegzetesen enyhe-közepes súlyosságúak, és reverzibilisek. Két betegnél alakult ki kután bazalióma, egy betegnél felszínes bőrmelanóma, valamennyi sebészeti excízióval kezelhető volt. A teljes válaszadási arány (ORR) 96% [25/26]: 9/26 CR (35%), 16/26 PR (61%), amelyet 8-9 hét után értek el a betegek. Valamennyi CR-be jutott beteg MRD-pozitív volt immuncitokémiai vizsgálat alapján. Az átlagos relapszus-

mentes túlélés 9 hónap volt (!), a relapszusmentes túlélés szignifikánsan hosszabb volt a CR-be került betegeknél, mint akik csak PR-be kerültek (19 vs. 6 hónap).

SAJÁT TAPASZTALATAINK

1987-től 2015-ig 75 hajas sejt leukémiás beteget kezeltünk, illetve konzultáltunk a SE I. Sz. Belgyógyászati Klinikán. Valamennyi beteg diagnózisa a csontvelő, illetve csontthenger szövettani, immunhisztokémiai vizsgálatain alapult, amely vizsgálatokhoz az esetek többségében 2011 óta kiegészítő immunhisztokémiai (HBME-1, VE1), illetve molekuláris (BRAF V600E) vizsgálatok társultak.

A betegek közül 55 férfi, míg 20 nőbeteg volt, a diagnózis megállapításakor az átlagéletkor 61 év volt [38–85]. A betegek fő klinikai adatait a 2. táblázatban szemléltetjük.

2. TÁBLÁZAT. Betegeink kezdeti tünetei a HSL felismerése idején

ORVOSHOZ VEZETŐ PANASZ, TÜNET	N (%)
Láz, infekciók	13 (17%)
Fáradékonyság	12 (16%)
Vérzések/trombotikus esemény	10 (3%)
B-tünetek	9 (12%)
Fájdalmas szplenomegália	7 (9%)
Tünetmentes (szűrő vérvizsgálat)	23 (17%)
Csontfájdalom	1 (1%)
Szplenomegália jelenléte	57 (76%)

KEZELÉSI EREDMÉNYEK

A 75, centrumunkban, illetve egyéb hazai ellátóhelyen kezelt HSL-es beteg közül 2015 decemberéig 71 beteg részesült gyógyszeres kezelésben. Az intézetünkben alkalmazott kezelések rövid leírása:

- interferon-alfa (pl. Intron A Multidose formájában alkalmazva) első héten heti 3×1,5 MU sc., majd dóziseszkalálás heti 3×3 MU-ig, max. 1 évig);
- cladribin (Leustatin®) 5 napig 0,14 mg ttkg/die iv., napi kétórás infúzió formájában alkalmazva, illetve (Litak®) 5 napig 1,4 mg/ttkg/die sc. injekció;
- pentosztatin (Nipent®) kéthetente 4 mg/m² iv., 6–8 cikluson át;
- rituximab (Mabthera®) 375 mg/m² iv., heti egyszer 4 héten át;
- vemurafenib (Zelboraf®) 2×240 mg po. 56 napig, illetve 2×960 mg po. 56 napig törzskönyvön túli engedéllyel.

Az esetek 81%-ában (58/71) az első vonalbeli kezelés interferon-alfa, 6-6%-ban a cladribin, illetve szplenektómia (4/71), illetve 1-1 egyéb esetben korábban más intézményben (rituximab, egy esetben endoxan) volt. A teljes válaszadási

arány 77% volt, a cladribinnel kezelték között 100% volt a CR. Az interferon 19%-ban eredményezett komplett remissziót (11/58), 50%-ban parciális remissziót (29/58), 24%-ban stabilnak mutatkozott a betegség. A szplenektómia az így kezelt négy beteg közül két esetben eredményezett komplett remissziót, egy betegben stabilnak mutatkozott a betegség, míg egy betegnél a HSL progrediált.

A betegek 75%-a relabált az első vonalbeli kezelést követően, valamennyien ismét kezelésre szorultak. Az átlagos progressziómentes túlélés interferont követően 27 hónap, cladribint követően 96 hónap, szplenektómiát követően fél év volt.

A másodvonalon alkalmazott kezelése elemzésekor (lásd 4. ábra) feltűnően megnövekedett a cladribinnel kezelték aránya: ez azzal a szemlélettel magyarázható, amely az interferon-alfa tumortömeg-redukáló hatását kihasználva (mintegy 3-6 hónapos kezelés után) a súlyos citopéniák megszűnése után alkalmazza a PA-t. Ezen esetekben tehát nem relapszus, hanem mintegy előkezelés előzi meg a PA-terápiát. Ezzel a kezelési szekvenciával – különösen időseknél, citopéniás betegeknél – kivédhető a cladribinkezelést gyakori esetekben követő súlyos infekciók egy része.

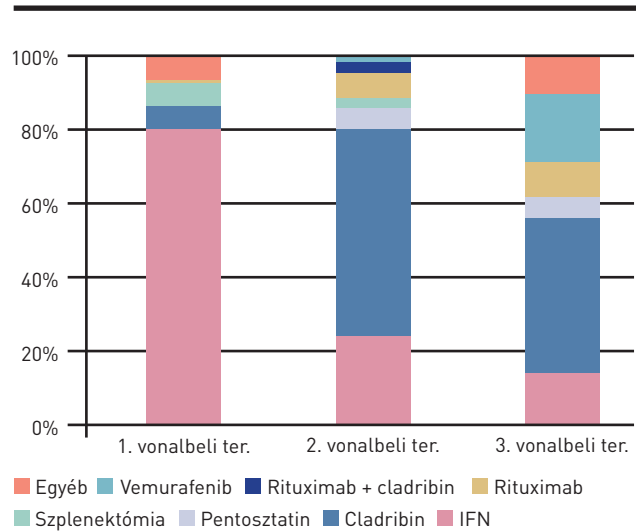
Számszerűsítve, másodvonalonként az interferont már csak az esetek negyedében alkalmaztuk (13/54), a cladribint 56%-ban (30/54). Rituximab 7%-ban (4/54), pentosztatin 6%-ban (3/54), szplenektómia 3%-ban (2/54) került bevezetésre, egy-egy betegnél pedig vemurafenib, illetve rituximab-cladribin kezelés történt. (Megjegyezzük, hogy a vemurafenib másodvonalon alkalmazásának létjogosultsága napjainkban még erősen kétséges, ezen esetben egy agg, súlyosan citopéniás beteg esetében döntöttünk emellett.)

Az esetek 39%-a, azaz 21/54 beteg relabált másodvonalonbeli kezelés után: 62%-a (8/13) az interferonnal kezeltéknek, 30%-a (9/30) a cladribinnel kezeltéknek, 33%-a (1/3) a pentosztatinnal kezeltéknek. IFN után az átlagos progressziómentes idő 33 hónap, cladribin után 75 hónap, pentosztatin után 96 hónap, rituximab, illetve szplenektómia után 24 hónap volt.

Harmadvonalon interferon csupán az esetek 14%-ában (3/21), cladribin 43%-ban (9/21), vemurafenib 19%-ban (4/21), pentosztatin 5%-ban (1/21), rituximab 9%-ban (2/21) került beadásra. A cladribin 89%-ban hozott CR-t, 11%-ban PR-t, a pentosztatin csak CR-t, a rituximab 50-50%-ban CR-t, illetve PR-t eredményezett. Az interferon harmadvonalonbeli kezelésésként 66%-ban hozott PR-t, 33%-ban stabil betegséget eredményezett (4. ábra).

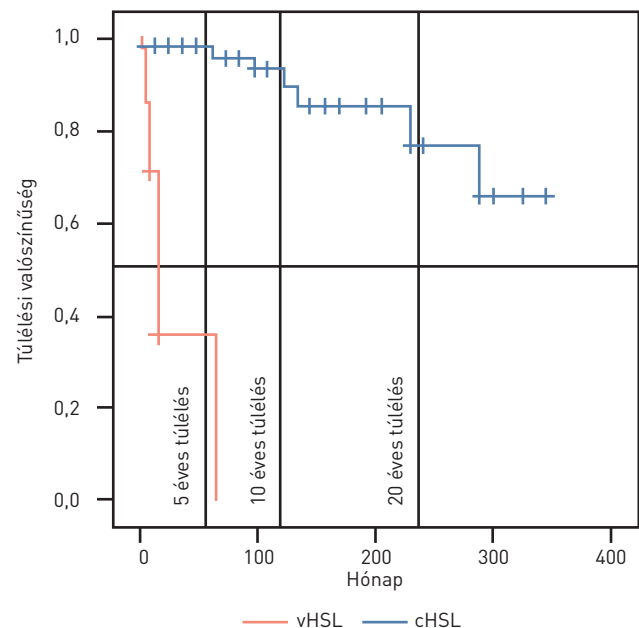
Mint korábban kiemeltük, a HSL indolens természete és eredményes kezelési lehetőségei miatt a betegek várható túlélése nem különbözik az egészséges populációtól. Ezt szemlélteti az 5. ábra is: a klasszikus HSL-es betegek túlélési aránya 10 évnél meghaladja a 90%-ot! Ezzel szemben a variáns típusú HSL-es betegek kórjóslata a mi betegeink körében is kedvezőtlenebb, a várható öt éves túlélési idő 36%.

A Magyarországon elterjedt kezelési szokásokról 2010-ben végzett felmérésünk alapján elmondható, hogy hazánkban az első vonalbeli kezelések mintegy 3/4-ében interferont



4. ÁBRA. Kezelési modalitások megoszlása HSL-ben betegeinken 1987 és 2015 között

alkalmaztunk, a kezelés időtartama az esetek több mint felében meghaladja a 12 hónapot. A cladribin első vonalban 14%-ban, másodvonalonban 56%-ban került felhasználásra (28). Ez az érvényes nemzetközi ajánlásoknak kissé ellentmondó gyakorlat a két gyógyszer eltérő finanszírozásának is tulajdonítható.



5. ÁBRA. Klasszikus, ill. variáns típusú HSL-ben szenvedő betegeink Kaplan-Meier szerint elemzett túlélési görbéje

BRAF V600E MUTÁCIÓS STÁTUSZ MEGHATÁROZÁSA KLINIKAI BETEGANYAGUNKBAN

2012 óta áll módunkban vizsgálni HSL-es biológiai mintákat (perifériás vér, csontvelő, lép, nyirokcsomó) a SE I. Sz. Patológiai Intézetének segítségével *BRAF*-mutációk irányában. Piroszekvenálással, amely egy, a mindennapi gyakorlatban is elterjedt, a mutációra 100%-ban specifikus, 95%-ban szenzitív eljárás, 51 HSL-es csontvelőt vizsgáltunk. 41/46 klasszikus hajas sejt leukémiás minta hordozta a *BRAF*V600E mutációt, míg 5/46 a *BRAF* vad típusát hordozta. Valamennyi variáns típusú HSL-es mintában a *BRAF* vad típusa volt kimutatható.

Három, vad típusú *BRAF* gént hordozó klasszikus HSL-es mintán, valamint valamennyi variáns típusú HSL-es mintán Sanger-szekvenálással is megerősítettük a piroszekvenálással kapott eredményeket, és az irodalom alapján még 2. leggyakrabban előforduló, alternatív *BRAF*-mutációt (*BRAF* gén 11-es exonjában) kerestünk, ugyanezen eljárással, negatív eredményrel. A variáns típusú mintákban sem alternatív *BRAF*-mutációt, sem *MAP2K1*-, illetve *MAP2K2*-mutációt nem találtunk (0/6).

Végezetül, a *BRAF* V600E mutáns fehérje elleni egér antitest (VE1) alkalmazásával immunhisztokémiai festéssel ellenőriztünk 7 klasszikus HSL-es csonthengert, amelyek valóban élénken festődtek. A variáns típusú HSL-es minták ezúttal a vártak megfelelően nem festődtek, ezzel szemben hét közül 3 esetben a csontvelői minta piroszekvenálással vad típusúnak bizonyult, míg immunhisztokémiai sikerült a mutáns fehérje kimutatása. Ennek magyarázata az lehet, hogy az IHC módszer szenzitivitása meghaladja a fent említett molekuláris vizsgálatokét, sőt ez a módszer a DNS-izolálás és -feldolgozás hibalehetőségeit is kiküszöböli.

BRAF-INHIBITOR KEZELÉssel SZERZETT TAPASZTALATAINK

Klinikánkon eddig összesen 8, relabált/refrakter HSL-es beteget kezeltünk célzott *BRAF*-gátlószerekkel, vemurafenibbel. Follows közleményét (29) követve, alacsony dózisu vemurafenibkezelést alkalmaztunk 7 betegünkönél (30). Egy további betegünkönél a 2x960 mg-os, nagy adagú vemurafenibkezelést alkalmaztuk az időközben publikált prospektív fázis 2 klinikai vizsgálatok kedvező köztes eredményei nyomán (26). A 7 betegből háromnál lehetett az eltervezett kezelési tartamot (2x240 mg 56 napig) teljesíteni, és csak egy betegnél volt szükség dóziscsökkentésre. A nem várt események megegyeztek a melanómás betegeknél leírtakkal (fényérzékenység, artralgia, bőrpír), négy esetben interkurrens légúti infekció kialakulását észleltük. A mellékhatások reverzibilisnek bizonyultak, 2 betegünk grade 3 artralgia miatt önkényesen szakította meg a kezelést. Mielotoxicitást egy esetben sem észleltünk. Nincs még egyértelmű javaslat arra, mikor érdemes *BRAF*-gátló kezelés után remisszióstatust meghatározni. Míg cladribinkezelést követően a csontvelő-biopsziás kontroll 4-6 hónap múlva javasolt, vemurafenibkezelés után a kontrollt ennél kissé korábban javasoljuk elvégezni. Betegeinken a kontroll csontvelő-biopszia 3-4 hónappal a kezelés befejezése után történt. Hatból öt (83%) beteg reagált a kezelésre, egy betegnél még zajlik a kezelés, míg egy beteget

kezelés közben veszítettünk el (80 éves, súlyosan szívbeteget férfi, akinél tumorlízis-szindróma is zajlott). Komplet remisszió egy betegnél sem alakult ki. A betegek kétharmada került PR-be, további két betegnél még ismeretlen a legjobb válasz foka. Hét betegből háromnál normalizálódtak a vérképeltérések, citopéniák, és valamennyi beteg transzfúzió-dependenciája megszűnt. A szekunder bőrtumorok tekintetében két betegnél észleltünk fényérzékenységen kívül egyéb kútan mellékhatást: egy betegnél sebészileg eltávolítható hisztiocitoma alakult ki a kézfejen, míg a nagy dózisu vemurafenibkezelésben részesülő betegnél átmenetileg hiperkeratózis jelentkezett.

MEGBESZÉLÉS

Az indolens B-sejt limfoproliferatív betegségek közül a hajas sejt leukémia az egyik legkritikábban előforduló betegség (4/100 000 lakos). Jelentősége a rokon betegségekétől való elkülönítésben rejlik, hiszen a betegek adekvát kezelésével tartós tünet- és betegségmentes periódus alakulhat ki, és a betegek várható élettartamát a HSL nem is befolyásolja.

A pancitopénia és szplenomegália, különösen, ha monocitopéniával és limfadenomegália hiányával jár, fel kell, hogy ébressze a HSL gyanúját, amelyet az esetek 90%-ában a perifériás kenet is megerősít, a hajas sejtek jelenléte esetén. A perifériás vérből végzett áramlási citometriai vizsgálat gyakran végső diagnózist ad, ha mégsem, csontvelő-biopszia legyen a következő lépés, ahol a diagnózis felállítását a jellegzetes morfológián kívül immunhisztokémiai markerek segítik (Annexin A1, HBME-1, T-bet). Néhány éve genetikai úton is megközelíthető a betegség elkülönítése, a *BRAF* V600E mutáció kimutatásával, amelyre számos különböző, már rutinszerű eljárás ismert (allélspecifikus PCR, piroszekvenálás, HRMA, immunhisztokémia).

A tünetmentes esetekben kezelés nem szükséges; „watch and wait” esetén a betegek negyed-fél éves rendszeres hematológiai kontrollja indokolt. Kezelési indikációk megjelenése esetén az aranystandard a purinnukleozid-analóg terápia, elsősorban a *sc. cladribin*. A HSL variáns típusának elkülönítésében biztos eszköznek tűnik a *BRAF* fehérje vad típusának jelenléte. Agresszív kórlefolyás jellemzi, kezelése sajnos korántsem megoldott, PA-k itt csak átmeneti remissziót hoznak, napjainkban a rituximabbal kombinált cladribinkezeléstől várható még a legnagyobb válaszadási arány, de az átlagos túlélés így sem haladja meg a 8 évet.

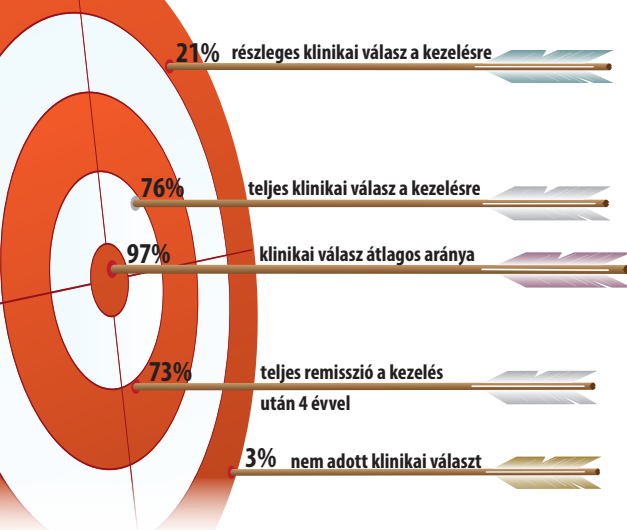
Összességében, az ezredforduló óta a HSL-ben a legnagyobb felfedezést a betegség kialakulásáért, illetve annak fenntartásáért felelős *BRAF* V600E mutáció felismerése jelentette. A transzlációs medicinának köszönhetően ez ma már a terápiás lehetőségek tárházát is bővítve, a személyre szabott, molekuláris célzott kezeléseket felé vezet.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Köszönetünket fejezzük ki a SE I. Sz. Patológiai Intézet Molekuláris Labor valamennyi munkatársának, elsősorban Kovalszky Ilonának és Baghy Kornéliának a molekuláris vizsgálatok elvégzéséért.

IRODALOM

- Cawley JC, Hawkins SF. The biology of hairy-cell leukemia. *Curr Opin Hematol* 17:341-349, 2010
- Demeter J. Production of tumor necrosis factor-alpha by B-cell chronic lymphocytic leukemia and hairy cell leukemia cells: considerations regarding bone remodeling in the chronic B-cell leukemias. *Blood* 77:1127-1128, 1991
- Juliusson G, Vitols S, Liliemark J. Mechanisms behind hypocholesterolaemia in hairy cell leukemia. *BMJ* 311:27, 1995
- Matutes E, Wotherspoon A, Brito-Babapulle A, et al. The natural history and clinico-pathological features of the variant form of hairy cell leukemia. *Leukemia* 15:184-186, 2001
- Tóth-Lipták J, Piukovics K, Borbény Z, et al. A comprehensive immunophenotypic marker analysis of hairy cell leukemia in paraffin-embedded bone marrow trephine biopsies--a tissue microarray study. *Pathol Oncol Res* 21:203-211, 2015
- Tiacci E, Trifonov G, Schiavoni G, et al. BRAF mutations in hairy cell leukemia. *N Engl J Med* 364:2305-2315, 2011
- Davies H, Bignell GR, Cox C, et al. Mutations of the BRAF gene in human cancer. *Nature* 417:949-954, 2002
- Arons E, Suntum T, Stetler-Stevenson M, et al. VH4-34+ hairy cell leukemia, a new variant with poor prognosis despite standard therapy. *Blood* 114:4687-4695, 2009
- Jain P, Ok CY, Konoplev S, et al. Relapsed refractory BRAF-negative, IGHV4-34-positive variant of hairy cell leukemia: a distinct entity? *J Clin Oncol* 34:57-60, 2014
- Xi L, Arons E, Navarro W, et al. Both variant and IGHV4-34 expressing hairy cell leukemia lack the BRAF V600E mutation. *Blood* 119:3330-3332, 2012
- Waterfall JJ, Arons E, Walker RL, et al. High prevalence of MAP2K1 mutations in variant and IGHV4-34-expressing hairy-cell leukemias. *Nat Genet* 46:8-10, 2014
- Kreitman RJ, Wilson W, Calvo KR. Cladribine with immediate rituximab for the treatment of patients with variant hairy cell leukemia. *Clin Cancer Res* 19:6873-6881, 2013
- Zinzani PL, Lauria F, Raspadori D, et al. Results in hairy-cell leukemia patients treated with alpha-interferon: predictive prognostic factors. *Eur J Hematol* 49:133-137, 1992
- Spiers AS, Moore D, Cassileth PA, et al. Remissions in hairy-cell leukemia with pentostatin [2'-deoxycoformycin]. *N Engl J Med* 316:825-830, 1987
- Piro LD, Carrera CJ, Carson DA, et al. Lasting remissions in hairy-cell leukemia induced by a single infusion of 2-chlorodeoxyadenosine. *N Engl J Med* 322:1117-1121, 1990
- Saven A, Burian C, Koziol JA, et al. Long-term follow-up of patients with hairy cell leukemia after cladribine treatment. *Blood* 92:1918-1926, 1998
- Thomas DA, Ravandi F, Keating M, Kantarjian HM. Importance of minimal residual disease in hairy cell leukemia: monoclonal antibodies as a therapeutic strategy. *Leuk Lymphoma* 50(Suppl 1):27-31, 2009
- Kreitman RJ, Pastan I. Immunoconjugates in the management of hairy cell leukemia. *Best Pract Res Clin Haematol* 28:236-245, 2015
- Naik RR, Saven A. My treatment approach to hairy cell leukemia. *Mayo Clin Proc* 87:67-76, 2012
- Demeter J. A hajás sejtes leukémia diagnózisa és kezelése. In: A hematológiai betegségek korszerű kezelése. Ed: Lohoczky D, Zafir Press, Budapest 2011, pp. 223-240
- Dietrich S, Glimm H, Andrusis M, et al. BRAF inhibition in hairy-cell leukemia. *N Engl J Med* 366:2038-2040, 2012
- Pettriossi V, Santi A, Imperi E, et al. BRAF inhibitors reverse the unique molecular signature and phenotype of hairy cell leukemia and exert potent antileukemic activity. *Blood* 125:1207-1216, 2015
- Peyrade F, Re D, Ginot C, et al. Low dose vemurafenib induces complete remission in a case of hairy-cell leukemia with a V600E mutation. *Haematologica* 98:e20, 2013
- Dietrich S, Hüllelin J, Hundemer M, et al. Continued response off treatment after BRAF inhibition in refractory hairy cell leukemia. *J Clin Oncol* 31:300-303, 2013
- Baillieux C, Robert G, Ginot R, et al. Successful re-treatment of a relapsed V600E mutated HCL patient with low-dose vemurafenib. *Oncoscience* 2:44-49, 2015
- Maurer H, Haas P, Wengenmayer T, et al. Successful vemurafenib salvage treatment in a patient with primary refractory hairy cell leukemia and pulmonary aspergillosis. *Ann Hematol* 93:1439-1440, 2014
- Tiacci E, Park JH, De Carolis L, et al. Targeting mutant BRAF in relapsed or refractory hairy-cell leukemia. *N Engl J Med* 373:1733-1747, 2015
- Sári E, Fekete S, Masszi T, et al. Prevalence of hairy cell leukemia in Hungary with special emphasis on the treatment habits of Hungarian hematologists. *Haematologica: The Hematology Journal* 96(Suppl 2):575, 2011
- Follows GA, Sims H, Bloxham DM, et al. Rapid response of biallelic BRAF V600E mutated hairy cell leukemia to low dose vemurafenib. *Br J Haematol* 161:150-153, 2013
- Sári E, Nagy ZG, Baghy K, et al. Treatment of refractory hairy cell leukemia with a BRAF-inhibitor: lessons to be learnt. *Pathol Oncol Res* 20:973-980, 2014



Rövid összefoglaló az SPC LITAK®:

A GYÓGYSZER MEGNEVEZÉSE : LITAK 2 mg/ml oldatos injekció. **Terápiás javallatok:** A LITAK a hajás sejtes leukémia kezelésére alkalmas. **Adagolás és alkalmazás:** LITAK kezelést kizárólag olyan szakorvos kezdeményezhet, aki tapasztalattal rendelkezik a rák kemoterápiájában. A hajás sejtes leukémia kezelésére ajánlott adag egyszeri LITAK kúra, melyet szubkután bolus injekció formájában kell beadni, napi 0,14 mg/tetsúlykilogramm dózisban 5 egymást követő napon át. **Idős betegek:** 65 évesnél idősebb betegekkel kapcsolatban kevés tapasztalattal áll rendelkezésre. Idős betegek egyéni megítélés alapján kell kezelni, valamint ellenőrizni kell a vérképet, és a vese- és májfunkciókat. A kockázat megköveteli az egyéni beállítást. **Vese- és májféltelenség:** Nem állnak rendelkezésre adatok a LITAK alkalmazásáról vese- vagy májféltelenségben szenvedő betegek esetében. A LITAK adása ellenjavallt közepes és súlyos veseelégtelenségben (kreatinin clearance \leq 50 ml/perc) szenvedő betegek esetében, vagy közepes és súlyos májféltelenségben (Child-Pugh érték \geq 6). **Gyermekgyógyászati alkalmazás:** A LITAK adása ellenjavallt 18 évesnél fiatalabb betegeknek. **Alkalmazás:** A LITAK injekciósra kész oldat formájában kerül forgalomba. Az ajánlott dózist közvetlenül a fecskendőbe kell felszívni és szubcután bolus injekcióként kell beadni. A LITAK-ot alkalmazása előtt meg kell vizsgálni, hogy nem tartalmaz-e részecskéket és hogy az oldat nem színeződött-e el. A LITAK-ot alkalmazása előtt hagyni kell felemelkedni szobahőmérsékletre. **Ellenjavallatok:** A készítmény hatóanyagával vagy bármely segédanyagával szembeni túlérzékenység. Terhesség és szoptatás. 18 éves alatti betegek. Közepes és súlyos veseelégtelenség (kreatinin clearance \leq 50 ml/perc) vagy közepes és súlyos májféltelenség (Child-Pugh érték \geq 6). Egyéb myeloszuppresszív gyógyszerek egyidejű alkalmazása. **Különböző figyelmeztetések és az alkalmazással kapcsolatos óvintézkedések:** A kladrabin egy antineoplasztikus és immunoszuppresszív hatóanyag, mely erős toxikus ellenhatásokat válthat ki, például myelo- és immunoszuppresszió, hosszantartó limfocitopenia és opportunista fertőzések. A kladrabin terápiaiban részessül betegeknek gondosan ellenőrizni kell, hogy nem jelennek-e hematológiai és nem hematológiai jellegű toxicitás jelei. Különösen körültekintően kell eljárni, és gondosan mérlegelni a kockázat/hason arányt, ha a kladrabin alkalmazása fertőzésre fokozottan hajlamos betegek, fennálló csontvelő elégtelenség vagy infúzió, előzetes myeloszuppresszív kezelés esetében, illetve fennálló vese- vagy májféltelenség, vagy annak gyógyulással kezelt betegek esetében fordul elő. Az aktív fertőzésben szenvedő betegek állapotukat kell előbb kezelni, mielőtt kladrabin terápiát kapnak. Bár az antibiotikum profilaxis általában nem ajánlott, de mégis előnyös lehet legyengült immunrendszerű betegek, vagy korábban agranulocitózisban szenvedő betegek számára a kladrabin terápia megkezdése előtt. Súlyos toxicitás esetében

A kladrabin általánosan elfogadott készítmény a HSL preferált elsővonalbeli kezelésében¹

LITAK®
kladrabin (2 mg/ml)

A klinikai válasz átlagos aránya a hajás sejtes leukémiával kezelt betegeknél **97 %**, **76 %**-uknál teljes remissziót sikerült elérni.²

4 év kezelés után a betegek **73 %**-ánál továbbra is teljes remisszió.^{2, 4}

A Litak® legfontosabb jellemzői és eredményei HSL kezelésnél:

- látványos és tartós válasz naiv és korábban kezelt HSL-ben szenvedő betegeknél^{1, 2, 3}
- egyszerű és költséghatékony 5 napos adagolás (0,14 mg /kg/nap, sc)⁴
- jól tolerálható⁴
- alternatív kezelés és beadási mód⁵

Referenciák:

- Sigal DS et al. *Blood* 2010; 115(10):1893-6.
- von Rohr et al. *Ann Oncol* 2002; 3(10):1641-9.
- Else et al. *Br J Haematol* 2009; 145(6):733-40.
- Litak SPC, 12/2009 5. Naik R. *Mayo Clin Proc* 2012; 87(1):67-76.
- ALKALMAZÁSI ELŐÍRÁS LITAK

lipomed
SERVICES TO HEALTH

MEDIS
www.medis.hu

Medis Hungary Kft.
2045 Törökbalint, Hosszúút 1.
T: +36 23 801 028