Leczenie przewlekłej białaczki limfocytowej (PBL) – od przeszłości do teraźniejszości

Bogumiła Ciseł¹, Katarzyna Lipska², Anna Gumieniczek², Agata A. Filip³

¹ Klinika Chirurgii Onkologicznej, Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Polska

² Katedra i Zakład Chemii Leków, Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Polska

³ Zakład Genetyki Nowotworów z Pracownią Cytogenetyczną, Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Polska

Farmacja Polska, ISSN 0014-8261 (print); ISSN 2544-8552 (on-line)

Adres do korespondencji

Anna Gumieniczek, Katedra i Zakład Chemii Leków,
Uniwersytet Medyczny w Lublinie,
ul. Jaczewskiego 4, 20-090 Lublin,
e-mail: anna.gumieniczek@umlub.pl

Źródła finansowania

Nie wskazano źródeł finansowania.

Konflikt interesów

Nie istnieje konflikt interesów.

Otrzymano: 2020.01.12

Zaakceptowano: 2020.01.27

Opublikowano on line: 2020.02.15

DOI

10.32383/farmopol/118133

ORCID

Bogumiła Ciseł (ORCID iD: 0000-0001-6970-1698)

Katarzyna Lipska (ORCID iD: 0000-0002-1351-3329)

Anna Gumieniczek (ORCID iD: 0000-0002-2503-5272)

Agata A. Filip (ORCID iD: 0000-0001-7591-5887)

Copyright:

© Polskie Towarzystwo Farmaceutyczne

To jest artykuł o otwartym dostępie,

na licencji CC BY NC

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>

Therapy of chronic lymphocytic leukemia (CLL) – from past to present

Chronic lymphocytic leukemia (CLL) is the most common form of leukemia in Western European countries. This disease occurs mainly in adult population at an age of over 50 years, more commonly in men. Many years of research have shown that CLL is a disease with a very diverse clinical course and variable sensitivity to treatment. Therefore, in each case of newly diagnosed CLL, the clinical stage, prognostic factors and individualized therapeutic goals should be precisely defined before the treatment initiation.

Recent 50 years have been a period of significant development in the treatment of proliferative diseases of the hematopoietic and lymphatic systems. Along with dynamic development of molecular biology techniques, several new specific prognostic markers have been investigated and introduced, allowing better stratification of patients and more accurate direction of the therapy. A lot of effort has gone into searching for the next prognostic factors which allow to determine better probable life span and to implement the successful treatment. Furthermore, many preclinical and clinical studies continually extend the list of effective anticancer drugs, including these for CLL treatment. Increasingly, in addition to standard cytostatics, drugs with more selective mechanisms of action are being tested in monotherapy and new combinations. Considering the historical aspects, only a few anticancer drugs were available 50 years ago. In addition, they mainly presented the one mechanism of action directed at nucleic acids. Today, the list of effective drugs is significantly longer. In addition to typical cytostatics, it also contains drugs with selective mechanisms of action, affecting the cell life processes, their subcellular structures, signaling from outside and inside the cell, surface antigens, as well as drugs that act on the microenvironment of cancer cells and their vascularization. The aim of this paper was to show the historical background in the therapy of leukemia and summarize the current knowledge in CLL biology and treatments. The manuscript is focused on the clinical course of the disease, the main risk factors and mainly, on the available treatment strategies.

Keywords: chronic lymphocytic leukemia (CLL), chemotherapy, monoclonal antibodies, allo-HSCT, CAR-T therapy.

© Farm Pol, 2020, 76(1): 47–56

Rys historyczny

Białaczki stanowią heterogenną grupę schorzeń nowotworowych związanych z niekontrolowanym rozrostem komórek układu krwiotwórczego. Ze względu na ogólne podobieństwo zmian we krwi, w tym znaczny wzrost ilości leukocytów, różne typy białaczek traktowane były początkowo jako jedna choroba. Odzwierciedlają to pierwsze opisy chorych na białaczki pochodzące z XIX w. (Bennett, 1845; Virchow, 1845). Z tego okresu pochodzi określenie leukemia, czyli „choroba białej krwi”, które wprowadził Virchow w 1847 r. [1]. Z upływem czasu, dzięki postępowi w diagnostyce, m.in. opracowaniu metody barwienia preparatów mikroskopowych krwi (Ehrlich, 1877), zaczęto wyróżniać więcej rodzajów białaczek, dzieląc je na podstawowe dwa typy – pochodzące z układu granulocytarnego lub limfoidalnego [1]. Do końca XIX w., pomimo dokonującego się postępu w zakresie rozumienia patogenezy i możliwości diagnostycznych białaczek, wciąż nierozwiązany pozostawał problem ich efektywnej terapii.

W praktyce klinicznej zwalczano objawy choroby, stosując m.in. chininę w leczeniu gorączki, morfinę i opium w przypadku biegunki i bólu, związki żelaza w leczeniu anemii czy jodynę w leczeniu bakteryjnych zmian skórnych. Dla rozwoju chemioterapii rozrostów nowotworowych układu krwiotwórczego istotny okazał się rok 1865, kiedy po raz pierwszy w leczeniu zastosowano sole arsenu. Lissauer zaobserwował czasową regresję objawów u chorej na przewlekłą białaczkę szpikową (PBS) po podaniu niewielkiej dawki roztworu Fowlera, zawierającego arsenian potasu [1].

Nowe możliwości terapeutyczne pojawiły się w roku 1895 wraz z odkryciem promieniowania X przez Roentgena. Pierwsze badania nie wzbudziły jednak entuzjazmu, gdyż wykazano występowanie oporności na promieniowanie X, zwłaszcza w przypadku ostrych białaczek i niektórych chłoniaków (Osler, 1914; Minot, 1924) [1].

Do lat 40. XX w. nie udało się wprowadzić do leczenia metod skutecznych w białaczkach o ostrym przebiegu. Przełom dokonał się wraz z użyciem iperytu siarkowego i azotowego jako gazów bojowych w trakcie działań I i II wojny światowej. Zaobserwowano wówczas, że obok efektu parzącego, substancje te również uszkadzają szpik kostny. Przypadkowe zdarzenie w porcie Bari w 1943 r., kiedy w wyniku niemieckiego nalotu zatonął amerykański statek transportujący iperyt azotowy, okazało się istotne dla historii chemioterapii. U wielu marynarzy stwierdzono wówczas niedobory w zakresie wszystkich elementów morfotycznych krwi, czyli pancytopenię. Fakt ten przyczynił się do opracowania pierwszego cytostatyku

– chlormetyny (nitrogranulogenu). Badania naukowe i próby leczenia nitrogranulogenem rozpoczęto wcześniej w Stanach Zjednoczonych (Gilman, Goodman, Lindsog i Dougherty, 1942), ale ich wyniki utrzymywano w tajemnicy ze względu na działania wojenne. Dopiero w 1946 r. opublikowano pierwsze wyniki badań klinicznych, opartych na leczeniu grupy 160 chorych, głównie z rozpoznaniem chłoniaka Hodgkina. Równolegle prowadzono badania w Wielkiej Brytanii, uzyskując porównywalne wyniki (Wilkinson i Fletcher, 1947) [1, 2].

W latach 40. ubiegłego wieku trwały również badania nad wpływem kwasu foliowego na wzrost niektórych drobnoustrojów. Testowano także działanie nowo zsyntezowanych pochodnych pirymidyny na wzrost bakterii *Lactobacillus casei*, wykazując m.in. bakteriostatyczne działanie 5-bromouracylu. W oparciu o te dane zaczęto syntetyzować i wprowadzać do leczenia pierwsze antymetabolity, np. aminopterynę, a następnie metotreksat (Subbaw i wsp., 1946) [1].

W 1949 r. zwrócono uwagę na terapeutyczną wartość glikokortykosteroidów (Farber i wsp., 1950; Pearson i wsp., 1949), z których największe zastosowanie znalazł prednizon [1].

Kolejne lata przynosiły odkrycia nowych cytostatyków, które znalazły zastosowanie w leczeniu rozrostów układu krwiotwórczego. W roku 1952 Elion, Burs i Hitchings odkryli kolejny lek z grupy antymetabolitów – 6-merkaptopurynę. W 1953 r. Everett, Roberts i Ross zsyntetyzowali chlorambucyl (CLB), doustny lek alkilujący, który do dziś jest stosowany w leczeniu chorych na niektóre chłoniaki i białaczki, w tym przewlekłą białaczkę limfocytową (PBL). W następnych latach wprowadzono do leczenia dwa nowe leki alkilujące – cyklofosfamid (Brock i wsp., 1958) i tiotepę (1959). Cyklofosfamid do dzisiaj jest szeroko stosowanym lekiem cytostatycznym zarówno w terapii nowotworów litych, jak i chłoniaków [2].

W 1963 r., niezależnie w dwóch ośrodkach, wyizolowano ze szczepów *Streptomyces peuce-tis* pierwszą antracyklinę – daunorubicynę, która istotnie poprawiła wyniki leczenia ostrych białaczek. Wkrótce potem Arcamone i Di Marco wyizolowali pochodną daunorubicyny – doksorubicynę. Równolegle, w 1963 r., zarejestrowano winkrystynę jako lek cytostatyczny stosowany w chemioterapii wielu nowotworów, w tym różnych typów chłoniaków. W latach 90. ubiegłego stulecia pojawiły się dwa nowe leki z grupy antymetabolitów – kladrybina (2-CdA) i fludarabina (FA), z których 2-CdA jest do dzisiaj lekiem stosowanym w terapii, przede wszystkim, białaczki włochatokomórkowej i chłoniaków nieziarniczych o powolnym przebiegu, zaś FA stanowi standard w przypadku pierwszej linii terapii PBL [2].

Do lat 60. XX w. cytostatyki stosowano w monoterapii, starając się o utrzymanie ich stałego stężenia we krwi. Była to jednak metoda nie w pełni skuteczna i obciążona wysoką toksycznością. Poznanie dynamiki wzrostu tkanek nowotworowych, wskazujące na wolniejszy wzrost komórek nowotworowych niż komórek prawidłowych w narządach krytycznych (np. komórki szpiku i nabłonka), zmieniło sposób stosowania chemioterapii. Nowa zasada leczenia cytostatykami opierała się na ich podawaniu w schemacie cyklicznym. Ponadto, zwrócono uwagę na przewagę łączenia kilku leków (polichemioterapia, terapia skojarzona) nad monoterapią. Wykazano, że zastosowanie kilku leków o odmiennym punkcie uchwytu i zróżnicowanym profilu toksyczności umożliwia odnowę uszkodzonych w trakcie leczenia tkanek prawidłowych i poprawia skuteczność leczenia. Pierwszą próbę polichemioterapii zastosowano w 1958 r. w Mount Sinai Hospital w Nowym Yorku, łącząc dwa cytostatyki – metotreksat i tiotepę [2].

W latach 90. XX w., wraz z postępem transfuzjologii hematologicznej, w leczeniu białaczek znalazły zastosowanie wysokospecjalistyczne procedury przeszczepiania komórek hematopoetycznych zarówno allogenicznych, jak i autologicznych. U części chorych dają one szansę całkowitego wyleczenia, np. przeszczepienie allogenicznych macierzystych komórek krwiotwórczych (allo-HSCT) od dawcy rodzinnego lub niespokrewnionego w PBS. Wiąże się jednak z ryzykiem poważnych powikłań [2].

Równolegle z rozwojem współczesnej chemioterapii, która okazała się podstawową metodą leczenia nowotworów układu krwiotwórczego, trwały prace nad doskonaleniem leczenia wspomagającego. Zdawano sobie sprawę, że dalsza poprawa wyników leczenia chemicznego zależy od jego większej agresywności, co związane jest nieuchronnie ze zwiększeniem toksyczności. Na przełomie lat 80. i 90. XX w. do leczenia wprowadzono czynniki wzrostu (G-CSF, GM-CSF), które pozwoliły na znaczącą poprawę wyników leczenia chorych z gorączką neutropeniczną oraz stały się niezbędnym elementem w leczeniu wysokodawkowaną chemioterapią/radioterapią, wspomaganą transplantacją macierzystych komórek krwiotwórczych. W leczeniu niedokrwistości towarzyszącej nowotworom układu krwiotwórczego istotną rolę zaczęły odgrywać preparaty rekombinowanej erytropoetyny. Pojawiły się również nowe, skuteczniejsze leki przeciwnowotworowe z grupy antagonistów receptorów serotoninowych, poprawiające w dużym stopniu samopoczucie pacjentów [2].

Ostatnie lata to czas dużego rozwoju w leczeniu chorób rozrostowych układu krwiotwórczego i chłonnego, przede wszystkim dzięki lepszemu

poznaniu biologii komórek krwi. W terapii coraz szersze zastosowanie znajduje tzw. terapia ukierunkowana molekularnie z użyciem leków nowatorskich pod względem koncepcji leczenia, oddziałujących na konkretny cel, tj. cechę lub defekt komórkowy. Ich rola nie jest jeszcze w pełni poznana, nadal prowadzone są badania i próby kliniczne, ale niektóre leki z tej grupy znalazły już swoje miejsce w praktyce klinicznej [3]. Przykładem mogą być modulatory komórkowej transdukcji sygnału, takie jak ibrutinib, idelalisib i wenetoklaks, a także przeciwciała monoklonalne, jak rytuksymab, skierowane przeciwko antygenom wykazujących wysoką ekspresję w komórkach PBL [4].

Przewlekła białaczka limfocytowa (PBL)

PBL jest chorobą nowotworową układu krwiotwórczego związaną z klonalną proliferacją białaczkowych limfocytów B i ich nagromadzeniem w obrębie szpiku kostnego, krwi obwodowej oraz narządach limfatycznych. Choroba ta jest najczęściej spotykanym typem białaczki w Europie i Ameryce Północnej. Stanowi około 40% wszystkich białaczek u osób powyżej 65 roku życia, częściej występuje u osób płci męskiej. Zachorowalność wzrasta wraz z wiekiem, a 2/3 chorych to osoby powyżej 60 roku życia [5]. W obrazie klinicznym PBL obserwuje się postępującą limfocytozę krwi obwodowej, naciekanie szpiku kostnego, splenomegalię i limfadenopatię, a w zaawansowanym okresie choroby także dysfunkcję układu immunologicznego, która wyraża się niedoborami odporności i zespołami autoimmunologicznymi [5, 6].

Komórki białaczkowe stanowią klon długo żyjących, morfologicznie dojrzałych limfocytów B CD5⁺/CD19⁺/CD23⁺/sIg^{dim}. Ekspresja charakterystycznego dla limfocytów T antygenu CD5, słabo wykrywalna ekspresja powierzchniowej immunoglobuliny (sIg) oraz ekspresja CD23 pozwalają na różnicowanie PBL z innymi limfoproliferacjami, przede wszystkim z chłoniakiem strefy płaszcz (ang. *mantle cell lymphoma*) [7].

PBL jest chorobą rozrostową, w której obserwuje się występowanie zaburzeń cytogenetycznych. Spośród kilku znanych nieprawidłowości genetycznych, do najczęściej występujących należą delecje 13q14.3, 11q22-q23, 17p13, 6q21 oraz trisomia 12 [7, 8]. Delecja 13q14.3 obejmuje, między innymi, geny dla dwóch mikroRNA (miR-15a, miR-16-1). Ekspresja tych genów zachodzi w prawidłowych limfocytach B i jest związana z regulacją funkcji wielu genów, m.in. negatywną regulacją posttranskrypcyjną protoonkogenu *BCL2* [8]. Delecje 17p13 i 11q22-q23 związane są odpowiednio

z utratą genów *TP53* i *ATM*, które regulują proces apoptozy i warunkują wrażliwość na chemioterapię [6, 8, 9]. Trisomia chromosomu 12 jest związana z atypową morfologią komórek białaczkowych i progresją choroby, obejmuje prawdopodobnie geny zaangażowane w inaktywację *TP53* [8]. Ponad 99% krążących limfocytów białaczkowych PBL to komórki spoczynkowe zatrzymane w fazie G_0 cyklu komórkowego, choć ekspresja cząstek powierzchniowych CD23 i CD27 wskazuje raczej na stan ich aktywacji. W odróżnieniu jednak od prawidłowych limfocytów B komórki te słabo proliferują po zastosowaniu większości mitogenów [7].

Nagromadzenie limfocytów białaczkowych jest związane z zaburzonym procesem apoptozy. Istotne dla tego procesu wydaje się być oddziaływanie środowiska zewnętrznego (mikrośrodowiska) jako źródła sygnałów promujących przeżycie, czy to w postaci bezpośredniego kontaktu między komórkami, czy też za pośrednictwem chemokin, cytokin, cząsteczek miRNA i innych czynników. PBL towarzyszy również wyższy niż sądzono wcześniej poziom proliferacji, który pozwala na zastąpienie limfocytów ulegających apoptozie przez proliferujące komórki prekursorowe [10].

Przebieg kliniczny

PBL należy do chorób o przedłużonym przebiegu naturalnym, jednak z uwagi na wysoką heterogenność choroby, przebieg kliniczny i rokowanie mogą być bardzo odmienne dla indywidualnych chorych [7]. Część pacjentów przeżywa długi okres, nie wymagając leczenia, podczas gdy inni umierają szybko, pomimo agresywnej terapii [5, 10]. W praktyce klinicznej funkcjonują dwa systemy klasyfikacji PBL, które opracowano w latach 70. i 80. XX w. (Rai i wsp. oraz niezależnie Binet i wsp.) [11, 12]. Systemy te określają wczesne (Rai 0, Binet A), pośrednie (Rai I/II, Binet B) i zaawansowane (Rai III/IV, Binet C) stadium choroby ze średnim czasem przeżycia odpowiednio >10, 5–7, 1–3 lat [5]. Klasyfikacje te umożliwiają podjęcie decyzji o wdrożeniu leczenia, ale nie określają indywidualnego ryzyka agresywnego przebiegu choroby w przypadku rozpoznania jej we wczesnym stadium [10].

Biologiczna podstawa heterogenności limfocytów PBL nie została do końca poznana. Trudno jest określić stadium zróżnicowania komórki, z której wywodzi się klon białaczkowy. Prowadzone badania pozwoliły określić PBL jako chorobę wywodzącą się z doświadczonego antygenowo dojrzałych limfocytów B, które różni status mutacyjny regionów zmiennych V genów immunoglobulinowych [7]. Analiza mikromacierzy ekspresyjnych wykazała, że profil ekspresji genów zarówno przypadków

„zmutowanych”, jak i „niezmutowanych” jest zbliżony do komórek pamięci [13]. W związku z heterogennym obrazem klinicznym PBL, szczególną rolę odgrywa wczesna identyfikacja czynników ryzyka, które pozwoliłyby na wyodrębnienie spośród grona pacjentów tych, którzy znajdują się w grupie wysokiego ryzyka i którzy osiągnęliby korzyść z wczesnej i bardziej agresywnej terapii [10, 13].

Czynniki ryzyka

Spośród dotychczas poznanych czynników do tych o znaczeniu prognostycznym należą m.in. czas podwojenia liczby limfocytów, wzór naciekania szpiku kostnego przez komórki białaczkowe, markery surowicze: aktywność LDH, stężenie $\beta 2$ -mikroglobuliny, stężenie rozpuszczalnego CD23 oraz aberracje chromosomowe w obrębie chromosomów 11, 12, 13, 17. Do czynników o szczególnej wartości prognostycznej zalicza się status mutacyjny regionów zmiennych V genów immunoglobulinowych, poziom ekspresji CD38 oraz poziom ekspresji kinazy ZAP70 [13].

Klon białaczkowy z ujemnym statusem mutacyjnym regionów V, wysokim poziomem ekspresji CD38 lub kinazy ZAP-70 odpowiada agresywnej postaci choroby. Natomiast klon komórek z dodatnim statusem mutacyjnym genów V, niskim poziomem ekspresji CD38 lub kinazy ZAP-70 charakteryzuje powolny przebieg kliniczny [14].

Wraz z rozwojem technik biologii molekularnej pojawiły się nowe, specyficzne czynniki prognostyczne o znaczącym wpływie na diagnostykę PBL oraz dalsze określenie kierunku terapii [15]. Wśród nich możemy wyróżnić m.in. mutacje w genach *TP53*, *NOTCH1*, *SF3B1*, *BIRC3*, *ATM* oraz *MyD88* [16]. Poza szeroko opisanymi delecjami 17p13 i 11q22–q23 związanymi odpowiednio z genami *TP53* i *ATM*, odkryto również nowe mechanizmy inaktywujące gen *TP53*. Jest to m.in. nadekspresja białka MDM2 blokująca aktywność genów związanych z naprawą bądź apoptozą komórki przez *TP53* oraz prowadząca do jego degradacji poprzez ubiquitytację [16]. Pozostałe wspomniane markery molekularne, jak mutacje w genach *NOTCH1*, *SF3B1* czy *ATM* zaliczane są do niekorzystnych czynników predykcyjnych w przebiegu PBL i wiążą się m.in. z agresywnym przebiegiem choroby oraz skróceniem czasu całkowitego przeżycia [16].

Kolejnym nowo odkrytym, istotnym pod względem prognostycznym czynnikiem jest tzw. kariotyp złożony (ang. *complex karyotype*). Zdefiniowany jako złożony z trzech bądź więcej aberracji został on powiązany z niekorzystną prognozą (krótszy czas całkowitego przeżycia) oraz słabą odpowiedzią na leczenie [16].

Pomimo znacznego poszerzenia listy opisanych markerów prognostycznych PBL, ciągle poszukiwane są nowe, które mogłyby stać się równocześnie nowymi celami terapeutycznymi i tym samym zwiększyć skuteczność terapii [15].

Terapia PBL

PBL jest chorobą nieuleczalną przy zastosowaniu obecnie dostępnych sposobów terapii. Wyjątek stanowi niewielka liczba chorych poddanych procedurze allo-HSCT. Większość pacjentów we wczesnym stadium zaawansowania, bezobjawowych, umiera z innych powodów. Główną przyczyną śmierci w przypadku choroby objawowej są powikłania infekcyjne. U pacjentów w zaawansowanych stadiach rozwija się ostatecznie oporna na leczenie choroba i niewydolność szpiku. W niektórych przypadkach dochodzi do progresji choroby do postaci histopatologicznie bardziej złośliwej (transformacja w zespół Richtera), dla której charakterystyczny jest między innymi nagły początek oraz często ujawniająca się chemiooporność [3].

Większość pacjentów z uwagi na bezobjawowy przebieg choroby w jej wczesnych stadiach nie wymaga natychmiastowego zastosowania leczenia w momencie rozpoznania [4]. Chorzy we wczesnym etapie choroby, w stadium klinicznym 0 i częściowo I i II wg Rai lub w stadium A i B wg Bineta, bez aktywnej postaci choroby pozostają jedynie w obserwacji (ang. *watch-and-wait*) [17]. Wyniki badań francuskich z 1998 r. wykazały, że wczesne rozpoczęcie leczenia chorych w stadium choroby A, wg Bineta (CLB +/- prednizon), nie przedłuża życia i nie wpływa na dalszy przebieg choroby [18]. W przypadku ujawnienia się progresji choroby, koniecznością dla tych pacjentów może okazać się chemioterapia, immunoterapia bądź terapia celowana [19].

Leczenie rozpoczyna się zazwyczaj u chorych z objawową lub postępującą chorobą, w stadium klinicznym 0-II wg Rai lub w stadium A i B wg Bineta, a także u chorych w stadium klinicznym III i IV wg Rai lub stadium C wg Bineta [17]. Obserwuje się wówczas takie objawy jak: szybkie narastanie limfocytozy (wzrost powyżej 50% w ciągu 2 miesięcy lub czas podwojenia limfocytozy < 6 miesięcy); masywną (największy wymiar > 10 cm), postępującą lub objawową limfadenopatię; masywną (> 6 cm poniżej lewego łuku żebrowego), postępującą lub objawową splenomegalię; autoimmunologiczną niedokrwistość i/lub małopłytkowość odporne na kortykosteroidoterapię i inne standardowe leczenie; postępującą niewydolność szpiku oraz objawy ogólne, tj. gorączkę (> 38°C) trwającą dłużej niż 2 tygodnie bez obecności infekcji, poty nocne utrzymujące się przez ≥ 1 miesiąc bez obecności infekcji,

chudnięcie, tj. utrata ≥ 10% masy ciała w czasie nie dłuższym niż 6 miesięcy, upośledzenie stanu ogólnego w stopniu > 1 wg kryteriów Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) [18].

Pomimo że celem terapeutycznym u większości chorych jest uzyskanie całkowitej remisji choroby (CR), wydłużenie czasu przeżycia wolnego od progresji (PFS) oraz wydłużenie czasu całkowitego przeżycia (OS), postępowanie lecznicze w każdym przypadku nowo rozpoznanej PBL powinno zostać zindywidualizowane. U chorych starszych, w gorszym stanie ogólnym bądź z występującymi chorobami towarzyszącymi, pierwszorzędowym celem będzie poprawa jakości życia przez zastosowanie łagodnego leczenia cytoredukcyjnego i/lub leczenia objawowego. W przypadku młodszych pacjentów z obecnością niekorzystnych czynników rokowniczych, m.in. z zaburzeniami cytogenetycznymi (del 17p, del 11q), po wykazaniu oporności na FA, wskazaniem może być przeprowadzenie allo-HSCT bądź zastosowanie takich leków jak ibrutinib czy wenetoklaks [18].

Leki alkilujące

Chlorambucyl (CLB)

Leki alkilujące przez wiele dekad stanowiły podstawę terapii PBL. Spośród nich zasadnicze miejsce zajmuje CLB, długo uważany za „złoty standard” w pierwszej linii chemioterapii [20]. Głównymi zaletami leku jest jego niska toksyczność, niewielki koszt oraz dobra tolerancja i możliwość długotrwałego podawania drogą doustną, również u pacjentów w starszym wieku z współistniejącymi chorobami i w złym stanie ogólnym [20, 21]. Wśród jego wad zaznaczyć należy niski bądź zerowy wskaźnik CR oraz ujawniające się po dłuższym stosowaniu działania niepożądane, tj. przedłużona cytoopenia, mielodysplazja czy wtórna ostra białaczka [20]. CLB może być stosowany stale w dawce 0,1 mg/kg mc. lub pulsacyjnie w dawkach 0,4–0,8 mg/kg mc. co 14 dni, 10 mg/m²/dobę przez 7 dni co 28 dni lub 40 mg/m² jednorazowo co 28 dni. Dotychczas nie udowodniono przewagi żadnego ze sposobów podawania leku [21]. Jednakże, w dwóch badaniach klinicznych II fazy (CLL208 i ML 21445) udowodniono przewagę stosowania CLB w terapii złożonej z rytuksymabem (przeciwciało monoklonalne anty-CD20) w porównaniu do monoterapii [20]. Uzyskano wówczas odpowiednio odsetek CR na poziomie 9% i 16,7%, całkowity odsetek odpowiedzi (ORR) równy 82% i 81% oraz średni PFS – 23,9 miesiąca [21].

Cyklofosfamid

Kolejnym lekiem z grupy leków alkilujących stosowanym w leczeniu PBL jest cyklofosfamid. Lek

ten, podobnie jak CLB, może być podawany doustnie, w sposób ciągły w dawce 50–100mg/dobę i może stanowić bezpieczną alternatywę dla CLB [21]. Znalazł on zastosowanie w leczeniu skojarzonym z FA oraz rytuksymabem, a także w schematach CAP (cyklofosfamid, doksorubicyna, prednizon) i CHOP (cyklofosfamid, doksorubicyna, winkrystyna, prednizon). Obecnie, coraz częściej u chorych z PBL z występującymi cytopeniami autoimmunologicznymi zalecany jest schemat immunochemioterapii RCD (rytuksymab, cyklofosfamid, deksametazon) [20].

Analogi nukleozydów purynowych

Drugim istotnym elementem leczenia pierwszej linii PBL są analogi nukleozydów purynowych (FA, 2-CdA, pentostatyna). Mechanizm ich działania polega na hamowaniu enzymów niezbędnych do syntezy DNA i blokowaniu syntezy RNA i białek [3, 19]. Jednak, w związku z działaniem immunosupresyjnym, terapia analogami puryn wiąże się z ryzykiem rozwoju oportunistycznych infekcji wywołanych przez *Pneumocystis jirovecii*, *Mycobacterium tuberculosis* i *Herpes zoster* [3].

Fludarabina (FA)

FA jest analogiem nukleozydu adeniny, opornym na działanie deaminazy adenozy. Hamuje aktywność polimerazy, prymazy, ligazy DNA oraz reduktazy rybonukleotydowej, czego konsekwencją jest zahamowanie syntezy kwasów nukleinowych i białek [3]. Jak dotąd FA pozostaje najlepiej przebadanym związkiem w leczeniu PBL [20]. Wykazano również, że w porównaniu z CLB oraz innymi schematami leczenia z zastosowaniem leków alkilujących lub kortykosteroidów, FA w monoterapii przejawia wyższą aktywność, a odsetek CR plasuje się na poziomie 7–40%. Nie udowodniono jednak możliwości całkowitego wyleczenia (brak poprawy wskaźnika OS) [4, 20]. Najczęściej stosowanym schematem leczenia z zastosowaniem FA jest schemat FCR (FA, cyklofosfamid, rytuksymab). Z uwagi na widoczną poprawę wskaźnika OS, w dobie nowych terapii, FCR nadal uważany jest za „złoty standard” w przypadku pierwszej linii terapii PBL [17].

Kladrybina

(2-chlorodeoksyadenozyna, 2-CdA)

2-CdA jest analogiem deoksyadenozyny opornym na działanie deaminazy adenozy. Jej aktywne metabolity gromadzą się w komórkach o dużej aktywności kinazy deoksytydynowej (np. w limfocytach) i na drodze hamowania polimerazy DNA oraz reduktazy rybonukleotydowej prowadzą do blokady syntezy kwasów nukleinowych

i białek [3]. Podobnie jak w przypadku FA stwierdzono wyższy odsetek CR podczas leczenia 2-CdA niż CLB w połączeniu z prednizonem (47% vs 12%), jednak bez wpływu na długość przeżycia [20]

Pentostatyna

Pentostatyna jest silnym inhibitorem deaminazy adenozy, której w 1984 r. przypisano działanie przeciwnowotworowe, szczególnie skuteczne u pacjentów z białaczką włochatokomórkową, u których zaobserwowano remisję choroby [22]. W leczeniu PBL podjęto kilka prób stosowania pentostatyny, głównie w schemacie PCR (pentostatyna, cyklofosfamid, rytuksymab), w których wykazano wysoki odsetek odpowiedzi (ORR 91%, CR 41%) zarówno u chorych poniżej 70. roku życia, jak i u osób starszych [21]. W przeprowadzonych badaniach klinicznych wykazano, że terapia skojarzona z zastosowaniem 2-CdA bądź pentostatyny osiąga podobną aktywność jak w przypadku FA, jednak nie stwierdzono jednoznacznie, czy mogą one zastąpić FA w schemacie FCR [17].

Bendamustyna (BEN)

BEN, lek składający się z fragmentu alkilującego i purynowego, opracowany w Niemczech w latach 50. XX w., dopiero ostatnio znalazł się w światowej czołówce jako skuteczny środek chemioterapeutyczny w leczeniu nowotworów hematologicznych. BEN nie wykazuje krzyżowej oporności z lekami alkilującymi czy analogami nukleozydów purynowych [19, 23]. Jej wysoką skuteczność zademonstrowali Knauf i wsp. w randomizowanym, otwartym, międzynarodowym, wielośrodkowym badaniu III fazy z udziałem 319 uprzednio nieleczonych chorych z PBL. Wyniki wskazywały na istotnie wyższy odsetek ORR, CR oraz medianę PFS u chorych leczonych BEN w porównaniu z chorymi otrzymującymi CLB (odpowiednio 68%, 31%, 21,6 miesiąca vs 31%, 2%, 8,3 miesiąca). U chorych otrzymujących BEN częściej występowały jednak działania niepożądane, przede wszystkim neutropenia, infekcje, trombocytopenia, rzadziej gorączka, nudności, wymioty [24]. Uaktualnione wyniki badania z uwzględnieniem okresu obserwacji (mediana 54 miesiące) potwierdziły przewagę BEN w stosunku do CLB w odniesieniu do wszystkich uprzednio analizowanych wskaźników, przede wszystkim PFS (mediana 21,2 vs 8,8 miesiąca) [21]. W innym badaniu porównano BEN z FA. Wyniki badania z udziałem 96 uprzednio leczonych (zazwyczaj CLB) chorych z PBL wykazały odpowiednio wyższe odsetki ORR, CR oraz medianę PFS i OS u pacjentów leczonych BEN w stosunku do FA (kolejno 76%, 27%, 20,1, 43,8 miesiąca vs 62%, 9%, 14,8, 41,0 miesiąca) [20]. Powyższe dane

sugerują wysoką skuteczność BEN w monoterapii PBL [20].

Obecnie jednak BEN stosowana jest głównie w terapii skojarzonej, przede wszystkim w połączeniu z rytuksymabem, w schemacie BR [20]. W randomizowanym badaniu III fazy u uprzednio nieleczonych chorych z PBL, pomimo odnotowanej słabszej aktywności schematu BR w stosunku do FCR (mediana PFS 41,7 miesiąca vs 55,2 miesiąca), wykazano również niższą toksyczność schematu BR wobec FCR [20, 25]. Wskazywać to może na lepszy stosunek korzyści do ryzyka, szczególnie u osób starszych, gdzie BR może okazać się odpowiednim schematem terapii [25].

Przeciwciała monoklonalne

Rytuksymab

Rytuksymab jest przeciwciałem monoklonalnym skierowanym przeciwko antygenowi CD20, którego ekspresję wykazuje większość komórek PBL. Ekspresja ta jest jednak słabsza niż w innych chłoniakach nieziarniczych typu B, co implikuje niską skuteczność rytuksymabu stosowanego w monoterapii w tych przypadkach. Wyższą skuteczność obserwuje się natomiast przy zastosowaniu terapii skojarzonej z lekami cytostatycznymi [26]. Jak opisano powyżej, rytuksymab wykazuje najsilniejsze działanie w skojarzeniu z FA oraz cyklofosfamidem. Randomizowane badanie III fazy (CLL 8) wykazało, że leczenie z zastosowaniem programu FCR znacznie poprawia OS oraz daje możliwość eliminacji choroby resztkowej (brak nawrotów choroby nawet po 12 latach) [4]. Ponadto, zastosowanie rytuksymabu w ramach terapii konsolidującej po monoterapii FA u pacjentów, którzy w wyniku leczenia FA uzyskali CR lub częściową remisję (PR) przy jednoczesnym pozytywnym wyniku testu na obecność choroby resztkowej (MRD), pozwala na istotne wydłużenie czasu trwania odpowiedzi [27].

Ofatumumab

Ofatumumab jest humanizowanym przeciwciałem monoklonalnym nowej generacji klasy IgG1, skierowanym przeciwko nowemu epitopowi części CD20 na limfocytach B, który nie jest rozpoznawany przez rytuksymab. W związku z tym wykazuje on większą zdolność wiązania z docelowym antygenem, efektywniejszą jego agregację, mniejszą dysocjację z powierzchni komórki oraz większą zdolność aktywacji dopełniacza [18]. Ofatumumab, podobnie jak pozostałe leki z tej grupy, został zaakceptowany w leczeniu PBL. Akceptacja przez Food and Drug Administration (FDA) w monoterapii u chorych z PBL opornych na FA oraz alemtuzumab nastąpiła w 2009 r., zaś przez European Medicine Agency (EMA) w 2010 r. Następnie,

w 2016 r. FDA rozszerzyło rejestrację ofatumumabu o terapię złożoną w kombinacji z FA oraz cyklofosfamidem w nawrotowej PBL [28, 29]. Powyższa decyzja oparta była na wynikach badania przeprowadzonego w grupie 201 podwójnie opornych chorych (ang. *double refractory*) na FA oraz alemtuzumab bądź opornych na FA z obecnością dużej masy guza (ang. *bulky disease*) (>5cm), u których ORR uzyskany po wprowadzeniu monoterapii ofatumumabem wyniósł odpowiednio 51% i 44% [20].

Obinutuzumab (GA101)

Obinutuzumab jest humanizowanym przeciwciałem monoklonalnym typu II podklasy IgG1, skierowanym przeciwko CD20, dla którego w badaniach przedklinicznych stwierdzono wysoką skuteczność oraz względnie niską toksyczność w porównaniu z rytuksymabem. Ponadto, badania kliniczne potwierdziły skuteczność tego leku w monoterapii u chorych z PBL opornych na rytuksymab (ORR 30%, PFS – 10,7 miesiąca) [30]. Obinutuzumab oceniono również w kilku badaniach klinicznych w połączeniu z CLB, gdzie odnotowano znaczną poprawę wyników u pacjentów z PBL i chorobami współistniejącymi, a także zauważono lepsze wyniki niż w zastosowaniu połączenia CLB z rytuksymabem [20].

Alemtuzumab (Campath-1H)

Alemtuzumab jest humanizowanym przeciwciałem monoklonalnym klasy IgG1, skierowanym przeciwko antygenowi CD52, którego ekspresję wykazują limfocyty linii B i T oraz inne komórki jednojądrzaste układu krwiotwórczego (m.in. komórki NK). Znajduje zastosowanie głównie w leczeniu postaci PBL opornych na leczenie analogami puryn [31]. Lek ten wykazuje również aktywność w leczeniu pierwszoliniowym [32]. Odsetek odpowiedzi po zastosowaniu monoterapii u chorych w zaawansowanym stadium PBL, uprzednio leczonych lekami alkilującymi (przy nieskuteczności FA), wyniósł 33–53%, z PFS w granicach 8,7–15,4 miesiąca [20]. Alemtuzumab wykazuje ponadto aktywność u pacjentów z grupy wysokiego ryzyka, u których występują niekorzystne zmiany cytogenetyczne [del(17p13.1), del(11q22.3), mutacje TP53 i obserwuje się oporność na pozostałe leki cytostatyczne [32].

Inne terapie

Allogeniczne przeszczepianie krwiotwórczych komórek macierzystych (allo-HSCT)

Procedura allo-HSCT jest aktualnie jedyną metodą terapeutyczną związaną z możliwością wyleczenia chorych na PBL [19]. Ograniczeniem tej metody jest jednak wysokie ryzyko powikłań,

w tym duże ryzyko śmiertelności okolo przeszczepowej [19]. W przypadku zastosowania allo-HSCT po kondycjonowaniu mieloblastycznym ryzyko to wynosi 20–50%, zaś po kondycjonowaniu o zredukowanej intensywności (RIC) około 20% [18]. W związku z tym, metoda ta może zostać zastosowana u osób młodszych (<55 roku życia), bez istotnych chorób współtowarzyszących i w dobrym stanie ogólnym, u których uzyskano pełną zgodność w zakresie ludzkich antygenów leukocytarnych między dawcą a biorcą. Zastosowanie leczenia konsolidującego za pomocą allo-HSCT z wykorzystaniem RIC jest obecnie preferowane w leczeniu młodszych chorych z PBL wysokiego ryzyka [18].

Leki modulujące przekazywanie sygnałów wewnątrzkomórkowych w komórkach białaczkowych

Ibrutynib

Ibrutynib jest zaliczany do inhibitorów kinaz zależnych od receptora B-komórkowego (BCR) (kinazy Brutona) [18]. Jest to lek podawany doustnie, indukujący apoptozę w komórkach białaczkowych [20]. Co istotne, wpływa on także na zahamowanie przekazywania sygnału pomiędzy limfocytami i mikrośrodowiskiem. Korzyści zastosowania ibrutynibu w pierwszej linii po raz pierwszy zostały zauważone w badaniu obejmującym 51 chorych z grupy wysokiego ryzyka – z del17p/mutacją TP53, u których odnotowano ORR na poziomie 97%, CR 12%, PR 70% i szacowany 2-letni OS na poziomie 84% [8]. Kolejne badania (RESONATE i RESONATE-2) miały na celu porównanie aktywności ibrutynibu z dotychczas stosowanymi lekami w PBL, jak ofatumumab oraz CLB. Uzyskano wówczas również zadowalające wyniki (odpowiednio, 12 miesięczny PFS 79%, 18 miesięczny PFS 90%), na podstawie których ibrutynib został zarejestrowany przez FDA jako lek pierwszej linii w leczeniu chorych z PBL [4, 33]. Ibrutynib oceniono również w terapii skojarzonej z FCR, BR oraz ofatumumabem, w której stwierdzono ogólną poprawę wyników u pacjentów z PBL [20]. Obecnie ibrutynib znajduje się w ponad 90 badaniach klinicznych, w których oceniana jest jego aktywność zarówno w monoterapii, jak i w terapii skojarzonej w leczeniu PBL [4].

Idelalisyb

Idelalisyb jest selektywnym inhibitorem kinazy zależnej od BCR (3-kinazy fosfatydyloinozitolu-delta) podawanym doustnie, prowadzącym do apoptozy komórek białaczkowych. Idelalisyb został oceniony w badaniu I fazy u chorych z nawrotową bądź oporną PBL, u których uzyskano ORR na poziomie 72%, PFS – 15,8 miesiąca [33]. Kolejne badanie III fazy, w którym oceniono idelalisyb

w połączeniu z rytuksymabem pozwoliło na zarejestrowanie leku przez FDA w leczeniu PBL. Odnotowano wówczas istotnie wydłużony czas przeżycia, w porównaniu do samego rytuksymabu, u uprzednio leczonych starszych pacjentów z chorobami współistniejącymi [4].

Kolejno EMA zaakceptowała idelalisyb w połączeniu z rytuksymabem lub ofatumumabem w leczeniu chorych z PBL (del17p/mutacja TP53), u których odnotowano nieskuteczność innych terapii [34]. W związku z pojawiającymi się informacjami o ciężkich, głównie opornych infekcjach (*Pneumocystis*, cytomegalowirus) idelalisyb jest obecnie rekomendowany w terapii chorych z PBL z mutacjami TP53, którzy nie kwalifikują się do innych terapii pierwszej linii [4].

Flawopirydol

Flawopirydol jest to półsyntetyczny flawon hamujący aktywność kinaz białkowych, w tym kinaz cyklozależnych, które uczestniczą w regulacji cyklu komórkowego. Badania *in vitro* wykazały, że związek ten indukuje apoptozę limfocytów białaczkowych PBL [20].

Wenetoklaks (ABT-199)

Wenetoklaks jest mimetykiem białek BH3 oraz inhibitorem BCL2 [4]. Działanie wenetoklaksu w terapii PBL ukierunkowane jest przede wszystkim na antyapoptotyczne białko (BCL2), którego wysoka ekspresja w komórkach białaczkowych wiąże się z ich zwiększonym przeżyciem *in vivo* i opornością na leczenie z wykorzystaniem typowej terapii. Dwa badania kliniczne potwierdziły skuteczność wenetoklaksu oraz dobrą tolerancję u chorych z nawrotową bądź oporną PBL z del17p, zapewniając tym samym nową opcję terapeutyczną dla tej niekorzystnie rokującej grupy chorych [20]. W 2016 r. wenetoklaks został zaakceptowany przez FDA oraz EMA w leczeniu chorych z PBL z del17p bądź inną mutacją TP53, którzy nie odpowiadali na ibrutynib, idelalisyb lub immunochemioterapię [4]. Obecnie, po zadowalających wynikach poprzednich badań, wenetoklaks znajduje się w ponad 50 badaniach klinicznych, oceniających jego aktywność w monoterapii oraz w terapii skojarzonej, między innymi z obinutuzumabem i rytuksymabem [35].

Czynniki immunomodulujące

Lenalidomid

Lenalidomid jako pochodna talidomidu zaliczany jest do grupy związków terapeutycznych o potencjale antyangiogennym i immunomodulującym, które wpływają hamująco na ekspresję cytokin prozapalnych i stymulują immunologiczne komórki efektorowe, zwiększając w ten sposób odporność

przeciwnowotworową organizmu [36]. Obecnie lenalidomid jest oceniany w badaniach klinicznych zarówno w monoterapii, jak i w terapii skojarzonej z rytuksymabem oraz jako terapia konsolidująca po immunochemioterapii [20].

Immunoterapia CAR-T

Chimeryczny receptor antygenowy CAR (ang. *chimeric antigen receptor*) jest genetycznie zmodyfikowanym białkiem receptorowym, za pomocą którego limfocyty CAR-T rozpoznają komórki nowotworowe i prowadzą do ich zniszczenia. Dostępne wyniki badań przedklinicznych i klinicznych pokazują, że terapia CAR-T może być nową szansą dla pacjentów z nawrotową i oporną PBL [37]. Niestety z uwagi na ujawniające się działania niepożądane oraz ciągle wysoki odsetek nieskuteczności leczenia, w dalszym ciągu trwają badania mające na celu udoskonalenie terapii, m.in. poprzez odpowiednie przygotowanie pacjenta bądź zastosowanie terapii skojarzonej [38]. Obecnie immunoterapia z zastosowaniem CAR-T jest oceniana m.in. w połączeniu z ibrutinibem oraz allo-HSCT [39].

Inhibitory deacetylaz histonów (HDI)

HDI zawdzięczają swoją aktywność przeciwnowotworową wpływowi na poziom acetylacji histonów i tym samym zmianę kondensacji chromatyny, prowadzącą do zmiany ekspresji genów odpowiedzialnych m.in. za przebieg cyklu komórkowego. Przeprowadzono liczne badania przedkliniczne i kliniczne, które dowiodły dużej aktywności przeciwnowotworowej tych związków, również w PBL. Należy zwrócić tu szczególną uwagę na giwinstat, jako przykład pan-inhibitora oraz entinostat, selektywnego HDI klasy I, u których zarówno w badaniach przedklinicznych, jak i klinicznych zaobserwowano wysoką aktywność przeciwnowotworową w PBL. Obecnie prowadzone są liczne badania przedkliniczne i kliniczne umożliwiające ocenienie aktywności różnych związków z grupy HDI w guzach litych oraz nowotworach hematologicznych, w tym w PBL, w monoterapii oraz terapii skojarzonej z innymi lekami przeciwnowotworowymi, przede wszystkim z cytostatykami [40].

Podsumowanie

Na przestrzeni ostatnich lat dokonał się duży postęp w zakresie możliwości terapeutycznych wzrostowych chorób układu krwiotwórczego i chłonnego, w tym także PBL. Przed ok. 50 laty istniało zaledwie kilka leków przeciwnowotworowych oddziałujących głównie na kwasy nukleinowe. Dzisiaj lista skutecznych leków jest długa. Obok typowych cytostatyków znajdują się na niej również leki o selektywnym mechanizmie działania,

wpływające na procesy życiowe komórek, ich struktury subkomórkowe, przekazywanie sygnałów z zewnątrz i wewnątrz komórki, antygeny powierzchniowe, jak również leki działające na mikrośrodowisko komórek nowotworowych oraz ich unaczynienie. Ponadto, wiele nowych substancji o potencjale przeciwbiałaczkowym jest badanych w kolejnych fazach badań przedklinicznych i klinicznych.

Piśmiennictwo

1. Piller GJ. Leukemia – a brief historical review from ancient times to 1950. *Br J Haematol.* 2001; 112: 282–292. doi: 10.1046/j.1365-2141.2001.02411.X.
2. Krzakowski M. Onkologia kliniczna. Wydawnictwo Medyczne Borgis, Warszawa 2006.
3. Szmigielska-Kaplon A, Robak T. Leczenie przewlekłej białaczki limfocytowej. *Onkologia w praktyce klinicznej.* 2005; 1: 141–150.
4. Tresckow J, Eichhorst B, Bahlo J, Hallek M. The Treatment of Chronic Lymphatic Leukemia. *Dtsch Arztebl Int.* 2019; 116(4): 41–46. doi: 10.3238/arztebl.2019.0041.
5. Byrd JC, Stilgenbauer S, Flinn IW. Chronic lymphocytic leukemia. *Hematology (Am Soc Hematol Educ Program).* 2004; 1: 163–183. doi: 10.1182/asheducation-2004.1.163.
6. Wagner S, Cwynarski K. Chronic lymphocytic leukemia: new biological markers for assessing prognosis. *Hematol J.* 2004; 5: 197–201. doi: 10.1038/sj.thj.6200379.
7. D'Arena G, Di Renzo N, Brugiatelli M, Vigliotti ML, Keating MJ. Biological and Clinical Heterogeneity of B-cell Chronic Lymphocytic Leukemia. *Leuk Lymphoma.* 2003; 44: 223–228. doi: 10.1080/1042819021000035756.
8. Condoluci A, Rossi D. Genetic mutations in chronic lymphocytic leukemia: impact on clinical treatment. *Expert Rev Hematol.* 2019; 2(2): 89–98. doi: 10.1080/17474086.2019.1575130.
9. Kröber A, Seiler T, Benner A, et al. V(H) mutation status, CD38 expression level, genomic aberrations, and survival in chronic lymphocytic leukemia. *Blood.* 2002; 100: 1410–1416.
10. Chiorazzi N, Rai KR, Farrarini M. Chronic Lymphocytic Leukemia. *N Engl J Med.* 2005; 352: 804–815. doi: 10.1056/NEJMra041720.
11. Binet JL, Auquier A, Dighiero G, et al. A new prognostic classification of chronic lymphocytic leukemia derived from a multivariate survival analysis. *Cancer.* 1981; 48: 198–206. doi: 10.1002/1097-0142(19810701)48:1<198::aid-cnrcr2820480131>3.0.co;2-v.
12. Rai KR, Sawitsky A, Cronkite EP, et al. Clinical staging of chronic lymphocytic leukemia. *Blood.* 1975; 46: 219–234.
13. Zent CS, Kay NE. Advances in the Understanding of Biology and Prognosis in Chronic Lymphocytic Leukemia. *Curr Oncol Reports.* 2004; 6: 348–354. doi: 10.1007/s11912-004-0060-z.
14. Schroers R, Griesinger F, Trümper L, et al. Combined analysis of ZAP-70 and CD38 expression as a predictor of disease progression in B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia.* 2005; 19: 750–758. doi: 10.1038/sj.leu.2403707.
15. Matysiak M, Karp M, Kapka-Skrzypczak L. Nowe markery prognostyczne przewlekłej białaczki limfocytowej. *Hygeia Public Health.* 2014; 49(3): 435–441.
16. Boddu P, Ferrajoli A. Prognostic Factors in the Era of Targeted Therapies in CLL. *Curr Hematol Malig Rep.* 2018; 13(2): 78–90. doi: 10.1007/s11899-018-0439-9.
17. Eichhorst B, Robak T, Montserrat E, et al. Chronic lymphocytic leukaemia: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol.* 2015; 26(5): 78–84.
18. Warzocha K. Przewlekła białaczka limfocytowa. Zalecenia postępowania diagnostyczno-terapeutycznego w nowotworach złośliwych. *Via Medica, Gdańsk* 2013.
19. Robak T, Hus I, Giannopoulos K, et al. Rekomendacje diagnostyczne i terapeutyczne dla przewlekłej białaczki limfocytowej w 2016r – Raport Grupy Roboczej PTHiT i PALG-CLL. *Acta Haematol Pol.* 2016; 47(3): 169–183.
20. Hallek M. Signaling the end of chronic lymphocytic leukemia: new frontline treatment strategies. *Blood.* 2013; 122(23): 3723–3734. doi: 10.1182/blood-2013-05-498287.
21. Wołowicz D, Korycka-Wołowicz A. Przewlekła białaczka limfocytowa slow-go – kim są chorzy i jak ich leczyć? *Hematologia.* 2013; 4(2): 85–96.
22. Samsel M, Dzierzbicka K, Trzonkowski P. Adenozyna, jej analogi i koniugaty. *Postępy Hig Med Dosw.* 2013; 67: 1189–1203.

23. Bergmann MA, Goebeler ME, Herold M, et al. Efficacy of bendamustine in patients with relapsed or refractory chronic lymphocytic leukemia: results of a phase I/II study of the German CLL Study Group. *Hematologica*. 2005; 90(10): 1357–1364.
24. Knauf WU, Lissichkov T, Aldaoud A, et al. Phase III Randomized Study of Bendamustine Compared With Chlorambucil in Previously Untreated Patients With Chronic Lymphocytic Leukemia. *J Clin Oncol*. 2009; 27(26): 4378–4384. doi: 10.1200/JCO.2008.20.8389.
25. Egle A. Milestones in Chronic Lymphocytic Leukemia. An exciting decade of progress – 10th anniversary of memo. *Memo*. 2017; 10(1): 8–12. doi: 10.1007/s12254-017-0318-4.
26. Keating MJ, O'Brien S, Albitar M, et al. Early results of a chemoimmunotherapy regimen of fludarabine, cyclophosphamide, and rituximab as initial therapy for chronic lymphocytic leukemia. *J Clin Oncol*. 2005; 23(18): 4079–4088. doi: 10.1200/JCO.2005.12.051.
27. Del Poeta G, Del Principe MI, Buccisano F. Consolidation and maintenance immunotherapy with rituximab improve clinical outcome in patients with B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Cancer*. 2008; 112: 119–128. doi: 10.1002/cncr.23144.
28. European Medicines Agency. Dostępny w Internecie: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/arszerra>. Dostęp 11.06.2019.
29. U.S. Food and Drug Administration. Dostępny w Internecie: <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/daf/index.cfm?event=BasicSearch.process>. Dostęp 11.06.2019.
30. Karczmarczyk A, Giannopoulos K. Obinutuzumab jako nowa szansa terapeutyczna dla chorych na przewlekłą białaczkę limfocytową. *Acta Haematol Pol*. 2015; 46: 35–41.
31. Keating MJ, Flinn I, Jain V, et al. Therapeutic role of alemtuzumab (Campath-1H) in patients who have failed fludarabine: results of a large international study. *Blood*. 2002; 99(10): 3554–3561. doi: 10.1182/blood.v99.10.3554.
32. Alinari L, Lapalombella R, Andritsos L, et al. Alemtuzumab (Campath-1H) in the treatment of chronic lymphocytic leukemia. *Oncogene*. 2007; 26: 3644–3653. doi: 10.1038/sj.onc.1210380.
33. Molica S. Targeted therapy in the treatment of chronic lymphocytic leukemia: facts, shortcomings and hopes for the future. *Expert Rev Hematol*. 2017; 10(5): 425–432. doi: 10.1080/17474086.2017.1313108.
34. European Medicines Agency. Dostępny w Internecie: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/zydelig>. Dostęp 11.06.2019.
35. ClinicalTrials.gov. Dostępny w Internecie: <https://clinicaltrials.gov/ct2/results?cond=CLL&term=venetoclax&cntry=&state=&city=&dist=>. Dostęp 11.06.2019.
36. Chanan-Khan A, Miller KC, Musial L, et al. Clinical efficacy of lenalidomide in patients with relapsed or refractory chronic lymphocytic leukemia: results of a phase II study. *J Clin Oncol*. 2006; 24(34): 5343–5349. doi: 10.1200/JCO.2005.05.0401.
37. Zou Y, Xu W, Li Y. Chimeric antigen receptor-modified T cell therapy in chronic lymphocytic leukemia. *J Hematol Oncol*. 2018; 11: 130. doi: 10.1186/s13045-018-0676-3.
38. Bair SM, Porter DL. Accelerating chimeric antigen receptor therapy in chronic lymphocytic leukemia: The development and challenges of chimeric antigen receptor T-cell therapy for chronic lymphocytic leukemia. *Am J Hematol*. 2019; 94(1): 10–17. doi: 10.1002/ajh.25457.
39. ClinicalTrials.gov. Dostępny w Internecie: <https://clinicaltrials.gov/ct2/results?cond=CLL&term=car-t&cntry=&state=&city=&dist=>. Dostęp 11.06.2019.
40. Lipska K, Filip A, Gumieniczek A. Postępy w badaniach nad inhibitorami deacetylaz histonów jako lekami przeciwnowotworowymi. *Postępy Hig Med Dosw*. 2018; 72: 1018–1031. doi: 10.5604/01.3001.0012.7749.