

Efekt a tolerancia kombinovanej liečby fludarabinom s cyklofosfamidom u chorých s chronickou lymfocytovou leukémiou

E. Tóthová, A. Kafková, T. Guman, M. Fričová, N. Štecová, E. Švorcová, M. Hlebašková

Klinika hematológie a onkohematológie Lekárskej fakulty UPJŠ a FNŠP, Košice, Slovenská republika, prednosta prof. MUDr. Elena Tóthová, CSc.

Súhrn: *Úvod:* Kombinovanou liečbou fludarabinom s cyklofosfamidom (FLU-CY) môžeme dosiahnuť vyšší počet kompletných remisií, pokles minimálnej reziduálnej choroby, a tak aj pravdepodobnosť dlhšieho prežívania chorých s chronickou lymfocytovou leukémiou (B-CLL). Cieľom našej práce bolo vyhodnotenie efektu tejto kombinovanej liečby a posúdenie jej toxicity u chorých s predtým neliečenou B-CLL. *Materiál a metódy:* Od mája roku 1999 do decembra roku 2003 dostalo FLU-CY liečbu 57 pacientov s pokročilou B-CLL. FLU sme podávali v dennej dávke 30 mg/m² 3 dni po sebe a cyklofosfamid v dávke 300 mg/m² takisto v 3 po sebe nasledujúcich dňoch. Cykly intravenózneho chemoterapie (CHT) sme opakovali každých 28 dní, iba v prípade výraznej myelosupresie bol interval medzi cyklami CH dlhší. Odpoveď na liečbu a toxicitu chemoterapie sme hodnotili podľa NCI-WG (National Cancer Institute – Sponsored Working Group) kritérií. Minimálna reziduálna choroba bola detekovaná imunofenotypovým vyšetrením u chorých s dosiahnutou kompletnou remisiou (CR). *Výsledky:* Odpoveď na liečbu sme dosiahli u 86 % chorých (95 % CI 80,6–94,7), a kompletnú remisiu sme potvrdili u 39 % chorých. V čase analýzy bolo ešte stále 18/22 pacientov v kompletnej remisii. Medián sledovania bol 19 (rozpätie 8–36) mesiacov. Reziduálna choroba pretrvávala u 4 pacientov s CR. Liečba bola sprevádzaná myelosupresiou, III. a IV. stupeň trombocytopenie bol u 3 (5,2 %) pacientov a neutropénia stupeň III/IV u 6 chorých (10,5 %). Ťažké infekcie sprevádzali liečbu v 24,0 %, dvaja pacienti (3,5 %) zomreli, 1 na pseudomonádovú sepsu a 1 na progresiu CLL. *Záver:* Kombinovanú liečbu fludarabinom s cyklofosfamidom považujeme za vysoko efektívnu u predtým neliečenej B-CLL v porovnaní s konvenčnou liečbou alebo s monoterapiou s fludarabinom.

Kľúčové slová: chronická lymfocytová leukémia – fludarabin – cyklofosfamid – remisia – toxicita

Effect and tolerability of combine therapy fludarabine plus cyclophosphamide in patients with B-chronic lymphocytic leukemia

Summary: *Introduction:* Combined treatment of fludarabine (FLU) with cyclophosphamide (CY) may increase the complete remission (CR) rate, decreased minimal residual disease (MRD) and, possibly, prolong survival in B-chronic lymphocytic leukemia patients (B-CLL). The aim of study was to evaluate the activity and toxicity of FLU in combination with CY, the FLU-CY schedule, in patients with previously untreated B-CLL. *Material and methods:* From May 1999 to December 2003, 57 patients with advanced or progressive B-CLL, received treatment with FLU at a dose of 30 mg/m² for three consecutive days and CY at a dose of 300 mg/m² for three days. The cycles were repeated at four weeks intervals or longer if severe myelosuppression occurred. Guidelines for the evaluation of response and toxicity were those developed by the National Cancer Institute Sponsored Working Group. Minimal residual disease (MRD) was detected by immunophenotyping only in patients with CR standard criteria. *Results:* In the analyzed group an overall response (OR) rate of 86 % (95 % CI 80.6-94.7) was achieved, including complete response in 39 %. At the time of analysis 18/22 patients with CR are still in remission. Median duration of follow up in these is 19 (range 8-36) months. MRD was detected only in four patients with CR. Grade III/IV thrombocytopenia was seen in 3 (5.2 %) patients and grade III/IV neutropenia in 6 (10.5%). Severe infections were noted in 14 (24 %) patients. Two (3.5 %) patients died, one due to sepsis, one as a result of disease progression. *Conclusion:* The FLU-CY regimen is highly effective combination in previously untreated CLL patients with acceptable toxicity. The efficacy of the regimen seems to be higher than that observed earlier after treatment with FLU alone.

Key words: chronic lymphocytic leukemia – fludarabine – cyclophosphamid – activity – toxicity

Úvod

Purínové analógy (PA) – fludarabin monofosfát (FLU), cladribin (2-CDA) a 2'-deoxycoformycin (DCF) – reprezentujú skupinu cytotoxických liekov, ktoré majú pozoruhodne vysokú účinnosť v liečbe nízkomaligných

lymfoproliferatívnych ochorení [12, 21,23]. V liečbe chronickej lymfocytovovej leukémie (B-CLL) sa z nich najčastejšie uplatňuje fludarabin monofosfát (FLU). Ako uvádzajú klinické štúdie fázy II u predliečených chorých s B-CLL, kde sa FLU podá-

vala ako záchranná terapia, bola dosiahnutá celková liečebná odpoveď od 12 do 57 % a percento kompletnej remisie od 0–29 %. Medián prežívania u pacientov, ktorí odpovedali na liečbu bol 29 mesiacov, u refraktérnych 9 mesiacov [3,5,12,21]. U cho-

Tab. 1. Charakteristika súboru chorých.

Charakteristika	N	%
spolu	57	100
Pohlavie		
muži	26	46
ženy	31	54
Rai štádium		
I	12	21
II	13	23
III	10	18
IV	22	38
Vek (medián, rozpätie, roky)	n	rozpätie
	59	(38–69)
Medián trvania choroby v mesiacoch (rozpätie)	3	(0–21)
Le $\times 10^9/l$ (medián, rozpätie)	96	(14–320)
Tr $\times 10^9/l$ (medián, rozpätie)	140	(37–310)
Hb v g/l (medián, rozpätie)	110	(50–130)

Le – leukocyty; Hb – hemoglobín; Tr – trombocyty; n – počet chorých

rých predtým neliečených bolo dosiahnutých liečbou FLU až 80 % celkových odpovedí s podielom kompletnej remisie od 25 do 60 % [1,2,3,7,18]. Lepšie výsledky sa očakávajú od kombinácie FLU s alkylačnými látkami. Kombinovaná liečba FLU s cyklofosfamídom (CY) môže zvýšiť percento kompletných remisí (CR), minimalizovať reziduálnu chorobu (MRD) a je predpoklad aj dlhšieho prežívania chorých s B-CLL [10,13,15,23].

Cieľom našej práce bolo vyhodnotiť efekt a toxicitu kombinovanej liečby fludarabínu s cyklofosfamídom v tzv. FLU-CY režime u pacientov s doposiaľ neliečenou B-CLL.

Pacienti a metódy

Pacienti

V období od mája roku 1999 do októbra roku 2003 bolo zaradených do štúdie 57 chorých. Charakteristiky pacientov uvádzame v tabuľke 1. Všetci chorí spĺňali diagnostické kritériá B-CLL podľa NCI-WG (National Cancer Institute – Sponsored Working Group). Klinické štádium sme určovali podľa Raiovej klasifikácie vždy pred zaradením do liečby [17]. Dvadsaťpäť chorých bolo v klinickom štá-

diu I a II a 32 chorých štádiu III a IV (Rai). Pacienti, ktorí boli v štádiu I, boli zaradení do liečby až po dôkaze aktívneho ochorenia (zdvojovací čas lymfocytov, CD 38 expresia, chromozómové abnormality, difúzna infiltrácia kostnej drene), masívnej splenomegálie, bulky lymfadenopatie, rekurentných infekcií, poklesu hmotnosti $> 10\%$ počas 6 mesiacov, alebo febrilit súvisiacich s CLL. Tí chorí, ktorí mali performance status 3 alebo 4 podľa WHO, alebo aktívnu infekciu, boli zo štúdie vylúčení. Imunofenotypovým vyšetrením boli všetci chorí CD5, CD19, CD20 a CD23 pozitívni s dokázanou monoklonalitou povrchového membránového receptora pre ľahké reťazce. Pozitívitu CD 38 malo 71 % chorých v štádiu I, 39 % chorých v štádiu II, 42 % chorých v štádiu III a 61 % chorých v IV. štádiu (Rai). 38 % chorých malo dokázanú nepriaznivú cytogenetiku.

Liečebný postup

Kombinácia cytostatického režimu (FLU-CY) pozostávala z aplikácie FLU v dennej dávke 30 mg/m^2 v 2-hodinovej intravenóznej infúzii 3 dni po sebe a z CY v dennej dávke 300 mg/m^2 v intravenóznej infúzii aplikovanej

takisto v 3 po sebe nasledujúcich dňoch. Cykly chemoterapie sme opakovali každých 28 dní. U pacientov s hematologickou toxicitou (trombocytopenia $< 50 \times 10^9/l$ a/alebo neutropenia $1 \times 10^9/l$), alebo pri vzniku ťažkej infekcie sme podávali cytostatiká v intervale dlhšom ako 28 dní, v rozpätí od 2 do 3 mesiacov, až do vyhovujúcej úpravy hematologických parametrov. Pacienti boli liečení až do dosiahnutia maximálnej odpovede alebo toxicity, ktorá ďalšiu aplikáciu FLU-CY liečby nedovoľovala. Ak sme po 3 cykloch chemoterapie nedosiahli ani parciálnu remisiu choroby, alebo sme zaznamenali progresiu ochorenia, liečbu sme predčasne ukončili. Erytrocyty sme podávali chorým pri symptomatickej anémii, alebo profylakticky, ak hladina hemoglobínu poklesla na 75 g/l . Koncentráty trombocytov (Tr) boli pacientom administrované profylakticky vždy pri poklese Tr na $< 20 \times 10^9/l$. Všetky krvné produkty boli ožiarené. S cieľom prevencie hyperurikémie dostávali chorí alopurinol (300 mg denne). Nepodávali sme profylakticky antibiotiká, virostatiká, hemopoetické rastové faktory (G-CSF) alebo antiemetiká. G-CSF bol podávaný iba vtedy, ak mal pacient aktívnu infekciu a pri poklese granulocytov pod $1 \times 10^9/l$.

Kritéria odpovede na liečbu

Odpoveď na liečbu sme hodnotili podľa kritérií NCI Working Group pre CLL [4,5]. Za kompletnú remisiu (CR) sme považovali chýbanie symptómov, organomegálie a úpravu hematologických parametrov (počet granulocytov $> 1,5 \times 10^9/l$; trombocytov $> 100 \times 10^9/l$; hemoglobínu $> 110 \text{ g/l}$), normálnu celularitu kostnej drene (KD) s počtom lymfocytov $< 30\%$. Biopsiu KD sme robili 2 mesiace po dôkaze klinickej CR. Biopsická vzorka, podobne aj aspirát z KD musela byť normocelulárna s $< 30\%$ lymfocytov, s chýbaním lymfoidných nodulov. Ak pacient spĺňal kritériá CR,

ale v bioprickej vzorke z KD perzistovali lymfoidné noduly, bol klasifikovaný ako nodulárna parciálna odpoveď (nPR). Za parciálnu remisiu (PR) sme považovali $\geq 50\%$ ústup zväčšených lymfatických uzlín, sleziny, pečene ako aj zmeny v periférnej krvi (PK), ktoré nezodpovedali CR. Pacienti, ktorí nedosiahli kritériá CR, nPR alebo PR, boli klasifikovaní ako nonresponderi (NR).

Vyhodnotenie minimálnej reziduálnej odpovede (MRD)

MRD sme hodnotili u chorých s dosiahnutou CR a to imunofenotypovým vyšetrením PK a KD pomocou flowcytometrie, dual color technikou [19,21,22].

MRD bola definovaná ako koexpresia CD5/CD19 na B-lymfocytoch spolu s dôkazom monoklonality povrchových ľahkých reťazcov na CD5 pozitívnych B-lymfocytoch. Za fenotypovú CR sme považovali nález $< 10\%$ celkovej lymfocytovej populácie s koexpresiou CD5/CD19 s monotypovou prítomnosťou ľahkých reťazcov. Pomer kappa : lambda alebo lambda : kappa $> 3 : 1$ sme považovali za monotypovú expresiu ľahkých reťazcov [23].

Štatistická analýza

Vzorky boli hodnotené použitím štatistickej významnosti na hladine $\alpha = 0,05$. Za štatisticky signifikantné sme považovali zvýšenie počtu CR od 20 % po FLU ako primoterapiu do 45 % po FLU-CY režime. Významnosť rozdielov bola hodnotená pomocou Mann-Whitney testu [5,6]. Analýza rozdielov v % pacientovej odpovede bola vyhodnotená χ^2 testom. Interval pre pravdepodobnosť odpovede (95 %) bol určovaný metódou podľa Duffy a Satner [6]. Doba ochorenia bez progresie (PFS) a krivky celkového prežívania (OS) boli vyhodnotené metódou Kaplan a Meiera [12] a porovnané medzi skupinou responderov log-rank testom. PFS bola udaná ako čas od dosiahnutia CR

Tab. 2. Výsledky liečby pacientov s B-CLL kombináciou FLU-CY.

Štádium (RAI)	n	CR n (%)	NPR n (%)	PR n (%)	OR n (%)
I-II	25	15 (60)	6 (24)	4 (16)	25 (100)
III-IV	32	7 (22)	6 (19)	11 (34)	24 (75)
celkový počet	57	22 (39)	12 (21)	15 (26)	49 (86)

n – počet chorých; CR - kompletná remisia; NPR – nodulárna parciálna remisia; PR – parciálna remisia; OR – (CR + PR) – celková odpoveď na liečbu

Tab. 3. Hematologická toxicita FLU-CY terapie u chorých s B-CLL.

Toxicita WHO	Stupeň 1 a 2 n (%)	Stupeň 3 a 4 n (%)	Celkový počet n (%)
neutropénia	12 (21)	6 (10,5)	18 (31,5)
trombocytopénia	5 (8,7)	3 (5,2)	8 (14)
anémia	3 (5,2)	2 (3,5)	5 (8,7)

n – počet pacientov

Tab. 4. Nehematologická toxicita FLU-CY liečby u 57 pacientov s B-CLL.

Vedľajší účinok	n (%)	nFC (%)
infekcie		
– všetky	14 (24)	11 (4,3)
– pneumónia	5 (8,7)	3 (1,2)
– herpes	2 (3,5)	4 (1,6)
– infekcie uropoetického traktu	4 (7,0)	2 (0,8)
FUO	3 (5,3)	2 (0,8)
zvracanie		
stupeň III alebo IV	2 (3,5)	3 (1,2)

n – počet pacientov; nFC – počet cyklov FLU-CY

alebo PR po FLU-CY liečbe až do relapsu ochorenia. Celkové prežívanie (OS) bolo merané od 1. dňa liečby po úmrtie pacienta, alebo po deň, kedy sme hodnotili výsledky liečby.

Výsledky

V súbore 57 chorých s B-CLL bolo 26 mužov a 31 žien. Medián doby od diagnózy po liečbu bol 3 mesiace (rozpätie 0–12 mesiacov).

Odpoveď na liečbu

Celkové sme podali 253 cyklov kombinovanej chemoterapie (CHT). Každý z hodnotených pacientov dostal najmenej 2 cykly CHT. Medián FLU-CY

cyklov bol 4 (rozpätie 2–6). Výsledky liečby sú prezentované v tabuľke 2.

Celkovú odpoveď na liečbu (OR) sme dosiahli u 49 chorých (86 %). Kritériá CR splnilo 22 chorých (39 %) (95 % CI 19,2–39,1 %), 8 chorých po FLU-CY nedosiahli žiadnu odpoveď a boli hodnotení ako nonresponderi. Kompletnú remisiu sme dosiahli u 2/3 pacientov (60 %) v štádiu I a II (Rai), menej odpovedali chorí v štádiách III a IV (21,8 %; $p = 0,6$). Celkový počet remisií v skupinách bol 100 % a 75 % ($p = 0,05$). Väčšina CR bola pozorovaná po mediáne 4 cyklov chemoterapie (rozpätie 3–6). V čase analýzy bolo 18/22 (82 %) chorých

ešte stále v CR. Medián trvania CR bol 19 mesiacov (rozpätie 8–36). Medián PFS nebol ešte dosiahnutý. Štatistický významný rozdiel bol v mediáne prežívania medzi pacientami s odpoveďou na liečbu a nonrespondermi (29 a 9 mesiacov; $p < 0,01$). Imunofenotypové zhodnotenie v PK a KD bolo urobene u 22 pacientov s CR. MRD bola dokázaná iba u 4 chorých.

Toxicita

Toxicita FLU-CY liečby je vyhodnotená v tabuľke 3 a 4. Najčastejšie zaznamenaným vedľajším účinkom CHT bola myelosupresia. FLU-CY režim spôsobil neutropéniu u 18 (31,5 %) pacientov, avšak stupeň toxicity 3 a 4 bol pozorovaný iba u 6 pacientov (10,5 %). Iba v piatich cykloch z 253 cyklov sme použili ako podpornú liečbu G-CSF. Trombocytopénia sa vyskytla u 8 chorých (14 %) v 19 cykloch liečby u 3 pacientov sme aplikovali trombocytové koncentráty. V 1 prípade sme zaznamenali (po 3. cykle CHT) autoimúnnu hemolytickú anémiu. Nehematologická toxicita pozostáva predovšetkým z infekcií (24 %). Pneumóniu sme potvrdili u 5 pacientov (8,7 %), reaktiváciu herpes zosteru u 2 pacientov, a u 2 pacientov bolo zvracanie 3. a 4. stupňa podľa WHO a bola podaná antiemetická liečba. Horúčku nejasnej genézy (FUO) mali 3 pacienti (5,3 %). Oportúnne infekcie sme v našom súbore nezaznamenali. Dvaja pacienti (3,5 %) zomreli 2 a 8 mesiacov od začiatku FLU-CY liečby. Z nich 1 na pseudomonádovú sepsu a u 1 pacienta sme zaznamenali progresiu ochorenia.

Diskusia

Fludarabín ako nádejný PA sa začal uplatňovať v protinádorovej liečbe od začiatku 90. rokov 20. storočia. Tento purínový analóg sa častejšie presadzuje v liečbe nízkomaligných lymfoproliferatívnych ochorení (včítane B-CLL) vďaka svojej selektívnej aktivite k lymfoidným bunkám

a schopnosti indukovať apoptózu [7,14]. Výsledky publikovaných randomizovaných štúdií ukazujú, že liečenie s FLU dosahujú vyšší počet remisií ako aj dlhšie prežívanie, v porovnaní s konvenčnou liečbou [7,8,9,18]. Podľa dlhodobej analýzy publikovanej Keatingom a spol. [12] je výrazne vyjadrená závislosť liečebnej odpovede a celkovej doby prežívania od množstva predošlej CHT, odpovede na alkylačné látky a štádia ochorenia [21]. S cieľom dosiahnutia lepších výsledkov sa začali používať v liečbe CLL kombinácie s fludarabínom. Pridanie prednisonu do liečby s FLU ukázalo na dobrú terapeutickú účinnosť, avšak percento kompletných remisií ako aj OS sa neodlišuje od výsledkov dosiahnutých monoterapiou s FLU. Navyše bol zaznamenaný vyšší výskyt oportúnnych infekcií, zvlášť listerových a pneumocystových [12,18,23]. Rovnako kombinácia s chlorambucilom nevedla k zlepšeniu liečebných výsledkov [24]. V literatúre je málo prác, ktoré sa venujú kombinovanej liečbe FLU s cyklofosfamídom u neliečenej B-CLL [9,11,21]. Podobne ako O'Brien a spol. [15] a Flinn a spol. [8], aj v našom súbore sme dosiahli uvedenou kombináciou vysoké percento celkových odpovedí na liečbu, zvlášť u chorých s včasnejšími štádiami ochorenia. Mechanizmus pôsobenia FLU určuje jeho hlavný metabolit – F-Ara-ATP. Tento metabolit po inkorporácii do vznikajúcich reťazcov DNA bráni zahájeniu „primingu“ syntézy DNA a elongácii DNA reťazca. Uvedený metabolit je aj potentným inhibítorom opravy DNA. Inkorporácia aktívneho 5-trifosfátu fludarabínu do RNA vedie k ukončeniu jej syntézy, čo spolu s tvorbou oligonukleotidových fragmentov prispieva k apoptóze buniek.

Tieto mechanizmy môžu byť vysvetlením efektu FLU práve u CLL, kde väčšina neoplastického populácie aktívne neproliferuje a nereplikuje DNA [14,16,23].

Záver

Kombinovaná liečba fludarabínu s cyklofosfamídom je odrazom synergizmu oboch cytostatík (FLU + CY) v toxicite na lymfocyt. Výsledky tejto kombinovanej liečby u B-CLL sú lepšie ako bolo pozorované po konvenčnej liečbe alebo po monoterapii s fludarabínom.

Vývoj monoklonových protilátok s aktivitou proti antigénom na povrchu CLL buniek (Rituximab, Alemtuzumab) otvoril významnú cestu chemoimunoterapii [20]. Výsledky prvých klinických štúdií kombinácie FLU-CY s pridaním monoklonovej protilátky anti-CD20 (95 % celkových odpovedí na liečbu s podielom 69 % kompletných remisií) u predtým neliečených chorých s B-CLL to dokazujú.

Literatúra

1. Anaissie EJ, Konotoyiannis DP, O'Brien S et al. Infections in patients with chronic lymphocytic leukemia treated with fludarabine. *Ann Intern Med* 1998; 129: 559–556.
2. Bellosillo B, Villamor N, Colomer D. In vitro evaluation of fludarabine in combination with cyclophosphamide and/or mitoxantrone in B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 1999; 94: 2836–2843.
3. Brugiatelli M, Claisse JF, Lenormand B et al. Long term clinical outcome of B-cell chronic lymphocytic leukemia patients in clinical remission phase evaluated at phenotypic level. *Br J Haematol* 1997; 97: 113–118.
4. Cheson BD, Benet JM, Rai KR. Guidelines for clinical protocols for chronic lymphocytic leukemia: Recommendation of the National Cancer Institute-Sponsored Working Group. *Am J Hematol* 1989; 29: 152–163.
5. Cheson BD, Benet JM, Grever M et al. National Cancer Institute-Sponsored Working Group Guidelines for chronic lymphocytic leukemia: Revised guidelines for diagnosis and treatment. *Blood* 1996; 87: 4990–4997.
6. Duffy DR, Santner TJ. Confidence intervals for binomial parameter based on multistage tests. *Biometrics* 1987; 47: 81–93.
7. Esteve J, Villamor A, Colomer D. Stem cell transplantation for chronic lympho-

- cytic leukemia: Different outcome after autologous and disease status. *Leukemia* 2002; 15: 441–445.
8. Flinn W, Byrd J, Morrison C et al. Fludarabine and cyclophosphamide with filgrastim support in patients with previously untreated indolent lymphoid malignancies. *Blood* 2000; 96: 71–75.
 9. Frewin R, Turner D, Tighe M. Combination therapy with fludarabine and cyclophosphamide as salvage treatment in lymphoproliferative disorders. *Br J Haematol* 1999; 104: 612–613.
 10. Hallek M, Schmitt B, Wilhelm M. Fludarabine plus cyclophosphamide is an efficient treatment for advanced chronic lymphocytic leukemia (CLL): Results of a Phase II study of the German CLL Study Group. *Br J Haematol* 2001; 114: 342–348.
 11. Johnston JB, Verburg L, Shore T et al. Combination therapy with nucleoside analogs and alkylating agents. *Leukemia* 1994; 8 (suppl. 1): 104–143.
 12. Lepage M, Chevret S, Carin B et al. Randomized comparison of fludarabine, CAP, and CHOP in 938 previously untreated stage B and C chronic lymphocytic leukemia patients. *Blood* 2001; 98: 2319–2325.
 13. Marota G, Bigazzi C, Lenoci M et al. Low-dose fludarabine and cyclophosphamide in elderly patients with B-cell chronic lymphocytic leukemia refractory to conventional therapy. *Hematologia* 2000; 85: 1268–1270.
 14. Morrison VA, Rai KR, Peterson BL et al. Impact of therapy with chlorambucil, fludarabine or fludarabine plus chlorambucil on infections in patients with chronic lymphocytic leukemia: Intergroup Study Cancer and Leukemia Group B 9011. *J Clin Oncol* 2001; 19: 3611–3621.
 15. O'Brien SM, Kantarjian HM, Cortes J et al. Results of fludarabine and cyclophosphamide combination regimen in chronic lymphocytic leukemia. *J Clin Oncol* 2001; 19: 1414–1420.
 16. Plunkert W. Fludarabine: Pharmacokinetics, mechanism of action, and rationales for combination therapies. *Semin Oncol* 1993; 20: 2–12.
 17. Rai KR, Berleth BS, Peterson BL et al. Fludarabine compared with chlorambucil as primary therapy for chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med* 2000; 343: 1750–1757.
 18. Robak T, Kasznicki M. Alkylating agents and nucleoside analogues in the treatment of B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia* 2002; 16: 1015–1017.
 19. Robak T, Blonski JZ, Kasznicki M et al. Cladribine combined with cyclophosphamide is highly effective in the treatment of chronic lymphocytic leukemia. *Hematology J* 2002; 3: 244–250.
 20. Rosenwald A, Alizadeh AA, Widhopf G et al. Relation of gene expression phenotype to immunoglobulin mutation genotype in B cell chronic lymphocytic leukemia. *J Exp Med* 2001; 194: 1639–1647.
 21. Tothova E, Kafkova A, Fricova M et al. Fludarabine combined with cyclophosphamide is highly effective in the treatment of chronic lymphocytic leukemia. *Neoplasma* 2003; 50 (6): 433–437.
 22. Van Den Neste E, Lovaux I, Michalux JL et al. Phase I/II study of 2-chloro-2'-deoxyadenosine with cyclophosphamide in patients with pretreated B-cell chronic lymphocytic leukemia and indolent non-Hodgkin's lymphoma. *Leukemia* 2000; 14: 1136–1142.
 23. Vášová I, Penka M, Hájek R et al. Nová purinová analoga v léčbě hematologických malignit. *Vnitř Lék* 1997; 43 (1): 45–50.

prof. MUDr. Elena Tóthová, CSc.
www.fnspe.sk
e-mail: etothova@post.sk

Doručeno do redakce: 9. 2. 2004
Přijato po recenzi: 22. 3. 2004