

KLINICKÉ POUŽITÍ INTERFERONU

616.15-08:547.963

Plk. doc. MUDr. Milan BLÁHA, CSc., MUDr. Karel PODZIMEK, prof. MUDr. Ladislav CHROBÁK, CSc., pplk. MUDr. Ladislav JEBAVÝ, CSc.
Vojenská lékařská akademie JEP, Hradec Králové
(rektor: plk. prof. MUDr. Josef Fusek, DrSc.)
I. interní klinika LF UK, Hradec Králové
(přednosta: prof. MUDr. Josef Erben, CSc.)

1. ÚVOD

Léčebnému využití interferonů bylo v posledních deseti letech věnováno tolik pozornosti jako málokterým jiným léčivům. S jeho klinickým používáním se začalo i v ČSFR. Sami jsme používali zprvu induktoru interferonu (dvouvláknové kyseliny ribonukleové) k léčbě herpes labialis u imunosuprimovaných nemocných lokálně, v poslední době jsme získali první, a to pozitivní zkušenosti s léčbou tzv. vlasaté leukémie interferonem alfa podávaným parenterálně. Vzhledem k nejasné situaci, obtížné orientaci v dosud získaných zkušenostech ve světě a nepřesným znalostem indikací k léčbě, někdy příliš optimistickým nadějím u pacientů nebo i lékařů podáváme následující přehled o situaci ve světě i o našich prvních zkušenostech.

2. INTERFERONY

2.1 Historie klinického použití interferonů

Roku 1957 popsali Isaacs a Lindemann (17) humorální mediátor, který je uvolňován buňkami při virové infekci a má protivirový účinek. Tuto substanci nazvali interferonem. Od té doby do kamžiku, kdy byl poprvé klinicky použit, však bylo třeba vyřešit mnoho problémů - výzkum byl ovšem obtížný; jde o velmi nízké koncentrace látek charakteru proteinů, které jsou druhově specifické. Velkým stimulem pro výzkum bylo zjištění, že mají protinádorový účinek. Již v r. 1957 použil stockholmský badatel Strander (50) interferon klinicky a prokázal jeho protinádorový efekt. Interferony však nebyly čistými preparáty, byly obtížně získatelné - zlepšení situace přineslo až genové inženýrství a možnost získat interferon genovou technologií. Pak bylo možno prokázat, že jde o látku, které sice univerzální protinádorový efekt nemají, ale lze je účinně použít proti určitým nádorům (17).

2.2 Struktura interferonů a jejich klasifikace

Jako interferony byly původně definovány proteiny přirozeného charakteru, jejichž protivirový širokospektrý účinek není založen jen na nespecifické buněčné toxicitě (45). Ovlivňují replikaci viru aktivací genomu buněk pomocí různých celulárních proteinů a tím je podle definice řazen mezi lymfokiny. Interferon gama se váže na jiné buněčné receptory než interferony I.

2.3 Produkce interferonů

Produkci interferonů lze indukovat pomocí přirozených nebo syntetických induktorů, např. některých mitogenů, virových nebo syntetických nukleových kyselin, antigenů, nádorových buněk, mikroorganismů atd. (16). Mechanismus produkce interferonů není do detailů znám a musí být odlišný (produkují ho odlišné buněčné populace po působení odlišných induktorů).

K přípravě interferonů se dříve používalo konvenčních metodik na tkáňových kulturách (bez použití genové technologie). Známá byla např. metoda podle Cantella, kdy se izolovaly čerstvé leukocyty z krevní konzervy a tvorba interferonu se indukovala pomocí viru Sendai (16). Lidský interferon beta byl připravován na kultuře fibroblastů stimulovaných syntetickými RNA a interferon gama na leukocytárních kulturách stimulovaných mitogeny (14, 22). Bylo zjištěno, že po kontaktu s virem dochází k produkci interferonu gama později - za 2-3 dny, kdežto interferony typu I jsou produkovány za 6-16 hodin (16).

Teprve příprava tzv. rekombinantních interferonů přinesla možnost získat je snadněji, ve větším množství a čistějších. Nyní lze vybrat (selektovat) gen jen pro jeden podtyp interferonu z lidských buněk a vpravit tuto informaci pro tvorbu interferonu do buněk, např. do bakterií *E. coli*, a tak vyrábět čisté interferony různého typu (7, 11, 12, 30). Získání interferonů usnadnila i příprava monoklonálních proti-

látek proti jednotlivým typům interferonů. Přirozené interferony jsou glykoproteiny, tzv. rekombinantní interferony neobsahují uhlohydrátový řetězec, ale přesto vykazují zcela stejnou aktivitu jako interferony přirozené (17).

Pro klinickou potřebu byl důležitý i vývoj přesných metodik na kvantifikaci interferonu v daném preparátu. Dnes používáme: -Biologické metodiky kvantifikace: jsou založeny na zjišťování virové replikace (její inhibice) na tkáňových kulturách.

-Imunologické metodiky: kvantifikace pomocí přímé vazby interferonu na protilátku.

2.4 Biologické vlastnosti interferonů důležité pro kliniku

Již jsme se zmínili o tom, že k objevu interferonů vedl jejich **antivirový** efekt. Brzy však přišly zprávy o dalších významných účincích. Zprvu byla situace ztěžována obtížnou přípravou a tím, že preparáty nebyly čisté a nevědělo se, zdali některé efekty nejsou způsobeny příměsí. Teprve snadnější příprava velkých množství čistých, rekombinantních interferonů ukázala, že skutečně mají další pro léčbu významné vlastnosti, zejména efekt antiproliferativní a řadu dalších účinků ovlivňujících imunologický aparát (17).

2.4.1 Protivirový efekt

Interferony potlačují replikaci virů uvnitř buněk. Již po několika hodinách po styku s virem dochází k produkci interferonu, jeho vylučování mimo buňku, a tak se může tato obranná reakce šířit. Signálem pro tvorbu interferonu je vazba viru na buněčné receptory. "Antivirales Zustand" (stav odolnosti proti viru) nastává již za 30 minut po kontaktu s interferonem třídy I a asi za 2 hodiny po kontaktu s interferonem gama (17). Jak víme, nastává specifická imunologická odpověď mnohem později - v druhém týdnu.

Jednotkou protivirového účinku interferonu je jedna **mezinárodní jednotka** - IU/ml séra ($= 10^{-13}$ mol/l). Je definována jako množství interferonu, které stačí zabránit množení viru o 50 % (16). Tak např. u chřipky je dostatečný titer interferonu v séru 100 IU, ale pozorovatelný je již při hladině 1 IU/ml séra.

2.4.2 Antiproliferativní účinek

Interferony potlačují proliferaci nádorových buněk. To je jeden z nejvýznamnějších účinků. Zčásti potlačují i proliferaci normálních buněk. Jednotlivé nádory jsou na tento efekt různě citlivé. Rovněž různé interferony vykazují citlivost větší nebo menší na jednotlivé nádory.

Přesný mechanismus účinku není znám. Dochází k inhibici syntézy buněčné DNA, která je reverzibilní, a tím vzniká útlum proliferace. Dávka interferonu, jež vyvolá tento efekt, je o 1 - 2 řády nižší, nežli je třeba pro efekt antivirový. Antitumorózní efekt interferonu alfa a beta je přibližně stejný. Interferony třídy I vykazují synergický efekt antitumorózní s interferonem gama (17).

2.4.3 Ovlivnění aktivity imunologického aparátu

Jde o aktivaci imunologického aparátu specifickou i nespecifickou cestou. Všechny interferony zvyšují hustotu (expresivitu) transplantačních antigenů (HLA antigenů třídy I) u všech tělesných buněk (16). Interferon gama může navíc indukovat nebo zvyšovat expresivitu genů imunologické odpovědi (HLA antigenů třídy II) na monocitech, lymfoidních buňkách a některých jiných buňkách. Oba druhy HLA antigenů se účastní významnou měrou na boji proti cizím substancím, virům a nádorovým buňkám.

Dále dojde k zesílení fagocytózy makrofágů, zvýšení syntézy prostaglandinů a zmnožení povrchových receptorů pro protilátky (17). Je stimulována tvorba protilátek B-lymfocyty. Podle druhu interferonu a jeho dávky je však jindy prokazatelné snížení tvorby protilátek (17). Dochází k přímé aktivaci cytotoxických zabíječů (NK buněk) a makrofágů, takže pak může dojít k odstranění některých cizích nebo tělu vlastních nádorových buněk (16, 17).

2.4.4 Protinádorový efekt

Protinádorová aktivita interferonu je v současné době středem pozornosti. In vitro byl prokázán prostý útlum růstu nádorových buněk, ale in vivo je situace složitější a dosud ne zcela jasná. Byla zjištěna buněčná toxicita interferonu proti nádorovým buňkám. Jedním z mechanismů účinku je zvýšení expresivity HLA antigenů, což spolu s aktivací makrofágů, cytotoxických T-lymfocytů a NK buněk může zlepšit možnost imunologického rozpoznání a likvidaci nádorových buněk (16, 19, 20). Dále byla zjištěna suprese onkogenní aktivity nádorových buněk interferonem (8). Při pokusech in vitro lze prokázat ztrátu rakovinného fenotypu buněk a reverzi na normální buňky (16, 20)!

2.4.5 Další aktivity interferonu

Gama interferon urychluje diferenciaci a zrání B- buněk (25). Ovlivňuje také diferenciaci u buněk myeloidní leukémie. Zajímavé jsou i zprávy o endorfinové a noradrenalinu podobné aktivitě alfa interferonu. Dokonce bylo s úspěchy zkoušeno použití interferonu gama proti toxoplasmóze gondi (33).

2.4.6 Farmakokinetika a vedlejší účinky

Znalosti o farmakokinetice jsou důležité pro dosažení nejlepšího efektu léčby snad ještě více než jinde v klinice. Interferon lze podávat místně, jako gel, kapky nebo spray, ev. lokální injekční infiltrací. Z parenterálních forem použití jsou možná použití subkutánní, intramuskulární a intravenózní. Po aplikaci interferonu alfa intramuskulárně docílí sérová hladina maxima za 4-12 hodin a pak klesá s poločasem asi 5 hodin kontinuálně. Po i. m. podání gama interferonu je podobná kinetika. Intramuskulární podání interferonu beta však nevede k dosta-

tečným hladinám v krvi a způsob podání musí být nitrožilní (16).

Interferony jsou odbourávány především v játrech a vylučovány ledvinami. O farmakokinetice u lidí máme dosud neúplné znalosti, protože jde o malé koncentrace látek vysoce účinných, účinkujících kombinovaně, na různé úrovni, nám ne zcela známými mechanismy. Optimální dávka této biologické substance u jednotlivých chorob dosud exaktně prověřena nebyla. Maximálně tolerovaná dávka interferonu alfa je asi 30 milionů IU/den (16).

Vedlejší účinky, pokud jde o subjektivní obtíže, nastupují často vzápětí po započetí léčby. Někdy bývají označovány jako chřipkové (flu-like). Jde o únavu, bolesti v končetinách, teplotu. Řidčeji vzniká i nauzea, nechutenství, průjem, poruchy citlivosti, psychické poruchy. Psychické poruchy vznikají zejména po delší době léčby (41). Velmi se podobají neurotickému syndromu (se ztrátou výkonnosti v práci, emoční labilitou, poruchami spánku atd.). Mohou nastat i těžší poruchy (depresivní syndrom). Jsou prokazatelné změny na EKG a poruchy dráždivosti neuronů (5).

Vedlejší účinky jsou závislé na dávce léku a jsou reverzibilní (16). Většinou je lze ovlivnit prostou symptomatickou léčbou. Lze pokračovat v podávání interferonu. Jen velmi zřídka je nutno vysadit terapii. Vedlejší účinky se vyskytují i po nejčistších preparátech (16).

U určité části pacientů vzniká při léčbě tvorba protilátek proti interferonu (48). Často vedou k ztrátě terapeutického účinnosti léku, ale ne vždy - ztráta terapeutického efektu nastává zejména při vytvoření tzv. neutralizujících protilátek (47).

3. KLINICKÉ POUŽITÍ INTERFERONU

V posledních letech bylo vyzkoušeno zejména použití interferonu alfa, méně beta a nejméně gama. Hlavní indikací bylo protivirové a protinádorové využití.

3.1 Léčba virových chorob

Účinek interferonu je relativně nespecifický. Nejlépe lze ovlivnit akutní virové infekce, zejména (16, 17, 19):

- infekce horního dýchacího traktu, např. infekce způsobené rinoviry,
- infekce způsobené herpetickými viry, např. herpes genitalis, labialis, herpetickou encefalitidou, herpes zoster, herpetickou keratokonjunktivitidou,
- hepatitidu B,
- infekce virem varicella - zoster, - cytomegalovirové infekce,
- rabdovirové infekce.

Menší efekt byl prokázán u některých chronických infekcí, např. u infekcí papovaviry, chronických herpetických infekcí a chronické hepatitidy.

Dobrý efekt byl prokázán i u infekcí, které jsou sice benigní, ale někdy svízelně léčitelné, jde např. o virové papilomy laryngu u dětí a mládeže. Také kondylomata a bradavice mohou být úspěšně léčeny interferonem (19).

3.2 Léčba nádorů

Při léčbě tumorů interferonem se využívá především **antiproliferativní schopnosti** interferonů. To vede ke snaze zvyšovat dávky na maximum; některá pracoviště skutečně prokazují závislost úspěchu léčby na podané dávce interferonu (32, 33). Navíc tumory jeví různou citlivost na interferony (viz níže) - od značné citlivosti po úplnou rezistenci. V poslední době se těžiště pozornosti přesunulo na využití **imunomodulačních vlastností** interferonů. Způsob podání a dávkování směřuje k maximální aktivaci imunologického aparátu pro boj s nádorem. Je třeba zvolit optimální způsob podání, formu podání, dávkování, dobu zahájení léčby (zdá se, že dříve se začínalo s léčbou většinou jako "ultimum reffugium" - což bylo pozdě, nádorová masa byla příliš velká).

Při léčbě nádorů se používají cytostatika, která vedou ke snížení obranyschopnosti. Je tedy logické použít zároveň imunomodulátory, které by imunologickou aktivitu upravovaly (stimulovaly). Z tohoto hlediska by bylo vhodné kombinovat léčbu cytostatiky a interferonem - někteří autoři již v tomto smyslu získali pozitivní zkušenosti (28).

3.2.1 Protinádorový efekt interferonu

V současné době se využívá těchto čtyř hlavních mechanismů protinádorové účinnosti interferonu:

- 1) Výše zmíněný **antiproliferativní efekt**.
- 2) **Aktivace vlastních buněk** organismu schopných likvidovat nádor: NK buňky, makrofágy, LAK buňky (lymfokiny aktivované zabíječské buňky). Z hlediska účinků uvedených ad 1) a 2) se jeví interferon jako téměř "ideální" léčebný prostředek.
- 3) Na tkáňových kulturách bylo prokázáno, že účinkem interferonu lze provést **reverzi maligního fenotypu** na normální (21).
- 4) Interferon příznivě ovlivní **diferenciaci buněk**, především leukocytů (21).

3.2.2 Indikace k použití

Dosud byl interferon vyzkoušen u řady nádorů. Dostatečné poznatky však zdaleka nemáme. Výše jsme uvedli obtíže při výzkumu interferonů (viz část 2.1); dosud chybí dostatečně velké randomizované studie, které by prokázaly efekt jednotlivých léčebných schémat. Řada skutečností je však již jasná a je možno uvést přehled (tab. 1) o tom, které nádory jsou na interferon nejvíce citlivé, a dále indikace, v kterých nebylo dosaženo zřejmého efektu léčby. Celkově je možno říci, že původní léčebný entuziasmus byl vystřídán reálnějším pohledem.

Poznámky k některým indikacím (tab. 1): jasně největšího efektu bylo docíleno při léčbě tzv. vlasaté leukémie (viz podrobněji níže v části 4). Pokud jde o další hematologické malignity, byl zaznamenán efekt zejména u chronických leukémií, jen výjimečně u akutních (17, 19).

U **chronické myeloidní leukémie** lze docílit dobrých výsledků při léčbě ve stabilizované fázi (14). Je však nutno použít vyšších dávek než při léčbě vlasaté leukémie. Auto-

ři popisují remisi a ústup velikosti sleziny, a to podobně jako po busulphanu - což nezní příliš optimisticky (chtěli bychom docílit lepšího efektu než po "klasické" léčbě), avšak uvádějí i vymizení Ph chromozomu za 2-5 měsíců po léčbě, čehož lze docílit jinak jen razantními postupy (kombinovaná cytostatická léčba, transplantace kostní dřeně). Bude třeba dalšího ověření těchto studií. Rovněž u **chronické myelomonocytární leukémie**, která je obtížně terapeuticky zvládnutelná, docílili někteří autoři pozoruhodných výsledků: pokles monocytózy, vzestup hemoglobinu, avšak neovlivnili hepatosplenomegalii. Zlepšily se nálezy při kultivaci kostní dřeně (zlepšení poměru klusterů ku koloniím) a poklesla hladina lysozymu (6).

Pokud jde o **maligntí lymfomy**, bylo zjištěno, že léčebného efektu může být dosaženo u Hodgkinovy choroby (31), u non-Hodgkinových lymfomů je pozitivní efekt pouze u tzv. dobře diferencovaných non-Hodgkinových lymfomů (které sice rostou pomalu, relativně "benigně", ale jsou cytostatiky nezvládnutelné), efekt nelze očekávat u malignějších, špatně diferencovaných forem (19). Poznatky shrnují japonští autoři: interferon alfa i beta je účinný, interferon gama ne. Tak např. po interferonu alfa měli v sestavě 53 pacientů 8 parciálních remisí, po interferonu beta v sestavě 41 pacientů 3 kompletní a parciální remise (31, 32).

U **myelomu** lze očekávat pozitivní léčebný efekt u části pacientů (někteří autoři jsou optimističtí - udávají až 50% zlepšení) (14), pokud s léčbou začneme včas. Může být dobré použít stoupající dávky a kombinovat s chemoterapií (42).

Při léčbě **karcinoidu** lze dosáhnout snížení produkce 5-hydroxyindolové kyseliny a zlepšení symptomů choroby až v 50 % případů, ale regrese velikosti tumoru nebyla pozorována (47).

Vzhledem k špatné prognóze **maligntího melanomu** jsou pozitivní výsledky, i když byly získány jen u části pacientů, pozoruhodné. Účinný je jak interferon alfa, tak beta. Autoři udávají počet remisí od nadpolovičního do nulového (přehled viz 32). Bude třeba dalších srovnávacích studií k ověření skutečné situace. Zcela podobná je situace při léčbě renálních karcinomů (32). U **myelodysplastického syndromu** je interferon neúčinný (1).

3.3 Další indikace k léčbě interferonem

Především je pozoruhodná možnost ovlivnění autoagresivních chorob interferonem (přehled viz 21). Bylo zjištěno, že u novorozenců myši lze vyvolat vysokými dávkami interferonu příznaky autoimunitních chorob. U lidí byla zjištěna v případě lupus erythematoses přítomnost interferonu, ačkoliv u zdravých lidí tomu tak není. U některých nemocných byly nalezeny i protilátky proti interferonu. Některé novější teorie o vzniku autoimunitních chorob pokládají za významný fakt zvýšené expresivity HLA antigenů třídy II. Interferon gama vede ke zvýšení takové expresivity. Byla vyslovena tato hypotéza: některé mikroorganismy, jako mykoplazmata, by mohly působit jako induktory tvorby interferonu. To by mohlo vést k zvýšení expresivity antigenů HLA a vzniku autoimunity (21).

Léčebný efekt po interferonu byl zaznamenán u progresivní polyartritidy (17, 19, 21) a sklerosis multiplex (21).

Interferony mají některé stejné efekty, jiné antagonistické: tak např. interferon alfa má inhibiční vliv na angiogenezi, interferon gama stimulující. Proto je možné využít interferonu alfa při léčbě plicní hemangiomatózy (52). Snad by bylo možno využít interferon i při léčbě diabetické retinopatie či autoimunitních chorob očních, kde se uplatňuje angiogeneze (19). Byla zjištěna aktivita interferonu gama proti sklerodermii a leishmanióze (36).

Je pravděpodobné, že v budoucnu bude lépe prozkoumána zejména interakce interferonů s jinými důležitými biologickými mediátory, jako jsou interleukiny, růstové faktory, faktory ovlivňující angiogenezi a z toho vyplynou další léčebná využití.

4. LÉČBA VLASATÉ LEUKÉMIE INTERFERONEM

4.1 Charakteristika vlasaté leukémie a historické poznámky

Roku 1958 popsala Bouroncleová zvláštní druh leukémie, který nazvala leukemickou retikuloendoteliozou (4). Později byla nemoc nazývána podle charakteristického vzhledu leukemických buněk v elektronovém mikroskopu vlasatou leukémií (hairy-cells leukemia). Vlasatá leukémie je chronické lymfoproliferativní onemocnění, nádorové buňky jsou z B-lymfocytární řady. Subjektivní příznaky začínají nejčastěji slabostí a malátností, později jde o infekční komplikace způsobené cytopenií, dále krvácivé komplikace. Nejčastější příčinou úmrtí bývají těžké orgánové infekce nebo sepse. Vyvinutý klinický obraz je charakterizován splenomegalií, laboratorně periferní cytopenií, přítomností vlasatých buněk jak v periferní krvi, tak infiltrací dřeně, jež dosahuje až téměř 100 % (v těžkých případech). 10 % lidí nevyžaduje vůbec žádnou léčbu, ale ostatní mají tak tísnivou symptomatologii, že lékařskou péči vyhledávají. V léčbě byly vyzkoušeny kombinace cytostatik, glukokortikoidy, lithium carbonicum, androgeny, ozařování, leukaferéza, v poslední době se zkouší růstové faktory. Léčebně může být úspěšná splenektomie - asi v 50 % případů (9, 10). Roku 1984 byl po prvé využit k léčbě interferon (38). Brzy se ukázala jeho zřejmá efektivita, takže zprvu vzniknul nadměrný entuziasmus a věřilo se, že bude docíleno totálních remisí až vyléčení pacientů (přehled viz 9, 27, 38).

4.2 Účinek a dávkování interferonu

Pokud jde o mechanismus, je účinek interferonu obdobný, jak bylo popsáno výše (viz 3.2.1). Vlasaté buňky však mají svoje zvláštnosti. Bylo prokázáno, že mají na membráně receptory pro interferon alfa a beta. Při léčbě interferonem dochází k jeho vazbě na tyto receptory a tzv. "down-regulation". Jde o stav, kdy je prokazatelná snížená expresivita receptorů. Vazba na receptory je podmínkou stavu zvýšené odolnosti proti virům (antivirales Zustand). Při tom dochází k vzestupu syntézy 2,5-oligoadenylsyntetázy. U pacientů, u nichž byla zjištěna rezistence na léčbu interferonem, nebyla expresivita receptorů na interferon alfa prokázána a nebyla zvýšená syntéza 2,5-oligoa-

denylsyntetázy (3). Nejde o stav spontánní down regulation - u těchto pacientů nekoluje v krvi interferon (např. endogenní) - naopak, jeho endogenní produkce je nižší (37). Situace však zcela jasná není: není přímý vztah mezi citlivostí vlasatých buněk in vitro na interferon a vazebnou schopností receptorů - ve hře musí být i jiné mechanismy. Dále bylo zjištěno, že vlasaté buňky mají dvakrát více receptorů pro interferon než jiná populace B-lymfocytů nebo buňky nemocných s chronickou lymfadenózou (nemocní s chronickou lymfadenózou nereagují na interferon). Zvýšená kvantita receptorů však není způsobena jejich větší denzitou na membráně vlasatých buněk, ale větším povrchem membrány (3). 2,5-oligoadenylsyntetáza blokuje syntézu DNA a proteinů (3). Syntézu výše uvedeného enzymu stimuluje i interferon beta1 - z tohoto hlediska se jeví účelné podávat v případě rezistence na interferon alfa interferon beta. Interferon gama nestimuluje tvorbu uvedeného enzymu a není k léčbě vlasaté leukémie použitelný (3, 27). Byla prokázána syntéza nejméně dalších 16 proteinů po účinku interferonu na vlasaté buňky, kdy zároveň probíhá down-regulation (43, 44).

Jak jsme se již zmínili, není perfektně stanoveno jednotné, obecně uznávané léčebné schéma pro vlasatou leukémii. Bezpečně však víme, že dávky interferonu nemusí být příliš vysoké. Všeobecně se uznává, že počáteční dávka interferonu má být podána parenterálně, alespoň obden. Stačí patrně 2 milióny IU/m² tělesného povrchu a den. Protože záber na lék bývá rychlý, je možno relativně brzy snížit dávku, rozhodně za 3 měsíce (24). Doba léčby je podle různých autorů různá - 6 měsíců, spíše rok i déle (9, 24, 39). Tak např. Ratain a spol. (39) léčili pacienty dávkou 2 milióny jednotek na m² tělesného povrchu, lék podávali 3krát týdně subkutánně a na první 2 dávky nemocné hospitalizovali, aby odezněly event. nepříjemné subjektivní příznaky. Pacient byl zpočátku přísně kontrolován a zvykl si na léčbu. Tuto dávku podrželi nejméně 3 měsíce, při neúspěchu léčby ji zvyšovali až na 10 miliónů jednotek na m² tělesného povrchu. Léčili 1 rok. Zlepšení nastávalo u pacientů obvykle za 1-2 měsíce, ale i až za půl roku. Nemocné pečlivě kontrolovali: zprvu prováděli vyšetření krevního obrazu 1krát týdně, pak 1krát měsíčně. Biochemická vyšetření kontrolovali jednou za měsíc, kostní dřeň a skóre alkalické fosfatázy 1krát za 3 měsíce. Jiným příkladem může být léčebné schéma podle Lauria a spol. (24): podávali interferon alfa (preparát firmy Wellcome: Wellferon) 3 milióny jednotek denně i. m. Pokud nedošlo k zlepšení do 4 týdnů, zvyšovali dávku na 6 miliónů jednotek denně. Po 3 měsících v případě parciální nebo totální remise redukovali dávku na 3krát týdně, jinak ji ponechali. Za další 3 měsíce u pacientů v parciální remisi nebo totální remisi randomizovali: buď vynechali lék, anebo podávali 3 milióny jednotek 1krát týdně.

U nás jsme zvolili dávkovací schéma: u dospělého člověka o běžném povrchu těla 3 milióny jednotek preparátu Roferon firmy Roche s. c. denně. Na úvod pacienta hospitalizujeme, propouštíme po odeznění úvodních "flu-like" symptomů. V léčbě pokračujeme půl roku.

4.3 Výsledky léčby

Původní entuziasmus byl redukován a nyní se všeobecně uznává, že interferon vede u vlasaté leukémie téměř

ve všech případech k záberu a zlepšení (asi v 90 % případů) (9). Bohužel však málokdy dojde k totální remisi charakterizované úplnou normalizací také v kostní dřeni. Poněkud rozporné výsledky jednotlivých výzkumníků jsou způsobeny rozdílnou definicí totální remise: někteří z nich nepožadují úplně normální histologii kostní dřene, s úplným vymizením vlasatých buněk, anebo jejich snížením pod 5 %. Ve většině případů vymizí vlasaté buňky z periférie, normalizuje se cytopenie, zmizí nebezpečné infekce a krvácivé komplikace. Pacienti mohou být zcela bez obtíží, ale zhruba ve 40 % případů dochází po vysazení léčby do 5 měsíců (9, 23) k většímu nebo menšímu zhoršení stavu až k úplnému relapsu. Většinou zůstává při ukončení léčby v kostní dřeni minimální množství vlasatých buněk, po vysazení se dříve nebo později infiltrace dřene zvýší. To vedlo některé autory k požadavku přísných kontrol i po dlouhou dobu po ukončení terapie, hledání vhodných markerů remise a markerů včas signalizujících relaps, nebo dokonce k požadavku léčby po celý život, i když v malých a řídkých udržovacích dávkách (9). Jako možnost se jeví také střídání léčby interferonem s léčbou pentostatinem (24, 26).

Jako příklad lze uvést výsledky Freye a spol. (9): v souboru 34 pacientů došlo u 97 % pacientů k příznivé léčebné odpovědi (tj. totální remisi, parciální remisi nebo tzv. minimální reakci; minimální reakcí rozuměli autoři zřetelné zlepšení v periferní krvi - Hb nad 100 g/l, trombocyty nad 75 g/l, granulocyty nad $1,0 \times 10^9/l$, ale bez zlepšení infiltrace v kostní dřeni). Totálních remisí, kdy byl i v kostní dřeni, i v periférii zcela normální nálezy, bylo jen 17 %. Domnívají se, že počet remisí ani jejich trvání nebo rychlost nástupu remise nekoreluje s dávkou interferonu. Protože k normalizaci dřene dochází někdy až za rok a léčba zejména v malých dávkách není toxická, jsou pro dlouhodobější podávání interferonu. K udržení remise podle nich stačí dávka interferonu jednou za 1-2 týdny. Po srovnání pacientů splenektomovaných a bez splenektomie soudí autoři, že sice záber na léčbu je rychlejší u splenektomovaných, ale pak se stav vyrovná u obou skupin. Proto doporučují, aby splenektomie byla rezervována pro pacienty bez velkého operačního rizika (nízké granulocyty, nízké destičky) a pro ty, kteří mají podle pečlivého vyhodnocení naději na dlouhodobou remisi. U ostatních jsou pro zahájení léčby interferonem. Toto je v podstatě i názor naší skupiny.

Trvání remise je významné, ale dosud se o něm velmi diskutuje vzhledem k odlišným zkušenostem jednotlivých lékařů. Tak např. Ratain a spol. (39) soudí, že remise po ukončení léčby interferonem jsou relativně dlouhodobé. Na základě léčby souboru nemocných, kde došlo v 80 % k zlepšení stavu, navrhuji léčit nemocné s progresí choroby po splenektomii po dobu 6 měsíců, pokud odpovídají na léčbu, pak jeden rok. Za průměrnou dobu sledování pacientů 8 a půl měsíce po ukončení léčby museli jen 1krát znovu nasadit lék pro relaps. Po ukončení léčby pozorovali v kostní dřeni postupné narůstání vlasatých buněk a snižování poměru granulocytární řady ku erytroidní, v periférii zprvu rebound fenomen. Hlavní hematologickou toxicitou interferonu byla leukopenie - interferon snižuje přímo, či nepřímo uvolňování normálních elementů do periférie. Považují výsledek léčby jen za paliativní, protože i u kompletní remise pozpo-

rovali ve dření myeloidní hypoplazii a zvýšení množství retikulinových vláken. (Jiní autoři pozorovali megablastoidní změny v erytropoéze nebo myelodysplastické změny) (35). Při léčbě je nutno dávat pečlivě pozor na myelosupresi a případně podávat erytrocyty nebo koncentráty destiček. Po ukončení léčby pacienty sledovat jednou za 1-3 měsíce a o event. znovunasazení léčby nerozhodovat jen podle infiltrace kostní dřeně, ale až při změnách klinického stavu nebo zhoršování periferního krevního obrazu. Zjistili, že léčba má úspěch i jako primární, ale spíše doporučují interferon až po splektomii - upozorňují také na úspěchy pentostatinu.

4.4 Laboratorní sledování léčby

Kromě klinického stavu je nutné relativně pečlivě sledování laboratorních ukazatelů, zejména na počátku léčby.

Po stránce hematologické jsou nejdůležitější změny v periferním krevním obraze a v kostní dřeni. Sledovací schémata jednotlivých autorů se poněkud liší, v zásadě však je vhodné hodnoty periferního krevního obrazu sledovat zprvu 1krát týdně, po stabilizaci nebo zlepšení 1krát měsíčně až do ukončení léčby (viz např. schéma sledování léčby, které jsme uvedli v části 4.2 podle Rataina a spol. Po zahájení léčby hrozí pacientovi prohloubení cytopenie v periférii (bylo již také uvedeno).

Kostní dřeň vyšetřujeme alespoň 1krát za 3 měsíce. Jde o důležitý ukazatel, ale s vyšetřením jsou obtíže. Získat aspirační vzorek ze sternu k histologickému vyšetření se mnohdy nezdaří (buněčnost je často nízká a jsou zmnožena retikulinová vlákna). Navíc patologický proces není zcela difúzní. Časté provádění trepanobiopsie je pro pacienta přece jen náročné. Ani po ukončení léčby není kostní dřeň ideálním markerem pro sledování stavu, zejména pro časné zjištění relapsu nebo posouzení doby, kdy je již nutné zahájit novou léčbu (39). Jak jsme již uvedli, většina autorů prokázala po zahájení léčby relativně rychlý pokles infiltrace kostní dřeně, při kompletní remisi až do vymizení vlasatých buněk (23). S tím koreluje i snížení až vymizení pozitivit TRAP - tartarát rezistentní kyselé fosfatázy (29). Po vymizení infiltrace se sníží buněčnost dřeně, zmnoží se tukové vakuoly. Klesá počet retikulinových vláken (13, 23). Potom dochází k ostrůvkovitému pomnožení normální krvetvorby, zprvu erytroidních buněk, megakaryocytů, potom teprve bílé řady. Poměr granulocytární řady ku červené bývá i menší než jedna, později stoupá až na dvě (2).

Biochemická vyšetření jsou nutná, ale rovněž nejsou ideálními markery, zejména ne pro časný relaps. Zprvu provádíme alespoň 1krát měsíčně biochemická vyšetření ke sledování základních funkcí orgánů (aminotransferázy, bilirubin, diastázy, kreatinin a dusík močoviny, minerály v séru, muramidáza). Později stačí vyšetření zhruba po čtvrt roce (39, 40). Kultivace prekurzorových buněk vykazuje zprvu snížení růstu hemopoetických kolonií CF U-GM, patologický poměr kolonií ke klusterům, v remisi se stav postupně normalizuje. Není však přímá korelace s ostatními hematologickými ukazateli (27, 52).

Jako relativně dobrý ukazatel při sledování pacientů po ukončení léčby se jeví skóre alkalické fosfatázy v leukocytech (40). Je vhodné i pro posouzení časného relapsu. Při

úspěšné léčbě skóre klesá až k normě. Byla vyslovena domněnka, že jde o ukazatel rezervy granulocytů ve dření (mění se nepřímě úměrně s rezervou granulocytů). Proti tomu však svědčí, že není zvýšená u chronické lymfadenózy, ale u řady chorob, kde je přítomna myelofibróza (40). Pravděpodobnější je, že při vlasaté leukémii dochází k bloku erytroidní a myeloidní diferenciace, který při úspěšné léčbě vymizí (40).

Spolehlivé markery, kterými bychom mohli před zahájením léčby předpovědět její úspěšnost, dosud nemáme. Rezistence se může vyvinout i v průběhu léčby, často je způsobena inhibujícími protilátkami proti interferonu. Ani zde dosud nejsou úplné znalosti.

5. NAŠE ZKUŠENOSTI

Hradecká hematologická pracoviště mají dosud zkušenosti s léčbou 6 případů vlasaté leukémie (celkem 7 kúrami roferonu - pacient č. 4 byl léčen dvakrát - viz tab. 2) a jedním případem chronické myelózy. Jde o zkušenosti předběžné, které detailněji vyhodnotíme později, neboť několik pacientů je dosud léčeno nebo jsou krátce po skončení léčby. Jen jednou nebyla odpověď na léčbu žádná - viz tabulku.

Tabulka 1

KLINICKÁ ODPOVĚĎ NA LÉČBU INTERFERONEM (podle Jasmina, 1991)

1. Tumory velmi senzitivní

- "Vlasatá" leukémie
- Chronická myeloidní leukémie
- Nodulární lymfomy dobře diferen
- Esenciální trombocytémie
- Mycosis fungoides
- Virové papilomy (laryngu, vagíny)

2. Tumory částečně senzitivní

- Mnohočetný myelom
- Caposhiho sarkom
- Karcionoid
- Karcinom ledvin
- Melanoblastom

3. Rezistentní tumory

- Rakovina plic
- Koloréktální karcinom
- Karcinom ovaríí
- Tumory s velkou nádorovou masou

Tabulka 2

Přehled údajů o léčených nemocných TERAPIE H C L ALFA - INTERFERONEM

Poř. čís.	Jméno	Pohl.	Věk	Délka terapie (měs.)	KO-východní hodnoty				osažené hodnoty				Trvání remise	
		Splen-ektom.			Hb (g/l)	Neutr. ($\times 10^9/l$)	Tromb. ($\times 10^9/l$)	Rtc	Hb (g/l)	Neutr. ($\times 10^9/l$)	Tromb. ($\times 10^9/l$)	Rtc		
1.	M.O.	M ne	72	6	73	0,342	12	0-1	126	2,940	56	16	ČÚ	
2.	V.O.	M ano	56	3,5	69	1,363	100	9	148	2,394	466	60	KÚ	22měs. (trvá)
3.	S.Z.	M ne	58	3	140	1,360	65	6	160	3,150	208	28	KÚ	17 měs. (trvá)
4.	P.J.	Ž ano	44	5	83	0,611	100	3	130	2,542	226	27	KÚ	5 měs.
	P.J.	Ž ano	44	3	83	1,080	145	8	84	0,540	95	16	-	
5.	J.M.	M ne	45	13	106	0,24	52	5	148	1,242	162	11	KÚ	10 měs. (trvá)
6.	J.J.	M ano	34	13	79	1,025	45	6	138	4,416	263	--	KÚ	10. měs. (trvá)

KÚ - kompletní úprava

ČÚ - částečná úprava

6. ZÁVĚR

Klinický efekt léčby interferonem je pozoruhodný. Zejména pro pacienty s vlasatou leukémií, ale i jinými hemoblastózami přináší naději na delší život a jeho lepší kvalitu. U vlasaté leukémie jde o podstatné prodloužení života, podstatné zmírnění utrpení nemocných, ale i o snížení nákladnosti a náročnosti léčby. Širšímu uplatnění léčby interferonem dosud brání také relativně vysoká cena léku. Pro jednoho pacienta musíme počítat nejméně s čtvrt miliónem korun, při léčbě delší než půl roku více. Ozer a spol. (34) však v jejich podmínkách spočítali náklady na léčbu a jsme přesvědčeni, že v našich podmínkách budou relace podobné. Protože odpadne drahá léčba těžkých orgánových infekcí a sepsí i krvácení, sníží se doba nutné specializované léčby (případně na lůžku). Výsledek je překvapující - léčba interferonem je 2,8krát levnější! Když autoři spočítali i naději nemocných do budoucna, je výsledek ještě více překvapující - při léčbě interferonem zemřelo za dva roky 8 % pacientů, ale 37 % kontrol. Připočítali produktivitu nemocných a zjistili, že finanční rozdíl je pak třináctinásobný ve prospěch léčených.

K získání dalších, přesnějších znalostí, které umožní kvalitnější léčbu, je třeba dalších farmakologických i klinických výzkumů.

Souhrn

Interferony jsou specifické bílkoviny produkované obratlovci jako odpověď na virovou infekci a k ovlivnění

imunologických reakcí. Dosud jsou známy tři skupiny interferonů - alfa, beta a gama. Jejich biochemické, ale hlavně klinické vlastnosti, autoři rozebírají. Věnují se zejména indikacím k jejich klinickému využití, léčebným schémátům, vhodnému sledování nemocných a výsledkům léčby. Nejlepších výsledků bylo dosaženo při léčbě vlasaté leukémie, ale i některých jiných, zejména chronických hemoblastóz (chronická myeloidní leukémie, myelom, dobře diferencované non-Hodgkinské lymfomy), esenciální trombocytémie, mycosis fungoides, virových papilomů. Autoři uvádějí vlastní zkušenosti s léčbou vlasaté leukémie.

Literatura

1. AUL, C. - GATTERMANN, N. - SCHNEIDER, W.: Treatment of advanced myelodysplastic syndromes with recombinant interferon-alpha2b. Eur. J. Haematol., 46, 1991, č. 1, s. 11-16.
2. BARDAVIL, R. G. et al.: Changes in peripheral blood and bone marrow specimens following therapy with recombinant alpha2 interferon for hairy cell leukemia. Am. J. Clin. Pathol., 85, 1986, č. 2, s. 194-201.
3. BILLARD, Ch. et al.: Action of interferon-alpha on hairy cell leukemia: expression of specific receptors and (2'-5'-oligo (a) synthetase in tumor cells from sensitive and resistant patients. Leukemia Res., 12, 1988, s. 11-88.
4. BOURONCLE, B. A. - WISEMAN, B. K. - DOAK, C. A.: Leukemic reticuloendotheliosis. Blood, 13, 1958, s. 609.
5. CALVET, M. C. - GRESSER, I.: Interferon enhances the excitability of cultured neurones. Nature (Lond.), 278, 1979, s. 558.
6. CATALANO, L. et al.: Alpha interferon in the treatment of chronic myelomonocytic leukemia Haematologica, 74, 1989, s. 577-581.
7. DERYNCK, R. E. et al.: Expression of human fibroblast interferon gene in Escherichia coli. Nature, 287, 1980, s. 193-197.
8. EINAT, M. - RESNITZKI, D. - KIMCHI, A.: Close link between

- reduction of c-myc expression by interferon and G0/G1 arrest. *Nature*, 313, 1985, s. 597-600.
9. FREY, B. et al.: Wirksamkeit von rekombinantem Interferon-alpha2 bei 34 Patienten mit Haarzell-Leukämie. *Schweiz. med. Wschr.*, 118, 1988, s. 1468-1475.
 10. GOLDE, D. W. et al.: Hairy-cell leukemia: biology and treatment. *Semin. Hematol.*, 1986, 23, Suppl. č. 1, s. 3-9.
 11. GRAY, P. W. - GOEDDEL, D. V.: Structure of the human immune interferon gene. *Nature*, 298, 1982, s. 859-863.
 12. GRAY, P. W. et al.: Expression of human immune interferon cDNA in *E. coli* and monkey cells. *Nature*, 295, 1982, s. 503-508.
 13. HASSAN, I. B. - SUNDSTRÖM, Ch. - HAGBERG, H.: Bone marrow morphology during treatment in hairy cell leukemia. *Eur. J. Haematol.*, 43, 1989, s. 120-126.
 14. HOKLAND, M. - HOKLAND, P.: Interferons for malignant blood diseases? *Eur. J. Haematol.*, 38, 1987, s. 209-212.
 15. HOSKINS, M.: A protective action of neurotropic against viscerotropic yellow fever virus in *Macacus rhesus*. *Amer. J. Trop. Med. Hyg.*, 15, 1935, s. 675-680.
 16. Interferon nomenclature. (Editorials.) *J. Interf. Res.*, 4, 1983, s. 377-378.
 17. ISAACS, A. - LINDEMANN, J.: Virus interference: the interferon. *Proc. Royal Soc. Ser.*, 147, 1957, s. 258-267.
 18. JACOBSEN, H. et al.: Interferon-induced synthesis of 25A dependent RNase in mouse JLS V9R-cells. *Virology*, 125, 1983, s. 496.
 19. JASMIN, Cl.: Les interférons humains: promesses et prémisses biologiques et cliniques. *Schweiz. med. Wschr.*, 121, 1991, č. 13, s. 463-466.
 20. KATAOKA, T. et al.: Relative contribution of antiproliferative and host immunity-associated activity of mouse interferon in murine tumor therapy. *Cancer Res.*, 44, 1984, s. 5661-5665.
 21. KIRCHNER, H.: Das Interferonsystem unter besonderer Berücksichtigung des Gamma-Interferons. *Dtsch. med. Wschr.*, 111, 1986, č. 2, s. 64-70.
 22. KIRCHNER, H. - MARCUCCI, F.: Interferon production by leukocytes. In: *Interferon 2*, Ed. J. Vilcek and E. De Maeyer, Elsevier, Amsterdam 1984, s. 7-34.
 23. LAMBERTENGHI-DELILIERIS, G. et al.: Bone marrow histological modifications induced by alpha interferon in hairy cell leukemia. *Acta haemat.*, 77, 1987, s. 203-207.
 24. LAURIA, F. et al.: Treatment of hairy-cell leukaemia with alpha-interferon. *Eur. J. Cancer Clin. Oncol.*, 24, 1988, č. 2, s. 195-200.
 25. LEE, S. H. S. - EPSTEIN, L. B.: Reversible inhibition by interferon of the maturation of human peripheral blood monocytes to macrophages. *Cell. Immunol.*, 50, 1980, s. 177-190.
 26. LEMBERSKY, B. C. et al.: Rapid response to 2'-deoxycofornin in advanced hairy cell leukemia after failure of interferons alpha and gamma. *Am. J. Hematol.*, 27, 1988, s. 60-62.
 27. MASUDA, M. et al.: Effect of recombinant interferons on hairy cell leukemia progenitors. *Inter. J. Cell Cloning*, 7, 1989, s. 120-128.
 28. MITCHELL, M. S.: Combining chemotherapy with biological response modifiers in treatment of cancer. *J. N. Cancer Inst.*, 80, 1988, č. 18, s. 1445-1450.
 29. NAEIM, F. - JACOBS, A. D.: Bone marrow changes in patients with hairy cell leukemia treated by recombinant alpha2-interferon. *Human Pathol.*, 16, 1985, č. 12, s. 1200-1205.
 30. NAGATA, S. et al.: Synthesis in *E. coli* of a polypeptide with human leukocyte interferon activity. *Nature*, 284, 1980, s. 316-320.
 31. OHNO, R.: Clinical trial of interferons in malignant lymphoma. *J. Ad. Dis. (Japan)*, 18, 1988, s. 627-631.
 32. OKITA, K. - KANEKO, T.: The potential of interferons in malignant disease. *Drugs*, 39, 1990, č. 1, s. 1-6.
 33. OPAT, P. - DRBAL, J. - VYZULA, R.: High dose alpha-2-recombinant interferon in the treatment of malignant lymphoproliferative diseases. A pilot study. *Neoplasma*, 6, 1989, č. 4, s. 489-494.
 34. OZER, H. et al.: Costbenefit analysis of interferon alfa-2b in treatment of hairy-cell leukemia. *J. Nat. Cancer Inst.*, 81, 1989, č. 8, s. 594-602.
 35. PANGALIS, P. A. et al.: Hairy cell leukemia: bone marrow changes following splenectomy and alpha-interferon therapy. *Leukemia*, 1, 1987, č. 1, s. 343-346.
 36. PFEFFERKORN, E. R.: Interferon gamma blocks the growth of toxoplasma gondii in human fibroblasts by inducing host cells to degrade tryptophan. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 81, 1984, s. 908-912.
 37. PORZSOLT, F. et al.: Different antitumor mechanisms of interferon-alpha in the treatment of hairy cell leukemia and renal cell cancer. *Cancer*, 61, 1988, č. 2, s. 288-293.
 38. QUESADA, J. R. et al.: Alpha-interferon for induction of remission in hairy-cell leukemia. *N. Engl. J. Med.*, 310, 1984, s. 15-18.
 39. RATAIN, M. J. et al.: Durability of responses to interferon alpha-2b in advanced hairy cell leukemia. *Blood*, 69, 1987, č. 3, s. 872-877.
 40. RATAIN, M. J. et al.: Relapse after interferon alfa-2b therapy for hairy-cell leukemia: analysis of prognostic variables. *J. Clin. Oncol.*, 6, 1988, č. 11, s. 1714-1721.
 41. ROHATINER, A. Z. et al.: Central nervous system toxicity of interferon. *Brit. J. Cancer*, 47, 1983, s. 419-423.
 42. RÖDGER, S. et al.: Effect of interferon alpha-2b in advanced multiple myeloma. *J. Int. Med.*, 227, 1990, s. 45-48.
 43. SAMUELS, B. L. - GOLOMB, H. M. - BROWNSTEIN, B. H.: In vivo induction of proteins during therapy of hairy cell leukemia with alpha-interferon. *Blood*, 69, 1987, č. 6, s. 1570-1573.
 44. SAMUELS, B. L. et al.: Action of interferons in hairy cell leukemia. *Leukemia*, 1, 1987, č. 4, s. 365-369.
 45. SHOWS, T. B. et al.: Clustering of leukocyte and fibroblast interferon genes on human chromosome 9. *Science*, 218, 1982, s. 373-374.
 46. SIDMAN, C. L. et al.: Gamma-interferon is one of several direct B cell-maturing lymphokines. *Nature*, 309, 1984, s. 801-804.
 47. SMITH, O. B. et al.: Phase II trial of rDNA alfa 2b interferon in patients with malignant carcinoid tumor. *Canc. Treat. Reports*, 71, 1987, s. 1265-1266.
 48. STEIS, R. G. et al.: Resistance to recombinant interferon alfa-2a in hairy-cell leukemia associated with neutralizing anti-interferon antibodies. *N. E. J. Med.*, 318, 1988, č. 22, s. 1409-1413.
 49. STEWART, III, W. E.: The interferon system. Springer Verlag, New York 1981, s. 223-256.
 50. STRANDER, H. - CANTELL, K.: Interferons: Anti-neoplastic drugs? *Blut*, 35, 1977, s. 227-288.
 51. TRENT, J. M. - OLSON, S. - LAWN, R. M.: Chromosomal localization of human leukocyte, fibroblast, and immune interferon genes by means of in situ hybridization. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 79, 1982, s. 7809-7813.
 52. TURHAN, A. G. et al.: Hematologic and immunologic changes in hairy cell leukemia patients treated with alpha interferon. *J. Biol. Reg. Hom. Agents*, 2, 1988, č. 4, s. 157-165.
 53. WHITE, C. W. - SONDHEIMER, H. M.: Medical intelligence, treatment of pulmonary hemangiomatosis with recombinant interferon alpha-2a. *N. Engl. J. Med.*, 320, 1989, s. 1211-1212.

Klíčová slova: Hairy-cells leukemia; Interferon.