

# FLOW REVIEW

## HAARZELL-LEUKÄMIE

Wolfgang Hübl

*Ich möchte an dieser Stelle Ruth Jilch für die freundliche Durchsicht des Manuskriptes danken.*

Haarzelleukämien sind selten. Ihre Erkennung und Differenzierung von anderen B-lymphoproliferativen Erkrankungen ist aber wegen der guten Therapierbarkeit überaus wichtig. Durch ihren meist typischen Immunphänotyp kann gerade bei dieser Erkrankung die Durchflußzytometrie oft den entscheidenden Hinweis für eine richtige Diagnose geben.

### HISTORISCHES

Die Haarzelleukämie (HZL) ist eine relativ junge Entität, die Erstbeschreibung wird Bouroncle et al. (1) zugeschrieben, der die Krankheit 1958 als Leukämische Retikuloendotheliose bezeichnete. Durchgesetzt hat sich aber schließlich der Name Haarzelleukämie (HZL), der auf die haarähnlichen Ausläufer der malignen Zellen zurückgeht. Lange Zeit konnte man

sich nicht darauf einigen, ob die Haarzellen monozytären oder lymphozytären Ursprungs sind. Heute ist es unterhaltsam zu lesen, wie manche Autoren den schlüssigen Beweis führten, daß es sich um monozytäre Zellen handeln müsse. Dies führt uns zum tröstlichen Gedanken, das unsere eigenen Publikationen, wenn sie schon sonst nichts bewirken, wenigstens einmal zur Belustigung der Nachwelt dienen werden.

### DEMOGRAPHIE

Männer/Frauen Verhältnis beträgt etwa 5:1, das mediane Alter bei Erkrankungsbeginn ca. 50a, der Bereich zwischen 24 und 80a. Kommt bei Kindern nicht vor (2).

Die HZL umfaßt 2% der Erwachsenenleukämien und 3.5% der NHL.

### FLOWZYTOMETRIE

Counts: In einer Studie von Robbins et al. (3) lag bei 161 HZL-Fällen die B-Lymphozytenzahl im Mittel bei 340/ $\mu$ l (Bereich von 10 bis 63700).

Scatter: Die Haarzellen zeigen meist ein größeres Side und Forwardscattersignal als normale Lymphozyten. Im allgemeinen findet man die Haarzellpopulation überlappend zwischen Lympho- und Monozyten, meist stärker mit den Monozyten überlappend (3). Di Guiseppa beschreibt, daß im Sidescatter/Forwardscatterdiagramm meist 2 HZL-Populationen zu finden sind (4): die 1. hat ein etwa doppelt so hohes Forward- und Sidescattersignal wie normale Lymphozyten, die 2. besitzt ein etwa 2.5 mal größeres Forwardscattersignal und ein nur geringfügig höheres Sidescattersignal als normale Lymphozyten. Eine Erklärung für diese Aufsplitterung in 2 Populationen bietet der Autor nicht. Uns ist eine solche Aufsplitterung bis jetzt noch nicht aufgefallen.

Agglutinate: Robbins et al. (3) berichten von Haarzellagglutinaten, die durch Anti-CD20 (Leu-16) verursacht wurden. Die agglutinierten Zellen waren dann nicht mehr im Scattergate enthalten (Escapee-Phänomen; siehe auch Lösung zu Flow-Rätsel 1 in diesem Heft, ev. auf Seite 38), was zur Folge hatte, daß bei allen Markierungen, bei denen CD20 verwendet

wurde, weniger Haarzellen gefunden wurden. Uns ist das noch nicht aufgefallen, aber vielleicht haben wir nur zu wenig darauf geachtet.

### IMMUNPHÄNOTYP

#### "positiv"

Kriterien für „positiv“ bei den hauptsächlich zitierten Referenzen (siehe auch Kasten „Wann ist eine Zellpopulation ‚positiv‘“ weiter unten): Matutes et al. (5): Die Zellpopulation wird als positiv betrachtet wenn mehr als 30% der Zellen positiv sind (ich nehme an, im Vergleich zur Isotypkontrolle)

Tabelle 1			
EXPRESSION VON ZELLANTIGENEN AUF B-ZELLEN BEI HZL UND CLL			
	Antikörper	HZL	CLL
CD19	Leu-12, BD	100	100
CD20	Leu-16, BD	100	98
CD22	Leu-14, BD	100	94
IgM+IgD	polycl., Fisher	48	68
IgM	polycl., Fisher	41	10
IgM-/IgD-	polycl., Fisher	11	22
<b>k</b>	pc, Fisher u. Tago	45	58
<b>l</b>	pc, Fisher u. Tago	54	26
<b>k/l-</b>	pc, Fisher u. Tago	1	16
CD11c	Leu-M5, BD	100	74
CD25	IL-2R, BD	99	68
B-ly7	B-ly7, MCA	100	0
CD3	Leu-4, BD	0	0
CD5	Leu-1, BD	4	100
CD4	Leu-3a, BD	0	0
CD8	Leu-2a, BD	0	0
CD10	CALLA, BD	26	0
CD14	wahrscheinl. BD	0	0
CD16	Leu-11a, BD	0	0
<b>Modifiziert nach Robbins et al. (3). Angaben in % der positiven Fälle. Ein Fall wurde als positiv gewertet, wenn mehr als 20% der (neoplastischen?) Zellen positiv waren.</b>			

Robbins et al. (3): Die Zellpopulation wird als positiv betrachtet wenn mehr als 20% der Zellen positiv sind.

Die unten angegebenen Prozentsätze verstehen sich daher, wenn nicht anders angegeben als % der Fälle, nicht als % der Zellen.

Oberflächenimmunglobuline: positiv; 30-50% der Fälle IgG, oft noch andere Schwereketten (2). Nach Robbins et al. in 48% der Fälle IgM+/IgD+, in 41% nur IgM+, in 11% IgM-/IgD- (3); IgG und IgA wurden von diesen Autoren nicht getestet.

Andere Antigene (siehe auch Tabellen 1-6):

**CD1a:** De Panfilis et al. fanden die Haarzellen von 5 Patienten CD1a positiv (6). Eigene Daten (nur bei einem Fall gemessen): negativ

**CD3:** negativ [in 100% der Fälle (3)]

**CD4:** negativ [in 100% der Fälle (3)]

**CD5:** negativ [in 100% der Fälle (5), in 96% der Fälle (3)]

**CD6:** Eigene Daten (nur bei einem Fall gemessen): negativ

**CD8:** negativ [in 100% der Fälle (3)]

**CD10:** negativ [in 90% der Fälle (5), in 74% der Fälle (3)]

**CD11a:** Intensität etwas schwächer als auf normalen B-Zellen (Faktor 0.81) (7)

**CD11b:** Intensität etwas stärker als auf normalen B-Zellen (Faktor 1.21) (7)

**CD11c:** stark positiv [in 97% der Fälle (5); Laut Robbins et al. in 100% der Fälle]; Intensität: 29 mal stärker als CLL-Zellen (3), 62 mal stärker als auf normalen B-Zellen (7)

**CD13:** Eigene Daten (nur bei einem Fall gemessen): negativ

**CD14:** negativ [in 100% der Fälle (3)]

**CD15:** Eigene Daten (nur bei einem Fall gemessen): negativ

**CD16:** negativ [in 100% der Fälle (3)]

**CD18:** Intensität stärker als auf normalen B-Zellen (Faktor 2.09) (7)

**CD19:** positiv [in 100% der Fälle (5)]

Intensität: Eine quantitative Studie zeigte für HZL-Zellen eine ca. 1.8 mal so starke CD19 Expression wie für normale B-Zellen (8). Laut Robbins et al. 2.4 mal stärker als normale B-Zellen, 3.7 mal stärker als CLL-Zellen (3).

Anmerkung: Im logarithmischen Dotplot bedeutet das natürlich dennoch nur geringe Verschiebungen der Population.

**CD20:** positiv, in unserer Erfahrung meist etwas stärker als normale B-Zellen. Intensität:

<b>Tabelle 2</b>				
<b>EXPRESSION VON ZELLANTIGENEN AUF B-ZELLEN BEI VILLÖSEN LYMPHOPROLIFERATIVEN ERKRANKUNGEN</b>				
<b>Marker</b>	<b>Antikörper</b>	<b>HZL</b>	<b>HZLv</b>	<b>SLVL</b>
<b>FMC7+</b>	Seralab	91%	73%	89%
<b>CD22+</b>	OKB22, Ortho	98%	96%	95%
<b>CD5+</b>	UCHT2	0%	8%	19%
<b>CD23+</b>	MHM6	21%	7%	31%
<b>CD11c+</b>	Leu-M5, BD	97%	79%	47%
<b>CD25+</b>	anti-II2R, BD	97%	0%	25%
<b>HC2+</b>	HC2	87%	0%	9%
<b>B-ly-7+</b>	B-ly-7	98%	47%	15%
<b>CD24+</b>	L30	60%	21%	89%
<b>CD10+</b>	J5, Coulter	5%	21%	30%
<b>CD38+</b>	OKT10, Ortho	11%	11%	30%
<b>Modifiziert nach Matutes et al. (5). Angaben in % der positiven Fälle. Ein Fall wurde als positiv gewertet, wenn mehr als 30% der neoplastischen Zellen positiv waren.</b>				

Eine quantitative Studie zeigte für HZL-Zellen

eine ca. 3 mal so starke CD20 Expression wie für normale B-Zellen (8). Laut Robbins et al. 2.5 mal stärker als normale B-Zellen, 15 mal stärker als CLL-Zellen (3).

**CD21:** negativ (2; 9; 10)

**CD22:** positiv [in 98% der Fälle(5)]; Intensität: stärker als normale B-Zellen (6 mal), viel stärker als CLL-Zellen (46 mal) (3)

**CD23:** negativ (11; 12) [in 79% der Fälle (5)]

**CD24:** positiv (10; 12) [in 60% der Fälle (5)]

**CD25:** positiv [in 97% der Fälle]; Intensität: stärker als bei CLL oder SLVL (13). Laut Robbins et al. in 99% der Fälle + und 6 mal stärker als CLL-Zellen (3).

**CD27:** positiv (auch + bei CLL, HZLv, bei MZL+++; soll bei normalen B-Zellen negativ sein) (14).

**CD29:** Intensität stärker als auf normalen B-Zellen (Faktor 2.99) (7)

**CD32:** Eigene Daten (nur bei einem Fall gemessen): positiv (100% der Haarz.); Intensität: zw. 3 und 4. Dekade (FITC-markiert)

**CD33:** Eigene Daten (nur bei einem Fall gemessen): negativ

**CD38:** -/+ (12) [in 11% der Fälle + (5)]

**CD40:** positiv (14)

**CD40L:** positiv (auch + in CLL, negativ bei

<b>Tabelle 3</b>				
<b>QUANTITATIVE EXPRESSION VON ZELLADHÄSIONSMOLEKÜLEN AUF B-ZELLEN BEI LYMPHOPROLIFERATIVEN ERKRANKUNGEN (7).</b>				
<b>Antigen</b>	<b>Antikörper</b>	<b>CLL (n=148)</b>	<b>leuk. NHL (n=52)</b>	<b>HZL (n=10)</b>
<b>CD11a</b>	25.3/IOT16	0.41±0.03	0.95±0.14	0.81±0.14
<b>CD11b</b>	Bear 1 /IOM1	0.38±0.03	0.64±0.09	1.21±0.20
<b>CD11c</b>	Leu-M5	2.36±0.20	2.82±0.75	62.14±14.06
<b>CD18</b>	7E4	0.38±0.03	0.94±0.16	2.09±0.51
<b>CD29</b>	K20/IOT29	0.86±0.05	1.52±0.14	2.99±0.32
<b>CD44</b>	J.173/IOL44	0.85±0.03	1.00±0.09	3.41±0.54
<b>CD49d</b>	HP2.1/IOP49d	0.33±0.04	1.02±0.10	1.12±0.12
<b>CD54</b>	84H10/IOL54	0.85±0.04	2.43±0.34	2.61±0.29
<b>CD62L</b>	DREG56	0.55±0.04	0.48±0.05	0.31±0.11
<b>Die Zahlen verstehen sich als Antigenexpression (MFI) bei der jeweiligen Erkrankung dividiert durch die Antigenexpression normaler B-Zellen (10 gesunde Freiwillige). D.h., 2.09 z.B. bedeutet, daß das Antigen zweimal so hoch exprimiert wird wie bei normalen B-Zellen. Die Gruppe der leukämischen NHL wurde in der Arbeit nicht näher definiert (7). Methode: 2x10<sup>6</sup> Zellen + 15ul Antikörper, Vollblut-FACS-Lyse.</b>				

MZL und HZLv) (14).

**CD44:** positiv, Haarzellen im peripheren Blut stärker als normale B-Zellen oder Haarzellen des Knochenmarks(15), nach Lucio et al. stärker als auf normalen B-Zellen (Faktor 3.4) (7)

**CD45:** stark positiv

**CD45RA:** wird von durchschnittlich 89%±11 aller Zellen im "Haarzellgate" exprimiert, getestet mit Einfarbenmarkierung bei 36 HZL Patienten, die angeblich durchschnittlich mehr als 80% Haarzellen in dem Scatter-definierten "Haarzellgate" hatten (16). Ohne Zweifel eine lausige Methodik für 1994, ich habe aber keine guten Daten über CD45RA auf Haarzellen gefunden. Eigene Daten (nur bei einem Fall gemessen): 97% der Haarzellen positiv

**CD45RO:** wird von durchschnittlich 15%±15 aller Zellen im "Haarzellgate" exprimiert, getestet bei 32 HZL Patienten (16). Siehe Bemerkung zu CD45RA. Eigene Daten (nur bei einem Fall gemessen): negativ (<1% positive Z.)

**CD49d:** Intensität nur wenig stärker als auf normalen B-Zellen (Faktor 1.12) (7)

**CD54:** Intensität stärker als auf normalen B-Zellen (Faktor 2.6) (7)

**CD58:** Eigene Daten (nur bei einem Fall gemessen): positiv (99% der Haarz.); Intensität:

Zellen im "Haarzellgate" exprimiert, getestet bei 58 HZL Patienten(16). Siehe Bemerkung zu CD45RA.

**CD62L:** Intensität schwächer als auf normalen B-Zellen (Faktor 0.31) (7)

**CDw65:** Eigene Daten (nur bei einem Fall gemessen): negativ

**CD79b:** positiv

**CD95:** soll bei HZL Zellen mäßig stark + sein, soll bei CLL schwach + sein (17). Nach Panayiotidis et al. sind im Mittel 45% der Haarzellen CD95+ (18).

**CD103:** positiv (12) [in 98% der Fälle (5), in 100% der Fälle (3)]. CD103 ist aber natürlich nicht ausschließlich auf Haarzellen positiv, wie gelegentlich behauptet (19). SLVL, manche HZLv, manche T-Lymphome und aktivierte CD8+ T-Zellen wurden ebenfalls als positiv beschrieben. Durch Aktivierung läßt es sich auf B- und T-Lymphozyten induzieren. Außerdem findet sich CD103 auch auf einer kleinen Population normaler B-Zellen (5; 20; 21).

**CD120a:** negativ (22)

**CD120b:** positiv (22)

**CD122:** positiv (auch bei HZLv) (23-25)

**CD154:** Eigene Daten (nur bei einem Fall gemessen): negativ; vgl. CD40L

**FMC7:** positiv [in 91% der Fälle(5)]

**HC2:** positiv [in 87% der Fälle(5)]

**HLADR:** positiv [in 100% der Fälle (5)]

**PCA-1:** (Plasma Cell Associated Marker, früher in B-Zellreifung als PC-1): positiv (9, bzw. Anderson KC, Blood 1985, 65:620-629).

**PC-1:** negativ (9, bzw. Anderson KC, Blood 1985, 65:620-629).

### Typisch?

Die Kombination CD25+, CD11c+ wurde oft als typisch für HZL betrachtet. Dies ist in unserer Erfahrung und der Anderer nur unter Einbeziehung der Intensität der Expression der beiden Antigene gültig. Schwach können sie auf einer Reihe von B-Lymphomen (u.a. CLL) exprimiert werden.

### HZL-Score

Relativ große Serien hat Estella Matutes (5) untersucht und neben der Auflistung der Ergebnisse (siehe Tabelle) versucht, aus den aussagekräftigsten Marker einen HZL-Score zu erstellen um die HZL von anderen niedrig malignen

Tabelle 4			
QUANTITATIVE EXPRESSION VON ANTIGENEN AUF B-ZELLEN BEI HZL UND CLL NACH ROBBINS ET AL.(3).			
Marker	HZL	CLL	Kontrollen
CD19	298 (±135)	80 (+26)	124 (+25)
CD20	1496 (±727)	102 (±79)	594 (±141)
CD22	3648 (±1438)	79 (±43)	640 (±181)
IgM	88 (±88)	48 (±31)	294 (±67)
IgD	352 (±275)	59 (±54)	314 (±80)
k	374 (±211)	54 (±21)	278 (±106)
I	276 (±155)	45 (±15)	230 (±74)
CD11c	3150 (±1273)	109 (±47)	
CD25	355 (±272)	59 (±19)	
Modifiziert nach Robbins et al. (3). Angaben in Mittlere Fluoreszenzintensität (MFI).			

in 3 Dekade (PE-markiert)

**CD33:** Eigene Daten (nur bei einem Fall gemessen): negativ

**CD71:** wird von durchschnittlich 6%±9 aller

B-lymphoproliferativen Erkrankungen, insbesondere solchen mit ähnlicher Zytologie, zu unterscheiden.

Dabei zählten Positivität von CD11c, CD25, HC2 und CD103 jeweils einen Punkt. Somit ergibt sich ein Score von 0-4.

98% aller untersuchten HZL wiesen einen Score von 3 oder 4 auf. Keine HZL hatte einen Score <2. Kein HZLv oder SLVL-Fall hatten einen Score 3 oder 4. Leider hat Matutes laut

keine. Auch wir bestimmen bei HZL keine. Man kann annehmen, daß sie niedrig sein müßte. Nimmt man Ki-67 zur Anfärbung der Zellen kommt man auf unter 1% positive (26). Eine relativ betagte Arbeit beschreibt bei 8 von 10 Patienten mit HZL Veränderungen des DNA Gehaltes der Zellen: bei 2 Fällen vermehrten und bei 6 Fällen hypodiploiden DNA Gehalt (27).

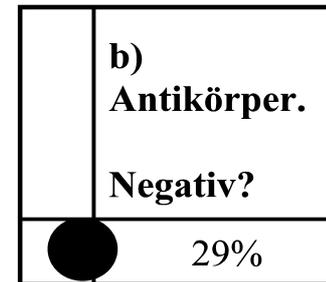
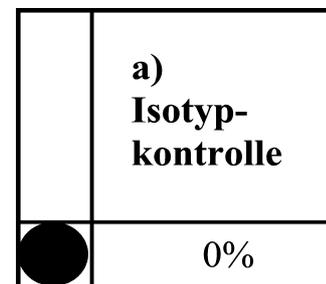
### T-ZELLEN

#### Wann ist eine Zellpopulation „positiv“?

Wie viele andere Autoren verwendet auch Matutes eine starre Grenze um die Positivität oder Negativität eines Antigens auf den Zellen zu bestimmen. Sie verwendet 30%, d.h., wenn 29% der neoplastischen Zellen positiv sind, ist für sie das Antigen auf den Zellen nicht vorhanden. Das ist natürlich völlig von der Sensitivität der Methodik abhängig und nicht ganz einzusehen. Auch wenn nur 10% der Zellen über die Positivschwelle fallen, können alle Zellen das Antigen an der Oberfläche haben.

Andere beachten daher mehr die Verschiebung der Population im Vergleich zur Negativkontrolle als Zeichen, daß ein Antigen exprimiert wird. Dann mögen nur 5% der Zellen über der Isotypschwelle liegen, wenn sich die ganze Population im Vergleich zur Negativkontrolle verschiebt, wird sie dennoch als "positiv" angesehen. Auch diese Methode hat ihre Probleme, da ja eine unterschiedliche unspezifische Bindung des Antikörpers im Vergleich zur Isotypkontrolle auch eine leichte Verschiebung der Population verursachen kann, ohne daß das Antigen wirklich vorhanden ist. Da entscheidet dann oft die subjektive Erfahrung ob das "was ist" oder "noch nichts ist". Dieser Ansatz ist manchen unheimlich und sie bevorzugen daher die 30% oder 20% Regel, die aber in Wirklichkeit genauso zweifelhaft, weil unlogisch und methodenabhängig, ist.

Solange es keine befriedigende Lösung für diese Problematik gibt, und zwar eine verlässliche, einfache Methode zur Quantifizierung der Bindungsstellen, muß man mit dieser Problematik leben. Man sollte sich ihrer aber in jedem Fall bewußt sein.



Methodenteil auch Oberflächenmarkerergebnisse zur Definition und Diagnose der Krankheitsgruppen verwendet (5). Man kann nur hoffen, daß sie dabei wenigstens nicht CD11c, CD103, CD25 und HC2 verwendet hat, dann hätte das ganze keinen Sinn (wenn man zuerst alle Bälle nach der Farbe aufteilt, dann ist es kaum verwunderlich, wenn dann in der einen Gruppe alle rot und in der anderen alle blau sind).

#### DNA-ANALYSE/KI-67

Spärlich waren die Daten zur DNA Analyse bei HZL. Angaben zur S-Phase fand ich überhaupt

Verminderte Helper/Suppressor-Ratio (9). Anteil und absolute Zahl von CD4+CD45RO+ Memory-Zellen bei HZL im peripheren Blut vermindert (41% vs. 57% [der Lymphozyten?] bei Gesunden, absolut: 396 vs. 615/µl) (28; 29) möglicherweise wegen der unzureichenden Antigenpräsentation der Monozyten in HZL (28). Bei B-CLL und ausschwemmenden NHL fanden die Autoren Erhöhungen der CD4+CD45RO Population. Allerdings wurden nur 13 Fälle untersucht (29).

Juliusson findet bei HZL-Patienten vor CDA-Therapie im Vergleich zu Gesunden mehr

CD8+ Lymphozyten (986±2049 vs. 568±255/μl) und etwa idente CD4+ Lymphozyten (924±916 vs. 858±330/μl). CD8+/HLADR+ Lymphozyten waren bei HZL-Patienten höher als bei Gesunden (246±979 vs. 44±33), bei den CD4+ HLA-DR+ Zellen war der Unterschied geringer (111±284 vs. 49±23) (16).

**CDA-Therapie:** Unter CDA-Therapie wurden alle Subgruppen deutlich vermindert, CD8+ und NK-Zellen stärker als CD4+. Relativ nehmen daher die CD4 Zellen zu und die CD4/CD8-Ratio steigt kurzfristig. Die niedrigsten Werte werden etwa 1 Woche nach Therapiebeginn beobachtet (CD8+ 105±125/μl, CD4+ 207±271/μl, NK 15±8/μl). Rückkehr zum Normalbereich/Ausgangswert etwa nach 3 Monaten für CD8+ und NK-Zellen, CD4+ erst nach 1 Jahr (16), nach anderen Quellen erreichen die CD4+ Lymphozyten erst nach über 3 Jahren wieder normale Werte (30). Damit ergibt sich eine Abnahme der CD4/CD8-Ratio in der Normalisierungsphase.

Zu ähnlichen Resultaten kommen Demeter et al. (31): Absolute CD4+ Lymphozytenzahlen sind bei HZL normal, CD8+ erhöht. Die CD4/CD8-Ratio ist dementsprechend erniedrigt, wobei eine niedrige CD4/CD8-Ratio insbesondere bei Patienten mit "aktiver" Erkrankung gefunden wurde, während Patienten mit stabiler, asymptomatischer Erkrankung eine normale CD4/CD8-Ratio aufwiesen.

#### **NK-ZELLEN**

Einigkeit herrscht darüber, daß die Funktion der NK-Zellen bei HZL vermindert ist (32). Juliusson findet bei HZL-Patienten schwankende, aber im Mittel wenig unterschiedliche NK-Zellzahlen im Vergleich zu Gesunden (216±409 vs. 163±86/μl).

#### **KLINISCHE CHARAKTERISTIKA (siehe auch Tabellen 5 u. 6)**

Häufigste Beschwerden Völlegefühl, Gewichtsabnahme, Müdigkeit, Schwäche, blaue Flecken/Blutungen, Infektionsneigung (2).

Splenomegalie: "bei den meisten Patienten"(2),

"fast immer"(33)

Hepatomegalie: 1/3 der Patienten, aber meist nicht klinisch feststellbar

per.Lymphkn.: Meist nicht palpabel (2), in 10% der Fälle (33). Retroperitoneale, abdominale und mediastinale LN oft involviert (34; 35).

Hautläsionen: Selten (36; 37); Pyoderma Gangränosum (38; 39), Sweet-Syndrom (40; 41)

Seltene Befallslokalisationen: Lunge, GI-Trakt, Niere, Pleura, Weichteile, Peritoneum, ZNS (auch im Liquor können Zellen gefunden werden) (2).

Knochen ist selten betroffen, osteolytische Läsionen, Osteoporose, aseptische Femurkopfnissen und diffuse Osteosklerose sind beschrieben (42-45). Lokalisation waren die langen Röhrenknochen, der Schädel oder die Wirbelsäule.

#### **ASSOZIIERTE ERKRANKUNGEN**

a) Infektionen

b) Vaskulitiden und eine Reihe anderer Autoimmunerkrankungen

#### **BLUTBILD (siehe auch Tabellen 5 und 6)**

Meist Panzytopenie

Normochrome, normozytäre Anämie, Hb meist zwischen 7 und 10g/dl;

PLT unter  $80 \times 10^3/\mu\text{l}$ ; Leuko unter  $4 \times 10^3/\mu\text{l}$  (2).

In einer Studie von Robbins et al.(3) lag bei 161 HZL-Fällen die Leukozytenzahl im Mittel bei 1800/μl (von 300-74900).

Monozytopenie in 90% der Fälle, Anämie und Thrombopenie in 80%

Monozytopenie (unter 4%) in 86% der Fälle (46).

In 66% der Fälle mehr als 10% Haarzellen im peripheren Blut; in 9% keine (46), nach Bouroncle in 2% keine (47), nach Robbins (durchflußzytometrisch) in 8% keine (3).

#### **ZELLMORPHOLOGIE(2)**

mittelgroße Zellen (10-15μm, andere sehen sie von 15-30μm groß); blaßblaues Zytoplasma ohne Granula oder Einschlüsse (manche sehen "gelegentlich azurophile Granula", (49)); haarähnliche, zytoplasmatische Ausläufer (rund um die Zelle, nicht nur an einer oder zwei Seiten);

<b>Tabelle 5</b>			
	<b>Golomb (46)</b>	<b>Bouroncle (47)</b>	<b>Flandrin (48)</b>
	71 Patienten	82 Patienten	211 Patienten
<b>Alter</b>	K.A. (22-79)	54.4 (22-76)	52 (23-89)
<b>Männer/Frauen</b>	3.7:1	4.5:1	3,6:1
<b>Splenomegalie</b>	83%	93%	72%
<b>Keine</b>	17%	7%	28%
<b>&lt;4 cm unter RiBo</b>	20% (<5 cm)	K.A.	14%
<b>4-10cm unter RiBo</b>	34% (5-9.9 cm)	K.A.	40%
<b>&gt;10 cm unter RiBo</b>	29%	K.A.	18%
<b>Hepatomegalie</b>	19%	40%	20%
<b>Lymphadenopathie</b>	38%	23%	5%
<b>Keine</b>	62%	77%	95%
<b>&lt;1 cm</b>	14%	K.A.	K.A.
<b>1-2 cm</b>	13%	K.A.	K.A.
<b>2-3 cm</b>	8%	K.A.	K.A.
<b>-3 cm</b>	3%	K.A.	K.A.
<b>Hämoglobin (g/dl)</b>			
<b>&lt;5</b>	7% (<6g/dl)	2%	3%
<b>5-10</b>	32% (6-9g/dl)	45%	39%
<b>10-12</b>	43% (9-11.9g/dl)	37%	28%
<b>&gt; 12</b>	18%	16%	29%
<b>Thrombo (X 109/l)</b>			
<b>&lt;20</b>	7% (<24.9x109/l)	10%	2%
<b>20-50</b>	14% (25-49.9x109/l)	33%	17%
<b>50-100</b>	36%	24%	45%
<b>100-150</b>	25%	13%	22%
<b>&gt; 150</b>	18%	20%	14%
<b>Leuko (x 109/L)</b>			
<b>&lt; 1</b>	0%	5%	1%
<b>1-3</b>	45%	45%	52%
<b>3-10</b>	36%	29%	36%
<b>10-25</b>	7%	17% (10-50X109/L)	11% (>109/L)
<b>&gt;25</b>	2%	4% (>50X109/L)	
<b>Neutrophile (x109/L)</b>			
<b>&lt;0.5</b>	K.A.	K.A.	32%
<b>0.5-1.2</b>	K.A.	K.A.	42%
<b>&gt; 1.2</b>	K.A.	K.A.	26%
<b>Haarzellen (%)</b>			
<b>0</b>	9%	2%	K.A.
<b>1-4</b>	14%	18% (1-10%)	K.A.
<b>5-9</b>	11%		K.A.
<b>10-50</b>	48%	37%	K.A.
<b>&gt;50</b>	18%	43%	K.A.
<b>Monozyten (%)</b>			
<b>0-4</b>	86%	K.A.	K.A.
<b>&gt;4</b>	14%	K.A.	K.A.
<b>K.A.= keine Angabe oder nicht zutreffend</b>			

zentraler (manche sagen exzentrischer, (49))  
ev. ovaler oder leicht eingedellter, ev. nieren-  
förmiger Kern. Chromatin fein, spitzenartig.

Meist 1 selten 2 Nukleoli können laut Chang  
vorhanden sein (2) sind aber unauffällig (49).

#### **KNOCHENMARK**

In den meisten Fällen Fibrose, daher häufig Punctio sicca ("trockene" Punktion, kein Mark, ev. vorwiegend Blut). Knochenmark ist immer befallen (2; 50-52). Befall meist diffus, selten focal. Kein präferentiell paratrabekulärer Befall. Histologisches Bild als bienenwabenartig oder Spiegelei-Muster beschrieben (~ relativ großer

#### SERUM-IMMUNGLOBULINE

Meist normal hoch oder erhöht (in 18-30% (54)). Die polyklonale Erhöhung könnte durch einen von den Haarzellen sezernierten Faktor verursacht sein (55).

Andere Autoren fanden in 30% der Fälle eine Erhöhung von IgG, IgA oder IgM (54), wie-

<b>Tabelle 6</b>					
<b>VERGLEICH VERSCHIEDENER B-LYMPHOPROLIFERATIVER ERKRANKUNGEN MIT SPLENOMEALIE UND MALIGNEN ZELLEN IM PERIPHEREN BLUT. MODIFIZIERT NACH BITTER</b>					
	<b>HZL</b>	<b>HZLv</b>	<b>B-PLL</b>	<b>SLVL</b>	<b>B-CLL</b>
Mittleres Alter	52	69	70	72	60
Männer/Frauen	4:1	2:1	1.6:1	1.9:1**	2:1
Palpable Lymphadenopathie	10%	10%	50%	20%	>80%
Peripheres Blut					
WBC (x10 <sup>9</sup> /L)	5	116	176	17	96
Monozytopenie	Vorhanden	Fehlend	Fehlend	Fehlend	Fehlend
Immunophänotyp					
CD5	-	-	±	-	+
CD10 (CALLA)	-	-	-	±	-
CD11c*	+	+	-	±	-
CD19	+	+	+	+	+
CD25*	+	-	-	-	-
Monoklonales Protein	9%	0%	30%	63%	5%
Milzbefall	Rote Pulpa	Rote Pulpa	Weisse Pulpa	Weisse Pulpa	Weisse Pulpa
			± Rote Pulpa	± Rote Pulpa	± Rote Pulpa
*Anmerkung: wie bei allen diesen Tabellen ist auch bei dieser die Methodik zu berücksichtigen. Unempfindlichere Methoden oder immunhistochemische Verfahren können da andere Ergebnisse liefern als eine moderne, sensitive Durchflußzytometrie. Auch der verwendete Antikörper spielt natürlich eine Rolle. In unserer Erfahrung sind z.B. die meisten B-CLL CD11c positiv und auch CD25 schwach positiv. Auch unsere B-PLL Fälle waren nicht CD11c negativ. Ähnliche Erfahrungen mit CD25 (stark positiv bei HZL, schwächer positiv bei SLVL und CLL) haben auch andere publiziert(13).					

Abstand der Zellkerne). Niedere Mitoserate. Mastzellvermehrungen sind beschrieben, kommen aber auch bei anderen chronischen B-lymphoproliferativen Erkrankungen vor (53). Retikulin vermehrt, Kollagen nicht. Im Ausstrich Diagnose oft schwierig, viele Haarzellen zerstört, nackte Kerne bleiben übrig.

derum andere fanden IgG, IgA und IgE im Vergleich zur Kontrollgruppe (im Mittel) erhöht, IgM und IgD jedoch nicht unterschiedlich (56). Dieselben Autoren fanden bei keinem ihrer 50 HZL-Fälle eine Erniedrigung von IgG, IgA oder IgM.

Paraproteine: Einzelfälle mit M-Gradient (1-3% der Fälle, meist IgM) (33), wobei nicht sicher

ist, ob der M-Gradient in diesen Fällen auch von den Haarzellen kommt (9)

Mit empfindlicheren Methoden fanden Hansen et al. in 16% der HZL Fälle monoklonales Serumimmunglobulin, in 84% war dieses IgG (54). Die Autoren fanden aber nur in 47% dieser Fälle eine mit den HZL-Zellen übereinstimmende Leichtkette (Anmerkung: bei nur 2 Möglichkeiten, also einer 50% Zufallstrefferquote!). Sie kommen daher auch zum Schluß, daß das monoklonale Ig wahrscheinlich oft nicht von den Haarzellen kommt. Koexistierende Lymphome bzw. die Prävalenz einer monoklonalen Gammopathie in der HZL Altersgruppe werden als Erklärung für die monoklonalen Ig angeboten.

### **SERUM sCD25**

Der lösliche p55 IL2-Rezeptor (CD25) im Serum kann als diagnostischer und Verlaufsparemeter der HZL verwendet werden. Quelle des Rezeptors sind erwartungsgemäß die leukämischen B-Zellen (57). Serum-sCD25 ist bei Diagnosestellung stark erhöht und reagiert parallel zum klinischen Ansprechen der Patienten auf die Therapie (58-61). Interessanterweise ging sCD25 auch bei scheinbaren Komplettremissionen nicht auf Normalwerte zurück (59; 60). Lauria et al. hingegen berichten, daß die Patienten, die nicht auf Normalwerte zurückgingen, auch im Knochenmark eine Residualerkrankung aufwiesen (62). Diese Untersucher finden daher sIL2-R auch für die Detektion der Minimal Residual Disease geeignet. Ähnliche Resultate erhielten sie auch für Serum TNF-alpha (58).

### **HISTOLOGIE MILZ/LEBER**

Milz: Im Gegensatz zu den meisten anderen Lymphomen ist bei HZL die rote Pulpa betroffen.

Leber: Periportale Felder und Sinus meist betroffen.

### **TRAP-FÄRBUNG**

Allgemein wird die Anfärbung der Haarzellen mit Saurer Phosphatase (Acid Phosphatase, AP), die auch durch Tartrat nicht gehemmt werden kann (Tartrate-resistant, TR) als charakteristisch für Haarzellen angesehen. Diese Aussage muß aber differenziert werden.

### **Leitsätze zur TRAP-Färbung nach Chang (2):**

1. Neutrophile Granulozyten und Thrombozyten können als interne Kontrolle verwendet werden: sie sind positiv für saure Phosphatase, ihre Färbung wird aber durch Tartrat gehemmt. Auch Monozyten und Lymphozyten können saure Phosphatase positiv sein (63)

2. Die TRAP-Färbung von Haarzellen sollte diffus (soll wahrscheinlich heißen: über das ganze Zytoplasma verteilt) zytoplasmatisch und stark sein (mit und ohne Tartrat-Hemmung).

3. Die TRAP-positiven Zellen sollten auch der Morphologie nach einer Haarzelle entsprechen.

4. Legt man die beiden letzten Kriterien an, sind 2 derartige Zellen als diagnostisch für HZL anzusehen.

5. In 99% aller HZL-Fälle findet man TRAP stark-positive Haarzellen im peripheren Blut.

6. Auch andere Zellen sind TRAP positiv: Prolymphozyten, CLL-Zellen, Sezary-Zellen, Lymphozyten bei infektiöser Mononukleose (2). Diese Zellen sind aber schwächer positiv und meist lokalisiert, meist paranukleär in der Golgi-Zone. Darüberhinaus wurden auch Histiozyten, reaktive Osteoklasten und Mastzellen als TRAP-positiv beschrieben.

Dies wird unterstützt durch Mover et al. (64) die TRAP+ Zellen im normalen Knochenmark beschrieben.

7. Häufigste Fehlerquellen: keine oder zu wenige pathologische Zellen im Präparat, Fehler in der Färbe- oder Präparationstechnik.

8. Eine negative TRAP-Färbung schließt eine HZL nicht vollständig aus.

Huber et al. (33):

TRAP meist nur in einem Teil der Tumorzellen nachweisbar, auch positiv bei PLL, Immunozytom und T-CLL.

Bucher (65) sieht die TRAP-Färbung etwas anders:

Zellen werden in 3 Kategorien eingeteilt: +++: große, grobe, klumpige Granula; ++: mehr als

40 Granula/Zelle; schwach +: 1 bis 40 Granula / Zelle. Verdacht auf HZL sieht er, wenn mehr als 2% der MNC ++ oder +++ sind.

#### **ALKALISCHE LEUKOZYTENPHOSPHATASE**

Aiba et al. fanden die Alkalische Leukozytenphosphatase in 17 von 23 (74%) Patienten erhöht, in 6 (26%) normal und in keinem Fall erniedrigt. Der Mittelwert lag bei 166.

#### **ZYTOGENETIK**

Bis jetzt keine konstanten, diagnostisch verwertbaren Veränderungen beschrieben (2).

#### **MOLEKULARBIOLOGIE**

Leichtketten und Schwerketten Rearrangement nachweisbar (11).

### **VARIANTEN(9)**

#### **a) HZLv, Prolymphozytoide Variante:**

"deutlicher Nukleolus, dichtes/gröberes Chromatin"

Zwischenstellung zwischen HZL und Prolymphozytenleukämie

Ähnlichkeiten: Haarähnliche Zytoplasmaausläufer, große Milz (Befall der roten Pulpa), geringer Lymphknotenbefall, TRAP kann + sein

Unterschiede: Hohe Leukozytenzahlen, keine Neutro- oder Monozytopenie. Kern eher zentral liegend, Chromatin dichter, prominente Nukleoli, Kern/Plasma-Ratio höher, Zytoplasma etwas basophiler. TRAP nur an einem Pol der Zelle +. Keine Markfibrose. CD25 negativ [in 100% der Fälle (5)], CD103 in 53% negativ, selten CD5+ (5).

#### **b) Blastische Variante (66)**

"deutlicher Nukleolus, feines Chromatin"

Ähnlichkeiten: Zytoplasmaprojektionen, TRAP+, Milzbefall der roten Pulpa.

Unterschiede: prominente Lymphadenopathie, deutliche Nukleoli, zytoplasmatische Granula

#### **c) Japanische Variante**

Wenig Ähnlichkeiten, viele Unterschiede. Ich möchte mir eine Beschreibung ersparen und in diesem Fall auf die Spezialliteratur verweisen.

### **DIFFERENTIALDIAGNOSE:**

#### **Splenic Lymphoma with villous lymphocytes (SLVL):**

Diese Entität dürfte mit dem Splenic Marginal Zone Lymphoma überlappen und wird nach REAL dieser provisorischen Gruppe zugeordnet (11).

Ähnlichkeiten: mononukleäre Zellen im peripheren Blut mit haarähnlichen oder zottenartigen Zytoplasmaausläufern; vorwiegend Milz betroffen bei geringer oder fehlender Lymphadenopathie. Zytopenien können vorkommen.

Unterschiede: Durchschnittsalter höher (70a), leichte Knochenmarksaspiration, geringere Markinfiltration der neoplastischen Zellen, häufigeres Vorkommen einer monoklonalen Gammopathie (63%), vorwiegend weiße Pulpa der Milz betroffen.

Zellmorphologie: Zellen kleiner, höhere Kern/Plasma-Ratio, dichteres Chromatin, deutlichere Nukleolen, Zytoplasma basophiler, cytoplasmatische Ausläufer nur an einem oder zwei Polen der Zelle, TRAP negativ; manche Fälle als TRAP+ beschrieben (Übergangsformen? Fehl-diagnosen?). CD25 meist negativ (zu 75% nach Matutes(5), schwächer positiv als bei HZL nach Cheson (13)). CD103 in 85% der Fälle negativ, anders betrachtet in 15% der Fälle positiv [58].

Monozytopenie nicht typisch.

#### **HZLv**

siehe Varianten

#### **CLL (67)**

Ähnlichkeiten: Ev. Knochenmarkshistologie, das diffuse Muster der CLL (2). Manchmal haarige Ausläufer der CLL-Zellen im peripheren Blut.

Unterschiede: Kerne sind einander bei CLL viel näher (Histo), Chromatin ist gröber, TRAP negativ oder (nach anderen Quellen) schwächer, CD5+, CD11c negativ. Anmerkung: in unserer Erfahrung CD11c schwächer aber nicht negativ auch CD25 kann oft schwach positiv werden. Monozytopenie nicht typisch.

*Die nachfolgenden Erkrankungen sind teilwei-*

se nur aus der Sicht der Histologie mit der HZL verwechselbar und daher etwas oberflächlich behandelt. Näheres unter (67):

### **PLL (67)**

Ähnlichkeiten: Knochenmarkshistologie, Splenomegalie, ev. fehlende Lymphadenopathie  
Unterschiede: PLL hat viel heterogenere Zellen und große, zentrale Nukleoli, höheren WBC CD103-, CD25-,...

**Small Cleaved Cell Lymphoma (67)**(nach REAL am ehesten zum Mantelzellymphom zu zählen)

Unterschiede: eher fokal, paratrabekulär. Dichteres Chromatin, stärker gekerbte Kerne, weniger Zytoplasma, Zellen oft übereinander liegend.

### **Systemische Mastzellerkrankung (67)**

Ähnlichkeiten: viel Zytoplasma, ovoide Kerne, TRAP+, ev. Splenomegalie

Unterschiede: Mastzellen (bei systemischer Mastzellerkrankung) formen fokale Aggregate oder Knoten nahe den Trabekeln, oft durchmischt von anderen Zellen. Meist keine Panzytopenie oder Monozytopenie (10).

### **Chronische T-Zellymphozytosen mit Neutropenie:**

Erspare ich Ihnen, da uns das durchflußzytometrisch sicher selten Schwierigkeiten bei der Differentialdiagnose der HZL machen wird.

### **Marginalzonen B-Zellymphom / Monozytoides B-Zellymphom**

Ähnlichkeiten sollen manchmal in Gewebsschnitten bestehen (2).

Unterschiede: höheres mittleres Alter (66a), mehr Frauen als Männer, meist keine Splenomegalie oder Knochenmarksbeteiligung (nur in 30% (10). Wenn Knochenmark befallen, vorwiegend fokal, paratrabekulär; keine Fibrose. CD25 negativ.

## **INTERESSANTES & KURIOSES**

### **Aus CLL-Zellen wurden HZL-Zellen**

In vitro konnten B-CLL und Immunozytomzel-

len Zellen mittels Phorbolsterstimulation in Zellen verwandelt werden die morphologische und andere Eigenschaften (ein Haarzellmarker positiv, TRAP positiv) von Haarzellen annahmen (69; 70).

### **Haarzellbruchstücke erhöhen Thrombozytenzählwert**

Ballard et al. berichteten 1981 von einem HZL-Fall, bei dem durch Zytoplasmafragmente der Haarzellen ein falsch hoher automatischer Thrombozytenzählwert verursacht wurde (71).

### **RDW als Verlaufparameter**

Auch die Erythrozytenverteilungsbreite (RDW, ~ Anisozytose) soll ein Marker für die Krankheitsaktivität bei HZL sein (72): Erhöhtes RDW ist mit aktiver HZL assoziiert und normalisiert sich bei erfolgreicher Therapie. *Anm.: An der Spezifität des Parameters muß man wohl etwas zweifeln.*

### **IL2-R auf HZLv**

Zellen der HZLv exprimieren zwar meist kein CD25 (=IL2Rezeptor alpha-Kette), sollen aber die beta-Kette des Rezeptors exprimieren (CD122). Die klassische HZL exprimiert alpha und beta-Kette des Rezeptors (23-25).

### **Autoantikörper bei HZL**

Bei der Untersuchung auf verschiedene Autoantikörper in den Seren von 24 HZL-Patienten fanden sich in 6 Fällen positive Rheumafaktoren, in 5 antinukleäre und in 3 antizytoplasmatische Antikörper. Keiner der Patienten hatte klinische Symptome einer Autoimmunerkrankung (73).

### **Blut-Progenitorzellen bei HZL vermindert**

Im peripheren Blut von HZL Patienten wurde schon 1986 eine Verminderung der Anzahl von Progenitorzellen im Vergleich zu Normalpersonen oder auch CLL Patienten gefunden (74).

### **Welche Leichtkette ist günstiger?**

Immer wieder wurde versucht, prognostische Information aus dem Phänotyp zu gewinnen und eigenartigerweise fanden manche Autoren einen Zusammenhang mit der Leichtkette. So fand Golomb eine geringere Infektionsrate (p=0.005) und eine bessere Prognose (p<0.03) für HZL mit Lambda-Leichtkettenrestriktion

(75), andere fanden ein signifikant längeres Überleben bei HZL mit Kappa-Leichtketten ( $p < 0.002$ ) (76).

### Übergangsformen CLL/HZL?

Manche Autoren beschreiben Übergangsformen zwischen CLL und HZL. Hanson et al. z.B., berichten von 14 Fällen mit CLL-artiger Morphologie, Lymphozytose und starker CD11c Expression (77). 11 Patienten hatten Splenomegalie und nur einer hatte eine generalisierte Lymphadenopathie. TRAP war immer negativ, keine Markfibrose. CD5 wurde in 7 Fällen exprimiert der Lymphocyte Homing Rezeptor (Leu-8, CD62L, L-Selectin) nur in einem (77).

*Anmerkung: im Wesentlichen liegt die HZL-Ähnlichkeit also in der starken CD11c Expression und in der geringen Lymphadenopathie bei Splenomegalie. Eine etwas stärkere CD11c Expression finden wir nicht selten, auch bei CLL. Wahrscheinlich besitzt erst eine außerordentlich hohe CD11c Expression eine hohe*



*Spezifität für HZL-Zellen. Ob man also diese Fälle als Übergangsformen sieht, ist diskutierbar. Interessanter erscheint mir die Überlegung, daß der Phänotyp CD11c+ eventuell das klinische Erscheinungsbild mitprägt, wie von den Autoren vermutet wird (77).*

Ähnlich liegt der Fall bei von Aljurf et al. beschriebenen CD5positive Leukämien mit schwachen bis mittelstarken Oberflächenimmunglobulinen, Lymphozytosen, keine Granulozyto- oder Monozytopenie. Auf die Idee, daß es eine Übergangsform und keine CLL sein könnte bringen sie die Zytologie (mehr Zytoplasma, Villi), die Splenomegalie bei geringer Lymphadenopathie und die Positivität für

CD11c und CD22 (78). *Auch hier erscheint mir die Frage, ob der Phänotyp die Klinik bestimmt oder das Ansprechen auf eine bestimmte Therapie anzeigt, interessanter als die Frage in welche Kategorie man die Erkrankung zwingt.*

Interessant erscheint in diesem Zusammenhang auch eine Arbeit von Wormsley et al., die 1990 vierzehn Fälle von chronischen B-Zelleukämien mit CD5 und CD11c Expression beschrieben. Sie fanden, daß diese Leukämien sich morphologisch und klinisch eher wie eine CLL oder PLL verhielten als wie eine HZL. Im Vergleich zur „normalen“ CLL waren bei den CD5+/CD11c+ Fällen die Zellen größer und hatten eine niedrigere Kern/Plasma-Ratio (79).

### Cholesterin korreliert mit Milzgröße

Cholesterin kann bei HZL wie bei vielen anderen malignen Erkrankungen vermindert sein. Bei Patienten mit HZL fand sich eine negative Korrelation zwischen der Serumcholesterinkonzentration und der Milzgröße (d.h. je größer die Milz, desto niedriger das Cholesterin)(80). Es wurde keine Korrelation zur Gesamtumorbelastung gefunden (80).

Andere beurteilten die Hypcholesterinämie bei HZL als Marker für die Proliferationsaktivität der Erkrankung (81).

### TdT bei HZL

Hsu et al. publizierten 1983 eine Studie in der sie in 4 von 5 HZL Fällen intranukleär TdT nachweisen konnten (82). *(In unserem Krankengut nur ein Fall: immunzytologisch TdT negativ. Vielleicht hat jemand von Ihnen damit mehr Erfahrung)*

### T-gamma Zellen bei HZL

Lauria et al. beschrieben 1982 eine Erhöhung der T-gamma Zellen bei HZL besonders bei splenektomierten Patienten ( $31 \pm 15\%$  vs.  $16 \pm 6\%$  bei normalen Kontrollen). Wie er die T-gamma Zellen definiert/detektiert, ist nicht ersichtlich. Wenn ich noch dazu komme, dies in der Bibliothek nachzulesen, werden Sie diesen Satz nicht mehr zu lesen bekommen.

## FLOW-DIFFERENTIALDIAGNOSE?

Die nachfolgende Graphik fand einer meiner Kollegen im Internet.

"So einfach ist die Durchflußzytometrie", meinte er und fragte, warum ich immer so lang' damit herumtue?

Ich brauche Ihnen nicht zu erklären, daß es nicht so einfach ist. Allgemein gelingt es kaum, medizinisch-diagnostische Abläufe mit denen aus der Informatik so beliebten Flußdiagrammen oder Struktogrammen eindeutig darzustellen. Gründe dafür gibt es viele. Das Diagramm ist daher als Orientierung interessant, aber es wäre fahrlässig, es einzusetzen.

Ich muß an dieser Stelle einmal mehr Thomas Nebe aus Mannheim lobend erwähnen, der im Internet schon mehrmals wildgewordene Flower, die darüber stritten, ob ein bestimmtes Lymphom jetzt CDXX positiv sein dürfe oder nicht, daran erinnert hat, daß dies ohne Einbeziehung der Morphologie und anderer Befunde unsinnig sei (wenn er es auch höflicher ausgedrückt hat).

Daher sind in diesem Artikel statt Flußdiagrammen mehrere Tabellen und Daten, die Sie die Wahrscheinlichkeit von Befunden bei HZL und ihren Differentialdiagnosen einschätzen lassen.

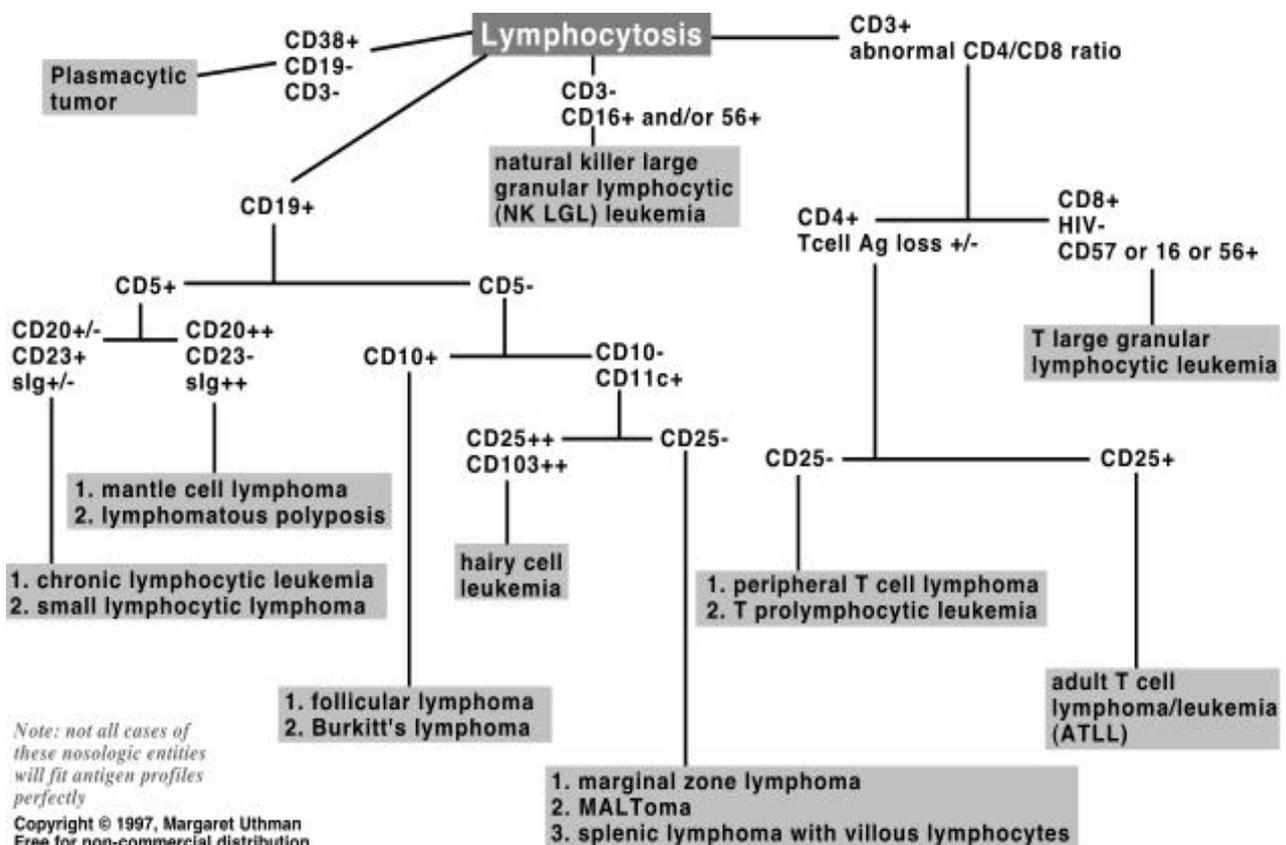
Nur das Gesamtbild aus Immunphänotyp, Klinik, Morphologie und was sonst noch notwendig sein sollte, kann die Diagnose absichern.

## HZL-Zellen im normalen Blut?

Sie finden vielleicht manchmal eine Subpopulation von B-Zellen die auf Haarzellen verdächtig ist, sie ist aber klein und die B-Zellen erscheinen nicht monoklonal (vielleicht aber nur deswegen, weil die Population zu klein ist und nicht hervorsteht).

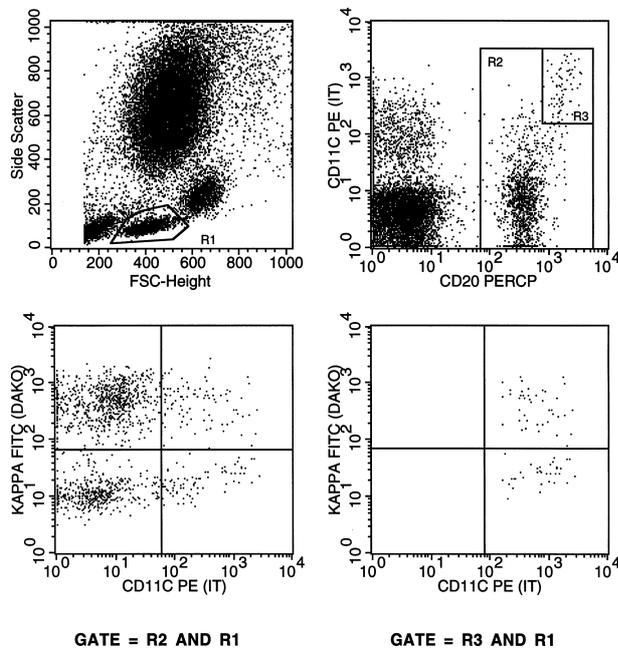
Dieser Verdacht könnte auftreten, wenn die Population CD11c stark positiv ist (und CD20 stärker; sehen wir relativ oft; siehe obige Abbildung), oder wenn sie CD103 positiv ist (sehen wir auch gelegentlich) oder vielleicht CD25 positiv.

Man wird zuerst sicher überprüfen ob man andere HZL-typische Veränderungen hat (also Zellen die CD11c+++ und CD25+ und CD103+ und auch noch CD20+++ sind). Das sollte aus dem Routinepanel beurteilbar sein. Danach kann man Zusatzmarkierungen durchführen, um die Monoklonalität dieser Subpopulation zu beurteilen. Z.B. Kappa/CD11c/CD20 und Lambda/CD11c/CD20, große Zellzahlen sammeln (Warum nicht 500000 Zellen, ev.



Live-Gaten wenn Ihr Mac Ihnen beim Bearbeiten von 500000 Zellen-Files nur mehr die Welt zeigt). In diesem Zusammenhang möchte ich die 4-Farb-Analyse allen empfehlen. Sie ist nicht schwierig und kann sehr helfen.

Wir finden in derartigen Fällen meistens polyklonale Zellen. Allgemein scheint fast jeder abnorme Phänotyp maligner Zellen auch bei



**CD20/CD11c stark positive B-Lymphozyten im Blut eines Patienten ohne B-lymphoproliferative Erkrankung (rechts oben). Mit Anti-Kappa-FITC markiert erscheinen diese Zellen polyklonal (untere Dot-Plots).**

nicht-malignen Zellen auftreten zu können. Dabei sollte man erwähnen, daß einige Untersucher schon vor Jahren das Vorhandensein von geringen Mengen von „normalen“ Haarzelläquivalenten im peripheren Blut beschrieben haben (83; 84).

Anmerkung: Achtung auf das Carryover! Kleine abnorme Zellpopulationen können, gerade wenn man viele Zellen zählt, durch die Probenverschleppung auftreten. Überprüfen sie also, ob die unerwartete Zellpopulation im Röhrchen X der Hauptpopulation des Röhrchens X-1 (das Röhrchen, das vor Röhrchen X lief) entspricht. Nach unseren Erfahrungen ist die Verschleppung meist im Röhrchen und nicht in der Ansaugnadel, es hat also keinen Sinn Röhrchen X noch einmal laufen zu lassen. Die verschleppten Zellen sind ja noch drinnen. Die

Verschleppung selbst kann durch die Probenaufbereitung entstehen, aber auch die Geräte, ob Calibur oder XL, tragen gar nicht so wenig dazu bei. Es macht Sinn, schon bei der Planung des Antikörperpanels und beim Bestücken des Samplers mit Carryover zu rechnen. Beispiel: suchen wir bei einem Myelom Plasmazellen, läuft natürlich zuerst das Blut und dann das Mark. Macht man es umgekehrt, kann man den Blutwert gleich vergessen.

### Decken Sie Fehler auf

Ich würde mich freuen, wenn in diesem Artikel irgendetwas Nützliches für Sie enthalten war und möchte sie gleichzeitig um Ergänzungen, Aufdeckung von Fehlern oder andere Vorschläge bitten. Alles ist willkommen. Am willkommensten wäre natürlich, wenn Sie sich durch den Artikel inspiriert fühlten, auch eine kleine, praxisbezogene Flow-Review über ein klinisches oder technisches Thema zu schreiben.

### LITERATURVERZEICHNIS

1. Bouroncle, B. A., Wiseman, B. K., and Doan, C. A. Leukemic reticuloendotheliosis. *Blood* 13, 609-629. 1958.
2. Chang KL, Stroup R, Weiss LM. Hairy cell leukemia. Current status. *Am.J Clin. Pathol.* 1992;97:719-738.
3. Robbins BA, Ellison DJ, Spinosa JC, et al. Diagnostic application of two-color flow cytometry in 161 cases of hairy cell leukemia. *Blood* 1993;82:1277-1287.
4. DiGiuseppe JA, Borowitz MJ. Clinical utility of flow cytometry in the chronic lymphoid leukemias. *Semin.Oncol.* 1998;25:6-10.
5. Matutes E, Morilla R, Owusu-Ankomah K, Houliham A, Meeus P, Catovsky D. The immunophenotype of hairy cell leukemia (HCL). Proposal for a scoring system to distinguish HCL from B-cell disorders with hairy or villous lymphocytes. *Leuk. Lymphoma.* 1994;14 Suppl 1:57-61:57-61.
6. De PG, Manara GC, Ferrari C, Torresani C, Sansoni P. Hairy cell leukemia cells express CD1a antigen. *Cancer* 1988;61:52-57.
7. Lucio PJ, Faria MT, Pinto AM, et al. Expression of adhesion molecules in chronic

- B-cell lymphoproliferative disorders. *Haematologica* 1998;83:104-111.
8. Ginaldi L, De MM, Matutes E, Farahat N, Morilla R, Catovsky D. Levels of expression of CD19 and CD20 in chronic B cell leukaemias. *J Clin.Pathol.* 1998;51:364-369.
  9. Bitter, M. A. Hairy cell leukemia. Knowles, D. M. *Neoplastic Hematopathology.* 1992. (Williams&Wilkins, Baltimore, MD)
  10. Brunning, R. D. and McKenna, R. W. Small lymphocytic leukemias and related disorders. Brunning, R. D. and McKenna, R. W. *Tumors of the bone marrow.* 255-322. 1994. Washington, D.C., Armed forces institute of pathology. Atlas of Tumor Pathology.
  11. Harris NL, Jaffe ES, Stein H, et al. A revised European-American classification of lymphoid neoplasms: a proposal from the International Lymphoma Study Group [see comments]. *Blood* 1994;84:1361-1392.
  12. Ludwig, W. D., Komischke, B., Böttcher, S., and Martin, M. Immunphänotypisierung akuter Leukämien und leukämisch verlaufender niedrig maligner Non-Hodgkin Lymphome. Schmitz, G. and Rothe, G. *Durchflußzytometrie in der klinischen Zelldiagnostik.* 77-104. 1994. Stuttgart, Schattauer.
  13. Cheson BD. Chronic lymphocytic leukemia and hairy-cell leukemia. *Curr.Opin.Oncol.* 1991;3:54-62.
  14. Kamihira S, Yamada Y, Hirakata Y, et al. Quantitative characterization and potential function of membrane Fas/APO-1 (CD95) receptors on leukaemic cells from chronic B and T lymphoid leukaemias. *Cancer Res.* 1997;57:4940-4947.
  15. Rutella S, Sica S, Etuk B, et al. Flow cytometric detection of CD44 (H-CAM) in hairy cell leukemia. *Leuk.Lymphoma.* 1996;21:497-500.
  16. Juliusson G, Lenkei R, Liliemark J. Flow cytometry of blood and bone marrow cells from patients with hairy cell leukemia: phenotype of hairy cells and lymphocyte subsets after treatment with 2-chlorodeoxyadenosine. *Blood* 1994;83:3672-3681.
  17. Kamihira S, Yamada Y, Hirakata Y, et al. Quantitative characterization and potential function of membrane Fas/APO-1 (CD95) receptors on leukaemic cells from chronic B and T lymphoid leukaemias.
  18. Panayiotidis P, Ganeshaguru K, Foroni L, Hoffbrand AV. Expression and function of the FAS antigen in B chronic lymphocytic leukemia and hairy cell leukemia. *Leukemia* 1995;9:1227-1232.
  19. Airo P, Rossi G, Facchetti F, et al. Monoclonal expansion of large granular lymphocytes with a CD4+ CD8dim+/- phenotype associated with hairy cell leukemia. *Haematologica* 1995;80:146-149.
  20. Mulligan SP, Travade P, Matutes E, et al. B-ly-7, a monoclonal antibody reactive with hairy cell leukemia, also defines an activation antigen on normal CD8+ T cells [see comments]. *Blood* 1990;76:959-964.
  21. Foon KA. Chronic lymphoid leukemias: recent advances in biology and therapy. *Stem.Cells (Dayt.)* 1995;13:1-21.
  22. Trentin L, Zambello R, Agostini C, et al. Expression and functional role of tumor necrosis factor receptors on leukemic cells from patients with type B chronic lymphoproliferative disorders. *Blood* 1993;81:752-758.
  23. de TD, Tazzari PL, Lauria F, et al. Phenotypic analysis of hairy cell leukemia: "variant" cases express the interleukin-2 receptor beta chain, but not the alpha chain (CD25). *Blood* 1993;82:528-535.
  24. de TD, Carbone A, Tazzari PL, et al. Expression of the IL2 receptor alpha, beta and gamma chains in hairy cell leukemia. *Leuk.Lymphoma.* 1994;14 Suppl 1:27-32:27-32.
  25. Trentin L, Zambello R, Benati C, et al. Expression and functional role of the p75 interleukin 2 receptor chain on leukemic hairy cells. *Cancer Res.* 1992;52:5223-5228.
  26. Malashenko OS, Samoilova RS, Bulycheva TI. [Evaluation of the proliferation and line of lymphoid cells in various lymphoproliferative diseases using a double immunocytochemical method]. *Gematol.Transfuziol.* 1994;39:3-7.
  27. Arrenbrecht S, Heider S. DNA-abnormality in hairy cell leukemia. *Hematol.Oncol.* 1987;5:1-7.
  28. van dC, Falkenburg JH, Kluin-Nelemans JC. T-cell dysfunction in hairy cell leukemia: an updated review. *Leuk.Lymphoma.* 1998;30:31-39.
  29. van der Horst FA, van dM, den OG, Kluin-Nelemans HC. Decrease of memory T helper cells (CD4+ CD45RO+) in hairy cell leukemia. *Leukemia* 1993;7:46-50.
  30. Seymour JF, Kurzrock R, Freireich EJ,

- Estey EH. 2-chlorodeoxyadenosine induces durable remissions and prolonged suppression of CD4+ lymphocyte counts in patients with hairy cell leukemia. *Blood* 1994;83:2906-2911.
31. Demeter J, Mihalik R, Benczur M, Lehoczy D, Paloczi K. Characterization of T lymphocyte subsets in hairy cell leukemia: influence of splenectomy and correlations with the clinical stage of the disease. *Haematologia.(Budap.)* 1991;24:91-99.
  32. Smith BR, Rosenthal DS, Ault KA. Natural killer lymphocytes in hairy cell leukemia: presence of phenotypically identifiable cells with defective functional activity. *Exp.Hematol.* 1985;13:189-193.
  33. Huber, H., Löffler, H, and Pastner, D. Haarzelleukämie in Non-Hodgkin Lymphome. Huber, H., Löffler, H, and Pastner, D. *Diagnostische Hämatologie.* 465-470. 1992. Berlin, Springer.
  34. Budman, D. R., Koziner, B., and Arlin, Z. Massive lymphadenopathy mimicking lymphoma in leukemic reticuloendotheliosis. *Am.J Med.* 66, 160-162. 1979.
  35. Malik ST, Amess J, D'Ardenne AJ, Lister TA. Hairy cell leukemia--mediastinal involvement. A report of two cases and review of the literature. *Hematol.Oncol.* 1989;7:303-306.
  36. Lawrence DM, Sun NC, Mena R, Moss R. Cutaneous lesions in hairy-cell leukemia. Case report and review of the literature. *Arch.Dermatol.* 1983;119:322-325.
  37. Arai E, Ikeda S, Itoh S, Katayama I. Specific skin lesions as the presenting symptom of hairy cell leukemia. *Am.J Clin. Pathol.* 1988;90:459-464.
  38. Cartwright PH, Rowell NR. Hairy-cell leukaemia presenting with pyoderma gangrenosum. *Clin.Exp.Dermatol.* 1987;12:451-452.
  39. Kaplan RP, Newman G, Saperia D. Pyoderma gangrenosum and hairy cell leukemia. *J Dermatol.Surg.Oncol.* 1987;13:1029-1031.
  40. Lomuto M, Carotenuto M, Amini M. [Sweet's syndrome and hemopoietic dysplasia]. *G.Ital.Dermatol.Venereol.* 1987;122:131-134.
  41. Fischer G, Commens C, Bradstock K. Sweet's syndrome in hairy cell leukemia. *J Am.Acad.Dermatol.* 1989;21:573-574.
  42. Quesada JR, Keating MJ, Libshitz HI, Llamas L. Bone involvement in hairy cell leukemia. *Am.J Med.* 1983;74:228-231.
  43. Grosbois B, Derennes V, Chales G, et al. [Multiple bone localizations in hair cell leukemia. Efficacy of treatment with alpha 2 interferon]. *Nouv.Rev.Fr.Hematol.* 1986;28:377-379.
  44. Peterson C, Kaplan PA, Lorenzen KM. Case report 410: Hairy cell leukemia infiltrating the femora. *Skeletal.Radiol.* 1987;16:82-86.
  45. VanderMolen LA, Urba WJ, Longo DL, Lawrence J, Gralnick H, Steis RG. Diffuse osteosclerosis in hairy cell leukemia. *Blood* 1989;74:2066-2069.
  46. Golomb HM, Catovsky D, Golde DW. Hairy cell leukemia: a clinical review based on 71 cases. *Ann.Intern.Med.* 1978;89:677-683.
  47. Bouroncle BA. Leukemic reticuloendotheliosis (hairy cell leukemia). *Blood* 1979;53:412-436.
  48. Flandrin G, Sigaux F, Sebahoun G, Bouffette P. Hairy cell leukemia: clinical presentation and follow-up of 211 patients. *Semin.Oncol.* 1984;11:458-471.
  49. Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT, et al. Proposals for the classification of chronic (mature) B and T lymphoid leukaemias. French-American-British (FAB) Cooperative Group. *J Clin.Pathol.* 1989;42:567-584.
  50. Vykoupil KF, Thiele J, Georgii A. Hairy cell leukemia. Bone marrow findings in 24 patients. *Virchows Arch.A.Pathol.Anat. Histol.* 1976;370:273-289.
  51. Bartl R, Frisch B, Hill W, Burkhardt R, Sommerfeld W, Sund M. Bone marrow histology in hairy cell leukemia. Identification of subtypes and their prognostic significance. *Am.J Clin.Pathol.* 1983;79:531-545.
  52. Katayama I. Bone marrow in hairy cell leukemia. *Hematol.Oncol.Clin.North Am.* 1988;2:585-602.
  53. Macon WR, Kinney MC, Glick AD, Collins RD. Marrow mast cell hyperplasia in hairy cell leukemia. *Mod.Pathol.* 1993;6:695-698.
  54. Hansen DA, Robbins BA, Bylund DJ, Piro LD, Saven A, Ellison DJ. Identification of monoclonal immunoglobulins and quantitative immunoglobulin abnormalities in hairy cell leukemia and chronic lymphocy-

- tic leukemia. *Am.J Clin.Pathol.* 1994;102:580-585.
55. Nakamura Y, Machii T, Tokumine Y, et al. Hairy cells from hairy cell leukemia patients presenting with pronounced polyclonal hypergammaglobulinemia secrete a factor enhancing IgG synthesis. *Clin. Immunol.Immunopathol.* 1993;66:212-218.
  56. Wiedermann D, Wiedermann B, Chrobak L, Indrak K, Cechacek Z. Immunoglobulin profiles and blood variables in 50 patients with hairy cell leukemia. Effects of splenectomy. *Neoplasma.* 1984;31:191-196.
  57. Semenzato G, Trentin L, Zambello R, et al. Origin of the soluble interleukin-2 receptor in the serum of patients with hairy cell leukemia. *Leukemia* 1988;2:788-792.
  58. Lauria F, Raspadori D, Benfenati D, Rondelli D, Pallotti A, Tura S. Biological markers and minimal residual disease in hairy cell leukemia. *Leukemia* 1992;6 Suppl 4:149-51:149-151.
  59. Chrobak L, Podzimek K, Pliskova L, et al. Serum soluble IL-2 receptor as a reliable and noninvasive marker of disease activity in patients with hairy cell leukemia. *Neoplasma.* 1996;43:321-325.
  60. Ambrosetti A, Nadali G, Vinante F, et al. Soluble interleukin-2 receptor in hairy-cell leukemia: a reliable marker of disease. *Int.J Clin.Lab.Res.* 1993;23:34-37.
  61. Steis RG, Marcon L, Clark J, et al. Serum soluble IL-2 receptor as a tumor marker in patients with hairy cell leukemia. *Blood* 1988;71:1304-1309.
  62. Reeves JE, Robbins BA, Pankey LR, Elias AL, Anderson WF. The simultaneous occurrence of variant hairy cell leukemia and chronic- phase chronic myelogenous leukemia. A case report. *Cancer* 1995;75:2089-2092.
  63. Kuznetsov AI, Ivanov AL, Idelson LI, Mazurov AV. Mechanisms of thrombocytopenia in patients with lymphoproliferative diseases. *Eur.J Haematol.* 1992;49:113-118.
  64. Mover S, Li CY, Yam LT. Semiquantitative evaluation of tartrate-resistant acid phosphatase activity in human blood cells. *J Lab.Clin.Med.* 1972;80:711-717.
  65. Bucher, U. *Labormethoden in der Hämatologie.* 133-136. 1988. Bern, Verlag Hans Huber.
  66. Diez MJ, Li CY, Banks PM. Blastic variant of hairy-cell leukemia. *Am.J Clin. Pathol.* 1987;87:576-583.
  67. Burke JS, Rappaport H. The diagnosis and differential diagnosis of hairy cell leukemia in bone marrow and spleen. *Semin. Oncol.* 1984;11:334-346.
  68. Polliack A. Hairy cell leukemia and allied chronic lymphoid leukemias: current knowledge and new therapeutic options. *Leuk.Lymphoma.* 1997;26 Suppl 1:41-51:41-51.
  69. Babusikova O, Mesarosova A, Kusenda J, Konikova E, Klobusicka M, Hrivnakova A. Immune phenotype and some enzyme patterns in phorbol ester-induced chronic lymphocytic leukemia cells. *Neoplasma.* 1995;42:221-226.
  70. Ziegler-Heitbrock HW, Dorken B, Muncker R, Riethmuller G, Thierfelder S, Thiel E. In-vitro induction of some features of hairy cell leukemia in chronic lymphocytic leukemia and immunocytoma cells. *Blut* 1985;50:29-31.
  71. Ballard HS, Sidhu G. Cytoplasmic fragments causing spurious platelet counts in hairy cell leukemia: ultrastructural characterization. *Arch.Intern.Med.* 1981;141:942-944.
  72. Chrobak L, Zak P, Podzimek K, Stransky P. Red cell distribution width (RDW) as a marker of disease activity in patients with hairy cell leukemia. *Acta Medica. (Hradec.Kralove.)* 1998;41:23-26.
  73. Demeter J, Paloczi K, Lehoczky D, Hoier-Madsen M, Wiik A. Autoantibody occurrence in hairy cell leukemia. *Haematologica* 1993;78:287-290.
  74. Geissler K, Hinterberger W, Bettelheim P, et al. Myeloid progenitor cells in the peripheral blood of patients with hairy cell leukemia and other "leukemic" lymphoproliferative disorders. *Leuk.Res.* 1986;10:677-681.
  75. Golomb H, Strehl S, Oleske D, Vardiman J. Prognostic significance of immunologic phenotype in hairy cell leukemia: does it exist? *Blood* 1985;66:1358-1361.
  76. Jansen J, Schuit HR, Hermans J, Hijmans W. Prognostic significance of immunologic phenotype in hairy cell leukemia. *Blood* 1984;63:1241-1244.
  77. Hanson CA, Gribbin TE, Schnitzer B, Schlegelmilch JA, Mitchell BS, Stoolman

- LM. CD11c (LEU-M5) expression characterizes a B-cell chronic lymphoproliferative disorder with features of both chronic lymphocytic leukemia and hairy cell leukemia [see comments]. *Blood* 1990;76:2360-2367.
78. Aljurf M, Cornbleet PJ, Michel F. CD5+ chronic B-cell leukemia with features intermediate to chronic lymphocytic leukemia and hairy cell leukemia. *Hematol. Pathol.* 1994;8:99-109.
79. Wormsley SB, Baird SM, Gadol N, Rai KR, Sobol RE. Characteristics of CD11c+CD5+ chronic B-cell leukemias and the identification of novel peripheral blood B-cell subsets with chronic lymphoid leukemia immunophenotypes. *Blood* 1990;76:123-130.
80. Juliusson G, Vitols S, Liliemark J. Disease-related hypocholesterolemia in patients with hairy cell leukemia. Positive correlation with spleen size but not with tumor cell burden or low density lipoprotein receptor activity. *Cancer* 1995;76:423-428.
81. Pandolfino J, Hakimian D, Rademaker AW, et al. Hypocholesterolemia in hairy cell leukemia: a marker for proliferative activity. Polyclonal B-cell lymphocytosis with features resembling hairy cell leukemia-Japanese variant [see comments]. *Blood* 1997;89:2008-2014.
82. Hsu SM, Yang K, Jaffe ES. Hairy cell leukemia: a B cell neoplasm with a unique antigenic phenotype. *Am.J Clin. Pathol.* 1983;80:421-428.
83. Visser L, Shaw A, Slupsky J, Vos H, Poppema S. Monoclonal antibodies reactive with hairy cell leukemia. *Blood* 1989;74:320-325.
84. Posnett, D. N., Wang, C, Chiorazzi, N., Crow, M. K., and Kunkel, H. G. An antigen characteristic of hairy cell leukemia cells is expressed on certain activated B cells. *J Immunol.* 133, 1635-1640. 1984.

**W**



Um das Bild von der Haarzelleukämie von der klinischen Seite zu komplettieren, finden sie nachfolgend die Zusammenfassung des National Cancer Institutes.

**GENERAL INFORMATION**

Hairy cell leukemia is a chronic lymphoproliferative disorder that is easily controlled. Decision to treat is based on symptomatic cytopenias, massive splenomegaly, or the presence of other complications. About one-tenth of all patients will never require therapy.

=====

**STAGE INFORMATION**

There is no generally accepted staging system that is useful both for prognosis and therapy. For the purpose of treatment decisions, it is best to consider this disease in two broad categories: untreated hairy cell leukemia, and progressive hairy cell leukemia, either post-splenectomy or post-systemic therapy.

**Untreated**

Untreated hairy cell leukemia is characterized by splenomegaly, varying degrees of leukopenia (occasionally leukocytosis) and/or pancytopenia, and bone marrow infiltration by an atypical cell with prominent cytoplasmic projections ("hairy cells"). The bone marrow is usually fibrotic and often is not aspirable. Bone marrow biopsies are therefore required for diagnosis and evaluation of the degree of hairy cell infiltration.

**Progressive**

Progressive hairy cell leukemia, post-

splenectomy (or following any systemic therapy) is characterized by progressive bone marrow replacement by hairy cells, with pancytopenia refractory to treatment. For patients with advanced hairy cell leukemia treated with 2-chlorodeoxyadenosine (2-CdA), pentostatin, or interferon alfa, the survival rate appears to be greater than 85% at 5 years after the initiation of any one of these therapies.[1,2]

**References:**

1.Frassoldati A, Lamparelli T, Federico M, et al.: Hairy cell leukemia: a clinical review based on 725 cases of the Italian Cooperative Group (ICGHCL): Italian Cooperative Group for Hairy Cell Leukemia. *Leukemia and Lymphoma* 13(3-4): 307-316, 1994. 2.Kurzrock R, Strom SS, Estey E, et al.: Second cancer risk in hairy cell leukemia: analysis of 350 patients. *Journal of Clinical Oncology* 15(5): 1803-1810, 1997.

=====

**TREATMENT OPTION OVERVIEW**

The initial therapies of choice are either 2-chlorodeoxyadenosine (2-CdA) or pentostatin. These drugs have comparable response rates but have not been compared in phase III trials. 2-CdA is administered as a one-time continuous infusion or series of subcutaneous injections and is associated with a high rate of febrile neutropenia. Pentostatin is administered intermittently for a longer treatment duration but may result in a lower incidence of febrile complications. While some patients remain disease-free 6 years after treatment with these purine analogues, no patient has been followed long enough to assess cure. Both nucleoside analogues cause profound suppression of CD4 counts which may last for a year. For a few patients, such as those with severe thrombocytopenia, splenectomy can be considered. After splenectomy, one-half of patients will require no additional therapy and long-term survivors are common. Therapy with interferon alfa is another treatment option.

The designations in PDQ that treatments are "standard" or "under clinical evaluation" are not to be used as a basis for reimbursement

determinations.

---

## UNTREATED HAIRY CELL LEUKEMIA

Hairy cell leukemia is a highly treatable disease. Since it is easily controlled, many patients have prolonged survival with sequential therapies. The decision to treat is based on cytopenias (especially if symptomatic), increasing splenomegaly, indications that the disease is progressing, or the presence of other, usually infectious complications.

### Treatment options:

1. It is reasonable to offer no therapy if the patient is asymptomatic and blood counts are maintained in an acceptable range.[1]
2. 2-Chlorodeoxyadenosine (2-CdA), interferon alfa, and pentostatin have been shown to have substantial activity against hairy cell leukemia.[1-4]
3. Splenectomy will partially or completely normalize the peripheral blood in the vast majority of patients with hairy cell leukemia.[5] There is usually little or no change in the bone marrow after splenectomy, and virtually all patients have progressive disease within 12-18 months. Therefore, since a number of more effective alternatives are available, splenectomy is playing a decreasing role in the treatment of this disease.

### References:

1.Saven A, Piro L: Newer purine analogues for the treatment of hairy-cell leukemia. *New England Journal of Medicine* 330(10): 691-697, 1994. 2.Golomb HM, Ratain MJ, Fefer A, et al.: Randomized study of the duration of treatment with interferon alfa-2b in patients with hairy cell leukemia. *Journal of the National Cancer Institute* 80(5): 369-373, 1988. 3. Grever M, Kopecky K, Foucar MK, et al.: Randomized comparison of pentostatin versus interferon alfa-2a in previously untreated patients with hairy cell leukemia: an intergroup study. *Journal of Clinical Oncology* 13(4):

974-982, 1995. 4.Hoffman MA, Janson D, Rose E, et al.:

Treatment of hairy-cell leukemia with cladribine: response, toxicity, and long-term follow-up. *Journal of Clinical Oncology* 15(3): 1138-1142, 1997. 5.Golomb HM, Vardiman JW: Response to splenectomy in 65 patients with hairy cell leukemia: an evaluation of spleen weight and bone marrow involvement. *Blood* 61(2): 349-352, 1983.

---

## PROGRESSIVE HAIRY CELL LEUKEMIA, INITIAL TREATMENT

Persistent or progressive cytopenias are indications for therapy.

Treatment options:

1. 2-Chlorodeoxyadenosine (2-CdA) given intravenously by continuous infusion or as daily subcutaneous injections for one week results in a complete response rate of 80% and an overall response rate of 95%. Responses are durable with this short course of therapy and relapsing patients often respond to re-treatment with 2-CdA.[1-4] This drug may cause fever and immunosuppression.
2. Pentostatin given intravenously every other week for 3-6 months produces a 76% complete response rate and an 87% overall response rate. Complete remissions are of substantial duration.[5] Side effects include fever, immunosuppression, cytopenias, and renal dysfunction. A randomized comparison of pentostatin and interferon alfa demonstrated higher and more durable responses to pentostatin.[5]
3. Interferon alfa given subcutaneously three times per week for 1 year yields a 10% complete response rate and an 80% overall response rate. The drug frequently produces an influenza-like syndrome early in the course of treatment. Late effects include depression and lethargy. Responding patients who relapse usually respond to re-treatment with interferon alfa.[6] Remission can be prolonged with a low-dose maintenance regimen.[7] A randomized comparison of pentostatin and al-

pha-interferon demonstrated significantly higher and more durable responses to pentostatin.[5]

4. Splenectomy will partially or completely normalize the peripheral blood in the vast majority of patients with hairy cell leukemia.[8] There is usually little or no change in the bone marrow after splenectomy, and virtually all patients have progressive disease within 12-18 months. Therefore, since a number of more effective alternatives are available, splenectomy is playing a decreasing role in the treatment of this disease.

5. Allogeneic bone marrow transplantation may be considered for selected patients in rare instances. The patients should be in good health and have an HLA-identical sibling. The high mortality of this procedure justifies its use only in refractory cases.[9]

6. Aggressive, high-dose chemotherapy has been beneficial in some cases, but the associated morbidity and mortality are high. It should not be considered unless other more frequently effective therapies have been exhausted.

#### References:

1.Saven A, Piro L: Newer purine analogues for the treatment of hairy-cell leukemia. *New England Journal of Medicine* 330(10): 691-697, 1994. 2.Juliusson G, Heldal D, Hippe E, et al.: Subcutaneous injections of 2-chlorodeoxyadenosine for symptomatic hairy cell leukemia. *Journal of Clinical Oncology* 13(4): 989-995, 1995. 3.Tallman MS, Hakimian D, Variakojis D, et al.: A single cycle of 2-chlorodeoxyadenosine results in complete remission in the majority of patients with hairy cell leukemia. *Blood* 80(9): 2203-2209, 1992. 4.Hoffman MA, Janson D, Rose E, et al.: Treatment of hairy-cell leukemia with cladribine: response, toxicity, and long-term follow-up. *Journal of Clinical Oncology* 15(3): 1138-1142, 1997. 5.Grever M, Kopecky K, Foucar MK, et al.: Randomized comparison of pentostatin versus interferon alfa-2a in previously untreated patients with hairy cell leukemia: an intergroup study. *Journal of Clinical Oncology*

13(4): 974-982, 1995. 6.Golomb HM, Ratain MJ, Fefer A, et al.: Randomized study of the duration of treatment with interferon alfa-2b in patients with hairy cell leukemia. *Journal of the National Cancer Institute* 80(5): 369-373, 1988. 7.Capnist G, Federico M, Chisesi T, et al.: Long term results of interferon treatment in hairy cell leukemia. *Leukemia and Lymphoma* 14(5-6): 457-464, 1994. 8.Golomb HM, Vardiman JW: Response to splenectomy in 65 patients with hairy cell leukemia: an evaluation of spleen weight and bone marrow involvement. *Blood* 61(2): 349-352, 1983. 9.Cheever MA, Fefer A, Greenberg PD, et al.: Treatment of hairy cell leukemia with chemoradiotherapy and identical-twin bone marrow transplantation. *New England Journal of Medicine* 307(8): 479-481, 1982.

---

#### REFRACTORY HAIRY CELL LEUKEMIA

2-Chlorodeoxyadenosine (2-CdA) and pentostatin are both highly efficacious in the treatment of patients with disease refractory to interferon alfa.[1-4] Evidence suggests that fludarabine may also be active in patients who are refractory to interferon alfa or pentostatin. [5] Relapsing patients often respond to retreatment with 2-CdA.[6]

#### References:

1.Blick M, Lepe-Zuniga JL, Doig R, et al.: Durable complete remissions after 2'-deoxycoformycin treatment in patients with hairy cell leukemia resistant to interferon alpha. *American Journal of Hematology* 33(3): 205-209, 1990. 2.Piro LD, Carrera CJ, Carson DA, et al.: Lasting remissions in hairy-cell leukemia induced by a single infusion of 2-chlorodeoxyadenosine. *New England Journal of Medicine* 322(16): 1117-1121, 1990. 3. Estey EH, Kurzrock R, Kantarjian HM, et al.: Treatment of hairy cell leukemia with 2-chlorodeoxyadenosine (2-CdA). *Blood* 79(4): 882-887, 1992. 4.Tallman MS, Hakimian D, Variakojis D, et al.: A single cycle of 2-chlorodeoxyadenosine results in complete re-

mission in the majority of patients with hairy cell leukemia. *Blood* 80(9): 2203-2209, 1992. 5.Kantarjian HM, Schachner J, Keating MJ: Fludarabine therapy in hairy cell leukemia. *Cancer* 67(5): 1291-1293, 1991. 6.Hoffman MA, Janson D, Rose E, et al.: Treatment of hairy-cell leukemia with cladribine: response, toxicity, and long-term follow-up. *Journal of Clinical Oncology* 15(3): 1138-1142, 1997. **W**