

# Visszatérő szomatikus mutáció hajás sejtes leukémiában

Sári Eszter dr. ■ Nagy Zsolt dr. ■ Demeter Judit dr.

Semmelweis Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, I. Belgyógyászati Klinika, Budapest

A hajás sejtes leukémia olyan érett B-sejtes non-Hodgkin-lymphoma, amelyet egyedi klinikai, morfológiai és immunfenotípusbeli sajátosságok jellemeznek. A betegséget splenomegalia, progresszív pancytopenia és relatív indolens lefolyás kíséri. A diagnózis megszületése után a klinikai stádiumtól függ, hogy a „watchful waiting” stratégiát választjuk, avagy azonnali kezelés szükséges. Az első vonalban javasolt purin-nukleozid analógokkal (cladribin, pentostatin) akár több évtizedig tartó komplett remisszió is elérhető. A hajás sejtes leukémia néha igen komoly differenciáldiagnosztikai kérdéseket felvető betegség. A pontos diagnózis igen nagy horderejű, hiszen a rokon kórképek prognózisa és kezelése nagymértékben különbözik a hajás sejtes leukémiáétól. Ezért volt kiemelkedő fontosságú az a felismerés, hogy létezik olyan genetikai elváltozás, amely e betegségek elkülönítő diagnosztikájában döntő értékű. A BRAF gén V600E szomatikus mutációja hajás sejtes leukémiában szenvedő betegek csontvelői mintáiból izolált DNS-ben minden esetben jelen van, míg a rokon kórképekre ezen mutáció hiánya a jellemző. A szerzők a mutáció felismerésének és a mutációvizsgálat alkalmazásának jelentőségét foglalják össze. *Orv. Hetil.*, 2013, 154, 123–127.

**Kulcsszavak:** hajás sejtes leukémia, BRAF

## Recurrent somatic mutation in hairy cell leukemia

Hairy cell leukemia is a mature B-cell non-Hodgkin lymphoma characterized by unique clinical, morphological and immunohistochemical features. Patients with hairy cell leukemia usually present with splenomegaly, progressive pancytopenia and a relative indolent clinical course. The diagnosis does not always indicate immediate treatment, as treatment depends on the clinical stage of the leukemia. Asymptomatic disease without progression requires a watchful waiting policy, while other categories usually need treatment. The treatment of choice is purin nucleoside analogues (pentostatin, cladribine) which can achieve complete remission even for decades. Interferon and monoclonal CD20 antibodies can also significantly prolong event free survival. Unfortunately, only the latter two therapies are easily available in Hungary. Splenectomy, which was suggested as first line treatment before the era of purin nucleoside analogues, is only recommended as ultimum refugium. Although hairy cell leukemia is a well-defined lymphoproliferative disease, sometimes it is difficult to differentiate it from other similar entities such as hairy cell leukemia variant, splenic marginal zone lymphoma, small lymphocytic lymphoma etc. Making the correct diagnosis is of utmost importance because of the great difference in treatment modalities. Recently, a somatic mutation was found in all analysed hairy cell leukemia samples, but not in other splenic B-cell lymphomas. This article reviews the significance of this observation and presents the different types of methods for the detection of this mutation. *Orv. Hetil.*, 2013, 154, 123–127.

**Keywords:** hairy cell leukemia, BRAF

(Beérkezett: 2012. november 27.; elfogadva: 2012. december 19.)

### Rövidítések

BRAF = v-raf murin sarcoma virális onkogén homológ B1; HRMA = nagy felbontású olvadáspont-analízis; HSL = klasszikus hajás sejtes leukémia; SMZL = splenicus marginális zóna lymphoma; SRP-SBL = splenicus vörös pulpa B-sejtes lymphoma; TBET = Th1-specifikus T-box transzkripciós faktor; TRAP = tartarátreduzáns savi foszfatáz; vHSL = hajás sejtes leukémia variáns

A klasszikus hajás sejtes leukémia (HSL) a B-sejtes non-Hodgkin-lymphomák csoportjának egy viszonylag ritkán előforduló tagja, amelyet típusosan pancytopenia, splenomegalia, valamint a csontvelő, máj és lép villosus citoplazmamyúlványokkal rendelkező B-sejtek általi infiltrációja jellemez. A felnőttkori leukémiák 1%-át, a lymphoproliferatív betegségek 2%-át képezi, magyarországi

incidenciája 3/1 000 000/év, enyhe férfi predomanciával, 50 év körüli átlagéletkorral [1].

A betegség diagnózisa a 2008-as WHO-kritériumok tükrében morfológiai és immunhisztokémiai vizsgálatokon alapul. Ha a klinikum alapján felmerül a gyanú, már a perifériás vérkenettel meggyőződhetünk arról, keringenek-e „szőrös sejtek”. A hajas lymphocyták jelenléte csak felveti a klasszikus HSL diagnózist, de ugyanúgy egyéb más splenicus lymphomákét is, amelyek szintén járhatnak ilyen kóros sejtekkel. A hajas sejtek cizellált morfológiai vizsgálata alapján ugyan elvben differenciálhatók ezek a betegségek, de ennél jóval biztosabb támpontot ad egyrészt a perifériás vér, vagy jobb esetben a csontvelő flow citometriás és immunhisztokémiai vizsgálata.

Klasszikus hajas sejtes leukémia esetén a B-sejtekre a CD20-, CD11c-, CD25-, CD103-, CD125-pozitivitás jellemző, míg a cristiabiopsziás minta differenciáldiagnosztikáját a TRAP (tartarátrezisztens savi foszfatáz), annexin-A1, DBA-44 és Th1-specifikus T-box transzkripciófaktor (TBET) -pozitivitás segíti, de, sajnos, ezen markerek sem teljesen specifikusak (1. táblázat).

A klasszikus hajas sejtes leukémia elkülönítése az egyéb splenicus lymphomáktól (hajas sejtes leukémia variáns, splenicus marginális zóna lymphoma, avagy a 2008-as WHO-klasszifikációban jelzett új entitás, a splenicus

vörös pulpa B-sejtes lymphoma) igen nagy jelentőségű, hiszen ennek a betegségnek a korszerű kezelése esetén a betegek mintegy 80%-a hosszú időre komplett remiszióba jut, és várható élettartamukat hematológiai alapbetegségük nem is befolyásolja. Ezzel szemben az egyéb splenicus B-sejtes lymphomák a purin-nukleozid analógokra alig reagálnak, és alternatív, gyakran intenzívebb kezelési stratégiát igényelnek [2, 3].

### A klasszikus hajas sejtes leukémia és a BRAF V600E-mutáció kapcsolata

A klasszikus HSL egyedi morfológiai megjelenése, extranodalis helyekhez való homingképessége és a típusosan jelen lévő csontvelőfibrosis a betegség sajátos molekuláris konstellációjából ered. A génexpressziós vizsgálatok során ugyan megtörtént a betegség teljes molekuláris szintű feltérképezése, de ezek a vizsgálatok nem derítettek fel egyetlen, konzekvensen visszatérő, a patogeneziséért felelős citogenetikai eltérést sem [4]. 2011 júniusában *Tiacci és munkatársai* a *New England Journal of Medicine*-ben tették közzé mérőföldkőnek számító vizsgálatukat a HSL-ben minden egyes beteg esetében kimutatható BRAF V600E-mutáció jelenlétével kapcsolatban. A szerzők hajas sejtes leukémiás beteg perifériás véréből izoláltak CD19-pozitív (azaz „leukémiás”) és

1. táblázat | Splenicus lymphomák differenciáldiagnosztikája

	HSL	HSL-variáns	SMZL	SRP-SBL	
Általános jellemzők	Előfordulás	50 év	70 év	54–72 év	77 év
	Nemek szerinti megoszlás	Férfi/nő 5:1	Férfi/nő 1:1	Férfi > nő	Férfi / nő 1:1
	Immunglobulinok	Norm. v. növekedett IgG- vagy több nehézlánc-izotípus	Normális	Monoklonális IgM	Normális
	Sejtszám	Pancytopenia 90%-ban, leukémiás vérkép 10%-ban	Fvs: 50–100 G/l, de lehet lymphocytosis is	Pancytopenia vagy norm. sejtszám	Enyhe lymphocytosis
	Monocytopenia	+	–	–	–
Morfológia	Sejtmag	Ovoid, bab alakú	Kerek	Kerek	Kerek
	Kromatin	Reticularis+nucleolus	Rögös+centrális nucleolus	Rögös+nucleolus	Rögös+nagy nucleolus
	Csontvelői morfológia	Lépesmész-szerű szerkezet, reticulín fibrosis	Enyhe fibrosis, interstitialis vagy intrasinusoidális	Intrasinusoidális és nodularis, ritkán interstitialis	Enyhe fibrosis, interstitialis vagy intrasinusoidális
	Lépinfiltráció	Diffúz vörös pulpa infiltráció, atrófiás fehér pulpa	Vörös pulpa	Fehér pulpa	Vörös pulpa
Immunfénótípus	CD11c	+++	++	+	++
	CD25	+++	+	+	+
	CD20	+++	+++	+++	+++
	CD22	+++	+++	++	+++
	CD103	+++	+	+	+
	CD123	+++	+	–	+
	Annexin A1	+++	–	–	–

CD19-negatív (azaz „egészséges”) mononukleáris B-sejteket, amelyeken a Sanger-féle módszerrel teljes genom-szekvenálást végeztek. Öt misszenz szomatikus klonális mutációt mutattak ki (BRAF V600E, CSMD3, SLCSA1, CNTN6 és OR8) a „leukémiás” sejteken [5]. A fent említett mutációk közül négynek alig ismert a biológiai jelentősége, a BRAF-ról azonban ismeretes, hogy humán carcinomákban gyakran mutálódik, és igen fontos szerepet játszik a sejtproliferációs, differenciálódási és túlélési proteinkináz-kaszkádméchanizmusokban [6].

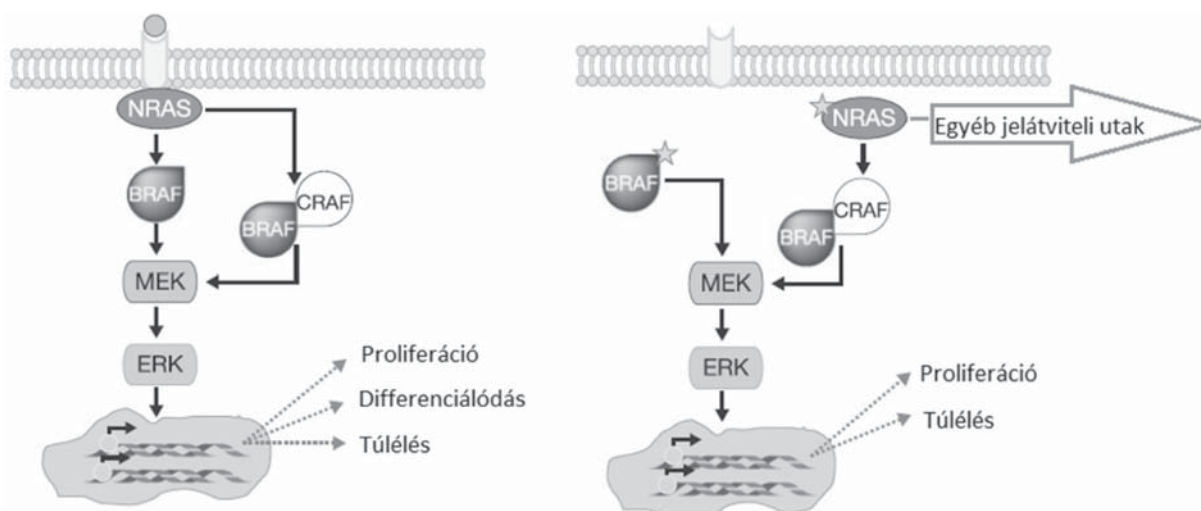
További 47 klasszikus hajás sejt leukémiás beteg mintáit vizsgálva a BRAF V600E-mutáció 100%-ban volt kimutatható, míg 119, B-sejt lymphoproliferatív betegmintában 0%-ban fordult elő ez a mutáció. Az eredmények arra utaltak, hogy ez a visszatérő szomatikus mutáció a splenicus lymphomák közül kizárólag a klasszikus hajás sejt leukémia patogenezisében játszik szerepet. A későbbiekben a figyelem a mutáció szenzitivitásának és specifikitásának feltérképezésére, valamint egy, a rutinyakorlatban is alkalmazható laboratóriumi módszer kifejlesztésére irányult [7]. Az időigényes és csupán 30%-os szenzitivitású Sanger-szekvenálás helyett allélspecifikus PCR és gélelektroforézises módszert dolgoztak ki, amelynek érzékenysége körülbelül 0,1%-os. A módszert a szerzők mintegy 240 beteg vizsgálatával validálták. Csaknem 121 klasszikus hajás sejt leukémiás mintában észlelték a BRAF V600E-mutációt, és csupán azon klasszikus HSL-es betegek hordozták a BRAF vad típusát, akik komplett remisszióban voltak, azaz a mintában lévő szőrös sejtek aránya kisebb volt a módszer szenzitivitásánál. További mintegy 120 splenicus B-sejt leukémiás beteg mintájából pedig egyáltalán nem volt kimutatható a mutáns BRAF-típus, ahogy az egészséges egyének mintáiban sem. Ezen adatok alapján ez a szomatikus mutáció a klasszikus hajás sejt leukémiára specifikusnak bizonyult.

## A BRAF élettani és onkogén szerepe

A BRAF a Ras-Raf-MEK-ERK szignáltranszdukciós útvonal egy szerin-treonin proteinkináz tagja, amely egy igen konzervatív, minden eukaryota sejtben jelen lévő jelátviteli rendszer. Az extracelluláris mátrix felől citokinek, hormonok képében továbbítja a sejt felé a proliferációra, differenciálódásra, túlélésre vonatkozó információt. A BRAF a Raf családba tartozik: a CRAF és ARAF mellett a BRAF a MEK-ERK vonal legpotensebb aktivátora [8] (1. ábra).

Egy angol munkacsoport már 2003-ban rámutatott arra, hogy HSL-ben a leukaemogenesisben az ERK-jelátviteli utaknak kiemelkedő szerepe lehet [9]. Az ERK-út aktiválódásának az a szerepe, hogy a leukémiás sejt megvédje a p38-JNK aktiváció proapoptotikus hatásától. Az ERK aktiválódása HSL-ben döntő részben a MEK-útján történik, márpedig *Tiacci és munkatársai* szerint a mutált BRAF tehető leginkább felelőssé a MEK-út bekapcsolásáért. A fent részletezett jelátviteli rendszer valamely alkotóelemének aberrációja a humán carcinomák mintegy 30%-ában szerepel onkogénként.

A BRAF-nak legalább 40-féle szomatikus mutációja ismert, azonban a leggyakoribb, az esetek mintegy 90%-ában V600E-mutáció fordul elő: ebben az esetben a BRAF-fehérjét kódoló gén 11. exonján, a 600. kodonban egy timin adeninre cserélődik, ezáltal glutaminsavról valinra változik egy aminosav a fehérjében. Ez az aktiváló pontmutáció olyan fehérjeszerkezetet alakít ki, amely az extracelluláris környezettől függetlenül aktívan tartja a proliferációs szignált, ezért a mutált sejtek kontrollálatlan osztódásához vezet. A BRAF V600E-mutáció egyébként többek közt a melanoma malignum esetek 60%-ának, a papillaris thyroid carcinoma esetek 40%-ának és a colorectalis carcinoma esetek 10%-ának kialakulásáért is felelős [10, 11]. Hematológiai betegségek között



1. ábra

A BRAF helye a szignáltranszdukcióban.

Bal oldal: extracelluláris szignál jelenléte esetén a Ras-Raf-MEK-ERK bekapcsolja a sejt túléléseért felelős intracelluláris jelátviteli útvezetést.

Jobb oldal: a BRAF mutációjánál extracelluláris jel hiányában is konstitutívan aktív lesz ez az út

2. táblázat | A klasszikus hajás sejtes leukémia és a BRAF V600E-mutáció kimutatására irányuló vizsgálatok az eredeti közlemény (Tiacci, 2011) megjelenése óta [5, 7, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23]

	Módszer	Minta eredete	cHSL-es minta száma (n)	BRAF V600E-pozitivitás	Egyéb B-sejtes NHL-minta száma (n)	BRAF V600E-pozitivitás
Tiacci, et al. (N. Engl. J. Med., 2011)	Sanger-szekvenálás	Perifériás vér, csontthenger	48	48/48	195	0/195
Blombery, et al. (Haematologica, 2011)	HRMA és Sanger-szekvenálás	Csontvelő, perifériás vér	59	59/59	34	0/34
Boyd, et al. (Br. J. Haematol., 2011)	HRMA	Perifériás vér, csontvelő	48	48/48	114	0/114
Arcaini, et al. (Blood, 2012)	Allélspecifikus PCR	Perifériás vér, csontvelő	62	62/62	178	2/178
Lennerz, et al. (Br. J. Haematol., 2012)	Piroszekvenálás	Csontvelő	18	17/18	–	–
Schnittger, et al. (Blood, 2012)	Kvantitatív RT-PCR	Perifériás vér, csontvelő	117	115/117	102	0/102
Xi, et al. (Blood, 2012)	Piroszekvenálás	Perifériás vér	53	42/53	vHSL: 16	0/16
Tiacci, et al. (Blood, 2012)	Allélspecifikus PCR és gélelektroforézis	Perifériás vér, csontvelő	138	122/138	115	0/115
Langabeer, et al. (Int. J. Lab. Hem., 2012)	Allélspecifikus PCR	Csontvelő	24	23/24	vHSL: 3	0/3
Andrulis, et al. (Am. J. Surg. Pathol., 2012)	Mutációs specifikus antitest (VE1)	Csontvelő, lép	32	32/32	20	0/20

sem ismeretlen a BRAF különböző misszenz mutációinak igen ritkán előforduló jelenléte, például myeloma multiplexben, krónikus lymphoid leukaemiában, diffúz nagy B-sejtes lymphomában vagy akut lymphoid leukaemiában [12, 13, 14, 15].

### Megerősítő vizsgálatok

Ezek az eredmények más munkacsoportok érdeklődését is felkeltették, és igyekeztek ezeket reprodukálni, illetve más vizsgálómódszerek alkalmasságát hangsúlyozni. Ezeket a munkákat a 2. táblázat foglalja röviden össze [5, 7, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23].

Lényegében eddig valamennyi munkacsoport megerősítette azt a feltételezést, hogy a BRAF V600E-mutáció a klasszikus hajás sejtes leukémia visszatérő szomatikus mutációja. Az eltérő, akár a rutinyakorlatban is alkalmazható módszerek közül egyesek alkalmasak igen alacsony lymphomás érintettség (akár 0,1%) esetén is a mutáció kimutatására. A vizsgálatok retrospektív módon, perifériás vérből, csontvelőből, cristabiopsziás mintából vagy lépéből történtek, nagy felbontású olvadás-pont-analízis, piroszekvenálás, allélspecifikus PCR- vagy antitestvizsgálattal. A vizsgált esetszám tág határok közt, 24–138 között volt. A legtöbb esetben egyéb, splenicus lymphoma vagy B-sejtes lymphoproliferatív betegség vizsgálata is megtörtént, *Pardanani* és *Tefferi* pedig 285 myeloproliferatív betegségben szenvedő beteg perifériás vérére vagy csontvelő-aspirátumát vizsgálta, de BRAF V600E-mutáció egy esetben sem volt kimutatható [24].

Összefoglalva: Valamennyi szerző szerint a klasszikus hajás sejtes leukémia közel 100%-ban hordozta a BRAF V600E-mutációt, míg bármi más entitás esetén a mutáció igen kis arányban (0–1%) fordult elő. Ezzel szemben egy bethesda munkacsoport, *Xi és munkatársai* klasszikus és variáns hajás sejtes leukémiák, de ezeken belül nehézlánc-génátrendeződéssel járó [IGHV4–34(+)] és nem járó mintáikon a nehézlánc-génátrendeződéssel járó esetekben nem tudtak BRAF V600E-mutációt kimutatni [21]. Felmerült tehát, hogy a klasszikus hajás sejtes leukémián belül további szubpopulációk léteznének – avagy mégsem minden klasszikus HSL hordozza ezt a mutációt? Ez magyarázhatná azokat a korábbi immunfenotípus-vizsgálatok alapján egyöntetűen klasszikus hajás sejtes leukémiaként aposztrofált, de molekuláris vizsgálatokkal már heterogén szubdivíziókra választható betegeket, akik közül a klinikus csak a jéghegy csúcsát, azaz a „szokásos” kezelésre refrakter betegséget látja?

A klasszikus HSL és a BRAF V600E-mutáció viszonyának tisztázására irányuló törekvések nemcsak patogenetikai és differenciáldiagnosztikai jelentőséggel bírnak, hanem akár terápiás lehetőségeket is rejthetnek magukban. 2012 májusában heidelbergi szerzők egy BRAF V600E-mutációt hordozó hajás sejtes, kemorezisztens betegnél ötödvonalbéli kezelésként alkalmaztak vemurafenibet (PLX-4720), ami a melanoma malignum kezelésében törzskönyvezés alatt álló BRAF-gátló. Az eredmény igen impresszionálónak bizonyult: a beteg 43 napig tartó, igen kedvező mellékhatás-profilú

orális kezelés után komplett remisszióba jutott. A szerzők azonban arra is felhívták a figyelmet, hogy a BRAF-gátlók által elért gyógyulás gyakran csak átmeneti, és a carcinómákban gyorsan kialakuló rezisztens klónok kialakulását tapasztalták [25].

## Következtetések

A klasszikus hajás sejtes leukémia a B-sejtes non-Hodgkin-lymphomák viszonylag ritka csoportja, amelyet – helyes kezelés esetén – a többi splenicus lymphomától a jó prognózis különít el. Ezért igen fontos felismerni és optimális kezelésben (purin-nukleozid analógok, rituximab, interferon A) részesíteni ezeket a betegeket. A sajátos magyarországi finanszírozási módszerek miatt első vonalban még mindig az interferon A kerül alkalmazásra az esetek 73%-ában [26]. A BRAF V600E szomatikus mutációvizsgálat a pontos és korai diagnosztika nehézségei esetében válhatna a patológus és klinikus segítségére. Ez a mutáció az eddigi vizsgálatok alapján konzekvensen jelen van valamennyi klasszikus HSL esetében, azonban egyéb, B-sejtes non-Hodgkin-lymphomában nem. Egyes szerzők a klasszikus hajás sejtes leukémia és a BRAF V600E-mutáció viszonyát a krónikus myeloid leukaemia és a bcr/abl fúziós génjéhez hasonlítják: bár az előbbi esetében még további, nagy esetszámú prospektív vizsgálat várat magára ennek bizonyítására. Az alábbi kérdések is megválaszolandók:

- A mutáció valóban patogenetikai gyújtópontja-e a betegségnek, azaz maximálisan specifikus-e HSL-re; alkalmas-e differenciáldiagnosztikára?
- Mi a különbség a heterozigóta és homozigóta mutánsok közt?
- Alkalmas-e követésre; a mutáció jelenlétének mértéke korrelál-e a remisszióstatusszal? (Molekulárisan követhető minimális residualis betegség vagy komplett remisszió?)
- Válthat-e terápiás célponttá kemorefrakter betegségben?

## Irodalom

- [1] Jones, G., Parry-Jones, N., Wilkins B., et al.: Revised guidelines for the diagnosis and management of hairy cell leukaemia and hairy cell leukemia variant. *Br. J. Haem.*, 2012, 156, 186–195.
- [2] Robak, T.: Management of hairy cell leukemia variant. *Leuk. & Lym.*, 2011, 52 (Suppl 2), 53–56.
- [3] Grever, M. R.: How I treat hairy cell leukemia. *Blood*, 2010, 115, 21–28.
- [4] Basso, K., Liso, A., Tiacci, E., et al.: Gene expression profiling of hairy cell leukemia reveals a phenotype related to memory B cells with altered expression of chemokine and adhesion receptors. *J. Exp. Med.*, 2004, 199, 59–68.
- [5] Tiacci, E., Trifonov, V., Schiavoni, G., et al.: BRAF mutations in hairy cell leukemia. *N. Engl. J. Med.*, 2011, 364, 2305–2315.
- [6] Davies, H., Bignell, G. R., Cox, C., et al.: Mutations of the BRAF gene in human cancer. *Nature*, 2002, 417, 949–954.
- [7] Tiacci, E., Schiavoni, G., Forconi, F., et al.: Simple genetic diagnosis of hairy cell leukemia by sensitive detection of the BRAF-V600E mutation. *Blood*, 2012, 119, 192–195.
- [8] Cantwell-Dorris, E. R., O’Leary, J. J., Sheils, O. M.: BRAF V600E: Implications for carcinogenesis and molecular therapy. *Mol. Cancer Ther.*, 2011, 10, 385–394.
- [9] Kamiguti, A. S., Harris, R. J., Slupsky, J. R., et al.: Regulation of hairy-cell survival through constitutive activation of mitogen-activated protein kinase pathways. *Oncogene*, 2003, 22, 2272–2284.
- [10] Pollock, P. M., Meltzer, P. S.: A genome-based strategy uncovers frequent BRAF mutations in melanoma. *Cancer Cell.*, 2002, 2, 5–7.
- [11] Kimura, E. T., Nikiforova, M. N., Zhu, Z., et al.: High prevalence of BRAF mutations in thyroid cancer: genetic evidence for constitutive activation of the RET/PTC-RAS-BRAF signaling pathway in papillary thyroid carcinoma. *Cancer Res.*, 2003, 63, 1454–1457.
- [12] Chapman, M. A., Lawrence, M. S., Keats, J. J., et al.: Initial genome sequencing and analysis of multiple myeloma. *Nature*, 2011, 471, 467–472.
- [13] Zhang, W., Reis, M., Khoriaty, R., et al.: Sequence analysis of 515 kinase genes in chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia*, 2011, 25, 1908–1910.
- [14] Lee, J. W., Yoo, N. J., Soung, Y. H., et al.: BRAF mutations in non-Hodgkin’s lymphoma. *Br. J. Cancer*, 2003, 89, 1958–1960.
- [15] Gustafsson, B., Angelini, S., Sander, B., et al.: Mutations in the BRAF and N-ras genes in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia*, 2005, 19, 310–312.
- [16] Blombery, P. A., Wong, S. Q., Hewitt, C. A., et al.: Detection of BRAF mutations in patients with hairy cell leukemia and related lymphoproliferative disorders. *Haematologica*, 2012, 97, 780–783.
- [17] Boyd, E. M., Bench, A. J., van’t Veer, M. B., et al.: High resolution melting analysis for detection of BRAF exon 15 mutations in hairy cell leukaemia and other lymphoid malignancies. *Br. J. Haematol.*, 2011, 155, 609–612.
- [18] Arcaini, L., Zibellini, S., Boveri, E., et al.: The BRAF V600E mutation in hairy cell leukemia and other mature B-cell neoplasms. *Blood*, 2012, 119, 188–191. (Epub 2011 Nov 9.)
- [19] Lemmerz, J. K., Klaus, B. M., Marienfeld, R. B., et al.: Pyrosequencing of BRAF V600E in routine samples of hairy cell leukaemia identifies CD5+ variant hairy cell leukaemia that lacks V600E. *Br. J. Haematol.*, 2012, 157, 267–269. (Epub 2011 Dec 7.)
- [20] Schnittger, S., Bacher, U., Haferlach, T., et al.: Development and validation of a real-time quantification assay to detect and monitor BRAFV600E mutations in hairy cell leukemia. *Blood*, 2012, 119, 3151–3154.
- [21] Xi, L., Arons, E., Navarro, W., et al.: Both variant and IGHV4-34-expressing hairy cell leukemia lack the BRAF V600E mutation. *Blood*, 2012, 119, 3330–3332. (Epub 2011 Dec 30.)
- [22] Langabeer, S. E., O’Brien, D., Liptrot, S., et al.: Correlation of the BRAF V600E mutation in hairy cell leukaemia with morphology, cytochemistry and immunophenotype. *Int. J. Lab. Hem.*, 2012, 34, 417–421.
- [23] Andrulis, M., Penzel, R., Weichert, W., et al.: Application of a BRAF V600E mutation-specific antibody for the diagnosis of hairy cell leukemia. *Am. J. Surg. Pathol.*, 2012, 36, 1796–1800.
- [24] Pardananani, A., Tefferi, A.: BRAF mutations in hairy cell leukemia. *N. Engl. J. Med.*, 2011, 365, 961. Author reply 961–962.
- [25] Dietrich, S., Glimm, H., Andrulis, M., et al.: BRAF inhibition in refractory hairy-cell leukemia. *N. Engl. J. Med.*, 2012, 366, 2038–2040.
- [26] Sári, E., Fekete, S., Masszi, T., et al.: Prevalence of hairy cell leukemia in Hungary with special emphasis on treatment habits of Hungarian hematologists. *Haematologica*, 2011, 96 (S2), 575.

(Demeter Judit dr.,  
Budapest, Korányi S. u. 2/a, 1083  
e-mail: demjud@bell.sote.hu)