

Klasyczne leczenie ostrej białaczki szpikowej pozostaje niezadowolające. Znaczący postęp w poznawaniu biologii ostrej białaczki szpikowej doprowadził ostatnio do rozwoju metod leczenia skierowanych wybiórczo na komórki nowotworowe. W artykule przedstawiono właściwości biologiczne oraz zastosowanie w leczeniu ostrej białaczki szpikowej leków skierowanych na komórki białaczkowe (przeciwciała monoklonalnych, immunotoksyn, przeciwciała sprzężonych z izotopami, białek fuzyjnych). Chociaż wstępne wyniki badań są obiecujące, konieczne są dalsze próby kliniczne, aby ustalić znaczenie tych metod postępowania w leczeniu chorych na ostrą białaczkę szpikową.

Słowa kluczowe: ostra białaczka szpikowa, przeciwciała monoklonalne, radioimmunoterapia, immunotoksyny.

Classical therapy of acute myeloid leukemia remains unsatisfactory. Recent advances in understanding the biology of acute myeloid leukemia have lead to the development of targeted treatment strategies. This review presents the biological properties and therapeutic uses of drugs targeted to surface antigens (monoclonal antibodies, immunotoxins, radioimmun-conjugates and cytokine-toxin fusion proteins). Although the preliminary results with these targeted therapies are promising, further studies are needed to establish their role in the treatment of acute myeloid leukemia.

Key words: acute myeloid leukemia, monoclonal antibodies, radioimmunotherapy, immunotoxins.

Czynniki toksyczne sprzężone z białkami rozpoznającymi receptory powierzchniowe w leczeniu ostrej białaczki szpikowej

Toxic agents conjugated to proteins recognizing surface receptors in the treatment of acute myeloid leukemia

Monika Paluszewska

Katedra i Klinika Hematologii, Onkologii i Chorób Wewnętrznych Akademii Medycznej w Warszawie

W czasie ostatnich 20 lat wyniki leczenia ostrej białaczki szpikowej uległy znaczącej poprawie. Zastosowanie intensywnej skojarzonej chemioterapii pozwala uzyskać remisję całkowitą u większości chorych, u części jednak choroba pozostaje pierwotnie oporna na klasyczne leczenie cytostatyczne, u wielu natomiast czas remisji jest stosunkowo krótki i szybko dochodzi do wznowy białaczki z dominującą proliferacją chemioopornych komórek blastycznych. Intensyfikacja chemioterapii oraz auto- i przede wszystkim allogeniczne przeszczepianie macierzystych komórek krwiotwórczych (ale dostępne dla niezbyt licznej grupy chorych mających zgodnych antygenowo dawców) umożliwiają uzyskanie lepszych wyników, ale związane jest ze zwiększoną częstością poważnych wczesnych i późnych powikłań, również okołotransplantacyjnych zgonów i wtórnych nowotworów. Konieczne więc jest poszukiwanie nowych leków i metod terapeutycznych.

Dzięki rozwojowi wiedzy o biologii nowotworów wzrasta ostatnio zainteresowanie metodami skierowanymi wybiórczo na komórki nowotworowe. Jednym z kierunków prowadzonych w tym zakresie badań są próby zastosowania w leczeniu odpornej ostrej białaczki szpikowej przeciwciał monoklonalnych oraz ich połączeń z substancjami cytotoksycznymi (izotopem lub cytostatykiem) lub toksynami pochodzenia bakteryjnego czy roślinnego. Udowodniono, że przeciwciała monoklonalne skierowane przeciwko niektórym antygenom mogą samoistnie indukować apoptozę komórki docelowej poprzez aktywację mechanizmów efektorowych gospodarza i wewnętrzną aktywność cytotoksyczną. W innych natomiast przypadkach przeciwciała monoklonalne mogą służyć jako nośniki substancji cytotoksycznych.

W leczeniu ostrej białaczki szpikowej obecnie prowadzone są badania z zastoso-

waniem przeciwciał monoklonalnych i ich połączeń – anty-CD33 (Gemtuzumab ozogamicin, HuM195±²¹³Bi, ⁹⁰Y, HuM195-gelonin), CD45 (¹³¹I BC8) oraz białek fuzyjnych wiążących receptor GM-CSF (DTGM), które wprawdzie nie są oparte o wykorzystanie przeciwciał monoklonalnych, ale opierają się na podobnym pomysle wykorzystania nośnika wiążącego receptor powierzchni komórki nowotworowej do doprowadzenia do niej czynnika toksycznego [1, 2, 3].

HUM195

Ekspresja antygeny CD33 na komórkach blastycznych u chorych na ostrą białaczkę szpikową jest stwierdzana w 90 proc. przypadków, to potwierdza uzasadnienie wykorzystania przeciwciała monoklonalnego anty-CD33 w leczeniu tej choroby. HuM195 jest humanizowanym przeciwciałem mysim anty-CD33, w którym obudowano miejsca wiążące antygen pochodzące z mysiego przeciwciała monoklonalnego pozostałymi składowymi ludzkiej immunoglobuliny (ryc. 1.). Przeciwciało to specyficznie ulega przyłączeniu do antygeny CD33 obecnego na prawidłowych i nowotworowych mieloblastach i monocytach. Działanie HuM195 doprowadzające do śmierci komórek białaczkowych prawdopodobnie zależy przede wszystkim od mechanizmów cytotoksyczności zależnej od przeciwciał (ADCC) oraz mechanizmów cytotoksyczności zależnej od dopełniacza (CDC). Innym mechanizmem działania HuM195 może być również zahamowanie proliferacji komórek poprzez blokowanie białek wewnątrzkomórkowych regulujących ich podziały i różnicowanie [4, 5].

HuM195 może również być dodatkowo nośnikiem substancji promieniotwórczej. Sprzężenie przeciwciała monoklonalnego z izotopem promieniotwórczym umożliwia zwiększenie działania niszczącego komórki blastyczne poprzez przeniesienie izotopu

radioaktywnego na powierzchnię komórki. Dokonano sprzężenia HuM195 z ^{213}Bi emitującym promieniowanie *alfa* tworząc ^{213}Bi -CHX-A-DTPA- HuM195. Wykorzystanie ^{213}Bi ze względu na krótki czas półtrwania izotopu zmniejsza ryzyko niepożądanego działania dla chorego i otoczenie [6, 7, 8]. Podobnie dokonano połączenia z ^{90}Y emitującym promieniowanie *beta*, tworząc ^{90}Y -CHX-A-DTPA-HuM195. Ponadto HuM195 sprzężono z geloniną (toksyną pochodzenia roślinnego) tworząc HuM195-gelonin, co również ma na celu zwiększenie siły działania przeciwciała poprzez hamowanie przez toksynę syntezy białek w wyniku reakcji z białkami rybosomalnymi [9].

HuM195 zastosowano w ramach prób klinicznych w różnych programach terapeutycznych w różnych typach ostrych białaczek szpikowych. Szczególnie obiecujące wyniki uzyskano u chorych z ostrą białaczką promielocytową, u których po leczeniu indukcyjnym (z kwasem transretinowym) podawano HuM195 w dawce 3 mg/m² dożylnie 2 razy w tyg. przez 3 tyg. Następnie chorzy otrzymywali leczenie konsolidujące i w ramach leczenia podtrzymującego podawano HuM195 w dwóch dawkach co mies. przez 6 mies. Objawy uboczne, jakie zaobserwowano to: gorączka, dreszcze i nudności. Po pierwszych 3 tyg. stosowania HuM195 u 12 z 24 ocenianych chorych (PML/RAR α dodatnich przed podaniem HuM195) nie stwierdzono PML/RAR α , a po dalszym leczeniu konsolidującym u 22 chorych nie stwierdzano PML/RAR α i tylko 2 chorych z 31 doszło do wznowy choroby po 30 mies. (mediana). Wyniki te sugerują istotne znaczenie HuM195 w eliminacji choroby resztkowej w ostrej białaczce promielocytowej [2, 10].

Zastosowano również jako monoterapię HuM195 w leczeniu opornej lub w okresie wznowy ostrej białaczki szpikowej w badaniu wieloośrodkowym u 35 chorych, którzy otrzymywali HuM195 w dawce 12 lub 36 mg/m² dziennie przez 4 kolejne dni na tydzień (4 kursy). U 2 z 15 chorych z odsetkiem blastów poniżej 30 proc. uzyskano remisję całkowitą, co potwierdza wcześniejsze spostrzeżenia, że przeciwciało HuM195 wydaje się najskuteczniejsze u chorych z małą masą nowotworu [2, 11]. W innym badaniu obejmującym 10 chorych (9 z oporną ostrą białaczką szpikową i 1 z przewlekłą białaczką szpikową) podawano HuM195 w 4-godzinym wlewie w dawkach 12, 24 lub 36 mg/m²/dobę w dniach 1–4 i 15–18. U jednego chorego uzyskano remisję całkowitą trwającą ponad 3 lata [12].

Natomiast badania kliniczne przeprowadzone z wykorzystaniem ^{213}Bi -HuM195 oraz ^{90}Y -HuM195 na stosunkowo niedużych grupach chorych z oporną lub w okresie wznowy ostrą białaczką szpikową wykazały zmniejszenie liczby blastów we krwi obwodowej i szpiku w większości przypadków, ale krótkotrwałą (5 mies.) remisję całkowitą

stwierdzono tylko u jednego chorego. Próby kliniczne I fazy z przeciwciałem HuM195 sprzężonym z geloniną nie zostały jeszcze zakończone, wstępne obserwacje dowodzą zmniejszenia liczby komórek blastycznych we krwi obwodowej u leczonych chorych, nie zaobserwowano również istotnych objawów toksycznych w czasie leczenia [2].

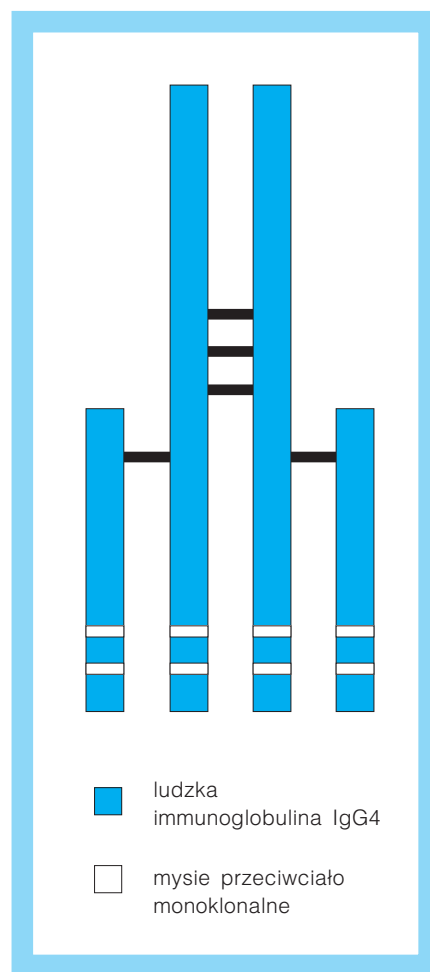
GEMTUZUMAB OZOGAMCIN (CMA-676, MYLOTARG)

Gemtuzumab ozogamcin jest połączeniem *humanizowanego* przeciwciała anty-CD33 z antybiotykiem antracyklinowym kalicheamycyną (calicheamicin I γ). Mysie monoklonalne przeciwciało IgG2a p67 zostało *humanizowane* poprzez obudowanie miejsca wiążącego antygen mysiego przeciwciała przez ludzką immunoglobulinę IgG4, a następnie sprzężone z cytostatykiem. Wybrano kalicheamycynę wyizolowaną z *Micromonospora echinospora ssp. calichensis*, ponieważ niewielka dawka tego leku doprowadza do śmierci komórki [1, 8, 13].

Gemtuzumab ozogamcin zastosowano w ramach badań I i II fazy w leczeniu opornej i w nawrotach ostrej białaczki szpikowej i w oparciu o wyniki tych badań lek ten został zarejestrowany przez FDA w USA do leczenia tych przypadków [2].

W badaniach I fazy lek zastosowano u 40 chorych z ostrą białaczką szpikową CD33 – dodatnią oporną lub w okresie wznowy. Lek podawano w dawkach 0,25–9 mg/m² co 14 dni (1–3 razy). Objawy uboczne były stosunkowo niewielkie – gorączka, dreszcze, hipotonia, zwiększenie aktywności transaminaz. U 3 chorych uzyskano remisję całkowitą (CR), a u 5 chorych remisję całkowitą, ale bez normalizacji liczby płytek (CRp) [13].

W ramach badań II fazy przeprowadzono 3 podobne badania obejmujące w sumie 142 chorych z CD33-dodatnią ostrą białaczką szpikową w pierwszej wznowie po uprzedniej remisji całkowitej trwającej przynajmniej 3 mies. W każdym badaniu stosowano gemtuzumab ozogamcin w dawce 9 mg/m² w 2-godzinym wlewie w dniach 1 i 15. U wszystkich 142 chorych uzyskano remisję w 30 proc. przypadków (u 23 chorych CR i u 19 chorych CRp – z liczbą płytek utrzymującą się poniżej 100 x 10⁶ G/l, ale nie wymagającą substytucji). Większość chorych otrzymywała następnie leczenie cytostatyczne, 28 było poddanych przeszczepieniu auto- i allogenicznym macierzystych komórek krwiotwórczych. Przeżycie roczne wynosiło 31 proc., co jest porównywalne z przeżyciem chorych na ostre białaczki szpikowe poddawanych chemioterapii ratunkowej z powodu nawrotu lub pierwotnie opornej choroby. Objawy uboczne stwierdzane w czasie leczenia były to przede wszystkim: gorączka, dreszcze, osłabienie, nudności, wymioty, bóle głowy, hiperbilirubinemia i wzrost aktywności transaminaz oraz mielosupresja. Zespół lizy guza zanotowano u 4 spośród 142 chorych (3 proc.). Wyniki przeprowadzonych



Ryc. 1. Model humanizowanego przeciwciała monoklonalnego anty-CD33-HuM195

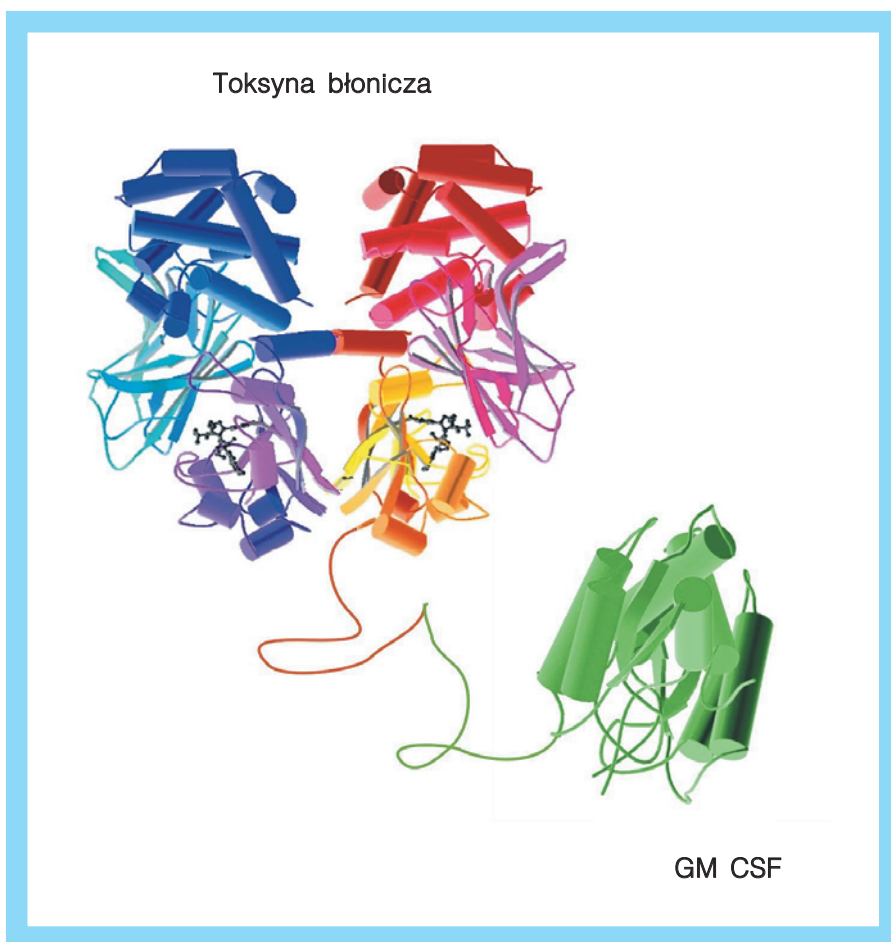
badani wskazywać więc, że zastosowanie gemtuzumab ozogamcin może być skutecznym postępowaniem u chorych ze wznową ostrej białaczki szpikowej, szczególnie u chorych z ostrą białaczką *de novo* bez poprzedzającego zespołu mielodysplastycznego i pierwszą remisją trwającą ponad 6 mies. [1, 2].

Nie stwierdzono związku reakcji na leczenie z ekspresją antygeny CD33 na komórkach białaczkowych, co może uzasadniać wykonanie badań z wykorzystaniem gemtuzumab ozogamcin również w ostrej białaczce szpikowej CD33-ujemnej. Zastosowanie leku u chorych w remisji oraz w ramach programów kondycjonujących przed transplantacją macierzystych komórek krwiotwórczych wymaga jeszcze badań.

^{131}I -BC8 (^{131}I -ANTY CD45)

Antygen CD45 jest stwierdzany na wszystkich leukocytach, w tym komórkach prekursorowych linii mieloidalnej i limfoidalnej w szpiku oraz na dojrzałych limfocytach w węzłach chłonnych [14]. U chorych na ostrą białaczkę szpikową w ponad 90 proc. stwierdza się ekspresję antygeny CD45 na komórkach nowotworowych.

^{131}I -BC8 jest mysim monoklonalnym przeciwciałem anty-CD45 uzyskiwanym w wyniku



Ryc. 2. Model białka fuzyjnego DTGM (toksyna błonicza sprzężona z GM-CSF)

immunizacji myszy linią CEM ludzkiej białaczki T-komórkowej, a następnie sprzężonym z izotopem promieniotwórczym jodu-131 [15]. Badania na zwierzętach potwierdziły szczególnie korzystną biodystrybucję przeciwciała z przewagą gromadzenia w tkance limfomato-poetycznej – w śledzionie, szpiku kostnym i węzłach chłonnych [14]. ^{131}I emituje promieniowanie *beta* i *gamma*, dzięki promieniowaniu *gamma* za pomocą radioimmunoscyntygrafii można monitorować jego farmakokinetykę oraz dystrybucję. Cząstki promieniowania *beta* emitowane przez ^{131}I umożliwiają wykorzystanie przeciwciała również w tych przypadkach, gdy na komórkach nowotworowych nie ma ekspresji antygenu CD45 lub są one *trudno dostępne* ze względu na np. gorsze ukrwienie, ale które znajdują się w sąsiedztwie komórek CD45 dodatnich (tzw. efekt *cross-fire*) [2].

Przeprowadzono badania z zastosowaniem ^{131}I -BC8 w celu zintensyfikowania leczenia kondycjonującego przed zabiegiem przeszczepienia macierzystych komórek krwiotwórczych szpiku (17 allogenicznych i 8 autologicznych) w połączeniu z cyklofosfamidem i napromienianiem całego ciała (TBI). U 13 z 25 chorych doszło do wznowy po 2 do 77 mies. po transplantacji, natomiast 7 chorych pozostawało w remisji od 15 do 89 mies. po zabiegu [14]. Inne badanie przeprowadzone przez Matthews i wsp. polega-

ło na podawaniu ^{131}I -BC8 w skojarzeniu z leżeniem busulfanem/cyklofosfamidem w leczeniu kondycjonującym przed allogenicznym przeszczepieniem komórek macierzystych u 24 chorych w pierwszej remisji ostrej białaczki szpikowej. 18 z 24 chorych pozostało w remisji po zabiegu transplantacji (mediana przeżycia 42 mies.). Tylko 4 chorych zmarło z powodu powikłań potransplantacyjnych i tylko u 2 chorych doszło do wznowy choroby, co stanowi 8 proc. i jest wynikiem znacznie korzystniejszym w porównaniu z historycznym odsetkiem 30 proc. wznów po allogenicznej transplantacji w pierwszej remisji ostrej białaczki szpikowej [16].

Wyniki wykonanych badań wskazują więc, że zastosowanie ^{131}I -BC8 w ramach programów kondycjonujących przed zabiegiem przeszczepienia komórek macierzystych wydaje się uzasadnione w celu eliminacji choroby resztkowej i umożliwiłoby zmniejszenie prawdopodobieństwa nawrotu choroby. Wymaga to jednak jeszcze opracowań obejmujących znacznie większe grupy chorych.

DTGM (DT-GM-CSF, DTCTGM-CSF, DT388-GM-CSF)

DTGM (*diphtheria fusion protein*) należy do grupy immunotoksyn i składa się z fragmentów łańcuchów katalicznego i łańcucha przenoszącego toksynę błoniczej przyłączonych do

ludzkiego czynnika stymulującego wzrost kolonii monocytarno-granulocytarnych – GM-CSF (ryc. 2.) [17]. GM-CSF i jego receptor bierze udział w regulacji proliferacji i różnicowania się komórek linii mieloidalnej i może również odgrywać rolę w patogenezie ostrych chorób mieloproliferacyjnych. Ze względu na to, że receptor dla GM-CSF także jest obecny na komórkach białaczkowych, może być częścią receptora również dla tego leku i pośredniczyć w eliminacji tych komórek. Połączenie toksyny błoniczej z GM-CSF umożliwia wykorzystanie toksycznego działania toksyny na komórkę po przyłączeniu cząsteczki rekombinowanego białka fuzyjnego do powierzchni komórek białaczkowych poprzez receptor dla GM-CSF [18]. Działanie toksyny błoniczej polega na hamowaniu syntezy białek rybosomalnych oraz indukowaniu mechanizmów apoptozy [19, 20].

Chociaż zarówno komórki blastyczne w większości przypadków ostrej białaczki szpikowej, jak również prawidłowe prekursorowe komórki mieloidalne posiadają receptor dla GM-CSF, DTGM jest względnie nietoksyczna dla komórek prawidłowych, podczas gdy w 48-godzinnej hodowli doprowadza do znaczącego zmniejszenia liczby komórek białaczkowych, tworzących kolonie (*leukemic colony-forming cells* CFU-L). Siła *niszcząca* działania DTGM zależy od ekspresji receptorów GM-CSF o wysokim powinowactwie na powierzchni komórek białaczkowych [21].

Badania z zastosowaniem DTGM przeprowadzone *in vitro* oraz u SCID myszy z ludzką ostrą białaczką szpikową, u których stwierdzano znaczne zmniejszenie liczby komórek blastycznych w szpiku, a nawet remisje całkowite, stwarzają podstawę do dalszych badań klinicznych [22, 23, 24]. DTGM zastosowano w ramach badań I fazy u 25 chorych z oporną lub w okresie wznowy ostrą białaczką szpikową, podając lek przez 5 dni w dawce 1–5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ w 15-minutowym wlewie dożylnym. Objawy uboczne były stosunkowo niewielkie – gorączka, dreszcze i zwiększenie aktywności transaminaz. U 6 z 20 chorych leczonych większą dawką leku (3–5 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{dobę}$) stwierdzono ponad 90-procentowe zmniejszenie liczby komórek blastycznych we krwi obwodowej i szpiku. U 3 chorych natomiast uzyskano całkowitą eliminację blastów ze szpiku i krwi obwodowej, ale nie uzyskano normalizacji liczby płytek po 7., 2. i 1. miesiącu [2].

PODSUMOWANIE

Niezadowalająca skuteczność leczenia ostrej białaczki szpikowej klasyczną chemioterapią, nawet z wykorzystaniem zabiegów allogenicznego przeszczepiania macierzystych komórek krwiotwórczych, dodatkowo znaczna toksyczność stosowanych metod leczenia zmuszają do poszukiwania nowych leków i sposobów leczenia. Jednym z kierunków jest wykorzystanie metod skierowanych bezpośrednio na komórki nowotworowe, leczenie

przeciwciałami monoklonalnymi wydaje się więc obiecującą strategią postępowania.

Dotychczasowe wyniki badań pozwalają na wysunięcie pewnych wniosków. Zastosowanie przeciwciał monoklonalnych wydaje się szczególnie uzasadnione w leczeniu minimalnej choroby resztkowej, potwierdzają to wyniki leczenia ostrej białaczki promielocytowej przeciwciałem monoklonalnym HuM195 oraz wyniki leczenia w postaci uzyskiwanych remisji po zastosowaniu DTGM u chorych z ostrą białaczką szpikową z odsetkiem <40 proc. blastów w szpiku [2, 10].

Izotopy emitujące promieniowanie *alfa*, np. ²¹³Bi są skuteczniejsze w leczeniu minimalnej choroby resztkowej i mniej toksyczne dla prawidłowych komórek szpiku. Natomiast izotopy emitujące promieniowanie *beta*, np. ⁹⁰Y są znacznie bardziej mieloablacyjne i mogą być wykorzystane w schematach kondycjonujących przed przeszczepieniem macierzystych komórek krwiotwórczych. Wstępne wyniki badań wskazują, że połączenie chemioterapii z leczeniem przeciwciałami monoklonalnymi oraz białkami fuzyjnymi ma działanie synergistyczne i tego typu leczenie zwiększa odsetek pozytywnych odpowiedzi, ale wykorzystanie tych metod leczenia w ramach standardowej chemioterapii wymaga zakończenia aktualnie prowadzonych badań I i II fazy [2, 3, 25].

Ocena zastosowania tych metod leczenia u chorych z oporną białaczką po wielokrotnych kursach chemioterapii, a więc z prawdopodobnie dużą liczbą chemioopornych blastów wymaga również dalszych badań, dotychczasowe wyniki zastosowania w tych przypadkach przeciwciał monoklonalnych dowodzą lepszych wyników leczenia u chorych w okresie pierwszej wznowy (gemtuzumab ozogamicin) niż okresie późniejszym. Dalszy rozwój metod leczenia z zastosowaniem przeciwciał monoklonalnych i białek fuzyjnych oraz ustalenie ich znaczenia w leczeniu ostrej białaczki szpikowej wymaga jeszcze kolejnych badań klinicznych.

PIŚMIENNICTWO

1. Appelbaum FR. *Antibody-targeted therapy for myeloid leukemia*. Semin Hematol 1999; 36 (Suppl 6): 2-8.
2. Frankel AE, Schuster MW, Juracic JG. *Novel therapeutics for chemotherapy-resistant acute myeloid leukemia*. BioDrugs 2001; 15: 55-71.
3. Ruffner KL, Matthews DC. *Current uses of monoclonal antibodies in the treatment of acute leukemia*. Semin Oncol 2000; 27: 531-9.
4. Weisburg JH, Roepe PD, Dzekunov S, et al. *Intracellular pH and multidrug resistance regulate complement-mediated cytotoxicity of nucleated human cells*. J Biol Chem 1999; 274: 10877-88.
5. Paul SP, Taylor LS, Stansburg EK, et al. *Myeloid specific human CD33 is an inhibitory receptor with differential ITIM function in recruiting the phosphatases SHP-1 and SHP-2*. Blood 2000; 96: 483-90.
6. McDevitt MR, Finn RD, Ma D, et al. *Preparation of a-emitting ²¹³Bi-labeled antibody constructs for clinical use*. J Nucl Med 1999; 40: 1722-7.
7. Nikula TK, McDevitt MR, Finn RD, et al. *Alpha-emitting bismuth cyclohexylbenzyl DTPA constructs of recombinant humanized anti CD33 antibodies: pharmacokinetics, bioactivity, toxicity and chemistry*. J Nucl Med 1999; 40: 166-76.
8. Juracic JG. *Antibody therapy of acute myelogenous leukemia*. Cancer Biother Radiopharm 2000; 15: 319-26.
9. McGraw KJ, Rosenblum MG, Chenung L, et al. *Characterization of murine and humanized anti-CD33, gelonin immunotoxins reactive against myeloid leukemias*. Cancer Immunol Immunother 1994; 39: 367-74.
10. Juracic JG, DeBlasio J, Dumont L, Yao TJ, Scheinberg DA. *Molecular remission induction with retinoic acid and anti-CD33 monoclonal antibody HuM195 in acute promyelocytic leukemia*. Clin Cancer Res 2000; 6: 372-80.
11. Feldman E, Kalaycio M, Schulman P, et al. *Humanized monoclonal anti-CD33 antibody HuM195 in the treatment of relapse/refractory acute myelogenous leukemia. (AML): preliminary report of a phase II study*. Proc ASCO 1999; 18: 4a.
12. Caron PC, Dumont L, Scheinberg DA. *Supersaturating infusional humanized anti-CD33 monoclonal antibody HuM195 in myelogenous leukemia*. Clin Cancer Res 1998; 4: 1421-8.
13. Sievers EI, Appelbaum FR, Spielberger RT, et al. *Selective ablation of acute myeloid leukemia using antibody-targeted chemotherapy: a phase I study of an anti-CD33 calicheamicin immunconjugate*. Blood 1999; 93: 3678-84.
14. Matthewes DC, Appelbaum FR, Eary JF, et al. *Phase I study of (131I)-anti-CD45 antibody plus cyclophosphamide and total body irradiation for advanced acute leukemia and myelodysplastic syndrome*. Blood 1999; 94: 1237-47.
15. Matthewes DC, Appelbaum FR, Eary JF, et al. *Radiolabeled anti-CD45 monoclonal antibodies target lymphohematopoietic tissue in the macaque*. Blood 1991; 78: 1864-74.
16. Matthewes DC, Appelbaum FR, Eary JF, et al. *[¹³¹I]-anti-CD45 antibody plus busulfan/cyclophosphamide in match-related transplants for AML in first remission*. Blood 1996; 88 Suppl. 1: 142a.
17. Frankel AE, Ramage J, Latimer A, et al. *High-level expression and purification of the recombinant diphtheria fusion toxin DTGM for phase I clinical trials*. Protein Expr Purif 1999; 16: 190-201.
18. Bendel AE, Shao Y, Davies SM, Warman BE, Yang CH, Waddick KG, Uckun FM, Perentesis JP. *A recombinant fusion toxin targeted to the granulocyte-macrophage colony-stimulating receptor*. Leuk Lymphoma 1997; 25: 257-70.
19. Frankel AE, Hall PD, Burbage C, Vesely J, Willingham M., Bhalla K, Kreitman RJ. *Modulation of the apoptotic response of human myeloid leukemia cells to a diphtheria toxin granulocyte-macrophage colony-stimulating factor fusion protein*. Blood 1997; 90: 3654-61.
20. Perentesis JP, Waddick KG, Bendel AE, Shao Y, Warman BE, Chandan-Langlie M, Uckun FM. *Induction of apoptosis in multidrug-resistant and radiation-resistant acute myeloid leukemia cells by a recombinant fusion toxin directed against the human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor receptor*. Clin Cancer Res 1997; 3: 347-55.
21. Hogge DE, Willman CL, Kreitman RJ, et al. *Malignant progenitors from patients with acute myelogenous leukemia are sensitive to a diphtheria toxin-granulocyte-macrophage colony-stimulating factor fusion protein*. Blood 1998; 92: 589-95.
22. Feurning-Buske M, Frankel A, Gerhard B, Hogge D. *Variable cytotoxicity of diphtheria toxin 388-granulocyte-macrophage colony-stimulating factor fusion protein for acute myelogenous leukemia stem cells*. Exp Hematol 2000; 28: 1390-400.
23. Terpstra W, Rozemuller H, Breems DA, et al. *Diphtheria toxin fused to granulocyte-macrophage colony-stimulating factor eliminates acute myeloid leukemia cells with potential to initiate leukemia in immunodeficient mice, but spares normal hematopoietic stem cells*. Blood 1997; 90: 3735-42.
24. Hall PD, Kreitman RJ, Willingham MC, et al. *Diphtheria toxin fused to granulocyte-macrophage colony-stimulating factor prolongs the survival of scid mice bearing human acute myelogenous leukemia*. Leukemia 1999; 13: 629-33.
25. Kim CN, Bhalla K, Kreitman RJ, et al. *Diphtheria toxin fused to granulocyte-macrophage colony-stimulating factor and Ara-C exert synergistic toxicity against human AML HL-60 cells*. Leukemia Res 1999; 23: 527-38.

ADRES DO KORESPONDENCJI

dr n. med. **Monika Paluszewska**
Katedra i Klinika Hematologii,
Onkologii i Chorób Wewnętrznych
Akademii Medycznej
ul. Banacha 1a
02-097 Warszawa
tel./fax 022 659 75 77