

Transfuze a hematologie *časopis*

ČASOPIS SPOLEČNOSTI PRO TRANSFUZNÍ LÉKAŘSTVÍ
A ČESKÉ HEMATOLOGICKÉ SPOLEČNOSTI



Časopis je indexován v EMBASE/Excerpta Medica a v EBSCO-Academic Search Complete.
Indexováno a excerpováno v databázi SCOPUS.
Excerpováno v BIBLIOGRAPHIA MEDICA ČECHOSLOVACA.
Vydání časopisu bylo podpořeno Ministerstvem zdravotnictví České republiky.

XXXIV. OLOMOUCKÉ HEMATOLOGICKÉ DNY

XXIV. Konference ošetřovatelství a zdravotních laborantů
13th Symposium on Advances in Molecular Hematology

Sborník abstraktů



Vydává ČLS JEP. ISSN 1213-5763. ISSN pro on-line přístup 1805-4587.

ročník 28 | 2022 | **Supplementum 2**

REMISE

1L CLL **VENCLYXTO®**
+ Obinutuzumab

• **74,0%** 4leté PFS
(VEN+O vs. 35,4% Clb+O)²

• **85,3%** 4leté OS
(VEN+O vs. 83,1% Clb+O)²

STOP
po 1 roce

2L CLL **VENCLYXTO®**
+ Rituximab

• **54%** 5leté PFS
(VEN+R vs. 17% BR)¹

• **82%** odhad 5leté OS
(VEN+R vs. 62% BR)¹

STOP
po 2 letech

1L AML **VENCLYXTO®**
+ HMA

• **66%** Kompletní remise
(CR/CRi)
(VEN+AZA vs. 28% PBO+AZA)³

• **14,7^m** Medián OS
(VEN+AZA vs. 9,6 m PBO+AZA)³

VÍCE SVOBODY
díky nezávislosti
na transfúzích

Venetoklax (Venetoklax) • Zkrácené informace o léčivém přípravku • **Název léčivého přípravku:** Venetoklax 10 mg potahované tablety; Venetoklax 50 mg potahované tablety; Venetoklax 100 mg potahované tablety. **Název účinné látky:** venetoklax. **Indikace:** Přípravek Venetoklax v kombinaci s obinutuzumabem je indikován k léčbě dospělých pacientů s dosud neléčenou chronickou lymfocytární leukémií (CLL). Přípravek Venetoklax v kombinaci s rituximabem je indikován k léčbě dospělých pacientů s CLL, kteří dostali minimálně jednu předchozí léčbu. Monoterapií přípravkem Venetoklax je indikována k léčbě CLL s delecí 17p nebo mutací genu TP53 u dospělých pacientů nevhodných k léčbě inhibitory dráhy B-buněčného receptoru, nebo u nichž tato léčba selhala, nebo s absencí delecce 17p nebo mutace genu TP53 u dospělých pacientů, u nichž selhala chemioimunitativní léčba inhibitory dráhy B-buněčného receptoru. Přípravek Venetoklax v kombinaci s hypometylačními látkami je indikován k léčbě dospělých pacientů s nově diagnostikovanou akutní myeloidní leukémií (AML), kteří nejsou způsobilí k intenzivní chemoterapii. **Kontraindikace:** Hypersenzitivita na léčivou látku nebo na kteroukoli pomocnou látku; U pacientů s CLL současně použití se silnými inhibitory CYP3A při zahájení terapie a během titrace dávky; u všech pacientů užívání přípravků obsahujících trezalku tečkovou. **Dávkování a způsob podání:** Léčbu venetoklaxem musí zahájit a monitorovat lékař se zkušenostmi s použitím protinádorových léčivých přípravků. U pacientů léčených venetoklaxem se může vyvinout syndrom nádorového rozpadu (tumor lysis syndrom, TLS). K prevenci a snížení rizika TLS je třeba se řídit informacemi napsanými v SPC, včetně hodnocení rizika, profylaktických opatření, plánu titrace dávky, laboratorního monitorování a lékových interakcí. Riziko TLS je neustále zápolené na mnoha faktorech včetně komorbidit (zejména snížené funkce ledvin), vysoké nádorové zátěže a splenomegalie při CLL. Podávání se musí v případě potřeby přerušit, při opětovném zahájení léčby venetoklaxem je třeba postupovat podle pokynů k modifikaci dávky v SPC. CLL zahajovací dávka je 20 mg venetoklaxu jednou denně po dobu 7 dnů. Dávka se musí po dobu 5 týdnů postupně zvyšovat (bližší údaje viz SPC) až na denní dávku 400 mg. Úbělem pětidenní titrace dávky je postupně zmenšování nádorové zátěže (tzv. debulking) a snížení rizika TLS při léčbě CLL i AML viz SPC. **Zvláštní populace:** U starších pacientů (ve věku ≥65 let) není třeba upravovat dávku. U pacientů s lehkou, středně těžkou nebo těžkou poruchou funkce ledvin (CrCl ≥ 15 ml/min a < 90 ml/min) není úprava dávky nutná. Venetoklax se má pacientům s těžkou poruchou funkce ledvin (CrCl ≥ 15 ml/min a < 30 ml/min) podávat jen v případě, že přínos převládá riziko, a pacienti je třeba důkladněji monitorovat kvůli známám toxicity vzhledem ke zvýšenému riziku TLS. U pacientů s lehkou nebo středně těžkou poruchou funkce jater se žádná úprava dávky nedoporučuje, ale u pacientů se středně těžkou poruchou funkce jater je třeba při zahájení terapie a ve fázi titrace dávky důkladněji monitorovat známky toxicity. U pacientů s těžkou poruchou funkce jater je doporučeno v průběhu léčby snížit dávku minimálně o 50 %. Tyto pacienty je třeba důkladněji monitorovat kvůli známám toxicity. Bezpečnost a účinnost přípravku Venetoklax u dětí do 18 let nebyla stanovena. **Způsob podání:** Perorální podání, tablety se mají polykat celé a zapít vodou každý den přibližně ve stejnou dobu. Tablety se musí užívat s jídlem. **Zvláštní upozornění a varování:** CLL: Vyšší riziko TLS při zahájení léčby venetoklaxem mají pacienti s vysokou nádorovou zátěží, riziko dále zvyšuje snížená funkce ledvin (CrCl < 80 ml/min). U pacientů je třeba posoudit riziko a mají dostávat příslušnou profylaxi TLS včetně hydratace a antihyperkalemických látek. Je třeba monitorovat biochemické parametry krve a abnormality neprodleně řešit. Podávání se musí v případě potřeby přerušit. U pacientů léčených venetoklaxem ve studiích v kombinaci s rituximabem nebo obinutuzumabem nebo v monoterapii byla hlášena neutropenie 3. nebo 4. stupně. Během léčby se musí monitorovat úplný krevní obraz. U pacientů s těžkou neutropenií se doporučuje přerušit léčbu nebo snížit dávku. Byly hlášeny závažné infekce včetně případů sepsise s fatálním zakončením. Při podezření na infekci je třeba ihned podat léčbu včetně antimikrobiálních látek a podávání venetoklaxu přerušit nebo snížit jeho dávku. AML: u pacientů je třeba dodržovat profylaktická opatření proti TLS. Všichni pacienti mají mít před zahájením podávání venetoklaxu počet leukocytů < 25 × 10⁹/l a před léčbou může být vyžadována cytoredukce. Všichni pacienti mají být před zahájením první dávky venetoklaxu a během fáze titrace dávky dostatečně hydratováni a mají dostávat přípravky snižující hyperurikémii. Zhodnoťte biochemické hodnoty v krvi (draslík, kyselina močová, fosfor, vápník a kreatinin) a preexistující abnormality korigujte před zahájením léčby venetoklaxem. Sledujte biochemické hodnoty v krvi související s TLS podle časového harmonogramu uvedeného v SPC. U pacientů s rizikovými faktory pro TLS se mají zavést další opatření včetně intenzivnějšího laboratorního monitorování a snížení zahajovací dávky venetoklaxu. U pacientů s AML je před zahájením léčby častá neutropenie 3. nebo 4. stupně. Počet neutrofilů se může při podávání venetoklaxu v kombinaci s hypometylačními látkami zhoršit. Neutropenie se může v dalších cyklech léčby vyskytnout znovu. Během léčby se musí monitorovat úplný krevní obraz. U pacientů s těžkou neutropenií se doporučuje přerušit léčbu nebo snížit dávku. Byly hlášeny závažné infekce včetně případů sepsise s fatálním zakončením. Při podezření na infekci je třeba ihned podat léčbu včetně antimikrobiálních látek a podávání venetoklaxu přerušit nebo snížit jeho dávku a použít růstové faktory (např. G-CSF), podle potřeby. Úprava dávky venetoklaxu z důvodu nežádoucích účinků jsou podrobně uvedeny v SPC. **Nežádoucí účinky:** CLL: Nejčastějšími nežádoucími účinky (≥ 20 %) libovolného stupně u pacientů, kteří dostávali venetoklax ve studiích v kombinaci s obinutuzumabem nebo rituximabem, byly neutropenie, průjem a infekce horních cest dýchacích. Ve studiích v monoterapii byly nejčastějšími nežádoucími účinky neutropenie/snížení počtu neutrofilů, průjem, nauzea, anémie, únava a infekce horních cest dýchacích. Nejčastějšími uvažovanými závažnými nežádoucími účinky (≥ 2 %) u pacientů, kteří dostávali venetoklax v kombinaci s obinutuzumabem nebo rituximabem, byly pneumonie, sepsa, febrilní neutropenie a TLS. Ve studiích v monoterapii byly nejčastějšími uvažovanými závažnými nežádoucími účinky (≥ 2 %) pneumonie a febrilní neutropenie. **Přerušit léčbu a snížit dávku kvůli nežádoucím účinkům u CLL:** K ukončení léčby kvůli nežádoucím účinkům došlo u 16 % pacientů léčených venetoklaxem v kombinaci s obinutuzumabem nebo rituximabem ve studiích CLL14 a MURANO. Ve studiích v monoterapii s venetoklaxem ukončilo léčbu 11 % pacientů u důsledku nežádoucích účinků. Ke snížení dávky kvůli nežádoucím účinkům bylo přistoupeno u 21 % pacientů léčených kombinací venetoklaxu a obinutuzumabu ve studii CLL14, u 15 % pacientů léčených kombinací venetoklaxu a rituximabu ve studii MURANO a u 14 % pacientů léčených venetoklaxem ve studiích v monoterapii. K přerušení léčby v důsledku nežádoucích účinků došlo u 74 % pacientů léčených kombinací venetoklaxu a obinutuzumabu ve studii CLL14 a u 71 % pacientů léčených kombinací venetoklaxu a rituximabu ve studii MURANO; nejčastějším nežádoucím účinkem, který vedl k přerušení léčby venetoklaxu, byla neutropenie (41 % ve studii CLL14 a 43 % ve studii MURANO). Ve studiích v monoterapii s venetoklaxem došlo k přerušení léčby v důsledku nežádoucích účinků u 40 % pacientů; nejčastějším nežádoucím účinkem, který vedl k přerušení léčby, byla neutropenie (5 %). AML: Ve studii VAlE-A byly u pacientů léčených venetoklaxem v kombinaci s azacitidinem nejčastějšími se vyskytujícími nežádoucími účinky (≥ 20 %) kterohokální stupně trombocytopenie, neutropenie, febrilní neutropenie, nauzea, průjem, zvracení, anémie, únava, pneumonie, hypokalemie a snížená chuť k jídlu. Nejčastějšími závažnými nežádoucími účinky (≥ 5 %) u pacientů, kteří dostávali venetoklax v kombinaci s azacitidinem, byly febrilní neutropenie, pneumonie, sepsa a krvácení. Ve studii M14-358 byly u pacientů léčených venetoklaxem v kombinaci s decitabinem nejčastějšími se vyskytujícími nežádoucími účinky (≥ 20 %) kterohokální stupně trombocytopenie, febrilní neutropenie, nauzea, krvácení, pneumonie, průjem, únava, závrat/synkopa, zvracení, neutropenie, hypotenze, hypokalemie, snížená chuť k jídlu, bolest hlavy, bolest břicha a anémie. Nejčastějšími závažnými nežádoucími účinky (≥ 5 %) byly febrilní neutropenie, pneumonie, bakteriémie a sepsa. 30denní mortalita ve studii VAlE-A byla 7,4 % (21/283) v rámci s venetoklaxem v kombinaci s azacitidinem a 6,3 % (9/144) v rámci s placebem a azacitidinem. 30denní mortalita ve studii M14-358 byla u venetoklaxu v kombinaci s decitabinem 6,5 % (2/31). Přerušit léčbu a snížit dávku kvůli nežádoucím účinkům u AML: Ve studii VAlE-A došlo k ukončení podávání venetoklaxu v důsledku nežádoucích účinků u 24 % pacientů léčených kombinací venetoklaxu a azacitidinu. Ke snížení dávkování venetoklaxu v důsledku nežádoucích účinků došlo u 2 % pacientů. K přerušení podávání venetoklaxu v důsledku nežádoucích účinků došlo u 72 % pacientů. U pacientů, u kterých došlo k vymezení leukemických buněk z kostní dřeně, bylo u 63 % podávání přerušeno z důvodu ANC < 500/mikrolitr. Nejčastějšími nežádoucími účinky, které vedly k přerušení podávání venetoklaxu (≥ 10 %), byly febrilní neutropenie, neutropenie, pneumonie a trombocytopenie. Ve studii M14-358 došlo k ukončení podávání v důsledku nežádoucích účinků u 26 % pacientů léčených kombinací venetoklaxu a decitabinu. Ke snížení dávky v důsledku nežádoucích účinků došlo u 6 % pacientů. K přerušení podávání v důsledku nežádoucích účinků došlo u 65 % pacientů; nejčastějšími nežádoucími účinky, které vedly k přerušení podávání venetoklaxu, byly febrilní neutropenie, neutropenie/snížený počet neutrofilů, pneumonie, snížený počet trombocytů a snížený počet leukocytů. **Interakce:** Silné nebo středně silné inhibitory CYP3A (např. ketokonazol, itraconazol, posakonazol, vorikonazol, klaritromycin), inhibitory P-gp a BCRP, induktory CYP3A, azithromycin, látky snižující hladinu žlučových kyselin, sekvencetransy žlučových kyselin, warfarin, mohou změnit expozici venetoklaxu a může být zvýšeno riziko TLS při zahájení terapie a během titrace dávky. Pacienti je třeba důkladněji monitorovat kvůli známám toxicity a může být zapotřebí dávku dále upravit (podrobnosti viz SPC). Venetoklax se nemá podávat současně se silnými nebo středně silnými inhibitory CYP3A. **Těhotenství a kojení:** Ženy se během užívání přípravku Venetoklax po dobu nejméně 30 dnů po ukončení léčby mají vyhnout otěhotnění. Ženy ve fertilitní nebo proto musí během užívání venetoklaxu a po dobu nejméně 30 dnů po ukončení léčby používat vysoce účinnou antikoncepci. V současné době není známo, zda venetoklax může snížit účinnost hormonální antikoncepce, a proto ženy užívající hormonální antikoncepci mají předat i barierovou metodu. Během léčby přípravkem Venetoklax je třeba přerušit kojení. **Uchovávaní:** žádné zvláštní podmínky uchovávaní. **Balení:** Venetoklax 10 mg, 10 nebo 14 tablet; Venetoklax 50 mg, 5 nebo 7 tablet; Venetoklax 100 mg, 7 nebo 14 tablet nebo vícenásobné balení 112 tablet. **Držitel rozhodnutí o registraci:** AbbVie Deutschland GmbH & Co. KG, Knollstrasse, 67061 Ludwigshafen, Německo. **Registrační čísla:** Venetoklax 10 mg: EU/1/16/1138/001 (10 tablet), EU/1/16/1138/002 (14 tablet); Venetoklax 50 mg: EU/1/16/1138/003 (5 tablet), EU/1/16/1138/004 (7 tablet); Venetoklax 100 mg: EU/1/16/1138/005 (7 tablet), EU/1/16/1138/006 (14 tablet), EU/1/16/1138/007 (112 tablet). **Poslední revize textu:** 06/2021. Přípravek je vázán na předpis lékaře a je hrazen smluvními zdravotnickými zařízeními z veřejného zdravotního pojištění u pacientů s CLL pro indikace schválené pro kombinaci s obinutuzumabem nebo rituximabem či v monoterapii.

Tento léčivý přípravek podléhá dalšímu sledování. To umožní rychlé získání nových informací o bezpečnosti. Žádáme zdravotnické pracovníky, aby hlásili jakákoli podezření na nežádoucí účinky. CZ-VNCLY-220001
Seznamte se, prosím, s úplnou informací o přípravku dříve, než jej předepíšete.

Transfuze a hematologie *dnes*

ročník 28 | 2022 | Supplementum 2



26.–28. 5. 2022
NH COLLECTION OLOMOUC CONGRESS

XXXIV. OLOMOUCKÉ HEMATOLOGICKÉ DNY

XXIV. Konference ošetrovatelství a zdravotních laborantů
13th Symposium on Advances in Molecular Hematology

POŘADATELÉ

Nadace HAIMAOM

POD ZÁŠTITOU

České hematologické společnosti ČLS JEP

prof. MUDr. Josefa Zdražila, CSc., děkana LF UP v Olomouci

prof. MUDr. Romana Havlíka, Ph.D., ředitele FN Olomouc

Sekce onkologie České asociace sester

VÝBOR

Prezident sjezdu a odborný garant

prof. MUDr. Tomáš Papajík, CSc.

Čestný prezident sjezdu

prof. MUDr. Karel Indrák, DrSc.

Předseda vědeckého výboru

doc. MUDr. et Mgr. Jiří Minařík, Ph.D.

Předseda organizačního výboru

prim. MUDr. Antonín Hluší, Ph.D.

Vědecký a organizační výbor XXXIV. OHD 2022

prof. MUDr. Edgar Faber, Ph.D.
prof. MUDr. Dagmar Pospíšilová, Ph.D.
prof. MUDr. Vít Procházka, Ph.D.
doc. MUDr. Jaroslav Bačovský, Ph.D.
doc. RNDr. Vladimír Divoký, Ph.D.

doc. Dr. Eva Kriegová
doc. MUDr. Luděk Raida, Ph.D.
doc. MUDr. Luděk Slavík, Ph.D.
doc. MUDr. Tomáš Szotkowski, Ph.D.
RNDr. Milena Holzerová, Ph.D.
MUDr. Adam Kuba, Ph.D.

MUDr. Aleš Obr, Ph.D.
MUDr. Tomáš Pika, Ph.D.
MUDr. Jana Procházková, Ph.D.
Mgr. Helena Urbánková, Ph.D.
MUDr. Renata Urbanová, Ph.D.

Garanti konference ošetrovatelství a zdravotních laborantů

Mgr. Monika Labudíková

Bc. Veronika Hájková

Bc. Jana Kadlecová

Mgr. Jarmila Juráňová

Garanti Symposium on Advances in Molecular Hematology

doc. Dr. Eva Kriegová
Mgr. Helena Urbánková, Ph.D.

ORGANIZAČNÍ ZAJIŠTĚNÍ KONGRESU:

Meritis, s.r.o., Obrovského 644, 141 00 Praha 4

e-mail: ohd2022@meritis.cz, tel.: 272 774 065, www.olhemdny.cz

Alžběta Matějovská (organizace kongresu), tel.: 731 109 563

Dita Bílková (sponzoring, vystavovatelé), tel.: 739 571 536

Jitka Dobrevová (registrace, ubytování), tel.: 737 287 522

Obsah

Pořadatelé kongresu	2S3
XXXIV. olomoucké hematologické dny	
1. Postgraduální sekce 1	2S5
2. Wiedermannova přednáška	2S11
3. Postgraduální sekce 2	2S13
4. Maligní lymfomy	2S19
5. Monoklonální gamapatie	2S22
6. Akutní leukémie	2S25
7. Myeloidní neoplazie a vzácná onemocnění	2S29
8. Transplantace a buněčná terapie	2S32
9. Cytomorfologie v hematologii	2S37
10. Hematologie a transfuze dnes	2S39
11. Chronická lymfocytární leukémie	2S42
12. Myeloproliferativní nemoci a chronická myeloidní leukémie	2S45
13 th Symposium on Advances in Molecular Hematology	2S50
Posterová sekce	2S54
Rejstřík	2S75

1. POSTGRADUÁLNÍ SEKCE 1

HEMOFILIE A GENETIKA K SOBĚ NEROZLUČNĚ PATŘÍ

Blatný J.

FN Brno

Hemofilie je vrozené, geneticky podmíněné onemocnění. Často bývá nazývána královskou nemocí. Ne snad proto, že by jí trpěli jen vladaři, ale proto, že ji někteří z nich proslavili. Byli to zejména potomci královny Viktorie. Posledním z nich byl pak carevič Alexej. Někteří dokonce uvádí, že to byla právě nemoc mladého careviče, která zaměstnávala cara Mikuláše II natolik, že podcenil nebezpečí nastupujícího bolševismu. To se jemu i jeho rodině stalo osudným. Carevič Alexej trpěl hemofilii B.

Hemofilie je známa již z Talmudu, či Bible. V centru zájmu vědy se objevuje od 19 století. V roce 1820 název „Hemofilie“ poprvé použil Schoenlein. V roce 1893 byl u osob s hemofilii prokázán prodloužený čas srážení krve a deficit FVIII jako příčina hemofilie A byl objeven v roce 1947. O 5 let později byla objasněna příčina hemofilie B. Oba dva typy této nemoci jsou dány alterací jednoho z genů, nacházejících se na chromozomu X. Její dědičnost je tedy gonozomálně recesivní. Jedná se tím pádem o nemoc, která je vhodná ke studiu i výkladu vlastností dědičnosti a která je rovněž velmi dobrým adeptem pro genovou léčbu, jenž je dnes snad již na dohled. Léčba hemofilie ale nebyla v minulosti taková, jakou ji známe dnes.

První léčebné pokusy nebyly založeny na vědeckých poznatcích a patřilo k nim i zařikávání. Později následovala podpůrná léčba, která měla omezit vlastní krvácení, nebo jeho následky. Ani ta ale neměla dostatečný efekt. Vědeckými poznatky podložená léčba se datuje od doby objevu, že plazma koriguje prodloužený čas krvácení u osob s hemofilii, tedy od první poloviny minulého století. Ve 30. letech byla poprvé k léčbě použita plná krev, později pak plazma zdravých dárců. V roce 1964 byl objeven kryoprecipitát, který se stal první cílenou a opravdu účinnou léčbou. Následoval vývoj a masivní použití plazmatických koncentrátů krevního srážení. Tento pokrok zbrzdila celosvětová epidemie HIV v 80. letech 20. století, která právě hemofilickou komunitu zasáhla velmi podstatně. Když byly v roce 1985 klonovány geny pro FVIII a FIX otevřela se cesta k vývoji rekombinantních léčiv, která kromě léčebného efektu přinášela i vysokou bezpečnost.

V Evropě od 70. let, v ČR od konce 90. let 20. století se standardem léčby hemofilie stala tzv. profylaxe. Jedná se o opakovaně nitrožilní podávání koncentrátů chybějícího faktoru ve snaze udržet vyšší hladinu v plazmě a tím snížit počet a závažnost krvácení. Místo léčby vlastního krvácení je snaha mu předejít. Původní práce prof. Nilsson hovořila o potřebě udržet hladinu chybějícího faktoru nad 1 %. Princip profylaktické léčby od té doby zůstal zachován, jen se mění její vnímání a doporučení s tím spojená. Například poslední jednání EDQM (*The European Directorate for the Quality of Medicines*

& HealthCare) poradního orgánu Rady Evropy z roku 2020 hovoří již o minimální hladině 3–5 %. To je možno zejména díky koncentrátům faktorů s prodlouženým účinkem – tzv. EHL (*extended half life*) koncentrátům. Ty se před nedávnou dobou staly první předzvěstí přicházející (r)evoluce v léčbě hemofilie. Po desítkách let stagnace se nyní něco zásadního děje.

Faktory s prodlouženým účinkem – EHL koncentráty využívají různý způsob, jak ochránit vulnerabilní molekulu FVIII či FIX a prodloužit tak její poločas. Daří se to zejména u EHL FIX, kde je možné nyní lék podávat v intervalu jednoho až dvou týdnů a minimální hodnoty se bezpečně drží nad 3 %, často i násobně výše. Díky tomu, že poločas FIX není na rozdíl od FVIII ovlivněn jinou molekulou, jej lze prodloužit až 5x. U FVIII, jehož poločas je ovlivněn zejména vazbou na vWF lze poločas prodloužit cca 1,5x. V klinickém zkoušení je pak i EHL FVIII efanesoctocog alfa (BIVV001) s modifikací nejen FVIII, ale právě i vWF, který umožní prodloužit poločas faktoru podobně, jako u FIX, tedy zhruba 4x. Díky EHL je tak možno interval podávání léků prodloužit na maximálně 2x týdně a minimálně (zatím zejména u FIX) 1x za dva týdny. EHL preparáty jsou rovněž velmi dobře použitelné pro ITI (*immune tolerance induction*) tam, kde vznikl při léčbě FVIII inhibitor.

Nefaktorová léčba (*non-factor treatment – NFT*) – Zásadní změnou je však zavedení NFT. Prvním z takových léčiv, které je navíc již i registrováno pro klinické použití, je bi-specifická monoklonální protilátka – emicizumab. Je schopna vazbou na FIX a FX zajistit generaci trombinu i bez přítomnosti FVIII. Jeho efekt není tím pádem ani závislý na přítomnosti inhibitoru FVIII. Co je snad největší změnou je, že lék je podáván podkožně s intervalem, který lze prodloužit až na 1x za 28 dní. Podle studií řady HAVEN je redukce počtu léčených krvácení vyšší, než 90 %. To potvrzují i data z reálné praxe. Navíc se zdá, že tento lék bude účinný nejen u osob s těžkou hemofilii, ale i se střední a lehkou. Emicizumab navíc zbyl hemofilii jejího největšího postrachu v posledních desítkách let – inhibitorů.

Další z NFT je fitusiran, jedna z molekul, která nemá nahradit funkci chybějícího faktoru ale snížením inhibice krevního srážení nastolit novou rovnováhu. Nedostatečný potenciál krevního srážení tak není kompenzován jeho znovuoobením, ale snížením potenciálu antikoagulačního. Fitusiran – malá RNA molekula interferující s tvorbou Antitrombinu má takové ambice. Nyní probíhají klinické studie fáze 3 s tímto lékem. Původní klinický program spojený s vývojem tohoto léku cílil na snížení AT k hodnotám kolem 10 %. Poté, co v roce jeden z pacientů ve studii zemřel na následky krvácení, který bylo způsoben CNS trombózou, byl projekt pozastaven. Nové studie cílí na redukcii AT na hodnoty mezi 15 a 35 %. Stále se ale jedná o hodnoty, které bychom za jiných okolností považovali za těžký deficit antitrombinu. Nyní probíhající klinické studie prokazují snížení ABR (*annual bleeding rate*) u osob s hemofilii A či B až o 90 % ve srovnání s léčbou OD (*on-demand*) u osob s těžkou formou nemoci s nebo bez inhibitorů.

Concizumab je posledním z nejčastěji citované trojice podkožně podávané NFT. Jedná se o protilátku proti TFPI. I zde je snahou nastolit novou rovnováhu ponížením antikoagulačního efektu, v tomto případě TFPI. I tuto molekulu provázelo pozastavení klinických studií fáze 3 pro tromboembolické příhody, které však v tomto případě nebyly fatální.

Genová léčba – Genová léčba hemofilie spočívá nejčastěji v transfekci daného genu pomocí virového vektoru, nejčastěji AAV (*adeno-associated virus*). Slibnější je v této fázi zejména genová léčba hemofilie B

V současné době proběhly studie fáze 1 a 2 s různými vektory a s různými genovými konstrukty. Některé používají běžný geny pro daný faktor, některé – např. studie B-AMAZE – gen exprimující faktor FIX se zvýšenou aktivitou (*gain-of-function*), tzv. „Padua“ variantu. To umožňuje dosáhnout s relativně nízkou náloží vektoru uspokojivé a dlouhodobě (2–3 roky) udržitelné hladiny FIX. Jiná, ale podobně koncipovaná studie potvrzuje hladiny FIX v době až 5 let od podání vektoru. Probíhají i klinické studie fáze 3.

Pokud se týká hemofilie A, je konstrukce vektoru díky velikosti genu FVIII složitější, nicméně i zde je efekt léčby u některých pacientů dlouhodobý. Problematický je nicméně fakt, že exprese dotčeného faktoru je u různých jednotlivců rozdílná a není predikovatelná. I tak je nicméně povzbudivé, že i u genové léčby hemofilie A je exprese faktoru patrná minimálně v horizontu několika let. Problémem genové léčby je zatím stále nutnost steroidní léčby pro elevaci jaterních testů u nemalé části pacientů. Není předem jasné, který pacient na léčbu zareaguje a jak. Podání genové léčby (např. formou klinické studie) může pacienta vyřadit z možnosti podání jiné genové léčby v budoucnosti.

Hemofilie je onemocněním, na němž lze sledovat rozvoj genetiky. Genetika umožnila poznat jeho patofyziologii. Genetika umožnila vyvinout bezpečnou substituční léčbu. Díky genetice jsou zkoumány a realizovány některé z možností nefaktorové léčby. A bude to právě genová léčba, která snad v budoucnu toto onemocnění vyřeší zcela. Hemofilie a genetika tedy patří nerozlučně k sobě.

TROMBOFILIE

Penka M., Matýšková M.

FN Brno

Poruchy hemostázy můžeme dle typu postižení dělit na krvácivé stavy a stavy se zvýšeným rizikem trombózy, tedy trombofilie. Vrozené krvácivé stavy jsou vzácné, vrozené lehké trombofilie poměrně časté (faktor V Leiden, mutace protrombinu G20210A), většinou ale nemusí být doprovázeny klinickými projevy. Závažné trombofilie (defekt antitrombinu, proteínu C či S, homozygotní defekty nebo kombinace) jsou vzácné. Významně častější jsou získané poruchy, které provázejí celou řadu chorob.

Trombofilie jsou vrozeným nebo získaným defektem hemostázy, který je s největší pravděpodobností příčinou zvýšeného sklonu k trombóze. O klinické trombofilii mluvíme, pokud se trombóza

projeví v mladším věku (žilní před 40.–45. rokem věku, tepenná před 35. rokem věku, vč. trombóza u novorozence), zejména tzv. idiopatická trombóza, pokud je trombóza v atypické lokalizaci, migrující, při mnohočetné lokalizaci, recidivách, pokud jsou kombinovány tepenné i žilní. Dále v případech významně pozitivní rodinné anamnézy (projevy u nejbližších příbuzných). U žen při opakovaných ztrátách plodu (tři a více následných samovolných potratů před 10. týdnem gestace, jedno a více úmrtí morfologicky normálního plodu po 10. týdnu gestace), příp. u komplikací těhotenství. Tato klinická definice nás může upozornit na jedince, u kterých je vhodné zvážit vyšetření laboratorních rizikových faktorů.

Trombóza jako symptom je závažnou komplikací mnoha klinických stavů, nevzniká ale v důsledku vlivu jednoho rizikového faktoru. Její patogeneze je vždy komplexní, multifaktoriální.

Žilní tromboembolismus (*venous thromboembolism* – VTE) je třetí nejčastější onemocnění cévního systému a nejčastější příčina smrti (0,5 milionu/rok v EU). Pojem VTE pokrývá široké spektrum od asymptomatických trombóz lýtkových po klinicky významné hluboké žilní trombózy (*deep vein thrombosis* – DVT) vč. plicní embolie (*embolie pulmonaire* – EP). Incidence trombózy závisí na rase, a u různých ras je také rozdílný výskyt především vrozených rizikových faktorů. Riziko recidivy trombózy je asi o 60 % vyšší u mužů než u žen; riziko je vyšší 6–12 měsíců po ukončení antitrombotické léčby bez ohledu na její trvání. Je známá celá řada faktorů, které se u jedinců s trombózou vyskytují častěji.

Poněkud překvapující je, že i přes narůstající poznatky o rizicích trombózy a tím i lepší možnosti prevence/profylaxe incidence TEN neklesá.

Rizikové faktory pro tepenné a žilní tromboembolické stavy jsou rozdílné. Pro VTE jsou to především infekční choroby a sepse, nádorová onemocnění, chirurgické zákroky, těhotenství, užívání HAK. Pro tepenné především kouření, hypertenze, diabetes, metabolický syndrom, a hyperlipidemie. Epidemiologické studie z posledního desetiletí však ukazují, že řada rizikových faktorů může být společná – např. věk, metabolický syndrom.

Pokud se na pojem trombofilie podíváme z širšího pohledu, tj. vč. získaných faktorů, které riziko trombózy zvyšují, tak nejdůležitější, a hlavně neovlivnitelný, je věk, rasa, pohlaví, výška jedinců a krevní skupina ABO systému.

Celková incidence VTE se významně dle pohlaví neliší, pokud se ale porovnává výskyt v jednotlivých věkových skupinách, ukazuje se, že rozdíly jsou významné. Trombóza je častější u žen do věku cca 60 let (za důvod se považuje těhotenství a užívání hormonální kontracepce – HAK), poté je však častější u mužů. Riziko recidivy trombózy je asi o 60% vyšší u mužů než u žen. Příčina není jasná, zvažuje se vliv výšky u mužů, nebo např. vliv genetických polymorfismů vázaných na X či Y chromozom. F9 Malmö (rs6048 A>G) je jeden z polymorfismů, který je asociován se zvýšeným rizikem DVT. Mechanismus působení však dosud není objasněn

Incidence trombózy také závisí na rase. Nejvyšší je u černé rasy, a to asi o 30–60 % vyšší v porovnání s bílou rasou. Tento vyšší výskyt je ve všech věkových skupinách, bez ohledu na pohlaví, je i vyšší incidence VTE v souvislosti s těhotenstvím. Obdobně je u černé rasy

i vyšší frekvence plicní embolie vč. tzv. idiopatické. Smrtelné plicní embolie se u nehospitalizovaných pacientů černé rasy vyskytují v mladším věku oproti bílé populaci (v průměru o 9 let), podobně jako u Hispánců. Nejnížší výskyt VTE je u asijské populace.

Vyšší incidence VTE u černé rasy není dosud objasněna – FVL, PT20210A se nalézají výjimečně, častěji se ale vyskytuje zvýšená hladina FVIII a VWF, a to i přes vyšší výskyt krevní skupiny 0 a je také popsána nižší hladina proteinu C.

Krevní skupina – Krevní skupina v ABO systému je opomíjeným rizikovým faktorem. V roce 1969 zjistili Jick et al. nižší výskyt KS 0 ve skupině osob s antikoagulační léčbou. Toto vedlo k další studii se závěrem, že ve skupině jedinců s trombozou je krevní skupina 0 zastoupena méně, než je v dané populaci. Tato anomálie je zřetelnější, pokud se tromboza vyvinula u žen při podávání HAK nebo v souvislosti s těhotenstvím. Hlavně u žen s trombozou při HAK a v graviditě je výrazně nižší zastoupení krevní skupiny 0 oproti A, lépe oproti jiné krevní skupině než 0 (ne-0). Obecně se udává, že osoby se skupinou A, B či AB (ne-0) mají cca 2× vyšší riziko trombózy oproti osobám s krevní skupinou 0. Tento vliv je pozorován i u tepenných trombóz. Vrozené trombofilie vliv krevní skupiny dále zvyšují. Příčina není zcela jasná. Je známo, že osoby s krevní skupinou 0 mají v průměru o 25 % nižší hladinu faktoru VIII a von Willebrandova faktoru. Rozdíly se zvýrazňují, pokud se nepoužívá dělení pouze dle fenotypu (tj. A, B, AB a 0), ale podle genotypu (tj. AA, AH, ...). Antigeny A, B a H jsou exprimovány na povrchu mnoha buněk, nejen červených krvinek, ale i trombocytů, endotelu a např. i na molekule VWF. Předpokládá se, že se vyskytují v blízkosti vazebného místa pro ADAMTS13 (enzym štěpící VWF) na A2 doméně. A ukazuje se, že antigeny A a B snižují schopnost VWF vázat ADAMTS13, a tím zpomalují jeho štěpení, na rozdíl od antigenu H (fenotypicky krevní skupina 0). Zvýšené riziko ne-0 krevní skupiny však přetrvává i po korekci FVIII a VWF a je zřejmě závislé na antigenu 0(H).

Faktor V Leiden – Pokud zůstaneme u neovlivnitelných faktorů, je nutné sem zařadit i vrozené mutace/polymorfismy. Jako genetické rizikové faktory především žilní trombózy (VT) jsou uznávány faktor V Leiden (FVL), protrombin (PT) G20210A, defekt antitrombinu (AT), proteinu C či S (PC, PS), krevní skupina ABO systému, a vzácná dysfibrinogenémie.

V Evropě patří mezi nejčastější rizikový faktor tzv. rezistence na aktivovaný protein C (APCR) v důsledku polymorfismu faktoru V – FVL. Prevalence je udávána 3–8 % v populaci, v ČR 4,5 až cca 7 %. Výskyt FVL u etnik mimo bílou rasu je vzácný. Bodová mutace v místě rychlého štěpení faktoru Va (Arg506Gln – R506Q; G1691A) vede k delšímu setrvání FVa v plazmě, a tím i většímu množství generovaného trombinu. Tento polymorfismus také ovlivňuje funkci FV jako kofaktoru aktivovaného proteinu C při štěpení FVIII, což opět zvyšuje generaci trombinu, a tím pokračování krevního srážení.

FVL je balanční, resp. adaptační polymorfismus s některými výhodami pro své nositele, např. nižší krevní ztráty, bylo popsáno i menší riziko mozkových krvácení.

Klinicky se defekt projevuje většinou distální žilní trombozou (hlavně hlubokou, ale je popsána i povrchová), která se

objeví v zátěžových (rizikových) situacích. Riziko trombózy se u heterozygotní formy zvyšuje cca 3–8×, u homozygotní cca 20–50×. FVL není rizikový faktor pro EP. Riziko recidivy trombózy není zvýšené nebo pouze mírně. FVL nezvyšuje významně riziko tepenných trombóz s výjimkou mladých žen kuřáček.

Řada prací upozornila na to, že APCR (vrozená nebo získaná) sama o sobě, tj. bez leidského polymorfismu, riziko trombózy také zvyšuje.

Se získanou APCR se setkáváme např. při užívání HAK, HRT, v těhotenství, u nádorových onemocnění, v přítomnosti antifosfolipidových protilátek, zvýšené hladiny FVIII.

Haplotyp HR2 faktoru V nemá klinický význam.

Protrombin G20210A – U polymorfismu PT G20210A, který se nalézá cca u 6 % jedinců s VTE, se vedle 2–3× vyššího rizika DVT, zvyšuje i výskyt EP. PT20210A se také vyskytuje především u bílé rasy a výskyt klesá v Evropě od jihu k severu. PT není považován za rizikový faktor infarktu myokardu.

Přestože asociace těchto defektů s VT je jasně prokázána, ukazuje se, že většina osob s FVL či PT20210A nikdy v životě trombozu neměla a mít nebude. V rodinách bez trombózy je riziko menší. Tyto defekty neovlivňují ani mortalitu – výskyt v různých věkových skupinách je stejný.

FVL, PT20210A jsou dominantně dědičné, podobně jako většina defektů přirozených inhibitorů (antitrombin, protein C, protein S). Tyto jsou také primárně sdruženy s žilními trombozami a zvyšují riziko EP. Klinická manifestace a její tíže vždy závisí na typu defektu. Typ I je vlastní nedostatek, je proporcionálně snížena inhibiční aktivita i antigen (kvantitativní); typ II je funkční (kvalitativní) defekt – je porušena aktivita, koncentrace proteinu bývá v normě. U jednotlivých defektů se setkáváme s velkou heterogenitou projevů, typ I má většinou těžší a časnější projevy.

Antitrombin – Antitrombin (AT) je serpin (inhibitor serinových proteáz – SERPINC1), který inhibuje především trombin a FXa zejména v přítomnosti heparinu a jemu podobných látek. Typ II se dělí na tři podtypy, dle poruchy funkčního místa – porucha reakčního místa (RS), místa pro vazbu heparinu (HBS) a pleiotropní defekt. Klinicky se jeho defekt projevuje trombozami hlubokých žil hlavně dolních končetin a plicní embolií, ev. atypickou lokalizací trombóz (trombózy splachnicku, mozkových splavů). Riziko trombózy je udáváno různě – 8–19×, závisí na typu defektu – zejména některé typy I patří k těžkým rizikovým faktorům. Riziko trombózy je v dětství malé a významně stoupá kolem 20. roku věku. Tj. první manifestace se může objevit v období puberty, obvykle bez zjevné příčiny nebo po lehčím úraze. U žen se setkáváme s TEN v těhotenství a šestinedělí. Většina nositelů defektu AT má první projevy trombózy do 50 let věku, medián je udáván cca 28 let. I když defekt antitrombinu není řazen mezi RF tepenných trombóz, upozorňují nově někteří autoři na možnost zvýšení rizika nejen žilních trombóz, ale např. i infarktu myokardu (např. antitrombin Cambridge II (A384S).

Defekt zjistíme přímým stanovením AT, u podezření na vrozený defekt je vhodné i stanovení antigenu. Jak se ukazuje, některé variantní antitrombiny nemusí být při běžném stanovení zjistitelné.

Aktivita při použití reagenty na bázi anti-Xa aktivity i anti-IIa aktivity může dávat výsledky ve fyziologických mezích a při důvodném podezření na defekt je nezbytné molekulárně genetické vyšetření s cílem nalezení kauzální mutace. Získaný defekt AT vídáme např. u polytraumat, sepse, hepatopatie, při nefrotickém syndromu, při podávání heparinu.

Podstatou většiny defektů AT, vč. typů I, jsou bodové mutace. Přehled popsaných genetických defektů je na internetu k dispozici v „Antithrombin Mutation Database“.

Protein C a S – Protein C a S, K-dependenční faktory, jsou další důležité přirozené inhibitory krevního srážení. Klinicky se jejich defekt může projevit již v dětství; bývají žilní trombózy hlavně dolních končetin, ale i trombózy v netypických místech (horní končetiny), vč. žil povrchových, jsou popsány i tepenné trombózy. U homozygotních jedinců se defekt v raném dětství může projevit stavem nazvaným „purpura fulminans“ (mikrotrombózy kapilár, jejichž následkem dojde k poškození cévní stěny prokrvácením). U dospělých se i u heterozygotů můžeme setkat s kožní nekrózou po kumarinech, opět v důsledku poklesu PC, kdy dochází k mikrotrombózám cév kůže s následnou nekrózou v těchto místech. PC má kratší poločas než většina ostatních faktorů na K vitamínu závislých, a proto se v úvodu podávání dikumarinů může takto projevit jeho defekt.

Genetickým podkladem defektů PC jsou nejčastěji, jako u většiny trombofilních defektů, bodové mutace, kterých je popsáno více než 160. Klinicky je důležité, že defekty PC se v různých rodinách chovají jako autozomálně dominantní (AD) nebo recesivní (AR). AR defekty jsou poměrně časté a mají relativně nízké riziko trombózy (frekvence v populaci je udávána až 0,5 %). Dosud není vysvětleno, proč se geneticky tentýž defekt v různých rodinách projevuje různě. Pravděpodobně jde o interakce s jinými, dosud nepopsanými defekty nebo polymorfismy.

U defektů proteinu C je situace komplikována tím, že se aktivita proteinu C u některých defektů překrývá se zdravou populací (někdy se mluví o šedé zóně). V těchto případech je interpretace laboratorního nálezu bez genetického vyšetření velmi obtížná.

Laboratorní diagnostiku defektu proteinu S komplikuje skutečnost, že cca 60 % PS koluje v plazmě navázána na C4bBP. Proto se také vrozené defekty proteinu S se dělí na klasický typ I – kvantitativní defekt, a typ II – snížení aktivity, ale hladina celkového i volného antigenu je v normě (kvalitativní) a typ III, kdy je snížení aktivity a volného proteinu S, ale normální celkový protein. Gen PS = *PROS1* se nachází na dlouhém raménku 3 chromozomu. Genetickou diagnostiku ale významně komplikuje přítomnost pseudogenu *PROS2*, který je také lokalizován na 3. chromozomu. U defektů PS je popsáno již více než 130 mutací.

Vzácné jsou vrozené dysfibrinogenémie, které mohou být doprovázeny jak krvácením, tak i trombózami. Prevalence tohoto vrozeného defektu u osob s TEN v anamnéze se odhaduje pod 1 %, prevalence trombózy mezi pacienty s dysfibrinogenémií je neznáma, odhaduje se na 10–20 %.

Smišené rizikové faktory – Mezi rizikové faktory smíšené etiologie (tj. kombinace vrozené dispozice a získaných faktorů) jsou řazeny

zvýšené hladiny koagulačních faktorů, především FVIII, fibrinogenu a hyperhomocysteinémie.

Zvýšená hladina FVIII je nezávislý rizikový faktor trombózy i její recidivy; relativní riziko (RR) VT 3× vyšší (FVIII > 150 % x < 150 %) a 6× vyšší (FVIII > 150 % x < 100 %), navíc riziko stoupá o 10 % s vzestupem FVIII o 10 %. Hladina není závislá na reakci akutní fáze, je prokázáno minimální kolísání hladiny FVIII a rodinná závislost. FVIII zvyšuje i riziko recidivy TEN po první trombotické příhodě. V posledních letech se v rámci GWAS (*genome-wide association studies*) našlo několik polymorfismů, v jiných genech, příp. jejich kombinací, které hladinu faktoru VIII ovlivňují. Jedná se např. o kombinaci SNP rs9804128-AG (nalézá se v promotorové oblasti genu IGSF21 – immunoglobulin superfamily, member 21) a rs4784279-AG (*Iroquois homeobox gene family* – IRX3). Interakce těchto dvou polymorfismů moduluje hladinu FVIII – nejvyšší je nalézána u nositelů rs9804128-G a rs4784279-A.

Zvýšená hladina fibrinogenu je také diskutována jako rizikový faktor jak tepenných, tak žilních trombóz.

Homocystein (Hc) je metabolit metioninu, k jeho přeměně jsou jako kofaktory nezbytné vitaminy skupiny B. Příčin vrozené či získané hyperhomocysteinémie (HHc) je celá řada. Nejčastější vrozenou příčinou jsou defekty enzymů, hlavně cystathion-β-syntetázy (CBS) a metylen-tetrahydrofolát reduktázy (MTHFR). HHc je spojována s kardiovaskulárním postižením a s hlubokými žilními trombózami, vztah mírné HHc (16–30 μmol/l) k žilní tromboembolické nemoci je však stále kontraverzní. Hladinu Hc významně ovlivňuje strava (vitaminy B), léky, klinický stav, věk a pohlaví. Genetické vyšetření není běžně indikováno. Zejména stále stanovované polymorfismy MTHFR C677T a A1298T nejsou rizikovými faktory TEN.

GWAS (celogenomové asociační studie) – Pátrání po vrozených rizikových faktorech trombóz je věnováno v posledních letech velké úsilí, zatím však bez významnějších výsledků.

V současnosti ani rozsáhlé tzv. celogenomové asociační studie (GWAS) zatím nevedly k identifikaci faktorů zvyšujících riziko TEN a současně natolik rozšířených, aby se vyplatilo je rutinně testovat. Je vytipováno několik „kandidátních genů“, nalezena řada polymorfismů nejrůznějších proteinů, které se v některých studiích ukazují jako sdružené s vyšším rizikem trombóz.

Řada studií přináší velmi zajímavé výsledky. Např. jsou popsány další polymorfismy ABO genu na chromozomu 9, které zvyšují riziko trombózy nezávisle na krevní skupině. V genu *F11* je popsána řada polymorfismů a jejich haplotypy, které zřejmě také hrají roli při zvýšení rizika VTE (Germain 2011). Mezi geny, které jsou podezřelé z ovlivňování rizika TEN, jsou i takové, které, dle dosavadních znalostí, většinou s krevním srážením souvisí jen nepřímo – např. *STAB2* (stabilin 2), *CYP4V2*, *STXBP5* (syntaxin-binding protein 5 – tomosyn), *HIVEP1* (HIV type I enhancer binding protein 1), *TC2N* (tandem C2 domains nuclear protein). Nové práce se také zabývají možnými interakcemi mezi jednotlivými polymorfismy. Zatím se zdá být důležitá pouze interakce zvyšující hladiny FVIII, který je řazen mezi tzv. smíšené rizikové faktory – viz výše (Greliche N et al. 2013, Morange PE. JTH 2011).

Indikace vyšetření trombofilie – Není žádná absolutní indikace vyšetření trombofilie. Většina osob s laboratorní trombofilii nebude mít v životě trombotickou příhodu.

Problematické vyšetřování vrozených trombofilních dispozic je v literatuře věnována řada publikací, část z nich se přiklání k indikaci vyšetření při splnění klinických kritérií (většinou vedle věku minimálně jedno další), zčásti je vyšetření zcela zpochybňováno. Obecně je přijímáno, že vyšetření na vrozené trombofilie není indikováno u osob nad cca 45 let. Klinický význam tohoto vyšetření je však diskutován.

Vyšetření vrozené trombofilie je vhodné v případě, že nositel bude z vyšetření profitovat, tj. pokud bude mladší 40–45 let bude možná lepší prevence v zátěžových situacích (vč. těhotenství), případně zvažování indikace HAK či substituce. Ve vyšším věku se profylaxe už běžně podává. Tj. pátrání po defektu je vhodné u osoby do cca 45 let (většinou udávané rozmezí 40–50), hlavně pokud se jedná o tzv. idiopatickou trombózu nebo o recidivující stavy, pokud jde o tepennou i VT bez známé jiné choroby v anamnéze, nebo u ženy s opakovanými potraty, zejména s pozitivní rodinnou anamnézou (RA). Před nasazením HAK či v graviditě je detekce FVL indikována pouze v případě pozitivní osobní či RA.

Nalezený defekt neovlivní postup při léčbě akutní TEN a nemá význam pro určení délky trvání antikoagulace. Délka léčby se bude řídit tíží příhody, tj. klinickým nálezem, souběžnými chorobami, komplikacemi léčby, anamnézou či přídatnými rizikovými faktory (budeme jinak postupovat při trombóze po operaci a jinak u tzv. „idiopatické“). Delší profylaxe se doporučuje pouze, pokud první příhoda byla život ohrožující či idiopatická. Při zvažování ukončení léčby je třeba zohlednit nejen aktuální klinický stav, ale i aktuální laboratorní výsledky. Význam má zejména stanovení D-dimerů, které může upozornit na vyšší riziko trombózy v případě vysazení antikoagulační léčby. Laboratorní trombofilie má vyšší riziko recidivy TEN v případě vysazení antikoagulační léčby po třech měsících. V případě vysazení po jednom roce nehraje vrozená trombofilie žádnou roli v riziku recidivy.

Po jedné trombotické příhodě většinou není indikována doživotní antikoagulační léčba, ani v případě nemocného s nalezeným vrozeným rizikovým faktorem. A už vůbec není nález defektu důvodem pro nasazení této léčby u osob bez projevů TEN.

Vyšetření není doporučeno u bezpříznakových členů rodin zejména vyššího věku.

Vyšetřování trombofilie není zdůvodnitelné u zdravých jedinců do cca 15 let, je ale vhodný v rizikových situacích. V rodině by prováděné vyšetření mělo být vždy cílené, není indikováno vyšetření celého spektra trombofilních faktorů. Při zvažování indikace vyšetření bychom měli dle typu trombózy rozlišovat, které faktory vyšetřit. Tj. nevyšetřovat např. celé spektrum rizikových faktorů pro VTE u jedinců po infarktu myokardu.

Na získané trombofilní stavy je vhodné myslet u pacientů v každém věku.

Práce z poslední doby ukazují na vhodnost identifikace somatické mutace Janusovy tyrozin kinázy 2 (JAK2 V617F). Mutace se vyskytuje v různě velké frakci granulocytů periferní krve u drtivě většiny (65–

97 %) pacientů s polycytemia vera (PV), a je jí přisuzován zásadní význam v patogenezi tohoto onemocnění. Mutace se vyskytuje i u 30–57 % pacientů s esenciální trombocytémií a 35–95 % pacientů s chronickou idiopatickou myelofibrózou. Pozitivní nález může signalizovat časné stádium myeloproliferativní nemoci. U nosičů této mutace se obecně předpokládá vyšší riziko komplikací (trombózy, potraty apod.). Mutace by vždy měla být vyšetřena v případě výskytu trombózy v oblasti splachniku či mozku.

Nádorové onemocnění, zejména maligní, je doprovázeno řadou primárních i sekundárních projevů z postižených tkání či systémů, které často zvyšují riziko trombózy.

Mezi rizikové faktory trombózy patří i antifosfolipidové protilátky, na které je třeba pamatovat zejména v případě prodloužení APTT, lehčí trombocytopenie, zejména u osob s proběhlou trombózou, příp. u žen s opakovanými potraty či komplikacemi gravidity.

V případě trombózy zcela zapomínáme na skutečnost, že mikroangiopatické hemolytické anémie, např. i paroxysmální noční hemoglobinurie (PNH) mohou být jednou z příčin proběhlé trombózy. Klinická TEN je u 40 % pacientů s PNH (nepoznaná až u 60 %), u 21 % předchází TEN diagnóze PNH. Patogeneticky se jedná o nekontrolovanou aktivaci komplementu (C5b-9, C5a) s následným poškozením cévního endotelu a aktivací krevních buněk s expresí tkáňového faktoru. Poškození je na úrovni glykosylfosfatidyl inositolu (GPI), který váže k buněčné membráně řadu proteinů. Nejčastěji je mutace v genu *PIG-A*. Tento gen je lokalizován na X chromozomu, a u nemocných s PNH jde nejčastěji o mutaci jedné báze nebo delecii či inserci několika bází, u těžkých forem choroby bývají přítomny i rozsáhlejší defekty, vznikající např. chybným sestřihem nepřepisovaných částí genomu.

Incidence trombózy u nositelů vrozených defektů je velmi variabilní. Řada nikdy trombózu neměla a mít nebude, a naopak někteří mají těžké trombotické příhody již v mladém věku. Incidence trombózy u nositelů FVL z rodin, kde anamnesticky trombóza nebyla, mají nižší incidenci než jedinci s pozitivní rodinnou anamnézou.

Potvrzuje to multifaktoriální patogenezi trombózy a vzájemného ovlivňování rizikových faktorů (interakce genové, prostředí, ovlivnění věkem). Vyšetření vrozených rizikových faktorů trombózy by mělo být prováděno u mladších jedinců s významně pozitivní rodinou anamnézou. Vyšetření není indikováno u starších osob. Ve většině případů však nález trombofilního defektu neovlivní léčebné postupy. Sama anamnéza trombotických příhod je indikací k důslednější prevenci/profylaxi v zátěžových situacích. Nikdy bychom neměli provádět vyšetření bez toho, abychom vyšetřovanému nevysvětlili důvod vyšetření. Neměli bychom provádět vyšetření pro vyšetření, kdy závěrem je pouze sdělení, že polymorfismus/ mutace je či není přítomna a neobjasníme význam daného stanovení. V indikovaných případech by měly být vyšetřeny všechny známé faktory, nejen polymorfismy FV Leiden či PT20210A. Pacientům je nezbytné poskytnout řádnou informaci o vyšetření, o rizicích, o možné prevenci/profylaxi. I u bezpříznakových „pacientů“ (jedná se o zdravé jedince) bychom si na vysvětlení vždy měli najít čas a neměli bychom je bezpředmětně vystrašit.

Literatura

1. Eldor A. Thrombophilia, thrombosis and pregnancy. *Thromb Haemost.* 2011;86(1):104–111.
2. Ginsberg JS. Thromboembolism and pregnancy. *Thromb Haemost.* 1999;82(2):620–625.
3. Haas S. Management of venous thromboembolism. *Hamostaseologie* 1998;18:18–26.
4. Hirsh J, Dalen JE, Anderson DR, et al. Oral anticoagulants: mechanism of action, clinical Effectiveness, and optimal therapeutic range. *Chest* 2001;119(1 Suppl):8S–21S. doi: 10.1378/chest.119.1_suppl.8s.
5. Hyers TM, Agnelli G, Hull RD, et al. Antithrombotic therapy for venous thromboembolic disease. *Chest* 2001; 119(1 Suppl):176S–193S. doi: 10.1378/chest.119.1_suppl.176s.
6. Prins MH, Hutten BA, Koopman MWH, Buller HR. Long-term treatment of venous thromboembolic disease. *Thromb Haemost.* 1999;82(2):892–898.
7. Rosendaal FR. Risk factors in venous thrombotic disease. *Thromb Haemost.* 1999;82(2):610–619.
8. Falanga A, Marchetti M. Thrombosis in myeloproliferative neoplasms. *Semin Thromb Hemost.* 2014;40(3):348–358. doi: 10.1055/s-0034-1370794.
9. Brodsky RA. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood.* 2014;124(18):2804–2811. doi: 10.1182/blood-2014-02-522128.
10. Gavrilaki E, Brodsky RA. Complementopathies and precision medicine. *J Clin Invest.* 2020;130(5):2152–2163. doi: 10.1172/JCI136094.

GENETICKY PODMÍNĚNĚ CYTOPENIE

Pospíšilová D.

Dětská klinika LF UP a FN Olomouc

I přes obrovské pokroky v diagnostice a léčbě hematologických maligních onemocnění, především leukémií a lymfomů, stále zůstává skupina vzácně se vyskytujících heterogenních nemocí s atypickými hematologickými projevy, u kterých vzhledem k jejich mnohdy ojedinělému výskytu teprve dnes postupně poznáváme jejich podstatu. Společným rysem této heterogenní skupiny nemocí jsou izolované a kombinované cytopenie charakterizované deficitem buněk jedné nebo více buněčných linií.

Tato skupina nemocí zahrnuje geneticky podmíněné poruchy struktury a funkce erytrocytů, leukocytů a trombocytů, ale také syndromy selhání kostní dřeně, mitochondriopatie, primární imunodeficity a jiná onemocnění. Pacientům s vzácným onemocněním nemůžeme vždy nabídnout adekvátní léčbu, protože nejsou k dispozici doporučené postupy ani léčebné protokoly. K objasnění jejich etiologie je nezřídka nutno použít řadu speciálních vyšetření vyžadujících interdisciplinární spolupráci cytogenetiků, biologů, chemiků, imuno-

logů, molekulárních a klinických genetiků, kteří musí zajistit analýzu nalezené změny genomu a vyšetření celé rodiny. Odhalení správné diagnózy pacienta, často až po dlouhém pátrání, umožňuje v mnoha případech najít adekvátní léčbu.

K příkladům vzácných a mnohdy až raritních geneticky podmíněných cytopenií diagnostikovaných v našem centru patří např.:

1. erytrocytární enzymopatie, manifestující se jako hemolytická anémie, způsobená mutací v genu pro *pyrimidine-5-nukleotidázu* (P5'N-1), která vede k depozici pyrimidin-nukleotidů v erythrocytech;
2. hypochromní mikrocytární anémie s přetížením organismu železem, která vznikla na podkladu mutace v genu kódujícím membránový přenašeč železa – divalent metal transporter 1 (DMT1) a která způsobuje poruchu transportu železa v erytroidních buňkách;
3. vzácná *dyserythropoetická anémie typu IV* s neobvykle těžkým průběhem způsobená zárodečnou mutací genu pro KLF1;
4. hypochromní mikrocytární anémie bez odpovědi na perorální podávání železa, tzv. *iron-refractory iron deficiency anemia* (IRIDA), způsobená mutací genu pro *TMPRSS6*, která má za následek zvýšení hladiny hepcidinu vedoucí ke sníženému vstřebávání železa ve střevě;
5. chronická neutropenie s pankreatickou insuficiencí – Shwachmanův-Diamondův syndrom s rozvojem Akutní lymfoblastické leukémie;
6. chronická trombocytopenie spojená s imunodeficitem, asociovaná se zárodečnou mutací genu pro *GATA2*;
7. vzácné onemocnění *Pseudoxanthoma elasticum*, zapříčiněné mutací genu pro *ABCC6* protein a vyznačující se kalcifikacemi a postižením cév pojivové tkáně a kůže, nalezené u pacienta s mírnou erythrocytózou a neobvykle výraznou hypertenzí (190/150 mm Hg).

Úskalí diagnostiky a léčby těchto vzácných případů hematologických defektů budou detailněji prezentována v průběhu přednášky. Vzhledem k omezenému počtu případů různých typů a kombinací cytopenií je při objasnění jejich podstaty kromě interdisciplinární komunikace nezbytná i mezinárodní spolupráce s možností kooperace mezi evropskými hematologickými centry. K této spolupráci významně přispívá evropská síť center vzácných hematologických onemocnění **EuroBloodNet** zabývající se problematikou velmi vzácných onemocnění, do které od roku 2022 patří i hematologické centrum Fakultní nemocnice v Olomouci.

2. WIEDERMANNOVA PŘEDNÁŠKA

PŮL STOLETÍ DIAGNOSTIKY NON-PV ERYTROCYTÓZ V OLOMOUCI

ROZVOJ POZNÁNÍ, DIAGNOSTICKÉ POKROKY, LÉČEBNÉ PŘÍSTUPY
ALE I „PRIMUM NON NOCERE!“

Indrák K.

Hemato-onkologická klinika LF UP a FN Olomouc

Díky identifikaci mutací JAK2 v exonech 14 a 12 a stanovování hladiny erythropoetinu (EPO) se daří správně diagnostikovat 98 % pravých polycytemií, ale i další Ph-myeloproliferativní neoplázie (Ph-MPN) s erytrocytózou.

Cílem sdělení je s pomocí kazuistik ukázat vývoj diagnostiky a léčby non-PV erytrocytóz v posledním půl století a doplnit nové poznatky o příčinách non-PV vrozených familiárních erytrocytóz.

I. Získané erytrocytózy vznikají nejčastěji v důsledku centrální nebo periferní hypoxie. Příčinou jsou především kardiopulmonální nemoci. Se **srdečními vadami s pravo-levým zkratem** se dnes u dospělých nemocných, díky prenatalní diagnostice a kardiokirurgii, nesetkáváme. **Arteriovenózní (A-V) plicní zkraty** bývají nenápadné, někdy se na ně nemyslí a mohou být i s použitím moderních diagnostických přístupů pozdě identifikované. Přitom jsou většinou kauzálně (katetrizačně) léčitelné. Příčinou erytrocytózy mohou být i **cerebro-vaskulární malformace**, na které bychom měli myslet při bolestech hlavy nemocného, a také chronická obstrukční bronchopulmonální nemoc (**CHOPN**).

K erytrocytóze vede i zvýšená hladina erythropoetin stimulujících proteinů (EPS) např. u některých nádorů – **Grawitzův tumor**, myomatosa dělohy, hemangioblastom či feochromocytom; podávání léků stimulujících tvorbu EPO – androgeny, **kobalt**, **testosteron** (u něj ale není stimulace erythropoézy způsobena jen zvýšením hladiny EPO, ale i potlačením tvorby hepcidinu) a podávání EPS v rámci dopingů u sportovců.

Erytrocytózu mává 8–15 % nemocných **po transplantaci ledvin** a bývá provázena zvýšeným rizikem trombotických komplikací. Mechanismus není jasný, ale zvýšení hladiny EPO způsobuje angiotenzin II a tato znalost je využívána v léčbě.

Na erytrocytózu při **syndromu spánkové apnoe** (OSA) se dnes myslí častěji, než je pravděpodobně reálné. Chorobu potvrzují a léčí spánkové laboratoře, ale např. ve studiích s 1 604, resp. 512 pacienty s OSA mělo erytrocytózu pouze 1,6, resp. 1 % pacientů s OSA.

Erytrocytóza může provázet i **TEMPI** syndrom (telangiectázie, výrazně zvýšený EPO, erytrocytóza, monoklonální gamapatie, hromadění tekutiny kolem ledvin a plicní zkraty) či **POEMS** syndrom.

II. Vrozené – familiární erytrocytózy. Na základě poznatků o mutacích v signálních drahách podílejících se na vzniku vrozených familiárních erytrocytóz jsou tyto erytrocytózy klasifikovány do 8 podskupin – ECYT 1-8.

II. A. Primární vrozené familiární non-PV erytrocytózy bývají způsobeny mutacemi v erytroidních progenitorech. Charakteristická je hypersenzitivita erytroidních progenitorů k EPO.

Jako ECYT 1 je označována vrozená familiární erytrocytóza (PFCP) s nízkou hladinou EPO způsobená mutacemi v **erythropoetinovém receptoru (EPOR)**, kterou jsme diagnostikovali v několika rodinách.

Do této skupiny patří i vzácné **JAK2 kooperující germinální mutace** způsobující vrozené a familiární erytrocytózy asociované s nízkou/normální hladinou EPO, které jsme odhalili při našem výzkumu.

II. B. Sekundární vrozené – familiární non-PV erytrocytózy vznikají v důsledku zvýšení hladin faktorů stimulujících erythropoézu, ke kterému dochází ať už jejich nadprodukcí nebo v důsledku tkáňové hypoxie. Hladina EPO bývá zvýšená, případně normální, erytroidní progenitory pacientů nevykazují hypersenzitivitu k EPO. Příčinou vrozených sekundárních erytrocytóz bývají nejčastěji **mutace Hb zvyšující jeho afinitu ke kyslíku**. Mutace mohou být v β globinovém genu (ECYT6) – např. **Hb Olomouc**, nebo v α globinovém genu (ECYT7), ale sekundární vrozená familiární erytrocytóza může provázet i mutace způsobující deficit bisfosfoglycerát mutázy (BPGM) – ECYT8.

S diagnostikou erytrocytózy u **nosičů talasemického genu** s výraznou mikrocytózou dnes již většinou nebývá diagnostický problém.

II. C Vrozené familiární non-PV erytrocytózy s mutacemi v hypoxické signální dráze udržující homeostázu kyslíku představují velmi heterogenní skupinu. Souvisí to s komplexní regulací hypoxií indukovaného transkripčního faktoru – HIF, který, není-li adekvátně degradován, může aktivovat transkripci cílových genů i za normoxie. Hladina sérového EPO bývá zvýšená anebo neadekvátně normální vzhledem k hladině Hkt; erytroidní progenitory mohou, v některých případech, vykazovat hypersenzitivitu k EPO.

Nejčastěji bývají identifikovány mutace genu pro von Hippel-Lindau (VHL) protein – ECYT2, ale i další mutace v genech této signální dráhy: **EGLN1** kódující PHD2 (ECYT3) nebo **EPAS1** kódující HIF2A (ECYT4). **Homozygotní mutaci VHL u kongenitální erytrocytózy při idiopatické nadprodukcii EPO** jsme diagnostikovali v 1 rodině.

Recentně jsou v literatuře popisovány jako příčina vrozené familiární erytrocytózy i mutace v samotném **EPO** genu (ECYT5).

Ve svém sdělení ukážu nízkou specifitu diagnostiky erytrocytózy jen na základě hodnot Hb a Hkt podle WHO 2016 diagnostických kritérií a způsob, jak ev. obejít nedostupnost vyšetření objemu cirkulující krve pomocí ROC (receiving operating characteristic) regresních křivek. Představím návrh algoritmu diagnostiky non-PV erytrocytóz, ve kterém jsou moderní diagnostické přístupy u primárních erytrocytóz založeny na technologiích sekvenování nové generace (cílené, celoexomové, celogenomové) a na následném

funkčním ověřování nových, dosud nepopsaných genetických variant. Upozorním také na možná diagnostická úskalí.

Diagnostika non-PV erytrocytóz se zlepšuje, ale v hematologických ambulancích je stále více než 60 % nemocných bez kauzální diagnózy (idiopatické erytrocytózy), což ukazuje, že existují i jiné, dosud neidentifikované geny a mechanismy, které způsobují erytrocytózu.

„Léčba“ těchto stavů je zatím spíše intuitivní.

Léčebné přístupy k jednotlivým typům non-PV erytrocytóz nemají jednoznačná pravidla. Obavy jsou především z trombotických komplikací. Příčiny, které vedou k non-PV erytrocytóze jsou

doprovázeny buněčnými změnami, které by mohly zvýšit trombotické riziko bez ohledu na výši Hkt. Proto se při léčbě neřídíme jen hodnotou Hkt, ale především klinickými příznaky. Venepunkce by měla přinést nemocnému úlevu. Při kardiovaskulárním riziku podáváme antiagregancia a arteriální a žilní trombózy léčíme antikoagulancii. Nové léčebné přístupy se rýsují pro nemocné s vrozenou erytrocytózou způsobenou mutacemi v HIF signální dráze.

Podpořeno grantem MZČR NV19-07-00412.

3. POSTGRADUÁLNÍ SEKCE 2

CHRONICKÁ MYELOIDNÍ LEUKEMIE – OD POZNÁNÍ GENETICKÉ PODSTATY K CÍLENÉ LÉČBĚ ONEMOCNĚNÍ

Žáčková D.

FN Brno

Chronická myeloidní leukemie (CML) je vzácným klonálním myeloproliferativním onemocněním, kterému však náleží hned několik unikátních prvenství nejen mezi hematologickými nádory, ale v rámci celé onkologie. První popis leukemie jako takové a také první použití termínu „leukemie“ jsou datovány do roku 1847 a vztahují se velmi pravděpodobně právě k CML. V roce 1960, tedy v éře rozvoje necílené chemoterapie a hluboce před érou klinického využití alogenních transplantací, byl na půdě University of Pennsylvania popsán u pacientů s CML abnormálně zkrácený chromozom 22 jako v historii vůbec první cytogenetická odchylka asociovaná s nádorovým onemocněním. V průběhu následujících 30 let pak byla postupně odhalena podstata této odchylky, dle místa objevu nazvané chromozomem Philadelphia, rezultující v konstitutivně aktivovanou tyrozinkinázu BCR::ABL1, která je zodpovědná za patogenезi onemocnění a všechny jeho projevy.

Nově rozpoznávaný potenciální léčebný cíl vedl k intenzivnímu výzkumu, jehož vyústěním byla v roce 1992 syntéza prototypu specifického inhibitoru tyrozinkinázy (*tyrosine kinase inhibitor* – TKI) imatinibu. Nový nadějný lék prošel velmi úspěšně všemi fázemi klinického zkoušení, aby byl v roce 2001 uveden do klinické praxe jako nejrychleji schválený protinádorový lék v dosavadní historii. Výsledky léčby dosahované tabletami imatinibu předčily ve všech ukazatelích dosavadní léčebné modalitu, a CML se tak stala modelovým onemocněním, kde se „sen“ o cílené protinádorové léčbě stal skutečností v podobě doslova revolučního zlepšení prognózy pacientů. Záhy po uvedení imatinibu do klinické praxe byly popsány první případy rezistence vůči jeho působení, které ale současně iniciovaly vývoj ještě účinnějších zástupců 2. a 3. generace TKI. Díky současné nabídce celkem 5 přípravků (kromě imatinibu též nilotinibu, dasatinibu, bosutinibu a ponatinibu) jsme svědky prodloužení očekávané délky života pacientů s nově zjištěnou CML prakticky na roveň celkové populace, a tím pádem naplnění hlavního cíle léčby nádorového onemocnění.

Původně dlouhodobě až celoživotně koncipovaná terapie, motivovaná obavou z možného návratu onemocnění, má však i svá negativa, zejména v podobě zatěžujících i nebezpečných nežádoucích účinků, zhoršení kvality života, ekonomické zátěže zdravotnických systémů a psychické stigmatizace pacientů. Ve snaze omezit zmíněná rizika je léčba TKI u pacientů dosahujících velmi nízkých hladin měřitelné zbytkové nemoci kontrolovaně vysazována ve snaze docílit tzv. remise bez nutnosti léčby (*treatment-free remission* – TFR), která se stala novým ambiciózním cílem léčby

pacientů s CML. Dlouhodobá TFR je však z řady důvodů dosažitelná jen u asi čtvrtiny všech pacientů s CML, naprostá většina z nich tedy musí léčbu podstupovat dlouhodobě a nezanedbatelný podíl čelí neuspokojivému léčebnému efektu a/nebo limitujícím či závažným nežádoucím účinkům. Kromě vývoje nových léků a postupů se tak pozornost obrací k optimalizaci dávkování dostupných TKI, a to nejen v kontextu dlouhodobé léčby, ale i zlepšení výsledků TFR. Koncept postupné redukce dávky TKI před jejich úplným vysazením je u nás v současné době testován v unikátní celonárodní akademické studii fáze II nazvané HALF (ClinicalTrials.gov Identifier: NCT04147533), do které již bylo zařazeno 153 pacientů a jejich výsledky snad přispějí k optimalizaci výsledků na poli TFR. Je potěšující, že v rámci České republiky díky účasti center vysoce specializované hematologické péče nejen na studii HALF, ale na celé řadě dalších národních a mezinárodních klinických i laboratorních projektů můžeme významně přispět ke zvládnutí výzev, které ve zdánlivě ideální oblasti CML a její cílené léčby dosud zůstávají nedořešeny.

JAK LZE VYUŽÍT INFORMACE O PŘÍTOMNOSTI SOMATICKÝCH GENETICKÝCH ZMĚN (NPM1, FLT3, CEBPA, TET-2, C-KIT, DNMT3, IDH, RUNX1, AXSL1, WT1, TP53...) V LÉČBĚ PACIENTŮ S AML

Žák P.

IV. interní hematologická klinika, LF UK a FN Hradec Králové

Somatické molekulárně genetické změny, které se objevují v hematopoetických prekurzorových buňkách, vypovídají o přítomnosti „klonální hematopoézy“ a mohou mít různý význam v rozvoji akutní myeloidní leukémie (AML). Nová data jak z oblasti cytogenetických tak molekulárně genetických studií ukázala, jak je AML biologicky heterogenním onemocněním.

Na základě vyšetření karyotypu byly nalezeny cytogenetické abnormality, které umožnily stratifikovat pacienty s AML z pohledu navození a trvání remise AML na skupinu s příznivou prognózou - t(8;21), t(15;17); inv (16), dále skupinu se středním rizikem a skupinu s nepříznivou prognózou (monosomie chromozomu 5 nebo 7; abnormality na dlouhém raménku 3. chromozomu, inv (3) a t(3;3) a komplexní změny – 5 nebo více nesouvisejících cytogenetických alterací, ...). U 40–50 % pacientů s AML nelze prokázat cytogenetickou abnormalitu. Tito pacienti byli zařazeni do skupiny středního rizika. Cílem další části tohoto sdělení je snaha o vyhodnocení, jak nám informace o nových rekurentních molekulárně genetických aberacích mění pohled na léčbu AML.

Průkaz rekurentních chromozomálních abnormalit je užitečný z pohledu pochopení biologického chování leukemické buňky. Pre-cisní molekulárně genetické testování a analýza dat ukázala, že u ne-

lčených pacientů bývá přítomna jedna ale častěji více rekurentních chromozomálních změn a to zvláště u pacientů s normálním karyotypem. Přítomnost těchto mutací je charakteristickým znakem klonální hematopoézy. Změna může mít odlišný vliv na rozvoj akutní leukémie. Mutace se vyskytují s různou frekvencí: FLT3 28%, NPM1 27%, DNMTA 26%, IDH 20%, NRAS a KRAS 12%, RUNX1 10%, TET2 8%, TP53 8%, CEBPA 6%, WT1 6% ...). Tuto poměrně širokou skupinu genetických alterací je možné rozdělit dle jejich funkčního vlivu v procesu leukemogeneze přibližně takto:

- vliv na DNA metylační procesy;
- ovlivnění tumor supresorových genů;
- fúzní geny ovlivňující transkripční faktory a myeloidní transkripční faktory;
- ovlivnění nukleofosminu;
- ovlivnění signálních molekul;
- vliv na modifikaci chromozomů;
- vliv na komplex cohesinu a spliceasomu.

Důležitým poznatkem je, že genetických alterací může být v leukemické buňce více, a navíc dochází vlivem léčby nebo spontánně ke změnám ve smyslu mizení nebo přibývání těchto změn, ale také ke změně jejich funkční role. Je nutné zmínit, že některé mutace mohou mít v daný okamžik řídicí význam („driver“) nebo jsou pouze přítomny („passenger“). „Passenger“ mutace jsou obvykle přítomny na transformovaných buňkách dříve, než dojde k expanzi klonu. Řídicí mutace selektivně zvýhodňují buňky a umožní jejich expanzi. Tyto řídicí mutace lze oddělit do 3 funkčních skupin: A) zvyšující proliferaci nebo přežívání bb. bez ovlivnění diferenciace; B) blokující diferenciaci hematopoetických bb. a zvyšující schopnost vlastní obnovy; C) ovlivňující epigenetické mechanismy.

Průkaz molekulárně genetických umožňuje lépe stratifikovat skupiny pacientů jak z pohledu chování choroby tak z pohledu prognózy. Pokud byla analyzována rozsáhlá data bylo možné upřesnit stávající prognostickou cytogenetickou klasifikaci. Nicméně nutno kriticky konstatovat, že některé implementace nebyly správné a bylo nezbytné jejich následně upřesnění. Příkladem může být příznivý prognostický význam NPM1, nerozlišování alelického poměru FLT3 ITD, ale také chyby při laboratorním zpracování. Nicméně je dnes akceptován nepříznivý impakt mutace TP53, DEK-NUP214, GATA2, MECOM (EV11), BCR-ABL1. Kombinace nemutované NPM1 a FLT3-ITDs alelickým poměrem mutované populace > 0,5 je řazen do středního rizika. Přítomnost ASXL1 a RUNX1 má též nepříznivý impakt, ale pokud se vyskytne ASXL1 a RUNX1v kombinaci s příznivými cytogenetickými aberacemi je prognostický význam stále nejasný. Klinickým přínosem je také možnost využití vybraných mutačních změn při sledování přítomnosti minimální reziduální nemoci (např. mutace NPM1).

Posledním důležitým aspektem je vývoj nových léků, které jsou cíleny na specifické kinázy nebo leukemogenní mechanismy. U některých byl prokázán významný léčebný potenciál a došlo k jejich zavedení do léčby (tab. 1). Z širšího pohledu je do této skupiny nutné zařadit hypometylační léčbu a ovlivnění bcl-2 komplexu venetoklaxem.

Závěr: AML je z biologického pohledu velmi heterogenní onemocnění. Vyšetření karyotypu umožnilo rozdělit skupiny AML pacientů do tří základních rizikových skupin (příznivé, střední a nepříznivé). Identifikace nových molekulárních změn objasňuje biologické mechanismy rozvoje klonální hematopoézy do leukémie. Tyto změny mohou být využity pro podrobnější stratifikaci prognostických skupin, některé lze využít ke sledování reziduální choroby, ale především k rozvoji a využití nových léčebných postupů.

Tab. 1. Nové látky standardně používané v léčbě AML.

mutace	Prognóza	Lék – rutinní použití	Látky – studie
FLT3 ITD	nepříznivá	Midostaurin Gilteritinib	Quizartinib
c-KIT	nepříznivá		Imatinib Dasatinib
RAS	neutrální		Tipifarnib
IDH1	kontroverzní	Ivosidenib	
IDH2	kontroverzní	Enasidenib	
PML/RARalfa	příznivá	Vesanoid/ ATO	

CARTS V TERAPII AKUTNÍCH LEUKÉMIÍ

Cetkovský P.

Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

Úvod: Princip celulární imunoterapie, používající koncept funkčního přesměrování T-lymfocytů jejich genetickou úpravou (vložením umělého konstruktů proti specifickým povrchovým antigenům), je znám již více než 30 let. Před přibližně 17 lety byly dokončeny menší studie v jednotlivých centrech a výsledkem bylo postupně schválení prvního produktu (tisagenlecleucel) do léčby relabované či refrakterní akutní lymfoblastické leukémie (ALL) v roce 2017, stejně jako dalšího produktu (axicabtagene ciloleucel) pro nemocné s relabujícím či refrakterní difúzním velkobuněčným ne Hodgkinovským lymfomem (NHL, DLBCL); stejnou indikaci získal tisagenlecleucel o rok později. V roce 2020 byl v USA schválen třetí preparát (brexucabtagene autoleucel) pro léčbu jiného NHL (MCL). Cílem všech těchto produktů je povrchový antigen CD19; liší se v kostimulační molekule v CAR konstruktu. V současnosti jsou všechny 3 preparáty dostupné i České republice pro akreditovaná hematologická centra (HOC). A výsledky z běžné denní praxe ukazují, že CARTs jsou účinné a bezpečné. Na rozdíl od NHL, pro které jsou komerčně produkovány CARTs hrazené v indikovaných případech z veřejného zdravotního pojištění, pro léčbu akutních leukémií (AL) je v současnosti možno CD19 CARTs aplikovat jen nemocným s ALL do věku téměř 26 let. Pro starší nemocné s ALL a pacienty s ostatními druhy AL, především s nejčastější AL akutní myeloidní leukémií (AML), CARTs stále přístupné či hrazené nejsou.

CARTs u AML: Podstatou fungování CARTs je útok geneticky modifikovaných T lymfocytů na antigeny specifické pro danou AL, tzv. *leukemia associated antigens* (LAA); po navázání na specifický LAA je daná buňka lymfocitem destruována a výkonná buňka se následně vydá na „lov“ dalších blastů. Najít vhodný LAA se povedlo u ALL, kde CD-19 CARTs jsou používány s úspěchem; u AML je zatím intenzivní vědecké snažení bez rutinní klinické aplikace (s výjimkou studie UCART 123). Nová léčebná modalita u AML je nutná, neboť výsledky léčby relabující či refrakterní AML jsou katastrofální. Proto podání CARTs by mohlo být jednou z možných variant. Zkoumá se mnoho potenciálních cílů na blastech AML a v současnosti je prováděno ve světě více než 60 klinických studií. Avšak první výsledky nejsou zatím nijak optimistické, proto je nutný další extenzivní výzkum. Problémem je fakt, že doposud nebyl nalezen žádný AML-specifický cíl. Proto jsou stále hledány další strategie, neboť je nutné ovlivnit toxicitu na necílových buňkách (ideální je totální zacílení – tzv. on-target off-tumor toxicity) a tím zlepšit výsledky. Je zkoumáno nejen mnoho možných cílů, ale vyvíjí se i více variant AML CARTs, např. biodegradabilní CARTs, CARTs se sebevražedným genem či CARTs s dvěma moduly (tzv. modulární koncept, např. univerzální CARTs). Zatím jsou k dispozici jen omezená data a často si odporující výsledky potvrzující riziko trvalé toxicity (hlavně pro hematopoezu) u CARTs bez možnosti „vypnutí“ (tzv. *nonswitchable* CARTs). Jedním z možných řešení, které naznačují první předběžné výsledky, je použití modulárního konceptu CARTs.

Alogenní CARTs: Na rozdíl od většiny NHL mohou AL být rapidně progredující chorobou s rychlým zdvojnásobáním času a dlouhá (týdny trvající) výroba autologních CARTs není možná. Proto se hledají možnosti výroby univerzálně předem připravených alogenních CARTs, okamžitě připravených k podání (tzv. *off-the shelf CARTs products*) – zde však je nutné vyřešit otázku možné rejekce podaných buněk či minimalizovat riziko vyvolání nemoci z reakce štěpu proti hostiteli (GvHD). Teoretickou výhodou alogenních CARTs je lákavá možnost, že alogenní CARTs by mohly vést ke snížení ceny (v současnosti cca 10 milionů Kč za léčbu jednoho nemocného aplikací autologních komerčně produkováných CARTs). Alogenní CARTs (připravené od dárce) by využití našly též u nemocných po alogenní transplantaci hematopoetických buněk (HCT).

Výzkum a studie na ÚHKT: V přednášce budou též zmíněny výzkumné plány a průběh klinické studie fáze I, které probíhají na ÚHKT Praha, kde vědecké týmy zkoumají možnosti celulórní imunoterapie AL (ať již s genetickou modifikací [produkcí vlastních CARTs], nebo bez ní [výzkum zaměřený hlavně na NK buňky]).

ŽIVOTNÍ PŘÍBĚH GREGORA JOHANNNA MENDELA

Papajík T.

Hemato-onkologická klinika LF UP a FN Olomouc

Dne 20. července 1822 se v malé vsi Heinzendorf bei Odrau (Hynčice) na pomezí Moravy a Slezska (Kravaňsko, Dolní Slezsko, Rakouské císařství) narodil sedlákoví a veteránovi napoleonských

válek Antonu Mendelovi a Rosině Mendel (roz. Schwirtlich) syn Johann. Od dva dny později, 22. července byl syn pokřtěn v kostele sv. Petra a Pavla v Dolním Vražném a toto datum Mendel později uváděl jako den svého narození. Malý Johann vyrůstal v německé rodině (se svou starší sestrou Veronikou a později i mladší sestrou Terezíí), i když část předků jeho otce byla českého původu. Od roku 1831 začal navštěvovat školu v Heinzendorfu, kde působil učitel Thomas Makitta a farář Jan Schreiber, oba velmi schopní a osvícení pedagogové, kteří děti seznamovali se základy přírodopisu, pěstování ovocných stromů a chovu včel. Z podnětu faráře Schreibera také Mendelův otec začal pěstovat nové druhy ovocných stromů a založil chov včel, v čemž mu malý Johann s velkým zájmem pomáhal. Makitta i Schreiber poznali Johannovo nadání a doporučili rodičům, aby syn přešel do vyšší třídy piaristické školy v Lipníku nad Bečvou. Zde Johann prokázal své výjimečné schopnosti pro studium a díky tomu mu bylo po roce doporučeno přejít na renomované gymnázium v Opavě (mj. při něm vzniklo první muzeum v českých zemích). Rozhodování to nebylo lehké, protože jako syn měl posleze po otci převzít hospodářství, a zároveň finanční situace rodiny nebyla tak příznivá, aby mohla syna při šestiletém studiu plně podporovat. Navíc otec Anton se v roce 1838 těžce zranil v lese při tehdy povinné robotě pro vrchnost a úroda na rodném statku byla během těchto let díky povětrnostním podmínkám slabá. Podpora syna na studiích proto byla minimální, nicméně Johann se rozhodl v nich dále pokračovat. V Opavě absolvoval kurz pro soukromé učitele a přivydělával si doučováním méně nadaných studentů. Tehdy se poprvé vážněji projevila Mendelova snížená psychická odolnost vůči stresovým situacím, která byla následována těžkými somatickými potížemi, pro které přerušil na půl roku studium a vrátil se domů. Přesto se mu podařilo postoupit do posledního ročníku a studium gymnázia absolvoval jako jeden z nejlepších žáků.

Jeho touha po vzdělání byla mimořádná, a tak, aby mohl v budoucnu studovat na univerzitě, nechal se zapsat na Filozofický ústav v Olomouci, jehož absolvování bylo podmínkou pro přijetí na tehdejší Císařsko-královskou Františkovu univerzitu v Olomouci. Na Filozofickém ústavu se vyučovala teologie, etika, praktická a teoretická filozofie, matematika, fyzika a pedagogika. Ústav měl vysokou úroveň, matematiku tu vyučoval prof. J. Fux, který vydal učebnici schválenou pro gymnázia v celé monarchii, kde mimo jiné popisoval základy kombinatoriky. Fyziku přednášel prof. F. Franz podle učebnice, kterou za svého olomouckého působení sepsal prof. A. Baumgartner, který se později zasloužil o vznik Ústavu experimentální fyziky na vídeňské univerzitě. Na olomoucké univerzitě byla navíc v té době významně rozvinuta studia přírodních věd a polního hospodářství. Ta vyučoval významný odborník na šlechtění zvířat (především ovcí) a rostlin Johann Karl Nestler, po jedno období rektor olomoucké Františkovy univerzity, jehož spisy podle některých autorů měly vliv na pozdější Mendelovy experimenty. Stejně jako v Opavě, tak i v Olomouci projevil Mendel při studiu svoje nadání a zejména v oblasti přírodních věd, matematiky a fyziky vynikal. Ale i v tomto období na něj dolehla existenciální krize, když neměl dostatek prostředků na zaplacení bydlení a stravy, a to i přes finanční podporu ze strany starší sestry,

kteřá se svým manželem převzala rodinný statek. Také jeho snaha najít si v Olomouci práci doučováním studentů nebyla úspěšná a na Mendela opět situace dolehla tak, že ho psychicky i fyzicky zcela vyčerpala. Vrátil se proto opět domů, kde se celý rok zotavoval s touhou studia dokončit. V jeho situaci mu pomohlo i to, že jeho mladší, tehdy třináctiletá sestra Terezie se zřekla části svého věna v jeho prospěch. Vrátil se do Olomouce a s vypětím všech sil absolvoval oba ročníky studia na Filozofickém ústavu a sám pak napsal, že „již není schopen snášet dále takové vypětí“. Nicméně náhoda či osud zasáhly do jeho dalšího života. Opat augustiánského kláštera v Brně Cyril František Napp, rovněž absolvent filozofie a teologie na Filozofickém ústavu v Olomouci (později se zasloužil o vznik Ústavu českého jazyka na olomoucké univerzitě) se zmínil prof. F. Franzovi, kterého znal z jeho dřívějšího působení na Filozofickém učilišti v Brně, o tom, že hledá vhodného absolventa olomouckého ústavu k přijetí do starobrněnského kláštera. Prof. F. Franz doporučil Mendela, který „má pevný charakter a v jeho předmětu patří k nejlepším žákům“. Mendel souhlasil a 9. října 1843 se tehdy jako 21letý stal novicem opatství, kde, jak sám napsal, „se viděl nucen vstoupit do stavu, který by ho zbavil trpkých starostí o výživu“. Přijal řeholní jméno Gregor a od tohoto okamžiku se podepisoval již jen Gregor Mendel. Klášter byl v té době významným centrem vzdělanosti a Mendelův vstup do řádu znamenal možnost jeho dalšího růstu. Odborníci, kteří zde působili usilovali o rozvoj zemědělství na klášterních statcích, a to na základech nejnovějších vědeckých poznatků své doby. Zveleboval se především chov ovcí, pěstování révy vinné, ovocných stromů a prováděly se zde polní pokusy s pícninami. V roce 1835 klášter poprvé navštívil J. E. Purkyně (klášter pak navštívil ještě třikrát), který tehdy mimo jiné zkoumal problém oplození a vzniku zárodku, což souviselo se záhadou dědičnosti. V klášteře se rozvíjel též botanický výzkum a v roce 1830 byla zřízena pod okny refektáře pokusná zahrádka, ve které se pěstovaly vzácné rostliny vyskytující se v okolní přírodě. Mendel měl od vstupu do kláštera mimořádný zájem o přírodní vědy a se souhlasem opata Nappa, který si jej oblíbil a mimořádně jej podporoval, a Mendel kromě studia teologie tehdy navštěvoval také přednášky o zemědělství, ovocnářství a vinařství na Filozofickém učilišti. Z přednášek prof. F. Diebla čerpal mimo jiné poznatky o šlechtění kulturních rostlin pomocí umělého opylování. 6. srpna 1847 byl Mendel vysvěcen na kněze a ustanoven kaplanem na starobrněnské faře. Mezi jeho povinnosti patřil výkon duchovní služby v blízké nemocnici v Pekařské ulici. Tato činnost v něm však opět probudila výrazné psychické potíže a opat Napp konstatoval, že „Mendel při pohledu na nemocné a trpící bývá postižen nepřekonatelnou bází, která přechází až na okraj nebezpečného onemocnění“. Jeho stav se zhoršil natolik, že byl na 34 dní upoután na lůžko a ošetřován zdravotní sestrou z Nemocnice Milosrdných bratří. S přihlédnutím k těmto komplikacím byl Mendel v říjnu 1849 opatem Nappem poslán na gymnázium do Znojma, kde s velkým úspěchem vyučoval řečtinu, latinu, němčinu a matematiku. Vedení gymnázia mu proto doporučilo složit zkoušky učitelské způsobilosti z přírodopisu a fyziky na vídeňské univerzitě. V písemné práci ke zkoušce, kterou sepsal na 23 arších, Mendel pozoruhodně

vedl, že „jakmile Země v průběhu doby dosáhla schopnosti vytvářet a uchovávat živé organizmy, objevily se z nižších druhů nejdříve rostliny a potom zvířata“. Dále pokračoval: „Rostliny a živočišný život se rozvíjel stále bohatěji, starší formy zčásti mizely, aby uvolnily místo novým a dokonalejším“. Do zveřejnění Darwinovy teorie o vzniku druhů zbývalo ještě 8 let... Na ústní zkoušky se Mendel připravoval samostudiem, což zřejmě zapříčinilo, že u těchto zkoušek v srpnu 1850 Mendel pro nedostatek požadovaných znalostí neuspěl a komise mu doporučila, aby své vědomosti doplnil dalším studiem. Na gymnázium do Znojma se Mendel již nevrátil a začal v Brně vyučovat přírodopis na Technickém učilišti v Brně. Písemnou zprávu o Mendelově neúspěchu ve Vídni obdržel opat Napp teprve v srpnu 1851. Stálo v ní, že Mendelovi nechybí píle a nadání a že by měl nastoupit studium na univerzitě pro získání podrobnějších znalostí.

Předchozím neúspěchem se Mendelovi paradoxně otevřela mimořádná možnost navštěvovat vídeňskou univerzitu a poznat tak i základy výzkumné práce, která tam probíhala. Díky štědré osobní i finanční podpoře opata Nappa studoval Mendel mezi lety 1851–1853 matematiku, chemii, fyziku a přírodní vědy. Kromě jiného absolvoval přednášky a praktickou výuku na Ústavu experimentální fyziky pod vedením prof. Ch. Dopplera (zde se zdokonalil v základech matematické analýzy a kombinatorice) a na Ústavu anatomie a fyziologie rostlin pod vedením prof. F. Ungera. Poté se Mendel vrátil opět do Brna a věnoval se pedagogické činnosti. Před sebou měl opakování učitelské zkoušky, což by byl i první krok k dokončení univerzitního vzdělání. Zkoušku skládal ve Vídni v květnu roku 1856, ale při její klauzurní části se psychicky zhroutil tak, že nebyl schopen ani psát a ze zkoušky musel odstoupit. Zůstal tak na dalších 14 let zastupujícím učitelem na Vyšší státní reálce v Jánské ulici v Brně až do svého zvolení opatem kláštera v roce 1868.

Do tohoto období spadá nejvýznamnější etapa Mendelova vědeckého bádání a možná také nejšťastnější etapa v jeho životě. Díky svému systematickému studiu přírodovědy, zkušenostem svých předchůdců v oblasti šlechtění rostlin a živočichů, jasnému analytickému myšlení podpořeném velmi solidními znalostmi matematiky a kombinatoriky, započal Mendel svůj – z dnešního pohledu – velkolepý výzkum křížení rostlin, na jehož konci rozeznal a formuloval základní principy dědičnosti. Ke svým experimentům si jako hlavní rostlinu vybral hrách setý (*Pisum sativum*), o kterém bylo známo, že má trvale odlišné znaky semen a rostlin. Navíc hrách dovoluje chránit uměle oplozený květ před působením cizího pylu a hybridní rostliny netrpí poruchou plodnosti v dalších generacích. Další cennou vlastností hrachu z hlediska Mendelova výzkumu je jeho pohlavní rozmnožování a stálý poměr zastoupení homozygotů a heterozygotů v potomstvu. Mendel si opatřil 34 různých odrůd hrachu, které pěstoval a pozoroval v prvních dvou letech (1854–1856). Z nich nakonec vybral 22 odrůd, které křížil po celé období experimentů. Mendel zkoumal přenos rozdílných párů znaků, které byly snadno hodnotitelné a pro své bádání jich vybral celkem sedm. Odhaduje se, že Mendel měl k dispozici až 28 000 rostlin (především hrachu, ale i fazolí a dalších), kdy podrobně popsal znaky u 12 835 z nich. Mendel byl první, kdo na základě svého výzkumu

označil jedny znaky za dominantní a druhé za recesivní. Dominantní znak označoval velkým písmenem, recesivní pak malým. Navíc své závěry dokázal formulovat pomocí matematických symbolů, vzorců a řad, což v bylo té době neobvyklé a pro mnohé z jeho současníků složité, a ne zcela srozumitelné. Kvantitativním hodnocením kvalitativních znaků aplikoval využití matematiky do biologického výzkumu, což jemu i následovníkům pomohlo při jeho plánování, provádění a vyhodnocení. Své hlavní experimenty dokončil v roce 1863 a jejich vědecké zpracování finalizoval v roce následujícím. 8. února a 8. března 1865 zveřejnil své výsledky formou dvou čtených přednášek na schůzích Přírodovědného spolku v Brně, jehož byl členem. Svoji práci nazval „*Versuche über Pflanzen-Hybriden*“, tedy „*Pokusy s rostlinnými hybridy*“, a o rok později ji publikoval ve sborníku brněnského Přírodovědného spolku *Verhandlungen des Naturforschenden Vereins in Brünn*. Kopie své práce Mendel rozeslal předním vědcům a vědeckým ústavům po celém světě ve snaze o diskuzi nad svými závěry a potvrzení správnosti své teorie. I když byl v řadě odborných publikací články citován, nikdy nebyla jeho práce a z ní vyplývající teoretické závěry brány jako zásadní vědecký počín, ale spíše jen jako další příspěvek k pochopení hybridizace rostlin. O tom svědčí např. Mendelova korespondence s předním německým botanikem a odborníkem na hybridizaci rostlin prof. C. W. von Nägeliem z let 1866–1870. I přes toto zklamání a nepochopení zásadního významu svého výzkumu si byl Mendel do konce života jist svými výsledky a – jak se věřil svému kolegovi G. von Niesslovi – věřil, že „můj čas přijde“. Jedním z důvodů, proč Mendelově výzkumu a jeho objevům nebyla ve své době věnována adekvátní pozornost, může být i fakt, že vědecký svět byl tehdy fascinován Darwinovou teorií a jeho prací „O vzniku druhů přírodním výběrem“. Mendel pečlivě studoval jeho dílo a věřil, že závěry jeho experimentů doplní určité mezery v Darwinově teorii. Podle svých současníků dokonce v diskuzi o Darwinově teorii poznamenal: „To není všechno, ještě tu něco chybí...“.

Mendelův čas přišel na počátku 20. století. Tři vědci – prof. H. M. de Vries v Amsterdamu, prof. C. E. Correns v Tübingenu a prof. E. von Tschermak-Seysenegg ve Vídni – publikovali v roce 1900 nezávisle na sobě výsledky svého bádání na poli křížení rostlin a dospěli ke stejným závěrům jako před 35 lety Mendel. Všichni uznali prioritu Mendelových objevů a prof. Correns v závěru své práce stanovil dvě pravidla dědičnosti, které spojil s Mendelovým jménem. A tak vědecký svět začal pracovat s „Mendelovými zákony dědičnosti“. V následujícím období se začaly rychle objevovat publikace, které vysvětlovaly význam Mendelových objevů, i když některé obsahovaly řadu interpretačních nejasností a část anglických překladů jeho práce byla nepřesná. Vášnivého zastánce svých objevů našel Mendel v osobnosti anglického zoologa z Cambridge prof. W. Batesona, který pochopil jejich epochální význam a podle nich upravil i svoje přednášky a další bádání, čímž později rozšířil jejich platnost i na živočišnou říši. Bateson také zavedl nový termín „genetika“ (poprvé jej navrhnul v roce 1905 v dopise svému kolegovi, veřejně pak v roce 1906 na konferenci o hybridizaci rostlin v Londýně) pro nauku o dědičnosti, když se inspiroval řeckým slovem „*genesis*“

(zrození). Termín gen pak použil poprvé v roce 1909 dánský šlechtitel W. Johannsen. V průběhu 20. století se objevily některé pochybnosti ohledně metodiky Mendelovy práce a jeho interpretace výsledků provedených pokusů. V roce 1936 matematik, statistik a biolog prof. R. A. Fischer napsal, že Mendelovy výsledky jsou statisticky příliš dobré na to, aby odpovídaly skutečnosti, a tudíž se Fischer domníval, že Mendel prováděl své pokusy spíše podle předem vypracované teorie. Fischerovy názory odstartovaly místy vášnivou diskuzi genetiků, biologů a statistiků o povaze a možných kontroverzích Mendelova výzkumu, která probíhá i na počátku 21. století.

Gregor Johann Mendel byl člověk mnoha zájmů a aktivit. Již od mládí ho zajímalo včelaření a své zálibě se věnoval i na půdě opatství, kde dal postavit včelín. Pokoušel se najít nové způsoby péče o včelstva, zahájil také experimenty s křížením včel s cílem zlepšit jejich vlastnosti. S určitou nadsázkou můžeme konstatovat, že Mendel tak založil první včelařský výzkumný ústav ve střední Evropě. Stal se členem Včelařského spolku moravského, a později vykonával i funkci prvního náměstka starosty tohoto spolku. Na spolkových jednáních přenášel o svých výzkumech a pozorováních. Podobně intenzivně se zajímal také o ovocnářství, šlechtění plodin, ale i okrasných rostlin (fuchsii). Stal se členem Moravskoslezské společnosti pro zvelebení orby, přírodovědnosti a vlastivědu, členem Hospodářské společnosti a jejich odborných sekcí a spolků. Usiloval o vznik nových odrůd ovocných stromů, jejichž plody by měly lepší produkční výsledky i chuťové vlastnosti. V době Mendelova působení bylo v klášterní zahradě vysazeno 500–600 semenáčků hrušní, jabloň a meruněk. Ze všech svých zájmů o přírodní vědy se však Mendel nejdéle a nejintenzivněji věnoval meteorologii. S meteorologickými pozorováními se mladý Mendel mohl setkat již na gymnáziu v Opavě, kde je prováděl prof. F. Ens a dále pak na Filozofickém ústavu v Olomouci, kde je vedl sám ředitel ústavu prof. C. R. Unckrechtsberger. Ve Vídni vznikl Ústřední ústav pro meteorologii a magnetismus Země a následně i Rakouská meteorologická společnost, jejímž členem se Mendel posléze stal. Také opat Napp projevil o meteorologii zájem a Hospodářská společnost podala do Vídně návrh na vybudování meteorologického ústavu v Brně, který však nebyl přijat. Mendel svá meteorologická pozorování v klášteře zahájil v roce 1857. Později se spřátelil s brněnským lékařem P. Olexikem (primářem interního oddělení Zemské nemocnice u svaté Anny v Brně), který byl pozorovatelem vídeňského ústavu pro Brno. Mendel mu s pozorováním pomáhal a v roce 1858 spolu začali zkoumat a kvantifikovat obsah ozonu v atmosféře. Mendel o své meteorologické činnosti pravidelně přednášel a také publikoval. Ve svých pracích o výsledcích dlouhodobých meteorologických pozorování využíval opět zcela průkopnický matematických a statistických principů, stejně jako tomu bylo při hodnocení výsledků pokusů s křížením rostlin. 13. října 1870 se nad Brnem přehnal ničivá smršť (tromba). Mendel ji velmi podrobně pozoroval z okna kláštera a další informace pak získal od očitých svědků z Brna. Již 9. listopadu 1870 o tomto „přírodním spektaklu“ přednesl přednášku a o rok později své pozorování a přesný popis tohoto fyzikálního jevu publikoval. Jeho výklad je prvním vědeckým popisem tromby

v historii a Mendel v něm opět významně předběhl svou dobu, když se výklady větrných směrů na takovéto teoretické úrovni začaly objevovat až po roce 1900. Mendel se intenzivně věnoval i teorii a posléze praxi předpovědi počasí, a to zejména pro využití v oblasti hospodářské, zejména pak v zemědělství. V roce 1878 vydal spis „Základy předpovědi počasí“, později se zasloužil o průkopnické vydávání předpovědi počasí a rychlé šíření meteorologických zpráv pomocí telegrafické služby na Moravě a Slezsku. Dlouhodobě se také věnoval systematickému pozorování kolísání hladiny podzemní vody (v klášterní studni). Ke konci života ještě započal svá pozorování skvrn na Slunci a své nálezy v průběhu roku 1882 pečlivě zaznamenával.

Jeho lidské vlastnosti, nadání, píle a široký rozhled, jeho respekt v široké společenské komunitě vedly k tomu, že byl po úmrtí opata Cyrila Františka Nappa zvolen v roce 1868 do čela augustiánského kláštera. Nová funkce byla spojena s řadou povinností, které jej prakticky odvedly od pokračování v systematické vědecké práci. Jeho působení ve veřejném životě i církvi bylo oceněno Komturským křížem Františka Josefa I., v roce 1876 byl pak jmenován místoředitelem správy Moravské hypoteční banky a v roce 1881 se stal jejím ředitelem. Díky hmotnému a finančnímu zajištění Mendel mohl podporovat syna své sestry při úspěšném studiu na brněnské technice, později hradil i studium dalším dvěma synovcům, kteří v Brně vystudovali gymnázium a posléze na univerzitě Vídní lékařství. Finančně podporoval další jedince, fondy a spolky, v roce 1882 věnoval 3 000 zlatých na zakoupení hasičské stříkačky pro nově založený požární sbor v rodném Heinzendorfu.

Práce představeného kláštera, jeho povinnosti organizační i společenské Mendela nejen vzdalovaly od vědecké činnosti (i když ještě v roce 1878 si zakoupil nový mikroskop a zajímal se o nové techniky jeho využití), ale významně ho jak psychicky, tak i fyzicky vyčerpávaly. V roce 1874 navíc vláda monarchie čelící hluboké hospodářské krizi navrhla zákon, který zvyšoval daňovou povinnost klášterů. Proti zákonu protestovala řada státních i církevních institucí, nicméně zákon přesto vstoupil v platnost. Mendel jej jako jeden z mála zatvrzele odmítal dodržovat a začal proti němu rozesílat rozsáhlá písemná podání, a to i přes upozornění řady renomovaných právníků, že protesty nemají naději na úspěch. Spor kláštera s monarchií se nakonec vyhroutil tak, že část jeho statků přešla pod nucenou správu a z jejich zisků se požadovaná daň zaplatila.

Mendelův zdravotní stav se kvůli mnoha okolnostem postupně zhoršoval. V roce 1883 již definitivně přestal chodit do klášterních zahrad a v létě téhož roku se odjel léčit do lázní v Rožnově pod Radhoštěm. Na podzim se jeho stav opět zřetelně zhoršil a Mendel o svých potížích diskutoval se svým synovcem, který jak bylo

zmíněno, studoval lékařství. Mendel se stoickým klidem očekával svůj konec, při jednom z posledních setkání se synovcem jej požádal, aby se postaral o provedení pitvy po jeho smrti. V noci na 6. ledna 1884 zemřel na vlekou chorobu ledvin a srdce.

Dne 9. ledna 1884 se v Brně sešel obrovský zástup truchlících, aby se naposledy rozloučili s opatem Gregorem Mendelem. Byli přítomni zástupci státní správy, městští zastupitelé, katoličtí duchovní a kolegové z kláštera, ale také protestantský pastor, židovský rabín, učitelé a profesori z širokého okolí, zástupci spolků a organizací, jejichž byl Mendel členem a které podporoval, desítky chudých lidí, kterým pomohl v jejich hmotné nouzi, přijeli členové rodiny i sbor hasičů z rodného Heinzendorfu...

Málokdo si tehdy uvědomil, že svět se loučí s mužem, jenž se v historii vědy bude řadit k největším génium. Člověkem, který ač vzešel z chudých poměrů a nikdy nedosáhl formálního univerzitního vzdělání, zásadním způsobem posunul hranice chápání přírodních jevů a stál při vzniku nového fascinujícího oboru – genetiky. Velkou osobností, která zůstává vzorem skromnosti, píle, vytrvalosti i vysokých mravních zásad. Člověkem, který naplnil slova svatého Augustina: „...budeme tedy hledat tak, jako bychom měli nalézt, a budeme nalézat tak, jako bychom měli stále pokračovat v hledání“.

Poděkování

Tento rozšířený abstrakt a následná přednáška o Gregoru Johannu Mendelovi by nemohly vzniknout bez informací z řady literárních pramenů. Nejzásadnější fakta a souvislosti, které zde uvádím, jsem našel v knize doc. Vítězslava Orla – Gregor Mendel a počátky genetiky (Academia, Praha 2003), kterou vydal původně anglicky v roce 1996 v nakladatelství Oxford University Press (Gregor Mendel – the First Geneticist). Doc. Orel věnoval badatelské a organizační práci spojené s Mendelovou osobností čtyřicet let života. Pro další generace tak objevil, sepsal a publikoval mnoho cenných informací, jak z Mendelova života samotného, tak i ze života jeho předchůdců a současníků, kteří působili zejména v akademickém a hospodářském prostředí Brna a Olomouce.

Literatura

1. Orel V Gregor Mendel a počátky genetiky. Praha: Academia 2003.
2. Laudátová H, Dostál O. Gregor Johann Mendel – životní osudy a jeho působení na Moravě. Živa 2012;6:266–268.
3. Gustafsson A. The life of Gregor Johann Mendel – tragic or not? Hereditas 1969;62:239–258.
4. Moore R. The “Rediscovery” of Mendel’s Work. Bioscene 2001;27:13–24.
5. Galton DJ. Did Mendel falsify his data? QJM 2012;105:215–216.
6. Singh R. Limits of imagination: the 150th Anniversary of Mendel’s Laws, and why Mendel failed to see the importance of his discovery for Darwin’s theory of evolution. Genome 2015;58:415–421.
7. De Castro M. Johann Gregor Mendel: paragon of experimental science. Mol Genet Genomic Med. 2016;4:3–8.

4. MALIGNÍ LYMFOMY

KAM KRÁČÍ MOLEKULÁRNĚ-GENETICKÁ KLASIFIKACE VELKOBUNĚČNÝCH B LYMFOMŮ (LBCL) – IMPLIKACE PRO KLINICKOU PRAXI

Trněný M.

I. interní klinika 1. LF UK a VFN v Praze

Klasifikace velkobuněčných B lymfomů (LBCL) prodělala za posledních 30 let výrazné změny. Od původně morfologických podjednotek centroblastového a imunoblastového difúzního velkobuněčného lymfomu (DLBCL), po řadu samostatně definovaných jednotek. DLBCL blíže nespecifikovaných (DLBCL NOS) je stále nejpočetněji zastoupenou jednotkou. Na základě genové exprese rozděluje WHO klasifikace [1] tento typ do dvou základních podjednotek – DLBCL podobný buňkám zárodečného centra (*germinal center B-cell like* – GCB) a podobný aktivovaným B lymfocytům (*activated B-cell like* – ABC). Tyto dvě jednotky se mezi sebou liší řadou molekulárně-biologických odlišností, a také klinickým průběhem [2,3]. ABC DLBCL má horší průběh ve srovnání s GCB DLBCL. Dosavadní pokusy o zlepšení osudu nemocných zařazením léků vytypovaných na základě cílené terapie volené podle podtypu DLBCL NOS však zatím selhávají [4,5]. Samostatnou jednotkou v dosud poslední WHO klasifikaci definovanou zejména genetickou alterací je skupina nazvaná jako *high grade B-cell lymphoma* (HGBL). Je definovaná přestavbou genu MYC a současně BCL2 a/nebo BCL6 (*double hit lymphoma* – DHL). Tyto lymfomy mohou mít rozdílný morfologický fenotyp. V rámci DLBCL nacházíme při diagnóze tyto změny v 5–10 % případů. Morfologicky a imunofenotypizačně obdobná skupina bez zmíněných translokací tvoří jednotku HGBL NOS (*not otherwise specified*). V prvních popisech zhruba před 10 lety se ukazovalo, že prognóza těchto pacientů je extrémně špatná. Je však možné, že k tomu přispěl kromě vlastní biologické podstaty i selekční bias. Většina dat, která v současnosti máme jsou založena zejména na retrospektivních analýzách, nebo analýzách podskupin v rámci prospektivních studií, když tyto podskupiny zdaleka nebyly dostatečně velké k identifikaci signifikantních rozdílů, chybí randomizovaná studie. Přesto se zdá, že pacienti léčení intenzivními režimy (DA-EPOCH-R, R-HyperCVAD/HDMTX-Ara-C, MTX/R-CHOEP-14/Ara-C a další) by mohli mít lepší osud, alespoň co se prodloužení doby do progresu týče (PFS) [6–9]. V otázce zlepšení celkového přežití (OS) jsou data podstatně méně jasná. Přidání cílené terapie např. venetoclaxu – inhibitoru Bcl-2 proteinu k režimu R-CHOP naznačuje lepší PFS a trend k lepšímu OS ve srovnání s historickou kontrolou Bcl-2 pozitivních DLBCL [10]. Snaha o přidání venetoclaxu k režimu DA-EPOCH-R v rámci randomizované studie u HGBL DHT však neuspěla, studie musela být pro nadměrnou toxicitu a mortalitu kombinace venetoclaxu a DA-EPOCH-R předčasně ukončena [11]. Další posun v genetické klasifikaci LBCL založený na v současnosti diskutovaných návrzích [12,13] může vést k posunu paradigmatu

léčby LBCL vč. HGBL. Nelze však zapomínat na terapeutický přístup, který není založen na rozdílných molekulárně biologických charakteristikách vlastní lymfomové buňky, je k nim agnostický. Tento zahrnuje zejména terapii snažící se o využití imunitního systému, zejména aktivace T lymfocytů ať již pomocí bispecifických protilátek nebo tzv. CAR T-lymfocytů. Lze předpokládat, že snaha o optimalizaci kombinací jednotlivých strategií a jejich sekvencí může vést k dalšímu zlepšení osudu pacientů.

Literatura

1. Swerdlow AJ, et al. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. revised 4th edition. Lyon: IARC 2017.
2. Alizadeh AA, et al. Nature 2000;403:503–511;
3. Lenz G, et al. Proc Natl Acad Sci USA. 2008;105:13520–13525.
4. Younes A, et al. J Clin Oncol. 2019;37:1285–1295.
5. Nowakowski GS, et al. J Clin Oncol. 2021;39:1317–1328.
6. Petrich AM, et al. Blood. 2014;124:2354–2361.
7. Dunleavy K, et al. Lancet Haematol. 2018;5:e609–e617.
8. Leppä S, et al. Blood Adv. 2020;4:1906–1915.
9. McMillan AK, et al. Ann Oncol. 2020;31:1251–1259.
10. Morschhauser F, et al. Blood. 2021;137:600–609.
11. Abramson JS, et al. ASH 2021 Blood. 2021;138:523.
12. Chapuy B, et al. Nat Med. 2018;24:679–690.
13. Schmitz R, et al. N Engl J Med. 2018;378:1396–1407.

VOLNÁ NÁDOROVÁ DNA U HODGKINOVA LYMFOMU JAKO NÁSTROJ PRO BUDOUCÍ KLINICKÉ ROZHODOVÁNÍ

Mócičková H.¹, Maco M.¹, Havránek O.^{2,3}

¹ Hematologická klinika 3. LF UK a FN Královské Vinohrady, Praha

² Biocev, 1. LF UK, Vestec

³ I. interní klinika – klinika hematologie VFN v Praze

Cirkulující nádorová DNA (*circulating tumor DNA* – ctDNA) je extracelulární DNA původem z nádorových buněk, která ve formě krátkých fragmentů volně cirkuluje v periferní krvi. Kvalitativní analýza ctDNA umožňuje neinvazivní stanovení tumor-specifických somatických mutací DNA v Hodgkinových a Reed-Sternbergových (HRS) buňkách a spolu s kvantitativním stanovením množství ctDNA představuje nástroj pro diagnostiku a stanovení prognózy nádorů vč. klasického Hodgkinova lymfomu (cHL). Výhodou je jednoduchost odběru vzorků periferní krve a možnost jejich opakování v průběhu léčby a po léčbě. Většina somatických mutací se vyskytuje u jednotlivých cHL podtypů podobně často (např. u nejčastěji mutovaných genů jako jsou *SOCS1* a *XPO1*). Na druhé straně, u nodulárně-sklerotického podtypu se vyskytují častěji somatické mutace B2M a u EBER-negativního cHL a nodulárně-sklerotického podtypu častěji mutace *STAT6* a *TNFAIP3* genů. Somatické mutace tak mohou být využity v diagnostice. Např. *XPO1* mutace jsou typické pro nodulárně-sklerotický cHL na rozdíl od mediastinálního *gray-zone* lymfomu a difúzního velkobuněčného B-lymfomu

a *STAT6* mohou napomoci diferenciální diagnóze nodulárně sklerotického podtypu cHL a HL s lymfocytární predomancí. Během léčby a po léčbě je možné monitorovat dynamiku ctDNA a selekci nových mutací. Klonální vývoj se liší v závislosti od toho, zda je pacient léčen chemoterapií, konjugátem protilátky a cytostatika nebo je léčen imuniterapií. ctDNA může v budoucnu sloužit i jako komplementární biomarker a prognostický faktor k pozitronové emisní tomografii (PET) při hodnocení odpovědi na léčbu vč. dosažení kompletní remise na „molekulární úrovni“ a monitorování minimální reziduální nemoci, např. pomocí sledování *XPO1* mutací. Velký přínos ctDNA se očekává v případech falešně pozitivních PET nálezů nebo v případech suspektního relapsu. Předpokládá se, že kvantitativní analýza ctDNA umožní detekovat „molekulární“ relaps cHL dříve než zobrazovací metody.

Analýza ctDNA je rychle se rozvíjející oblast, která má potenciál využití u cHL při diagnóze k určení mutačního spektra nádorových buněk v rámci diagnostiky a určení prognózy a zároveň komplementární metoda k PET při hodnocení odpovědi a detekci relapsu.

Podpořeno granty: AZV NU22-03-00182 a výzkumným projektem Q 28 Progres udělený 3. LF UK v Praze.

ZHORŠENÍ KOGNITIVNÍCH FUNKCÍ U PACIENTŮ S HODGKINOVÝM LYMFOMEM NENÍ DŮSLEDKEM CHEMOTERAPIE, ALE JE DÁNO PŮSOBENÍM NÁDORU JAKO TAKOVÉHO

Kozák T.¹, Fayette D.², Juríčková V.², Fajnerová I.², Móciková H.¹, Marková H.¹, Gaherová L.¹, Horáček J.²

¹ Hematologická klinika 3. LF UK, Praha

² Národní ústav duševního zdraví, Klecany

Kognitivní postižení spojené s chemoterapií je dobře dokumentované u některých typů nádorů. V případě pacientů s Hodgkinovým lymfomem existuje několik málo retrospektivních studií, které potvrzují kognitivní postižení a uvádějí je do souvislosti s podáváním kombinované chemoterapie. Do této doby nebyla uskutečněna prospektivní studie, která by dlouhodobě sledovala stav kognitivních funkcí pacientů s Hodgkinovým lymfomem léčených moderní intenzivní chemoterapií a srovnávala jej se stavem před zahájením léčby.

Cílem naší prospektivní studie bylo zjistit, zda a k jakému typu poruch kognitivních funkcí u pacientů léčených pro Hodgkinův lymfom (HL) dochází. Do studie jsme zařadili 62 pacienty s HL a take 72 zdravé dobrovolníky, kteří odpovídají sociálním charakteristikám pacientů. Všichni zařazení pacienti (a dobrovolníci) vyplnili tzv. neuropsychologickou baterii a byla u nich vyšetřena subjektivní a objektivní měřítka emočního stresu (*affective distress*) a kvality života. Baterie vyšetření byla provedena celkem třikrát: před zahájením terapie (*baseline*), 6 měsíců po jejím zahájení (po jejím ukončení) a 1 rok po začátku léčby. V rámci morfologického a funkčního sledování neurotoxicity podstoupili pacienti ve sledovaném období ve stejných intervalech funkční magnetickou rezonanci mozku a EEG.

Naše studie prokázala, že pacienti s Hodgkinovým lymfomem mají horší kognitivní funkce ve srovnání se zdravými kontrolami již před zahájením léčby. Podrobně jsme se zabývali tím, zda může být kognitivní deficit vysvětlen mírou emočního stresu, toto jsme nepotvrdili. Deficit ve verbální paměti, psychomotorické rychlosti a výkonu mají přitom tendenci přetrvávat i v období po skončení léčby. Chemoterapií byly dočasně negativně ovlivněny jen neverbální paměťové funkce.

Celkově naše výsledky NEPOTVRZUJÍ domněnky a výsledky z retrospektivních studií, že totiž chemoterapie jako taková je hlavní příčinou snížení kognitivních funkcí u pacientů s Hodgkinovým lymfomem. Prokazují naopak, že snížení kognitivních funkcí je u pacientů s Hodgkinovým lymfomem součástí nádorové patofyziologie.

Práce byla podpořena grantem AZV MZ CR 16-29857A.

VÝSLEDKY LÉČBY PO SELHÁNÍ ANTICD19 CAR-T TERAPIE U NEMOCNÝCH S AGRESIVNÍMI B-LYMFOMY – ANALÝZA DAT Z ČESKÉ REPUBLIKY

Sýkorová A.¹, Folber F.², Polgárová K.³, Steinerová K.⁴, Belada D.¹, Smolej L.¹, Trněný M.^{3,5}, Pytlík R.⁵

¹ IV. interní hematologická klinika LF UK a FN Hradec Králové

² Interní hematologická a onkologická klinika MU a FN Brno

³ I. interní klinika 1. LF UK a VFN v Praze

⁴ Hematoonkologické oddělení, LF UK a FN Plzeň

⁵ Oddělení buněčné terapie, Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

Úvod: U pacientů (p) s agresivními B-lymfomy je dlouhodobé období bez progresu po antiCD19 CAR-T léčbě kolem 40 %. Osud nemocných s progresí/relapsem po této terapii je špatný (medián přežití 5–6 měsíců). V současné době je limitované množství dat o léčebných přístupech pro zlepšení prognózy této skupiny nemocných, optimální management není v současné době znám.

Metody: Analyzovali jsme nemocné s agresivními B-lymfomy, kteří byli v letech 2019–2021 léčení tisagecleucelem a axicabtagen cíluleucelem. Jedná se o multicentrickou retrospektivní analýzu z 5 hematologických center (ÚHKT Praha, FN Brno, VFN v Praze, FN Plzeň a FN Hradec Králové), kam byli referováni nemocní z České a Slovenské republiky, kteří byli indikováni k antiCD19 CAR-T léčbě po selhání ≥ 2 linií. Zaměřili jsme se na skupinu nemocných, kteří neodpovídali na tuto léčbu nebo u nich lymfom relaboval/progredoval.

Výsledky: 71 pacientů bylo léčeno antiCD19 CAR-T léčbou (56 tisagecleucelem a 15 axicabtagenem cíluleucelem). Medián sledování byl 6,7 měsíců (pro žijící nemocné 9,7 měsíců) a medián doby do progresu byl 3,3 měsíce. Léčebná odpověď (ORR) byla pozorována u 38 pacientů (ORR 54 %; CR 44 %). Na léčbu neodpovědělo 33 pacientů (SD a PD 46 %) a z těch, co dosáhli léčebné odpovědi, 9 zrelabovalo/zprogredovalo. Analyzovali jsme tedy skupinu 42 pacientů. Celkem 28 podstoupilo léčbu, u 14 onemocnění rychle progredovalo a léčení nebyli. Tři pacienti byli léčeni radioterapií a 25 systémovou léčbou. Léčebná odpověď byla pozorována u 18 % nemoc-

ných (1× CR / 4× PR). Pacienti, kteří nebyli léčeni, měli častěji masivní postižení > 5 cm v době aferézy ($p = 0,02$) a žádný nemocný nedosáhl léčebné odpovědi po infuzi antiCD19 CAR-T lymfocytů ($p = 0,02$). Ze 42 pacientů se selháním antiCD19 CAR-T léčby zemřelo 30 (71 %). Medián celkového přežití (OS) pro všechny pacienty ($n = 42$) byl od diagnózy progresu/relapsu 2 měsíce. Medián OS byl 3,2 měsíce od diagnózy progresu/relapsu (resp. 5,6 měsíce od podání CAR-T lymfocytů) pro léčené nemocné a 0,1 měsíc (resp. 1,1 měsíc od podání CAR-T lymfocytů) pro nemocné bez léčby.

Závěr: Naše výsledky potvrzují špatnou prognózu nemocných s agresivními B-lymfomy, u nichž selhala antiCD19 CAR-T léčba. Léčebná odpověď na podávanou léčbu byla nedostatečná a u většiny nemocných lymfom progredoval. Na základě dosud publikovaných dat se zdá, že některé z nových léků zkoušených v klinických hodnoceních u relaps/refrakterních agresivních B-lymfomů (polatuzumab vedotin, bispecifické protilátky, lenalidomid, tafasitamab, selinexor, loncastumab tesirine), by mohly být využity u části nemocných jako „bridge“ k alogenní transplantaci, která zůstává pro část těchto nemocných potenciálně kurativní léčebnou metodou.

KLONÁLNÍ VÝVOJ U PACIENTŮ S RELAPSEM LYMFOMU Z BUNĚK PLÁŠŤOVÉ ZÓNY – SÉRIE PŘÍPADŮ

Hrušková A., Obr A., Urbánková H., Vatošíková M., Papajík T.

Hemato-onkologická klinika LF UP a FN Olomouc

Úvod: Lymfom z buněk pláštěvé zóny (MCL) tvoří asi 5 % ze skupiny ne Hodgkinsonských lymfomů. Dle klinického průběhu se rozděluje do dvou odlišných variant, klasický (nodální) MCL s agresivním chováním a non-nodální MCL s indolentním průběhem (10 % všech MCL). Cytogenetické a molekulárně-biologické vyšetřovací metody pomáhají k další prognostické stratifikaci. Pacienti s detekovanými aberacemi genů *TP53*, *CDKN2A* a kumulací cytogenetických změn tvoří skupinu s agresivním klinickým průběhem choroby, s časnými

relapsy a krátkým celkovým přežitím (OS). Prognostický význam aberací genu *ATM* je dále studován.

Cíl: Analýza prognostického vlivu aberací genů *TP53*, *ATM* a *CDKN2A* v době dg. a v kontextu klonálního vývoje u pacientů s MCL.

Metody: Studie pacientů s MCL léčených na Hemato-onkologické klinice FN Olomouc (HOK) v období 4/2005–8/2021 s dostupným nádorovým infiltrátem stejného kompartmentu (kostní dřev [KD] + periferní krev [PK], nádorová tkáň) z období diagnózy a prvního relapsu. Materiál byl u jednotlivých pacientů vyšetřen pomocí klasické cytogenetiky. Klonální vývoj byl definován jako jakákoliv cytogenetická změna vyšetřovaného materiálu z období relapsu, která nebyla přítomna u daného pacienta v době diagnózy. Metodou fluorescenční *in situ* hybridizace (FISH) byly vyšetřeny geny *TP53*, *ATM* a *CDKN2A*. U pacientů bylo hodnoceno OS, přežití bez relapsu/progrese (PFS) a parametr délky celkového přežití od data relapsu (OS-R).

Výsledky: Ve výše uvedeném období bylo na HOK léčeno 100 pacientů, z nichž u 63 došlo k relapsu onemocnění. Dostupný biologický materiál stejného kompartmentu z doby diagnózy a relapsu jsme našli u 10 léčených. Medián věku v době diagnózy byl 62,2 roku. Šest pacientů bylo léčených HD-AraC režimem, vč. autologní transplantace krvetvorných buněk. Čtyři pacienti byli léčeni antracyklinovým režimem. Při mediánu sledování 5,1 roku zprogredovalo 7 a zemřelo 5 pacientů. Nejkratší PFS i OS měli pacienti s klonálním vývojem a současnou delecí genu *TP53* v době diagnózy. Mezi třemi pacienty s nejdelším PFS i OS byli dva s delecí genu *ATM* v době diagnózy. Tato aberace nebyla při relapsu přítomna. Pacienti bez detekce klonálního vývoje a s absencí sledovaných aberací měli nejdelší parametr OS-R. Blíže viz. tab. 1.

Závěr: Kombinace klonálního vývoje a delece genu *TP53* v době diagnózy vedly u sledované kohorty k nejkratšímu trvání první remise a nejkratšímu celkovému přežití. Naopak delece genu *ATM* v době dg. se jevila jako pozitivní prediktor delšího OS i PFS. Naše závěry jsou limitovány malým počtem analyzovaných pacientů a vyžadují studii větší skupiny nemocných s MCL.

Práce byla podpořena grantem IGA_LF_2022_001.

Tab. 1.

pacient	pohlaví	věk při dg.	zachycené aberace při dg.			zachycené aberace při relapsu			klonální vývoj na úrovni CG + FISH	PFS	OS	OS-R
			TP53	ATM	CDKN2A	TP53	ATM	CDKN2A				
1	F	53,9	ANO	NE	NE	ANO	NE	ANO	ANO	11,9	14,4	2,5
2	M	74,6	ANO	NE	ANO	ANO	NE	ANO		1,9	5,2	3,3
3	M	66,1	NE	NE	NE	NE	ANO	NE	ANO	31,9	40,2	8,3
4	M	57,4	NE	NE	ANO	ANO	NE	ANO	ANO	38,7	54,7	16
5	F	52,7	NE	ANO	NE	NE	NE	ANO	ANO	72,7	90,9	18,2
6	F	54,8	NE	NE	NE	NE	NE	ANO	ANO	45,3	65,1	19,8
7	F	53,1	NE	ANO	NE	NE	NE	NE	ANO	158,4	180,5	22
8	M	59,9	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	44	66,9	22,9
9	M	63,5	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	18,3	58,2	39,9
10	M	59,7	NE	NE	NE	NE	NE	NE	NE	91	150,9	59,8

5. MONOKLONÁLNÍ GAMAPATIE

SYNDROM SCHNITZLEROVÉ A DALŠÍ CHOROBY ZE SKUPINY „MONOCLONAL GAMMOPATHY OF SKIN SIGNIFICANCE“ NEBO KOŽNÍCH CHOROB ASOCIOVANÝCH S MONOKLONÁLNÍM IMUNOGLOBULINEM

Adam Z., Pour L., Krejčí M., Štork M., Sandecká V.

Interní hematologická a onkologická klinika LF MU a FN Brno

Monoklonální gamapatie se mohou projevovat i jinými příznaky, než jsou symptomy mnohočetného myelomu shrnuté do akronyma CRAB, anebo symptomy Waldenströmovy makroglobulinémie. V zahraniční literatuře mají skupinové označení *Monoclonal gammopathy of Clinical, resp. of Cutaneous significance*.

Od roku 2007 léčíme sedm pacientů se syndromem Schnitzlerové. Syndrom se diagnostikuje na základně splnění dvou hlavních kritérií, chronicky recidivující urtiky + monoklonální gamapatie a některého z malých kritérií: horečka nejasného původu, známky abnormální remodelace kostí s nebo bez bolestí kostí, neutrofilní dermální infiltrace (biopsie kůže), leukocytóza a/nebo zvýšené CRP.

Medián věku našeho souboru (5 mužů 2 ženy) v době stanovení diagnózy byl 58 (45–68) let. Medián sledování je 9 (1–14) roků. Šest pacientů mělo v době stanovení diagnózy MGUS-IgM, jedna pacientka měla symptomatickou Waldenströmovu makroglobulinémii, urtiky udávala 6 let před stanovením diagnózy. Všechny sedm pacientů si stěžovalo na bolesti kloubů anebo bolesti kostí. Zvýšenou hodnotu CRP měli všichni, u šesti > 30 mg/l. Neutrofilní leukocytózu > 10 × 10⁹/l měli čtyři pacienti, lymfadenopatii dva pacienti. S výjimkou poslední

pacientky, byla ložiska osteosklerózy nalezena u všech. Všichni pacienti byli a jsou léčeni anakinrou bez jakýchkoliv nežádoucích účinků, s excelentními výsledky – kompletním vymizením urtiky a dalších symptomů aniž by se po letech léčby její účinek zmenšoval (obr. 1). MGUS-IgM se transformoval do symptomatické Waldenströmovy makroglobulinémie vyžadující léčbu u dvou ze šesti pacientů.

Syndrom Schnitzlerové je řazen jak do skupiny antoinflamatorních chorob manifestujících se v dospělosti (podobně jako Stillova choroba dospělých), tak do skupiny monoklonálních gamapatií. Nutnost včas odhalit transformaci do symptomatické formy Waldenströmovy makroglobulinémie je důvodem, proč jsou tito pacienti léčeni hematologicky.

Z dalších chorob ze skupiny *Monoclonal gammopathy of skin significance* jsme léčili čtyři pacienty s nekrobiotických xantogranulomem, jednu pacientku IgA-pemphigem, čtyři pacienty se sklerodémem. V případech, kdy vymizel monoklonální imunoglobulin, došlo i k remisi těchto postižení a při recidivě gamapatie i k recidivě kožního postižení.

V případech, kdy se cílenou léčbou nepodařilo eliminovat tvorbu monoklonálního imunoglobulinu, pomáhá léčba imunoglobuliny (IVIg) ve farmakologických dávkách a i když nevede k odstranění procesu.

Monoklonální imunoglobulin není vždy jen pouhým inertním markerem choroby, ale vzácně může způsobovat pestré patologické procesy. Sdělením chceme přispět k časnější a častější diagnostice těchto chorob.



před anakinrou

po aplikaci první dávky

EFEKTIVITA TRIPLETŮ KR D A DR D V RÁMCI LÉČBY 2. LINIE U PACIENTŮ S MNOHOČETNÝM MYELOMEM: ZKUŠENOST JEDNOHO CENTRA

Krejčí M., Pour L., Štork M., Sandecká V., Adam Z.

Interní hematologická a onkologická klinika FN Brno

Úvod a cíle: Triplety obsahující cílené léky typu proteasomových inhibitorů, imunomodulačních látek a monoklonálních protilátek patří v současné době ke standardní terapii mnohočetného myelomu (MM). Cílem sdělení je vyhodnotit efektivitu režimů karfilzomib, lenalidomid a dexamethason (KR D) a daratumumab, lenalidomid a dexamethason (DR D) v rámci terapie 2. linie na našem pracovišti a přispět k optimalizaci léčby MM v reálné klinické praxi.

Metody: V rámci terapie 2. linie bylo retrospektivně vyhodnoceno 60 pacientů s MM, kteří byli léčeni režimem KR D (mediány sledování od stanovení diagnózy MM 3,7 roku a od zahájení KR D 12,8 měsíce) a 75 pacientů léčených režimem DR D (mediány sledování od stanovení diagnózy MM 2,3 roku a 11,2 měsíce od zahájení DR D). K hodnocení léčebných odpovědí byla použita standardní kritéria, byla hodnocena toxicita a dále řada klinických a laboratorních parametrů a jejich možný vztah k době bez progresu (PFS) a celkovému přežití (OS) při terapii KR D a DR D.

Výsledky: Režim KR D – stav při zahájení terapie: medián věku byl 65 let, zastoupení ISS stádií 1, 2 a 3 bylo 68 %, 24 % a 8 %; ECOG stupně 0, 1, 2 a 3–4 byly 15 %, 71 %, 7 % a 7 %. Celková léčebná odpověď (ORR) byla 92 %, 7 % dosáhlo kompletní remise (CR), 62 % VGPR, 23 % PR. Toxicity stupně 3 byly následující: trombocytopenie 15 %, neutropenie 16%, anémie 7 %, infekce 12 %. Medián PFS byl 19 měsíců, medián OS nebyl dosažen, pravděpodobnosti PFS a OS ve 12 měsících od zahájení KR D byly 55 % a 75 %, ve 24 měsících byly 42 % a 55 %. Statisticky významné faktory pro kratší OS byly přítomnost ISS 3 ($p = 0,021$) a cytogenetická aberace 1q21 ($p = 0,014$). Režim DR D – stav při zahájení terapie: medián věku byl 65 let, ISS stadia 1, 2 a 3 byla 44 %, 24 % a 32%; ECOG stupně 0, 1, 2 a 3–4 byly 23 %, 62 %, 12 % a 3 %. Celková léčebná odpověď byla 88 %, 2 % dosáhlo CR (CR), 69 % VGPR, 17 % PR. Toxicity stupně 3 byly tyto: trombocytopenie 10 %, neutropenie 55 %, anémie 13 %, infekce 10 %, gastrointestinální toxicita 6 %. Mediány doby PFS a OS nebyly dosaženy, pravděpodobnosti PFS a OS ve 12 měsících od zahájení DR D byly 65 % a 87 %, ve 24 měsících byly 58 % a 70 %. Statisticky významné faktory pro kratší OS byly ECOG ≥ 2 ($p = 0,006$) a translokace t(14;16) ($p = 0,013$).

Závěr: Režimy KR D a DR D se jeví jako vysoce efektivní v rámci terapie 2. linie MM s ORR 88–92 %, akceptovatelnou toxicitou, pravděpodobností PFS ve 2 letech od zahájení terapie 42–58 % a pravděpodobností OS ve 2 letech 55–70 %.

VÝSLEDKY LÉČBY PACIENTŮ S WALDENSTRÖMOVOU MAKROGLOBULINÉMIÍ NETOLERUJÍCÍCH RITUXIMAB KOMBINACÍ OBINUTUZUMABU A BENDAMUSTINU

Adam Z., Pour L., Krejčí M., Sandecká V.

Interní hematologická a onkologická klinika LF MU a FN Brno

Rituximab je nyní stabilní součástí všech kombinací, používaných pro léčbu Waldenströmovy makroglobulinémie (MW). Část pacientů však rituximab netoleruje. Pro tyto pacienty jsme hledali náhradu mezi dalšími antiCD20 protilátkami (ofatumumab a obinutuzumab). Srovnávací studie rituximabu, ofatumumabu a obinutuzumabu provedené in vitro a na xenograftovém modelu uvádějí, že právě obinutuzumab je z těchto tří antiCD20 monoklonálních protilátek neúčinnější. Srovnávací klinické studie, obinutuzumabu s rituximabem, provedené u dalších chorob ze skupiny low grade lymfoproliferací, prokázaly vyšší počet léčebných odpovědí.

Proto jsme v případech intolerance (alergie) rituximabu pacienty s MW léčili se schválením revizního lékaře osmi cykly kombinace obinutuzumabu a bendamustinu. Obinutuzumab jsme podávali den 1 cyklu v dávce 1 000 mg. První infuze obinutuzumabu byla rozdělena do 2 dní. Bendamustin jsme podávali v dávce 70 mg/m² den 1 a den 15 cyklu. Dle hematologické tolerance jsme upravovali dávku bendamustinu. Teoretické zdůvodnění a první zkušenosti s touto kombinací jsme již zveřejnili a v současnosti (březen 2022) ukončilo tuto léčbu již 5 pacientů s MW, kteří netolerovali rituximab.

Pro krátké sledování můžeme hodnotit pouze dosažené léčebné odpovědi. V uvedených pěti případech bylo dosaženo hlubší léčebné odpovědi než v předchozích liniích léčby. Doufáme, že se to projeví i delším PFS intervalem. To činí tuto kombinaci pro pacienty s intolerancí rituximabu velmi atraktivní.

POČETNÍ ABNORMALITY ONKOGENŮ VSTUPUJÍCÍCH DO TRANSLOKACE S IGH LOKUSEM U PACIENTŮ S MNOHOČETNÝM MYELOMEM

Dostálová L.¹, Balcárková J.¹, Kasalová N.¹, Mlynářčiková M.¹, Pika T.¹, Krhovská P.¹, Urbánková H.¹, Bačovský J.¹, Ščudla V.², Papajík T.¹, Minařík J.¹

¹ Hemato-onkologická klinika LF UP a FN Olomouc

² III. interní klinika LF UP a FN Olomouc

Úvod: V patogenezi mnohočetného myelomu (MM) mají významnou roli chromozomové translokace zahrnující gen pro těžký řetězec imunoglobulinu (IGH). V důsledku translokace dochází k přesunu onkogenů pod silný promotor IGH genu, a tím k jejich deregulaci. Mezi nejčastěji deregulované onkogeny patří CCCND1 (11q13),

FGFR3/MMSET (4p16), *MAF* (16q23), *MAFB* (20q12) a *CCND3* (6p21). Tyto geny bývají nejenom translokovány, ale vyskytují se u nich i početní aberace (delece a zmnožení), které mohou vést ke změně jejich funkce.

Cíle: Cílem této práce bylo analyzovat početní aberace partnerských genů *IGH* lokusu pomocí metody FICTION (imunofluorescenční detekce plazmatických buněk v kombinaci s fluorescenční *in situ* hybridizací) a array komparativní genomové hybridizace (aCGH).

Výsledky: V letech 2002–2022 bylo v naší laboratoři vyšetřeno 980 pacientů s MM, u 98 (10 %) pacientů byly prokázány početní abnormality partnerských genů *IGH* lokusu. Nejčastější aberací byla delece genu *MAF* u 50 (51 %) pacientů, která nebyla spojená s t(14;16), ale spíše se jednalo o deleci celých dlouhých ramen chromozomu 16. Delece genu *FGFR3* byla prokázána u 13 (13,2 %) pacientů a u 10 z nich byla spojena s variantní formou t(4;14), kde zůstala zachována fúze genů *MMSET/IGH*. Abnormality genu *MAFB* byly zjištěny u 8 (8,2 %) pacientů, zmnožení a delece byly zastoupeny rovnoměrně. U 17 (17,3 %) pacientů bylo nalezeno zmnožení genů pro cykliny D, spojené většinou se zmnožením krátkých ramen chromozomu 6 (*CCND3*) nebo dlouhých ramen chromozomu 11 (*CCND1*). Delece těchto genů nebyly pozorovány. U pěti pacientů byly současně detekovány abnormality genů *MAF* společně s abnormalitami genů pro cykliny D nebo genu *FGFR3*. U všech pacientů byly prokázány další cytogenetické abnormality.

Závěr: Prokázali jsme, že početní abnormality onkogenů vstupujících do *IGH* translokací jsou relativně časté a heterogenní a jsou spojeny s dalšími aberacemi genomu. Detailní analýza početních změn těchto genů může přispět k lepšímu porozumění patogeneze MM.

Práce je podporována grantem IGA_LF_2022_001.

„COVIDOVÉ PRSTY“ V AMBULANCI OKRESNÍHO HEMATOLOGA

Zemanová M., Repovský Š.

*Hematologicko-transfuzní oddělení, AGEL Středomoravská nemocniční a.s.,
Nemocnice AGEL Prostějov*

Úvod: Jednou ze vzácnějších komplikací onemocnění COVID-19 jsou tzv. „covidové prsty“ – bolestivé zarudnutí na prstech DKK, objevující se častěji u dětí a mladistvých. Etiologie vzniku je neznámá,

pravděpodobně jde o kombinaci zánětlivé reakce kůže na antigen viru spojený s ischemií končetin a s výskytem drobných krevních sraženin na periférii.

Kazuistika: Pacientka narozena 1994, odeslána 31. 1. 2022 do hematologické ambulance k vyšetření event. koagulopatií pro podezření na „covidové prsty DKK“. V září 2021 asi prodělala COVID-19 (febrilie, únava, bolesti svalů, kloubů...), na vyšetření nikde nebyla, asi po měsíci začala cítit bolesti v prstech na DKK, otok, postupně zarudnutí až fialové zbarvení prstů DKK, pak i tmavé skvrny na patách. Prsty na HKK beze změny zbarvení, jen pocit trnutí v konečcích, prokrvení dobré, jakékoliv jiné potíže neudává, dušná není. Dosud léčena jen pro hypothyreosu (substituce), HAK neužívá, sporně pozitivní RA (otec matky snad prodělal plicní embolii), jinak bez pozoruhodností. Provedeny základní odběry vč. trombofilii, 2. den telefonuje pro výsledky – pro mírnou elevaci D-dimerů (0,81 mg/l) zahájena antiagregace Anopyrin 100 mg 1 × 1 tbl denně. Kontrola 18. 3. 2022: ASA s velmi dobrým efektem, lividní zbarvení vymizelo během několika dní, prsty DKK již dobře prokrvené. Počátkem března asi opět COVID-19 (bolesti hlavy, zvýšená teplota, zimnice, bolesti kloubů, svalů... – na testu opět nebyla), pak se začalo opět objevovat fialové zbarvení konečků prstů DKK, znova začala užívat Anopyrin, po 3–4 dnech potíže odezněly. Nyní se již cítí dobře, prokrvení prstů zcela v normě, jen na patách zůstalo několik drobných skvrn, horší tolerance chladu. Jiné potíže neudává. V mezidobí realizováno cévní vyšetření – Dopplerometricky vše v normě.

Výsledky: KO i základní koagulace zcela v normě, jen mírná pozitivita D-dimerů 0,81 mg/l (při cut-off 0,5), CRP i ELFO séra v normě, paraprotein neprokázán, z provedených vyšetření na trombofilie neprokázáno žádné významné riziko trombozy – hladiny FVIII a XII i homocysteinu v normě, LA neprokázán, ACLA i APA protilátky negativní, genetická rizika (mutace FII a FV) nezjištěna – v.s. změny na prstech DKK v rámci post-covid syndromu (mírné zvýšení D-dimerů), s velmi dobrým efektem antiagregace ASA.

Závěr: „Covidové prsty“ jako vzácná komplikace onemocnění COVID-19 jsou spíše doménou dermatologů či pediatrů, nicméně pacienti mohou zcela výjimečně zavítat i do hematologické ambulance. I když u naší pacientky nebyl COVID-19 jednoznačně prokázán, lze na základě klinického obrazu v rámci diferenciální diagnostiky o symptomu „covid-toes“ uvažovat. Mírná elevace D-dimerů a velmi dobrý efekt ASA svědčí o možné úloze hyperagregace na periférii v etiologii tohoto symptomu.

6. AKUTNÍ LEUKÉMIE

GEMTUZUMAB OZOGAMICIN V INTENZIVNÍ LÉČBĚ U NOVĚ DIAGNOSTIKOVANÉ CD33+ AKUTNÍ MYELOIDNÍ LEUKÉMIE – ZKUŠENOSTI ČESKÝCH HEMATOLOGICKÝCH CENTER

Weinbergerová B.¹, Čerňan M.², Šrámek J.³, Víšek B.⁴, Benková K.⁵, Válka J.⁶, Šálek C.⁶, Jindra P.³, Semerád L.¹, Kabut T.¹, Podstavková N.¹, Procházková J.¹, Szotkowski T.², Kořístek Z.⁵, Žák P.⁴, Mayer J.¹

¹ Interní hematologická a onkologická klinika LF MU a FN Brno

² Hemato-onkologická klinika LF UP a FN Olomouc

³ Hematologicko-onkologické oddělení, FN Plzeň

⁴ IV. Interní hematologická klinika LF UK a FN Hradec Králové

⁵ Klinika hematoonkologie LF OU a FN Ostrava

⁶ Ústav hematologie a krevní transfúze, Praha

Úvod: Konjugát protilátka-cytostatikum, gemtuzumab ozogamicin (GO), v kombinaci s intenzivní chemoterapií představuje možnost zlepšení výsledků léčby pacientů s nově diagnostikovanou CD33+ akutní myeloidní leukémií (AML) v nízkém/středním cytogenetickém riziku.

Cíle: Zhodnocení reálných klinických dat týkajících se efektu a tolerance GO v intenzivní terapii u AML.

Metody: Provedli jsme retrospektivní analýzu dat z registru DATOOL-AML hodnotících epidemiologii, léčbu a prognózu pacientů s novou CD33+ AML, u kterých byl na šesti hematoonkologických centrech použit GO v intenzivní léčbě během 06/2020–10/2021. Osm případů léčených GO + midostaurin + intenzivní chemoterapie bylo hodnoceno v separátní analýze.

Výsledky: Analyzováno bylo 34 případů (47 % mužů) s mediánem věku v době diagnózy 46 let (20–68). Medián sledování od diagnózy byl 44 týdnů. Většina pacientů měla *de novo* AML (94 %) a 2× AML „therapy-related“ (6 %). Sedm případů bylo AML NOS (21 %) a 27× AML s rekurentní genetickou abnormalitou (79 %) (12 *NPM1* – 35 %; sedm *CBFB-MYH11* – 21 %; čtyři *RUNX1-RUNX1T1* – 12 %; dva *CEBPA* – 6 %; dva *MLLT3-KMT2A* – 6 %). ELN riziko bylo: 23× příznivé (68 %), 6× střední (27 %), 2× nehodnotitelné (5 %). Cytogenetické riziko bylo příznivé 10 (29 %) a střední 24 (71 %). Medián doby od diagnózy do zahájení intenzivní léčby [3 (daunorubicin 60 mg/m²)+7+GO] byl 7 dní. Celkem 29 (85 %) pacientů dosáhlo CR, z nich 6 MRD (18 %), 1 PR (3 %), 3 RD (9 %) a 1 neznámo (3 %). Devět pacientů (27 %) bylo alogenně transplantováno. Medián délky neutropenie ≤ 1,0 × 10⁹/l trombocytopenie ≤ 50 × 10⁹/l byl po indukci respektive 1. konzolidaci s GO: 28/28, resp. 18/22 dní. Závažnější toxicita po indukci byla: 3× VOD, 3× GI krvácení, 2× hyperbilirubinémie gr. ≥ 3, 2× elevace ALT/AST gr. ≥ 3. U třetiny pacientů s CR po indukci (10/29; 35 %) nebyl v 1. konzolidaci podáván GO, v 5/29 případech 17 % pro toxicitu. Ve 2. konzolidaci nebyl GO podáván u sedmi pacientů (24 %), u pěti pro toxicitu (17 %). Na posledním „follow up“ žije 30 (88 %) pacientů –

29 v CR (85 %) z nich 21 (62 %) v CRmol. Čtyři pacienti zemřeli (12 %) – většinou pro progresi AML (3; 9 %).

Závěr: Analýza prokázala efektivitu a tolerabilitu intenzivní léčby s použitím GO u pacientů s AML ve smyslu vysoké četnosti dosažení CR a celkového přežívání. Byli pozorovány obvyklé nežádoucí účinky vedoucí u třetiny pacientů k předčasnému ukončení léčby GO, v žádném případě v přímé souvislosti s úmrtím pacienta.

Práce byla podpořena Českou leukemickou skupinou pro život (CELL) a grantem MZ ČR – RVO (FNBr 65269705).

PŘESTAVBY LOKUSŮ PRO T-BUNĚČNÉ RECEPTORY U DĚTÍ S T-BUNĚČNOU AKUTNÍ LYMFOLASTICKOU LEUKÉMIÍ

Lizcová L.¹, Příhodová E.¹, Pavlišťová L.¹, Svobodová K.¹, Hodaňová L.¹, Mejstříková E.^{1,2}, Hrušák O.², Luknářová P.², Janotová I.^{2,3}, Šrámková L.³, Starý J.³, Zemanová Z.¹

¹ Centrum nádorové cytogenomiky, ÚLBLD, 1. LF UK a VFN v Praze

² CLIP-Childhood Leukaemia Investigation Prague, Klinika dětské hematologie a onkologie 2. LF UK a FN Motol, Praha

³ Klinika dětské hematologie a onkologie 2. LF UK a FN Motol, Praha

Úvod: Leukémie z T-lymfocytů představuje 10–15 % nově diagnostikovaných dětských akutních lymfoblastických leukémií (ALL) a jedná se o heterogenní onemocnění způsobené akumulací genetických aberací v genech, které zodpovídají za normální vývoj T-buněk. Nejčastější strukturní aberace zahrnují přestavby lokusů pro T-buněčné receptory (*TCR*) – *TRA/TRD* (14q11) a *TRB* (7q34), které nacházíme u 20–25 % pacientů. Tyto změny jsou pravděpodobně primární událostí v leukemogenezi T-buněčné akutní lymfoblastické leukémie (T-ALL) a dochází při nich k přemístění protoonkogenů kódujících klíčové transkripční faktory pod vliv regulačních oblastí *TCR*, což vede k jejich aberantní expresi.

Cíle: Analyzovat přestavby *TCR* a asociované cytogenomické aberace u dětí léčených podle BFM protokolů a korelovat nálezy s klinickými údaji.

Metody: Vyšetřili jsme vzorky kostní dřeně 66 dětí s T-ALL diagnostikovaných v letech 1996–2017 pomocí cytogenomických metod. Jednalo se o 46 chlapců a 20 dívek (medián věku 7,9 let, medián sledování 86,4 měsíců). Přestavby *TCR* lokusů a další rekurentní aberace (tj. genů *TLX3*, *CDKN2A/2B* a *ABL1*) jsme detekovali pomocí I-FISH (Abbott Molecular, Dako, Cytocell). K detekci delecí/amplifikací dalších genů jsme využili metodu MLPA (MRC-Holland). Komplexní karyotypy jsme analyzovali metodami mFISH/mBAND (MetaSystems) a/nebo aCGH/SNP (Agilent Technologies).

Výsledky: Přestavby *TCR* jsme detekovali u 18/66 pacientů (27 %). Aberace *TRA/TRD* jsme prokázali v devíti případech, aberace *TRB*

v pěti a vzácný nález zahrnující přestavby obou lokusů v jednom patologickém klonu jsme našli u dvou pacientů. Rekurentní translokace *TRA/TRD* lokusu *t(8;14)(q24;q11)*, *t(11;14)(p13;q11)*, *t(1;14)(p32;q11)* nebo *t(10;14)(q24;q11)* zahrnující geny *MYC*, *LMO2*, *TAL1* a *TLX1* jsme detekovali u pěti nemocných. U tří pacientů s aberací *TRB* jsme identifikovali přestavby vedoucí k aberantní expresi genů *TAL1*, *LMO2* a *TAL2* [tj. *ins(1;7)(p32;q34q34)*, *t(7;11)(q34;p13)* a *t(7;9)(q34;q32)*]. U ostatních nemocných byly přestavby kryptické nebo součástí komplexního karyotypu. Kromě jedné pacientky jsme společně s přestavbami *TCR* detekovali další chromosomové aberace, nejčastěji delecí genu *CDKN2A/2B*. Aberace *TCR* lokusů byly asociovány se signifikantně lepším EFS ($p = 0,011$) i OS ($p = 0,0074$), všichni pacienti žijí v 1. CR.

Závěr: Prokázali jsme, že aberace genů pro T-buněčné receptory tvoří velmi heterogenní skupinu přestaveb, které vedou k aberantní expresi řady onkogenů podílejících se na zrání a proliferaci T-lymfocytů. Zároveň jsme prokázali, že se obvykle vyskytují v kombinaci s dalšími abnormalitami genů podílejících se na regulaci buněčného cyklu a/nebo signálních drah a potvrdili jsme tak teorii vícestupňového procesu patogeneze T-ALL. Z klinického hlediska jsme prokázali, že přes velkou heterogenitu se jedná o prognosticky příznivou skupinu onemocnění.

Podpořeno MZ ČR-RVO-VFN64165.

KOMBINOVANÁ LÉČBA GEMTUZUMAB OZOGAMICINEM S MIDOSTAURINEM V INTENZIVNÍ LÉČBĚ U NOVĚ DIAGNOSTIKOVANÉ CD33+/ FLT3+ AML – ZKUŠENOSTI ČESKÝCH HEMATOLOGICKÝCH CENTER

Weinbergerová B.¹, Čerňan M.², Szotkowski T.², Semerád L.¹, Kabut T.¹, Navrátilová J.², Podstavková N.¹, Procházková J.¹, Ježíšková I.¹, Klemešová I.¹, Folta A.¹, Mayer J.¹

¹ Interní hematologická a onkologická klinika LF MU a FN Brno

² Hemato-onkologická klinika LF UP a FN Olomouc

Úvod: Midostaurin (MIDO) v kombinaci s intenzivní chemoterapií představuje standardní postup léčby u mladších pacientů s nově diagnostikovanou *FLT3+* akutní myeloidní leukémií (AML) a podobně gemtuzumab ozogamicin (GO) pro definovanou skupinu pacientů s *CD33+* AML.

Cíle: Naším cílem bylo zhodnocení klinických dat týkajících se současného použití GO a MIDO s intenzivní terapií u nově diagnostikované AML.

Metody: Provedli jsme retrospektivní analýzu dat z registru DATOOL-AML týkajících se epidemiologie, léčby a prognózy pacientů s novou *FLT3+/CD33+* AML, u kterých byla na dvou českých hematooonkologických centrech použita kombinace GO+MIDO+intenzivní chemoterapie během 07/2020–10/2021.

Výsledky: Celkem bylo analyzováno osm případů (62,5 % mužů) s mediánem věku 45 let (27–61). Medián sledování od diagnózy byl 43 týdnů. Většina pacientů měla *de novo* AML (87,5 %), jeden AML „therapy-related“ (12,5 %). Šest (75 %) případů mělo AML s rekurentní genetickou abnormalitou (*NPM1* 62,5 %, *RUNX1-RUNX1T1* 12,5 %), *AML NOS* 12,5%. *FLT3-ITD+* byla u pěti pacientů (62,5 %), *FLT3-TKD+* u dvou případů (25 %), jeden případ (12,5 %) měl současně *FLT3-ITD+/FLT3-TKD+*. Většina měla normální cytogenetický nález 87,5 %. Medián vstupního počtu leukocytů byl $61 \times 10^9/l$. Nízké ELN riziko mělo pět případů (62,5 %) a vysoké tři případy (37,5 %). Medián počtu dní od diagnózy do zahájení intenzivní léčby byl 8 dní. Všichni pacienti zahájili indukci 3 (daunorubicin 60 mg/m^2)+7+GO+MIDO, z toho sedm (87,5 %) dosáhlo CR, z nich: jeden MRD (*NPM1*) – 12,5 %, jeden MRD (*FLT3-TKD/FLT3-ITD*) – 12,5 %, u čtyř pacientů klesla nálož *NPM1* v kostní dřeni na medián 181 kopií (22–23 417). Jeden pacient měl RD (12,5 %) a záchranný FLAG zajistil CHR s následnou aloHSCT. Celkem šest pacientů (75 %) pokračovalo 1–2 konzolidacemi vč. GO+MIDO a tři z nich byli následně alogenně transplantováni (37,5 %). U jednoho (12,5 %) pacienta nebyl v konzolidaci GO podáván pro komplikace po indukci. Na posledním „follow up“ žije sedm (87,5 %) pacientů, jeden pacient s AML „therapy-related“ zemřel v aplázii po aloHSCT. Všech sedm žijících pacientů je v CHR.

Závěr: Analýza prokázala efektivitu a tolerabilitu kombinované intenzivní léčby s GO+MIDO u *de novo* AML ve smyslu vysoké četnosti dosažení CR s hlubokým poklesem MRDmol a celkového přežívání. Nutno však zohlednit menší vzorek analyzovaných pacientů.

Práce byla podpořena Českou leukemickou skupinou pro život (CELL) a grantem MZ ČR – RVO (FNBr 65269705).

NOVÉ TYPY CAR-T LYMFOMŮ PRO LÉČBU AKUTNÍ MYELOIDNÍ LEUKÉMII

Mucha M., Šmilauerová K., Petráčková M., Štach M., Rychlá J., Kaštánková I., Šroller V., Lesný P., Otáhal P.

Ústav hematologie a krevní transfúze, Praha

Léčba akutní myeloidní leukémie (AML) pomocí CAR-T lymfocytů je velmi experimentální léčebný postup. V porovnání s B-buněčnými malignitami není k dispozici žádný molekulární target, který by byl podobně účinný jako je antigen CD19. V současnosti testované targety pro léčbu pomocí CAR-T jsou antigeny CD33, CLL-1 a CD1123, které jsou však exprimovány i na zdravých hematopoetických buňkách a jejich použití je spojené s podobnými nežádoucími účinky – eliminace zdravé hematopoiezy v důsledku off-target toxicity. Současně se ale jedná o účinné cíle pro nádorovou imunoterapii a v řadě klinických studií byla popsána jejich efektivita v eliminaci buněk AML. Řešení tohoto problému spočívá v cílené eliminaci CAR-T po navození remise onemocnění pomocí tzv. bezpečnostní pojistky

(*safety switch*). Toho lze dosáhnout např. pomocí koexpresy antigenů CD20 nebo EGFR současně s CAR konstruktem. Aplikované CAR-T lymfocyty lze tedy cíleně eliminovat terapeutickými protilátkami rituximab (anti-CD20) nebo cetuximab (anti-EGFR) a zabránit tak vzniku dlouhodobé cytopenie. V ÚHKT byl zahájen vývoj nového typu CAR-T lymfocytů specifických na antigen CD123 a exprimujících EGFR *safety switch*. Pro přípravu CD123 CAR-T buněk se využívá nevirová metoda transfekce pomocí transpozonu piggyBac. Vektory pro přípravu CD123 CAR-T jsou založené na synteticky vyrobeném DNA transpozonu obsahujícím CD123 CAR a na *in vitro* transkribované mRNA kódující piggyBac transpozázou, která umožní integraci CD123 CAR transpozonu do genomu buňky. Obě komponenty (DNA transpozon a mRNA transpozázou) se elektroporují do leukocytů získaných z periferní krve a následně se buňky expandují *in vitro* v bioreaktoru. Takto připravené buňky účinně rozpoznávají AML targety *in vitro* a jsou schopné kontinuální cytotoxicity po dobu několika dnů během *in vitro* kokultivace s AML targety. Vyvinutý postup výroby je založen na synteticky připravených DNA/RNA vektorech, což je významný benefit pro plánovanou GMP certifikaci tohoto experimentálního léčivého přípravku. Zahájení klinického testování CD123 CAR-T je hlavní cíl tohoto projektu, což ale bude možné až po zavedení GMP výroby a splnění všech podmínek regulačních úřadů (SÚKL).

HODNOCENÍ GERIATRICKÝCH SYNDROMŮ U STARŠÍCH PACIENTŮ S AKUTNÍ MYELOIDNÍ LEUKÉMIÍ – PILOTNÍ PROJEKT JEDNOHO CENTRA

Weinbergerová B.¹, Voldřich J.¹, Nováková Z.¹, Semerád L.¹, Podstavková N.¹, Kvetková A.¹, Procházková J.¹, Warren J.², Tomiška M.^{1,3}, Matějovská Kubešová H.⁴, Mayer J.¹

¹ Interní hematologická a onkologická klinika LF MU a FN Brno

² Oddělení klinické psychologie, FN Brno

³ Oddělení léčebné výživy, LF MU a FN Brno

⁴ Klinika interní, geriatry a praktického lékařství LF MU a FN Brno

Úvod: Akutní myeloidní leukémie (AML) nejvíce postihuje starší pacienty s výrazně horšími léčebnými výsledky, toxicitou léčby a přežíváním ve srovnání s mladšími nemocnými vzhledem k nepříznivé biologické charakteristice onemocnění, sníženým rezervám organismu a komorbiditám. V klinické praxi představuje správná personifikovaná selekce pacientů k příslušné léčbě hlavní nástroj ke zlepšení výsledků, přičemž komplexní hodnocení tzv. geriatrických syndromů se stává v poslední době její rutinní součástí. **Cíle:** Naším cílem bylo vytvořit, otestovat a optimalizovat jednoduchý skórovací systém se začleněním hodnocení „geriatrických syndromů“ použitelný pro terapeutickou rozvahu v běžné klinické praxi.

Tab. 1. Skórovací systém hodnocení geriatrických syndromů u akutní myeloidní leukémie – pilotní a aktualizovaná verze.

Pilotní verze			
	fit	vulnerabilní	křehký
ECOG	< 2	2	≥ 3
HCT-C1	0–1	2	≥ 3
ADL	bez deficitu	bez deficitu	deficit
IADL	bez deficitu	mírný deficit	deficit
TUG	< 10 s	10–20 s	> 20 s
ACE-R	bez deficitu	lehký deficit	těžší deficit
polyfarmacie ≥ 5 užívaných léků	ne	ne	ano
malnutrice	ne	ano	ano
Aktualizovaná verze			
	fit	vulnerabilní	křehký
CIRS-G	bez komorbidit se skóre 3–4	Max. 1 komorbidita se skóre 3–4	2 a více komorbidit se skóre 3–4
ADL	75–100	50–70	0–45
IADL	75–80	50–70	0–45
TUG	< 10 s	10–20 s	> 20 s
MoCA	26–30/30	21–30/30	0–20/30
polyfarmacie ≥ 5 užívaných léků	ne	ano	ano
malnutrice	ne	lehká	významná

ADL – activities of daily living; ACE-R – Addenbrooke’s Cognitive Examination-Revised; CIRS-G – Cumulative Illness Rating Scale-Geriatric; IADL – Instrumental Activities of Daily Living; MoCA – Montreal Cognitive Assessment; TUG – Timed Up and Go

Metody: Provedli jsme prospektivní hodnocení geriatrických syndromů a ostatních prognostických faktorů u pacientů ≥ 60 let s nově diagnostikovanou AML (mimo M3) během 04–12/2021. Skórovací systém zahrnoval kognitivní/fyzickou výkonnost, nutriční stav, komorbidity, polyfarmacii, prognostický model AML. Na základě výsledků byli pacienti rozděleni do tří skupin: fit, vulnerabilní a křehcí (pilotní verze v tab. 1). Následně byly výsledky léčby porovnány s pilotním skórovacím systémem a navržena optimalizace.

Výsledky: Do pilotního projektu vstoupilo 29 pacientů. U 15/29 pacientů (52 %) byly zhodnoceny všechny parametry (53 % mužů, medián 74 let). Rozdělení do skupin bylo: sedm fit (47 %), šest vulnerabilní (40 %), dva křehcí (13 %). Ve „fit“ skupině byli čtyři pacienti léčeni kurativně s efektem CR, dva pacienti venetoklaxem+azacitidinem (VENE+AZA) s efektem CRi a jeden případ symptomaticky s efektem PROG. Ve „vulnerabilní“ skupině byli tři pacienti léčeni VENE+AZA s efektem 2x CR/CRi a 1x PROG, dva pacienti paliativně a jeden symptomaticky s efektem PROG. V „křehké“ skupině byl jeden pacient léčen paliativně bez hodnoceného efektu

a jeden symptomaticky s efektem PROG. U žádného pacienta v souboru nebyly pozorovány neobvyklé komplikující události. Celková doba sledování je 20 týdnů (4–44). Celkem šest (40 %) pacientů zemřelo (jeden fit, čtyři vulnerabilní, jeden křehký), všichni na progresi AML. Ostatních devět pacientů žije v CR/CRi. Většina „fit“ pacientů dosáhla léčbou CR/CRi (86 %), která trvá na posledním follow-up (medián 25 týdnů). „Vulnerabilní“ skupina profitovala z léčby VENE+AZA.

Závěr: Pilotní projekt hodnocení geriatrických syndromů u nově diagnostikovaných starších pacientů s AML prokázal funkčnost ve smyslu adekvátní selekce nemocných do příslušné skupiny a volby léčby. Ve snaze zvýšit zastoupení kompletně skórovaných pacientů jsme ve spolupráci s odborníky nahradili některá vyšetření snáze proveditelnými v klinické praxi a zavedli jsme kvantitativní a jednotný systém hodnocení jednotlivých parametrů (aktualizovaná verze v tab. 1).

Práce byla podpořena Českou leukemickou skupinou pro život (CELL) a grantem MZ ČR – RVO (FNBr 65269705).

7. MYELOIDNÍ NEOPLÁZIE A VZÁCNÁ ONEMOCNĚNÍ

REZISTENCE MYELOIDNÍCH MALIGNIT NA LÉČBU A STRATEGIE K JEJÍMU PŘEKONÁNÍ

Stopka T.

I. interní klinika 1. LF UK a VFN & Biocev Praha

Hematologické malignity se dělí na klinické, morfologické či genetické jednotky. V České republice přibývá ročně asi 6 tisíc nových pacientů a tento počet se zvyšuje s věkem. Myeloidní vs. lymfoidní malignity jsou přibližně v poměru 1 : 3, obecně méně u žen než u mužů. Myeloidních malignity zahrnují též Myelodysplastický syndrom (MDS), jehož molekulární patogeneze představuje vícestupňový proces. MDS je dobře známý díky postupné klonální selekci, která je hlavní hnací silou progresse MDS vyznačující se vývojem *driver* mutací kmenových buněk. Mechanismus v kmenových buňkách a myeloidních progenitorech stimuluje přežívání a proliferaci buněk spojenou s replikační senescencí a zkracováním telomer, což v další fázi při ztrátě DNA, opravě DNA náchylné k chybám, ztrátě genomové stability a proliferační expanzi vede nakonec k vysoce charakteristické konverzi MDS na akutní myeloidní leukémii (AML).

Naše klinická skupina již delší dobu studuje účinnost léčby azacitidinem (AZA) u MDS. AZA se inkorporuje místo cytidinu do DNA, kde působí jako přímý a ireverzibilní inhibitor DNA metyltransferázy, což vede k hypometylaci DNA transkripčně umlčených genů a současně k bloku proliferace nádorových buněk. Studie AZA-001 zahrnující 358 pacientů s MDS vyššího rizika dosáhla mediánu 24 měsíců OS pro AZA a léčebné odpovědi téměř ¾ vč. zlepšení hematologie. Zatímco odpovědi typu CR+HI představovala lepší výsledek s 24měsíčním mediánem přežívání (OS), všichni pacienti nakonec selhali při léčbě AZA a zemřeli. Selhání hypometylační terapie představovalo donedávna slepou uličku šancí pacientů s MDS na delší přežití (~ 4–6 medián OS). V recentní minulosti bylo učiněno mnoho pokusů o zapojení nových léčebných postupů vč. inhibitoru BCL2 VENETOCLAX nebo inhibitoru Neddylace PEVONEDISTAT do terapie s AZA. Z širšího pohledu má oblast MDS (v případě 5q MDS) již zkušenosti s proteazom-interferující terapií LENALIDOMIDEM, který molekulárně funguje tím způsobem, že generuje neomorfny cíle proteazomu, které jsou shodou okolností kódovány na 5q chromozomu.

Naším vědeckým cílem je dešifrovat události a mechanismy klonální evoluce během navození terapeutické tolerance a progresse hematologických malignit a doplnit terapeutické přístupy nebo nahradit původní látkou látkou, která cílí na klíčový mechanismus terapeutické rezistence. V neposlední řadě je naším cílem také vyvinout nové terapeutické přístupy pro pacienty s progresí na léčbě a navrhnout klinickou studii k zavedení takového přístupu do klinické medicíny. V přednášce představíme náš nejnovější vývoj v oblasti buněčných a myších PDX modelů MDS/AML pro studium terapeutické rezistence. Popíšu také náš konceptuální výzkum s využitím OMICS

technologí k identifikaci genetických a epigenetických důsledků terapeutické rezistence jednak vůči AZA a dále i k PEVONEDISTATU. Nakonec také popíšeme využití proteomických přístupů a zejména redoxní proteomiky ke studiu toho, jak terapeutická rezistence vede k dysbalancím v homeostáze redoxního systému.

Mezi experimentálně dříve definované přístupy k léčbě MDS a AML patří tzv. diferenační terapie. Poskytneme další experimentální důkazy o tom, že pokud chceme takový přístup považovat za úspěšný, musí zahrnovat zástavu buněčného cyklu a fenotypové výsledky související s apoptózou, a nikoliv pouze transkripční odpověď.

Přednášku zakončím recentní interim analýzou naší akademické randomizované klinické studie EudraCT#: 2013-001639-38 zkoumající podání G-CSF před léčbou standardního AZA u MDS s vyšším rizikem a MDS/AML s počtem blastů do 30 %. Do GA studie vstoupilo celkem 76 pacientů od 6. 2. 2017 do 31. 12. 2021. Nemocní byli randomizováni do ramene A (monoterapie azacitidinem) a ramene GA (kombinace s G-CSF). Zařazení byli jen nemocní, kteří nebyli kandidáti transplantace. Primárními cíli studie byly celkový počet terapeutických odpovědí a přežívání.

PRVNÍ ZKUŠENOSTI JEDNOHO CENTRA S TERAPIÍ REBLOZYLEM U NEMOCNÝCH S MYELODYSPLASTICKÝM SYNDROMEM (MDS) S NÍZKÝM RIZIKEM S TRANSFUZNÍ DEPENDENCÍ, REFRAKTERNÍCH NA TERAPII ERYTROPOETINY

Jonášová A., Stopka T., Minařík L.

Hematologie, I. interní klinika 1. LF UK a VFN v Praze

Úvod: V terapii nízce rizikových nemocných s myelodysplastickým syndromem (MDS) je dominujícím problémem anémie, asi 90 % nemocných je anémických a 60 % vyžaduje transfuze. Léta používáme u terapie anémie erythropoetiny (EPO). Bohužel u transfuzně dependentních nemocných odpovídá pouze 10–20 %. Recentním průlomem v terapii anémie jsou léky účastníci se blokady dráhy TGFβ. Do této skupiny patří luspatercept. Luspatercept (Reblozyl, Celgene-BMS) je modifikovaný IIB receptor aktivinu, který inhibuje dráhu SMAD2/3 blokadou GDF11 (*growth differentiation factor*) a vede k potenciaci diferenciaci a proliferaci červené řady. Luspatercept byl povolen v loňském roce EMEA v terapii anémických nízce rizikových nemocných s věnečkovitými sideroblasty (MDS-RS-MLD, MDS-RS-SLD) s transfuzní závislostí, neodpovídajících nebo nevhodných k EPO. Ve studiích vedl k transfuzní nezávislosti mezi 40–50 %.

Metody: Od ledna 2021 do března 2022 bylo na I. Interní klinice VFN v Praze léčeno Reblozylem 21 nemocných. Medián věku nemocných byl 77 (57–89) s poměrem mužů/ženy (11/10). Diagnózy podle WHO 2016: 18 MDS-RS-MLD a tři RARS-T. Reblozyl byl podáván

v subkutánních injekcích 1x za 3 týdny s iniciální dávkou 1 mg/kg váhy. Zvyšování dávky proběhlo podle schématu vždy po dvou cyklech bez odpovědi na 1,33 a 1,75/kg. Medián podaných cyklů byl 7 (2–17). Transfuzní dependence se pohybovala před zahájením terapie od 4TU/4 týdny po 1TU/6 týdnů. Tři nemocní měl v době zahájení neutropenii Gr II, tři nemocní trombocytopenii Gr II. Vstupní hladina erythropoetinu byla v průměru 350 mU/ml (150–770). Nevyskytli se žádné nežádoucí účinky Gr II a více.

Výsledky: Dosud odpovědělo dosažením transfuzní nezávislosti 14 (73 %) nemocných, jeden nemocný má pouze snížení transfuzní závislosti, pět nemocných neodpovědělo, dva nejsou zatím hodnotitelní. Dobu trvání odpovědi, ale zatím nelze hodnotit pro krátké trvání sledování nemocných (2–13 měsíců). Medián počtu cyklů k dosažení odpovědi jsou čtyři cykly. U 10 nemocných bylo nutno k dosažení kýžené odpovědi zvyšovat dávku (šest na 1,75 a čtyři na 1,33/kg). U šesti nemocných jsme ještě přidávali k terapii Reblozylem EPO (oba působí na odlišné úrovni erythropoézy), čtyři z nich zlepšili svou odpověď. Lepšími respondenty obecně byli nemocní s nižší iniciální vstupní hladinou erythropoetinu. Byť mnozí nemocní dostávali Exjade u respondentů byl významný pokles hodnot ferritinu v průměru o 1 030 µg/l během terapie.

Závěr: Závěrem lze říci, že luspatercept (Reblozyl) je jistě dalším významným krokem v terapii anemie u MDS nemocných. Výhodou léku je velmi dobrá tolerance a snadná aplikace. Vyšší procento odpovědi v našem sledování může být ovlivněno kombinací s EPO a rychlým navyšováním dávky.

REGISTR NEMOCNÝCH S PAROXYSMÁLNÍ NOČNÍ HEMOGLOBINURIÍ V ÚHKT A JEHO KLINICKÝ VÝZNAM

Čermák J., Válka J.

Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

Ústav hematologie a krevní transfuze (ÚHKT) patří mezi centra specializované péče v rámci Evropské sítě pro vzácné choroby krvetvorby (EuroBloodNet). V rámci tohoto projektu jsou budovány registry nemocných. Registr nemocných s paroxysmální noční hemoglobinurií (PNH) v současné době čítá 47 nemocných, 44 z nich žije (93,6 %). Věkový průměr v době dg. činil 35,1 let, u osmi nemocných se PNH rozvinula z AA, resp. dětské refrakterní cytopenie (RCC), čtyři z nich byli léčeni v minulosti kombinovanou imunosupresí s ATG. U 19 nemocných byla přítomna těžká hemolýza +/- trombotické komplikace, u 10 nemocných středně těžká chronická hemolýza, u devíti nemocných pouze minimální hemolýza, pět nemocných mělo hypoplastickou formu PNH a u čtyř nemocných byl přítomen pouze minimální klon (< 1 % PNH III. RBC). V jednotlivých skupinách byl průměrný počet PNH III. RBC/PNH III. granulocytů 34,8/74,1; 18,5/60,7; 6,1/22,1; 2,4/46,3 a 0,8/3,7 %. Průměrné hodnoty Hb činily 94,1; 104,7; 112,0; 70,0; a 131,0 g/l, průměr hodnot LD byl 23,4; 17,4; 5,6; 6,4 a 5,0 µkat/l a hodnoty D dimérů 1147,7; 290,0; 186,7; 236,4 a 136,0 µmol/l. Průměr podaných

transfuzí/měsíc činil 1,9; 0,2; 0,1; 3,4 a 0 TU. Trombotické komplikace se vyskytly u sedmi nemocných s těžkou formou hemolýzy, u dvou nemocných se středně těžkou a jednoho nemocného minimální hemolýzou. Antikoagulancia byla podávána léčebně či profylakticky u všech nemocných s těžkou hemolýzou u 6 z 10 nemocných se středně těžkou hemolýzou a jednoho nemocného s minimální hemolýzou. U 14 z 19 nemocných s těžkou hemolýzou byla zahájena léčba Solirisem, u sedmi z nich došlo k vymizení hemolýzy a kompletní úpravě KO, tři z nich byli převedeni na léčbu Ultomirisem, u sedmi nemocných byla přítomna redukce hemolýzy s poklesem počtu podaných transfuzí RBC/měsíc o více než 50 %. U žádného z nemocných léčených inhibitory komplementu nebyla během léčby pozorována rekurence trombózy, nicméně, u všech bylo přítomno přetrvávající zvýšení C3b složky komplementu svědčící o trvajícím určitém stupni extravaskulární hemolýzy. Čtyřem nemocných s chronickou hemolýzou byly podávány steroidy +/- CS-A a u dvou nemocných byla nutná dlouhodobá substituce Fe. Allogenní SCT byla provedena u tří nemocných, z toho u dvou s hypoplastickou formou choroby, všichni nemocní žijí. Naše výsledky potvrzují, že nemocní s opakovanou závažnou hemolýzou představují skupinu s největším rizikem a jsou plně indikováni k léčbě inhibitory komplementu, další rizikovou skupinou jsou nemocní s hypoplastickou formou choroby, kde je metodou volby allogenní SCT (dva nemocní, kteří zemřeli, měli hypoplastickou PNH). V současné době se ÚHKT participuje na studiích hodnotících přínos inhibitorů C3 složky komplementu.

GATA2 DEFICIENCE – JEDNA MUTACE A MNOHO KLINICKÝCH OBRAZŮ

Bělohávková P., Hrochová K., Fátorová I.

IV. Interní hematologická klinika LF UK a FN Hradec Králové

Úvod: Gen GATA2 se nachází na chromozomu 3q21.2 a patří do rodiny nukleárního transkripčního faktoru. GATA2 deficiencie byla poprvé popsána v roce 2011 a až 80 % mutací vzniká *de novo*. Nemocní s GATA2 deficiencí trpí variabilními klinickými projevy, které jsou nejčastěji hematologického, infekčního, plicního nebo cévního charakteru. U pacientů je velmi vysoké riziko rozvoje myelodysplastického syndromu (MDS) či akutní leukémie (AML). Medián věku prvních klinických projevů je udáván kolem 18 let. Podle literatury byla dosud GATA2 deficiencie diagnostikována u více než 500 jedinců.

Kazuistika: Popisujeme případ 30leté nemocné, která byla na naše pracoviště v červnu 2021 odeslána pro podezření na MDS. Nemocná od 12 let má lymfedém pravé dolní končetiny a trpí opakovanými infekcemi (opakovaně erysipel). V červnu 2020 prodělala pneumonii, kde jako etiologické agens bylo prokázáno *Mycobacterium avium*, následně nemocná podstoupila 6měsíční antiinfekční léčbu (ciprofloxacin, etambutol, rifampicin). V březnu 2021 onemocněla COVID-19 pneumonií s nutností hospitalizace (nutnost oxygenoterapie, podání remdesiviru a kortikoidů). Vstupní parametry krevního obrazu byly následující: leukocyty $1,5 \times 10^9/l$ se 76 % neutrofilů, 4 % neutrofilních tyčů, 15 % lymfocytů, 6 % bazofilů a 0 % monocytů. Hodnota hemoglobinu

a trombocytů byla normální. Nátěry kostní dřeně byly hypocelulární s dysplastickými změnami červené a bílé řady a 1 % blastů (tedy obraz MDS s multilineární dysplázií). Cytogenetické vyšetření prokázalo normální karyotyp, ale NGS vyšetření prokázalo GATA2 deficienci variantu c.354 (Ser119Glu>Ter66), která dosud v literatuře nebyla popsána. Dále u nemocné byly nalezeny mutace BCOR c.2607T>A, p.(Tyr869Ter) a ATM: c.1229T>C, p.(Val410Ala). Pacientka podstoupila plicní vyšetření vč. HRCT, kde byl zjištěn plicní emfyzém, centrální bronchiektázie a postižení plicního intersticia. Byla zahájena inhalační léčba (tiotropium/olodaterolum, ipratropium) se zlepšením námažové dušnosti. Nemocná je pravidelně dispenzarizována, v plánu jsou kontrolní vyšetření dřeně po 6 měsících. Nicméně vzhledem k vysokému riziku progresu do vyšších stádií MDS či AML do 40 let, nemocná bude jistě indikována k alogenní transplantaci krvetvornými buňkami.

Závěr: Ve sdělení shrneme pestrost laboratorního a klinického obrazu u deficiencie GATA2. Příklad naší pacientky potvrzuje nutnost u dětí a mladých pacientů s obrazem selhávání kostní dřeně na tuto vzácnou, klinickou jednotku pomýšlet.

K TLOUŠŤCE CHROMATINOVÝCH VLÁKEN BĚHEM DIFERENCIACE BUNĚK LYMFOCYTÁRNÍ, GRANULOCYTÁRNÍ A ČERVENÉ KREVNI ŘADY NEMOCNÝCH S CLL, CML A M2AML. MORFOLOGICKÁ A CYTOCHEMICKÁ POZNÁMKA

Smetana K.¹, Mikulenkova D.¹, Klamova H.¹, Karban J.², Trnėny M.²

¹ Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

² Klinika hematologie a onkologie 1. LF UK, Praha

Strukturální organizace chromatinových vláken (fibril) a vláček (filament) je předmětem velkého počtu publikací ve světovém písemnictví. Na druhé straně tloušťka vláken v chromozomech

a buněčném jádře během buněčné diferenciace byla méně studována i když by mohla přinést komplementární informace jak pro základní, tak aplikované biomedicínské poznatky o těchto buněčných komponentách. Proto byla tloušťka chromatinových vláken v interfazických jádrech měřena v časných a terminálních stádiích jednotlivých buněk lymfocytární, granulocytární (neutrofilní) a červené krevní řady v nátěrech periferní krve a kostní dřeně nemocných s CLL, CML a M2AML kde tyto buňky jsou přítomny v dostatečných počtech. Chromatinová vlákna byla vizualizována cytochemickou metodou pro demonstraci DNA a panoptickým barvením May-Grünwald – Giemsa-Romanowsky (MG-GR), které do jisté míry také představuje cytochemickou metodu. Měření bylo prováděno upraveným světelným mikroskopem na počítačem zpracovaných digitalizovaných obrazech pomocí počítačových programů firmy Olympus a NIH. Podle výsledků měření tloušťka chromatinových vláken v centrální a periferní oblasti jádra buněk s proliferativním potenciálem ($\approx 0,56 \pm 0,4 \mu\text{m}$) byla shodná a stabilní ve všech studovaných řadách. Pouze u myeloblastů M2AML s poruchou diferenciace byla větší ($0,66 \pm 0,01 \mu\text{m}$) a prakticky shodná jako ve zralých buňkách neutrofilní řady ve stádiu terminální diferenciace ($0,67 \pm 0,01 \mu\text{m}$). Tento fenomén pak lze přiřadit k asynchronní buněčné dysplazii jednotlivých abnormálních myeloblastů. V terminálních erytroblastech tloušťka některých chromatinových vláken byla také větší, avšak bez statistického významu pro vyšší variabilitu měřených výsledků. Za zmínku ještě stojí, že tloušťka chromatinových vláken byla o málo větší po barvení MG-GR metodou než po cytochemické vizualizaci DNA díky přítomnosti asociovaných proteinů s těmito vlákny. Je rovněž zajímavé, že tloušťka chromatinových vláken v interfazickém jádře myeloblastů se blížila tloušťce vláken „spiremu“ nebo mitotických chromatid.

Studie byla umožněna částečným financováním z výzkumného fondu ÚHK.

8. TRANSPLANTACE A BUNĚČNÁ TERAPIE

ALOGENNÍ TRANSPLANTACE KRVETVORNÝCH BUNĚK – OVĚŘENÁ A STÁLE PERSPEKTIVNÍ BUNĚČNÁ TERAPIE. AKTUÁLNÍ STAV A VÝZVY DO BUDOUCNOSTI

Jindra P.

Hematologicko onkologické oddělení, FN Plzeň

Alogenní transplantace krvetvorných buněk (aloHCT) je vysoce specializovaná terapeutická metoda, která je potenciálně kurativní pro řadu hematologických i nehematologických onemocnění. Do dnešního dne bylo provedeno celosvětově již takřka 1,5 milionu transplantací ve více než 1 500 transplantačních centrech a každý rok podstoupí tuto proceduru 10 000 pacientů. Dle dat EBMT (Evropa) a CIBMTR (USA) má počet provedených transplantací za rok stále vzestupný trend. Tento fakt je takřka neuvěřitelný, pokud si uvědomíme, že ještě počátkem 70. let 20. století se tato procedura zdála neperspektivní – vždyť z prvních 200 pacientů transplantovaných v letech 1957–1967 nepřežil nikdo, všichni zemřeli buď na komplikace samotné transplantace anebo na rekurenci nemoci (Bortin et al, 1970). Naštěstí další rozvoj na poli imunogenetiky, profylaxe GVHD, vznik registrů nepřibuzných dárců a pokroky v podpůrné léčbě vedly k renesanci alogenních transplantací v následujících letech. Přibližně od počátku 90. let 20. století přestala být aloHCT experimentální procedurou, ale stala se rutinní léčbou řady hematologických i nehematologických onemocnění. A přestože byla v posledních dvou dekádách s nástupem nových léků (TKI inhibitory, bispecifické protilátky...) či inovativních buněčných terapií (zejména CAR-T), opakovaně znovu „pohřbívána“, zdá se, že tato nejstarší buněčná terapie si nadále udrží své nezastupitelné místo v terapii maligních i nemaligních nemocí. Je ale logické, že její místo a vlastní provedení je v současnosti zcela odlišné a lze očekávat, že se bude dále vyvíjet.

Jak lze tedy charakterizovat aktuální stav aloHCT?

- Přes kontinuální pokroky v transplantační medicíně zůstávají nadále Scyllou a Charybdou aloHCT relaps původní malignity a reakce štěpu proti hostiteli (GVHD).
- S rozvojem registrů nepřibuzných dárců a s nástupem haploidních transplantací již nalezení dárce není zásadní otázkou – dárce najdeme prakticky pro každého pacienta.
- Věková bariéra se posunula směrem vzhůru – běžně transplantujeme i pacienty starší 70 let.
- Je k dispozici široké spektrum přípravných předtransplantačních režimů (tzv. conditioning) s různým stupněm myeloablace a immunoablace.
- Je k dispozici široké spektrum profylaxe GVHD (ATG, potransplantační cyklofosfamid...).
- Hlavní indikací aloHCT zůstávají myeloidní malignity – především AML, MDS, případně MPN.

A jakou lze tedy předpokládat budoucnost aloHCT?

Bude zcela jistě vycházet z výše uvedeného a bude nepochybně snaha všechny možnosti optimalizovat pro konkrétního pacienta či konkrétní nemoc/stav nemoci. Dá se tedy říci, že aloHCT bude maximálně personalizovaná. K dosažení tohoto cíle bude nezbytné pro specifického pacienta a diagnózu přesněji definovat:

- Optimálního dárce (haploidní × nepřibuzný HLA shodný × nepřibuzný neshodný).
- Optimální GVHD profylaxi (PTCY x ATG).
- Optimální předtransplantační přípravu.
- Optimální místo aloHCT v rámci inovativních (imuno)terapií (CAR-T, bispecifické protilátky, inhibitory).
- A naopak – optimální místo cílené léčby (TKI inhibitory, protilátky) v rámci aloHCT ať již v rámci conditioningu či udržovací léčby.

Souběžně s tím samozřejmě bude pokračovat vývoj nových léků v léčbě a prevenci GVHD (JAK1/2, ROCK-II, SYK inhibitory) a obecně i vývoj v dalších oblastech (antiinfekční léčba apod.).

Je zřejmé, že nejstarší ověřená buněčná terapie – aloHCT zůstane i v nejbližších letech nezbytnou součástí léčby řady hematologických onemocnění, navíc s potenciálem dalšího rozvoje v kontextu pokroků v netransplantačních postupech.

PROFYLAXE GvHD PO ALOGENNÍ TRANSPLANTACI KRVETVORBY OD HLA SHODNÝCH NEPŘIBUZNÝCH DÁRCŮ POMOCÍ POTRANSPLANTAČNÍHO CYKLOFOSFAMIDU A ATG VEDE K PODOBNÝM VÝSLEDKŮM

Vydra J.¹, Jindra P.², Válková V.¹, Karas M.², Šťastná Marková M.¹, Lysák D.², Nováková L.¹, Šrámek J.², Hrabětová M.², Cetkovský P.¹

¹ Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha.

² Fakultní nemocnice Plzeň

Úvod: Profylaxe GvHD vysokodávkovaným potransplantačním cyklofosfamidem (ptCy) vede k příznivým výsledkům u transplantací od HLA neshodných dárců. Použití ptCy u HLA shodných dárců je dosud předmětem jisté kontroverze. Z toho důvodu jsme retrospektivně analyzovali výsledky transplantací od HLA shodných nepřibuzných (MUD) dárců s použitím ptCy oproti antithymocytárního globulinu (ATG), v obou případech se standardní profylaxi cyklosporinem s mykofenolátem nebo s methothrexátem.

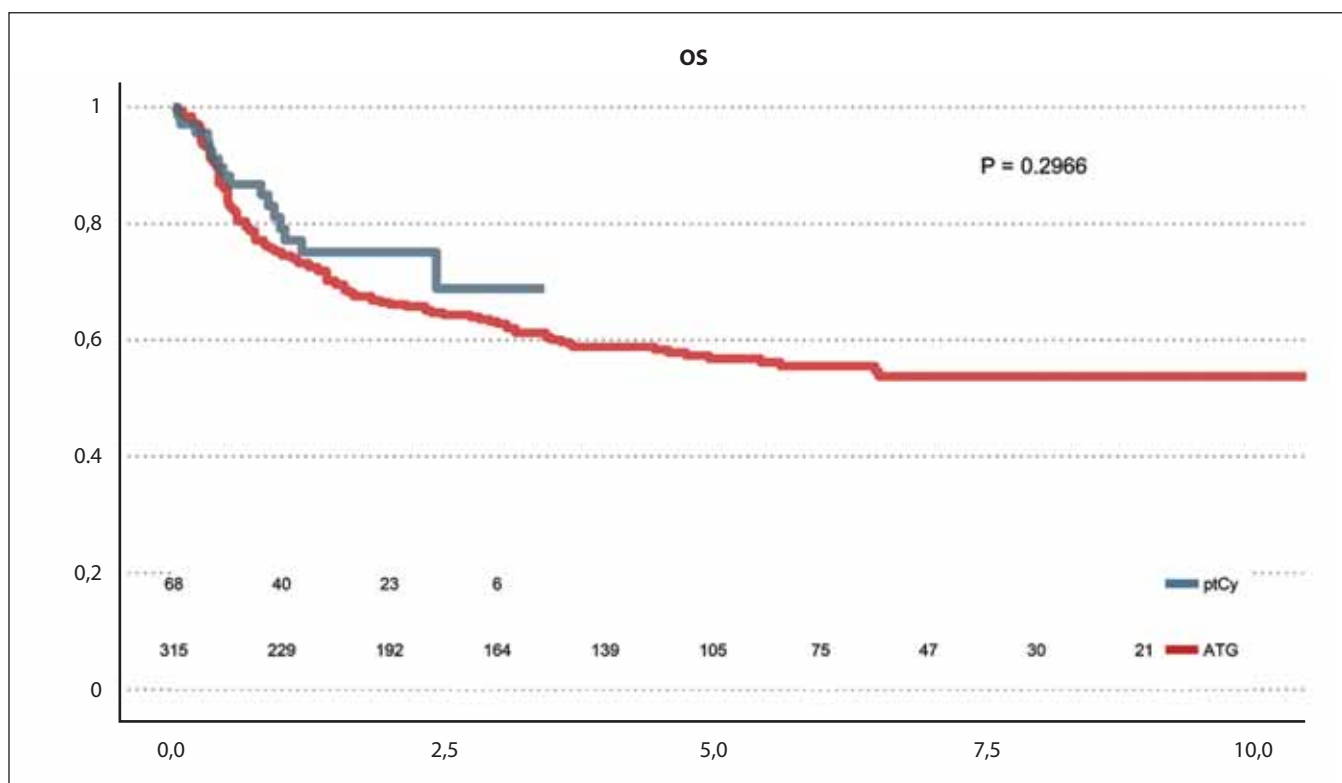
Metody: Data o transplantacích provedených v Ústavu hematologie a krevní transfuze a ve Fakultní nemocnici Plzeň byly získány z lokálních transplantačních databází. Přípravný režim byl buď myeloablativní (Bu/Flu nebo Bu/Cy) nebo redukován intenzitou (Flu/Mel). GvHD profylaxe se skládala z ptCy, cyklosporinu a mykofenolát

mofetilu (skupina ptCy) nebo z ATG, cyklosporinu a methothrexatu (skupina ATG). Byly vypočteny odhady celkového přežití dle Kaplan-Meiera, kumulativní incidence relapsu a NRM (kompetující rizika), hodnoty byly porovnány log-rank a Grayovým testem.

Výsledek: Do analýzy bylo zařazeno 383 pacientů, 315 ve skupině s ATG a 68 s ptCy. Celkové přežití po 2 letech bylo po ptCy 75,6 % (95% CI 63–90%) a po ATG 72,6 % (95% CI 65,8–80%). Kumulativní incidence NRM byla 9 % po ptCy a 19 % po ATG ($p = 0,023$), incidence relapsu

byla 28 % po ptCy a 38 % po ATG ($p = 0,089$). Incidence akutní GVHD grade 1–2 byla 35 % po ptCy a 28 % po ATG ($p = 0,56$); incidence grade 3–4 aGVHD byla 3,5 % po ptCy a 7,5 % po ATG ($p = 0,28$). Incidence středně těžké a těžké chronické GvHD byla 4,2 % po ptCy a 18 % po ATG ($p = 0,03$ pro střední a 0,3 pro těžkou cGVHD).

Závěr: Profylaxe GvHD po alogenní transplantaci krvetvorby s použitím ptCy a ATG vedla k podobným výsledkům po transplantaci od HLA shodných nepříbuzných dárců.



LÉČBA TĚŽKÝCH FOREM REAKCE ŠTĚPU PROTI HOSTITELI POMOCÍ MESENCHYMÁLNÍCH KMENOVÝCH BUNĚK – VÝSLEDKY KLINICKÉHO HODNOCENÍ

Lysák D.¹, Holubová M.^{1,2}, Karas M.¹, Hrabětová M.¹, Šrámek J.¹, Boudová R.³, Steinerová K.¹, Vrbová J.¹, Jindra P.¹

¹Hematologicko-onkologické oddělení, FN Plzeň

²Biomedicínské centrum, LF UK Plzeň

³Léčárna, FN Plzeň

Reakce štěpu proti hostiteli (GVHD) představuje jednu ze závažných komplikací po alogenní transplantaci krvetvorných kmenových buněk (aloSCT) a má výrazný vliv na morbiditu a mortalitu transplantovaných nemocných. Přes pokroky v prevenci a léčbě GVHD existuje stále skupina nemocných s těžkými formami steroidně refrakterní GVHD (40–50 % akutní GVHD). Pro tyto nemocné se ověřují nové léčebné postupy včetně metod buněčné imunoterapie.

Analyzovali jsme data z akademického klinického hodnocení (EudraCT 2013-003626-88) určeného k léčbě GVHD pomocí mesenchymálních kmenových buněk (MSC) za období 2013–2020. Léčeno bylo 62 pacientů (aGVHD 44/cGVHD 18) se steroidně-refrakterní/dependentní GVHD, kteří byli transplantováni s příbuzným (MSD 13 %, haplo 22 %) příp. nepříbuzným (MUD 47 %, MMUD 18 %) dárcem pro myeloidní (74 %) či lymfoidní (26 %) malignitu. Pokročilá GVHD stupně III/IV byla přítomná u 61 % aGVHD, u 11 % pacientů s cGVHD šlo o extenzivní formu. Všichni pacienti byly současně léčeni standardní imunosupresí (kortikoidy, CsA, MMF, ECP).

Aplikovány byly 1–3 infuze MSC (jednotlivá dávka medián 3×10^6 /kg, rozpětí $1–5 \times 10^6$ /kg) ve 3. intervalu (aGVHD), resp. 24 (cGVHD) měsíců od transplantace (mediány). Léčivé přípravky byly vyrobeny v režimu SVP týdenní rekvizitací z kryokonzervovaných MSC (meziproductů) izolovaných a expandovaných z kostní dřeně zdravých dárců. Nebyla pozorována žádná infusní toxicita ani dlouhodobé vedlejší účinky. Celkem 79 % (33/42) pacientů s aGVHD dosáhlo v den+14 odpovědi,

kteř trvala v den+30 –ORR a CR: 84 % (31/37) a 30 % (11/37). V pŕípadě chronické GVHD byla odpověď pozorována pouze u 39 % (7/18) pacientů a to s mediánem 45 dnů. U aGVHD se podařilo v pŕuběhu 4 tŕydnů zredukovat dávkou kortikoidů u pŕibližně 90 % nemocných, po 6 mĕsících byla dávka snižena na 1/5 úvodní hodnoty. V jednom roce od aplikace MSC pŕežívalo 43 % (19/44) pacientů s aGVHD a 89 % (16/18) pacientů s cGVHD. U žádného pacienta nebyl pozorován relaps onemocnění po aplikaci MSC.

Klinické hodnocení prokázalo, že infuze mesenchymálních kmenových buněk u transplantovaných pacientů je bezpečnou formou imunoterapie, která může potencovat efekt další imunosupresivní/imunomodulační terapie, umožnit zmírnění symptomatologie GVHD a redukovat dávkou kortikosteroidů. Prokázat nezávislý efekt MSC je obtížné s ohledem na řadu dalších proměnných a variabilitu souboru a výsledek studie odpovídá dosavadní literární zkušenosti, která potvrzuje bezpečnost, ale ne vždy jednoznačně také účinnost. Přesto se podání MSC stalo pro řadu pracovišť vč. našeho standardní metodou léčby těžkých forem zejména akutní reakce štěpu proti hostiteli a to v režimu časně indikace a aplikace opakovaných dávek MSC.

Podpořeno grantem MZ ČR-RVO (Fakultní nemocnice Plzeň-FNPI, 00669806).

VYUŽITÍ NK BUNĚK V RÁMCI PREVENCE RELAPSU U PACIENTŮ S HEMATOLOGICKÝMI MALIGNITAMI PO ALOGENNÍ TRANSPLANTACI KRVETVORNÝCH BUNĚK – KLINICKÁ STUDIE FÁZE IB/II

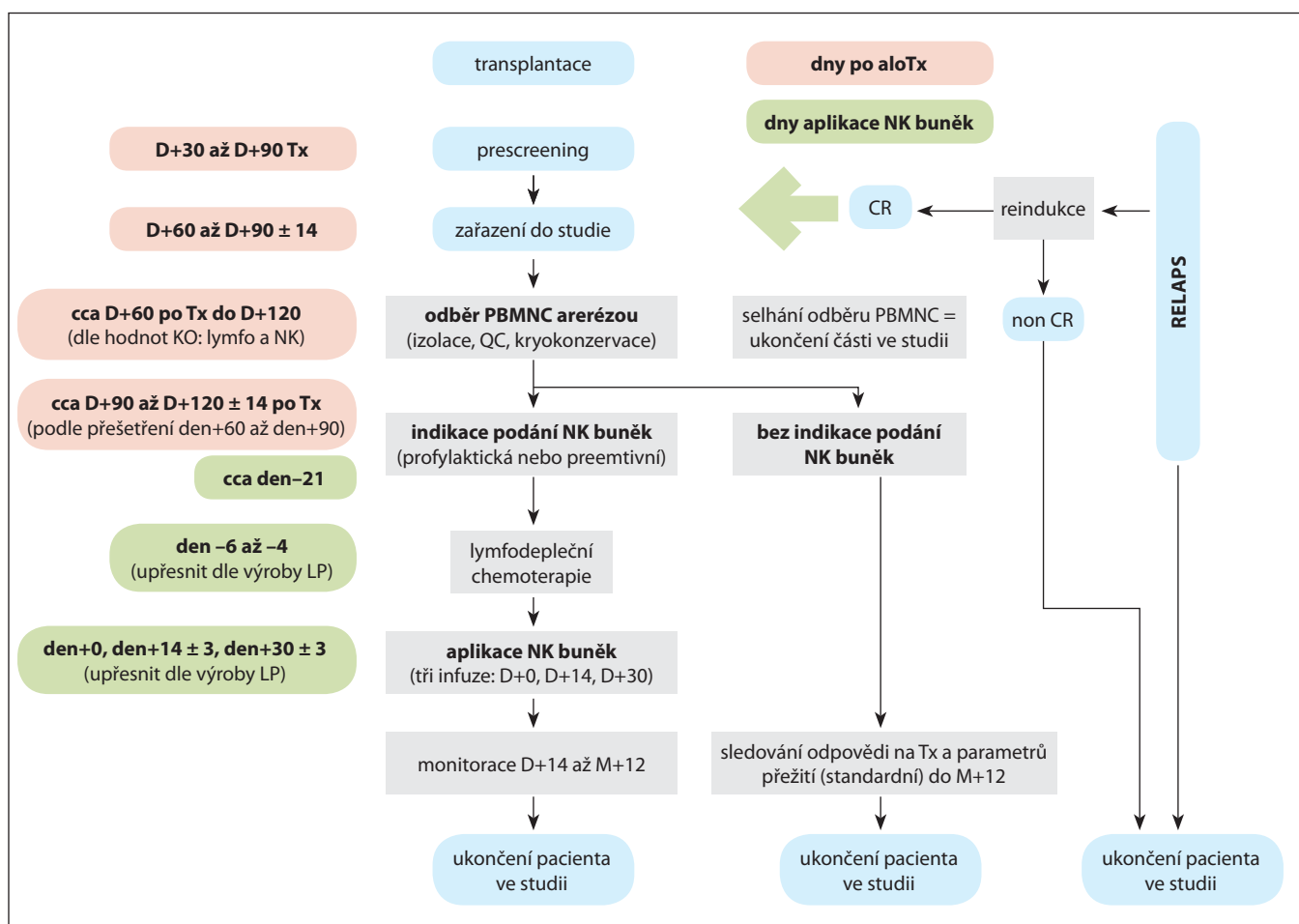
Šrámek J.¹, Holubová M.^{1,2}, Lysák D.¹, Chena D.¹, Karas M.¹, Hrabětová M.¹, Steinerová K.¹, Boudová R.¹, Vrbová J.¹, Paurová I.^{1,2}, Jindra P.¹

¹Hematologicko-onkologické oddělení, FN Plzeň

²Biomedicínské centrum, LF UK, Plzeň

Relaps pŕedstavuje nejčastější pŕičinu úmrtí pacientů po alogenní transplantaci krvetvorných kmenových buněk (aloSCT). Pacienti s rizikovým onemocněním dle *disease risk indexu* (DRI), či nemocní s měřitelnou reziduální nemocí po aloHSCT mají vysoké riziko relapsu onemocnění s omezenými terapeutickými možnostmi. Adoptivní imunoterapie pomocí *ex vivo* expandovaných a aktivovaných NK buněk pŕedstavuje potencionální léčebnou modalitu prevence relapsu.

Cílem unicentrické klinické studie fáze Ib/II (EudraCT-2018-001562-42) je ověření bezpečnosti aplikace léčivého pŕípravku (LP) z kultivovaných NK buněk a vyhodnocení variability kompozice



vyrobených LP. Sekundárními cíli jsou monitorace imunitní rekonstituce a sledování parametrů MRD, RFS, OS a výskytu GvHD během 12měsíčního follow-up.

Do klinické studie jsou zařazováni pacienti po alloHSCT pro hematologickou malignitu s rizikovým onemocněním definovaným dle DRI jako high a/nebo very high, či nemocní s prokazovanou MRD po transplantaci. NK buňky jsou izolovány z mononukleární frakce autologních leukocytů získaných leukaferezou mezi 2 a 4 měsícem po alloHSCT. Následuje in vitro kultivace, expanze a aktivace pomocí IL-2 a feeder cells po dobu 3 týdnů. Aplikaci LP NK buněk předchází lymfodepleční chemoterapie (Cyklofosamid 300 mg/m² a Fludarabin 30 mg/m² v den -6 až -3). Podání tří dávek LP NK buněk v dávce 0,5–1,5 × 10⁷/kg probíhá ve dnech den+0, den+14 a den+30.

Dosud bylo zařazeno 10 pacientů, aplikace byla realizována u osmi (4 × AML, 1 × ALL, 2 × MM, 1 × cHL), medián věku byl 56 let, DRI high/very high u 50 %, MRD poz. 50 %. Bylo aplikováno 22 LP z NK buněk, medián dávky 1,5 × 10⁷/kg, viabilita 99,5 %, čistota 98,9 %, exprese aktivačního znaku NKG2D 100 %, cytotoxická aktivita (procento mrtvých bb. linie K562) 83,7 % (mediány). Nebyla pozorována žádná infuzní toxicita a klinicky významné AE související s podáním LP. Kinetika lymfocytárních populací ukázala u většiny pacientů vzestup NK buněk v krvi trvající několik týdnů. Medián RFS a OS od aplikace LP byl 4,4 měsíce, resp. 6,8 měsíce. Nová aktivita GvHD byla pozorována u dvou pacientů (25 %).

Adoptivní imunoterapie NK buňkami v uvedeném designu klinické studie byla bezpečná, nebyla pozorována žádná infuzní toxicita. Vyrobené léčivé přípravky byly vysoce standardizované, s nízkou interindividuální variabilitou. Účinnost imunoterapie nelze zatím posoudit vzhledem k malému počtu pacientů, nicméně byl pozorován relativně vysoký počet pozdních relapsů, který lze v dané populaci nemocných předpokládat. K zajištění vyšší účinnosti imunoterapie NK buňkami budou pravděpodobně nutné další intervence např. kombinace s chemoterapií a/nebo cílenou terapií k ovlivnění leukémických kmenových buněk, či genová manipulace s přípravou CAR-NK buněk.

Práce byla podpořena grantem MZ-ČR-RVO (Fakultní nemocnice Plzeň-FNPI, 00669806).

PŘEDTRANSPLANTAČNÍ INFEKCE COVID-19 ZVYŠUJE RIZIKO REAKTIVNÍ HEMOFAGOCYTÁRNÍ LYMFHISTIOCYTÓZY U NEMOCNÝCH PO ALOGENNÍ TRANSPLANTACI KRVETVORNÝCH BUNĚK

Raida L., Kuba A., Skoumalová I., Jurášková J., Papajík T.

Hemato-onkologická klinika LF UP a FN Olomouc

Úvod: Reaktivní hemofagocytární lymfocytóza (HLH) představuje klinicky závažný systémový zánětlivý proces vyplývající z dysfunkce imunity nemocného. Spouštěcími faktory této nekontrolované sekundární zánětlivé reakce jsou obvykle infekce nebo nádorová onemocnění. V současnosti velmi aktuální

infekce COVID-19 je pak provázána relativně častým výskytem této komplikace.

Cíl: Retrospektivně analyzovat vliv vybraných faktorů, vč. prokázané infekce COVID-19 na rozvoj reaktivní HLH po alogenních transplantacích krvetvorných buněk (alloHSCT) v pandemických letech 2020/2021.

Soubor nemocných a metody: V období 2020/2021 podstoupilo alloHSCT 37 nemocných s věkovým mediánem 45 (18–64) let. Medián jejich potransplantačního sledování byl 314 (38–790) dnů. Před a potransplantační infekce COVID-19 byly potvrzeny u sedmi (18,9 %), resp. osmi (21,6 %) příjemců. HLH byla diagnostikována u 12 (32,4 %) pacientů v mediánu 70 (14–220) dnů po transplantaci. Metodami univariační a multivariační statistické analýzy byl vyhodnocen vliv jednotlivých faktorů na rozvoj potransplantační reaktivní HLH.

Výsledky: Příjemci s rozvojem HLH měli významně nižší potransplantační absolutní počty lymfocytů (ALC) 0,5 (0,05–1,1) vs. 1,2 (0,05–2,8) × 10⁹/l, p = 0,002 a hladiny IgG 5,4 (3,6–12,9) vs. 8,7 (0–14,2) g/l, p = 0,007. Předtransplantační infekce COVID-19 zvýšila pravděpodobnost rozvoje HL 71,4 % (95% CI 42,8–100 %) vs. 26,4 % (95% CI 9,8–43 %), p = 0,01. Multivariační analýza potvrdila ALC < 0,8 × 10⁹/l, RR 8,3 (95% CI 1,4–52,6), p = 0,02 a předtransplantační infekci COVID-19 RR 5,3 (95% CI 1,5–19,2), p = 0,01 jako jediné nezávislé prediktory zvýšeného rizika rozvoje HLH po alloHSCT.

Závěr: Tyto pilotní výsledky poukazují na významné riziko rozvoje reaktivní HLH po alloHSCT u nemocných s anamnézou infekce COVID-19 a přetrvávající těžkou alterací adaptivní imunity.

POINT-OF-CARE VÝROBA CD19 CAR-T POMOCÍ NEVIROVÉ TECHNOLOGIE piggyBac – ZKUŠENOSTI Z AKADEMICKÉ KLINICKÉ STUDIE FÁZE I

Vydra J.¹, Babulíková J.¹, Bielik L.¹, Štach M.¹, Petráčková M.¹, Mucha M.¹, Rychlá J.¹, Kaštánková I.¹, Šroller V.¹, Král V.², Lesný P.¹, Otáhal P.¹

¹ Ústav hematologie a krevní transfúze, Praha

² Ústav molekulární genetiky, AV ČR, Praha

Výroba komerčních produktů CAR-T buněk je komplikována vysokými náklady, dlouhou dodací lhůtou a nutností přepravy hluboce zmrazeného produktu na značné vzdálenosti. Výroba CAR-T lymfocytů v místě aplikace (*point-of-care*) může překonat většinu těchto překážek a podpořit výzkum a vývoj nových typů CAR-T. Výroba CAR-T se v současnosti běžně provádí pomocí lentivirů nebo retrovirů což vyžaduje velmi komplikovanou a zdlouhavou přípravu certifikovaných virových vektorů. Alternativní postupy jsou založeny na nevirálních metodách nejčastěji pomocí transpozonů jako je např. piggyBac. V uplynulých letech se v ÚHKT podařilo zavést výrobu CD19-specifických CAR-T buněk (UHKT-CAR19) pomocí piggyBac transpozonu a v nedávné době také zahájit jejich klinické testování u pacientů s r/r B-ALL/B-NHL (CART19 Cells Effects in Patients With Relapsed or Refractory Acute Lymphoblastic Leukemia and Non-Hodgkin's Lymphoma, NCT05054257).

Přípravek byl podán dvěma pacientům s refrakterní CD19+ malignitou (pacient 1: B-ALL po 2× alo-SCT+ 1× tisa-cel; pacient 2: folikulární lymfom po ASCT). Před podáním UHKT-CAR19 byla aplikována standartní lymfodeplece (FluCy) a následně dávka $0,5 \times 10^6$ /kg CAR-T. Léčba byla tolerovaná bez významných projevů toxicity (max. CRS grade 1). U prvního pacienta s ALL byly UHKT-CAR19 detekovány v periferní krvi v D26 pomocí průtokové cytometrie a tento pacient je v současnosti v CR. Druhý pacient s FL dosáhl kompletní regrese krční lymfadenopatie a je v CR dle PET/CT v D30, avšak CAR-T v periferní krvi nebyly detekovány.

Nevirové metody přípravy CAR-T buněk založené na transpozonech mají nižší požadavky na biologickou bezpečnost ve výrobní facilitě v porovnání s viry (BSL1 vs. BSL2) a umožní rychlejší a jednodušší schvalovací proces. Jedná se o univerzální platformu, která by mohla najít využití pro výrobu nových experimentálních přípravků pro první fáze klinického testování – v současnosti na našem pracovišti probíhá vývoj podobných CAR-T specifických na antigen CD123 pro léčbu AML a nového typu enhancovaných CD19 CAR-T buněk. Zavedení GMP výroby geneticky modifikovaného léčivého přípravku je důležitý krok pro další vývoj této terapeutické metody i pro jiné typy nádorů.

9. CYTOMORFOLOGIE V HEMATOLOGII

FPD/AML (FAMILIÁRNA PORUCHA TROMBOCYTOV S VÝVOJOM DO AML) – ČO O NEJ VIEME?

Rohoň P.

Klinika hematológie a transfúziológie LF UK a UN Bratislava, Slovensko

Niektoré vrodené (germline) mutácie (patogénne varianty) majú dôležitý podiel na rozvoji nádorových ochorení krvotvorby. WHO klasifikácia z roku 2018 definuje tzv. zárodočné predispozície – napr. familiárne poruchy trombocytov (FPD), ktoré sa v rôznej časovej súvislosti objavujú pred vznikom akútnej myeloblastovej leukémie (*familial platelet disorder with propensity to myeloid malignancy – FPD/AML*). FPD sa prejavujú poruchou tvorby, agregácie a sekrécie trombocytov, pričom mutácia uvedeného génu spôsobuje zníženie počtu CFU-MK a redukciu tvorby krvných doštičiek už v novorodeneckom veku. Krvácanie je často závažnejšie, akoby sa dalo očakávať podľa stupňa trombocytopenie, čo odzrkadľuje pridruženú dysfunkciu trombocytov. Istá forma trombocytopenie je prítomná takmer vždy, ale ochorenie môže uniknúť pozornosti – najmä preto, že sa funkčné vyšetrenia trombocytov nevykonávajú rutinne. Prognóza FPD závisí od transformácie ochorenia do MDS/AML. Zdá sa, že riziko je späté s typom mutácie RUNX1, jej účinkom na konformačné zmeny proteínu a prítomnosťou „spolupracujúcich“ genetických zmien. Cieľom predloženej prezentácie je ukázať: a) konkrétne morfológické obrazy pri RUNX1 mutácií, b) genealogické súvislosti a napokon c) genetické, hematologické ale i etické otázky súvisiace s vrodenými predispozíciami. Zárodočné mutácie majú obvyčajne autozómovo dominantný typ dedičnosti a predstavujú variabilný typ rizika pre evolúciu do myeloidnej neoplázie u nositeľov (napr. CEBPA ~ 90 %, RUNX1 ~ 44 %). Mutácie majú totiž rôznu penetranciu i vek objavenia sa prvých príznakov neoplázie. U nositeľov týchto mutácií sa odporúča pravidelné monitorovanie krvného obrazu, odbery kostnej drene pre účely skorého zachytenia minoritných CD34+ klonov. Otvorené otázky predstavujú: načasovanie transplantácie krvotvorných kmeňových buniek, plánované rodičovstvo a využitie metód asistovanej reprodukcie s PGD.

Podakovanie pri príprave prezentácie patrí prof. A. Kolenovej, prof. D. Pospíšilovej, RNDr. M. Divokej, Mgr. J. Juráňovej a A. Lapčíkovej.

LEUKOCYTÓZY – DIFERENCIÁLNI DIAGNOSTIKA A VYBRANÉ KAZUISTIKY

Zuchnická J.¹, Pulcer M.², Gumulec J.¹

¹ *Klinika hematookologie, LF OU a FN Ostrava*

² *Ústav laboratorní medicíny, Oddělení klinické hematologie, FN Ostrava*

Leukocytóza je definovaná jako zvýšení celkového počtu bílých krvinek nad referenční mez pro daný věk. Zvýšeny mohou být neutrofilní leukocyty (neutrofilie), monocyty (monocytóza), basofily (basofilie), eozinofily (eozinofilie) či lymfocyty (lymfocytóza). Příčinou nebývají vždy hematookologická onemocnění, ale velmi často je leukocytóza způsobena jiným onemocněním.

Nejčastější příčinou neutrofilní leukocytózy jsou bakteriální infekce. Neutrofilii jsou provázeny stresové reakce organismu – šokové stavy, operace, traumata, popáleniny, stavy spojené s ischemií tkání. Neutrofilní leukocytózu vidíme u nemocných se systémovými a revmatickými chorobami, při léčbě kortikoidy nebo po podání růstových faktorů (G-CSF). Z hematookologických onemocnění přicházejí do úvahy zejména chronická myeloproliferativní onemocnění.

Monocytóza provází subakutní a chronické bakteriální infekce, virové a protozoální infekce, systémová onemocnění a zánětlivá onemocnění střev. Zvýšení absolutního počtu monocytů vidáme u nemocných po splenektomii, při regeneraci kostní dřeně. Při průkazu monocytózy je potřeba myslet na akutní a chronické hematologické malignity, zejména při nálezu promonocytů, monoblastů a dysplastických monocytů v nátěrech periferní krve.

Basofilie je v naprosté většině doprovodným projevem jiných onemocnění. Může doprovázet některé alergické reakce, kožní a endokrinní onemocnění. Nejčastěji ale basofilii nacházíme u chronických myeloproliferativních onemocnění, systémové mastocytózy, někdy u akutních leukémií.

Nejčastější příčinou eozinofilie jsou alergická a parazitární onemocnění, eozinofilie může být způsobena celou řadou léků. Vždy je potřeba pomýšlet na hematologické malignity, lymfomy, vzácný hypereozinofilní syndrom či chronickou eozinofilní leukémií.

Lymfocytóza se vyskytuje u akutních virových infekcí jako je infekční mononukleóza, hepatitidy, CMV infekce, ale vidáme ji i při běžných virózách. Diferenciální diagnostika maligních lymfocytóz je pestrá a opírá se o vyšetření průtokovou cytometrií.

Zhodnocení kompletního krevního obrazu a cytomorfológické vyšetření nátěrů periferní krve v hematologické laboratoři je

prvním a rychle dostupným vyšetřením. Může upozornit lékaře na abnormní nálezy, vyslovit podezření na maligní leukocytózu. Při hodnocení krevního obrazu a diferenciálního rozpočtu leukocytů z hematologického analyzátoru je varující např. neutrofilie s posunem doleva, neutropenie s monocytózou, anémií a trombocytopenií nebo nápadná lymfocytóza, velké lymfocyty. Při mikroskopickém hodnocení nátěru periferní krve si všímáme přítomnosti blastů, nezralých elementů granulocytární řady, patologických lymfocytů, atypií erytrocytů, normoblastů, snížení počtu a abnormalit trombocytů.

Ve svém sdělení prezentují diferenciální diagnostiku leukocytóz na příkladech několika nemocných s reaktivní i maligní leukocytózou. Kazuistiky jsou zajímavé z morfoloického a klinického hlediska. Morfoloický nálezy je u všech případů doplněn o závěry ostatních navazujících laboratorních metod.

ANÉMIE A MYELODYSPLASTICKÝ SYNDROM, DIFERENCIÁLNÍ DIAGNOSTIKA Z POHLEDU MORFOLOGICKÉ LABORATOŘE

Šimečková R.

Morfoloicko-cytochemická laboratoř, ÚHKT Praha

Anémie je definována jako snížení množství hemoglobinu (HGB) v 1 litru (L) krve pod normu pro daný věk a pohlaví. Je to nejčastější onemocnění krvinek na světě a lze ho dělit podle různých hledisek, např. podle středního objemu erytrocytu (MCV) a počtu retikulocytů. Při diagnóze myelodysplastického syndromu (MDS) je anémie obvyklým laboratorním nálezem, bývá v kombinaci s dalšími cytopeniemi, či je izolovaná. V rámci diferenciální diagnostiky je nutné vyšetřit další parametry – metabolismus železa, hladinu vitamínu B12 a kyseliny listové, přítomnost protilátek proti erytrocytům a základní vyšetření hemostázy. Někdy je třeba indikovat i vyšetření kostní dřeně, histologické vyšetření, cytogenetické a molekulárně genetické vyšetření. Z morfoloického pohledu má důležitý rozhodovací význam pro diagnostiku MDS cytochemické vyšetření železa a myeloperoxidázy. V následujícím sdělení budou

prezentovány typické morfoloické nálezy v rámci diferenciální diagnostiky anémie, MDS a jiných onemocnění.

CYTOLOGIA IMPRINTOV LYMFATICKÝCH UZLÍN

Wild A.^{1,2}

¹ *Hematologické oddelenie, FNŠP F.D. Roosevelta, Banská Bystrica, Slovensko*

² *LF SZU, Bratislava, Slovensko*

Cytológia imprintov lymfatických uzlín sa vykonáva pre prípad potreby ďalšej diagnostiky, stagingu alebo aj začatia terapie pred výsledkom histologického vyšetrenia a prípadne ako materiál pre genetické vyšetrenie metódou FISH.

Jej diagnostická správnosť v európskych súboroch je 60–70 %, v ázijských > 90 %.

Najnižšia senzitivita je v prípade malobunkových non-Hodgkinových lymfomov. Celková senzitivita je > 70 %, ale pre nádorovú infiltráciu okrem mNHL okolo 90 %. V prípade sekundárnych metastáz nehematologických nádorov je špecificita 100 %. Príčinou nesprávnej diagnostiky je podobnosť až zhodnosť monomorfnej infiltrácie bazofilnými vakuolizovanými blastami, často aj s prítomnosťou makrofágov (obraz hviezdneho neba) pri rôznych blastických lymfómoch a metastázach, kohezívne zhluky nádorových buniek pri lymfómoch, podobnosť fyziologických a nádorových lymfocytov, podobnosť Hodgkinových a Sternberg-Reedovej buniek s bunkami non-Hodgkinových lymfomov a metastáz, často v reaktívnom prostredí.

Keďže cytológia nemá absolútnu diagnostickú prednosť v identifikovaní typu malignity, výsledok možno najskôr využiť pre včasné zahájenie stagingu. V nevyhnutnom prípade môže klinik využiť cytologický nálezy pred obdržaním výsledku histológie pre cieľnejšie podanie cytoreduktívnej predfázy, pulzu kortikosteroidov, prípadne zriedkavo aj chemoterapie (v prípade cytologickej verifikácie relapsu známeho nádoru). Umožní to zvrátiť komplikácie z orgánového útlaku nádorom, ale aj predísť pri veľmi agresívnych nádoroch progresívnemu znižovaniu stavu výživy a výkonnosti, čo by mohlo obmedziť použitie intenzívnej protinádorovej liečby po stanovení definitívnej diagnózy.

10. HEMATOLOGIE A TRANSFUZE DNES

POTRANSFUZNÍ REAKCE

Procházková R.

Transfuzní oddělení; Krajská nemocnice Liberec, a. s.

Fakulta zdravotnických studií, Technická univerzita v Liberci

Hemoterapie představuje významný proces v péči o nemocné, jejím cílem je dosažení maximálního léčebného účinku při co nejmenším ohrožení příjemce vedlejšími účinky této léčby – potransfuzními reakcemi (PR).

PR lze klasifikovat dle závažnosti, příčiny, časového průběhu, symptomů či dalších kritérií.

Nejvíce obávanými jsou reakce závažné, které pacienta přímo ohrožují na životě anebo jej ohrožují trvalými následky: přenos infekcí, akutní hemolytické reakce, bakteriální/septické reakce, anafylaxe, TRALI a TA-GvHD. Obvykle jsou přítomny orgánové poruchy a stav pacienta vyžaduje monitorování životních funkcí.

V praxi se častěji vyskytují reakce nezávažné, které obvykle odezní po zastavení transfuze a po jednoduché léčbě. Nehemolytické febrilní a alergické reakce pro pacienta představují dyskomfort a přímo jej na životě neohrožují, nicméně představují problém pro další hemoterapii zejména chronicky nemocných.

Velká část PR je zprostředkována imunitně: rozpad či aglutinace krevních buněk jsou vyvolány podanými protilátkami (hemolytická reakce, TRALI), při přítomnosti protilátek proti krevním buňkám (febrilní reakce, hemolytická reakce, TRALI, refrakternost na podání trombocytů, potransfuzní purpura), alergií na některou složku podávaného přípravku (alergická nebo anafylaktická reakce), útlum tvorby krevních buněk při podání imunokompetentních buněk (TA-GvHD) či tvorba protilátek proti krevním buňkám. K potransfuzní reakci může dojít i při přetížení kardiovaskulárního aparátu nebo při narušení iontové rovnováhy (metabolické komplikace aj.). Transfuze může vést i k přenosu infekce z dárce nebo transfuzního přípravku na příjemce, kontaminovaný transfuzní přípravek může vyvolat bezprostřední septickou nebo bakteriálně-toxickou reakci. Za specifický typ PR je považováno hromadění železa organismu při dlouhodobém podávání erytrocytů. Příčinou nežádoucí reakce mohou být i technické komplikace při transfuzi.

Podle časové souvislosti s podáním transfuzního přípravku jsou rozlišovány potransfuzní reakce akutní (≤ 24 hod) a pozdní (> 24 hod po transfuzi).

Správné určení typu reakce má význam pro její terapii, případně pro prevenci do budoucna.

STL ČLS JEP vypracovala Doporučený postup při řešení a vyšetřování potransfuzních reakcí. Cílem bylo poskytnout doporučení k rozpoznávání, vyšetřování a řešení nežádoucích reakcí v souvislosti s podáním transfuzních přípravků. Dokument obsahuje klasifikaci potransfuzních reakcí, kdy každá definice obsahuje příčinu, popis klinických příznaků, diagnostická kritéria a návod k terapii. Důraz

je kladen na řešení reakcí bezprostředně ohrožujících život včetně terapie, na možnosti jejich prevence a profylaxe a racionální postup při jejich laboratorním vyšetření. Doporučení dále podává návod, jak zajistit hemoterapii u pacientů s opakovanými potransfuzními reakcemi, s akcentem na střední a těžké alergické reakce. Samostatná část je věnována hlášení potransfuzních reakcí. Sběr dat o nežádoucích účincích hemoterapie a jeho vyhodnocení umožňuje zdokonalit transfuzní standardy, podílet se na formulaci doporučených postupů v oblasti hemoterapie a zvýšit tak její bezpečnost a kvalitu.

AKTUÁLNÍ TRENDY V PÉČI O DOSPĚLÉ PACIENTY S IMUNITNÍ TROMBOCYTOPENIÍ

Hluší A.

Hemato-onkologická klinika LF UP a FN Olomouc

Přístup k péči o pacienty s imunitní trombocytopenií (ITP) zaznamenal v posledních letech zřetelný vývoj. Ten je dán přibývajícím zkušenostmi s diagnostickými, ale hlavně léčebnými možnostmi s nárůstem kvalitních dat medicínské evidence. Moderní doporučení pro management primární ITP shrnují v nedávné době aktualizovaná mezinárodní doporučení. Do současných přístupů se dále jasně promítají zkušenosti a doporučení reflektující celosvětovou epidemii infekce COVID-19. S nárůstem poznatků v etiopatogeneze ITP přibývají též potenciální nové léčebné možnosti, z nichž se některé nacházejí v pokročilých fázích klinického hodnocení.

Diagnosti a indikace k terapii – Stanovení diagnózy ITP zůstává stále založeno na principu *per exclusionem*. Diagnostické kritérium izolovaného poklesu trombocytů pod $100 \times 10^9/l$ se nemění. Komplexní anamnestické a fyzikální vyšetření směřuje k posouzení event. přítomnosti jiného trombocytopenii podmiňujícího onemocnění (vč. infekčních, neoplastických procesů, jiné autoimunity či imunodeficiency). Stejný cíl má provedení panelu laboratorních vyšetření, zahrnující screening HBV, HCV, HIV, stanovení Ig. Mezi potenciálně užitečná vyšetření patří testy stanovení antifosfolipidových, antithyreoidálních, antinukleárních protilátek a přímý antiglobulinový test, dále PCR vyšetření CMV, EBV a Parvovirus. Užitečné je i stanovení antitrombocytárních glykoprotein-specifických protilátek (MAIPA), testování ale nevykazuje dostatečnou senzitivitu a není považováno za diagnostické. Testování infekce *Helicobacter pylori* ze stolice či ureázovým testem provádíme v případě GIT symptomatologie či u nemocných s vysokou lokální prevalencí, rutinní testování není povinné. Vyšetření kostní dřeně se iniciálně paušálně neprovádí, zvažuje se při systémových symptomech, abnormálních příznacích či v rámci diferenciální diagnostiky. Provedení je na místě před zvažovanou splenektomií nebo při selhání léčby. V případě provedení vyšetřujeme biospii i aspirát s cílem vyloučení lymfoproliferace, MDS či primárního dřevného onemocnění (cytogenetika, imunofenotypizace), u star-

ších nemocných k vyloučení klonální hematopoiezy se využívá panelu NGS. K léčbě jsou indikováni pacienti s krvácivými projevy nebo nízkou hladinou Tr. Nově je kladen důraz na zapojení pacienta do rozhodnutí o zahájení léčby, individuálně se zohledňuje životní styl, rizika pro krvácení a preference nemocného. Stran počtu Tr je indikací k zahájení terapie pokles Tr pod $20\text{--}30 \times 10^9/l$ nebo přítomnost krvácivých projevů při vyšších počtech krevních destiček.

Terapie: Cílem léčby je dosažení bezpečné a stabilní hladiny počtu trombocytů, a tím prevence vzniku krvácení. Souběžně se snažíme o minimalizaci vedlejších účinků léčby a maximální profit pro kvalitu života pacienta.

Iniciální léčba nově diagnostikované ITP. Kortikosteroidy – zůstávají základní léčebnou modalitou 1. linie. Využívá se Prednison v dávce 0,5–2 mg/kg. Důraz je kladen na minimalizaci toxicity léčby, nepřekračuje se max. dávka 80 mg/d, podávaná nejvýše 2–3 týdny. Postupné snižování dávky by mělo vést k vysazení nejpozději do 8 týdnů. V případě efektivity kortikoterapie je za bezpečnou pro dlouhodobější podávání považována denní dávka pod 2,5–5 mg bez projevů nežádoucích účinků. Alternativou k prednisonu je podání Dexamethasonu 40 mg/d 4 dny opakovaním do tří cyklů. Intravenózní podání methylprednisolonu je možností v emergentních situacích.

Intravenózní imunoglobuliny (IVIg) – využití při KI kortikosteroidů, v těhotenství, v emergentních situacích. Doporučená dávka je 1–2 g/kg, podání je možné v několika schématech.

Léčebné možnosti po selhání iniciální léčby – U velké části pacientů není efekt iniciální léčby dlouhodobý a terapie selhává. Spektrum léčebných možností další linie je poměrně pestré, zahrnuje přístupy medikamentózní a chirurgický. V této fázi léčby je zapojení pacienta do rozhodnutí o léčebné modalitě a zohlednění jeho preferencí ještě významnější. Upřednostňovány jsou léčebné přístupy s robustními daty o účinnosti a bezpečnosti. V době pandemie jsou navíc preferovány postupy bez využití rituximabu a imunosupresiv.

Léky s robustní evidencí – Účinnost a bezpečnost léků působících jako agonisté trombopoetického receptoru byla ověřena v randomizovaných klinických studiích. V současnosti jsou k dispozici tři látky. **Eltrombopag, Avatrombopag a Romiplostim** prokázaly odpověď u více než 60 % léčených pacientů, před i po splenektomii. Většinou jde o terapii dlouhodobou, která umožní redukci nebo úplné vysazení jiné terapie. Nová data prokazují, že až u 1/3 léčených může být dosaženo setrvalé odpovědi i po vysazení terapie. Bezpečnostní profil této lékové skupiny je velmi dobrý. **Rituximab** vede k léčebné odpovědi u 40–60 % pacientů, dlouhodobě přetrvává u 15–20 %. Terapie je spojena s riziky alergickými a infekčními plynoucími z B buněčné deplece. **Fostamatinib** představuje novou léčebnou možnost založenou na inhibici splenické tyrosinkinasy, což vede k redukci slezinné destrukce krevních destiček. Celková odpověď u předléčených nemocných byla dosažena u 43 %, stabilní u 18 % pacientů.

Léky s méně robustní evidencí – V rámci 2. a vyšší linie léčby jsou historicky zkušenosti s léky ze skupiny imunosupresiv a chemoterapeutik. Údaje o léčebné odpovědi jsou variabilní, některé modalitativy mohou být spojeny s významnější lékovou toxicitou.

Azathioprin, Cyklofosamid, Cyklosporin A, Danazol, Dapson, Mykofenolát-Mofetil, Vinca alkaloidy mohou být v zvažovány při selhání či nedostupnosti výše uvedených možností.

Chirurgický přístup – SPLENEKTOMIE – Představuje nejstarší terapeutickou modalitu. V poslední dekádě počet indikací i ochota pacientů výkon podstoupit zřetelně klesá. Indikaci splenektomie je dle možností doporučeno postponovat min. 12 měsíců od stanovení diagnózy ITP. Operační zákrok je spojen s riziky chirurgických komplikací, neméně významné jsou možné komplikace infekční, zvláště OPSI (overwhelming postsplenectomy infection). Provedení obligatorní vakcinační příp. ATB prevence riziko infekčních komplikací významně snižuje. Stran léčebné odpovědi jde o přístup nejefektivnější, vykazuje vysoký podíl léčebných odpovědí (80–90 %), u 2/3 je odpověď trvalá.

Nové směry léčebného vývoje – V klinickém výzkumu je testována řada nových látek. Nadějným směrem se zdají inhibitory neonatálního Fc receptoru makrofágu. Látky Rozanolixizumab a Efgartigimod jsou zkoušeny i v ČR. Jiným výzkumným směrem je využití orálního inhibitoru BTK Rilzabrutinibu. Další cesty cílí na blokaci ligandu CD40 či C1 složky komplementu.

VÝZNAM VAKCINACE PROTI COVID-19 U NEMOCNÝCH S HEMATOLOGICKOU MALIGNITOU – ZKUŠENOSTI JEDNOHO CENTRA

Čerňan M.¹, Szotkowski T.¹, Minařík J.¹, Kolář M.², Sauer P.², Látal V.³, Zapletalová J.⁴, Papajík T.¹

¹Hemato-onkologická klinika LF UP a FN Olomouc

²Ústav mikrobiologie, LF UP a FN Olomouc

³LF UP, Olomouc

⁴Ústav lékařské biofyziky, LF UP a FN Olomouc

Úvod: COVID-19 nadále představuje významnou infekční komplikaci u nemocných s nádorovými onemocněními krve. Vakcinace je důležitým nástrojem v boji proti pandemii vyvolané virem SARS-CoV-2.

Soubor a metodika: Práce je retrospektivní popisnou analýzou souboru nemocných s hematologickou malignitou, kteří podstoupili vakcinaci proti COVID-19 a byla u nich následně zjištěna infekce vyvolaná virem SARS-CoV-2 v období od 1. 1. 2021 do 31. 1. 2022. U nemocných byla hodnocena vždy první dokumentovaná infekce COVID-19 po dokončení vakcinace. Hodnoceny byly demografické údaje, terapie a mortalita infekce COVID-19. Získaná data byla analyzována a srovnávána s vlastní historickou kohortou 96 nemocných s nádorovými onemocněními krve a syndromy selhání kostní dřeně (dva pacienti), kteří byli léčeni pro COVID-19 v období 1. 3. 2020 až 31. 12. 2020 a vakcinaci nepodstoupili.

Výsledky: Soubor tvořilo celkem 59 nemocných, 40 mužů a 19 žen, s mediánem věku 64,5 (21,9–87,9) let. Pro lymfoproliferativní onemocnění bylo léčeno 45/59 (76,3 %) nemocných a v kompletní

remisi základního onemocnění bylo 27/59 (45,8 %) nemocných ve sledovaném souboru. Ve srovnání s kohortou neočkovaných nemocných byl závažný a kritický průběh COVID-19 u očkovaných nemocných signifikantně méně častý (10,2 vs. 31,4 %, $p = 0,003$). Počet hospitalizací v důsledku COVID-19 byl ve skupině očkovaných nemocných významně nižší (27,1 vs. 72,6 %, $p < 0,0001$) a délka hospitalizace byla signifikantně kratší (10 vs. 14 dní, $p = 0,045$), přičemž očkovaní nemocní nesignifikantně méně častěji vyžadovali oxigenační podporu kyslíkovou maskou či brýlemi (5,8 vs. 18,9 %, $p = 0,076$) a vysokoprůtokovou oxygenoterapii, resp. umělou plicní ventilaci (6,8 vs. 13,7 %, $p = 0,184$). Kaplan-Meierova analýza s Log-rank testem prokázala signifikantně lepší přežívání ve skupině vakcínovaných pacientů ($p = 0,039$). Mortalita COVID-19 byla

signifikantně vyšší u nemocných, kteří vakcinaci nepodstoupili (15,6 vs. 5,1 %, $p = 0,047$).

Závěr: Práce prokázala významný pozitivní vliv očkování proti COVID-19 na méně závažný klinický průběh infekce, potřebu hospitalizace a mortalitu, ve srovnání s historickou kohortou nemocných, kteří vakcinaci nepodstoupili. Výsledky je však potřeba hodnotit i v kontextu vývoje nových antivirotik a monoklonálních protilátek proti SARS-CoV-2 či mutací viru s odlišným biologickým chováním. Další vývoj účinných vakcín a nových léčebných modalit je zásadní pro zvládnutí pandemie COVID-19.

Práce byla podpořena grantem MZ ČR – RVO (FNOL, 0098892) a IGA_LF_2022_001.

11. CHRONICKÁ LYMFOCYTÁRNÍ LEUKÉMIE

INICIÁLNÍ LÉČBA PACIENTŮ S CHRONICKOU LYMFOCYTÁRNÍ LEUKÉMIÍ (CLL)

Šimkovič M.

IV. interní hematologická klinika FN Hradec Králové

Iniciální léčba chronické lymfocytární leukemie (CLL) prošla během posledního desetiletí dramatickými změnami, které vyústily k zavedení několika nových terapií a léčebných kombinací. Nemenší pokrok byl zaznamenán také na poli výzkumu molekulárně prognostických/prediktivních markerů. Vyšetření mutačního stavu genů pro variabilní část těžkého řetězce imunoglobulinu (IGHV) a mutací genu *TP53* mají klíčový význam pro individualizovaný léčebný přístup. Dříve standardní chemoimunoterapie (FCR, BR, G-Clb či R-Clb) zůstává platnou alternativou zvláště pro nemocné s příznivým profilem prognostických ukazatelů. U podskupiny „fit“ pacientů bez patogenní mutace *TP53* a mutovaným IGHV může vést režim fludarabin + cyklofosfamid rituximab (FCR) k velmi dlouhému trvání remise.

Nástup inhibitorů Brutonovy tyrosinkinázy (BTKi) přinesl nový koncept léčby až do progresu či nepřijatelné toxicity. Dlouhodobá data o účinnosti a bezpečnosti máme o ibrutinibu. Zástupcem 2. generace BTKi je akalabrutinib, který je spojen s redukcí rizika kardiovaskulárních komplikací. Dle aktuálně platných úhradových podmínek lze využít oba přípravky v 1. linii pouze u nemocných, u kterých je prokázána mutace *TP53* nebo *del(17p)*.

Další zásadní změnu v přístupu k léčbě nemocných s CLL v 1. linii přinesly výsledky studie CLL14. V této studii byla kombinace venetoklaxu s obinutuzumabem spojena s vysokou pravděpodobností eradikace minimální reziduální nemoci. Na rozdíl od terapie BTKi se jedná o časově omezenou léčbu na 12 měsíců. V českých podmínkách lze v 1. linii využít režim venetoklax + obinutuzumab k léčbě pacientů s komorbiditami (pouze PS ECOG 0-1), v důsledku kterých nemohou podstoupit léčbu na bázi fludarabinu v plné dávce. Dále lze využít tento režim u nemocných s dysfunkcí proteinu p53, ale nevýhodou může být kratší období do progresu.

Lze shrnout, že při rozhodování o výběru mezi chemoimunoterapií, kontinuální léčbou BTKi a kombinací venetoklax + obinutuzumab pro iniciální léčbu CLL je nutné pečlivě posoudit prognostické ukazatele, preference pacienta, možné lékové interakce a přidružené choroby. Zejména u BTKi by měly být pečlivě vyhodnoceny kardiovaskulární komorbidity, arteriální hypertenze. Na druhé straně je potřeba brát v potaz riziko syndromu nádorového rozpadu v úvodu terapie venetoklaxem či infuzní reakci při aplikaci obinutuzumabu. Pro úplnost je nutné připomenout, že se i přes veškerý vývoj na poli cílené terapie CLL nemění kritéria k zahájení léčby. Ta je nadále indikována pouze při klinické aktivitě CLL dle platných mezinárodních doporučení IWCLL. Věřme, že další zlepšení prognózy nemocných, byl mohly přinést současné studie, kterou jsou zaměřeny na optimální sekvenování nebo kombinaci cílených terapií.

Podpořeno programem Cooperatio, vědní oblasti INDI a projektem RVO MZ ČR (FNHK 00179906).

LÉČBA PACIENTŮ S RELAPSEM CLL

Špaček M.

I. interní klinika – hematologie 1. LF UK a VFN v Praze

Léčba chronické lymfocytární leukemie (CLL) v uplynulých letech doznala revolučních změn s příchodem nové cílené terapie malými molekulami. V 1. linii léčby je nadále v ČR zejména z důvodu úhradových mechanismů z velké části indikována chemoterapie s anti-CD20 protilátkou. Nicméně v relapsech se až na výjimky používá již jen cílená léčba. V současné době jsou v běžné praxi dostupné již čtyři perorální inhibitory specifických buněčných signálních drah, které už i v ČR mají úhradu ze zdravotního pojištění: akalabrutinib, ibrutinib, idelalisib a venetoklax. Nejvíce z těchto léků profitují pacienti s prognosticky nepříznivou CLL, tj. pacienti s nálezem aberace genu *TP53* (delece nebo mutace), nemocní s časným relapsem po imunochemoterapii, resp. s chemorefrakterním onemocněním. Velkou výhodou všech zmíněných preparátů je perorální užívání a možnost použití i u starších a komorbidních pacientů. Nevýhodou jsou některé specifické nežádoucí účinky, lékové interakce (zejména s inhibitory cytochromu CYP3A4) či nutnost kontinuálního podávání (v případě BCR inhibitorů). Otázkou zůstává optimální sekvence cílené terapie, vhodné kombinace jednotlivých preparátů i délka podávání. Nutno uvést, že u vybraných mladších nemocných v dobrém stavu s velmi nepříznivou chorobou nadále zůstává alternativou alogenní transplantace krvetvorných buněk. Oproti tomu jiné léčebné modalitě – jako CAR-T buněčná terapie – zatím u CLL nepřinesly kýžené výsledky. Poslední konference ASH v roce 2021 ukázala pravděpodobné směřování v příštích letech k léčbě pomocí vzájemných kombinací cílených léků, jako jsou inhibitory Brutonovy tyrosinkinázy (BTK), Bcl-2 inhibitory či anti-CD20 monoklonální protilátky. Trendem zřejmě bude také časově limitovaná terapie nejspíše s využitím monitorování minimální reziduální nemoci, které umožní léčbu více individualizovat.

MANAGEMENT KOMPLIKACÍ CÍLENÉ TERAPIE U NEMOCNÝCH S CHRONICKOU LYMFOCYTÁRNÍ LEUKÉMIÍ

Panovská A.

Interní hematologická a onkologická klinika LF MU a FN Brno

Léčba chronické lymfocytární leukemie (CLL) prochází v posledních letech zásadním vývojem. S příchodem nových cílených léků se postupně mění zažitá léčebná postupy. Stále širší spektrum pacientů je léčeno inhibitory signalizace přes B-buněčný receptor a inhibitory bcl-2 proteinu a to buď v monoterapii, vzájemné kombinaci nebo doplněných o anti CD20 monoklonální protilátku. Dřívější standard léčby CLL – imunochemoterapie, zůstává indikována

u jasně definovaných skupin pacientů – v léčbě 1. linie u mladších nemocných s mutovaným IGHV nebo u pacientů s imunitními cytopeniemi. Široké používání nových molekul s sebou však přináší nejen zlepšení léčebných výsledků, ale i specifické nežádoucí účinky (NÚ), které je třeba správně diagnostikovat a léčit. Nejčastější komplikací a příčinou úmrtí pacientů s CLL zůstávají infekce, mezi nimiž v posledních 2 letech dominovalo onemocnění COVID-19. Retrospektivní data z České republiky (ČR) i data světová potvrdila, že nemocní s CLL jsou ohroženi závažným průběhem COVID-19 a správný management v úvodu diagnózy výrazně zlepšuje jejich osud.

Léčba inhibitory Brutonovy Kinázy (BTKi) a její komplikace – V ČR jsou pro léčbu CLL schváleny dva preparáty z této skupiny. Prvním a nejdéle používaným lékem je ibrutinib, který irreverzibilně a neselektivně inhibuje BTK. S různou afinitou se však váže i na jiné kinázy, což přímo souvisí s jeho specifickými NÚ. Inhibice kináz z rodiny ITK a TEC je asociována s trombocytopenií a krvácením, inhibice EGFR s průjmy a exantémem a inhibice kináz z rodiny c-Src pak s rozvojem fibrilací síní. Tyto specifické a potenciálně závažné NÚ vedou dle dostupných dat k trvalému přerušení terapie až u 26 % pacientů [1]. Pokračují tedy snahy o vývoj BTKi nových generací, které budou mít bezpečnější profil při zachovalém protinádorovém účinku. Jedním z nich je selektivní inhibitor druhé generace acalabrutinib, který je v ČR dostupný od konce roku 2021. Acalabrutinib neinhibuje Src-kinázy, méně ovlivňuje kinázy z rodiny TEC a *in vitro* nevykazoval aktivitu proti EGFR, což odpovídá nižší frekvenci exantému, průjmu a zejména kardiálních komplikací. Ve studii ELEVATE-RR srovnávající ibrutinib a acalabrutinib v léčbě relabované CLL byla incidence fibrilace síní vyšší v ibrutinibovém rameni (16,0 vs. 9,4 %; $p = 0,02$). U pacientů léčených acalabrutinibem byl nižší výskyt arteriální hypertenze (8,6 vs. 22,8 %), artralgií (15,8 vs. 22,8 %) a průjmu (34,6 vs. 46,0 %). Pacienti v rameni s acalabrutinibem nejčastěji uváděli bolest hlavy (34,6 vs. 20,2 %), která byla většinou lehká a měla krátkého trvání. Z důvodu NÚ častěji ukončili terapii pacienti užívající ibrutinib (21,3 vs. 14,7 %) [1,2].

Fibrilace síní je typickým nežádoucím účinkem BTKi. Vyšší incidence je popisována u předléčených pacientů užívajících ibrutinib. Mezi další rizikové faktory patří vyšší věk a interní komorbidita. Prevencí této komplikace je zejména správná volba cílené terapie u konkrétního pacienta. Pokud i přes to dojde k rozvoji fibrilace síní, další postup je přísně individuální. Závisí na možnostech ovlivnění arytmiie samotné (elektrická/farmakologická verze), na riziku krvácení na straně jedné a riziku kardioembolizační příhody na straně druhé. Obecně platí, že u pacientů s vyšším rizikem krvácení nebo obtížně řešitelnou arytmií je vhodné přistoupit ke změně inhibitoru. Naopak u pacienta s asymptomatickou fibrilací síní a nízkým rizikem dle CHA₂DS₂-VASc (0–1 bodů) lze v léčbě BTKi pokračovat. Z antiagulačních je preferována redukováná dávka apixabanu nebo enoxaparinu [1].

Dalším kardiovaskulárním NÚ ibrutinibu je **arteriální hypertenze**, jejíž incidence s délkou užívání BTKi mírně narůstá. U pacientů léčených BTKi je nutné pravidelně monitorovat krevní tlak a adekvátně

korigovat antihypertenzní terapii. Nutné je myslet na úpravu antihypertenziv i v případě, že dojde k vysazení BTKi [1].

Klinicky patrné **krvácení** se v průběhu terapie ibrutinibem objevuje až u poloviny pacientů, většinou se však jedná o drobné kožní krvácení, které nevyžaduje léčbu ani přerušování terapie BTKi. Riziko závažného krvácení (grade ≥ 3 dle CTCAE – common terminology criteria for adverse events) je obdobné u obou preparátů. U ibrutinibu se pohybuje mezi 3–9 % napříč studiemi, u acalabrutinibu mezi 2–5 % [1,2]. Klinicky závažné krvácení je častější u starších pacientů a pacientů užívajících vyšší dávku ibrutinibu (560 mg denně). Trombocytopenie asociovaná s aktivitou nemoci, současná antikoagulační či antiagregační terapie byly definovány jako další rizikové faktory pro vznik klinicky manifestního krvácení [1,2]. Primární prevencí krvácení je nejen správná indikace BTKi, ale i pravidelné sledování pacienta v průběhu léčby. Léčbu BTKi přerušujeme s dostatečným předstihem před každým invazivním výkonem a restart terapie je možný až ve chvíli, kdy je riziko krvácení z rány minimální. Nevhodné je současné užívání doplňků stravy obsahujících vitamín E a rybí olej, které mohou dále ovlivnit srážlivost krve. Pokud je během léčby BTKi pacient indikován k zahájení duální antiagregace, je ke zvážení přerušování léčby BTKi pro riziko závažného krvácení [1,2].

Léčba inhibitory bcl-2 proteinu a její komplikace – Inhibitor bcl-2 proteinu venetoklax je v ČR indikován jak v 1. linii léčby u pacientů nevhodných k léčbě fludarabinovým režimem (v kombinaci s obinutuzumabem), tak u pacientů s relapsem CLL (v monoterapii nebo v kombinaci s rituximabem). U nemocných léčených venetoklaxem se nejčastěji setkáváme s hematologickou toxicitou a infekcemi. Roeker et al publikovali retrospektivní data 297 pacientů z reálné praxe, u nichž byla neutropenie grade ≥ 3 popsána v 39,6 % případech, trombocytopenie grade ≥ 3 u 29,2 % a infekce grade ≥ 3 u 25 % pacientů [3,4]. Specifickým NÚ pro tento lék je **syndrom z nádorového rozpadu** v úvodu terapie. Na základě dat z klinických studií bylo vytvořeno eskalační schéma (tzv. rump-up fáze) s postupným navyšováním dávky léku v prvních 5 týdnech. Před zahájením léčby vždy zhodnotíme riziko rozvoje tumorlyzy (TLS) u konkrétního pacienta. Na základě lymfocytózy, velikosti lymfadenopatie dle CT a aktuální clearance kreatininu stratifikujeme pacienta do tří rizikových skupin – na nízké, střední a vysoké riziko. U pacientů s vysokým rizikem TLS je nezbytné zahájit eskalaci venetoklaxu za hospitalizace. Klinicky manifestní TLS je diagnostikován u cca 3 % nemocných, laboratorní abnormality odpovídající TLS můžeme zachytit až u 5,7 % léčených [3,4]. Díky jasně stanoveným doporučením pro prevenci a léčbu tumor lysis syndromu je tato komplikace v běžné praxi zvládnána velmi dobře a nevede k trvalému ukončení léčby.

Léčba inhibitory fosfatidyinositol 3-kinázy (PI3K) – Idelalisib byl prvním PI3K inhibitorem, který v kombinaci s rituximabem prokázal účinnost v léčbě relabované CLL. V současné době je také jediným preparátem z této skupiny, který je v ČR k dispozici pro léčbu nemocných s CLL. Širokému užívání idelalisibu brání zejména jeho bezpečnostní profil. V roce 2021 byla publikována data o léčbě

idelalisibem v běžné praxi ve Velké Británii a Irsku (RETRO-Idel). Z důvodů NÚ trvale přerušilo terapii 63 % nemocných v 1. linii a 45 % léčených pro relaps CLL. Nejčastějším důvodem ukončení terapie byl **průjem** (30,9 %, grade ≥ 3 u 6,4 %) a **kolitida** (9,1 %, grade ≥ 3 u 5,5 %), nejčastěji reportovaným závažným nežádoucím účinkem pak pneumonie (15 %) [5,6]. Pokud se objeví průjem u pacienta léčeného idelalisibem, je zásadní nejprve vyloučit jinou, zejména infekční etiologii průjmu. Ve většině případů současně přerušujeme terapii PI3Ki a zahajujeme symptomatickou terapii vč. dietních opatření a rehydratace. Pokud do 48 hod nedojde ke stabilizaci stavu pacienta, je indikována léčba kortikoidy. Závažnost potíží a rychlost restituce stavu pak definitivně rozhodne o pokračování léčby idelalisibem.

Infekční komplikace a COVID-19 – Zvýšená náchylnost k infekcím je u nemocných s CLL způsobena jak imunitním deficitem při samotné leukémii, tak podáním protinádorové terapie. Je přítomna B buněčná dysfunkce často doprovázená sníženou hladinou imunoglobulinů a polékovou neutropenií. Kombinace nových molekul s anti CD20 monoklonální protilátkou imunitní deficit dále prohlubuje. Pro terapii PI3Ki je typický pokles počtu CD4+ regulatorních T lymfocytů, což vede k dalšímu zvýšení rizika oportunních infekcí vč. virových reaktivací [7]. Před zahájením cílené terapie vyšetřujeme pacienta stran virových hepatitid, při léčbě idelalisibem monitorujeme nálož cytomegaloviru v krvi a podáváme profylaxi pneumocystové pneumonie. V rámci prevence infekční komplikací je doporučována i vakcinace nemocných s CLL, ideálně před zahájením cílené terapie. Pacienti očkováni během protinádorové terapie mají často sníženou imunitní odpověď na vakcínu, což bohužel platí i pro vakcinaci proti onemocnění **COVID-19** [8]. CLL pacient má obecně vyšší riziko závažného průběhu COVID-19 ve srovnání s běžnou populací. Retrospektivní analýza Evropské výzkumné iniciativy pro CLL, která hodnotila data pacientů s CLL a prodělaným COVID-19, potvrdila, že většina pacientů s CLL má symptomatický průběh nemoci (95 %). Hospitalizace byla indikována u 75 % pacientů (63 % z nich vyžadovalo kyslíkovou

podporu na intenzivním lůžku). Téměř třetina pacientů (27,3 %) na COVID-19 zemřela [9]. V případě potvrzení infekce SARS-CoV-2 je indikována komplexní terapie vč. podání dostupných antivirotik, případně monoklonálních protilátek. U těžších a recidivujících infekcí dolních cest dýchacích je doporučována substituce imunoglobulinů typu IgG.

Přednáška bude doplněna kazuistikou, prostřednictvím které budou shrnuta praktická doporučení pro management jednotlivých komplikací.

Lteratura

1. O'Brien SM, Brown JR, Byrd JC, et al. Monitoring and Managing BTK Inhibitor Treatment-Related Adverse Events in Clinical Practice. *Moni Front. Oncol.* 2021;11:720704.
2. Byrd JC, Hillmen P, Ghia P et al. Acalabrutinib Versus Ibrutinib in Previously Treated Chronic Lymphocytic Leukemia: Results of the First Randomized Phase III Trial. *J Clin. Oncol.* 2021;39(31):3441–3452.
3. Seymour JF, Kipps TJ, Eichhorst B et al. Venetoclax–Rituximab in Relapsed or Refractory Chronic Lymphocytic Leukemia. *N Engl J Med* 2018; 378:1107–1120.
4. Roeker LE, FOX CP, Eyer TA et al. Tumor Lysis, Adverse Events, and Dose Adjustments in 297 Venetoclax-Treated CLL Patients in Routine Clinical Practice. *Clin Cancer Res.* 2019;25(14):4264–4270.
5. Sharman JP, Coutre SE, Furman RR et al. Final Results of a Randomized, Phase III Study of Rituximab With or Without Idelalisib Followed by Open-Label Idelalisib in Patients With Relapsed Chronic Lymphocytic Leukemia. *J Clin Oncol.* 2019;37(16):1391–1402.
6. Eyre TA, Preston G, KAgdi H et al. A retrospective observational study to evaluate the clinical outcomes and routine management of patients with chronic lymphocytic leukaemia treated with idelalisib and rituximab in the UK and Ireland (RETRO-idel). *Br J Haematol.* 2021;194:69–77.
7. Hilal T, Gea-Banacloche JC, Leisa F. Chronic lymphocytic leukemia and infection risk in the era of targeted therapies: Linking mechanisms with infections. *Blood Reviews.* 2018; 32 (5), 387–399.
8. Morawska M. Reasons and consequences of COVID-19 vaccine failure in patients with chronic lymphocytic leukemia. *Eur J Haematol.* 2022;108:91–98.
9. Chatzikonstantinou T, Kapetanakis A, Scarfò L et al. COVID-19 severity and mortality in patients with CLL: an update of the international ERIC and Campus CLL study. *Leukemia* (2021) 35:3444–3454.

12. MYELOPROLIFERATIVNÍ NEMOCI A CHRONICKÁ MYELOIDNÍ LEUKÉMIE

SÚČASNÉ MOŽNOSTI LIEČBY PH-NEGATÍVNYCH MYELOPROLIFERATÍVNYCH NEOPLÁZIÍ

Hrubiško M.

Katedra hematológie a transfúziológie LF SZU, KHaT UN Bratislava

Úvod: Ako Ph-negatívne myeloproliferatívne neoplázie (MPN) sa označujú tie MPN, ktoré nemajú Filadelfský chromozóm (Ph chromozóm, gén *BCR/ABL*). Z najdôležitejších sem patria polycytémia vera (PV), esenciálna trombocytémia (ET) a primárna myelofibróza (PMF). Nie vždy ide o vyhranené chorobné jednotky, pri ktorých je nádorovo pozmenená len tvorba erytrocytov (PV), trombocytov (ET) prípadne strómy kostnej drene (PMF). Všetky MPN vrátane chronickej myelocytovej leukémie (CML) vychádzajú z nádorovo pozmenenej predurčenej bunky CFU-GEMM (koloniformná jednotka granulocyto-erythrocyto-monocyto-megakaryocytová). Mutácie v CFU-GEMM postihujú všetky krvinky, ktoré z nej vychádzajú, vrátane granulocytov i strómy. Postihnuté sú aj kapiláry a ich endotel. Mutácia *JAK2* sa našla aj v endoteliálnych bunkách pacientov s MPN, ktorí prekonalí trombózu. Experimentálne bolo dokázané, že takto zmutované endoteliálne bunky majú proadhezívne a protrombotické vlastnosti.

Diagnostika: Mutácia *BCR/ABL* je charakteristická pre CML, ak ju nenájde, ide o Ph-neg. MPN. Charakteristickú mutáciu má len PV – *JAK2 V617F* v exóne 14 (95 % pacientov) alebo v exóne 12 (3 %). Bez vyššie uvedenej mutácie prakticky neexistuje PV. Pri ostatných MPN to už neplatí, síce je táto mutácia typická aj pre ET i PMF (50–65 % prípadov), ale jej neprítomnosť uvedené diagnózy nevylučuje. Mutácia môže postihovať *MPL* gén v exóne 10 (okolo 10 % pacientov) ako aj gén pre kalretikulín v exóne 9 (15–25 % pacientov). Bez týchto mutácií (*triple negative*) tak zostáva len okolo 10–15 % chorých. Ph-neg. MPN sa nemusí prejavíť hneď na začiatku ochorenia typickými príznakmi. Nie je vzácné, že PV i PMF začína trombocytózou a až histologické vyšetrenie odhalí pravú podstatu choroby. Vtedy hovoríme o prepolycytemickej fáze PV, resp. o prefibrótickej fáze PMF. Mutáciu postihnuté bunky (vrátane leukocytov) majú potom pozmenené vlastnosti a prispievajú k najrôznejším klinickým prejavom, predovšetkým ku zvýšenej náchylnosti k trombózam. Z uvedeného vyplýva, že k základným diagnostickým princípom okrem molekulových vyšetrení patrí trepanobiopsické vyšetrenie kostnej drene, keďže len histológia môže rozlíšiť medzi jednotlivými podtypmi MPN.

Liečba: Prístup k liečbe MPN nie je vo svete jednotný. Na rozdiel od väčšiny onko-hematologických chorôb, kde sa princípy liečby veľmi nelíšia a prípadné rozdiely sú dané skôr ekonomickými možnosťami tej ktorej krajiny, pri MPN sa prístupy líšia aj v rámci Európy. Vidíme tu

anglickú školu, ktorá až donedávna prakticky výhradne presadzovala cytostatickú liečbu hydroxyureou (HU), škandinávsku, ktorá preferuje interferón-beta (IFN) a stredo európsku (CEMPO – Central European Myeloproliferative Neoplasm Organisation), ktorá presadzuje pri PV interferón a pri ET anagrelid (ANA) prípadne IFN. Rozdielny prístup je aj k hodnoteniu rizikovosti jednotlivých podskupín ako aj času začatia liečby.

Polycytémia vera: Pacienti sú ohrození predovšetkým trombózou, preto je cieľom znížiť hematokrit na bezpečné hodnoty (< 0,45 u mužov a < 0,42 u žien). Klasickou metódou sú venepunkcie, ktoré je možné vykonať odstránením celej krvi, ale aj prístrojovo, erythrocytaferézou, kde sa odstránia len prebytočné erythrocyty. Samozrejmosťou je antiagregačná liečba. Dlhodobé venepunkcie však vedú postupne k deplécii železa, požadovaný hematokrit sa dosiahne len vďaka mikrocytóze. Počet erythrocytov je pritom zvýšený. Tento fakt ako aj prípadná intolerancia procedúry, resp. jej neúčinnosť, či progresia klinických symptómov vyžadujú v ďalšom kroku cytoredukciu. V krajinách CEMPO sa ako liek 1. voľby používa IFN, v súčasnosti väčšinou dlhodobo pôsobiaci pegylovaný IFN. V EMA bol schválený mono-pegylovaný IFN-beta 2b – ropeginterferon. Výhodou je podávanie v intervale 14 dní, prípadne i dlhšom. Pri vzácnej neúčinnosti IFN prichádza do úvahy HU, prípadne špecifický inhibitor *JAK1/JAK2* ruxolitinib, ktorý je v niektorých krajinách považovaný za liek 2. voľby po IFN. Pri neúčinnosti všetkých uvedených liekov prichádza do úvahy busulfan avšak s rizikom zvýšenej pravdepodobnosti transformácie do akútnej leukémie. Vo výskume sú však aj nové lieky s úplne iným mechanizmom účinku.

Esenciálna trombocytémia: Pri tejto diagnóze sú rozdiely v prístupe k terapii najvypuklejšie. Podľa usmernení CEMPO je liekom 1. voľby anagrelid, necytostatický anti-megakaryocytový liek, ktorý ovplyvňuje vyzrievanie megakaryocytov a nedovolí ich nárast do obrovských rozmerov, čo je vlastne príčinou trombocytózy pri ET. K dispozícii sú dva preparáty s rozdielnou farmakokinetikou. ANA dostupný v západnej Európe mal podstatne horšiu toleranciu, čo viedlo k jeho zaradeniu do tretej, niekedy až 4. línie liečby. Oproti tomu ANA dostupný v strednej Európe je pomerne dobre tolerovaný a je preto liekom 1. voľby, u mladých pacientov v reprodukčnom veku je liekom 1. voľby IFN. Možné sú i kombinácie IFN + ANA, prípadne kombinácie s HU. Po (vzácnom) zlyhaní ANA alebo IFN prichádza do úvahy opäť HU.

Primárna myelofibróza: Ide o najvážnejšiu MPN. Dostupná liečba je len paliatívna, jedinou kuratívnu metódou je alogénna transplantácia krvotvorných buniek (TKB). K rozhodnutiu o potrebe liečby napomáhajú rôzne skórovacie systémy. Všeobecne platí, že v počiatočnom štádiu sa neoplatí riskovať mortalitu TKB, v najvyšších štádiách je však mortalita pri TKB natoľko vysoká, že jej vykonanie

už nedává zmysel. Na transplantáciu sú teda vhodní mladší pacienti v intermediárnych štádiách choroby. V prefibrotickom štádiu PMF (keď je jediným príznakom choroby trombocytóza) prichádza do úvahy liečba ANA aj IFN. Schváleným liekom je ruxolitib, ktorý vie zmierniť príznaky choroby (najmä splenomegáliu) a znížiť transfúziu závislosť, nie však u všetkých chorých a kuratívny nie je. Pri výraznej proliferácii leukocytov prichádzajú do úvahy cytostatiká, predovšetkým HU. Na poli terapie PMF prebieha intenzívny výskum nových liekov.

Záver: Významný rozdiel v prístupe k (ne)liečbe MPN je aj v indikácii jej zahájenia. Ide o klonálne choroby, pri ktorých sa v priebehu ich väčšinou dlhodobého priebehu objavujú postupne nové mutácie. Prechod od „normálu“ k MPN a prípadne ďalej (k akútnej leukémii) je pozvoľný a postupný. Prvé mutácie ešte nemusia znamenať žiadne klinické prejavy, hovoríme o fáze „CHIP“ (*Clonal hematopoiesis with indeterminate potential*). Časom sú mutáciou postihnuté aj iné gény, čím dlhšie choroba trvá, tým je ich viac a postupne sa môžu objaviť aj mutácie typické pre AML. Preto je potrebné zväžiť liečbu už vo fáze CHIP, vo svete sa však názory na túto problematiku rozchádzajú. V strednej Európe sa riadime tým, že prístup *watch and wait* je vlastne čakaním na prvú tromboembolickú príhodu, čo nepokladáme za etické. Preto presadzujeme skorú necytostatickú liečbu v závislosti na veku a rizikových faktoroch.

CHRONICKÁ MYELOIDNÍ LEUKÉMIE – JE ČAS NA UKONČENÍ SPECIFICKÉ LÉČBY?

Čičátková P., Žáčková D.

Interní hematologická a onkologická klinika LF MU a FN Brno

Odhalenie patogenetického podkladu chronickej myeloidní leukémie (CML), fúzióneho genu *BCR/ABL1*, a s tým spojené konstitutívne aktivované tyrozinkinázy Bcr-Abl1, rýchle vedlo ke snahám o cilenou terapiu. Již zavedení prvého inhibitory tyrozinkinázy (*tyrosine kinase inhibitors* – TKI) imatinibu do klinické praxe zcela zásadně ovlivnilo nejen prognózu pacientů, ale také celkový pohled na léčbu CML. Imatinib byl následován dalšími TKI druhé a třetí generace (nilotinib, dasatinib, bosutinibu a ponatinib) a celková délka života pacientů s nově diagnostikovanou CML se nyní neliší od délky života zdravých vrstevníků. Léčba TKI je podle aktuálních doporučení Evropské leukemické sítě z roku 2020 obvykle celoživotní, a tak představuje nejen ekonomickou zátěž pro zdravotnické systémy, ale zejména může být spojena s negativním vlivem na kvalitu života pacientů. Stejně tak jak se vyvíjela terapie CML, měnily se i její cíle od dosažení kompletní hematologické (*complete hematological response* – CHR) a kompletní cytogenetické odpovědi (*complete cytogenetic response* – CCyR) až k odpovědi na molekulární úrovni – tzv. velké molekulární odpovědi (*major molecular response* – MMR, tj. pokles hladiny BCR/ABL1 transkriptů $\leq 0,1$ % vzhledem k IS). Se zavedením TKI vyšších generací stále narůstá počet pacientů, u kterých je dosažena i tzv. hluboká molekulární odpověď (*deep molecular response* – DMR, tj. hladina transkriptů BCR/ABL1 $\leq 0,01$ % vzhledem k IS). Počet

pacientů, u kterých je DMR nastolena, se po 5 letech léčby pohybuje na základě zvoleného TKI mezi 40 a 60 %. Dosažení DMR je zásadním předpokladem k vysazení TKI a navození remise bez nutnosti léčby (TFR – *treatment free remission*), která se nyní pozvolna stává novým cílem léčby pacientů s CML. Tomu však předcházelo provedení řady klinických studií i kontrolovaných vysazení u pacientů v reálné klinické praxi a na zkušenosti z těchto prací navázala i akademická prospektivní celonárodní studie HALF probíhající nyní v České republice. Je určena pro pacienty s déle než 2 roky trvající DMR a její sofistikovaný design umožní po dvoustupňové redukci dávky vysadit TKI pacientům, kteří i při snižování dávky udrží stabilní MMR. Setrvat v TFR se v publikovaných studiích podařilo asi u poloviny pacientů. Z celkového počtu CML pacientů se však jedná jen o zlomek z nich (cca 20 %). K odhalení faktorů, které pacienty k úspěšnému vysazení predisponují, se snaží právě studie HALF přispět. Otázka, zda je u pacientů s CML čas na ukončení specifické léčby, zatím zůstává nezodpovězena a prozatím představuje možnost pouze pro malou skupinu pacientů.

Práce byla podpořena grantem číslo MUNI/A/1330/2021.

HALF: MULTICENTRICKÁ AKADEMICKÁ STUDIE FÁZE II VYSAZUJÍCÍ INHIBITORY TYROZINKINÁZ PO DVOUSTUPŇOVÉ REDUKCI DÁVKY U PACIENTŮ S CHRONICKOU MYELOIDNÍ LEUKÉMIÍ – DOSAVADNÍ VÝSLEDKY

Žáčková D.¹, Kvetková A.¹, Faber E.², Bělohávková P.³, Klamová H.⁴, Stejskal L.⁵, Karas M.⁶, Černá O.⁷, Cmunt E.⁸, Čičátková P.¹, Semerád L.¹, Horňák T.¹, Procházková J.¹, Rychlíčková J.⁹, Štěpánová R.⁹, Svobodník A.⁹, Machová Poláková K.⁴, Žižková H.⁴, Srbová D.⁴, Skoumalová I.², Ježíšková I.¹, Jurček T.¹, Borský M.¹, Wieworka O.¹⁰, Demlová R.⁹, Mayer J.¹¹

¹ Interní hematologická a onkologická klinika LF MU a FN Brno

² Hematoonkologická klinika LF UP a FN Olomouc

³ IV. Interní hematologická klinika LF UK a FN Hradec Králové

⁴ Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

⁵ Klinika hematoonkologie LF OU a FN Ostrava

⁶ Hematoonkologická klinika LF UK a FN Plzeň

⁷ Interní hematologická klinika 3. LF UK a FN Královské Vinohrady, Praha

⁸ 1. Interní klinika – klinika hematologie 1. LF UK a VFN v Praze

⁹ Farmakologický ústav, LF MU Brno

¹⁰ Oddělení klinické biochemie, FN Brno

¹¹ Středoevropský technologický institut (CEITEC), MU Brno

Úvod: HALF je multicentrická akademická studie fáze II, v rámci které je u pacientů s chronickou myeloidní leukémií (CML) v dlouhodobé hluboké molekulární odpovědi (DMR) terapie inhibitory tyrozinkinázy (TKI) redukována postupně. V prvním půlroce je dávka dosavadně užívaného TKI redukována na polovinu standardní dávky, s následným intermitentním podáváním téže dávky v půlroce dalším. Následně

je podávání TKI ukončeno (HALF, ClinicalTrials.gov NCT04147533, obr. 1).

Cíle: Zhodnotit účinnost a bezpečnost postupného vysazení TKI u pacientů s CML v dlouhodobé DMR.

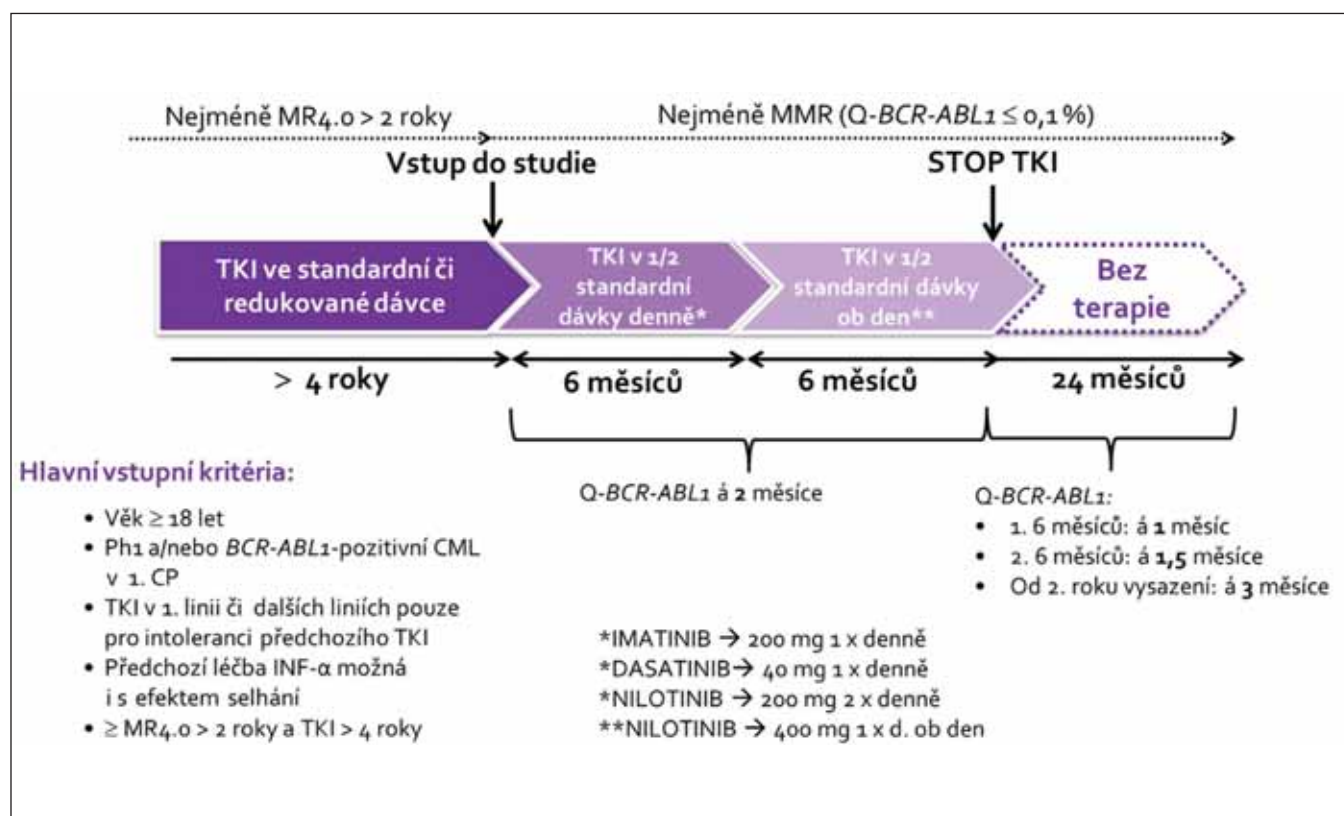
Metody: Provedena deskriptivní analýza dat 153 pacientů zařazených do studie v období 1. 6. 2020 až 31. 12. 2021 v šesti z osmi participujících center: FN Brno, FNOL, FNHK, ÚHK Praha, FNO a FN Plzeň.

Výsledky: Do studie bylo doposud zařazeno 153 pacientů (80 mužů a 73 žen) s mediánem věku v době diagnózy 51 let (rozmezí 18–74). Medián intervalu od diagnózy CML po vstup do studie byl 9 let (rozmezí 4,4–22,5) a medián věku při vstupu do studie byl 62,2 let (rozmezí 24–86). V době diagnózy bylo 91 (59,5 %) pacientů v kategorii nízkého, 31 (20,3 %) středního a 22 (14,4 %) vysokého rizika dle ELTS skóre. Celkem 115 (75,2 %) pacientů dosáhlo poklesu BCR/ABL1 transkriptů $\leq 10\%$ v IS po 3 měsících terapie TKI. Při vstupu do studie bylo 118 (78,7 %) pacientů léčeno imatinibem, 21 (14,0 %) nilotinibem a 11 (7,3 %) dasatinibem, přičemž u 60 (39,2 %) pacientů byla dávka již při vstupu do studie redukována. K 31. 12. 2021 bylo celkově screenováno 166 pacientů, z čehož zmiňovaných 153 (92,2 %)

do studie vstoupilo a byla u nich provedena první fázi de-escalace. Do druhé fáze postoupilo 99 (59,6 %) pacientů a do vysazovací fáze studie 49 (29,5 %) pacientů, bez signifikantních projevů syndromu z vysazení. Konfirmovaná molekulární rekurence, tj. ztráta MMR ve dvou konsekutivních odběrech ve stanoveném minimálním intervalu, byla doposud dokumentovaná u 18 (10,8 %) pacientů. U těchto pacientů byla terapie TKI navrácena v původně užívané dávce.

Závěr: Postupná redukce dávky TKI se dosud jeví být účinným a bezpečným postupem k dosažení remise bez léčby (*treatment-free remission* – TFR). Zájem o bezpečné dosažení TFR reflektuje zařazení již 153 pacientů v šesti hematologických centrech napříč ČR v době analýzy, přičemž nábor dále pokračuje. Frekventní kontroly molekulární odpovědi po vysazení TKI umožňují promptní navrácení léčby, je-li k tomu indikace.

Podpořeno prostřednictvím MŠMT projektem VI CZECRIN (LM2018128), z Evropského fondu pro regionální rozvoj – projekt CZECRIN_4 PATIENTS (CZ.02.1.01/0.0/0.0/16_013/0001826) a z programového projektu Ministerstva zdravotnictví ČR s reg. č. NU22-03-00136.



PŘÍDATNÉ CYTOGENETICKÉ ABNORMALITY PROKÁZANÉ PŘI DIAGNÓZE CHRONICKÉ MYELOIDNÍ LEUKÉMIE A JEJICH VLIV NA PROGNÓZU – ANALÝZA Z DATABÁZE INFINITY

Čičátková P.¹, Jarošová M.¹, Mazalová M.², Klamová H.³, Bělohávková P.⁴, Stejskal L.⁵, Faber E.⁶, Hornák T.¹, Kvetková A.¹, Semerád L.¹, Procházková J.¹, Ransdorfová Š.³, Cmunt E.⁷, Černá O.⁸, Mayer J.^{1,9}, Žáčková D.¹

¹ Interní hematologická a onkologická klinika LF MU a FN Brno

² Institut biostatistiky a analýz, LF MU Brno

³ Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

⁴ IV. interní hematologická klinika LF UK a FN Hradec Králové

⁵ Klinika hematoonkologie LF OU a FN Ostrava

⁶ Hemato-onkologická klinika LF UP a FN Olomouc

⁷ I. interní klinika – hematologie LF UK a VFN v Praze

⁸ Hematologická klinika LF UK a FN Královské Vinohrady, Praha

⁹ Středoevropský technologický institut, MU Brno

Cíl: Analyzovat vliv přídatných cytogenetických abnormalit (*additional cytogenetic abnormalities* – ACAs) přítomných při diagnóze chronické myeloidní leukémie (CML) na prognózu pacientů léčených terapií inhibitorů tyrozin-kináz (TKI) v klinické praxi.

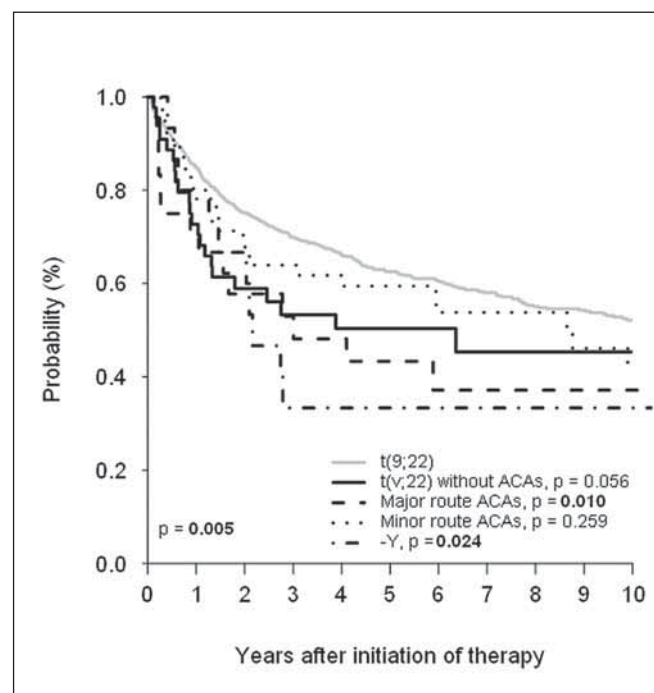
Metody: Byla provedena retrospektivní analýza dat z klinické praxe získaných cestou databáze INFINITY. K porovnávání mezi jednotlivými skupinami byly využity Mantelův-Haenszelův log-rank test – celkové přežití (OS), přežití bez progresu (PFS), přežití bez alternativní léčby (ATFS) nebo Grayův test – dosažení kompletní cytogenetické odpovědi (*complete cytogenetic response* – CCyR) a velké molekulární odpovědi (*major molecular response* – MMR), specifické přežití (hodnotící pouze úmrtí v důsledku CML) s hladinou významnosti 0,05.

Výsledky: V ČR byla v letech 2005–2019 diagnostikována CML v chronické fázi u 1 319 pacientů. Z nich 1 087 bylo v 1. linii léčeno imatinibem ($n = 937$) nebo nilotinibem ($n = 150$) a mělo validní záznamy. Izolovaná $t(9;22)$ byla přítomna u 939 (86 %) , variantní translokace u 44 (4,4 %) , ACAs typu *major route* (+Ph, +8, i17q a +19) u 24 (2,2 %) , ACAs typu *minor route* (všechny ostatní ACAs s výjimkou -Y) u 65 (6,0 %) a -Y u 15 pacientů (1,4 %). Pětileté OS bylo v uvedených kategoriích 89,4 %, 76,0 %, 68,6 %, 92,3 %, resp. 76,6 % ($p < 0,001$), specifické přežití pak 98 %, 88,3 %, 87,5 %, 95,6 %, resp. 100 % ($p < 0,001$). Dále jsme analyzovali unikátní parametry – ATFS (obr. 1) a také CLFS (*current leukemia-free survival*) objektivněji odrážející klinickou rutinní praxi. Na OS, specifické přežití a PFS měly statisticky významný vliv variantní translokace a *major route* ACAs. V případě PFS byly navíc signifikantně horší výsledky u pacientů s -Y ($p = 0,023$). Při analýze ATFS jsme prokázali vliv v neprospěch kategorií *major route* ACAs a také -Y. Na druhou stranu žádná ze sledovaných kategorií neměla signifikantní vliv na dosažení CCyR ani MMR.

Závěr: Potvrdili jsme významný vliv *major route* ACAs při diagnóze na prognózu pacientů. Naproti tomu výsledky ukazující na význam variantní translokace jsou v souladu s literaturou rozporuplné a k jednoznačným závěrům bude zapotřebí dalších analýz. Přestože

je v současné době cytogenetické vyšetření částečně nahrazováno vyšetřením molekulárně biologickým, zejména při diagnóze je stále nezastupitelné. Jeho provedení bychom měli zvažovat i u pacientů s přídatnými cytogenetickými změnami přítomnými při diagnóze a neoptimální léčebnou odpovědí. U pacientů s *major route* ACAs při diagnóze je také ke zvážení intenzifikace léčby v první linii.

Práce byla podpořena grantem číslo MUNI/A/1330/2021 a MZ ČR – RVO (FNBr, 65269705).



IMATINIB-REZISTENTNÍ KLONY MODELU BLASTICKÉHO ZVRATU CHRONICKÉ MYELOIDNÍ LEUKÉMIE NESOUČÍ RŮZNÉ SPEKTRUM MUTACÍ V BCR/ABL1 A JINÝCH GENECH ASOCIOVANÝCH S MALIGNITAMI SE LIŠÍ SVOU CITLIVOSTNÍ K BH3-MIMETIKŮM

Lázníčka A.^{1,2}, Čuřík N.^{1,3}, Polívková V.¹, Koblihová J.¹, Burda P.^{1,3}, Dolníková A.³, Pokorná E.³, Šálek C.¹, Klamová H.¹, Srbová D.¹, Klener P.^{3,4}, Machová Poláková K.^{1,3}

¹ Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

² LF UK, Praha

³ Ústav patologické fyziologie, 1. LF UK, Praha

⁴ 1. interní klinika – klinika hematologie 1. LF UK a VFN v Praze

Úvod: Blastický zvrát chronické myeloidní leukémie (BC-CML) zůstává i v éře tyrozin-kinázových inhibitorů (TKI) terapeuticky těžce ovlivnitelný. Dysregulovaná apoptóza společně s přídatnými mutacemi vede k přežívání maligních buněk. BH3-mimetika,

inhibitory antiapoptotických proteinů, nachází aktuálně uplatnění v léčbě hematologických malignit. Práce předpokládá terapeutický potenciál kombinované léčby TKI a BH3-mimetiky na buňky BC-CML na základě zjištěných molekulárních změn.

Cíle: Cílem práce je testovat sensitivitu odvozených imatinib-rezistentních (IR) klonů linie KCL-22, modelu BC-CML, k BH3-mimetikům a analýzou BCL-2 proteinů popsat mechanismus účinnosti/rezistence s ověřením výsledků *in vivo* a na primárních buňkách pacientů s BC-CML.

Metody: IR-klony KCL-22 (n = 10) byly charakterizovány NGS a 72 hod kultivovány s imatinibem (IM) a BH3-mimetiky (inhibitor BCL-2 venetoclax, MCL-1 S63845 a BCL-XL A-1155463). Proteinová analýza probíhala po 48hod kultivaci v IM s/bez 3 μ M BH3-mimetiky. NOD-SCID-gamma myším (n = 16) bylo podkožně aplikováno 1 \times 10⁶ buněk klonu BCR/ABL1-T315I. Myši byly rozděleny do čtyř skupin dle terapie. Blasty pacientů (n = 4) byly kultivovány s IM a BH3-mimetiky 7 dní s následným stanovením LC50.

Výsledky: IR-klony KCL-22 se liší senzitivitou k BH3-mimetikům (tab. 1). Většina klonů (8/10) byla citlivá k anti-MCL-1, vč. čtyř klonů s BCR/ABL1-T315I. Snížená citlivost byla pozorována u klonů s mutacemi BCR/ABL1-T315I a GATA2-P27Q, a BCR/ABL1-Y253H a BCOR-R1454Q. Dva klony s BCR/ABL1-T315I byly citlivé k venetoclaxu, dva s mutacemi v jiných onkogenech vykazovaly sníženou citlivost či rezistenci. Pouze dva klony byly citlivé k anti-BCL-XL, nicméně re-

zistentní k venetoclaxu. Proteinová analýza linie KCL-22IR z čtyř vybraných klonů ukázala vysokou (a po vystavení BH3-mimetikům neměnnou) expresi BCL-2 a BCL-XL. S výjimkou klonu BCR/ABL1-T315I nebyl detekován MCL-1, po ovlivnění BH3-mimetiky však došlo k výraznému zvýšení exprese. U klonu BCR/ABL1-T315I senzitivního k anti-MCL-1 nebyl nárůst MCL-1 pozorován, navíc byla detekována aktivní forma apoptotického efektoru BAX. Koimmunoprecipitace mateřské linie po vystavení anti-MCL-1 prokázala rozvolnění antiapoptotického komplexu MCL-1/BIM, uvolněný BIM pak působí jako aktivátor apoptózy. *In vivo* došlo ke snížení růstu podkožního tumoru při léčbě IM, venetoclaxem, nebo kombinací. Přídavný efekt kombinované terapie oproti monoterapii nebyl pozorován, což může být vysvětleno inhibicí nemutovaného BCR/ABL1 (KCL-22 má dva Ph-chromozomy, z nichž pouze jeden nese mutaci). Analýza primárních buněk pacientů s BC-CML zjistila nejnižší LC50 pro anti-MCL-1. Blasty s mutacemi v dalších onkogenech nebo aberacemi karyotypu vykazovaly vyšší LC50 pro venetoclax nebo anti-BCL-XL.

Závěr: Na základě pilotních dat se inhibitor MCL-1 jeví jako nejpotentnější z testovaných BH3-mimetik v cílení BC-CML. Kombinovaná terapie BH3-mimetiky a TKI by měla reflektovat přítomnost mutací BCR/ABL1 a dalších genů asociovaných s malignitami.

Podpořeno MZCR 00023736.

Tab. 1.

Klon KCL-22IR	BCR::ABL1 mutace	Další detekované mutace (NGS panel)	Venetoclax IC ₅₀ (μ m)	S63845 IC ₅₀ (μ m)	A-1155463 IC ₅₀ (μ m)
B8	T315I	-	0,21	0,45	> 100
YC2	T315I	-	1,13	1,91	> 100
LG4	T315I	CEBPA Q305X	2,63	1,12	> 100
XE4I	T315I	KRAS G12V + RUNX1 G74R + ATRX K1933Kfs	7,09	0,46	1,41
LE5	T315I	GATA2 P27Q	16,58	7,51	1,85
XF4III	Y253H	-	6,23	0,28	27,70
YB4	Y253H	-	2,61	0,46	23,00
B10	Y253H	BCOR R1454Q	4,00	9,79	> 100
F4	E255K	-	1,62	1,24	> 100
E4	-	KRAS G12V + RUNX1 G74R + ATRX K1933Kfs	2,53	0,55	> 100

13TH SYMPOSIUM ON ADVANCES IN MOLECULAR HEMATOLOGY

GAB1 AS NOVEL THERAPEUTIC TARGET IN B LYMPHOID AND MYELOID MALIGNANCIES

Seda V.^{1,2}, Vojackova E.¹, Ondrisova L.^{1,2}, Kostalova L.^{1,2}, Loja T.¹,
Verner J.², Pospisilova S.², Brychtova Y.², Panovska A.², Zhang S.³,
Doubek M.², Mayer J.², Mraz M.^{1,2}

¹ Molecular Medicine, CEITEC Masaryk University, Brno, Czech Republic

² Department of Internal Medicine, Hematology and Oncology, Faculty of
Medicine Masaryk University and University Hospital Brno, Czech Republic

³ MD Anderson Cancer Center, Texas, USA

Introduction: Increased GAB1 levels have been described in several hematological malignancies and are associated with unfavorable prognosis (Mraz et al., *Blood*, 2014; Juric et al., *JCO*, 2007; Lenz et al., *NEJM*, 2008). GAB1 integrates and amplifies signals from cytokine and BCR receptors (van der Voort et al., *JEM*, 2000; Mraz et al., *Blood*, 2014), regulates cell migration/adhesion, and contributes to the adaptation of malignant B cells to BCR inhibitors (Seda et al., *Blood*, 2021). We tested if GAB1 targeting with novel inhibitors represents a potential therapeutic approach in hematological malignancies.

Methods: The role of GAB1 was tested using *GAB1* gene editing (Crispr/Cas9), siRNA or *GAB1* over-expression (pcDNA3.1), and two novel inhibitors (GAB1-001/4). GAB1 interaction partners were identified by co-IP and LC-mass-spectrometry.

Results: GAB1 downregulation by siRNA/knock-out impaired the migration of malignant B cells towards chemo-attractants such as SDF1, CXCL13, or conditioned media produced by bone marrow stromal cells (all $P < 0.05$). GAB1 downregulation/knock-out also impaired the activity of AKT and ERK in malignant myeloid cells and B cells. Moreover, GAB1 knock-out significantly impaired the proliferative capacity of MEC1 cells in the NSG mice ($P < 0.01$). The co-IP experiment revealed that GAB1 interacts with proteins involved in migration and cell signaling (GRB2, ACTR3, IP3R, GRAP2). GAB1 inhibitors (4 hours) impaired migration and BCR signaling in primary CLL cells, and at 48 hours induced primary CLL cells apoptosis (specific apoptosis: 25%; $N = 14$; $P = 0.003$). GAB1 inhibitors also induced significant apoptosis ($P < 0.05$, 48 hours) in 10 cell lines from various malignancies (% of induced apoptosis indicated in brackets): MCL (27%; JeKo), BL (20%, Ramos), DLBCL (30%, DOHH2), FL (17%, WSU-NHL), CLL (18%; MEC1), SLL (19%, OciLy5), AML (49%, 33%, 41% for ML2, OciAML3, MOLM13, respectively), and ALL (13%, Granta-452). The combination of GAB1 inhibitors and BTK-inhibitor ibrutinib exhibited a synergistic effect ($P < 0.05$) on cell apoptosis in primary CLL (induced apoptosis: 33% in combination vs. 25% for GAB1 inhibitor alone; $N = 14$), MEC1 (apoptosis: 26 vs.

18%), JeKo (apoptosis: 69 vs. 27%), ML2 (apoptosis: 63 vs. 49%), and OciLy5 (apoptosis: 32 vs. 19%) cell lines.

Conclusion: We have described the role of GAB1 in the proliferative fitness of various hematological malignancies. Novel GAB1 inhibitors impair cellular signaling, induce apoptosis and represent a potential therapeutic strategy in multiple hematological malignancies.

Supported by Czech Science Foundation (project No. 20-02566S), Ministry of Health of the Czech Rep. (grant no. NU22-03-00117), and MUNI/A/1330/2021.

CELL FREE DNA ANALYSIS – CURRENT INSIGHTS AND FIRST EXPERIENCES IN HODGKIN LYMPHOMA

Grohmann J., Navrátilová J., Kredátusová A., Hanáčková V.,
Urbánková H., Procházka V., Papajík T.

Department of Hemato-Oncology, Faculty of Medicine and Dentistry,
Palacky University and University Hospital Olomouc

Circulating cell-free DNA (cfDNA) consists of small fragments of double stranded DNA released from cells undergoing apoptosis or necrosis into the peripheral blood. First it was mentioned in 1948, nowadays it is a widely used biomarker in prenatal diagnostics and in the last few years it has spread as a non-invasive technic called liquid biopsy also into the cancer diagnostics. A detectable amount of cell tumour DNA (ctDNA) released by apoptotic tumour cells mirrors the cancer genome. Screening of ctDNA fraction in cfDNA by next generation sequencing (NGS) can reveal clinically significant mutations and genetic variants associated with tumour. This provides an important advantage especially in lymphomas with problematic localisation and difficult availability of tumour material. The residual level of mutation detected in the time of diagnosis can be further followed by digital PCR (dPCR). dPCR is ultra-sensitive low-cost method which may improve monitoring and treatment adjustment in real time. Beside the MRD monitoring by dPCR, also the concentration and fragmentation of cfDNA itself seems to reflect the response to the chemotherapy. Nevertheless, despite big efforts to maximize the utilization of cfDNA as a biomarker for diagnosis, treatment and MRD monitoring, there are still significant limitations, e.g. low concentrations, short turnaround in plasma etc. We will present our first experiences with cfDNA-based approach in Hodgkin lymphomas including obtained NGS and dPCR data.

Supported by grant IGA_LF_2022_001, MZ CR – RVO (FNOL, 00098892).

DETECTION OF NUMERICAL AND STRUCTURAL GENOMIC ABERRATIONS FROM FFPE TISSUES: CHALLENGES AND PITFALLS

Neumanova K.¹, Manakova J.¹, Kubova Z.², Slobodová Z.³, Urbankova H.², Savara J.¹, Papajik T.², Kriegova E.¹

¹ Department of Immunology, Faculty of Medicine and Dentistry, Palacky University and University Hospital Olomouc

² Department of Hemato-Oncology, Faculty of Medicine and Dentistry, Palacky University and University Hospital Olomouc

³ Department of Clinical and Molecular Pathology, Faculty of Medicine and Dentistry, Palacky University Olomouc and University Hospital Olomouc

The analysis of numerical and structural genomic aberrations in genes that have predictive/prognostic value is essential for clinical decision-making, not only in haemato-oncology. However, genetic diagnostics from formalin-fixed paraffin-embedded (FFPE) tissue samples is challenging, depending on the input material, storage, DNA/RNA extraction method and sample post-processing. In this study, we compared different DNA isolation methods from FFPE samples, evaluated the suitability of obtained DNA for detection by next-generation sequencing (NGS) and digital PCR (dPCR). Data on mutations and deletions of the *TP53* gene, a predictive biomarker in many haematological malignancies, were compared with genetic analysis of DNA isolated from peripheral blood and bone marrow. In addition to an overview of preanalytics of fixed tissue samples, results of various DNA extraction and sample processing methods will be presented, including DNA quality metrics and results and quality metrics of NGS and dPCR analysis.

Supported by grant NU21-06-00370, IGA_LF_2022_011, CZ.02.2.69/0.0/0.0/19_073/0016713, and MH CZ-DRO (FNOL, 00098892).

METHYLATION PATTERN AS A BIOMARKER FOR HEMATO-ONCOLOGICAL MALIGNANCIES

Ebenstein Y.

Tel Aviv University, Israel

Along with the promoter methylation and CpG rich regions across the whole genome, the methylation status of distant enhancers has been shown to be a powerful determinant of cell-state and cancer. The lecture will summarise the recent availability of long reads that report on the methylation status of enhancer-promoter pairs on the same molecule, the joint effects of multiple enhancers per promoter and the detection of methylation pattern on cell free DNA and genomic DNA in cancer. Moreover, the perspectives of methylation analysis for screening and follow-up of patients with haematological malignancies will be discussed.

LIQUID BIOPSIES IN MULTIPLE MYELOMA

Sevcikova S.

Babak Myeloma Group, Department of Pathophysiology, Faculty of Medicine, Masaryk University, Brno

Multiple myeloma (MM) is the second most common hematological malignancy. It is characterized by malignant plasma cell infiltration of the bone marrow and so-called CRAB symptoms (hypercalcemia, renal failure, anemia and bone lesions). The diagnostic gold standard is bone marrow biopsy. However, collection of bone marrow is invasive, painful and occasionally can lead to false-negative results due to single-site collection or complication of patient's condition. That is why liquid biopsies are becoming more interesting. They provide minimally invasive alternative to diagnosis, treatment monitoring and MRD monitoring from various body fluids. Moreover, as there are subclones of plasma cells found outside of the bone marrow, liquid biopsies are more and more important in diseases such as multiple myeloma.

In MM, circulating plasma cells (cPC) have been long known to be connected to worse prognosis of MM patients. However, there are other molecules, such as cell-free DNA, circulating microRNA and others found in peripheral blood or urine that may become new diagnostic and prognostic markers.

This study will summarize different approaches and studies of liquid biopsies in MM.

This work was supported by grant NU21-03-00076.

NOVEL 5'UTR EPO MUTATION AUGMENTS INTERACTION WITH HIF2 AND CAUSES AUTOSOMAL DOMINANT ERYTHROCYTOSIS

Lanikova L.¹, Song J.², Babosova O.¹, Berkova L.¹, Korinek V.¹, Prchal J. T.²

¹ Institute of Molecular Genetics of the Czech Academy of Sciences, Prague, Czech Republic

² Division of Hematology, School of Medicine, University of Utah, Salt Lake City, Utah, USA

We studied 10 affected and 11 non affected relatives of a five generation kindred with autosomal dominant familial erythrocytosis. We have excluded other known inherited forms of erythrocytosis. i.e., mutations of *globin*, the 2,3 DPG generating *PBGM* gene causing increased Hb/O₂ affinity (low p50), gain-of-function mutations of erythropoietin receptor (*EPOR*), germ-line *JAK2* mutations, and hypoxia inducible factor 2A (*HIF2-A(EPAS1)*), *PHD2(EGLN1)*, and *VHL* mutations associated with augmented oxygen-sensing pathway. Those affected family members had moderately increased erythropoietin (*EPO*) levels, no splenomegaly, normal leukocyte and platelet numbers and normal p50 (presented at this mtg, *Blood*. 2003;102,162b). We sequenced whole exomes and adjacent portions of introns of two affected individuals and found a novel heterozygous 5'UTR *EPO* variant with change -136 nt upstream from the *ATG EPO*

initiation site (NG_021471 –136 G>A). This variant segregated with the erythrocytosis phenotype in 15 relatives examined: the 7 affected subjects were heterozygous for this variant and the 8 unaffected were negative, suggesting its causative role in erythrocytosis (presented at this mtg, *Blood*. 2013;122,950).

Other authors (NEJM 2018; 378:924) reported a variant of autosomal dominant familial erythrocytosis with a different *EPO* mutation: a single-nucleotide deletion (c.32delG) in exon 2 of the *EPO* gene causing a frameshift and alternative *EPO* mRNA transcripts, leading to increased production of functional EPO protein with shortened signal peptide and a novel N-terminus as cause of their familial erythrocytosis.

In order to characterize function of our 5'UTR *EPO* variant, we introduced it into the EPO producing human hepatoma cell line Hep3B using CRISPR/Cas9 editing system by homologous recombination with single-stranded donor oligonucleotides. The targeted cells were sorted in 96 well plates (20 cells per well) and then each well tested for presence of -136 G>A variant by allele-specific PCR. We identified 3 heterozygous Hep3B for *EPO*^{-136 G>A}; the second round of targeting generated homozygous Hep3B clones. The *EPO* mRNA of homozygous recombinants was greatly increased and detected even in normoxia, unlike non-edited Hep3B cells. No alternative *EPO* mRNA transcripts were detected in the engineered and non-edited Hep3B cells. To emulate human phenotype, the supernatants of cultured three heterozygous *EPO*^{-136 G>A} Hep3B single-cell derived clones and controls in normoxic and hypoxic conditions were used to detect production of EPO. The hypoxic treatment increased ~2x the production of EPO from edited clones compared to non-edited Hep3B cells. The secreted EPO from heterozygous *EPO*^{-136 G>A} Hep3B clones supported growth of EPO-dependent BaF3-EPOR cells more than supernatants from non-edited Hep3B cells. We then measured *EPO* transcript levels in Hep3B with *EPO*^{-136 G>A} and parental Hep3B cell lines in normoxia and hypoxia. The hypoxia increased the relative expression of *EPO*^{-136 G>A} allele in all three targeted heterozygous *EPO*^{-136 G>A} Hep3B cell lines. The *EPO* gene promoter was largely unmethylated in both wild and mutated clones. To evaluate activity of this mutant *EPO* promoter, we sub-cloned wild and mutated 5'UTR *EPO* sequence upstream of luciferase reporter gene and transfected them into two EPO producing cell lines – Hep3B, Hep2G. The mutant significantly increased activity of the reporter. To study the interaction of *EPO*^{-136 G>A} mutant promoter with HIF2 (principal transcription factor regulating *EPO*), we co-transfected *EPO*-luc reporter with HIF2-A expression plasmid. The activity of reporter with mutated *EPO*^{-136 G>A} was further increased in these cells with augmented HIF2 levels. Indeed, alignment tools predicted the *EPO*^{-136 G>A} genomic region as putative HIF2 binding site. This suggests that mutated 5'UTR of *EPO* augments interaction with HIF2, leading to increase production of EPO. Chromatin immunoprecipitation experiments are ongoing to model the transcriptional regulatory network accounting for augmented transcriptional regulation of this 5'UTR *EPO* gene variant.

Here we report a novel mechanism of inherited erythrocytosis caused by increased transcription of mutated 5'UTR of *EPO*.

Supported by Czech HRC, grant NV19-07-00412.

PRIMARY IMMUNE THROMBOCYTOPENIA (ITP): UPDATE ON GENETICS AND MANAGEMENT

Provan D.

Queen Mary University of London, UK

Primary ITP is a complex disorder affecting both adults and children. In common with the other 80 or 90 known autoimmune diseases, ITP involves a variety of factors including genetic, environmental, and others. There has been a lack of basic and genetic research in ITP to determine the underlying process is but there appears to be broadly two groups, those involving a B cell type response and those involving a T cell response. There will doubtless be many other subtypes of ITP which we have not yet elucidated.

The genetics of ITP is not Mendelian and it is likely that there are many genes involved in the pathogenesis. These genes are likely to involve components of the immune system, cytokines, receptors and many other as yet unidentified molecules which collectively predisposed to ITP. We have good evidence for a genetic component in autoimmune diseases from other diseases such as thyroid disease and the fact that autoimmune disease often runs in families which is likely to imply a genetic link. However, the concordance between monozygotic twins is not 100% so this means that genetics is not the sole driver of autoimmunity. Single nucleotide polymorphism (SNP) studies in adult and paediatric ITP to date have been disappointing but have provided some useful information.

In my lecture I will discuss a number of factors which influence ITP including environmental factors as well as genetics. Having a better understanding of the genetics of any disorder may allow the development of specific targeted therapies. For ITP at present we know little about the role of genetics in the pathogenesis.

In terms of management of ITP, there has been a major shift away from immune suppression and the use of non-evidence based treatments with a huge increase in the use of thrombopoietin receptor agonists (TPO-RAs). This has been driven largely by the COVID-19 pandemic and avoidance of immune suppression. Data from studies show that the quality of life for patients is much improved when TPO-RAs are used compared to the other immune suppressing treatments.

THE ROLE OF T CELLS IN THE PATHOGENESIS OF CHILDHOOD IMMUNE THROMBOCYTOPENIA

Raskova Kafkova L., Brokesova D., Raska M., Pospisilova D.

Department of Paediatrics, Faculty of Medicine and Dentistry, Palacky University and University Hospital Olomouc

Immune thrombocytopenia (ITP) is the most common autoimmune bleeding disorder in children. Its prognosis is mostly benign; however, severe refractory disease remains diagnostic and therapeutic challenge. The low counts of platelets (platelet count < 100 × 10⁹/L) are associated with their removal by two parallel platelet clearance mechanisms –

antibody mediated platelet clearance and lectin-carbohydrate mediated platelet clearance. The later pathway is initiated by platelet desialylation, which is the process where terminal sialic acids are cleaved from glycoproteins (GPs) on the platelet surface. The loss of sialic acids causes exposure of the penultimate β -galactose residues on GP glycans to hepatocytes-expressed asialoglycoprotein receptors (ASGPRs), also called Ashwell-Morell receptor. Thus desialylated platelets are captured and phagocytosed by hepatocytes. Over the past decades, platelet desialylation has been shown to be responsible for platelet clearance in conditions such as infection-related thrombocytopenia, and the clearance of senescent platelets. The aim of our project is to determine the platelet desialylation in individual stages of children ITP and relative to ITP therapy. We correlate the level of platelet desialylation with the individual subpopulations of T cells.

Our data show, that the ITP progression does not correlate with platelet desialylation, nevertheless the level of desialylation correlates with the rate of surface bound IgM and IgA immunoglobulins. The platelet desialylation is not stable over the time, the long term observation of individual patients show changes in the rate of platelet desialylation. Further, the rate of platelets desialylation correlates with the blood level of cytotoxic T cells. The amount of Treg cells does not differ among individual ITP stages, however patients with high Tregs (> 12% of CD3 + CD4 + cells) exhibited lower platelets counts (< $30 \times 10^9/L$).

Better understanding of immune-mediated processes involved in ITP pathogenesis may reduce adverse effects of immunosuppressive therapy and considerably improve quality of life in patients with ITP.

This work was supported by the grant of Ministry of School, Youth, and Sport, Czech Republic grant CEREBIT CZ. 02.1.01/0.0/0.0/16_025/0007397 and the grant of Palacky University Olomouc IGA_LF_2022_011.

GENETIC DIAGNOSTICS IN CHILDHOOD IMMUNE THROMBOCYTOPENIA

Manáková J., Pospisilova D., Savara J., Kriegova E.

Department of Immunology, Faculty of Medicine and Dentistry, Palacky University and University Hospital Olomouc

Inherited thrombocytopenia (ITP) includes a group of inherited disorders often associated with mutations in genes implicated in megakaryocyte differentiation and/or platelet formation and clearance. Despite advances of next-generation sequencing (NGS) diagnostics (targeted panels, whole exome and whole genome sequencing), the molecular mechanism underlying ITP in some patients remains unexplained. This may be due to the type and size of the structural variant(s), which are difficult to detect by traditional NGS methods. Here, we review the advantages of novel genetic approaches, such as whole-genome optical mapping and long-read NGS, for the diagnosis of ITP. As an example, we present a case report of an 8 years old girl diagnosed with ITP, in whom optical mapping revealed a 14.5 kbp deletion involving the IL4R gene previously associated with ITP (Takahashi N. et al., 2017). In this patient, additional 35 deletions (size range 0.5–132.2 kbp), 19 insertions (0.7–48.5 kbp) and one inversion (16.1 kbp) were found that did not involve genes previously associated with ITP. Our data highlights the use of novel genetic approaches based on the analysis of long weight DNA to complement NGS results for the genetic diagnosis of ITP.

Supported by grant NU21-06-00370, IGA_LF_2022_011, CZ.02.2.69/0.0/0.0/19_073/0016713, and MH CZ-DRO (FNOL, 00098892).

POSTEROVÁ SEKCE

P01. POROVNÁNÍ GIT TOXICITY CONDITIONINGU BEAM VS. TEAM PŘED AUTOLOGNÍ TRANSPLANTACÍ U PACIENTŮ S LYMFOMY

Břízová B., Jungová A., Lysák D., Šrámek J., Bergerová V., Jindra P.

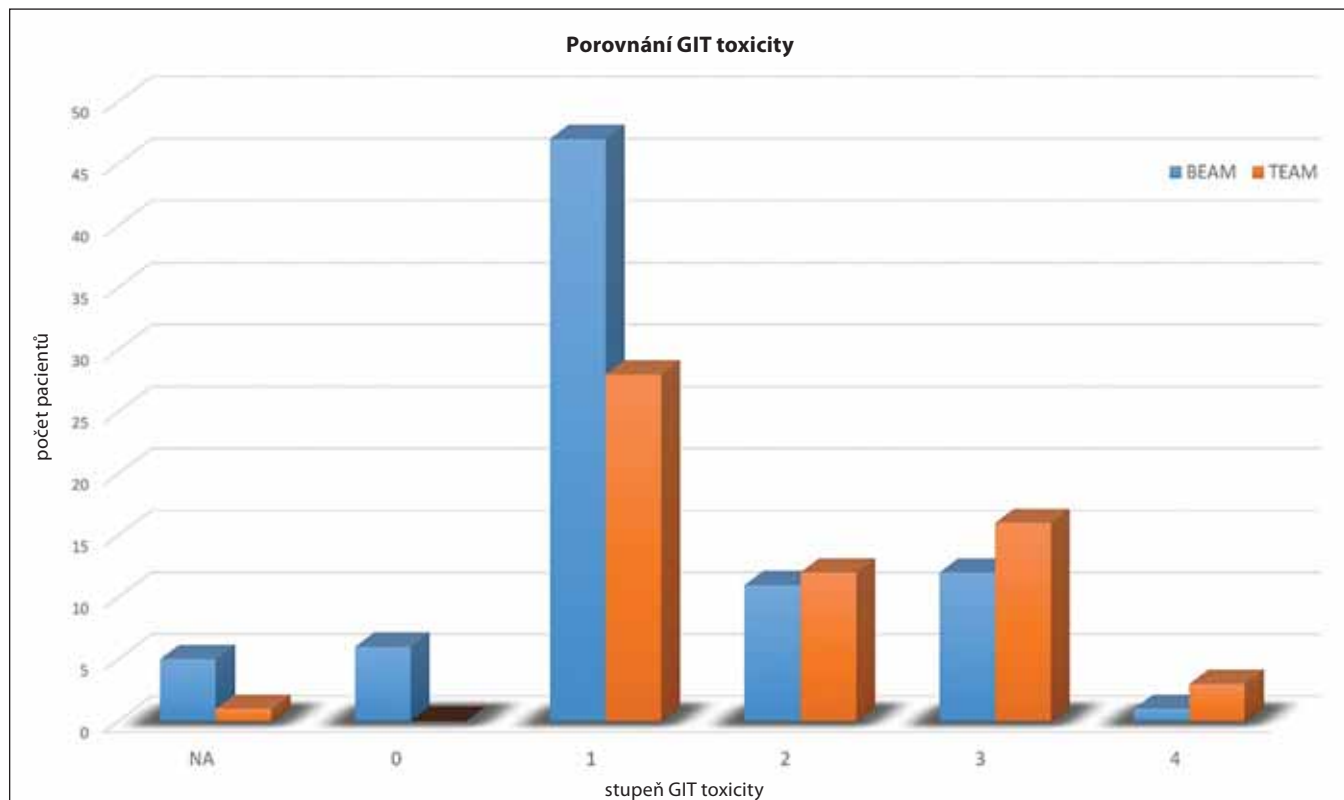
Hematologicko-onkologické oddělení, FN Plzeň

Úvod: Vysocedávkovaná chemoterapie s autologní transplantací krvetvorných buněk (ASCT) je standardem léčby R/R non-Hodgkinských lymfomů (NHL) a Hodgkinova lymfomu (HL). I přes absenci přímých dat z prospektivních studií je za obvyklý přípravný režim považován BEAM, tedy carmustine (BCNU) s etoposidem, cytarabinem a melfalanem. Recentní nedostatek BCNU vedl k hledání alternativních režimů. Jedním z nejperspektivnějších se zdá tzv. TEAM, kde je BCNU nahrazen thiotepou. Thiotepa lépe proniká do centrální nervové soustavy (CNS), avšak panují obavy nad zvýšenou, především gastrointestinální toxicitou. Současně chybí silná data dokládající srovnatelnou účinnost těchto dvou protokolů. Proto jsme se rozhodli retrospektivně srovnat toxicitu gastrointestinálního traktu (GIT) v režimu TEAM, který jsme začali používat od července 2018, s dříve používaným režimem BEAM.

Soubor a metody: Retrospektivní analýza 142 konsekutivních autologně transplantovaných pacientů s lymfomy připravovaných režimy BEAM (2014–2018), či TEAM (2018–2021) na Hematologicko-onkologickém oddělení FN Plzeň.

Výsledky: V souboru 142 pacientů s mediánem věku 58 let (21–74) bylo 85 mužů (60 %). Režim BEAM byl podáván u 82 pacientů (58 %) s mediánem věku 59 let (22–74), TEAM u 60 pacientů (42 %) s mediánem věku 58 let (21–73) ($p = 0,83$). Z diagnóz byl nejčastější difúzní velkobuněčný B lymfom (DLBCL) – 12 vs. 27 pacientů, dále HL – 21 vs. osm pacientů, lymfom z plášťových buněk (MCL) – 16 vs. čtyři pacienti, T-NHL – 12 vs. 8 pacientů, ostatní lymfomy byly zastoupeny v jednotkách případů, celkem šlo o 16 vs. 13 pacientů. Mezi zastoupením diagnóz nebyl signifikantní rozdíl. V 1. remisi onemocnění jsme transplantovali 43, resp. 22 pacientů ($p = 0,29$), ve 2. a další remisi 26, resp. 22 pacientů ($p = 0,74$). Třináct, resp. 16 pacientů ($p = 0,22$) bylo transplantováno ve stadiu progresivní nemoci. Žádná nebo pouze velmi mírná GIT toxicita (grade 0–I) byla přítomna u 53, resp. 28 pacientů ($p = 0,32$). GIT toxicita grade II se vyskytovala u 11, resp. 12 pacientů ($p = 0,49$), grade III u 12, resp. 16 pacientů ($p = 0,21$) a konečně nejtěžší grade IV s nutností přesunu na JIP u 1, resp. 3 pacientů ($p = 0,32$). U 5, resp. 1 pacienta nebylo možné GIT toxicitu určit. Nutnost podávání parenterální výživy byla u 13 (16 %), resp. 22 pacientů (37 %) ($p = 0,04$). Transplantační mortalita (TRM) během hospitalizace byla 0 %, ve 3 měsících pak nerelapsová mortalita (NRM) byla 2 % shodně pro oba přípravné režimy ($p = 1,0$).

Závěr: Naše data dokládají, že přes srovnatelnou objektivní GIT toxicitu má režim TEAM významně častější potřebu totální parenterální výživy. Nicméně celková TRM je u obou režimů srovnatelně nízká.



P02. VYUŽITÍ ELTROMBOPAGU PŘED CÍLENOU PERORÁLNÍ LÉČBOU U NEMOCNÉ S CHRONICKOU LYMFOCYTÁRNÍ LEUKÉMIÍ A ZÁVAŽNOU SEKUNDÁRNÍ IMUNITNÍ TROMBOCYTOPENIÍ

Écsiová D.^{1,2}, Vodárek P.^{1,2}, Rozsivalová P.^{3,4}, Vrbacký F.^{1,2}, Hrochová K.⁵, Smolej L.^{1,2}, Šimkovič M.^{1,2}

¹ IV.interní hematologická klinika FN Hradec Králové

² LF UK Hradec Králové

³ Oddělení klinické farmacie, FN Hradec Králové

⁴ Katedra sociální a klinické farmacie, FF UK Hradec Králové

⁵ Ústav klinické biochemie a diagnostiky, FN Hradec Králové

Úvod: Chronická lymfocytární leukémie (CLL) bývá u 1–2 % pacientů komplikována sekundární imunitní trombocytopenií (ITP). V léčbě sekundární ITP související s CLL je v rámci 1. linie indikována kortikoterapie, případně kombinace s rituximabem typu R-dex (rituximab + dexametazon) nebo RCD (rituximab + cyklofosfamid + dexametazon). Chemoimunoterapie je zpravidla využívána při selhání kortikoterapie. Při současném splnění indikačních kritérií k zahájení cytoredukční terapie CLL lze využít chemoimunoterapii nebo cílené perorální inhibitory. Agonisté trombopoetického receptoru standardně využíváme v léčbě primární ITP, naopak u nemocných se sekundární ITP při CLL není jejich efekt dostatečně zdokumentován, a proto není TPO mimetikum v této indikaci registrováno.

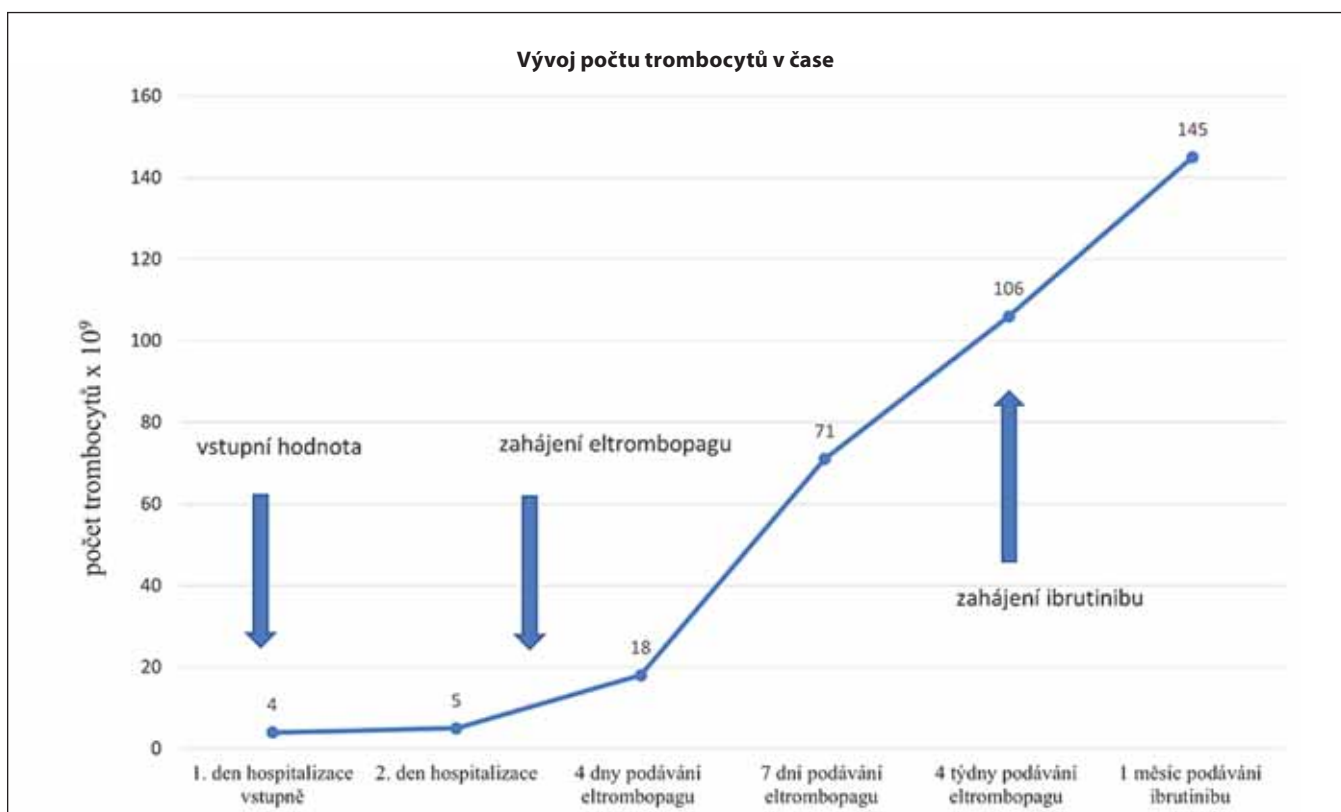
Cíle: Zdokumentovat *off label* využití agonisty trombopoetického receptoru u nemocné s refrakterní sekundární ITP při CLL, jako přemostující terapie před podáním inhibitory Brutonovy kinázy ibrutinibu.

Metody: Kazuistické sdělení o 72leté ženě, která byla vyšetřena pro hematurii. Ve vstupních odběrech byla zachycena hyperleukocytóza $138 \times 10^9/l$, normocytární normochromní anémie (hemoglobin 107 g/l) a závažná trombocytopenie $4 \times 10^9/l$ s významně zvýšenou hodnotou nezralé frakce trombocytů (IPF) 48 %. Průtoková cytometrie potvrdila diagnózu CLL. Etiologie trombocytopenie byla kombinovaná s významným podílem imunitní složky. Byla zahájena kortikoterapie methylprednisonem 1 mg/kg po dobu 10 dní bez efektu na počet trombocytů. Dále byly podány tři cykly rituximabu 375 mg/m^2 1. den v režimu R-dex společně s dexametazonem 40 mg 1.–4. den, opět zcela bez efektu na počet trombocytů. Pro nález masivní generalizované lymfadenopatie na CT, refrakterní ITP a vysoce rizikového genetického profilu CLL s přítomností mutace *TP53* bylo rozhodnuto o zahájení terapie inhibitory Brutonovy tyrozinkinázy ibrutinibem. Jedním ze specifických nežádoucích účinků ibrutinibu je krvácení, které je důsledkem trombocytopenie jako off-target efektu a závažné krvácení se může vyskytovat až u 9 % nemocných, proto ke zvýšení bezpečnosti cílené terapie bylo 24 dní od určení diagnózy zahájeno podávání eltrombopagu v dávce 50 mg /den.

Výsledky: Efekt eltrombopagu byl velmi rychlý; 7 dní od zahájení terapie byl zaznamenán nárůst trombocytů na $71 \times 10^9/l$. Za další 4 týdny se počet trombocytů zvýšil až na $106 \times 10^9/l$, proto byla dle plánu zahájena léčba ibrutinibem ve standardním dávkování 420 mg denně. Nemocná je nyní na léčbě 2 měsíce a snáší ibrutinib zcela bez komplikací.

Závěr: Sdělení demonstruje úspěšné použití TPO mimetika v léčbě nemocné se sekundární ITP před léčbou BTK inhibitory.

Práce byla podpořena projektem MZ ČR – RVO (FNHK, 00179906) a grantem Univerzity Karlovy (SVV 260 551).



P03. IMPACT OF *TP53* AND *ATM* ABERRATIONS ON THE CLINICAL COURSE OF CLL PATIENTS ON NOVEL AGENTS – SINGLE CENTER STUDY

Kašková V.¹, Petráčková A.¹, Kubová Z.², Turcsanyi P.², Maňáková J.¹, Ryznerová P.², Urbánková H.², Papajik T.², Kriegová E.¹

¹ Department of Immunology, Faculty of Medicine and Dentistry, Palacky University and University Hospital, Olomouc

² Department of Hemato-Oncology, Faculty of Medicine and Dentistry, Palacky University and University Hospital, Olomouc

Background: *TP53* and *ATM* aberrations (mutations and/or deletions) are the most important predictive/prognostic markers in chronic lymphocytic leukemia (CLL). The prognostic value of carrying isolated (single-hit) or multiple (multi-hit) *TP53* and *ATM* aberrations remains unclear, especially in the context of treatment with novel agents.

Methods: The study cohort consisted of 109 patients with CLL (males/females, 68/41; median age 67.0 years) treated with ibrutinib (N = 83) or idelalisib (N = 26), of them 82.6% (90) with unmutated *IgVH*. Targeted deep next-generation sequencing (NGS) was used to detect the mutations of *TP53/ATM* genes in peripheral blood samples, fluorescence *in situ* hybridization to detect deletions (del)(11q) and del(17p). Progression-free survival (PFS) was estimated by the Kaplan-Meier method and compared between subgroups by the log-rank test.

Results: In our real-world cohort of patients treated with novel agents, 59 patients had *TP53* aberration (32 had *TP53* aberration only, 27 had *TP53* aberration with concomitant *ATM* aberration), 21 had *ATM* aberration only, and 29 had no *TP53/ATM* aberration. Regarding *TP53* aberrations, 35 (32.1%) patients carried a single-hit *TP53* aberration (mutations/deletions 30/5) and 24 (22.0%) patients carried a multi-hit *TP53* aberration. Regarding *ATM* aberrations, 29 (26.6%) patients carried single-hit *ATM* aberrations (mutations/deletions 6/23) and 19 (17.4%) patients carried multi-hit *ATM* aberrations. Of the *TP53* and *ATM* mutations detected, 50.9% were subclonal (median variant allele frequency 9%, min–max 1–93%). The most significant effect on PFS was seen in patients carrying *TP53* aberrations compared to patients with no *TP53/ATM* aberration (median PFS 25 vs. 68 months; $P = 0.009$); no difference was observed between patients with single-hit and multi-hit *TP53* ($P > 0.05$). When evaluating *ATM* aberrations, we observed a trend towards shorter PFS in patients with multi-hit *ATM* ($P = 0.080$), but not in patients with single-hit *ATM* aberration. Six patients with concurrent multi-hit *TP53*/multi-hit *ATM* aberrations had very short PFS on ibrutinib/idelalisib (9 months).

Conclusions: In this study, the most significant impact on PFS was evident in patients treated with novel agents carrying the *TP53* aberrations, with no difference between patients with single-hit and multi-hit *TP53*. There was also a trend to shorter PFS in patients with multi-hit *ATM*. These results highlight the single-hit *TP53* and multi-hit *ATM* aberrations as prognostic factors in patients CLL treated with novel agents.

Support by grant IGA_LF_2022_011, CZ.02.2.69/0.0/0.0/19_073/0016713, and MH CZ-DRO (FNOL, 00098892).

P04. IBRUTINIB V TERAPII DRUHÉ A DALŠÍ LINIE U WALDENSTRÖMOVY MAKROGLOBULINÉMIE – ČTYŘI KAZUISTIKY

Krejčí M., Pour L., Sandecká V., Štork M., Adam Z.

Fakultní nemocnice Brno

Úvod a cíle: Waldenströmova makroglobulinémie (MW) je vzácné B-lymfoproliferativní onemocnění s přítomností monoklonálního imunoglobulinu (Mlg) typu IgM v séru a lymfoplazmocytní infiltrací kostní dřeně. Jednou z terapeutických možností u relapsu/progrese MW je terapie ibrutinibem (I), inhibitorem Brutonovy tyrosinkinázy. Lék v této indikaci musí napřed schválit revizní lékař zdravotní pojišťovny (RL ZP). V tomto sdělení prezentujeme efektivitu a toxicitu terapie I u čtyř pacientů s MW léčených na našem pracovišti.

Metody: V rámci terapie II a další linie MW byli retrospektivně vyhodnoceni čtyři pacienti s MW, kteří byli léčeni I v období 2016–2021, úvodní dávka I byla 3×140 mg perorálně denně, lék byl podáván dlouhodobě do další progrese MW či známek významné toxicity.

Výsledky: Kazuistika 1 – muž, ročník 1958, dg. MW stanovena 8/2008, léčba 1. linie chemoterapie R-CHOP – sedm cyklů, efekt parciální remise (PR), od 1/2016 první symptomatická progrese (PD) MW s anémií a nárůstem Mlg, od 1/2016 zahájena terapie I, dosaženo PR, která dlouhodobě přetrvává, k 2/2022 nadále PR MW, pokračuje I bez redukce, pacient dlouhodobě bez známek toxicity. **Kazuistika 2** – muž, ročník 1948, dg. MW stanovena 7/2017, léčba 1. linie chemoterapie RCD – šest cyklů, od 5/2021 první symptomatická PD MW, od 6/2021 terapie I, dosaženo PR, která k 2/2022 přetrvává, pro drobné kožní hemorhagie prvního stupně redukce dávky I na 2×140 mg denně od 9/2021 s efektem a ústupem krvácivých projevů, k 2/2022 terapie I pokračuje v redukované dávce. **Kazuistika 3** – muž, ročník 1944, dg. MW stanovena 1/2014, léčba 1. linie chemoterapie R-CHOP – osm cyklů, léčba druhé linie osm cyklů chemoterapie RBD, od 1/2021 další PD MW a zahájen I v rámci terapie 3. linie, pro gastrointestinální toxicitu třetího stupně a kožní krvácivé projevy druhého stupně nutné opakovaně redukce a přerušení terapie I, od 11/2021 další PD MW a terapie I ukončena. **Kazuistika 4** – muž, ročník 1956, dg. MW stanovena 9/2007, 1. linie terapie R-CHOP a první autologní transplantace, 2. linie chemoterapie CVD, 3. linie chemoterapie RBD a druhá autologní transplantace, od 9/2021 další PD a zahájen I, dosaženo PR, k 2/2022 nadále přetrvává PR MW, pokračuje I bez redukce, pacient bez známek toxicity.

Závěr: Ibrutinib je efektivní terapií relabující/progredující Waldenströmovy makroglobulinémie s akceptovatelnou toxicitou. Výhodou je perorální aplikace I, limitací je nutnost schválení terapie I v této indikaci RL ZP.

P05. LÉČBA SENIORA S DIFUZNÍM VELKOBUNĚČNÝM B LYMFOMEM (DLBCL) S POSTIŽENÍM SRDCE, POPIS PŘÍPADU

Lukášová M., Kredátusová A., Hanáčková V., Obr A., Papajík T.

Fakultní nemocnice Olomouc

Průkaz postižení myokardu difuzním velkobuněčným B lymfomem (DLBCL) je závažnou okolností ovlivňující léčebnou strategii. V literatuře se vyskytují popisy případů, které uplatňují u pacientů s rozsáhlým postižením myokardu přístup s iniciální redukcí terapie, který se jeví bezpečnější s ohledem na riziko náhlého úmrtí v důsledku ruptury myokardu časně po zahájení léčby.

Předkládáme případ muže seniorského věku s postižením v oblasti srdečního hrotu. Naším cílem je demonstrovat možnost dosažení kompletní remise i u starších, netransplantabilních pacientů a vhodnost maximálního využití dostupných zobrazovacích modalit v úvodu terapie.

V červnu 2020 byl 70letý muž hospitalizován pro perimyokarditidu s nutností perikardiocentézy. V dalších měsících byl při došetřování opětovné progresu dušnosti zjištěn pleurální výpotek vyžadující opakované pleurální punkce. Až v květnu 2021 prokazuje pneumologem indikované PET/CT zvýšenou akumulaci FDG v ložisku v oblasti srdečního hrotu infiltrující myokard i perikard, mezi komorami srdečními, na pleuře obou plic a v mnohočetných lymfatických uzlinách nad bránicí. Materiál k histologickému vyšetření je získán pomocí *core-cut* biopsie expanze mediastina pod CT kontrolou, závěr zní DLBCL, non-GCB, Ki67 90 %. Pacient je referován na naše pracoviště. Vstupně provádíme ECHOKG a doplňujeme MR srdce zobrazující útvar nasedající a prorůstající v oblasti hrotu. Postižení není transmuralní, nezasahuje do dutiny LK, potvrzuje se dobrá systolická funkce LK. Při zahájení léčby, mimo další komorbidity, řešíme nález chronické hepatitis C s aktivní replikací a stav po hepatitis B.

Léčbu zahajujeme 14. července 2021. V 1. cyklu nepodáváme anti-CD20 protilátku, CHOP rozkládáme do 4 dnů, D1–2 podáváme třetinu standardní dávky cyklofosfamidů a kortikoidů, 50 % vincristinu. Poté opakujeme ECHOKG (D3, před podáním antracyklinů). Celkovou standardní dávku antracyklinu redukuje na 50 % a podáváme rozloženě ve 2 dnech (D3–4). D6C1 opět kontrolujeme nález ECHOKG, využíváme i 3D ECHOKG. Denně pořizujeme EKG záznam. ECHOKG před zahájením 2. cyklu již patologický útvar neprokazuje. Od 2. cyklu přidáváme anti-CD20 protilátku a antracyklin eskalujeme na 75 %, obě léčiva podáváme rozloženě ve 2 dnech. V dalších cyklech R-CHOP dále dávky neeskalujeme. Ve 3. cyklu naposledy rozkládáme podání antracyklinu do 2 dnů. Jako 4. cyklus zařazujeme režim R-HD-MTX pro vysoké riziko relapsu/progrese do CNS podle CNS-IPi. Zbývající 3 cykly R-CHOP bez komplikací aplikujeme v 1 dni ambulantně.

Finální PET/CT v únoru 2022 však prokazuje zvýšenou akumulaci FDG v konsolidacích obou plic a vokrscích zesílené pleury. Doplňujeme FLT PET/CT, které neprokazuje ložisko hypermetabolizmu FLT. Jedná se o zánětlivé změny v. s. po prodělaném onemocnění COVID-19. Můžeme konstatovat kompletní metabolickou remisi lymfomu.

Podpořeno IGA_LF_2022_001 a MZČR–RVO (FNOI,00098892).

P06. VZTAH ZOBRAZOVACÍCH METOD A MINIMÁLNÍ REZIDUÁLNÍ NEMOCI U NEMOCNÝCH S CHRONICKOU LYMFOCYTÁRNÍ LEUKÉMIÍ PODSTUPUJÍCÍCH CHEMOIMUNOTERAPII V RÁMCI PRVNÍ LINIE LÉČBY

Smolej L.¹, Choudhry Z.¹, Vodárek P.¹, Řezáčová V.², Souček O.², Šimkovič M.¹

¹ IV. interní hematologická klinika LF UK a FN Hradec Králové

² Ústav klinické imunologie a alergologie, LF UK a FN Hradec Králové

Úvod: Chronická lymfocytární leukémie (CLL) je historicky považována za „tekutou“ malignitu, avšak u značné části nemocných dochází k rozvoji významné lymfadenopatie. Stagingové systémy dle Raie a Bineta, vyvinuté před více než 40 lety, využívají pouze fyzikálního vyšetření a ani současně verze mezinárodních doporučení pro diagnostiku a léčbu CLL (IWCLL, ESMO) nevyžadují rutinní použití zobrazovacích metod při hodnocení rozsahu CLL před a po léčbě v rámci běžné péče. Také hodnocení minimální reziduální nemoci (MRN) po skončení léčby, ač prokázalo silný prognostický význam z hlediska dalšího osudu nemocného, není dosud považováno za standardní vyšetření.

Cíl: Zhodnocení výskytu lymfadenopatie při použití zobrazovacích metod a jejího významu pro účinnost 1. linie léčby CLL, zejména ve vztahu k dosažení negativy MRN.

Soubor a metody: Provedli jsme retrospektivní analýzu nemocných s CLL léčených na našem pracovišti mezi léty 2011–2020, kteří absolvovali zobrazovací metody a měli zároveň hodnocenou MRN. Soubor zahrnul 104 nemocných s CLL (60 % mužů, medián věku 70 let, nemutovaný gen pro IGHV 75 %, delece 11q 17 %, delece 17p 6 %). Výpočetní tomografii trupu absolvovalo 42 nemocných; ultrasonografií břicha 62 nemocných. Z hlediska zastoupení režimů chemoimunoterapie převažovaly bendamustin + rituximab (37 %) a fludarabinové režimy (25 %). MRN byla hodnocena vícebarevnou průtokovou cytometrií dle doporučení European Initiative on Chronic Lymphocytic Leukemia (ERIC).

Výsledky: Významná vnitřní lymfadenopatie byla zjištěna u 76 % nemocných. Největší masa mízních uzlin byla téměř 2× častěji způsobena vnitřní lymfadenopatií (n = 59, z toho nitrobřišní n = 55, nitrohrudní n = 4) než zevní lymfadenopatií (n = 30, z toho podpažní n = 20, krční n = 7, tříselná n = 3). Lymfadenopatie ≥ 5 cm byla zaznamenána u 33 % nemocných a ≥ 10 cm u 3 %. Celková léčebná odpověď / kompletní remise (ORR / CR) byly dosaženy v 90 / 36 %. Negativity MRN bylo dosaženo u 55 % nemocných, a sice u 62 % nemocných v CR a 54 % nemocných v parciální remisi. Masivní lymfadenopatie před léčbou ani významná reziduální lymfadenopatie po léčbě nebyly spojeny s významně nižší četností eradikace MRN.

Závěr: Častost a rozsah vnitřní, zejména nitrobřišní lymfadenopatie ukazují na zásadní význam zobrazovacích metod pro adekvátní hodnocení rozsahu lymfadenopatie u CLL před léčbou 1. linie a následný restaging. Negativita MRN byla dosažena nejen

u nemocných v kompletní remisi, ale též u více než poloviny pacientů s částečnou odpovědí na léčbu (a tedy významnou reziduální lymfadenopatií). Bude prezentována rozšířená statistická analýza.

Podpořeno programem Cooperatio, vědní oblast ONCO a RVO MZ ČR (FNHK, 00179906).

P07. POROVNÁNÍ REŽIMŮ NÍZKODÁVKOVANÝ FCR VS. BR U DOSUD NELÉČENÝCH NEMOCNÝCH S CHRONICKOU LYMFOCYTÁRNÍ LEUKÉMIÍ BEZ ABERACÍ TP53: RETROSPEKTIVNÍ ANALÝZA ČESKÉ CLL SKUPINY

Smolej L.¹, Brychtová Y.², Cmunt E.³, Oršulová M.², Vodárek P.¹, Dostál M.¹, Turcsányi P.⁴, Urbanová R.^{1,2,4}, Panovská A.², Zuchnická J.⁵, Mihályová J.⁵, Lysák D.⁶, Brejcha M.⁷, Móciková H.^{1,8}, Klásková K.⁸, Šimkovič M.¹, Špaček M.³, Doubek M.²

¹IV. interní hematologická klinika LF UK a FN Hradec Králové

²Interní hematologická a onkologická klinika FN Hradec Králové

³I. interní klinika – klinika hematologie VFN Praha

⁴Hemato-onkologická klinika FN Olomouc

⁵Klinika hematoonkologie FN Ostrava

⁶Hematologicko – onkologické oddělení, FN Plzeň

⁷Hematologické oddělení, Nemocnice Agel, Nový Jičín

⁸Interní hematologická klinika FNKV Praha

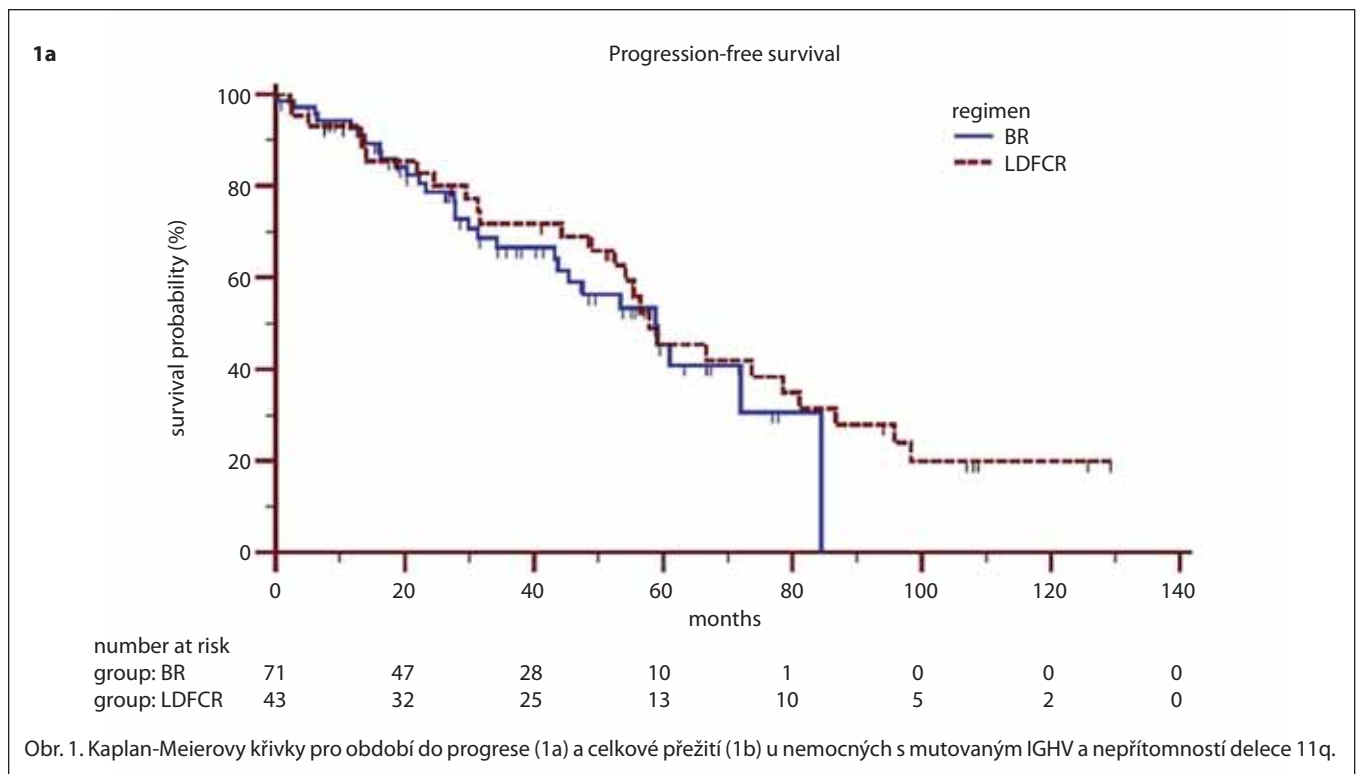
Úvod: Režim fludarabinu, cyklofosfamidu a rituximabu (FCR) se sníženou dávkou fludarabinu a cyklofosfamidu (LDFCR) prokázal

slibnou aktivitu u dosud neléčených starších pacientů s chronickou lymfocytární leukémií (CLL) (Smolej et al. Br J Haematol 2021). Nejsou však k dispozici žádná data týkající se srovnání s kombinací bendamustin + rituximabem (BR), který je jednou z hlavních možností chemoimunoterapie v 1. linii.

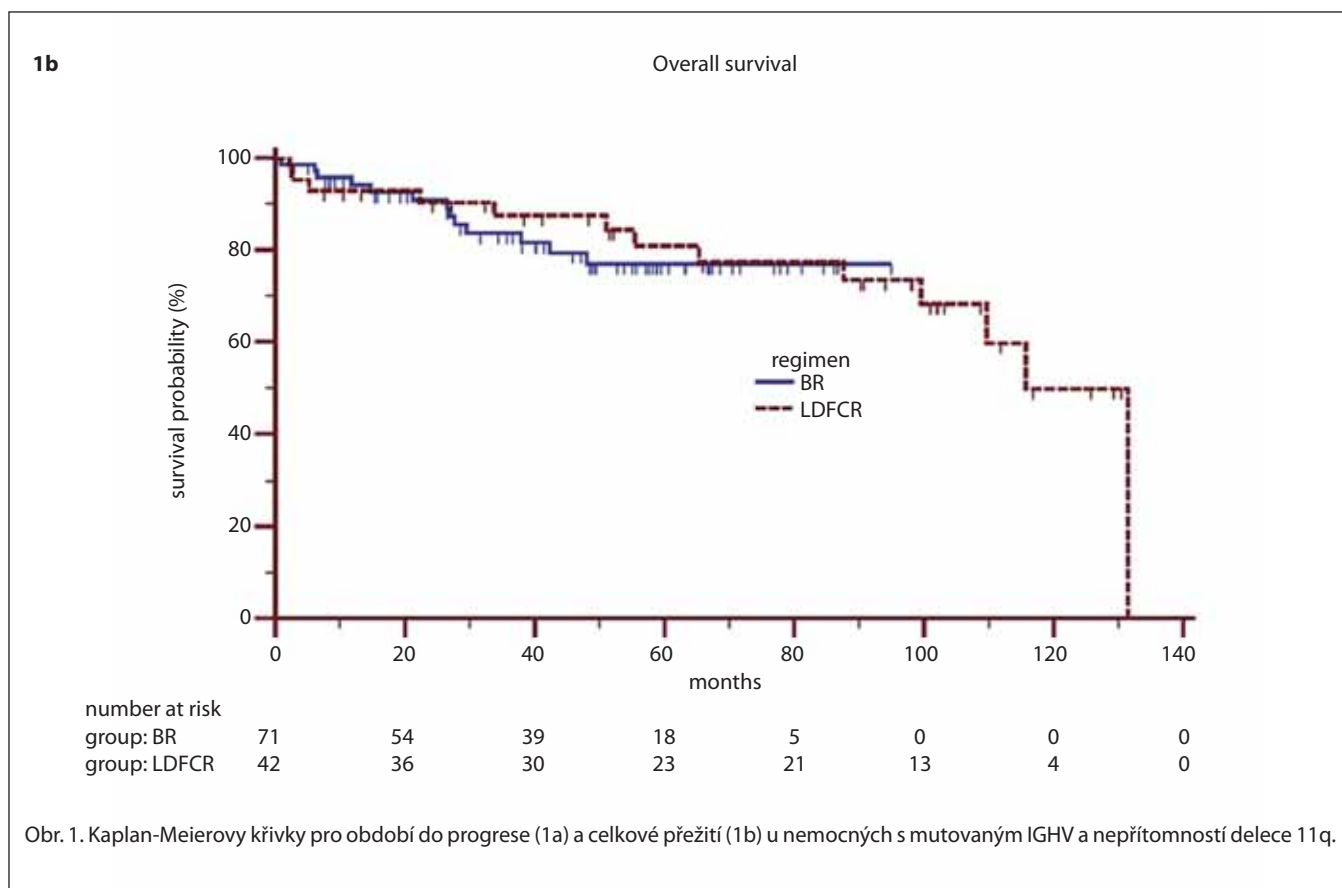
Cíl: Historické srovnání účinnosti a bezpečnosti režimů LDFCR a BR používaných v běžné praxi.

Soubor a metody: Do analýzy bylo zahrnuto 237 nemocných léčených LDFCR a 320 pacientů léčených BR (medián věku 69 vs. 70 let, medián CIRS skóre 6 vs. 7, stadium III/IV dle Raie 56 vs. 59 %, nemutovaný IGHV 74 vs. 70 %, delece 11q 28 vs. 26 %) léčených od března 2009 do prosince 2019 v 17 centrech spolupracujících v rámci České CLL skupiny. Nemocní s aberací TP53 byli z této analýzy vyřazeni vzhledem k minimální účinnosti chemoimunoterapie u této extrémně nepříznivé podskupiny. LDFCR se skládala z fludarabinu 20 mg/m² p.o. nebo 12 mg/m² i.v. ve dnech 1–3, cyklofosfamidu 150 mg/m² perorálně nebo i.v. ve dnech 1–3 a rituximabu 500 mg/m² D1 i.v. (375 mg/m² v cyklu 1). Režim BR obsahoval bendamustin 90 mg/m² i.v. ve dnech 1–2 a rituximab 500 mg/m² i.v. D1 (375 mg/m² v cyklu 1).

Výsledky: Distribuce demografických údajů a prognostických faktorů byla srovnatelná mezi oběma skupinami. Medián sledování byl 98 měsíců pro LDFCR a 57 měsíců pro BR. Celková léčebná odpověď/kompletní remise byla u LDFCR a BR obdobná (84/46 vs. 88/51 %, p = n.s.). Medián přežití bez progresse (PFS) byl 30 vs. 34 měsíců (poměr rizik [HR] 0,90; p = n.s.); PFS byl výrazně delší u pacientů s mutovaným IGHV a absencí delece 11q (LDFCR vs. BR medián 58 vs. 59 měsíců, HR 0,84; p = n.s.; obr. 1a). Medián celkového přežití byl 73 vs. 77 měsíců (HR 1,09; p = n.s.) a 116 měsíců vs.



Obr. 1. Kaplan-Meierovy křivky pro období do progresse (1a) a celkové přežití (1b) u nemocných s mutovaným IGHV a nepřítomností delece 11q.



nedosažen u pacientů s mutovaným IGHV bez delece 11q (HR 0,90; $p = n.s.$; obr. 1b). Neutropenie stupně ≥ 3 se vyskytla u 55 % (LDFCR) vs 51 % (BR) pacientů, ale závažné infekce se objevily pouze u 15 vs. 20 % pacientů.

Závěr: Naše výsledky ukazují, že nízkodávkovaný FCR i BR jsou dobře tolerované režimy s podobnou účinností a představují vhodnou

alternativu léčby první linie pro starší/komorbidní pacienty s CLL s příznivou biologickou prognózou. Budou prezentovány podrobné výsledky vč. multivariátní analýzy.

Podpořeno RVO MZČR (MZO 00179906) a projektem Cooperatio, vědní oblast ONCO.

P08. LÉČBA NEMOCNÝCH S CHRONICKOU LYMFOCYTÁRNÍ LEUKÉMIÍ V OBDOBÍ PANDEMIE COVID-19

Šimkovič M., Vodárek P., Écsiová D., Smolej L.

IV. interní hematologická klinika FN Hradec Králové

Úvod: Nemocní s chronickou lymfocytární leukémií (CLL) mají v důsledku závažné imunoprese, vyššího věku a četných komorbidit vysoké riziko nepříznivého průběhu nemoci COVID-19. Imunitní deficit navíc prohlubuje případná léčba CLL.

Cíl: Popsat výskyt a dopad infekce virem SARS-CoV-2 na populaci pacientů, kteří podstupují léčbu CLL.

Metody: Unicentrická, retrospektivní analýza nemocných léčených pro CLL mimo klinická hodnocení ve FN Hradec Králové. Zdroj dat: registr CLLEAR, Informační systém infekční nemoci (ISIN) a nemocniční informační systém FNHK.

Výsledky: Do studie bylo zařazeno 168 konsekutivních nemocných (102 mužů, 66 žen) s CLL, u kterých byla podávána léčba CLL v období od 30. 1. 2020 do 24. 2. 2022. Věkový medián nemocných v době zahájení léčby byl 71 let (rozmezí 35–91) a medián sledování souboru byl 24 měsíců. Nemoc COVID-19 byla prokázána u 54 (32 %) pacientů. Průběh nemoci COVID-19: nutnost hospitalizace u 19/54 (35 %), těžký u 14/54 (26 %) a úmrtí u 5/54 (9 %). Case fatality rate (CFR) u léčených nemocných byla 5/168 (3 %). Vakcinace proti COVID-19 byla podána 137 (82 %) pacientů. U 27 (50 %) nemocných byla prokázána nemoc COVID-19 po předchozí vakcinaci, ale u žádného z těchto pacientů nedošlo k úmrtí na COVID-19. Specifickou léčbou proti nemoci COVID-19 bylo léčeno 25 nemocných: remdesivir $n = 10$, molnupiravir $n = 8$, casirivimab/imdevimab $n = 5$, bamlanivimab/etesevimab $n = 3$, regdanvimab $n = 3$ a kovalescentní plazma $n = 2$. U žádného pacienta očkovaného proti COVID-19, u kterého byla aplikována specifická léčba proti COVID-19, nebyl

Tab. 1. Přehled léčby nemocných s CLL ve FNHK v období leden 2020 až březen 2022.

Léčebný režim	1. linie		Relaps/refrakterní	
	počet	%	počet	%
BR	22	24 %	0	0 %
FCR	2	2 %	0	0 %
FCR nízkodávkované	2	2 %	0	0 %
G-Clb	10	11 %	1	1 %
ibrutinib	9	10 %	59	63 %
R-Clb	14	15 %	4	4 %
RCD či jiný režim s kortikoidy	12	13 %	24	26 %
idelalisib ± rituximab	0	0 %	16	17 %
venotoklax v monoterapii	0	0 %	11	12 %
venotoklax + anti – CD20	10	11 %	15	16 %
jiný	12	13 %	13	14 %

BR – bendamustin + rituximab; CLL – chronická lymfocytární leukémie; FCR – fludarabin + cyklofosfamid + rituximab; FNHK – Fakultní nemocnice Hradec Králové; G-Clb – obinutuzumab + chlorambucil; RCD – rituximab + cyklofosfamid + dexametazon; R-Clb

průběh infekce fatální. Celkově bylo během sledovaného období podáno 236 léčebných linií: 93 v 1. linii, 143 v relapsu (tab. 1). K úmrtí na COVID-19 během léčby CLL došlo u dvou nemocných léčených v 1. linii (režim BR n = 1, RCD n = 1) a u tří při terapii relabované/refrakterní CLL (režim RCD n = 1, R-dex n = 1, ibrutinib n = 1).

Závěr: Data z našeho pracoviště potvrzují závažnost infekce COVID-19 u nemocných s CLL. Nicméně ve srovnání s dříve publikovanými daty (Chatzikonstantinou et al., *Leukemia* 2021, Roeker et al., *Blood*

2021) dochází ke zlepšení prognózy nemocných s CLL a COVID-19. To lze přičíst jednak dostupnosti vakcinace, cílené terapii proti COVID-19 a také výskytu méně virulentních variant SARS-CoV-2. Naše analýza dále poskytuje unikátní pohled na léčbu CLL v období pandemie COVID-19 a posouzení klinického efektu vakcinace.

Podpořeno programem Cooperatio, vědní oblasti INDI a projektem RVO MZ ČR (FNHK 00179906).

CASE REPORT – DOUBLE-HIT LYMFOM S PŘESTAVBOU GENŮ MYC, BCL2 A BIALELICKOU DELECÍ OBLASTI 9p21

Vatolíková M.¹, Hanáčková V.¹, Rubešová A.¹, Skanderová D.², Kurfürstová D.², Tučková L.², Pikalová Z.¹, Procházka V.¹, Papajík T.¹, Urbánková H.¹

¹ Hemato-onkologická klinika LF UK a FN Olomouc

² Ústav klinické a molekulární patologie, LF UK a FN Olomouc

Úvod: Double/triple-hit lymfomy reprezentují skupinu vysoce agresivních lymfomů tzv. High-Grade B-Lymfomů (HGBL), které tvoří od roku 2016 samostatnou diagnostickou podjednotku dle WHO klasifikace. Vyznačují se agresivním průběhem, zvýšeným rizikem postižení centrální nervové soustavy (CNS) a krátkým přežíváním pacientů při použití standardní chemoterapie. Doporučována je léčba pomocí intenzifikovaných chemoterapeutických režimů s následnou transplantací krvetvorných buněk. Přesto na léčbu úspěšně zareaguje pouze polovina pacientů, navíc je onemocnění často chemorefrakterní. Obligatorní pro diagnostiku double/triple-hit lymfomů je přítomnost přestavby genu *MYC* a zároveň přestavby

genu *BCL2* a/nebo přestavby genu *BCL6*. Detekce těchto přestaveb se standardně provádí pomocí fluorescenční *in situ* hybridizace (FISH). Delece oblasti 9p21 zahrnující gen *CDKN2A* byla identifikována u 35 % pacientů s difuzním velkobuněčným B lymfomem (DLBCL) a má výrazný podíl na zkrácení doby celkového přežití. Vliv delece *CDKN2A* na průběh onemocnění HGBL zatím nebyl definován.

Kazuistika: V lednu 2021 byl 59leté ženě na základě morfologických a imunofenotypizačních znaků diagnostikován HGBL, NOS z biotického vzorku peritonea. Na PET/CT byla prokázána přítomnost nádorové tkáně v mnoha ložiscích. V aspirátu kostní dřevě (KD) bylo nalezeno 13 % buněk s imunofenotypem podporujícím dg. B-NHL. Cytogenetické a FISH vyšetření KD prokázalo komplexní změny karyotypu zahrnující přestavbu *MYC* a zároveň přestavbu *BCL2*. Pacientce bylo po čtyřech cyklech chemoterapie (R-CODOX-M/R-IVAC) nalezeno nové ložisko ve stěně žaludku. Následovaly tři cykly R-EDHAP a autologní transplantace krvetvorných buněk. Na kontrolním PET/CT (leden 2022) 63. den po transplantaci byla prokázána nová nádorová ložiska v několika lokalizacích. Klinicky pacientka vykazovala zhoršení stavu a známky postižení CNS. Biopsie ložiska kůže potvrdilo infiltraci HGBL. Cytogenetické vyšetření a FISH

provedené z kožního bioptického vzorku prokázala komplexní změny karyotypu a přítomnost přestaveb genů *MYC* a *BCL2*. Ve srovnání s předchozím vyšetřením (KD) došlo ke klonálnímu vývoji karyotypu, ve kterém byla navíc detekována další nadpočetná přestavba genů *MYC* a *IGL* a tvorba subklonu. Po provedení array komparativní genomové hybridizace byla detekována malá homozygotní delece v oblasti 9p21 o velikosti 300 kb zahrnující geny *CKDN2A* a *CKDN2B*. Vzhledem ke špatné odpovědi na terapii, časné progresi po autologní transplantaci a infiltraci CNS je onemocnění hodnoceno jako primárně chemorefrakterní bez dalších možností léčby s kurativním efektem.

Závěr: Úspěšnost léčby HGBL je i přes použití intenzivních režimů vysocedávkované chemoterapie často nízká a může vyústit v chemorefrakterní onemocnění. Podíl genetických změn na vývoji chemorefrakterního onemocnění je zatím nejasný, nicméně precizní charakteristika genetického pozadí nádoru a porovnávání léčebných strategií je základním kamenem k jejich poznání.

Podpořeno granty IGA_LF_2022_001 a MZ ČR – RVO (FNOL, 00098892).

P10. B-CELL NON-HODGKIN'S LYMPHOMAS ASSOCIATED WITH AMYLOIDOSIS

Navrátilová M.¹, Flodrová P.¹, Holub D.², Pika T.³, Džubák P.³, Flodr P.¹

¹ Department of Clinical and Molecular Pathology, Faculty of Medicine Palacky University and University Hospital Olomouc

² Department of Molecular and Translational Medicine, Faculty of Medicine Palacky University Olomouc

³ Department of Hemato-Oncology, University Hospital Olomouc

Introducion: Different types of B-cell non-Hodgkin's lymphomas (MZL, LPL, B-CLL/SLL, FL, MCL, DLBCL) may show plasmacytic differentiation and may produce AL amyloid locally or as a part of systemic amyloidosis with the deposition of insoluble amyloid in the extracellular tissue spaces leading to the organ damage. Case reports of coincidence of B-NHL and non-AL amyloidosis (e.g. AA, ATTR) were also reported. Therefore correct diagnostic workflow to type amyloid deposits should include three main steps 1. special histological staining (Congo red and/or Saturn red), 2. immunoprofiling (limited set of IF a IHC antibodies) and proteomic analysis (LMD-LC/MS). Amyloidosis is a heterogeneous acquired or hereditary disease that results from the abnormal and insoluble deposition of beta-sheet fibrillar protein aggregates in various tissues with variable distribution in extracellular space. Nomenclature classification distinguishes 36 amyloidogenic proteins and more are expected (ISA 2020).

Methods: Amyloid deposits were detected in variable FFPE tissues and organs stained with Congo red and/or Saturn red with consequent immunohistochemical analysis (IHC), and part of the file was also analysed by proteomic analysis with the use of laser capture microdissection and liquid chromatography/tandem mass spectrometry (LMD-LC/MS/MS). Concurrent B-NHLs (excl. multiple myeloma, plasmocytoma and MGUS)

were diagnosed due to characteristic morphology (HE, PAS, Giemsa), immunoprofile (primary antibodies with appropriate dilution – CD3, CD5, CD10, CD20, CD21, CD23, CD30, CD138, Bcl-2, Bcl-6, MUM1/IRF4, PAX5, cyclin D1 and/or SOX11, c-Myc, Ki67) and detected clonal rearrangement of IgVH (PCR, BIOMED-2).

Results: In our file with 329 amyloid positive specimens concurrent B-NHLs (excl. multiple myeloma, plasmocytoma and MGUS) were found in 14 specimens. seven specimens were signed as highly suspected for B-NHL with plasmacytic differentiation and immunoglobulin light chain restriction (IHC) but without evidence of IgVH clonal rearrangement (PCR RFLP). The most common B-NHL associated with localised amyloidosis was ENMZL MALT-type (10 cases, one case with hybrid amyloidosis AL kappa/AH IgG1), in four specimens LPL was detected. In all cases with IHC and/or LCM-LC/tandem MS analysis AL type of amyloid was detected including two cases with hybrid amyloidosis AL/AH and AL/AApoAIV, and in one case local AL amyloid deposition was produced after a therapy for B-NHL.

Conclusion: Analysis of amyloid deposits irrespective of origin and localization is appealing for diagnostic and experimental precising which brings new insights not only particular pathogenesis but also in classification nomenclature, and correct therapy due to a possibility of combination of amyloid deposits or hybrid amyloid deposits in variable topography and in time evolution, and also concurrent B-NHL may be detected. Detected M-protein produced by B-NHL may be low or high according to a localised or systemic AL involvement resp., localised amyloid deposition is commonly associated with ENMZL MALT-type, both localised and systemic amyloidosis may be found out in LPL. Current variant of mantle cell lymphoma SOX11-negative, cyclin D1 positive with CCND1 translocation and IGH hypermutated was established with developed plasmacytic differentiation, localised amyloid deposition and indolent biologic behavior. Our category of highly suspected B-NHL with plasmacytic differentiation is literary sign as „AL amyloidosis with a localized B-cell neoplasia of undetermined significance“ or as „AL amyloidosis with a an associated predominant kappa or lambda light chain expressing plasma cell population without evidence for clonality“. In our file (seven cases) only kappa/lambda immunohistochemically detected monotypy was recorded without an evidence of IgVH clonal rearrangement (somatic hypermutation of IgVH may be expected). Treatment recommendations for B-NHL-related amyloidosis entities are based only on retrospective or small prospective trials of single centers. The possibility of senescence evolution in B-NHL after a therapy may also bring local AL deposits (one case in our cohort). Coincidence or association of non-AL amyloidosis (ATTRwt, ATTRv, AA and another) with B-NHL was described mainly in single case reports and extends the differential diagnosis. In a such cases both methods (IHC and LCM-LC/tandem MS) are suitable for correct amyloid typing, although LMD-LC/tandem MS brought more promising results than IHC.

Supported by AZV-16-31156A, NU22-08-00306 and LF_2022_004 from Palacky University Olomouc.

P11. MONITOROVÁNÍ HLADINY MINIMÁLNÍ REZIDUÁLNÍ CHOROBY U HODGKINOVA LYMFOMU TECHNOLOGIÍ DIGITÁLNÍ PCR

Grohmann J., Navrátilová J., Hanáčková V., Kredátusová A., Urbánková H., Procházka V., Papajík T.

Hemato-onkologická klinika LF UP a FN Olomouc

Úvod: Hodgkinův lymfom (HL) je lymfoproliferativní nádorové onemocnění postihující zejména mladé dospělé. Přes relativně vysokou úspěšnost chemoterapeutické léčby stále u 10–20 % nemocných dochází k časným relapsům onemocnění. V současnosti se léčebná odpověď pacientů s Hodgkinovým lymfomem sleduje pomocí technologie PET/CT, která je schopná zachytit reziduální nádorovou masu. Toto vyšetření má své technické limity a může vést ke vzniku falešně pozitivních/falešně negativních výsledků. Z tohoto důvodu je předmětem zájmu identifikace nových molekulárních markerů vhodných pro sledování minimální reziduální nemoci, které by v kombinaci se zhodnocením výsledků zobrazovacích metod lépe charakterizovaly aktuální stav onemocnění a mohly sloužit jako přesnější prediktor léčebné odpovědi a relapsu choroby.

Cíle: Technologii digital PCR (dPCR) jsme u tří vybraných pacientů s HL, u nichž jsme na základě NGS analýzy detekovali mutace v genech *STAT6* (p.N417Y) a *XPO1* (p.E571K), sledovali přítomnost těchto mutací ve vzorcích z průběhu léčby (diagnóza, interim PET, final PET).

Metodika: dPCR byla provedena na přístroji QIAcuity Digital PCR System (Qiagen) s využitím čipu QIAcuity Nanoplate 26K 24-well.

Výsledky: Vstupně měli všichni tři pacienti pokročilou chorobu (IIIa–IVb). U jedné pacientky s mutací *XPO1*^{E571K} byl diagnostikován časný relaps, druhá pacientka s mutací ve *STAT6*^{N417Y} měla primárně rezistentní onemocnění. Třetí pacient s mutací *XPO1*^{E571K} dosáhl kompletní remise lymfomu a mutace u něj nebyla prokázána. U pacientky s rezistentním onemocněním jsme detekovali stabilní hladinu mutace ve všech vzorcích, vymizela až po ukončení radioterapie. Pacientka s prokázaným relapsem dosáhla první kompletní remise, kdy mutace ve vzorcích nebyla detekována. Znovu byla prokázána v době relapsu onemocnění, na jehož základě podstoupila záchrannou chemoterapii a autologní transplantaci. V těchto odběrech již mutace nebyly detekovány.

Závěr: Digitální PCR se u pacientů s HL ukazuje jako vhodný přístup pro sledování minimální reziduální choroby v průběhu léčby a v kombinaci s výsledky PET/CT lépe popisuje aktuální stav pacientů a může tak sloužit jako prediktor dlouhodobé léčebné odpovědi.

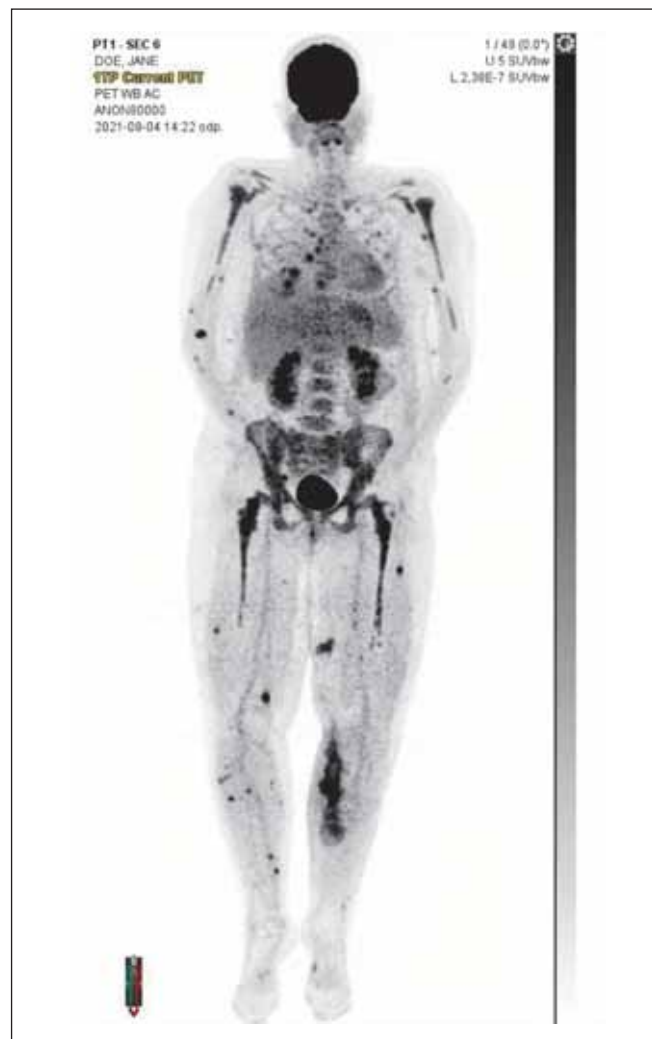
Práce je podporována granty IGA_LF_2022_001 a MZ ČR – RVO (FNOI, 00098892).

P12. CHEMOREZISTENTNÍ MYELOSARKOM REAGUJÍCÍ NA ZÁCHRANNOU TERAPII KOMBINACÍ AZACITIDINU A VENETOCLAXU

Hisemová M.

Klinický úsek, ÚHKT Praha

Kazuistika pojednává o pacientce s multifokálním myelosarkomem v měkkých tkáních, kůži a lymfatických uzlinách v přítomnosti konkomitantního myelodysplastického syndromu, který ani po dvou sériích indukční chemoterapie (mitoxantron, vysocedávkovaný cytarabín tzv. protokol HAM), za téměř 3měsíční hospitalizace, nenavodil kompletní remisi a vymizení extramedulárních ložisek. Ukazuje potenciál kombinované ambulantní terapie azacitidinem, hypometylační látkou, s venetoclaxem, bcl-2 inhibitor, překonat chemorezistenci nádoru. Efekt salvage kombinační terapie azacitidín a venetoclax lze dokumentovat zobrazovacím vyšetřením FDG-PET/CT a fotodokumentací zhojeného kožního defektu.



P13. VENETOKLAX V KOMBINACI S AZACITIDINEM NEBO LD-ARAC U PACIENTŮ S HR-MDS A AML – ZKUŠENOSTI I. INTERNÍ KLINIKY VFN

Minařík L.^{1,2}, Stopka T.^{2,1}, Zemanová Z.³, Jonášová A.¹

¹ I. Interní klinika 1. LF UK a VFN v Praze

² BIOCEV, 1. LF UK Vestec

³ Centrum nádorové cytogenetiky, Ústav lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky, 1. LF UK a VFN v Praze

Úvod: Prognóza starších pacientů s vysoce rizikovým myelodysplastickým syndromem (HR-MDS) nebo akutní myeloidní leukemii (AML), neúnosných intenzivní terapie nebo progredujících na léčbě hypometylačními agens (HMA) je bezútěšná. Slibné výsledky klinických studií VIALE-A a VIALE-C s významným prodloužením mediánu celkového přežití (OS) a dosažením časných remisí v léčebných ramenech standardní terapie v kombinaci s venetoklaxem (VTX) u AML a další studie zahrnující 78 pacientů s HR-MDS (Garcia JS et al., 2020), nebo podobná studie se 44 pacienty (Zeidan AM et al. 2020) přinesly novou naději pro pacienty. Tato práce přibližuje zkušenosti našeho centra s podáváním VTX v kombinaci s terapií u pacientů s HR-MDS nebo AML. Cílem je sledovat toxicitu léčby, komplikace vč. nutnosti přerušit terapii z důvodu cytopenie a identifikovat markery spojené s horším přežíváním.

Metody: Naše kohorta se skládá z 22 pacientů (muži, n = 12; ženy, n = 10) s diagnózou MDS-AML (n = 16) nebo *de novo* AML (n = 6) v době zahájení VTX. Medián věku byl 75 let. Průměrné cytogenetické riziko podle IPSS-R bylo 1,9. Pro screening mutací byl použit panel 33 genů často mutovaných u MDS.

Výsledky: VTX byl podáván v kombinaci s azacitidinem v režimu 5-2-2 (75 mg/m², interval 28 dnů) nebo LD-AraC (standardní dávkování, interval 28 dnů). Medián celkové dávky VTX byl 1 500 mg na jeden cyklus. Průměrná dávka byla 53 mg/den, což je nižší v porovnání s terapeutickou dávkou používanou při léčbě jiných hematologických malignit vzhledem k riziku cytopenie. Ve skupině pacientů s *de novo* AML jsme pozorovali ORR 67 % (CR = 33 %, PR = 17 %, HI = 17 %) s mediánem OS na léčbě 6,5 měsíce. Ve skupině pacientů s MDS/AML jsme pozorovali ORR 57 % (CR = 29 %, PR = 21 %, HI = 7 %) s mediánem OS na terapii 5,4 měsíce. Součástí sledování je rovněž 13 pacientů (59 %) po selhání AZA jako první linie léčby, u kterých vedlo přidání VTX k přechodné remisi.

Závěr: VTX v kombinaci s azacitidinem nebo LD-AraC je účinná léčba pro pacienty s *de novo* AML, MDS-AML v 1. linii terapie, nicméně jsou pozorovány remise i po přidání VTX k selhávající terapii azacitidinem. Celková dávka podávaného VTX je nižší z důvodu cytopenie. Nutnost redukovat dávky azacitidinu během prvních dvou cyklů bylo spojeno s horším celkovým přežitím (p = 0,0191). Mutace TP53 byla spojena s horším celkovým přežitím (p = 0,0184). Dosažení HI-P během prvních dvou cyklů bylo spojeno s lepším celkovým přežitím (p = 0,0341). Selhání kombinované léčby zůstává nejasné a vyžaduje další studium.

P14. DLOUHODOBÁ SPONTÁNNÍ MOLEKULÁRNÍ REMISE AKUTNÍ MYELOIDNÍ LEUKÉMIE S T(9;11) A PŘESTAVBOU MLL GENU – POPIS PŘÍPADU

Szotkowski T., Faber E., Čerňan M., Palová M., Hubáček J., Juráňová J., Píkalová Z., Holzerová M., Navrátilová J., Papajík T.

Hemato-onkologická klinika FN Olomouc

Úvod: Remise akutní myeloidní leukémie (AML) dosažená bez použití protinádorové léčby je fenoménem známým, nicméně velmi vzácně se vyskytující. Publikovaná data jsou proto omezena jen na ojedinělé popisy případů. Mechanismus navození remise nebyl objasněn, obvykle je dáván do souvislosti s excesivní stimulací imunitního systému závažnou infekcí přítomnou při stanovení diagnózy leukémie, případně s podanou transfuzní léčbou. Délka trvání remise obvykle nepřesahuje několik měsíců.

Kazuistika: Práce popisuje případ 75leté nemocné, která byla přijata na naši kliniku koncem ledna roku 2020 s anamnézou 5 dnů trvající horečky, které byla při vyšetření na oddělení urgentního příjmu zjištěna levostranná bronchopneumonie a současně pancytopenie s nálezem 80 % blastů v periferní krvi. Při pátrání po etiologii febrilií a pneumonie byla zachycena pozitivita PCR vyšetření na přítomnost RNA viru chřipky A (H1N1). Vyšetření blastů potvrdilo dg. akutní myeloidní leukémie s t(9;11) s přestavbou *MLL* genu a trizomií chromosomu 8. Nemocná byla vzhledem k věku a komorbiditám indikována k paliativní a substituční léčbě, pro nepříznivý celkový stav byla předána do hospicové péče. Během hospitalizace nebyla podána jakákoliv cytoredukční léčba – nemocná měla leukopenii. Po 10 týdnech pobytu v hospici byla přivezena k ambulantní kontrole, s prakticky normálními hodnotami krevního obrazu vč. optického rozpočtu leukocytů, bez nálezu blastů v periferní krvi. Proto byl 3 měsíce od stanovení diagnózy AML proveden kontrolní odběr vzorku kostní dřeně s obrazem kompletní molekulární remise onemocnění. Nemocná je pouze sledována, při poslední kontrole v lednu 2022 byly potvrzeny normální hodnoty krevního obrazu. Kompletní spontánní remise AML tedy trvá již déle než 2 roky.

Závěr: Takto dlouhou dobu trvající spontánní remise AML jsou extrémně vzácné. I přes předpokládaný zásadní podíl účasti imunitního systému pacienta na navození a udržení remise zatím nebyly objasněny detailní mechanismy na buněčné či molekulární úrovni. Vzhledem k neuspokojivým léčebným výsledkům této skupiny onemocnění, zejména u nemocných ve věku nad 60 let, by vysvětlení podrobností navození spontánní remise a jejich využití v klinické praxi mohly zásadně přispět ke zlepšení celkových výsledků léčby.

Práce byla podpořena granty IGA_LF_2022_001, MZ ČR – RVO (FNOL, 0098892).

P15. COVID SKÓRE – PŘÍNOS V PROGNOSTICKÉ STRATIFIKACI NEMOCNÝCH S COVID-19

Juránová J.¹, Čerňan M.¹, Kadlecová J.¹, Zapletalová J.², Zdráhalová H.¹, Konečná V.¹, Hrochová M.¹, Pikalová Z.¹, Prošková J.³, Slavík L.¹, Papajík T.¹

¹ Hemato-onkologická klinika LF UP a FN Olomouc

² Ústav lékařské biofyziky, LF UP a FN Olomouc

³ Oddělení klinické biochemie, LF UP a FN Olomouc

Úvod: Onemocnění COVID-19, způsobené virem SARS-CoV-2, vyvolává řadu změn v krevním obraze. Covid skóre (CS) je vypočtený parametr umožňující predikci závažného klinického průběhu onemocnění COVID-19. CS je počítáno z 10 parametrů krevního obrazu (KO) a jeho hodnoty se mohou pohybovat v rozmezí 0–28. Hodnota CS v rozmezí 0–3 byla v pilotních pracích asociována s klinicky nekomplikovaným průběhem onemocnění, naopak hodnoty 4 a více predikovaly závažný průběh choroby s vysokou pravděpodobností potřeby arteficiální ventilační podpory.

Cíle: Práce měla za cíl posoudit prognostický význam CS na průběh infekce u pacientů s onemocněním COVID-19.

Metody: CS bylo hodnoceno v souboru 129 nemocných s mediánem věku 64 (19–93) let s prokázanou infekcí COVID-19 (na základě pozitivního PCR testu) vyšetřených v COVID ambulancích a na odděleních ve FN Olomouc v průběhu prosince 2021 až února 2022. Z analýzy byli vyloučeni nemocní s hematologickou a onkologickou malignitou tak, aby se eliminoval vliv základního onemocnění, případně jeho léčby na parametry KO. U nemocných byly hodnoceny také další laboratorní ukazatele a závažnost klinického průběhu onemocnění COVID-19. Následně byla provedena analýza pro podskupiny nemocných s hodnotou CS 0–3, resp. CS 4 a více.

Výsledky: Ze 129 pacientů mělo 65 (50,4 %) hodnotu CS 0–3 a 64 (49,6 %) pacientů mělo CS 4 a více. Medián času do hodnocení CS od diagnózy COVID-19 byl 3 (0–18) dny. Nemocní s CS 4 a více byli signifikantně starší než nemocní s CS 0–3 (medián 66 vs. 59 let, $p = 0,022$). Medián hodnoty D-dimerů a CRP byl významně vyšší při stanovení diagnózy u nemocných s hodnotou CS 4 a více (1 741,5 vs. 911,0 ug/l, $p = 0,0002$; resp. 118,8 vs. 45,1 mg/l, $p = 0,0001$). U nemocných s hodnotou CS 4 a více bylo signifikantně častěji zjištěno zánětlivé postižení plicního parenchymu (90,6 % vs. 58,5 %, $p < 0,0001$) a významně častěji vyžadovali arteficiální ventilační podporu (79,7 % vs. 29,2 %, $p < 0,0001$). Mortalita nemocných byla signifikantně vyšší ve skupině s CS 4 a více než ve skupině s CS 0–3 (26,6 % vs. 9,2 %, $p = 0,010$).

Závěr: Práce prokázala, že CS může sloužit spolu s dalšími laboratorními markery ke zlepšení rizikové stratifikace pacientů s COVID-19. Hodnoty CS 4 a více jsou asociovány se závažnějším průběhem onemocnění.

Podpořeno MZ ČR – RVO (FNOL, 0098892)

P16. VYUŽITÍ MUTACÍ V GENU CEBPA PRO SLEDOVÁNÍ MINIMÁLNÍ REZIDUÁLNÍ NEMOCI POMOCÍ SEKVENOVÁNÍ NOVÉ GENERACE U PACIENTŮ S AKUTNÍ MYELOIDNÍ LEUKÉMIÍ

Folta A., Drncová M., Klemešová I., Smitalová D., Weinbergerová B., Semerád L., Podstavková N., Kabut T., Mayer J., Ježíšková I.

Interní hematologická a onkologická klinika LF MU a FN Brno

Úvod: Mutace v genu *CEBPA* jsou detekované u 10–15 % pacientů s *de novo* akutní myeloidní leukémií (AML). Ačkoliv se jedná o mutace relativně stabilní, jejich využití má pro sledování minimální reziduální nemoci (MRN) pomocí kvantitativní real-time PCR (qPCR) řadu omezení. Vzhledem k typu a různé lokalizaci *CEBPA* mutací musí být pro qPCR navrhovány pacient specifické systémy (vč. přípravy plazmidové řady standardů), u pacientů s bíalelickými mutacemi optimálně pro obě detekované *CEBPA* varianty. Pro mnohé bodové záměny či krátké inserce/delece jsou navíc navrhované qPCR systémy málo specifické, což má za následek nízkou senzitivitu. Samotný návrh systémů je dále znesnadněn vysokým podílem GC bází a četným zastoupením repetitivních oblastí.

Cíle: Vytvořit univerzální senzitivní systém pro sledování *CEBPA* MRN pomocí sekvenování nové generace (NGS) jako alternativu ke stávajícím qPCR pacient specifickým systémům a obě metody porovnat.

Metody a výsledky: Pro vytvoření univerzálního NGS systému byl zvolen přístup dvoukolové PCR. Gen *CEBPA* byl rozdělen na sedm překrývajících se úseků, které jsou amplifikovány jednotlivými PCR reakcemi. V prvním kole PCR probíhá amplifikace s lokus specifickými primery, v druhém kole dojde k navázání indexů pro multiplexování. Pro dosažení co nejvyšší citlivosti je v PCR reakcích maximalizováno vstupní množství DNA (1 µg DNA/reakci odpovídající cca 150 000 buněk), pro snížení počtu amplifikačních chyb je minimalizováno množství amplifikačních cyklů (celkem 25 cyklů). Po každé PCR reakci jsou získané amplikony purifikovány, na závěr pak kvantifikovány a sekvenovány na NGS analyzátoru NextSeq (Illumina, USA). Aktuální citlivost metody dosahuje hodnoty minimálně 0,1 % VAF v závislosti na typu mutace. Výsledky NGS analýz byly porovnány s výsledky qPCR u tří vybraných dlouhodobě sledovaných pacientů s AML a mutacemi v genu *CEBPA*. Výsledky NGS analýz byly ve všech analyzovaných odběrech vyšetřovaných pacientů ve shodě s výsledky qPCR.

Závěr: Nově navržený NGS systém umožňuje efektivně s citlivostí minimálně 0,1 % VAF sledovat MRN u všech *CEBPA* pozitivních pacientů, a to bez ohledu na konkrétní typ a pozici mutace. Navržený přístup představuje vysoce univerzální nástroj pro MRN monitoring se srovnatelnou hladinou senzitivity, jakou poskytují pacient specifické qPCR *CEBPA* systémy.

P17. KVALIFIKAČNÍ PLÁNY V KLINICKÉ ČÁSTI JACIE AKREDITOVANÉHO TRANSPLANTAČNÍHO PROGRAMU – ZKUŠENOSTI JEDNOHO CENTRA

Dobrovolná M.¹, Vydra J.^{1,2}

¹ Úsek pro akreditace a kvalitu, ÚHKT Praha

² Klinický úsek, ÚHKT Praha

Úvod: Transplantační centra, dobrovolně přihlášená k mezinárodním standardům JACIE (The Joint Accreditation Committee ISCT-Europe & EBMT), se zavazují v klinické, odběrové i zpracovatelské části plnit stanovené požadavky. Některé z nich odpovídají legislativním požadavkům či postupům vyžadovaným regulačními orgány (SÚKL), některé je však třeba implementovat nově. V našem centru tato situace nastala u požadavku na definování kvalifikačních plánů (KP) v klinické části TP (JACIE standard B4.13). Zatímco v odběrové (C.4.13) a zpracovatelské části TP (D.4.1) korespondovaly s dlouhodobě zavedeným systémem definovaných požadavků na výrobce a dodavatele klíčového vybavení, činidel, zařízení a služeb, hospodaření se zásobami a prováděné validace, tak v klinické části byly výzvou k zamyšlení. Kvalifikační plán v širším slova smyslu lze chápat jako odpověď na otázku „Co je třeba udělat, když/ aby...?“.

Metody: Východiskem analýzy byl procesní diagram klinické části TP, ve kterém jsme hledali další oblasti vhodné pro formulaci KP, kromě již zpracované problematiky odběru kostní dřeně (požadavek B4.13.1, 7. verze JACIE standardů).

Výsledky: Důkladné zamyšlení nad jednotlivými fázemi TP, od indikace pacienta a výběru dárce, volbu přípravného režimu, přes podání produktu buněčné terapie (PBT) až po dlouhodobé sledování pacienta/dárce ukázalo, že existuje řada oblastí, pro které by mohly být KP vhodným nástrojem, jak stanovit kritéria shody na daný proces nebo činnost, což obdobně platí i pro zavádění nového léčebného postupu nebo aplikaci léčivých přípravků moderní terapie (LPMT). Jednotlivé položky KP následně umožňují vytvoření přehledných kontrolních listů sloužících v rámci interních auditů k rychlé a přesné identifikaci shody či možných odchylek od stanoveného plánu.

Diskuze: Vytvořené KP jsme zatím využili pro:

- nový postup CART-19 imunoterapie v rámci akademické studie ÚHKT a optimalizovali strukturu a obsah SOP pro CART terapii obecně (komerčními i experimentálními LPMT);
- institucionální politiku dlouhodobého skladování kryokonzervovaných PBT (na základě doporučení ČHS);
- odběry kostní dřeně zajišťované externím zdravotnickým zařízením;
- ověřování úplnosti a správnosti zdravotnické dokumentace příjemců a dárců PBT a LPMT.

Závěr: Tvorbu KP plánujeme využít všude tam, kde pracujeme na nových tématech nebo tam, kde nám hodnocení zavedeného managementu kvality odhalilo vyšší pravděpodobnost odchylek či potenciálních rizik. Jasně definování KP dle našich zkušeností umožňuje lepší přípravu nových procesů a postupů, zefektivnění činnosti vnitřní kontroly a lepší dlouhodobé dodržování každodenní praxe s definovanými postupy. Způsob naplňování požadavků JACIE standardů vždy závisí na podmínkách daného zdravotnického zařízení, a tak vzájemné sdílení

získaných zkušeností může být přínosem pro všechna transplantační centra v ČR hlásící se k JACIE akreditačnímu systému.

P18. MOLEKULÁRNÍ ANALÝZA FAMILIÁRNÍCH HEMATOLOGICKÝCH MALIGNIT – CASE REPORT

Navrátilová J.¹, Szotkowski T.¹, Urbánková H.¹, Pospíšilová D.², Papajík T.¹

¹ Hemato-onkologická klinika LF UP a FN Olomouc

² Dětská klinika LF UP a FN Olomouc

Úvod: Dědičná forma nádorových onemocnění tvoří asi 10 % všech onkologických malignit. I na poli hematologie je prokázáno klastrování hemato-onkologických onemocnění v rámci některých patientských rodin. U části z nich je možné zachytit molekulárními metodami germinální varianty v genech, které jsou predispoziční pro vznik myeloidních/lymfoidních hematologických malignit. Nejznámější predispoziční mutace bývají detekovány v genech *CEBPα*, *DDX41*, *RUNX1*, *ANKRD26*, *GATA2*, *ETV6* a další. Tyto mutace byly nově zahrnuty i do revidované klasifikace WHO2016, kde byla vytvořena skupina myeloidních neoplázií s germinální predispozicí.

Cíle: Cílem bylo osekvenovat vzorky matky a dcery, u nichž byla v rámci diagnostiky prokázána familiární trombocytóza, a odhalit potenciálně patologické germinální varianty.

Metodika: Pro přípravu celoexomové knihovny jsme zvolili Human All Exon V8 kit (Agilent). Metodika je založena na principu *target enrichment* a technologii SureSelect XT HS. Sekvence probíhala na přístroji NovaSeq 6000 (Illumina). Vyhodnocení probíhalo v softwaru VarSome Clinical (Saphetor).

Výsledky a závěr: Matka (nar. 1987) je léčena od roku 1994 s diagnózou Ph-negativní MPN typu esenciální trombocytémie a dcera (nar. 2011) od roku 2014 s familiární trombocytózou. Obě mají vysoké počty trombocytů. Základní molekulární analýza vzorků matky i dcery neprokázala přítomnost žádné specifické *driver* mutace (*JAK2/MPL/CALR* negativní). Jsou tedy považovány za *triple* negativní pacientky. Díky celoexomovému sekvenování byla u obou zachycena mutace v genu pro trombopoetin (*THPO*), anotovaná v databázi ClinVAR, kde je popsána asociace této varianty s trombocytémií. Celogenomové sekvenování je díky své kapacitě a pokrytí vhodný nástroj k detekci patologických variant na úrovni genomu, které se standardně v rutinní praxi nevyšetřují nebo jsou natolik specifické, že vyžadují speciální přístupy.

Práce je podporována grantem IGA-LF-2022-001.

P19. KOMPLEXNÍ ANALÝZA LEUKOCYTŮ POMOCÍ PRŮTOKOVÉ CYTOMETRIE

Říhová L., Bezděková R., Poláčková P., Suská R., Kamelander J., Romanová G., Smejkal P., Kissova J., Buliková A., Penka M.

Oddělení klinické hematologie, FN Brno

Úvod: Průtoková cytometrie je unikátní metodou analýzy buněčných populací v různých biologických materiálech. Její využití v hematologii je

zaměřeno zejména na analýzu leukocytů. Polychromatická analýza lymfoidní a myeloidní řady umožňuje záchyt případné patologie, což ji činí nepřekonatelnou v rutinní diagnostice. Výstupy z průtokové cytometrie pak mohou dále zpřesnit morfoloický nález a ujasnit diagnózu pacienta.

Cíl: Detailní analýza leukocytárních subpopulací v periferní krvi pomocí polychromatické průtokové cytometrie k vyloučení hematologické malignity.

Materiál a metody: Celkem byla zhodnocena periferní krev (PK) 30 osob, zaslanych na oddělení nejčastěji na podkladě relativní lymfocytózy či leukocytózy. Vzorek PK byl zpracován jednak dle SOP pro Euroflow analýzu lymfocytů (tzv. lymfoid screen tube, LST), a to nejprve 2× promyt v 0,5 % fetal bovine serum (FBS), poté inkubován s protilátkami: CD4, CD20, CD45, CD8, CD56, kappa, lambda, CD5, CD19, TCRgamma/delta, CD3 a CD38; následně zlyzován a promyt. V rámci vlastního panelu pro myeloidní řadu byl vzorek inkubován s protilátkami CD16, CD45, HLA-DR, CD123, CD34, CD11b, CD33 a CD38; poté zlyzován a promyt. Zisk dat proběhl na BD FACS Canto (Becton Dickinson) a reanalýza pomocí SW Infinicyt (Cytognos).

Výsledky: Přestože se zdá nemožné analyzovat 12 znaků pomocí 8barevného průtokového cytometru, díky specifické kombinaci antigenů v LST zkumavce a následné reanalýze pomocí speciálního SW lze velmi jednoduše identifikovat základní lymfocytární subpopulace a odhalit případnou patologii. Naprostá většina vzorků spadala zastoupením T, B, NK buněk do normálního rozsahu. U dvou pacientů byly nalezena patologická populace B lymfocytů (1× B-CLL; 1× jiná klonální subpopulace B lymfocytů). U části pacientů bylo nalezeno zvýšené zastoupení LGL lymfocytů, u jednoho pacienta velmi výrazně. V rámci myeloidní řady pak byly jednoznačně odlišeny prolínající se populace bazofilů a CD34⁺ buněk, a také prekurzorové dendritické buňky (myeloidní a lymfoidní) vč. identifikace subpopulací monocytů lišících se expresí CD16. Bylo detekováno různé zastoupení nezralé frakce neutrofilů, tzv. nízkodenzitních neutrofilů, jejichž funkce prozatím není zcela objasněna. Výrazná patologie zde nebyla zachycena.

Závěr: Spojením standardizovaného Euroflow přístupu pro analýzu lymfocytů s vlastním panelem pro analýzu myeloidní řady lze dosáhnout komplexní analýzy leukocytárních subpopulací. Tento přístup umožňuje jednak odhalit patologii a dále zpřesnit morfoloický nález, navíc v krátkém časovém horizontu, což je výhodou pro rychlé stanovení diagnózy, resp. vyloučení hematologické malignity.

Podpořeno MZ ČR – RVO (FNBr, 65269705).

P20. CYTOGENETICKÉ A MOLEKULÁRNĚ GENETICKÉ VYŠETŘENÍ U PACIENTŮ S CLL

Růžičková B.¹, Řehouňková M.¹, Hrochová K.¹, Rabasová J.², Bydžovská L.², Jochecová M.², Endrychová V.², Gančarčíková M.¹

¹ Ústav klinické biochemie a diagnostiky, FN Hradec Králové

² Oddělení lékařské genetiky, FN Hradec Králové

Chronická lymfocytární leukémie (CLL) je lymfoproliferativní onemocnění, jehož podstatou je akumulace monoklonálních

B-lymfocytů v periferní krvi, kostní dřeni a sekundárních lymfatických orgánech. Onemocnění je charakterizované vysokým stupněm molekulární heterogenity reflektující vysoce variabilní klinickou manifestaci. Vzhledem k variabilitě onemocnění je pro stratifikaci pacientů klíčové stanovení genetických prognostických markerů, mezi které řadíme cytogenetické aberace, mutace v genu *TP53* a mutační stav genů pro variabilní část těžkého řetězce imunoglobulinu (*IgVH*).

Pro statistické prospektivní zpracování výsledků byl vybrán soubor 87 pacientů (56 mužů, 31 žen), kterým byla v letech 2020 a 2021 diagnostikována suspektní CLL. Medián věku v době stanovení diagnózy byl 69 let. Konvenční cytogenetickou analýzou byl stanoven karyotyp, který byl doplněn metodou fluorescenční *in situ* hybridizace (FISH) pro detekci známých rekurentních aberací (delece 13q14, delece 11q22, delece 17p13 a trisomie 12). Mutační stav *IgVH* a mutace genu *TP53* byly vyšetřeny pomocí kombinace technik fragmentační analýzy a Sangerova sekvenování.

Ve vyšetřované kohortě byl nalezen normální karyotyp u 33/87 (38 %) pacientů, aberovaný karyotyp byl stanoven u 27/87 (31 %) pacientů, z nichž ve dvou případech (2 %) se jednalo o komplexní karyotyp. U ostatních nemocných se nepodařilo karyotyp stanovit z důvodu nedostatečného počtu mitos v kultuře. Metodou FISH byly prokázány chromozomové aberace u 67/87 (77 %) pacientů. Nejčastěji byla detekována mono/bialelická delece lokusu 13q14 (53 %), dále trisomie chromosomu 12 (17 %), delece oblasti 11q22 (17 %) a nejméně zastoupenou kryptickou aberací byla delece 17p13 (10 %). Průkaz přestavby *IgVH* byl z vybraného souboru vyšetřen u 82 pacientů, přičemž klonální přestavba Ig receptoru byla prokázána u 80/82 (98 %) nemocných, z nichž u 34/82 (41 %) byl gen pro *IgVH* mutovaný a u 42/82 (51 %) nemutovaný. U 5/82 (6 %) pacientů se mutační stav nepodařilo určit. Bylo nalezeno také několik subsetů, CLL#5, CLL#6 (agresivní), CLL#16 (velmi indolentní) a CLL#99 (bez bližších informací). V případě mutace genu *TP53* byla u 76 pacientů osekvenována oblast exonů 4–10. Patogenní varianta byla nalezena pouze u 6/76 (8 %) nemocných.

Procentuální zastoupení nalezených aberací ve vybraném souboru je ve shodě s publikacemi. Kombinace cytogenetických a molekulárně genetických metod je klíčová pro stratifikaci pacientů, určení prognózy onemocnění, diferenciální diagnostiku lymfoidních malignit a zahájení vhodné léčebné strategie.

P21. DYSREGULACE EXOZOMÁLNÍCH MIKRORNA V PERIFERNÍ KRVI PACIENTŮ S MNOHOČETNÝM MYELOMEM

Vlachová M.¹, Gregorová J.¹, Dostálová A.¹, Radová L.², Jarkovský J.³, Bezděková R.⁴, Říhová L.⁴, Almáši M.⁴, Štork M.⁵, Pour L.⁵, Ševčíková S.^{1,4}

¹ Babáková myelomová skupina, Ústav patologické fyziologie, LF MU Brno

² Ceitec, MU Brno

³ Institut biostatistiky a analýz, LF MU Brno

⁴ Oddělení klinické hematologie, FN Brno

⁵ Interní hematologická a onkologická klinika FN Brno

Úvod: Mnohočetný myelom (MM) je hematooonkologické onemocnění, při němž dochází k infiltraci kostní dřeni plazmatickými

buňkami. V případě, že buňky infiltrují také orgány či měkké tkáně, je stav označován jako extramedulární onemocnění (EMD). MikroRNA (miRNA) jsou krátké jednovláčkové nekódující RNA, které regulační genové expresi ovlivňují spektrum fyziologických i patologických procesů. Jsou přítomny ve tkáních i v tělních tekutinách mj. jako součást exozomů.

Cíle: Cílem práce bylo zjistit, jaký je rozdíl v expresi miRNA ve vzorcích séra periferní krve získaného od pacientů s MM a EMD, a k analýze využít sekvenování nové generace (8 MM, 8 EMD) a RT-qPCR (40 MM, 40 EMD).

Metody: Ze séra periferní krve pacientů jsme izolovali nejdříve exozomy (qEVoriginal, Izon Science) a poté celkovou RNA obohacenou o krátké RNA vč. miRNA (miRNeasy Serum/Plasma Kit, Qiagen). Následně jsme z části takto zpracovaných vzorků připravili knihovny, které byly osekvenovány na platformě Illumina. Kandidátní miRNA jsme validovali na větší, nezávislé kohortě metodou RT-qPCR (TaqMan Advanced miRNA Assays, Applied Biosystems).

Výsledky: S využitím sekvenování byly identifikovány čtyři odlišně exprimované miRNA. U miRNA, jejichž relativní exprese byla signifikantně odlišná, jsme provedli ROC analýzu. Výsledky jsme korelovali s klinickými daty.

Závěr: Pomocí uvedených metod se nám podařilo identifikovat miRNA, jejichž exprese je odlišná v séru pacientů s MM a EMD. V budoucnu by mohly být využity jako minimálně invazivní biomarkery u těchto dvou onemocnění, která stále zůstávají obtížně léčitelná. Je však nezbytné podpořit praktické využití miRNA dalším výzkumem.

Výzkum byl podpořen grantem NU21-03-00076.

P22. CHROMOZOMOVÉ ABERACE U SOUBORU PACIENTŮ S MDS A MDS/MPN TRANSPLANTOVANÝCH VE FN OLOMOUC V LETECH 2018–2021

Rubešová A., Navrátilová J., Holzerová M., Machová R., Raida L., Kuba A., Balcárková J., Urbánková H., Papajík T.

Hemato-onkologická klinika LF UP a FN Olomouc

Úvod: Chromozomové změny detekované u nemocných s myelodysplastickým syndromem (MDS) a se smíšenými myelodysplasticko-myeloproliferativními syndromy (MDS/MPN) přispívají k upřesnění diagnózy onemocnění, na základě jejich charakteru je možné stratifikovat nemocné do prognostických skupin a doplňují kritéria pro výběr odpovídající léčby onemocnění, vč. indikací k alogenní transplantaci krvetvorných buněk (TKB).

Cíle: Cílem projektu bylo analyzovat chromozomové změny u nemocných s MDS, MDS/MPN a sekundární akutní myeloidní leukémií (sAML) vzniklou vývojem z MDS nebo MDS/MPN, kteří byli transplantováni v letech 2018–2021 na naší klinice.

Metody: Všichni nemocní byli vyšetřeni konvenční cytogenetickou metodou G-pruhováním, metodou FISH (fluorescenční *in situ* hybri-

dizace) s panelem sond pro MDS, případně mFISH (mnohobarevná FISH) a u většiny nemocných byla provedena analýza NGS (sekvenování nové generace) se zaměřením na AML/MPN/MDS panel nejčastějších mutací.

Výsledky: V průběhu 4 let bylo na Hemato-onkologické klinice FN Olomouc transplantováno 20 pacientů (11 mužů a 9 žen) s původní diagnózou MDS nebo MDS/MPN. Medián věku při diagnóze činil 48 let (v rozmezí 33–65 let). Klasická cytogenetická analýza (G-pruhování) prokázala v době diagnózy onemocnění chromozomové změny u 12 (60 %) nemocných. Doplněním metodou FISH byly prokázány genetické aberace u celkově 15 (75 %) pacientů, kdy u 14 z nich byla detekována chromozomová změna v rámci vyšetřovaného MDS panelu. Chromozomové změny s nepříznivou prognózou (komplexní karyotyp, 7q-/7, přestavba genu *MECOM*) byly prokázány u 12 pacientů (60 %). U pěti pacientů nebyla G-pruhováním ani metodou FISH detekována žádná chromozomová aberace. U čtyř pacientů (20 %) byl před TKB prokázán klonální vývoj karyotypu a u jednoho pacienta byl klonální vývoj karyotypu prokázán až při relapsu onemocnění v potransplantačním období. U sedmi nemocných (35 %) došlo k transformaci původního onemocnění do sAML.

Závěr: Cytogenetická a molekulárně-cytogenetická analýza je důležitou součástí diagnostiky MDS, nadále zůstává důležitým faktorem při zpřesňování prognostických kritérií, která umožňují indikovat potencionálně vysoce rizikové pacienty s tímto onemocněním v optimálním čase k alogenní TKB.

Podpořeno grantem IGA_LF_2022_001.

P23. MOLEKULÁRNÍ PATOBIOLOGIE DIAMONDOVY-BLACKFANOVY ANÉMIE

Jahoda O.¹, Dobešová D.², Kureková S.¹, Sochorová L.¹, Pospišilová D.³, Divoký V.¹, Friedecký D.², Horváthová M.¹

¹ Ústav biologie, LF UP Olomouc

² Laboratoř dědičných metabolických poruch, Oddělení klinické biochemie, LF UP a FN Olomouc

³ Dětská klinika FN Olomouc

Diamondova-Blackfanova anémie (DBA) je vzácná vrozená aplázie erytropoézy, která je charakterizována obvykle závažnou makrocytární anémií. Kromě anémie mohou onemocnění doprovázet i různé vrozené vývojové vady a postižení jedinci mají zvýšené riziko k rozvoji hematologických malignit i solidních tumorů. Genetickou příčinou onemocnění jsou nejčastěji mutace v genech pro ribozomální proteiny (RP), které vedou k jejich haploinsuficienci. Jeden z hlavních, ne zcela objasněných problémů spočívá ve výrazné fenotypové heterogenitě onemocnění i u pacientů se stejnou RP mutací. Tato heterogenita zahrnuje nejenom různou míru hematologických a nehematologických projevů nemoci, ale i různou odpověď na léčbu.

V naší recentní studii jsme ukázali podíl prozánětových cytokinů a oxidativního poškození DNA a erytrocytů na patofyziologii DBA.

Léčba zaměřená na potlačení zánětu, či snížení míry oxidačního stresu se proto nabízí jako varianta, která by mohla v budoucnu přispět u pacientů ke zmírnění projevů onemocnění. K posouzení přínosu protizánětlivé léčby jsme využili DBA buněčný model s deficiencí Rpl5 a Rps19. Inkubace buněk DBA modelu, v přítomnosti inhibitoru prozánětlivých cytokinů (pomalidomidu), vedla ke zmírnění oxidačního poškození DNA i snížení aktivity p53. Dále jsme testovali vliv antioxidantů na erythrocyty DBA pacientů *in vitro*. Krátká inkubace erythrocytů s N-acetylcysteinem vedla ke snížení hladiny reaktivních forem kyslíku (ROS). Využití metabolické analýzy se jeví jako potenciálně nadějná cesta, která by mohla přispět k většímu pochopení patofyziologie onemocnění a zároveň by mohla vést k nalezení nových biochemických markerů, s možným využitím v diagnostice. Slibnost tohoto přístupu naznačují i naše předběžná data. Analýza metabolomu krevních sér pacientů s DBA ukázala významné změny hladiny některých metabolitů. Konkrétně bylo zjištěno snížení hladiny kreatininu a guanidinoacetátu v porovnání se zdravými kontrolami a u pacientů s mutací v genu *RPL5* bylo navíc stanoveno i významné snížení hladiny hippurátu. K další analýze jsme využili výše zmíněný DBA buněčný model. Cílená metabolická analýza buněčných extraktů zahrnující metabolity všech hlavních metabolických drah a následná statistická analýza ukázala jasné oddělení Rp-deficientních klonů od buněk kontrolních. Výrazný rozdíl mezi Rp-deficientními klony a kontrolními buňkami se projevil na úrovni mnoha sacharidů a acylkarnitinů. Navíc byla u buněk s deficitem Rpl5 zaznamenána i výrazně zvýšená hladina deoxynukleotidů. V neposlední řadě jsme u Rp-deficientních klonů zjistili zvýšenou hladinu redukováného i oxidovaného glutationu a meziproductů pentózofosfátového cyklu, což koresponduje s potřebou buněk se vypořádat se zvýšenou mírou oxidačního stresu.

Podpořeno granty MŠMT 8F20005, IGA LF UPOL – IGA_LF_2022_003.

P24. P16INK4A IN THE GUT MUCOSA ASSOCIATES WITH NFKB1 GENE POLYMORPHISMS AND DECREASED SERUM LEVELS OF INFLAMMATION-ASSOCIATED PROTEINS IN PATIENTS WITH GASTROINTESTINAL ACUTE GRAFT VERSUS HOST DISEASE AFTER ALLOGENEIC HEMATOPOIETIC STEM CELL TRANSPLANTATION

Kuba A.¹, Raida L.¹, Brychtová S.², Flodr P.², Mrázek F.³, Kriegová E.³, Navrátilová M.², Papajík T.¹

¹ Department of Hemato-Oncology, University Hospital Olomouc

² Department of Clinical and Molecular Pathology, University Hospital Olomouc

³ Department of Immunology, University Hospital Olomouc

We analyzed the expression of p16INK4a in intestinal biopsies of 52 patients with lower gastrointestinal GVHD symptoms and the

impact of NFKB1 polymorphisms (rs3774937 and rs3774959) on transplant outcome. Increased p16INK4a expression in intestinal crypts was independently associated with late manifestation of lower gastrointestinal symptoms. Patients with and without p16INK4a expression in intestinal crypts developed lower gastrointestinal symptoms in median of 43 days (range,12–140) and 24 days (range,13–80), respectively. The effect was observed in the whole study cohort (HR 2.3 [95% CI 0.99–5.47]; P = 0.006) as well as in a subgroup of patients who fulfilled the clinical diagnostic criteria of GVHD only (HR 3.1 [95% CI 0.95–10.01]; P = 0.002) Increased risk of histological grade 3–4 aGVHD was observed in patients without stromal p16INK4a expression (HR 3.45 [95% CI 1.26–9.42]; P = 0.01). The impact was confirmed by means of multivariate Cox regression (P = 0.009). No clinical variable had effect on p16INK4a expression but NFKB1 genotype. The GVHD-prone genotypes rs3774937 CC and rs3774959 AA were significantly less frequent in patients with increased p16INK4a expression (P = 0.04 and P = 0.02, respectively). In 13 patients we analyzed serum levels of inflammatory proteins on day +14 post-transplant. Patients with increased expression of p16INK4a in intestinal crypts at the time of gut biopsy had significantly lower serum levels of proinflammatory proteins (IL-17A, IL-18, IL-4, CXCL10 and TNFRSF9) on day +14. Cellular senescence is considered a program of the innate immunity. In GVHD, innate immunity becomes seriously decontrolled. Cellular senescence may thus bring novel approaches towards GVHD diagnostics and therapy.

P25. SÉROVÉ HLADINY VYBRANÝCH CYTOKINŮ A SOLUBILNÍCH ADHEZNÍCH MOLEKUL U NEMOCNÝCH S MYELODYSPLASTICKÝM SYNDROMEM VYŠŠÍHO RIZIKA LÉČENÝCH AZACYTIDINEM

Kupsa T.^{1,2}, Horáček J. M.^{1,2}, Bělohávková P.², Štajer M.², Jebavý L.^{1,2}, Žák P.²

¹ Katedra vojenského vnitřního lékařství a vojenské hygieny, FVZ a UO Hradec Králové

² IV. interní hematologická klinika LF UK a FN Hradec Králové

Cíl: Cílem studie bylo zjistit, zda mohou být cytokiny a adhezní molekuly využity jako prognostické markery u nemocných s myelodysplastickým syndromem (MDS) vyššího rizika léčených azacytidinem.

Metodika: Byl studován soubor 32 nemocných s MDS vyššího rizika. Věk nemocných byl 71,2 ± 3,1 let, medián 72 let. Všichni nemocní byli léčeni azacytidinem 75 mg/m² 5–7 dní v každém cyklu. Alogenní transplantace krvetvorných buněk byla provedena u čtyř nemocných. Vysoké riziko dle IPSS bylo u 12 nemocných. Dle IPSS-R bylo 17 nemocných v kategorii velmi vysokého rizika. Biomarkery byly stanoveny pomocí *biochip array* technologie na analyzátoru Evidence Investigator (Randox). Jedná se o interleukiny IL-1 α , IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, EGF, VEGF, IFN- γ , TNF- α , Monocyte

Chemotactic Protein-1 (MCP-1), E-selectin (E-SEL), P-selectin (P-SEL), L-selectin (L-SEL), ICAM-1 a VCAM-1. Faktory nádorového prostředí byly analyzovány s ohledem na věk, časné selhání léčby a celkové přežití.

Výsledky: Hladiny sledovaných biomarkerů nespojujely s kategorií rizika hodnocenou dle IPSS nebo IPSS-R. Skupiny nemocných rozdělené do jednotlivých kategorií dle IPSS i IPSS-R se navzájem nelišily věkem. Pacienti indikovaní k alogenní transplantaci byli mladší ($64,05 \pm 3,35$ vs. $72,23 \pm 2,36$ let, $p = 0,0001$) a měli vyšší hladiny E-SEL ($p = 0,0007$), IL-8 ($p = 0,0047$), IFN- γ ($p = 0,0238$) a P-SEL ($p = 0,0490$). V této skupině došlo u tří jedinců k selhání azacytidinu a progresi do AML ještě před alogenní transplantací. Identifikovali jsme skupinu osmi nemocných s časným selháním léčby azacytidinem. Tito nemocní se nelišili věkem ($p = 0,0999$), měli vyšší hladiny IL-8 ($p = 0,0125$) a IFN- γ ($p = 0,0303$). Blízko statistické významnosti byly nižší hladiny TNF- α ($p = 0,0770$) a vyšší E-SEL ($p = 0,0862$). U sedmi nemocných přesahovalo celkové přežití 18 měsíců. V této skupině byli i tři nemocní, kteří podstoupili alogenní transplantaci. Věkem se tato skupina nemocných nelišila od ostatních ($p = 0,3953$). V této skupině byly nižší hladiny IL-1 α ($p = 0,0432$) a četnější výskyt středního rizika dle IPSS-R ($p = 0,0122$).

Závěr: Je zřejmé, že současné prognostické modely u MDS lze rozšířit o další faktory. Zda bude námi zjištěný IL-1 α nebo jiný cytokin v budoucnu potvrzen jako nezávislý prognostický faktor bude předmětem dalších studií.

Podpořeno DZRO 1011 (FVZ UO), MH CZ – DRO (UHHK, 00179906).

P26. DETEKCE HLA LOSS RELAPSU S VYUŽITÍM HLA GENOTYPIZACE PROVEDENÉ POMOCÍ NGS

Nazarová S., Vraná M., Plachý R., Kukačková P., Čechová H.
ÚHKT Praha

HLA loss relaps je specifickou komplikací po transplantaci kmenových buněk od haploidentických dárců (haplo-HSCT). Uvádí se, že tento druh relapsu se vyskytuje téměř u 1/3 relabovaných pacientů. U tohoto typu relapsu není možné využít k léčbě infuzi dárcovských lymfocytů (DLI). HLA loss relaps se vyznačuje delecí neidentického HLA haplotypu v leukemických buňkách pacienta. Cílem projektu bylo vytvořit výpočetní algoritmus pro detekci přítomnosti/absence alel systému HLA u pacienta a dárce v chimerických vzorcích.

Podstata našeho algoritmu tkví v identifikaci jedinečného markeru/jedinečných markerů pro každou z alel systému HLA přítomných v genotypu pacienta a dárce, a to vždy pro několik HLA lokusů konkrétní dvojice pacient – haploidentický dárce. Testovaný algoritmus pak stanoví počet čtení NGS shodných s konkrétními typy HLA alel, které byly identifikovány před transplantací u pacienta a dárce. Na základě těchto údajů pak spočítá příslušné poměry HLA alel příjemce a dárce. Tímto algoritmem byla analyzována data z NGS získaná ze standardní HLA genotypizace pomocí soupravy AlloSeq

Tx17 (CareDx). Analyzovány byly vzorky se známým chimerizmem po transplantaci.

Algoritmus byl otestován na třech pacientech s relapsem. Zvolený algoritmus potvrdil ve vzorcích se známým chimerizmem přítomnost HLA alel specifických pro testované pacienty; rozsah od 3 do 54 % pacientových buněk. Data získaná pomocí NGS korelují s výsledky vyšetření standardního chimerizmu a také se zjištěným chimerizmem pomocí HLA specifické qPCR využívající KMR markery (HLA-KMR Assays, GenDx).

První pacient prodělal klasický relaps; druhý pacient prodělal dva relapsy – první klasický, druhý HLA loss relaps, u třetího pacienta byl detekovaný HLA loss relaps. Výsledky z NGS získané použitím navrženého algoritmu tyto nálezy u všech pacientů potvrdily.

Pomocí informací z databáze IMGT, která obsahuje všechny známé alely systému HLA, je možné teoreticky identifikovat jedinečné markery pro všechny možné kombinace HLA haplotypů přítomných ve vyšetřovaných dvojicích pacient – haploidentický dárce.

Naše údaje ukázaly, že navržený algoritmus je schopen odhalit přítomnost minoritního HLA haplotypu u chimerických vzorků. Předpokládáme, že by námi zvolený přístup mohl být užitečným nástrojem pro detekci HLA loss relapsů u pacientů, kteří podstoupili haplo-HSCT.

Podpořeno MZ ČR – DRO (00023736, UHKT).

P27. MPS ANALYSIS OF MIRNA IN PATIENTS WITH BCR-ABL1 FUSION GENE

Řehounková M.¹, Kovaříková H.¹, Růžičková B.¹, Žák P.², Palička V.¹, Gančarčíková M.¹

¹ Department of Clinical Biochemistry and Diagnostics, Faculty of Medicine and University Hospital Hradec Králové

² IV. Department of Internal Hematology, University Hospital Hradec Králové

Changes in the regulation of genetic expression by small RNA molecules have been demonstrated in many cancers, including hematological malignancies as CML. The method of massive parallel sequencing (MPS) of the overall set of patient's miRNA (miRNome) is advantageous due to high resolution of MPS and its feasibility with a small amount sample. MPS provides a large amount of quality data, which opens up the possibility of discovering new miRNAs and their relationship to the course of CML and the response to treatment with available kinase inhibitors (TKI).

Tested group included 20 samples from patients with a proven BCR-ABL1 fusion gene, who did not reach MMR4 after one year of TKI treatment or relapsed. As a control group, 7 patients were chosen with a proven BCR-ABL1 fusion gene and achievement of MMR4.5 response. First, miRNA isolation was performed using the miRNeasy Mini Kit (Qiagen), library itself was prepared using a RealSeq[®]-AC kit (Somagenics) and sequenced on a MiSeq instrument (Illumina). The data received has been submitted to the processing by bioinformatical pipeline to verify the quality of the data. The

Tab. 1. miRNA with highly-significant difference of expression among tested groups.

Mature	Structure	Chromosome	Sequence	P value
hsa-miR-342-3p	miRNA	chr14	UCUCACACAGAAAUCGCACCCGU	7,78E-08
hsa-miR-146a-5p	miRNA	chr5	UGAGAACUGAAUCCAUGGGUU	3,36E-07
hsa-miR-451a	miRNA	chr17	AAACCGUUACCAUACUGAGUU	2,36E-06
hsa-miR-28-3p	miRNA	chr3	CACUAGAUUGUGAGCUCCUGGA	5,92E-06
hsa-miR-148b-3p	miRNA	chr12	UCAGUGCAUCACAGAACUUUGU	6,38E-06
hsa-miR-146b-5p	miRNA	chr10	UGAGAACUGAAUCCAUAGGCU	1,38E-05
hsa-let-7g-5p	miRNA	chr3	UGAGGUAGUAGUUUGUACAGUU	1,70E-05
hsa-miR-151a-5p	miRNA	chr8	UCGAGGAGCUCACAGUCUAGU	3,13E-05
hsa-miR-28-5p	miRNA	chr3	AAGGAGCUCACAGUCUUAUUGAG	4,55E-05
hsa-miR-127-3p	miRNA	chr14	UCGGAUCCGUCUGAGCUUGGCU	5,33E-05

analysis of the obtained miRNA sequences was performed using the online tool OASIS 2.0 (BONN LABORATORY). Analysis using this online program included not only the identification of possible new miRNAs and a comprehensive view of the miRNom, but also helped with statistical processing.

In the studies of 27 samples, the following miRNAs were found to be the most expressed: hsa-miR-233-3p, hsa-miR-451a, hsa-miR-21-5p, hsa-miR-16-5p, p-hsa-miR-247, hsa-miR-142-3p, hsa-let-7a-5p, hsa-miR-92a-3p and hsa-miR-191-5p. Differential analysis of the test and control group showed very significant differences ($P \leq 0,01$) in the expressions of 75 miRNA and highly significant differences ($P \leq 0.001$) in the expressions of 38 miRNAs. The 10 miRNA with the

most significant difference in expression between our study groups are shown in Tab. 1.

Comparison of the processed data with recent publications shows the connection of individual miRNAs with hematological malignancies: eg miR-146a as a prognostic marker in ALL, downregulation of miR-146b-5p in CLL, downregulation miR-451 in CML phenotype, etc. The obtained data correlate with the expected results, but for more accurate conclusions, statistical analyses and possible use of miRNAs as prognostic markers, it would be appropriate to expand the group of patients.

This study was supported by MH CZ – DRO (UHHK, 00179906).

P28. DETEKCE MUTACE T315I V BCR-ABL1 KINÁZOVÉ DOMĚNĚ POMOCÍ METODY DIGITÁLNÍ PCR

Grohmann J.¹, Štědrá A.², Navrátilová J.¹, Faber E.¹, Skoumalová I.¹, Urbánková H.¹, Papajik T.¹

¹ Hemato-onkologická klinika LF UP a FN Olomouc

² Přírodovědecká fakulta, UP Olomouc

Úvod: Mutace v BCR-ABL1 kinázové doméně stále patří mezi nejčastější příčinu selhání léčby inhibitory tyrozinkináz (TKI). V současnosti je popsáno více než 90 bodových mutací v kinázové doméně genu ABL1. Digitální PCR (dPCR) je považována za třetí generaci PCR, jejíž nespornou výhodou je vysoká přesnost a citlivost. Toho se využívá při detekci vzácných mutací, jejichž koncentrace v biologickém materiálu je zastoupena v minoritním množství. V diagnostice pacientů s chronickou myeloidní leukémií (CML) a akutní lymfoblastickou leukémií (ALL) nachází dPCR uplatnění v rámci kvantifikace fúzního genu BCR-ABL1, ale i v detekci mutací způsobujících rezistenci k TKI.

Cíle: Cílem této práce bylo zavést metodu pro detekci mutace T315I v BCR-ABL1 kinázové doméně pomocí technologie dPCR a provedení screeningu pacientů, u kterých bylo prokázáno selhání léčby spojené s nárůstem transkriptu fúzního genu.

Metody: Pro experimenty byl využit přístroj Naica® 6 color dPCR (Stilla) a Sapphire Chip a následně QIAcuity Digital PCR System (Qiagen) s chipy QIAcuity Nanoplate 26K 24-well.

Výsledky a závěr: Soubor tvořilo 15 pacientů (13 CML, 2 ALL), kteří byli léčeni TKI. Mutaci jsme detekovali u devíti pacientů. U třech vybraných pacientů jsme sledovali hladinu mutace a její vývoj v průběhu léčby, která korelovala s nárůstem hladiny transkriptu detekovaného pomocí Q-RT-PCR. Byli jsme schopni určit dobu vzniku rezistence i ve vzorcích, kde klasické Sangerovo sekvenování mutaci nepotvrdilo. Metoda dPCR umožňuje přesnou a rychlou analýzu mutací s vyšší citlivostí, než Sangerovo sekvenování (0,1 vs. 15–20 % mutované alely).

Práce je podporována granty IGA_LF_2022_001 a MZ ČR – RVO (FNOL, 00098892).

P29. DEMOGRAFICKÁ DATA DÁRCŮ REKONVALESCENTNÍ PLAZMY ANTI-SARS-COV-2 NA TRANSFUZNÍM ODDĚLENÍ FN OLOMOUC

Entrová A.¹, Smital J.¹, Zatloukalová S.²

¹ Transfuzní oddělení, FN Olomouc

² Ústav veřejného zdravotnictví, LF UP Olomouc

Úvod: Rekonvalescentní plazma (RP) byla zejména v raných fázích pandemie COVID-19 jednou z léčebných alternativ pro pacienty s těžkým či středně těžkým průběhem onemocnění.

Metoda: Úskalím získání RP je nábor vhodných dárců. Transfuzní oddělení FN Olomouc (TO FNOL) aktivně oslovilo potenciální dárce rekonvalescentní plazmy z řad veřejnosti i dárců krve. Potenciální dárce kontaktoval TO FNOL vyplněním elektronického dotazníku na webových stránkách pracoviště nebo telefonicky.

Výsledky: Celkem kontaktovalo TO FNOL v období 4/2020–4/2021 1 640 potenciálních dárců rekonvalescentní plazmy. Vstupně bylo vyřazeno 656 zájemců, zájemci nesplnili legislativní požadavky na dárcovství nebo kritéria pro RP a snížené riziko TRALI, vhodných dárců bylo 984, aferetický odběr plazmy podstoupilo 620 dárců. Z retrospektivní analýzy demografických dat dárců RP vyplynulo, že naprostou většinu tvořili muži (92,3 %), procento žen bylo minoritní (7,7 %). Medián věku u mužů byl 39 let (18–61), u žen byl medián téměř o 13 let nižší a to 26,5 let (18–53). Biometrické údaje byly u mužů – výška s mediánem 182 cm (158–203), u žen 169 cm (156–183), váha s mediánem u mužů 89 kg (55–146), u žen 66 kg (55–110), BMI s mediánem u mužů 26,7 (18,4–43,1), u žen 23,2 (17,8–35,9). Z informací získaných z dotazníků dárců patřila mezi nejčastější symptomatologii onemocnění COVID-19 u dárců bolest hlavy (68,3 %), následovaly zvýšená tělesná teplota nad 37,5 °C (64,5 %), ztráta čichu (47,4 %), suchý kašel (47,3 %), ztráta chuti (30,7 %), bolesti kloubů a svalů (29,3 %), únava a slabost (24,6 %), dušnost (21,5 %). Ostatní příznaky (rýma, bolest v krku, gastrointestinální obtíže traktu, kožní, neurologické příznaky) se vyskytovaly jen minoritně, u 3,4 % dárců proběhlo onemocnění COVID-19 zcela bez příznaků. Zastoupení krevních skupin u dárců odpovídalo až na drobné odchylky zastoupení KS v běžné populaci, k výraznějšímu navýšení o 5,8 % došlo pouze u krevní skupiny AB. Nejčastější zastoupení bylo dárců s KS A (39,1 %), následovaly O (28,1 %), B (19 %) a AB (13,8 %). Většina dárců absolvovala pouze jeden (73,5 %) či dva aferetické odběry rekonvalescentní plazmy (13,3 %), dalších 12,2 % darovalo RP 3–8x. Podíl mužů, kteří absolvovali pouze jeden odběr, činil 72,4 %, u žen se jednalo o 87,5 % dáreků. Ženy absolvovaly maximálně tři odběry.

Závěr: Potřeba rekonvalescentní plazmy přibližně s měsíčním zpožděním kopírovala křivky pandemie. TO FNOL se po celou dobu pandemie dařilo získávat dostatečné počty dárců, aby mohlo vykrývat požadavky na výdej rekonvalescentní plazmy pro klinická pracoviště FNOL i externí odběratele.

Podpořeno grantem IGA_LF_2021_036 Univerzity Palackého v Olomouci.

P30. POTRANSFUZNÍ REAKCE V ČESKÉ REPUBLICE ZA ROKY 2014–2020

Galuszková D.

Transfuzní oddělení, FN Olomouc

Úvod: Nedílnou součástí hemovigilančního systému je analýza nežádoucích reakcí po aplikaci transfuzních přípravků (TP). Prezentace předkládá počty potransfuzních reakcí (PR) za roky 2014–2020.

Metodika: Za toto období bylo vyhodnoceno 2 895 494 aplikovaných TP, nahlášeno 2 924 potransfuzních reakcí (0,1 %), z toho 139 těžkých (4,7 %) (stupeň přisuzovatelnosti 2 a 3).

Výsledky: Mezi závažné PR patřily: 2x smrtelné (anafylaxe, TRALI), imunitní hemolýza v ABO systému 18x, pozdní hemolýza 7x, těžká hypotenze 1x, anafylaxe 47x, TRALI 14x, TACO 15x, HCV 9x, HBV 5x, bakteriální infekce 4x, potransfuzní purpura 1x, těžké alergické reakce 16x. Nejčastějšími PR byly: alergická 791x (27,0 %), následovaná febrilní nehemolytickou 695x (23,7 %) a akutní oběhovou 129x (4,7 %). Incidence PR dle typů aplikovaných TP: erytrocytární TP – 2 037 356 aplikací, nahlášeno 1 754 PR (59,9 %); trombocytární TP – 188 223 aplikací, z toho 395 PR (13 %); plazma: 669 915, nahlášeno 772 PR (26,40%).

Závěr: Tato retrospektivní data jsou významná k nastavení správných výrobních postupů transfuzních přípravků, a tím vedou ke zvýšení bezpečnosti hemoterapie. Výstupy ze zpracovaných dat na řadě pracovištích v ČR vedly k následujícím změnám: použití prestorage de leukotizovaných transfuzních přípravků, rozšíření výroby trombocytů do náhradních roztoků, rozšíření screeningového testování dárců krve, větší využití krevního derivátu Octaplasu.

P31. ZÁCHYT POZITIVNÍCH ANTIERYTROCYTÁRNÍCH PROTILÁTEK V RÁMCI PŘEDTRANSFUZNÍHO VYŠETŘENÍ NA TRANSFUZNÍM ODDĚLENÍ FN OLOMOUC V ROCE 2021

Přidalová J., Šianská J., Holusková I., Galuszková D.

Transfuzní oddělení, FN Olomouc

Úvod: Nejčastějším způsobem zachycení nepravidelných tepelných antierytrocytárních protilátek u pacienta je při vyšetření screeningů, který se provádí jako povinná součást předtransfuzního vyšetření. Speciální laboratoř Transfuzního oddělení FN Olomouc (TO FNOL) disponuje širokým spektrem metod umožňujících došetření a identifikaci těchto protilátek a následné nastavení optimální hemoterapie pacienta.

Metody: Jako materiál slouží krevní vzorek odebraný do zkumavky s K3EDTA. Screening nepravidelných tepelných antierytrocytárních protilátek (SP) je rutinně prováděn metodou sloupcové aglutinace na analyzátoru IH-500 System nebo IH-1000 System f. BioRad. K dalším sérologickým došetřením, která se provádějí manuální metodikou, jsou používána diagnostika f. BioRad, Grifols, ImmucorGamma či Sanquin. SP je prováděn jak v nepřímém antiglobulinovém (NAT),

tak v enzymovém (papain) testu a následné došetření je prováděno v tom prostředí, ve kterém byla nalezena pozitivita při SP. Přešetření protilátkového nálezu se u pacienta provádí opakovaně každých 2–6 měsíců a při změně nálezu u SP.

Výsledky: V roce 2021 bylo na TO FNOL přijato 13 926 vzorků k předtransfuznímu vyšetření, během kterých bylo zachyceno 935 pozitivních SP (6,7 %). Z toho 346 bylo pozitivních v NAT (popřípadě i v enzymovém testu), 448 pouze v enzymovém (papain) testu. U 433 vzorků se jednalo o nespecifické protilátky

nebo protilátky, jejichž specificitu nebylo možno t.č. určit, což činí 46,3 %. V 516 případech (55,2 %) byla nalezena specifická protilátka. U 155 (19,5 %) vzorků se jednalo o kombinaci různých protilátek. Ve 141 případech bylo přešetření s identifikačním panelem negativní.

Závěr: Při zajištění hemoterapie u pacienta je nutné se vždy řídit aktuálním imunohepatologickým nálezem. Při prokázání specifické aloprotilátky je doporučena aplikace transfuzních přípravků (TP) bez daného antigenu, proti kterému je protilátka namířena, u nespecifických protilátek jsou aplikovány TP dle Rh a Kell fenotypu pacienta.

Rejstřík

A			
Adam Z.		2S22, 2S23, 2S56	
Almáši M.		2S66	
B			
Babošová O.		2S51	
Babulíková J.		2S35	
Bačovský J.		2S23	
Balcárková J.		2S23, 2S67	
Belada D.		2S20	
Bělohávková P.		2S30, 2S46, 2S48, 2S68	
Benková K.		2S25	
Bergerová V.		2S54	
Berková L.		2S51	
Bezděková R.		2S65, 2S66	
Bielik L.		2S35	
Blatný J.		2S5	
Borský M.		2S46	
Boudová R.		2S33, 2S34	
Brejcha M.		2S58	
Brokešová D.		2S52	
Brychtová S.		2S68	
Brychtová Y.		2S50, 2S58	
Břízová B.		2S54	
Bulíková A.		2S65	
Burda P.		2S48	
Bydžovská L.		2S66	
C			
Cetkovský P.		2S14, 2S32	
Cmunt E.		2S46, 2S48, 2S58	
Č			
Čechová H.			
Čermák J.		2S30	
Černá O.		2S46, 2S48	
Čerňan M.		2S25, 2S26, 2S40, 2S63, 2S64	
Čičátková P.		2S46, 2S48	
Čuřík N.		2S48	
D			
Demlová R.		2S46	
Divoký V.		2S67	
Dobešová D.		2S67	
Dobrovolná M.		2S65	
Dolníková A.		2S48	
Dostál M.		2S58	
Dostálová A.		2S66	
Dostálová L.		2S23	
Doubek M.		2S50, 2S58	
Drncová M.		2S64	
Džubák P.		2S61	
E			
Ebenstein Y.			2S51
Écsiová D.			2S55, 2S59
Endrychová V.			2S66
Entrová A.			2S71
F			
Faber E.		2S46, 2S48, 2S63, 2S70	
Fajnerová I.			2S20
Fayette D.			2S20
Fátorová I.			2S30
Flodr P.			2S61, 2S68
Flodrová P.			2S61
Folber F.			2S20
Folta A.			2S26, 2S64
Friedecký D.			2S67
G			
Gaherová L.			2S20
Galuszková D.			2S71
Gančarčíková M.			2S66, 2S69
Gregorová J.			2S66
Grohmann J.			2S50, 2S62, 2S70
Gumulec J.			2S37
H			
Hanáčková V.		2S50, 2S57, 2S60, 2S62	
Havránek O.			2S19
Hisemová M.			2S62
Hluší A.			2S39
Hodaňová L.			2S25
Holub D.			2S61
Holubová M.			2S33, 2S34
Holusková I.			2S71
Holzerová M.			2S63, 2S67
Horáček J.			2S20, 2S68
Horňák T.			2S46, 2S48
Horváthová M.			2S67
Hrabětová M.			2S32, 2S33, 2S34
Hrochová K.			2S30, 2S55, 2S66
Hrochová M.			2S64
Hrubíško M.			2S45
Hrušák O.			2S25
Hrušková A.			2S21
Hubáček J.			2S63
CH			
Chena D.			2S34
Choudhry Z.			2S57
I			
Indrák K.			2S11

J			
Jahoda O.	2S67		
Janotová I.	2S25		
Jarkovský J.	2S66		
Jarošová M.	2S48		
Jebavý L.	2S68		
Ježíšková I.	2S26, 2S46, 2S64		
Jindra P.	2S25, 2S32, 2S33, 2S34, 2S54		
Jochecová M.	2S66		
Jonášová A.	2S29, 2S63		
Jungová A.	2S54		
Juráňová J.	2S35, 2S63, 2S64		
Jurček T.	2S46		
Juříčková V.	2S20		
K			
Kabut T.	2S25, 2S26, 2S64		
Kadlecová J.	2S64		
Kamelander J.	2S65		
Karas M.	2S32, 2S33, 2S34, 2S46		
Karban J.	2S31		
Kasalová N.	2S23		
Kašková V.	2S56		
Kaštánková I.	2S26, 2S35		
Kissová J.	2S65		
Klamová H.	2S31, 2S46, 2S48		
Klásková K.	2S58		
Klemešová I.	2S26, 2S64		
Klener P.	2S48		
Koblihová J.	2S48		
Kolář M.	2S40		
Konečná V.	2S64		
Kořínek V.	2S51		
Kořístek Z.	2S25		
Košťálová L.	2S50		
Kovaříková H.	2S69		
Kozák T.	2S20		
Král V.	2S35		
Kredátusová A.	2S50, 2S57, 2S62		
Krejčí M.	2S22, 2S23, 2S56		
Krhovská P.	2S23		
Kriegová E.	2S51, 2S53, 2S56, 2S68		
Kuba A.	2S35, 2S67, 2S68		
Kubová Z.	2S51, 2S56		
Kukačková P.	2S69		
Kupsa T.	2S68		
Kureková S.	2S67		
Kurfürstová D.	2S60		
Kvetková A.	2S27, 2S46, 2S48		
L			
Laniková L.	2S51		
Látal V.	2S40		
Láznička A.	2S48		
Lesný P.	2S26, 2S35		
Lizcová L.	2S25		
Loja T.	2S50		
Lukášová M.	2S57		
Luknárová P.	2S25		
Lysák D.	2S32, 2S33, 2S34, 2S54, 2S58		
M			
Maco M.	2S19		
Machová R.	2S67		
Machová Poláková K.	2S46, 2S48		
Maňáková J.	2S51, 2S53, 2S56		
Marková H.	2S20		
Matějovská Kubešová H.	2S27		
Matýšková M.	2S6		
Mayer J.	2S25, 2S26, 2S27, 2S46, 2S48, 2S50, 2S64		
Mazalová M.	2S48		
Mejstříková E.	2S25		
Mihályová J.	2S58		
Mikulenková D.	2S31		
Minařík J.	2S23, 2S40		
Minařík L.	2S29, 2S63		
Mlynářčiková M.	2S23		
Móciková H.	2S19, 2S20, 2S58		
Mráz M.	2S50		
Mrázek F.	2S68		
Mucha M.	2S26, 2S35		
N			
Navrátilová J.	2S26, 2S50, 2S62, 2S63, 2S65, 2S67, 2S70		
Navrátilová M.	2S61, 2S68		
Nazarová S.	2S69		
Neumanová K.	2S51		
Nováková L.	2S32		
Nováková Z.	2S27		
O			
Obr A.	2S21, 2S57		
Ondřišová L.	2S50		
Oršulová M.	2S58		
Otáhal P.	2S26, 2S35		
P			
Palička V.	2S69		
Palová M.	2S63		
Panovská A.	2S42, 2S50, 2S58		
Papajík T.	2S15, 2S21, 2S23, 2S35, 2S40, 2S50, 2S51, 2S56, 2S57, 2S60, 2S62, 2S63, 2S64, 2S65, 2S67, 2S68, 2S70		
Paurová I.	2S34		
Pavlišťová L.	2S25		
Penka M.	2S6, 2S65		
Petráček A.	2S56		
Petráček M.	2S26, 2S35		
Pika T.	2S23, 2S61		
Pikalová Z.	2S60, 2S63, 2S64		
Plachý R.	2S69		
Podstavková N.	2S25, 2S26, 2S27, 2S64		

Pokorná E.	2S48	Song J.	2S51
Poláčková P.	2S65	Souček O.	2S57
Polgárová K.	2S20	Srbová D.	2S46, 2S48
Polívková V.	2S48	Starý J.	2S25
Pospíšilová D.	2S10, 2S52, 2S530 2S65, 2S67	Steinerová K.	2S20, 2S33, 2S34
Pospíšilová Š.	2S50	Stejskal L.	2S46, 2S48
Pour L.	2S22, 2S23, 2S56, 2S66	Stopka T.	2S29, 2S63
Prchal J. T.	2S51	Suská R.	2S65
Procházka V.	2S50, 2S60, 2S62	Svobodník A.	2S46
Procházková J.	2S25, 2S26, 2S27, 2S46, 2S48	Svobodová K.	2S25
Procházková R.	2S39	Sýkorová A.	2S20
Prošková J.	2S64	Szotkowski T.	2S25, 2S26, 2S40, 2S63, 2S65
Provan D.	2S52		
Přidalová J.	2S71	Š	
Příhodová E.	2S25	Šálek C.	2S25, 2S48
Pulcer M.	2S37	Ščudla V.	2S23
Pytlík R.	2S20	Šeda V.	2S50
		Ševčíková S.	2S51, 2S66
R		Šianská J.	2S71
Rabasová J.	2S66	Šimečková R.	2S38
Radová L.	2S66	Šimkovič M.	2S42, 2S55, 2S57, 2S58, 2S59
Raida L.	2S35, 2S67, 2S68	Šmilauerová K.	2S26
Ransdorfová Š.	2S48	Špaček M.	2S42, 2S58
Raška M.	2S52	Šrámek J.	2S25, 2S32, 2S33, 2S34, 2S54
Rašková Kafková L.	2S52	Šrámková L.	2S25
Repovský Š.	2S24	Šroller V.	2S26, 2S35
Rohoň P.	2S37	Štach M.	2S26, 2S35
Romanová G.	2S65	Štajer M.	2S68
Rozsivalová P.	2S55	Šťastná Marková M.	2S32
Rubešová A.	2S60, 2S67	Štědrá A.	2S70
Růžičková B.	2S66, 2S69	Štěpánová R.	2S46
Rychlá J.	2S26, 2S35	Štork M.	2S22, 2S23, 2S56, 2S66
Rychlíčková J.	2S46		
Ryznerová P.	2S56	T	
		Tomáška M.	2S27
Ř		Trněný M.	2S19, 2S20, 2S31
Řehouňková M.	2S66, 2S69	Tučková L.	2S60
Řezáčová V.	2S57	Turcsányi P.	2S56, 2S58
Říhová L.	2S65, 2S66		
		U	
S		Urbánková H.	2S21, 2S23, 2S50, 2S51, 2S56, 2S60, 2S62, 2S65, 2S67, 2S70
Sandecá V.	2S22, 2S23, 2S56	Urbanová R.	2S58
Sauer P.	2S40		
Savara J.	2S51, 2S53	V	
Semerád L.	2S25, 2S26, 2S27, 2S46, 2S48, 2S64	Válka J.	2S25, 2S30
Skanderová D.	2S60	Válková V.	2S32
Skoumalová I.	2S35, 2S46, 2S70	Vatolíková M.	2S21, 2S60
Slavík L.	2S64	Verner J.	2S50
Slobodová Z.	2S51	Víšek B.	2S25
Smetana K.	2S31	Vlachová M.	2S66
Smital J.	2S71	Vodárek P.	2S55, 2S57, 2S58, 2S59
Smitalová D.	2S64	Vojáčková E.	2S50
Smejkal P.	2S65	Voldřich J.	2S27
Smolej L.	2S20, 2S55, 2S57, 2S58, 2S59	Vraná M.	2S69
Sochorová L.	2S67	Vrbacký F.	2S55

Vrbová J. 2S33, 2S34
Vydra J. 2S32, 2S35, 2S65

W

Warren J. 2S27
Weinbergerová B. 2S25, 2S26, 2S27, 2S64
Wiewiorka O. 2S46
Wild A. 2S38

Z

Zapletalová J. 2S40, 2S64
Zatloukalová S. 2S71

Zdráhalová H. 2S64
Zemanová M. 2S24
Zemanová Z. 2S25, 2S63
Zhang S. 2S50
Zuchnická J. 2S37, 2S58

Ž

Žáčková D. 2S13, 2S46, 2S48
Žák P. 2S13, 2S25, 2S68, 2S69
Žižková H. 2S46

Transfuze a hematologie *dnes*

VEDOUcí REDAKTOR

prof. MUDr. Edgar Faber, CSc.
Hemato-onkologická klinika FN Olomouc
edgar.faber@fnol.cz

REDAKCE

ZA SPOLEČNOST PRO TRANFUZNÍ LÉKAŘSTVÍ

MUDr. Renata Procházková, Ph.D.
Transfuzní oddělení, Krajská nemocnice, Liberec

MUDr. Petr Turek, CSc.
Transfuzní oddělení, Thomayerova nemocnice, Praha

ZA ČESKOU HEMATOLOGICKOU SPOLEČNOST

doc. MUDr. Jan Blatný, Ph.D.
Oddělení dětské hematologie, FN Brno

doc. MUDr. Ľuboš Drgoňa, CSc.
Klinika onkohematologie, Národní onkologický ústav, Bratislava

prof. MUDr. Marta Krejčí, Ph.D.
Interní hematologická a onkologická klinika FN Brno

doc. MUDr. Daniel Lysák, Ph.D.
Hematoonkologické oddělení, FN Plzeň

doc. Mgr. Kateřina Machová Poláková, Ph.D.
Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

MUDr. Martin Šimkovič, Ph.D.
IV. interní hematologická klinika FN Hradec Králové

REDAKČNÍ RADA

ZA SPOLEČNOST PRO TRANFUZNÍ LÉKAŘSTVÍ

plk. gšt. MUDr. Miloš Bohoněk, Ph.D.
Oddělení hematologie a krevní transfuze, ÚVN – VFN Praha

MUDr. Dana Galuszková, Ph.D., MBA
Transfuzní oddělení, FN Olomouc

doc. MUDr. Zdenka Gašová, Ph.D.
Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

MUDr. Hana Lejdarová
Transfuzní a tkáňové oddělení, FN Brno

MUDr. Jiří Masopust
Transfuzní oddělení, Krajská zdravotní a.s. – Masarykova nemocnice Ústí nad Labem, o.z.

MUDr. Martin Písačka
Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

MUDr. Vít Řeháček
Transfuzní oddělení, FN Hradec Králové

ZA ČESKOU HEMATOLOGICKOU SPOLEČNOST

prof. MUDr. Angelika Bátorová, CSc.
Klinika hematologie a transfúziologie, Univerzitná nemocnica Bratislava

prof. MUDr. Jaroslav Čermák, CSc.
Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

prof. MUDr. Tomáš Kozák, Ph.D., MBA
Interní hematologická klinika FN Královské Vinohrady, Praha

prof. MUDr. Jiří Mayer, CSc.
Interní hematologická a onkologická klinika FN Brno

prof. MUDr. Tomáš Papajik, CSc.
Hemato-onkologická klinika FN Olomouc

prof. MUDr. Jan Starý, CSc.
Klinika dětské hematologie a onkologie FN Motol, Praha

prof. MUDr. Marek Trněný, CSc.
I. interní klinika – klinika hematologie VFN v Praze

prof. MUDr. Pavel Žák, Ph.D.
IV. interní hematologická klinika FN Hradec Králové

© Česká lékařská společnost J. E. Purkyně, Praha 2022

Transfuze a hematologie dnes

Vydavatel: Česká lékařská společnost
Jana Evangelisty Purkyně, z. s., Sokolská 31,
120 26 Praha 2

Nakladatel: Care Comm s.r.o.,
Klicperova 604/8, 150 00 Praha 5

Vedoucí redaktor:

prof. MUDr. Edgar Faber, CSc.

Odpovědný redaktor:

Mgr. Lucie Simonidesová

Grafická úprava: Karel Zlevor

Jazyková korektura:

Mgr. Eliška Škorpíková

Vychází 4x ročně.

Předplatné na rok pro ČR je 550 Kč + poštovné
a pro SK je 26 € + poštovné

Objednávka předplatného ČR na adrese:
predplatne@carecomm.cz

On-line verze časopisu je přístupná na adrese
<https://www.prolekare.cz/casopisy/transfuze-hematologie-dnes>.

Informace o podmínkách inzerce poskytuje a objednávky přijímá:

Jan Laitl, e-mail: jan.laitl@carecomm.cz,
+420 725 778 001.

Rukopisy nahrávejte přes redakční systém Open Journal System na adrese
<https://redakce.carecomm.cz/tahd/>.
Zaslané příspěvky se nevracejí.

Vydavatel získá otištěním příspěvku výlučné
nakladatelské právo k jeho užití.

Otištěné příspěvky autorů nejsou honorovány,
autoři obdrží bezplatně jeden výtisk časopisu.
Vydavatel a redakční rada upozorňují, že
za obsah a jazykové zpracování inzerátů
a reklam odpovídá výhradně inzerent. Žádná
část tohoto časopisu nesmí být kopírována
a rozmnožována za účelem dalšího rozšiřování
v jakékoli formě či jakýmkoli způsobem, ať již
mechanickým nebo elektronickým, včetně
pořizování fotokopíí, nahrávek, informačních
databází na magnetických nosičích bez
písemného souhlasu vlastníka autorských práv
a vydavatelského oprávnění.

Toto číslo vychází 23. 5. 2022



**BY LATER LINES,
CML STOPS
BEING THE
„GOOD CANCER”¹⁻³**

Reference:

1. Hochhaus A., Breccia M., Saglio G., et al.: *Leukemia*. 2020;34(6):1495-1502.
2. Cortes J.E., Lang F.: *J Hematol Oncol*. 2021;14(1):44.
3. Soverini S., Gnani A., Colarossi S., et al.: *Blood*. 2009;114(10):2168-2171.

