

Transfuze a hematologie *dnes*

ČASOPIS SPOLEČNOSTI PRO TRANSFUZNÍ LÉKAŘSTVÍ, ČESKÉ HEMATOLOGICKÉ
SPOLEČNOSTI A ČESKÉ SPOLEČNOSTI PRO TROMBÓZU A HEMOSTÁZU



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

XXXV. OLOMOUCKÉ HEMATOLOGICKÉ DNY

XXV. Konference ošetrovatelství a zdravotních laborantů
14th Symposium on Advances in Molecular Hematology

Sborník abstraktů



ČSTH
ČESKÁ SPOLEČNOST PRO TROMBÓZU A HEMOSTÁZU
ČESKÉ LÉKAŘSKÉ SPOLEČNOSTI J. E. PURKYNĚ
c. 1990

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

ročník 29 | 2023 | **Supplementum 1**



...když chcete Vaše pacienty
 vrátit do života. Nečekejte.¹⁻⁶

Zkrácená informace | JAKAVI 5 mg tablety | JAKAVI 15 mg tablety | JAKAVI 20 mg tablety

Složení: Léčivá látka: ruxolitinibum 5 mg, 15 mg nebo 20 mg. ***Indikace:** Léčba dospělých pacientů se splenomegalií nebo s příznaky přidruženými k primární myelofibróze (chronické idiopatické myelofibróze), postpolycytemické myelofibróze nebo myelofibróze po esenciální trombocytemii. Léčba dospělých pacientů s pravou polycytemií, kteří jsou rezistentní nebo intolerantní k hydroxyurei. Léčba pacientů ve věku 12 let a starších s akutní reakcí štěpu proti hostiteli nebo chronickou reakcí štěpu proti hostiteli, kteří nemají adekvátní odpověď na léčbu kortikosteroidy nebo jinou systémovou léčbu. ***Dávkování:** Doporučená počáteční dávka u myelofibrózy je 5 mg perorálně dvakrát denně u pacientů s počtem trombocytů $50 \times 10^9/l$ až $<75 \times 10^9/l$, 10 mg perorálně dvakrát denně u pacientů s počtem trombocytů $75 \times 10^9/l$ až $<100 \times 10^9/l$, 15 mg perorálně dvakrát denně u pacientů s počtem trombocytů $100 \times 10^9/l$ až $200 \times 10^9/l$ a 20 mg perorálně dvakrát denně u pacientů s počtem trombocytů $>200 \times 10^9/l$. Doporučená počáteční dávka přípravku Jakavi u pravé polycytemie je 10 mg podávaných perorálně dvakrát denně. Doporučená počáteční dávka u akutní a chronické reakce štěpu proti hostiteli (GvHD) je 10 mg podávaných perorálně dvakrát denně. U pacientů s mírnou nebo středně závažnou poruchou funkce ledvin není nutná specifická úprava dávky. U pacientů s těžkou poruchou funkce ledvin má být doporučená počáteční dávka redukována o přibližně 50 %. U pacientů s poruchou funkce jater má být doporučená počáteční dávka podávána dvakrát denně, snížena o přibližně 50 %. **Kontraindikace:** hypersenzitivita na léčivou látku, nebo na kteroukoli pomocnou látku přípravku. Těhotenství a kojení. **Zvláštní upozornění/opatření:** Léčba může způsobit hematologické nežádoucí účinky léku, včetně trombocytopenie, anemie a neutropenie. Před zahájením léčby musí být vyšetřen kompletní krevní obraz včetně diferenciálního rozpočtu leukocytů. Léčba má být přerušena u pacientů, u kterých dojde k poklesu počtu trombocytů na méně než $50 \times 10^9/l$ nebo absolutního počtu neutrofilů na méně než $0,5 \times 10^9/l$. U všech pacientů má být zhodnoceno riziko závažné bakteriální, mykobakteriální, mykotické, virové a jiné oportunní infekce, léčba nemá být zahajována, dokud není závažná probíhající infekce zvládnuta. V případě výskytu časných příznaků infekce herpes zoster se doporučuje co možná nejvčasnější vyhledání možnosti léčby v případě infekce. Před zahájením léčby by mělo být u pacientů provedeno vyšetření na aktivní a neaktivní („latentní“) tuberkulózu podle místních doporučení. Pokud je podezření na progresivní multifokální leukoencefalopatii, musí být ukončeno další podávání, dokud není PML vyloučena. Pacienti se vzácnými dědičnými problémy s intolerancí galaktózy, vrozeným deficitem laktázy nebo malabsorcí glukózy a galaktózy by neměli Jakavi užívat. Je doporučeno pravidelné sledování hladiny lipidů v séru a případná léčba dyslipidémie. **Interakce:** Při společném užití se silnými inhibitory CYP3A4 (např. bocoprevir, klarithromycin, indinavir, itraconazol, ketokonazol, lopinavir/ritonavir, mibefradil, nefazodon, nelfinavir, posakonazol, sachinavir, telaprevir, telithromycin, vorikonazol) má být jednotlivá dávka přípravku Jakavi, podávaná dvakrát denně, snížena přibližně o 50 %. Při společném užití s duálními inhibitory CYP2C9 a CYP3A4 (např. flukonazol) má být zváženo 50 % snížení dávky. Při společném užití s induktory CYP3A4 (např. avasimib, karbamazepin, fenobarbital, fenytoin, rifabutin, rifampin (rifampicin), třezalka tečkovaná (*Hypericum perforatum*)) mají být pacienti pečlivě sledováni a dávka titrována s ohledem na bezpečnost a účinnost. **Vliv na řízení vozidel a obsluhu strojů:** Pokud pacient po užití přípravku Jakavi pozoruje závratě, má se vyhnout řízení a obsluze strojů. ***Nežádoucí účinky:** Velmi časté: infekce močových cest, herpes zoster, pneumonie, anemie, trombocytopenie, neutropenie, krvácení (všechny případy krvácení zahrnující intrakraniální a gastrointestinální krvácení, podlitiny a jiné typy krvácení), nárůst tělesné hmotnosti, hypercholesterolemie, hypertriacylglycerolemie, zvýšená hladina lipázy, zácpa, závratě, bolest hlavy, zvýšená hladina ALT, zvýšená hladina AST, hypertenze, CMV infekce, sepse, pancytopenie, zvýšená hladina amylázy, nauzea, zvýšená hladina kreatinfosfokinázy, zvýšení kreatininu v krvi. Časté: flatulence, BK virová infekce, nárůst tělesné hmotnosti. *Další nežádoucí účinky - viz úplná informace o přípravku.* **Podmínky uchování:** Neuchovávejte při teplotě nad 30°C. **Dostupné lékové formy/velikosti balení:** 56 tablet. **Poznámka:** Dříve než lék předepíšete, přečtěte si pečlivě úplnou informaci o přípravku. **Reg. číslo:** Jakavi 5 mg – EU/1/12/773/005, Jakavi 15 mg – EU/1/12/773/008, Jakavi 20 mg – EU/1/12/773/011. **Datum registrace:** 23.08.2012. ***Datum poslední revize textu SPC:** 29.4.2022. **Držitel rozhodnutí o registraci:** Novartis Europharm Limited, Vista Building, Elm Park, Merriem Road, Dublin 4, Irsko. *Přípravek je částečně hrazen z prostředků veřejného zdravotního pojištění.*

*Všimněte si prosím změny (změn) v informacích o léčivém přípravku.

*Všimněte si prosím změny (změn) v informacích o léčivém přípravku.

Reference: 1. Souhrn údajů o přípravku JAKAVI[®], datum poslední revize 29.4.2022, www.sukl.cz. 2. Mesa RA, Gotlib J, et al. J Clin Oncol. 2013 Apr 1;31(10):1285-92. 3. Verstovsek S, Gotlib J, et al. J Hematol Oncol. 2017 Sep 29;10(1):156. 4. Kiladjian JJ, Zachee P, et al. Lancet Haematol. 2020 Mar;7(3):e226-e237. 5. Zeiser R, von Bubnoff N, et al. N Engl J Med. 2020 May 7;382(19):1800-1810. 6. Zeiser R, Polverelli N, et al. N Engl J Med. 2021 Jul 15;385(3):228-238. 7. <https://www.sukl.cz/modules/medication/detail.php?code=0194123&tab=prices>.

Transfuze a hematologie *dnes*

ročník 29 | 2023 | Supplementum 1



24.–26. 5. 2023
NH COLLECTION OLOMOUC CONGRESS

XXXV. OLOMOUCKÉ HEMATOLOGICKÉ DNY

XXV. Konference ošetřovatelství a zdravotních laborantů
14th 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 kongresu a odborný garant

prof. MUDr. Tomáš Papajík, CSc.

Čestný prezident kongresu

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 XXXV. OHD 2023

prof. MUDr. Edgar Faber, Ph.D.
prof. MUDr. Dagmar Pospíšilová, Ph.D.
prof. MUDr. Vít Procházka, Ph.D.
doc. RNDr. Vladimír Divoký, Ph.D.
doc. Dr. Eva Kriegová
doc. MUDr. Luděk Raida, Ph.D.

doc. MUDr. Tomáš Szotkowski, Ph.D.
MUDr. Martin Čerňan, Ph.D.
prim. MUDr. Dana Galuszková, Ph.D., MBA
RNDr. Milena Holzerová, Ph.D.
Mgr. Jarmila Juráňová

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

Garanti konference ošetřovatelství 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: ohd2023@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	S3
XXXV. olomoucké hematologické dny	
1. Postgraduální sekce 1	S5
2. Wiedermannova přednáška	S9
3. Postgraduální sekce 2	S15
4. Meet the experts – Přesná diagnostika a cílená léčba pacientů s CLL v reálné klinické praxi	S19
5. Akutní myeloidní leukemie / myelodysplastický syndrom	S22
6. Maligní lymfomy	S27
7. Meet the experts – Vzácná dědičná onemocnění	S32
8. Mnohočetný myelom / monoklonální gamapatie	S33
9. Transplantace / buněčná terapie	S36
10. Konzultační hematologie – gravidita	S40
11. Chronická myeloidní leukemie	S43
12. Myeloproliferativní choroby / chronická myeloidní leukemie	S47
13. Morfologie	S51
14 th Symposium on Advances in Molecular Hematology	S53
Posterová sekce	S58
Rejstřík	S79

1. POSTGRADUÁLNÍ SEKCE 1

PAROXYSMÁLNÍ NOČNÍ HEMOGLOBINURIE

Žák P.

IV. Interní hematologická klinika, FN Hradec Králové

Paroxysmální noční hemoglobinurie (PNH) je vzácné onemocnění (15–16 případů na 1 milion obyvatel). Termín PNH zavedl Enneking v roce 1925, ale již před 40 lety Strubing popsal případ muže s únavou, bolestmi břicha, intermitentní hemoglobinurií.

Etiologie: PNH vzniká v důsledku genetické mutace v hematopoetických kmenových buňkách. Tato mutace genu vázaného na chromozom X (vzácně na 20. chromozom) pro fosfatidyl-inositolový glykan PIG-A (vzácně PIG-T), způsobuje nedostatek proteinu glykosylfosfatidyl-inositolu (GPI), který je zodpovědný za ukotvení dalších bílkovinných částí na povrchu erytrocytů, ale i dalších buněk nesoucí tuto mutaci (monocyty, granulocyty, lymfocyty, trombocyty). Proteiny odpovědné za regulaci aktivity komplementu, konkrétně CD55 a CD59 ztrácí možnost inhibice především alternativní cesty komplementové kaskády. Tato dysregulace vede k chronické, komplementem zprostředkované, hemolýze buněk PNH. Tento chronický stav hemolýzy se může zhoršit, pokud je systém komplementu aktivován stresem způsobeným infekcí, operací, traumatem nebo jinými spouštěči zánětu.

Vysvětlení klinických projevů – patofyziologie: U PNH je většina příznaků, které pacienti pociťují, způsobena intravaskulární hemolýzou. Při laboratorním vyšetření je běžným nálezem anémie, která vede k nespecifickým potížím, jako je únava a dušnost. U části pacientů je hlavním projevem selhání kostní dřeně s obrazem aplastické anémie.

Volný hemoglobin uvolněný hemolýzou je odstraněn haptoglobinem a dalšími clearingovými mechanismy. U PNH jsou však tyto mechanismy přetíženy, což vede k přítomnosti volného hemoglobinu v intravaskulárním systému. Dochází k ireverzibilní vazbě volného hemoglobinu s oxidem dusnatým za vzniku methemoglobinu a dusičnanů, což však vede k vyčerpání zásob oxidu dusnatého. Oxid dusnatý má řadu základních funkcí, vč. vazodilatace a relaxace hladkého svalstva. Při nedostatku oxidu dusnatého může dojít k dystonii hladkého svalstva. Pacienti s PNH mají GIT potíže – křeče jícnu a bolesti břicha. Dalším důsledkem vyčerpaného oxidu dusnatého je neschopnost vazodilatace (erektilní dysfunkce, plicní hypertenze, ...). Dalším postiženým orgánem jsou ledviny, kdy základním patogenetickým momentem je toxický efekt hemu, který může vést k akutnímu ledvinovému selhání. Chronické ukládání železa v ledvinách vede k rozvoji hemosiderózy ledvin.

Asi 40 % pacientů s PNH prodělá v průběhu onemocnění trombózu. Trombóza je hlavní příčinou morbidit a nejčastější příčinou úmrtí u PNH. Žilní trombóza je častější než arteriální trombóza. Často se vyskytuje mozková a intraabdominální žilní trombóza. Nejčastějším místem trombózy u pacientů s PNH jsou jaterní žíly. Vznik trombózy je

multifaktoriální. Defekt kotevního proteinu GPI vzniklý mutací genu PIG-A, kromě hemolýzy červených krvinek, zvyšuje aktivaci a agregaci destiček. Deplece oxidu dusnatého a aktivace komplementu rovněž podporují trombózu tím, že zvyšují agregaci destiček a uvolňování zánětlivých cytokinů. Trombofilie zjištěná u PNH je nakonec zesílena defektní fibrinolýzou. Předpokládá se nedostatek nebo absence proteinu ukotveného v GPI, který je zodpovědný za aktivaci plazminogenu.

Diagnostika: V laboratorním nálezu jsou známky intravaskulární hemolýzy (tedy zvýšené LDH, nízký/neměřitelný haptoglobin, nekonjugovaná hyperbilirubinémie, nejsou přítomny autoprotilátky proti erytrocytům – negativita Coombsova testu). Průtoková cytometrie je dnes považována za zlatý standard pro diagnostiku PNH. Využívá různé monoklonální protilátky a speciální činidlo zvané fluorescenční aerolysinové činidlo (FLAER), které se váže přímo na glykosylfosfatidyl-inositol (GPI) ukotvené proteiny. Tento test je schopen s vysokou citlivostí a specifícností vyhodnotit celou řadu proteinů ukotvených v GPI, zejména CD55 a CD59. Při průtokové cytometrii jsou identifikovány všechny GPI negativní erytrocyty, monocyty a granulocyty. Červené krvinky PNH se dále označují na typ 1, 2 nebo 3, přičemž erytrocyty typu 1 mají normální expresi kotevních proteinů GPI, typ 2 má částečný nedostatek a typ 3 postrádá všechny kotevní proteiny GPI.

Rozlišujeme 3 typy klinického obrazu PNH:

1. Klasická PNH.
2. PNH s jinou poruchou kostní dřeně (KD): U PNH s poruchou KD je prokázána hemolýza i primární porucha kostní dřeně. Mezi nejčastější poruchy KD, které se vyskytují u PNH, patří aplastická anémie (AA), myelodysplastický syndrom (MDS) a primární myelofibróza (PMF).
3. Subklinická PNH. U subklinické PNH nejsou klinické ani laboratorní známky hemolýzy.

Léčba a prognóza: V minulosti byla léčba PNH převážně podpůrná. Pacienti dostávali krevní transfuzi a suplementaci železa při opakované hemolýze a anémii. Byla jim podávána antitrombotická profylaxe k prevenci trombózy. V případě komplikací s kostní dřeně se nabízela alogenní transplantace kostní dřeně. Alogenní transplantace krvetvorných kmenových buněk je dnes indikována jen u mladších cypopenických pacientů.

Základem současné léčby PNH patří léky blokující alternativní cestu komplementu. Jedná se léky blokující buď terminální část komplementové kaskády (C5) – eculizumab a ravulizumab nebo proximální část komplementové kaskády (C3) – pegcetakoplan. Zavedení těchto preparátů je spojeno s více než 50% snížením potřeby transfuzí a téměř 70% snížením rizika trombotických příhod a významných nežádoucích cévních komplikací.

Eculizumab funguje tak, že způsobuje inhibici faktoru C5. Všechny cesty komplementu způsobují tvorbu MAC (*membrane attack*

complex). Eculizumab brání C5 v přeměně na faktory C5a a C5b. Tím účinně inhibuje tvorbu MAC a komplementem zprostředkovanou lýzu. V některých případech je léčba refrakterní a je spojena se zvýšeným rizikem zapouzdřených bakteriálních infekcí. Proto musí být pacienti před zahájením léčby eculizumabem, kromě každodenní perorální antibiotické profylaxe, očkováni proti neisseriím. Přibližně u 11–20 % pacientů užívajících eculizumab může dojít k průlomové hemolýze v důsledku nedostatečné inhibice komplementu. Ravulizumab má proti eculizumabu 3–4× delší poločas rozpadu a vyžaduje dávkování každých 8 týdnů. Ukazuje se, že ve srovnání s eculizumabem je nákladově efektivnější. Má méně epizod průlomové hemolýzy a z hlediska účinnosti a bezpečnostního profilu není horší než eculizumab. Pegcetacoplan blokuje tzv. proximální část komplementové kaskády (C3). Tato blokáda vede jednak k účinnému zablokování distální cesty. Současně se ukazuje, že v části případů může být přítomna extravaskulární hemolýza při aktivaci C3d na povrchu erytrocytů, která je pegcetacoplanem inhibována. Jedná se o vysoce efektivní lék indikovaný při selhání blokády C5. Výhodou je možnost podkožní aplikace. V současné době se zkoumá mnoho dalších léčebných postupů s monoklonálními protilátkami anti-C5. Další projekty vývoje nové terapie se zaměřují na další cíle v komplementové kaskádě – inhibitory C1 a inhibice faktoru D.

Prognóza: Zavedení blokátorů C5 vedlo k podstatnému zlepšení kontroly nad PNH. Vedle snížení transfuzní závislosti, dochází též k významné redukci trombotických příhod, které bývaly hlavní příčinou úmrtí.

Literatura

- Brodsky RA. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood*. 2014;124(18):2804–2811.
- Berentsen S, Hill A, Hill QA, Tvedt THA, Michel M. Novel insights into the treatment of complement-mediated hemolytic anemias. *Ther Adv Hematol*. 2019;10:2040620719873321.
- Brodsky RA, Peffault de Latour R, Rottinghaus ST, et al. Characterization of breakthrough hemolysis events observed in the phase 3 randomized studies of ravulizumab versus eculizumab in adults with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Haematologica*. 2021;106(1):230–237.
- Hill A, Kelly RJ, Hillmen P. Thrombosis in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood*. 2013;121(25):4985–4996.

IMUNITNÍ TROMBOCYTOPENIE – AKTUÁLNÍ PŘÍSTUPY K DIAGNOSTICE A LÉČBĚ DOSPĚLÝCH PACIENTŮ

Hluší A., Procházková J.

Hemato-onkologická klinika LF UP a FN Olomouc

V posledních letech lze v přístupu k péči o pacienty s imunitní trombocytopenií pozorovat zřetelný vývoj, který odráží pokroky v objasnění etiopatogeneze a přibývajících zkušeností s diagnostickými a zvláště novými léčebnými možnostmi. Uvedený vývoj reflektují poslední mezinárodní doporučení i aktualizovaná národní doporučení.

Diagnostika ITP: V současné době není k dispozici jednoznačný laboratorní či klinický parametr určující dg. ITP, stanovení diagnózy zůstává stále založeno na principu per exclusionem. Kritérium izolovaného poklesu trombocytů pod $100 \times 10^9/l$ se nemění. Primární ITP předpokládá vyloučení jiné příčiny či onemocnění podmiňujícího trombocytopenii. Sekundární ITP může být součástí řady stavů, k jejichž průkazu či vyloučení využíváme širokou paletu vyšetření. Vedle základních testů doporučení uvádějí vhodná doplňková vyšetření (zahrnují i nezralou frakci trombocytů, testování infekce H-pylori) a vyšetření vhodná ve specifických případech (mj. antitrombocytární protilátky, vyšetření KD vč. metod k posouzení přítomnosti klonálního onemocnění).

Terapie: Cílem léčby je dosažení bezpečné a stabilní hladiny trombocytů a tím zabránění vzniku krvácení. Souběžně se snažíme o minimalizaci vedlejších účinků léčby a maximální profit pro kvalitu života pacienta. Léčba dospělých pacientů je indikována při snížení počtu krevních destiček pod $20\text{--}30 \times 10^9/l$. V případě přítomnosti krvácivých projevů se terapie indikuje i při hodnotách vyšších. Kládn je důraz na zapojení pacienta do rozhodnutí o zahájení léčby, individuálně se zohledňuje životní styl, přítomnost rizik pro krvácení a preference nemocného.

Iniciální léčba nově dg. ITP: Kortikosteroidy zůstávají základní léčebnou modalitou 1. linie. Využívá se Prednison v dávce 1 mg/kg. Nově je kládn důraz 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. U části pacientů je přínosná udržovací dlouhodobá léčba, za tolerovatelnou denní dávku prednisonu se považuje max. 5 mg/d. Alternativou k prednisonu je podání Dexmethasonu 40 mg/d 4 dny s opakováním do 3 cyklů. *Intravenózní imunoglobuliny (IVIG)* se užívají při KI kortikosteroidů, v těhotenství, v emergentních situacích. Doporučená dávka je 1–2 g/kg, léčbu lze aplikovat dle několika schémat.

Léčba 2. linie: V rámci terapie 2. linie lze volit z více možností. V této fázi onemocnění 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 jako jsou *agonisté trombopoetického receptoru (TPO-RA)* a *rituximab*. Účinnost a bezpečnost TPO-RA byla ověřena v randomizovaných klinických studiích a v praxi je s jejich použitím již dostatek zkušeností. K dispozici jsou tři látky. *Romiplostim*, *Eltrombopag* a *Avatrombopag*, první dva mají dostatek dat i pro časnější fáze nemoci. TPO-RA vykazují dobrý efekt u nemocných před i po splenektomii. Většinou jde o terapii dlouhodobou, která umožní redukci nebo úplné vysazení jiné terapie. Nová data prokazují, že až u 30 % léčených může být dosaženo setrvalé odpovědi i po vysazení terapie, pravděpodobnější je u použití TPO-RA v časnější fázi ITP. U pacientů, kteří preferují pokus o navození remise krátkodobou léčbu lze využít rituximab. Léčebné odpovědi je dosaženo u 60 % pacientů, dlouhodobě přetrvává u 20–30 % nemocných.

Léčba refrakterní ITP: Za refrakterní ITP je v současné době považováno onemocnění s krvácivými projevy a velmi nízkým počtem trombocytů, kde selhaly 2 nebo více léčebných linií. Mezi hlavní principy léčebného přístupu u těchto nemocných patří:

použití TPO-RA příp. rituximabu, pokud nebyly ještě použity, záměna jednotlivých typů TPO-RA, možnost kombinace TPO-RA s malou dávkou kortikosteroidu event. Imunosupresivem, použití fostamatinibu. V pokročilých liniích léčby lze zvažovat léčbu imunosupresivy či chirurgický přístup – splenektomii. Fostamatinib je indikován u pacientů s chronickou ITP refrakterní k jiným způsobům léčby, působí skrze inhibici splenické tyrosinkinázy, což vede k redukci slezinné destrukce krevních destiček. Celková odpověď u předléčených nemocných byla dosažena u 43 %, stabilní u 18 % pacientů. Ze spektra imunosupresiv jsou historické zkušenosti s více látkami (azathioprin, cyklofosfamid, cyklosporin A, danazol, dapson, mykofenolát-mofetil, vinca alkaloidy). Léčebné odpovědi jsou variabilní, použití může být spojeno s významnější lékovou toxicitou. Splenektomie je dnes zvažována po vyčerpání více typů léčebných modalit, doporučeno je její provedení postponovat min. 12 měsíců od stanovení diagnózy ITP. Operační zákrok je spojen se známými riziky chirurgickými a infekčními, důležitá je prevence komplikací, vč. obligatorní vakcinace. Splenektomie vykazuje vysoký podíl léčebných odpovědí (80–90 %), u 2/3 je odpověď trvalá.

Do budoucna lze očekávat rozšíření léčebných možností ITP. V rámci klinického výzkumu je testována řada nových látek. Jako perspektivní se jeví inhibitory neonatálního Fc receptoru makrofágu (rozanolixizumab, efgartigimod). Jiným výzkumným směrem je využití orálního inhibitoru BTK rilzabrutinibu, blokáce ligandu CD40 či C1 složky komplementu.

NOVINKY V PATOGENEZI A LÉČBĚ AUTOIMUNITNÍ HEMOLYTICKÉ ANÉMIE

Čermák J.

Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

Základním mechanismem vzniku autoimunní hemolytické anémie (AIHA) je tvorba autoprotilátek proti antigenům vlastní erytrocytární membrány. V poslední době však byla popsána řada mechanismů, jež se mohou spolupodílet na vzniku AIHA. Patří mezi ně genetické faktory, modifikace imunitních efektorových buněk, dysregulace cytokinů a kompenzatorní schopnost kostní dřeně. Asociace vzniku AIHA s HLA-B8 a BW6 lokusy, mutace některých genů (*KMT2D* a *CARD11*), polymorfismus genů cytotoxických T lymfocytů a mutace některých genů hrajících roli v primární imunodeficienci představují genetické faktory spojené se vznikem AIHA. Zkřížená reakce mezi antigenními determinantami infekčních agens s antigeny na povrchu erytrocytů může indukovat tvorbu protilátek proti erytrocytům. Obdobně, virové infekce nebo chronické lymfoproliferace mohou aktivovat produkci polyklonálních tzv. autoreaktivních B lymfocytů, které mohou porušit vývojem navozenou autotoleranci a tvořit autoprotilátky či indukovat produkci nefunkčních T regulačních lymfocytů a způsobit tak převahu Th17 lymfocytů podporujících autoimunní reakci. Dalším důležitým faktorem je porušení funkce systému tzv. *check point* inhibitorů (PDL-1 – programované

buněčné smrti, CTLA-4 – proteinu 4 asociovaného s cytotoxickými T-lymfocyty). Významnou roli hraje v patogenezi AIHA dysregulace cytokinů. Snížená produkce IFN- γ tlumí blokující účinek Th1 lymfocytů vznikajících z CD4+ naivních T buněk na Th2 lymfocyty (stimulované tvorbou IL-4, IL-6, IL-10 a IL-13). Tím není tlumen amplifikační účinek Th2 buněk na autoprotilátkami způsobenou autoimunitní chorobu. Zvýšená hladina TGF- β stimuluje diferenciaci Th17 lymfocytů, jež rovněž udržují zánětlivou a autoimunní odpověď.

Při rozvoji AIHA se uplatňuje jako extravaskulární, tak intravaskulární hemolýza. U AIHA s tepelnými protilátkami dochází k fagocytóze erytrocytů s navázaným IgG ve slezině, u AIHA s chladovými protilátkami pak k fagocytóze erytrocytů s navázanou C3b složkou komplementu v játrech. Intravaskulární hemolýza vzniká aktivací komplementu autoprotilátkami s tvorbou terminálního membránu aktivujícího komplexu. V diagnostice AIHA hraje stále zásadní roli vyšetření přímého a nepřímého antiglobulinového testu (viz tabulka).

Současný přístup k léčbě nemocných s hemolytickou anémií vychází ze snahy maximálně redukovat dlouhodobou léčbu kortikosteroidy, jež je spojena s řadou nežádoucích účinků. Prednison je stále lékem 1. linie, ukázalo se, že vyšší iniciální dávka než 1mg/kg nemá aditivní efekt, stejně jako delší iniciální léčba než 21 dní. Dávka 20mg/den po dobu delší než měsíc při nedostatečné odpovědi je již spojena s možným rozvojem závažných vedlejších účinků. Recentní konsensus odborníků z roku 2019 definuje jako kompletní odpověď normalizaci hodnot Hb, počtu retikulocytů a hodnot jaterních testů, jako odpověď pak vzestup hodnot Hb o ≥ 20 g/l a nezávislost na podávání transfuzí. Na monoterapii Prednisone odpoví až 80 % nemocných, ale u 60 % dochází ke ztrátě odpovědi při redukci dávek a 12 měsíců přetrvává odpověď u cca 35 % nemocných. Kombinace prednisonu s rituximabem v 1. linii léčby zvyšuje odpověď po 1 roce na 70–75 % a je doporučena u nemocných se závažnějším průběhem choroby a komorbiditami. Rituximab je lékem 2. linie léčby, odpověď delší než 36 měsíců je přítomna u 70–75 % nemocných a při ztrátě odpovědi je možno podat i druhý léčebný cyklus. Místo splenektomie v léčbě wAIHA je diskutováno. Splenektomie je efektivní ve 2. linii léčby zejména u mladších nemocných, kde 3 roky přežívá v kompletní remisi 70–80 % nemocných. Riziko možných trombotických a infekčních komplikací představuje 10–15 %, a je důvodem, proč bývá splenektomie odsunována do 3. linie léčby a odmítána řadou nemocných. Krom tradičních imunosupresiv (azathioprin, cyklofosfamid, cyklosporin, mykofenolát mofetil) je v léčbě zkoušena celá řada léků.

Fostamatinib je inhibitorem splenické tyrosin kinázy, blokuje destrukci erytrocytů makrofágy a tlumí aktivaci B lymfocytů. Přípravek by efektivní u více než 40 % nemocných ve studii fáze II, ale randomizovaná studie neprokázala signifikantní efekt vůči podávání placeba. Nipocalimab je IgG1 monoklonální protilátka proti neonatálnímu Fc receptoru blokující jeho efekt na ochranu protilátek proti degradaci v lysozomech a jejich recirkulaci. Řada studií se zabývá léčbou namířenou proti B lymfocytům. Monoklonální protilátky namířené proti CD20 (ofatumumab), proti CD52 (alemtuzumab) či proti CD38 (daratumumab), jsou zkoušeny zejména u sekundární AIHA stejně jako inhibitory B buněčných receptorů (inhibitor

Bcl2 venetoclax, inhibitor BTKi ibrutinib, inhibitor PI3K δ i parsaclisib). Proteasomový inhibitor bortezomib tlumí tvorbu autoprotiláték.

U anemických nemocných s chorobou z chladových protilátek, kteří vyžadují léčbu, nemá efekt ani prednison, ani splenektomie. Standardní léčbou je podání rituximabu v obvyklé dávce (375 mg/m² 1x týdně 28 dní), na tuto léčbu odpoví cca 50 % nemocných, u nemocných s nedostatečnou odpovědí je možno rituximab kombinovat s bendamustinem (90 mg/m² D1+2 ve čtyřech 28denních cyklech). Vzhledem k tomu, že IgM protilátka aktivuje koagulační kaskádu komplementu vazbou na jeho C1 složku, jsou v léčbě CAD zkoušeny inhibitory aktivace proximální části komplementu. Sutimlimab blokuje vazbou s C1s enzymem aktivaci komplementu iniciovanou C1 složkou. Ve studii fáze II odpovědělo

protrahovaným vzestupem Hb > 15 g/l a nezávislostí na jakékoli další léčbě 73 % nemocných, studie fáze III, t.č. probíhá. Pegcetacoplan modifikuje konfiguraci C3 složky komplementu a tím inhibuje tvorbu C3 konvertázy. I u anemie z chladových aglutininů jsou zkoušeny tyrozin kinázové inhibitory (ibrutinib) a Bcl2 inhibitory (venetoclax).

Literatura

Barcellini W, Zaninoni A, et al. New insights in autoimmune hemolytic anemia – From Pathogenesis to Therapy. J Clin Med. 2020;9:1–19.

Jäger U, Barcellini W, et al. Diagnosis and treatment of autoimmune hemolytic anemia in adults: Recommendations from the First International Consensus Meeting. Blood Reviews 2020;41:100648.

Kuter DJ. Warm autoimmune hemolytic anemia and the best treatment strategies. Hematology 2022, Educational program of the 64th ASH Annual Meeting:105–112.

Tabulka. Čermák J.

Typ	Třída	Optimální teplota	Specifita	Přímý AG test	RBC eluát
wAIHA	IgG (IgA)	37 °C	Rh systém (panreaktivní)	IgG +/- C3	IgG
CAD	IgM	4 °C	I > i > Pr	C3	nereaktivní
smíšená AIHA	IgG, IgM	4 °C + 37 °C	panreaktivní + I/i reaktivní	IgG + C3	IgG
PCH	IgG	reakce 4 °C hemolýza 37 °C	P antigen	C3 DT test	nereaktivní

AG – antiglobulinový; CAD – choroba z chladových aglutininů; DT – Donath-Landsteinerův test; PCH – paroxysmální chladová hemoglobinurie; wAIHA – AIHA s tepelnými protilátkami

2. WIEDERMANNOVA PŘEDNÁŠKA

MONOKLONÁLNÍ GAMAPATIE KLINICKÉHO VÝZNAMU

Adam Z.

Interní hematologická a onkologická klinika LF MU a FN Brno

V 60. letech minulého století zavedl Jan Waldenström termín „**benigní monoklonální gamapatie**“ pro popis vyšetřovaných osob, u nichž laboratorně prokázal přítomnost monoklonálního imunoglobulinu při absenci klinických příznaků i morfologického průkazu maligní choroby typu mnohočetného myelomu, Waldenströmovy makroglobulinémie, nebo jiné maligní lymfoproliferace [1]. A tento termín se začal celosvětově užívat v medicínské literatuře.

V roce 1978 navrhl Robert Kyle změnu termínu „benigní monoklonální gamapatie“ na nový termín „**monoklonální gamapatii nejistého významu (monoclonal gammopathy of undetermined significance – MGUS)**“. Ve své práci popsal sledování skupiny 241 osob s benigní monoklonální gamapatií, která se v mnohých případech transformovala v průběhu sledování v mnohočetný myelom (MM), v morbus Waldenström, anebo v AL-amyloidózu. Frekvence transformací monoklonální gamapatie nejistého významu (MGUS) v maligní chorobu byla v tomto souboru 1,5 % za rok. Vzhledem k této nejisté budoucnosti lidí s „benigní monoklonální gamapatií“ navrhl Kyle používat termín „monoklonální gamapatie nejistého významu“ [2]. Tento termín byl přijat světovou hematologickou komunitou, je trvale používán a dnes již má i svůj kód v Mezinárodní klasifikaci nemocí, D-478.

V roce 2001 popsal Bradwell a spoluautoři metodou stanovení volných lehkých řetězců v séru [3]. Vyšetření volných lehkých řetězců je dnes již standardní součástí vyšetření u mnohých chorob. V roce 2010 byl doplněn termín „**light-chain monoclonal gammopathy of undetermined significance (LC-MGUS)**“ neboli monoklonální gamapatie nejistého významu tvořená pouze lehkými řetězci. Později bylo toto kritérium doplněno o odpad Bence Jonesovy bílkoviny v moči: odpad do 0,5 g/24 h, čím se odliší od jednotky zvané „idiopatická Bence-Jonesova proteinurie“ (Bence Jonesova bílkovina \geq 0,5 g/24 h), která je již spojena s podstatně vyšším rizikem transformace do MM [4].

V letech 2000–2020 se podstatně rozšířilo poznání velmi pestrých forem poškození organismu monoklonálním imunoglobulinem. Četné popisy případů a malých sérií pacientů dokumentovaly skutečnost, že klonální plazmatické buňky či lymfoplazmocytární buňky, mohou v některých případech produkovat pro organismus toxický monoklonální imunoglobulin (M-Ig), který může poškozovat člověka, i když počtem buněk a pomalou proliferací jde o malý nemaligní klon, který by pro svoji nepočetnost a nevelkou koncentraci monoklonálního imunoglobulinu nevyžadoval žádnou léčbu.

Profesor Giuseppe Merlini již v roce 2006 tyto situace popsal termínem „*dangerous small B-cell clone*“ neboli nebezpečný malý

klon, odvozený z B-linie, který člověku ubližuje a případně jej zabíjí [5]. A toto poznání vedlo k testování „*clone oriented therapy*“ pro léčbu těchto stavů.

V posledních 20 letech byly popsány další nové formy (jednotky) poškození organismu monoklonálním imunoglobulinem či jeho částmi. Zjistilo se, že nejčastěji jsou monoklonálním imunoglobulinem poškozovány ledviny, kůže nebo nervový systém, a pro tyto nejčastější formy vznikla skupinová pojmenování, která se objevují v medicínské literatuře:

- „*monoclonal gammopathy of cutaneous significance*“ [6];
- „*monoclonal gammopathy of renal significance*“ [7];
- „*monoclonal gammopathy of neurological significance*“ [8].

V roce 2018 kolektiv odborníků zaměřených na oblast monoklonálních gamapatií, mezi nimiž byl opět Robert Kyle z Mayo Clinic a další známé osobnosti z USA a Evropy, navrhl nový zastřešující termín, „**monoclonal gammopathy of clinical significance (MGCS), neboli – monoklonální gamapatie klinického významu**“. Tento název vznikl jako mezinárodní konsenzus odborníků na monoklonální gamapatie [9].

Termín „monoklonální gamapatie klinického významu“ je zastřešující název (deštník) pro velkou skupinu patologických stavů, v jejichž etiopatogenezi má zásadní roli monoklonální imunoglobulin nebo jeho části a u nichž se osvědčila léčba potlačující tvorbu toxického monoklonálního imunoglobulinu. Má tedy i svůj dopad pro terapii.

Návrh nové klinické jednotky MGCS byl poprvé zveřejněn v roce 2018 [9]. Edukační kniha, vydávaná pravidelně u příležitosti sjezdů Americké hematologické společnosti, obsahovala v roce 2020 kapitolu věnovanou této jednotce [10]. Termín MGCS byl tedy akceptován Americkou hematologickou společností.

Poměrně velký počet publikací s tématem „*monoclonal gammopathy of clinical significance*“, který se objevil po roce 2020, signalizuje přijetí tohoto skupinového označení mezinárodní odbornou veřejností. Stanovení diagnózy „*monoklonální gamapatie klinického významu*“ jehož definici uvádí tab. 1 je v mnoha případech indikací k cílené léčbě.

Fernand a spoluautoři v první publikaci z roku 2018 jednotku MGCS členili dle známého či předpokládaného patofyziologického mechanismu poškození organismu [8]. Toto členění je vtěsnáno do tab. 2A a 2B. Jejich dělení obsahuje tyto podskupiny:

- poškození organismu vzniklá vlivem depozit M-Ig, nebo jeho částí, ve formě amorfní, krystalické, mikrotubulární anebo ve fibrilární formě;
- poškození organismu vzniká protilátkovou aktivitou M-Ig namířenou proti tkáňovým antigenům (autoantigenům);
- poškození organismu vzniká tvorbou imunitních komplexů, jejichž součástí je M-Ig s následnou aktivací komplementu;

Tab. 1. Definice monoklonální gamapatie klinického významu (*monoclonal gammopathy of clinical significance – MGCS*).

V histologickém a cytologickém vyšetření kostní dřeně není nález odpovídající morfologickým kritériím MM či MW anebo jiné maligní lymfoproliferaci, počet klonálních plazmocytů je, stejně jako u MGUS, nižší než 10 %.

Je přítomna kompletní molekula M-Ig nebo alespoň klonální lehké řetězce.

V etiopatogenezi poškození organismu byla prokázána klíčová role monoklonálního imunoglobulinu. V případech potlačení jeho produkce reparační mechanismy vedou k ústupu patologických změn [9,10].

- poškození organismu vzniká zvýšenou tvorbou cytokinů (interleukinů) a M-Ig s touto zvýšenou tvorbou nějak souvisí, podrobnější patofyziologie těchto procesů není známa;
- patofyziologie poškození organismu zatím vůbec není známa.

Druhé možné členění MGCS je dle dominující orgánové či tkáňové lokalizace poškození. To bylo použito v jiné publikaci z roku 2018 taktéž autorů z Mayo Clinic a je obsaženo v tab. 3 [11].

Zavedení klinického termínu MGCS má zásadní význam pro terapii, označuje jednotky, které ve většině případů jsou léčitelné stejnými léky, jako maligní choroby tvořící stejný typ monoklonálního imunoglobulinu (mnohočetný myelom nebo Waldenströмова makroglobulinémie), to již uvedli autoři tohoto návrhu v roce 2018 v názvu své práce:

„Monoclonal gammopathy of clinical significance: a novel concept with therapeutic implications“ [9,10].

Přijetí této diagnózy do mezinárodní klasifikace nemocí by vznikla i nová diagnóza pro testování a registraci nových léčiv! V současnosti je vždy nutno u těchto chorob žádat revizní lékaře o schválení úhrady léčby.

Léčba poruch spadajících pod zastřešující termín „monoklonální gamapatie klinického významu“: V současnosti je v případech MGCS doporučována „*clone-directed strategy*“ neboli léčba, která cílí na nebezpečný malý B-lymfocytární či plazmocytární klon, který tento toxický M-Ig produkuje [9,10]. Informace o léčbě se odvozují z publikovaných zkušeností s léčbou jednotlivých pacientů či malých souborů nemocných. Pouze léčba pacientů s primární systémovou AL amyloidózou byla testována v randomizovaných klinických studiích a tyto zkušenosti je možno vztáhnout i na jiné jednotky z této skupiny.

Druhá možnost léčby v případech poškození organismu kompletní molekulou monoklonálního imunoglobulinu, který svojí vazbou na tělu vlastní antigeny a buňky aktivuje patologické procesy, je opakované podávání intravenózních imunoglobulinů (IVIG) v imunomodulačních dávkách [9,10].

Léčba nitrožilními imunoglobuliny: Imunomodulační dávka nitrožilně aplikovaných IVIG je 2 g/kg hmotnosti pacienta, zatímco substituční dávka, občas podávaná pacientům s mnohočetným myelomem, B-CLL či Waldenströmovou makroglobulinémií, je obvykle jen 20 g 1× za 28 dní

Léčba imunomodulační dávkou IVIG je léčbou udržovací, a proto je nutno ji aplikovat dlouhodobě, obvykle v 28denních intervalech,

do doby, než se objeví jiný účinný lék, který pomůže eradikovat monoklonální imunoglobulin. Efekt léčby imunomodulačními dávkami IVIG se vysvětluje inhibicí autoprotilátkové aktivity monoklonálního imunoglobulinu, zásahem do komplementového systému a modifikací buněčné odpovědi.

„Cílená léčba“ („*clone-directed strategy*“): Léčba může „cílit“ na nebezpečný malý klon, který tento toxický M-Ig produkuje. A zde je třeba rozlišit gamapatie tvořící monoklonální IgM, tedy lymfoplazmocytární typ MGUS od monoklonálních gamapatií dalších typů. V případě lymfoplazmocytárního typu MGUS jsou základem léčby antiCD20 protilátky (rituximab, případně obinutuzumab) s kortikoidy a případně cyklofosfamidem nebo bendamustinem. V případě non-IgM MGUS jsou popsány léčebné úspěchy po stejných léčích, jaké se aktuálně používaly a používají pro léčbu mnohočetného myelomu. V roce 2023 se za nejučinnější léčbu považují kombinace obsahující daratumumab ale k dispozici budou i další terapeutické antiCD38 monoklonální protilátky, vhodné i pro diagnózu MGCS. Pro malou incidenci těchto chorob jsou informace o léčbě dostupné pouze z popisů jednotlivých případů a malých souborů pacientů. Pouze v případě AL-amyloidózy, která ze skupiny chorob patřících pod skupinové označení „*monoclonal gammopathy of clinical significance*“ je nejčastější, se podařilo prokázat v randomizovaných klinických studiích lepší účinek léčebné kombinace s daratumumabem oproti léčbě neobsahující daratumumab, a to jak z hlediska hematologické léčebné odpovědi, tak z hlediska orgánových léčebných odpovědí.

Závěr: Termín „monoklonální gamapatie klinického významu – MGCS“ byl navržen v roce 2018 [9,10] klinickými lékaři a obsahuje podstatně více jednotek než 5. vydání WHO klasifikace plazmocelulárních chorob z roku 2022 [12].

Shrnutí všech forem poškození monoklonálním imunoglobulinem pod zastřešujícím termínem MGCS by mělo zlepšit znalost epidemiologie MGCS díky nově vznikajícím registrům.

Přijetí této skupinové diagnózy mělo vyústit v registraci nových léků i pro tento typ chorob, protože pacienti s poškozením organismu monoklonálním imunoglobulinem mají prospěch z nejučinnější léčby potlačující tento malý nemaligní klon, podobně jako pacienti s mnohočetným myelomem nebo s Waldenströmovou makroglobulinémií.

Literatura

1. Waldenström J. The occurrence of benign, essential monoclonal (M-type) non macromolecular hyperglobulinemia and its differential diagnosis. IV studies in the gammopathies. *Acta Med Scand.* 1964;176:345–365.

2. Kyle RA. Monoclonal gammopathy of undetermined significance. Natural history in 241 cases. *Amer J Med.* 1978; 64: 814–826.
3. Bradwell AR, Carr-Smith HD, Mead GP, et al. Highly sensitive, automated immunoassay for immunoglobulin free light chains in serum and urine. *Clin Chem.* 2001;47(4):673–680.
4. Dispenzieri A, Katzmann JA, Kyle RA, et al. Prevalence and risk of progression of light-chain monoclonal gammopathy of undetermined significance: a retrospective population-based cohort study. *Lancet.* 2010;375:1721–1728.
5. Merlini G, Stone J. Dangerous small B-cell clones. *Blood.* 2006; 108(8): 2520–2530.
6. Lipsker D. Monoclonal gammopathy of cutaneous significance: review of a relevant concept. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2017;31(1):45–52. doi: 10.1111/jdv.13847.
7. Amador K, Peeters H, Minnema MC, et al. Monoclonal gammopathy of renal significance (MGRS) histopathologic classification, diagnostic workup, and therapeutic options. *Neth J Med.* 2019;77(7):243–254.
8. Visentin A, Pravato S, Castellani F, et al. From Biology to Treatment of Monoclonal Gammopathies of Neurological Significance. *Cancers (Basel).* 2022;14(6):1562. doi: 10.3390/cancers14061562.
9. Fermand JP, Bridoux F, Dispenzieri A, et al. Monoclonal gammopathy of clinical significance: a novel concept with therapeutic implications. *Blood.* 2018;132(14):1478–1485.
10. Dispenzieri A. Monoclonal gammopathies of clinical significance. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program.* 2020;2020(1):380–388. doi: 10.1182/hematology.2020000122.
11. Go RS, Rajkumar SV. How I manage monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Blood.* 2018 Jan 11;131(2):163–173. doi:10.1182/blood-2017-09-807560.
12. Alaggio R, Amador C, Anagnostopoulos I, et al. The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: Lymphoid Neoplasms. *Leukemia.* 2022;36(7):1720–1748. doi:10.1038/s41375-022-01620-2.

Tab. 2A. Monoklonální gamapatie klinického významu způsobená depozity kompletní molekuly monoklonálního imunoglobulinu anebo její části v organizované anebo neorganizované formě. Upraveno dle definující publikace Fermand et al. (2018) [9].

Organizovaná struktura depozit M-Ig			
Klinická jednotka	Ultrastruktura depozit	Charakteristika vyvolávající monoklonální gamapatie	Nejčastěji postižené orgány
Al-amyloidóza	fibrilární	lambda LC (75 %) kappa LC 25 % M-IgM pod 10 %	systémová (srdce v 80 %, ledviny v 70 %)
typ I kryoglobulinémie	mikrotubulární nebo krystalická	M-IgG nebo M-IgM	systémové kůže +++m, ledviny, periferní nervy
imunotaktoidní glomerulopatie	mikrotubulární	CLL-like klonální proliferace v 50 %	ledviny
získaný Fanconiho syndrom	krystalická	kappa FLC > 90 % část VK1	ledviny, proximální tubulopatie
<i>crystal storing histiocytosis</i>	krystalická	kappa FLC	systémové (ledviny, kornea, klouby, lymfatická tkáň)
krystalová keratopatie	krystalická	M-IgG	kornea
Neorganizovaná struktura depozit M-IgM			
MIDD		LCDD: (pouze FLC, v 80 % kappa VK1 a VK4) HCDD: truncated HC obvykle gama 1 a gama 3 LHCDD: FLC+truncated HC	systémové (ledviny ve 100 % depozita v glomerulární a basální membráně, játra ve 30 % srdce ve 30 %)
<i>Proliferative Glomerulonephritis with Monoclonal Immunoglobulin Deposits</i>	neorganizovaná depozita	obvykle M-IgG3	ledviny
acroglobulinosis		M-IgM	kůže (dermis)

CLL – chronická lymfatická leukémie; GOMMID – glomerulonefritida s organizovanými mikrotubulárními depozity M-IgM; HCDD – heavy-chain deposition disease; LCDD – light chain deposition disease; LHCDD – light- and heavy-chain deposition disease

Tab. 2B. Monoklonální gamapatie klinického významu a její projevy způsobené vazbou M-Ig na autoantigeny a dalšími mechanismy. Upraveno dle publikace Fermand et al. (2018) [9].

Protilátkové aktivity	Mechanismus	Hlavní charakteristika monoklonální gamapatie	Nejčastěji postižené orgány
typ II smíšená kryoglobulinémie	monoklonální IgM se váže na polyklonální IgG	M-IgM	imunitními komplexy způsobená vaskulitida s poškozením kůže, ledvin periferních nervů
získaný angioedém, získaný deficit C1 inhibitoru	C1 inhibitor	M-IgM	angioedém
<i>Von Willebrand disease</i>	protilátka proti vW faktoru aj.	M-IgM	krvácení
bulózní kožní onemocnění	vazba M-IgA na dermoepidermální junkci	M-IgA,	kožní puchýře typu pemphigu
<i>Cold Agglutinin Disease</i>	vazba M-IgM na erytrocyty	M-IgM	chladem indukovaná intravaskulární hemolýza
IgM periferní neuropatie	vazba M-IgM na antigeny periferních nervů (MAG)	M-IgM	ataxická polyneuropatie
CAP (complement alternative pathway activation)	nejasný mechanismus, zřejmě M-Ig namířený proti regulačnímu proteinu	M-IgG	ledviny
Nejasná souvislost M-Ig s nadprodukcí cytokinů			
POEMS syndrom	VEGF	lambda LC téměř vždy, v 50 % M-IgA osteosklerotická kostní ložiska	periferní nervy ve 100 %, ale i další manifestace
Zatím neobjasněné mechanismy			
<i>Capillary Leak Syndrome</i>		M-IgG, vzácně M-IgA	systémové
TEMPI syndrom		M-IgG	systémové
neutrofilní dermatóza		M-IgA > 80 % vyjma Sweet syndromu do této kategorie patří pyoderma gangrenosum, Sweet syndrom, Subcorneal Pustular Dermatitis a Erythema Elevatum Diutinum	kožní projevy různého typu
získané onemocnění „ <i>Cutis Laxa</i> “		M-IgG často společně s gama HCDD	kožní, ale i další plíce a trávicí trakt
skleromyxedém		M-IgG	kůže a další lokalizace
skleredém		M-IgG	pouze kůže
syndrom Schnitzlerové	získaná autoinflamatorní choroba s deregulací IL-1	M-IgM	kůže, systémové příznaky + osteosklerotická ložiska
<i>sporadic late onset nemaline myopathy</i>		dominantně M-IgM	poškození kosterních svalů
CAP – Complement Alternative Pathway; CANOMAD – Chronic Ataxic Neuropathy Ophthalmoplegia, Monoclonal IgM, Cold agglutinins, Antidysialosyl antibody; HCDD – Heavy-Cain Deposition Disease; POEMS – Polyneuropathy, Organomegaly, Endocrinopathy, Monoclonal gammopathy, Skin disorders; TEMPI – Teleangiectasia, Erythrocytosis with elevated erythropoetin level, Monoclonal Gammopathy, Perinephritic fluid collection, Intrapulmonary shunting			

Tab. 3. Členění poškození organismu monoklonálním imunoglobulinem dle dominující orgánové lokalizace. Upraveno dle Go RS a Rajkumar SV (2018) [11].

Název jednotky	Klinická charakteristika jednotky	Patofyziologie vzniku poškození
Kožní formy poškození organismu monoklonálním imunoglobulinem		
získaný angioedém, neboli získaný deficit C1 inhibitoru	opakované ataky angioedému bez kopřivky či pruritu	protilátky proti inhibitoru C1 esterázy
kryoglobulinémie	akrocyanóza, purpura, kožní ulcerace, periferní neuropatie, artralgie, glomerulonefritida	precipitace M-Ig nebo vazba M-IgM na polyklonální IgG v chladu s tvorbou imunokomplexů důsledkem jsou pak vaskulitidy či hyperviskozita
nekrobiotický xantogranulom Xantoma planum	žluto-oranžové papule/plaky někdy s ulcerací. Lokalizace na víčku způsobuje proptózu, ale lokalizace může být kdekoliv, játra, kardiopulmonální systém	nejasná, spekuluje se že M-Ig se váže na lipoproteiny a tyto komplexy akumulují pěníte histiocyty (<i>foamy cells</i>).
syndrom Schnitzlerové	ataky kopřivky s bolestí kostí, kožními změnami a známkami zánětlivé reakce,	nejasný mechanismus
skleromyxedém	voskovité papuly nebo plaky, artralgie, může být i restriktivní plicní porucha	nejasný, možná stimulační role M-Ig na tvorbu mucinu a fibrózy
skleredém	infiltrace podkoží mucinovými hmotami ztuhnutí kůže obstrukce	nejasný, možná stimulační role M-Ig na tvorbu mucinu a fibrózy, podobně jako u tyreoidní orbitopatie, kde je ale mucin produkován jen lokálně v orbitě
Cutis Laxa (volná kůže)	narušení elasticity kůže	nejasný mechanismus
Endokrinologické poškození monoklonálním imunoglobulinem		
inzulinový autoimunitní syndrom	epizodické stavy zmatenosti, pocení závrať, letargie, palpitace, křeče prostě známky hypoglykémie.	M-Ig se váže na inzulín. Výsledná hyperglykémie podporuje další uvolňování inzulínu nakonec pro nadbytek inzulínu dochází k hypoglykémii
Hematologické formy poškození monoklonálním imunoglobulinem		
získaný von Willebrandův syndrom	modřiny, krvácení z mukóz, krvácení do měkkých tkání vlivem snížené koncentraci faktoru 8	M-Ig namířený proti von Willebrandovu faktoru s jeho následným odstraněním nebo interference s jeho vazbou na trombocyty či kolagen
získaný atypický hemolyticko-uremický syndrom	anémie, selhání ledvin	M-Ig zasahuje do alternativní cesty aktivace komplementu
nemoc chladových aglutininů	akrocyanóza, aglutinace erytrocytů v chladu, intravaskulární hemolytická anémie, většinou IgMκ-MGUS či MW	M-IgM namířené proti antigenu erytrocytů Ii, v chladu dojde k navázání a akrocyanóze a na to naváže komplementem mediovaná hemolýza
TEMPI syndrom	teleangiektázie, erytrocytóza, zvýšená hladina erythropoetinu, MGUS, perinefrické kolekce tekutin a intrapulmonální zkraty	nejasná

Tab. 3 – pokračování. Členění poškození organismu monoklonálním imunoglobulinem dle dominující orgánové lokalizace. Upraveno dle Go RS a Rajkumar SV (2018) [11].

Název jednotky	Klinická charakteristika jednotky	Patofyziologie vzniku poškození
Poškození ledvin monoklonálním imunoglobulinem		
glomerulopatie vazbou protilátek na basální membránu	hematurie, proteinurie	protilátka proti basální membráně
C3 glomerulonefritida	hematurie, proteinurie	protilátka proti C3 konvertáze nebo faktoru B, nebo H nebo I komplementu, způsobující C3 depozita v glomerulech
nemoc denzních depozit (<i>dense deposit disease</i>)	hematurie, proteinurie	protilátka proti C3 konvertáze nebo faktoru B, nebo H nebo I komplementu, způsobující C3 depozita v glomerulech
fibrilární glomerulonefritida	hematurie, proteinurie, zhoršení funkce ledvin, obvykle při IgG-MGUS	fibrilární depozita M-Ig v glomerulech
imunotaktoidní glomerulonefritida (<i>immunotactoid glomerulonephritis</i>)	hematurie, hypertenze, proteinurie, zhoršení funkce ledvin, obvykle při IgG-MGUS	mikrotubulární depozita imunoglobulinů v glomerulech
proximální tubulopatie způsobená lehkými řetězci (<i>light-chain proximal tubulopathy</i>) sem patří i Fanconiho syndrom	aminoacidurie, hyperfosfaturie, normoglykemická glykosurie, proximální renální tubulární acidóza obvykle FLC MGUS typu FLC κ	přímé toxické poškození proximálních renálních tubulů volnými lehkými řetězci (FLC)
membránová nefropatie (<i>membranous nephropathy</i>)	IgG3κ-MGUS. Poškození glomerulární membrány s proteinurií	protilátka proti A2 receptoru fosfolipázy
choroba z ukládání monoklonálního imunoglobulinu (<i>monoclonal immunoglobulin deposition disease – MIDD</i>)	hematurie, hypertenze, proteinurie, renální poškození, nejčastěji u κ-MGUS	granulární depozita imunoglobulinů v glomerulech
progresivní glomerulonefritida s depozity M-Ig. (<i>progressive glomerulonephritis with monoclonal immunoglobulin deposits</i>)	hematurie, hypertenze, proteinurie, poškození funkce ledvin obvykle při IgG3κ-MGUS	granulární depozita imunoglobulinů v glomerulech
Neurologické poškození monoklonálním imunoglobulinem		
CANOMAD	chronická ataxie, neuropatie, oftalmoplegie, při IgM-MGUS, chladových aglutininech a anti-disialosylovým protilátkám	protilátky proti disialosyl gangliosidům
POEMS	polyneuropatie, organomegalie, endokrinopatie, kožní změny, nejčastěji λ-MGUS,	nejasná
demyelinizační senzitivně-motorická polyneuropatie	distální, demyelinizační, symetrická neuropatie (ataxie, postižení motorických vláken jen mírné), obvykle při IgM-MGUS	protilátka proti „myelin-associated glycoprotein – MAG“, gangliosidům nebo asialo-GM1
sporadická získaná nemalinová myopatie (<i>sporadic late-onset nemaline myopathy</i>)	svalová slabost a atrofie, která může vyústit v respirační selhání a kongestivní kardiální selhání	
Oční		
korneální depozita mědi (<i>corneal copper deposition</i>)	snížená zraková ostrost, difúzní nahnědlá zbarvení rohovky, hypercuprémie, často při IgG-MGUS	rohovková depozita M-Ig se silnou afinitou k mědi
krystalová keratopatie (<i>Crystalline keratopathy</i>)	Snížená zraková ostrost, opacita rohovky, nejčastěji při IgGκ-MGUS	korneální depozita M-Ig formujících krystalické struktury
Jiné formy poškození organismu monoklonálním imunoglobulinem		
<i>Acquired Capillary Leak Syndrome</i>	opakované ataky anebo chronický problém: hypovolemický šok s generalizovaným edémem a zvýšeným počtem erytrocytů v krevním obraze, způsobeným hemokonzentrací	nejasný mechanismus
histiocytóza s ukládáním krystalů imunoglobulinů, (<i>crystal-storing histiocytosis neboli monoclonal immunoglobulin storing histiocytosis</i>)	akumulace histiocytů s depozity imunoglobulinu v krystalické struktuře postižena bývá kostní dřen, exokrinní žlázy, ledviny, trávicí trakt, lymfatické uzliny a slezina	akumulace lehkých řetězců ve formě krystalických struktur v histiocytech

3. POSTGRADUÁLNÍ SEKCE 2

MOŽNOSTI V LÉČBĚ DIFUZNÍHO VELKOBUNĚČNÉHO LYMFOMU Z B LYMFOCYTŮ (DLBCL)

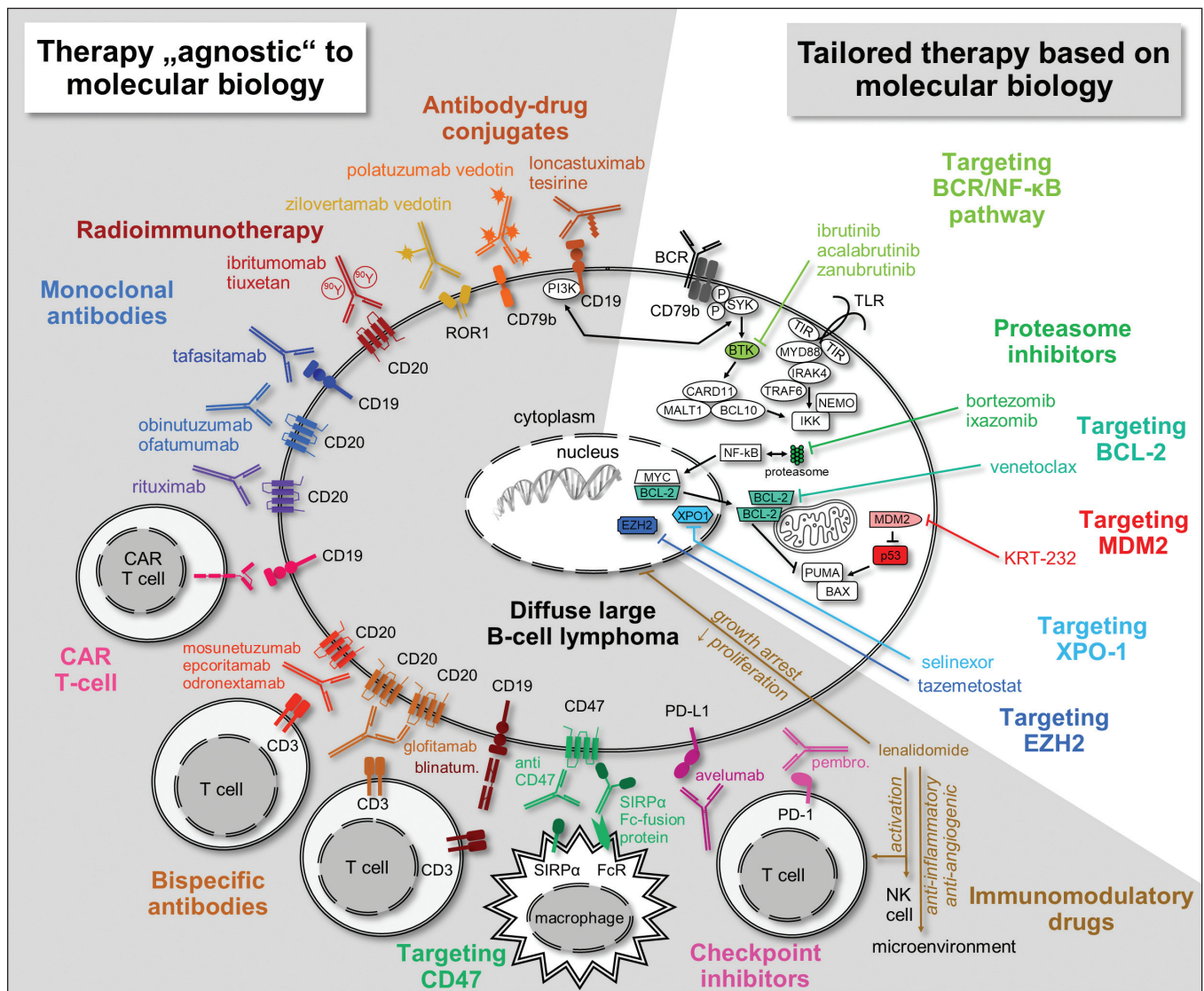
Trněný M.

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

Současnými metodami, standardně používaným imuno-chemoterapeutickým režimem R-CHOP, lze vyléčit zhruba 60–70 % nemocných s DLBCL. Drtivá většina všech pokusů o zlepšení výsledků léčby první linie zatím selhala, v poslední době se zdá, že novým standardem pro léčbu DLBCL bude kombinace polatuzumab-vedotin a R-CHP. V každém případě však bude zůstat 30–40 % nemocných, u kterých léčba selže. Jedním z důvodů je rezistence lymfomu, časná i pozdní

progrese lymfomu. Jedním ze základních problémů kontroly onemocnění je únik lymfomu z dohledu imunitního systému. Cest k překonání refraktérity lymfomové buňky je několik. V přehledu tyto cesty ukazuje obr. 1.

První cestou je aplikace cílené terapie založené na znalosti patologických, molekulárně biologických změn v drahách lymfomové buňky. Jako příklad můžeme uvést cílenou terapii zaměřenou na inhibici BTK (ibrutinib, acalabrutinib, zanubrutinib, pirtobrutinib), PI3K (idelalisib a další, zatím se zdá, že tato cesta nebude využívána), NFκB (bortezomib, lenalidomid), BCL2 (venetoclax), EZH2 (tazemetostat), MDM2 (KRT-232), XPO1 (selinexor) a další. Ze skupiny těchto léků zatím u žádného (s výjimkou lenalidomidu v kombinaci s tafasitamabem – viz níže) nebyl schváleno použití v klinické praxi.



Obr. 1. Trněný M. Možnosti terapeutického zásahu u DLBCL (modifikováno dle Vodička, Klener & Trněný, *Onco Targets Ther* 2022 Dec 6;15:1481–1501).

Druhou cestou je využití mechanismů, které nejsou cílené ve smyslu závislosti na mutaci, molekulárně biologické změny v lymfomové buňce. Zde můžeme najít několik cest.

Využití monoklonální protilátky jako nosiče buněčného jedu (cílená chemoterapie). K použití již byly schváleny polatuzumab vedotin (antiCD79b), loncastuximab tesirin (antiCD19) a slibně se jeví zilotamab vedotin (antiROR1). Testuje se také u vybrané podskupiny CD30 pozitivních DLBCL brentuximab vedotin (anti CD30).

Dalšími možnostmi je již zapojení imunitního systému, jeho aktivace. Sem lze zařadit následující cesty, když vybírám ty, které se již uplatňují nebo jsou blízko uplatnění v klinické praxi:

- Využití nahých protilátek proti B buněčným antigenům. Sem můžeme zařadit běžně používaný rituximab. Ostatní anti CD20 protilátky jako je ofatumumab, geneticky modifikovaný obinutuzumab se nepoužívají. Nově schválenou možností je použití tafasitamabu (anti CD19) v kombinaci s lenalidomidem (aktivuje T lymfocyty).
- Využití bispecifických protilátek (BiAb). Tento přístup je založen zejména na rukutování T lymfocytů s využitím vazby antiCD3 a cílového lymfomového antigenu antiCD20 nebo antiCD19. Průkopníkem byl blinatumomab (BiTE – Bispecific T-cell Engager), který se však u lymfomů neuplatňuje. Mezi již schválené BiAb patří antiCD3-antiCD20 mosunetuzumab (schválený pro folikulární lymfom), v první polovině roku se očekává schválení glofitamabu (pro DLBCL), probíhají studie v poměrně pokročilé fázi s epcoritamabem, odronextamabem a dalšími. Z protilátek zaměřených na jiné buňky, než T lymfocyty je možné zmínit mechanismus, kdy bispecifická protilátka je zaměřená na dva antigeny na povrchu lymfomové buňky – např. CD47 a CD19 a aktivuje pomocí Fc fragmentu na protilátkách závislé cytotoxické buňky (ADCC). K překonání *off target* nežádoucích účinků byl vytvořen koncept antiCD47 a antiCD20 bez Fc fragmentu, což vede k fagocytóze buněk exprimujících oba antigeny.
- Využití CAR T-cell – T lymfocytů vybavených chimerickým antigenním receptorem. Tento koncept znamenal jeden ze zásadních přelomů v terapii relapsů DLBCL. Pro terapii 2. linie je Evropě/ČR registrován přípravek liso-cel, pro terapii 3. a další linie přípravek liso-cel a tisa-cel. Při volbě této terapie je nutné velmi pečlivě zvážit řadu aspektů, tak aby léčba byla provedena v adekvátním timingu a u odpovídajícího pacienta.
- Využití inhibitorů imunitních kontrolních bodů (immune checkpoints inhibitors). Až na jednotku primárního mediastinálního B lymfomu nepřinesly studie testující imunitní tyto protilátky u DLBCL pozitivní výsledky. Ani původně slibné výsledky s použitím protilátky antiCD47 nebyly jednoznačně potvrzeny, a proto se hledají další cesty (viz např. výše uvedená bispecifická antiCD47 a antiCD19 (20) protilátka).

S otevírajícími se možnostmi léčit nemocné s využitím aktivace imunitního systému stále více vstupuje do popředí nutnost testovat sekvence jednotlivých léčebných kroků, vždy si klást otázku, jak zvolit co neúčinnější cestu a zároveň neblokovat možnost použití dalších kroků, ukáže-li se to nutné v budoucnu.

ENHANCING CURE FOR PATIENTS WITH ADVANCED HODGKIN LYMPHOMA

Bachanová V.

University of Minnesota

In this presentation we will review the most up-to-date evidence on the management of classical Hodgkin lymphoma (cHL) patients with advanced disease and current therapeutic landscape with emphasis on novel agents.

cHL is among the most curable malignancies in adults with 5-year overall survival approaching 80% in 2020. The standard treatment for advanced disease relies on multi-agent chemotherapy such as ABVD and BEACOPP and can be risk-stratified based on PET scan and early chemosensitivity. In past decade, the treatment paradigms for patients with Hodgkin lymphoma has been challenged by the discovery of novel immunotherapies and attempts to minimize the long-term toxicities.

Antibody drug conjugate brentuximab vedotin (BV) which targets CD30 antigen and a new class of antibodies which inhibit the programmed death ligand-receptor (PD-L) pathways in T-cell tumor interactions have been rationally designed for powerful antitumor killing. Agents BV, pembrolizumab and nivolumab have demonstrated remarkable single agent clinical efficacy in patients with relapsed/refractory cHL. Therapeutic margin, dosing, dose modification recommendations and side effects profile has been established and well described in the pivotal studies. Recently, Phase 3 randomized clinical trial Keynote-204 compared pembrolizumab to BV in patients who relapsed or were not candidates for AHCT. The results demonstrated superior progression-free survival and improved health related quality of life with pembrolizumab. We will also review results of clinical trials of novel agents combined with established chemotherapeutics in cHL patients who failed standard therapies.

Given the favorable tolerance and lack of genotoxic potential, novel agents have been eagerly evaluated in front-line setting. ECHELON 1 is randomized phase 3 practice changing trial which incorporated BV to front line chemotherapy (BV + AVD) for patients with advanced HL compared with Bleomycin + AVD. BV also replaced bleomycin in the most recent German Hodgkin Study Group HD21 clinical trial. SWOG S1826, a large randomized phase III trial of Nivolumab + AVD vs. BV + AVD is expected to enroll over 900 patients with newly diagnosed advanced stage HL. Results of this trial are expected to define a new standard of care for cHL front-line therapy.

About 20% of classic HL patients relapse after frontline therapy. Salvage chemotherapy and autologous hematopoietic stem cell transplant (AHCT) can expect to cure approximating 65% patients. AEHTERA trial applied the strategy of BV maintenance for up to 1 year post AHCT and demonstrated significant improvement in PFS. This strategy has been corroborated in recent real world retrospective analysis of large cohort of 880 AHCT recipients which included cHL patients from Czech Lymphoma Registry. This analysis independently confirmed that BV consolidation led to superior PFS and OS in patients

with at least one high risk feature such as extranodal disease, early relapse or lack of remission after front-line therapy.

Lastly, we will review the experimental therapies currently being developed for cHL patients with CPI and BV refractory disease and role of allogeneic HCT.

RELABOVANÝ A REFRAKTERNÍ FOLIKULÁRNÍ LYMFOM – NOVÁ GENERACE IMUNOTERAPIE

Procházka V.

Hemato-onkologická klinika LF UP a FN Olomouc

Folikulární lymfom (FL) je nejčastějším podtypem indolentního lymfomu, který představuje přibližně 20 % všech případů lymfomů ve Spojených státech a Evropě. Nemocní, kteří splňují kritéria tzv velké nádorové masy (*high tumor burden* – HTB) jsou indikováni k podání systémové chemoterapie (CHOP, bendamustin) s přidáním anti-CD20 monoklonální protilátky (rituximab, obinutuzumab) a ti, kteří dosáhnou léčebné odpovědi pak i k udržovací imunoterapii [1].

Historicky přispělo zavedení protilátek k významnému zlepšení výsledků úvodní terapie. Přes fakt, že věk nemocných při diagnóze dosahuje 63 let, 90 % pacientů nyní přežívá déle než 5 let a medián přežití dosahuje 14 let [2].

U většiny pacientů s FL nakonec dojde k relapsu onemocnění a možnosti léčby v tomto případě velmi závisí na stavu výkonnosti, tíži onemocnění, případné přítomnosti Richterovy transformace a délce trvání odpovědi po léčbě první linie. U pacientů, kteří dostávali chemoimunoterapii jako léčbu první linie FL, je progresse onemocnění do 24 měsíců od zahájení léčby (POD24) spojena s horšími výsledky (5leté OS, 73,5 % oproti 95,4 % u pacientů bez POD24). POD24 se vyskytuje přibližně u 20 % pacientů po chemoimunoterapii první linie [3].

Výběr léčby FL u nemocných s POD24 a u pacientů po více liniích terapie zůstává pro lékaře i pacienty výzvou. V současné době je pro léčbu FL ve druhé a třetí linii k dispozici nebo krátce před registrací řada cílených léčebných postupů od malých molekul (inhibitory PI3K kinázy idelalisib, copanlisib), imunomodulátory (lenalidomid), inhibitory EZH2 (tazemetostat) a zejména pak terapie založená na T-lymfocytech: CAR-T buněčná terapie a T-buňky aktivující bispecifické protilátky [4]. Právě bispecifické protilátky a CAR-T buněčná terapie představuje velmi nadějně léčebné postupy využívající imunitu nemocného sofistikovanějším způsobem než průvodní imunoterapie.

Axicabtagene ciloleucel (axi-cel) je autologní CAR T-buněčná terapie zaměřená na CD19, schválená ve Spojených státech a v Evropě pro léčbu relabovaného nebo refrakterního (R/R) FL ve třetí linii nebo později. Studie ZUMA-5 (NCT03105336) byla jednoramenná studie fáze 2 hodnotící axi-cel u R/R FL nebo lymfomu marginální zóny [5]. Zařazení pacienti absolvovali v mediánu 3 předchozích linie terapie. Do této studie bylo zařazeno 124 pacientů s FL, přičemž míra celkových

odpovědi (*overall response rate* – ORR) činila 94 % a míra kompletních odpovědi (*complete response* – CR) 79 %. Medián trvání odpovědi byl 38,6 měsíce při mediánu 30,9 měsíce sledování pacientů s FL. Srovnání výsledků srovnatelných (*propensity-score matching*) nemocných ze studie ZUMA-5 s nemocnými léčenými standardními postupy studie SCHOLAR-5 ukázalo jasný benefit CAR-T terapie nad konvenční léčbou [6]. Preparát tisagenlecleucel (Tisa-cel) dosáhl ve studii fáze 2 ELARA srovnatelných výsledků s 69,1 % CR a celkovou mírou léčebných odpovědi 86,2 %. Četnost výskytu syndromu uvolnění cytokinů (*cytokine-release syndrome* – CRS), neurologických příhod a syndromu neurotoxicity spojené s imunitními efektorovými buňkami (ICANS) byla během 8 týdnů po infuzi 48,5 %, 37,1 % a 4,1 %, přičemž nebylo hlášeno žádné úmrtí související s léčbou. Tyto výsledky naznačují, že tisagenlecleucel je bezpečnou a účinnou možností léčby pro extenzivně předléčené, rizikové pacienty [7].

Navzdory vysoké míře odpovědi může být terapie CAR-T-buňkami podávána pouze v akreditovaném léčebném centru, vyžaduje hospitalizaci a může vést k akutní (syndrom uvolnění cytokinů, neurotoxicita i dlouhodobé (cytopenie, hypogamaglobulinemie) toxicitě.

Použití bispecifických protilátek CD3 × CD20, jako jsou mosunetuzumab a glofitamab, pro léčbu R/R FL je obzvláště zajímavé vzhledem k okamžité dostupnosti (*off the shelf product*) a k výborným předběžným údajům o účinnosti. Ve studii fáze 1b/2 (NCT02500407) [8] dostávali pacienti s R/R B-buněčným lymfomem mosunetuzumab v monoterapii až 17 cyklů. Po mediánu 14,4 měsíce trvání studie byla ORR 68 %, medián trvání odpovědi 20,4 měsíce a medián času do progresse 11,8 měsíce u pacientů s FL [9]. CRS se vyskytl u 14 pacientů (23 %) a většinou byl stupně 1 nebo 2 (n = 13). Mosunetuzumab je také hodnocen ve studii fáze 1b/2 (NCT03671018) v kombinaci s polatuzumab vedotinem, konjugátem protilátky CD79b, u pacientů s R/R B-buněčným lymfomem. U pacientů s FL (medián 3 předchozích linií léčby) je ORR 100 % (n = 3) při mediánu 9,6 měsíce sledování [10]. Glofitamab, další bispecifická protilátka CD20 × CD3, rovněž prokázala vysokou efektivitu. Nemocní dosahovali až v 70 % kompletní metabolickou odpověď (81% ORR). Nejčastějším nežádoucím účinkem byl CRS, který se vyskytl u 66 % pacientů, přičemž většina případů byla stupně 1 nebo 2 [11].

Aplikace nových, sofistikovaných postupů využívajících T-lymfocytární imunitu nemocných, představuje mimořádně perspektivní léčebnou modalitu u relabovaných a těžce předléčených nemocných. Nové postupy jsou „agnostické“ k dosud podané terapii a nepříznivým genetickým změnám, nicméně vyžadují pečlivý management nežádoucích účinků spojených s aktivací imunity a v případě CAR-T lymfocytů také zvládnutí logistiky a správného načasování léčby.

Podpořeno: MZ ČR – RVO (FNOI, 00098892).

Literatura

1. Dreyling M, Ghielmini M, Rule S, Salles G, Ladetto M, Tonino SH, et al. Newly diagnosed and relapsed follicular lymphoma: ESMO clinical practice

- guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol.* 2021; 32:298–308. doi: 10.1016/j.annonc.2020.11.008.
2. Tan D, Horning SJ, Hoppe RT, Levy R, Rosenberg SA, Sigal BM, et al. Improvements in observed and relative survival in follicular grade 1-2 lymphoma during 4 decades: the Stanford University experience. *Blood.* 2013; 122:981–987. doi: 10.1182/blood-2013-03-491514.
 3. Casulo C, Dixon JG, Le-Rademacher J, Hoster E, Hochster HS, Hidemann W, et al. Validation of POD24 as a robust early clinical end point of poor survival in FL from 5225 patients on 13 clinical trials. *Blood.* 2022; 139: 1684–1693. doi: 10.1182/blood.2020010263
 4. Gordon MJ, Smith MR, Nastoupil LJ. Follicular lymphoma: The long and winding road leading to your cure? *Blood Rev.* 2023;57:100992. doi: 10.1016/j.blre.2022.100992.
 5. Jacobson CA, Chavez JC, Sehgal AR, et al. Axicabtagene ciloleucel in relapsed or refractory indolent non-Hodgkin lymphoma (ZUMA-5): a single-arm, multicentre, phase 2 trial. *Lancet Oncol.* 2022;23(1):91–103. doi: 10.1016/S1470-2045(21)00591-X.
 6. Ghione P, Palomba ML, Patel AR, et al. Comparative effectiveness of ZUMA-5 (axi-cel) vs SCHOLAR-5 external control in relapsed/refractory follicular lymphoma. *Blood.* 2022;140(8):851–860. doi: 10.1182/blood.2021014375.
 7. Fowler NH, Dickinson M, Dreyling M, et al. Tisagenlecleucel in adult relapsed or refractory follicular lymphoma: the phase 2 ELARA trial. *Nat Med.* 2022;28(2):325–332. doi:10.1038/s41591-021-01622-0.
 8. Schuster SJ, Bartlett NL, Assouline S, et al. Mosunetuzumab induces complete remissions in poor prognosis non-Hodgkin lymphoma patients, including those who are resistant to or relapsing after chimeric antigen receptor T-cell (CAR-T) therapies, and is active in treatment through multiple lines [abstract]. *Blood.* 2019;134:6. doi: 10.1182/blood-2019-123742.
 9. Assouline SE, Kim WS, Sehn LH, et al. Mosunetuzumab shows promising efficacy in patients with multiply relapsed follicular lymphoma: updated clinical experience from a phase I dose-escalation trial [abstract]. *Blood.* 2020;136(suppl 1):42–44. doi: 10.1182/blood-2020-135839.
 10. Ghosh N, Diefenbach C, Chavez J, et al. Promising tolerability and efficacy results from dose-escalation in an ongoing phase IB/II study of mosunetuzumab with polatuzumab vedotin for relapsed/refractory b-cell non-Hodgkin's lymphoma [abstract S222]. *Hemasphere.* 2021;5:68–69.
 11. Morschhauser F, Carlo-Stella C, Dickinson M, Phillips T, Houot R, Offner F, et al. Glofitamab as monotherapy and in combination with obinutuzumab induces high complete response rates in patients (pts) with multiple relapsed or refractory (R/R) follicular lymphoma (FL) [abstract 623]. *Blood.* 2021;138:128. doi: 10.1182/blood-2021-148778.

4. MEET THE EXPERTS – PŘESNÁ DIAGNOSTIKA A CÍLENÁ LÉČBA PACIENTŮ S CLL V REÁLNÉ KLINICKÉ PRAXI

LÉČBA CHRONICKÉ LYMFOCYTÁRNÍ LEUKEMIE U NEMOCNÉHO S PATOGENNÍ GERMINÁLNÍ VARIANTOU GENU *RB1*

Panovská A.

Interní hematologická a onkologická klinika LF MU a FN Brno

Bialelická inaktivace tumorsupresorového genu *RB1* vede u nositele ke vzniku retinoblastomu, který je nejčastějším nitroočním nádorem u dětí. U nemocného současně zvyšuje riziko rozvoje dalších malignit, nejčastěji osteosarkomu, melanomu a nádorů vycházejících z epitelální tkáně. U pacientů nesoucích patogenní germinální variantu genu *RB1* je podání chemoterapie nebo radioterapie považováno za rizikové a může dále přispívat ke vzniku sekundárních malignit. Předmětem sdělení bude případ mladého muže, který byl v dětství léčen pro retinoblastom obou očí a v dospělosti indikován k léčbě chronické lymfocytární leukemie (CLL). Zatímco v současnosti máme v České republice v rámci terapie první linie k dispozici léčebné přístupy prosté chemoterapie, v lednu 2017, kdy byl nemocný referován na naše centrum, byla situace komplikovanější. Úskalí volby terapie první linie i následných relapsů CLL a komplikace, které se v průběhu let u pacienta objevily, budou podrobně diskutovány během prezentace.

PSEUDO-RICHTEROVA TRANSFORMACE U NEMOCNÉHO S RELABOVANOU CHRONICKOU LYMFOCYTÁRNÍ LEUKEMIÍ LÉČENÉHO IBRUTINIBEM – KAZUISTIKA

Šimkovič M.¹, Kamarádová K.^{1,2}, Kašparová P.², Vodárek P.¹, ěcsiová D.¹, Smolej L.¹

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

² Fingerlandův Ústav Patologie, LF UK a FN Hradec Králové

Úvod: Inhibitory Brutonovy kinázy a proteinu Bcl-2 zlepšily přežití nemocných s chronickou lymfocytární leukemií (CLL). V případech Richterovy transformace (RT), kdy CLL progreduje do agresivní lymfoproliferace, typicky ve formě difuzního velkobuněčného B-lymfomu (DLBCL), je však prognóza nadále nepříznivá a možnosti léčby jsou omezené, což vede kekrátkému přežití. Histologické vyšetření má zásadní význam pro odlišení Richterovy transformace od CLL, protože terapeutický přístup k Richterově transformaci se od léčby CLL výrazně liší. V recentně publikované práci (Slonim et. al, BJH 2020) byly popsány případy s klinickými a morfológickými rysy RT, které se vyvinuly po přerušení léčby ibrutinibem. Obnovení léčby ibrutinibem

však vedlo ve všech případech k vymizení klinických příznaků a ve třech případech povyšetření potvrdilo patologickou regresi na CLL/SLL.

Popis případu: 74letý muž byl od března 2020 léčen ibrutinibem pro relabovanou CLL. Efekt terapie byl příznivý, byl dosaženo parciální remise a vyjma neutropenie se léčba obešla bez jiných nežádoucích účinků. Ibrutinib byl podáván jako čtvrtá léčebná linie, které předcházely chemoterapeutické režimy 6x FCR (2012), 6x BR (2016), 2x RCD (2018) a biologická léčba R-idelalisib (2018–2020). Prognostické ukazatele byly nepříznivé: nemutovaný stav IGHV a delece genu *ATM* (11q22.3). Delece ani mutace genu *TP53* však prokázána nebyla. V lednu 2023 byla u nemocného diagnostikována recidiva sekundární malignity. Konkrétně se jednalo o spinocelulární karcinom kůže, pro který podstoupil chirurgický výkon. Po krátkém přerušení ibrutinibu byl ve snaze o radikální chirurgické řešení odstraněn tumor na levé tváři a zároveň byla provedena profylaktická lymfadenektomie na krku. Dle prvního histologického čtení byla z uzliny stanovená diagnóza RT. Tento nále z byl ovšem v rozporu s klinickým obrazem, kdy byly přítomny pouze drobné (do 15 mm) neprogredující uzliny. Dle CT/PET nebyla prokázána jiná FDG avidní lymfadenopatie. Hodnota LDH byla jen mírně zvýšená. Z našeho pohledu se jednalo o náhodný histologický nále z a po konzultaci s patologem byla uzavřeno, že nále z splňuje obraz Pseudo-Richterovy transformace. Nemocný aktuálně pokračuje v terapii ibrutinibem a je plánována radioterapie v rámci léčby spinocelulárního karcinomu.

Závěr: Naše kauzistika poukazuje na důležitost správné diagnózy k rozlišení mezi skutečnou RT a pseudotransformací u pacientů s CLL, u nichž dochází k progresi onemocnění při dočasném přerušení léčby cíleným inhibitorem. Zatímco konvenční RT vyžaduje agresivní imunochemoterapii, pseudotransformaci lze účinně léčit obnovením léčby tyrozinkinázovým inhibitorem. Proto pro stanovení přesné diagnózy je nezbytné poskytnout patologovi komplexní klinické informace o pacientovi, vč. podrobností o přerušení léčby kinázovým inhibitorem.

Podpořeno DRO (UHHK, 00179906) a programem Cooperatio, výzkumná oblast ONCO.

CHRONICKÁ LYMFOCYTÁRNÍ LEUKEMIE A AUTOIMUNITNÍ CYTOPENIE

Špaček M.

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

Pacienti s chronickou lymfocytární leukemií (CLL) mají defekt na úrovni humorální i buněčné imunity, což se projevuje např.

hypogammaglobulinémií, alterací počtu a funkce T-lymfocytárních subpopulací apod. Komplexní porucha imunitní funkce vede ke zvýšenému riziku závažných infekcí, dalších malignit a také vzniku autoimunitních onemocnění. Ta se mohou vyskytnout až u 25 % nemocných a zpravidla se jedná o autoimunitní cytopenie. Nejčastější je autoimunitní hemolytická anémie (AIHA), která je více asociovaná s pokročilejšími stádii CLL. Další častou komplikací je imunitní trombocytopenie (ITP), kterou naopak více vidáme v časnějších stádiích CLL. V některých případech se AIHA a ITP mohou u jednoho pacienta vyskytnout obojí v průběhu několika let, jindy se objeví i zároveň, což se označuje jako Evansův syndrom. Klinické stážovací systémy podle Bineta a Raie nerozlišují, zda je anémie či trombocytopenie způsobena leukemickou infiltrací kostní dřeně, nebo se jedná o AIHA/ITP. Řada prací ale ukazuje, že např. pacienti ve stádiu Binet C primárně z důvodu AIHA/ITP mají lepší prognózu, než nemocní ve stádiu Binet C z důvodu infiltrace kostní dřeně. Nicméně přítomnost autoimunitní cytopenie má celkově nepříznivý dopad na přežití pacientů s CLL, kteří mají kratší čas do zahájení terapie a vyšší morbiditu vyplývající z anémie, krvácení, nutnosti opakovaných transfuzí, rizika infekčních komplikací v důsledku imunosupresivní léčby apod.

Diagnostika sekundární ITP bývá často komplikovanější než v případě AIHA. Jedná se o diagnózu *per exclusionem*, a proto je v některých případech odlišení imunitní trombocytopenie od trombocytopenie způsobené CLL obtížné. Navíc u řady pacientů se mohou na vzniku trombocytopenie podílet oba tyto faktory zároveň. V případě náhlého vzniku trombocytopenie bez známek aktivity CLL je pravděpodobnější příčinou ITP, ale na druhou stranu se i ITP může rozvíjet pomalu v řádu měsíců či déle. V některých případech může pomoci vyšetření kostní dřeně či další pomocná vyšetření jako je nezralá frakce trombocytů, protilátky proti trombocytům apod. Zahájení a výběr první linie terapie u sekundární ITP se řídí obecnými doporučeními pro léčbu ITP. Tzn. terapie je většinou indikována při poklesu trombocytů pod $30 \times 10^9/l$ nebo při krvácivých projevech. Zahajuje se zpravidla kortikoterapie (např. prednison 1 mg/kg/den) s postupnou detrakcí. Rozhodně se nedoporučuje dlouhodobé podávání vysokých dávek kortikoidů (prednison nad 5 mg/den). Steroid-refrakterní ITP, resp. ITP špatně odpovídající na kortikoterapii, je podle mezinárodních doporučení již indikací k léčbě CLL. Řada pacientů může profitovat zejména z rituximabu, buďto v monoterapii nebo např. v režimu RCD (rituximab, cyklofosamid, dexametazon). V některých situacích, např. u pacienta s CLL v kompletní remisi, je možné využít standardní postupy pro ITP, tj. především agonisty trombopoetinového receptoru. Složitější situace nastává, pokud u pacienta, který má jednoznačně aktivní CLL indikovanou k terapii, je zároveň přítomna těžká trombocytopenie v důsledku ITP. V takovém případě může být nasazení cílené terapie rizikové, a to zejména u inhibitorů Brutonovy tyrozinokinázy (BTK) jako je akalabrutinib či ibrutinib, které dále mohou zvýšit riziko krvácení. Na druhou stranu již některé práce prokázaly účinnost BTK inhibitorů i BCL2 inhibitorů (venetoklax) v léčbě autoimunitních cytopenií asociovaných s CLL. U některých pacientů je v praxi

nutné využít kombinace více dostupných terapeutických modalit (např. kortikoterapii a BTK inhibitor), aby se podařilo dosáhnout remise CLL i AIHA/ITP. Řada otázek ale v terapii autoimunitních cytopenií u nemocných s CLL zůstává nezodpovězena, např. kdy považovat AIHA/ITP za špatně odpovídající na kortikoterapii a již indikovat léčbou CLL. Zda v takovém případě preferovat režimy s rituximabem, nebo spíše cílenou terapii a jakou. Jak postupovat u pacientů s CLL, kde vznikne AIHA/ITP na cílené terapii, kdy využít agonisty trombopoetinového receptoru apod. Tyto otázky budou diskutovány na kazuistice pacienta s CLL s autoimunitní cytopenií.

PŘÍPAD PACIENTKY SELHÁVJÍCÍ NA LÉČBĚ IBRUTINIBEM A NEOBVYKLÝM ORGÁNOVÝM POSTIŽENÍM

Turcsányi P., Urbanová R., Papajík T.

Hemato-onkologická klinika LF UP a FN Olomouc

Úvod: Chronická lymfocytární leukemie (CLL) je nejčastější hematologická malignita vycházející z B lymfocytů. Příznačná je přítomnost klonálních lymfocytů v periferní krvi (PK) a lymfatických tkáních (LU). Lymfocyty můžou, ale infiltrovat i jakýkoliv jiný orgán či tkáň v těle. Právě přítomnost cirkulujících lymfocytů v periferní krvi je někdy zavádějící při vyšetřování, zda se jedná o nádorovou infiltraci dané tkáně, nebo jenom příměs lymfocytů z periferní krve. Případ pacientky demonstruje raritní nádorovou infiltraci jaterního parenchymu CLL buňkami. Taktéž dokumentuje úspěšnou léčbu rizikové relaps/refrakterní CLL u předléčené pacientky.

Cíl: Popsat diagnostický postup a demonstrovat nálezy zobrazovacích a histologických vyšetření infiltrace jater CLL i úspěšnou léčbu.

Popis případu: Tehdy 50leté pacientce, sledované pro revmatoidní artritidu byla v roce 2008 diagnostikována CLL, stadium Binet B, del 6q, IGHV nemutovaný. Po první linii léčby od února 2013 – 6× FCR (fludarabin, cyklofosamid, rituximab bylo dosaženo kompletní remise (CR) a odpověď na léčbu trvala 3 roky. Od září 2016 bylo podáno 5 cyklů BR (bendamustine, rituximab). Pro refrakteritu na léčbu a progresi v podobě splenomegalie byla od srpna 2017 zahájena léčba třetí linie ibrutinibem. V průběhu léčby byl v dubnu 2018 konstatován klonální vývoj onemocnění, a kromě del 6q byla přítomná i del 17p a del 13q.

V březnu 2021 byla pacientka došetřována pro frustní bolesti břicha, elevaci CRP a obstrukčních jaterních enzymů, bez výrazné bilirubinémie. Gastroskopicky byla konstatována ulcerózní gastritida s pablánami, bez přesvědčivého průkazu etiologie, bylo provedeno i ERCP s konstatováním mírné dilatace intra i extrahepatálních žlučových cest, ošetřených přechodnou drenáží. Pro nelepšení se klinického a laboratorního obrazu bylo v dubnu 2021 provedeno PET CT s nálezem mnohočetných ložisek jater s akumulací značené glukózy (FDG) o intenzitě SUV 7.5, dále pak neakumulující

splenomegalie s maximem 19cm a břišní LU do 3cm, SUV do 4. Až histologické vyšetření, za použití cílené biopsie jater definitivně potvrdilo infiltraci CLL buňkami, bez známek richterovi transformace. Od 1 května 2021 je pacienta úspěšně léčena venetoklaxem, bez známek CLL aktivity. Dobrá léčebná odpověď byla verifikována i kontrolním PET CT.

Závěr: Jedná se o případ pacientky s rizikovou a relabující CLL s raritním postižením parenchymu jater, manifestovaným bolestma břicha a jaterním selháním. Nález na zobrazovacích vyšetřeních byl verifikován histologicky a posléze i úspěšnou léčebnou odpovědí se zlepšením klinického stavu i laboratorních výsledků.

5. AKUTNÍ MYELOIDNÍ LEUKEMIE / MYELOYDYSPLASTICKÝ SYNDROM

LÉČBA AKUTNÍ MYELOIDNÍ LEUKEMIE V ROCE 2023 – VÍCE OTÁZEK NEŽ ODPOVĚDÍ

Szotkowski T., Čerňan M.

Hemato-onkologická klinika LF UP a FN Olomouc

Intenzivní chemoterapie následovaná alogenní transplantací krvetvorných buněk (TKB) byla velmi dlouho prakticky jediným léčebným postupem s kurativním potenciálem pro většinu nemocných s akutní myeloidní leukémií (AML).

Standardem indukční léčby je od 70. let 20. století režim kombinující cytarabin s antracyklinem, obvykle označovaný jako „7 + 3“. V průběhu času byly používány jeho různé varianty, založené jednak na úpravách dávkování cytarabinu (nejčastěji 100–200 mg/m²), délce jeho podávání (7–10 dnů), dále na volbě přípravku a dávky antracyklinů (daunorubicin 45–90 mg/m², mitoxantron, idarubicin), případně přidávání dalších cytostatik (např. etoposid). U mladších nemocných lépe tolerujících toxičtější léčebné režimy byly, především na některých pracovištích, v indukci používány protokoly založené na vysokých (gramových) dávkách cytarabinu – např. FLAG-I (fludarabin, cytarabin, G-CSG, idarubicin) či HiDAC s idarubicinem či daunorubicinem apod.

Konsolidační chemoterapie je obvykle založena na protokolech se středně- či vysokodávkovaným cytarabinem. U nemocných s příznivou genetickou prognózou jsou obvykle podány 3–4 cykly této chemoterapie bez následné TKB. U ostatních je pak při dosažení remise vždy zvažována alogenní TKB a konsolidační chemoterapie (obvykle 1–2 cykly) zde působí spíše k udržení remise onemocnění po dobu přípravy nemocného k TKB.

Nemocní, kteří vzhledem k vyššímu biologickému věku či komorbiditě nebyli k intenzivní léčbě indikováni, byli dříve léčeni paliativně (nizkodávkovaný cytarabin, hydroxyurea) a/nebo symptomaticky. Jejich přežití obvykle nepřekračovalo dobu několika týdnů či měsíců, stejně jako přežití významné části nemocných, kteří byli rezistentní k chemoterapii nebo jejich choroba po chemoterapii či transplantaci relabovala.

Jediným podtypem AML, ze kterého dostupnost účinné cílené léčby již od konce 80. let minulého století učinila víceméně samostatnou nozologickou jednotku se zcela odlišnou prognózou i terapií, je akutní promyelocytární leukémie. Ta je prvním a zatím také jediným subtypem akutní leukémie, vyléčitelným u většiny nemocných bez použití chemoterapie i transplantace.

Od roku 2017 dochází v návaznosti na pokroky ve znalostech genetického podkladu vzniku a vývoje AML postupně k významnému rozšíření spektra komerčně dostupných léků, indikovaných v léčbě nemocných. Obvykle jde o tzv. léky cílené, tedy působící převážně selektivně na nádorové buňky. Část z nich je následně dostupná i v České republice. Mají stanovenou svá indikační, případně i úhradová

kritéria. Obojí jsou v ČR často více limitovaná, než připouští současná mezinárodní doporučení pro léčbu AML.

Tyto léky si postupně nacházejí své místo v terapeutickém algoritmu AML, jak v kombinaci s doposud používanou chemoterapií, tak i samostatně.

- Midostaurin je *FLT3* inhibitor indikovaný u nemocných s mutací genu *FLT3*, v kombinaci s indukční a konsolidační chemoterapií.
- Gemtuzumab ozogamicin je monoklonální protilátka anti-CD33 konjugovaná s cytotoxickým calicheamicinem. Indikován je k léčbě nově diagnostikované CD33-pozitivní AML s nízkým či středním cytogenetickým rizikem, v kombinaci s indukční léčbou a max. 2 cykly léčby konsolidační.
- Gilteritinib je *FLT3* inhibitor indikovaný v monoterapii relabující/refrakterní AML s mutací *FLT3*, úhrada v ČR je omezena na nemocné v prvním relapsu bez refrakterity k předchozí léčbě, s ECOG 0-1.
- Azacytidin v subkutánní formě je indikován k léčbě pacientů nevhodných k TKD s AML s 20–30 % blastů a dysplazií ve více buněčných liniích, nebo AML s více než 30 % blastů v kostní dřeni, jeho úhrada je omezena na nemocné v první zmiňované skupině.
- Azacytidin v perorální formě je indikován v udržovací léčbě nemocných v remisi onemocnění po první linii léčby, neindikovaných k alogenní TKD. Jeho úhrada je omezena na nemocné se středním či vysokým cytogenetickým rizikem.
- Venetoclax je bcl-2 inhibitor, který je v kombinaci s hypometylační látkou indikován k léčbě nemocných s nově diagnostikovanou AML, kteří nejsou způsobilí k intenzivní chemoterapii. V ČR nemá zatím stanovenou úhradu. Zařazení tohoto léku do léčby AML přineslo zřejmě největší posun v léčebných možnostech v poslední době.
- CPX351 je lipozomálně vázaná, fixní kombinace cytarabinu a daunorubicinu. Je indikován k použití u pacientů s t-AML (*therapy-related*, spojená s předchozí léčbou) nebo AML se změnami souvisejícími s myelodysplázií. V ČR nemá zatím stanovenou úhradu.

Další uvedené léky zatím nemají v ČR stanovenou indikaci.

- Ivosidenib je *IDH1* inhibitor indikovaný (dle FDA, ELN2022) k léčbě relabující či refrakterní AML s mutací *IDH1*, případně i nově diagnostikované AML s touto mutací u nemocných nevhodných k intenzivní chemoterapii, a to jak v monoterapii, tak v kombinaci s azacytidinem.
- Enasidenib je *IDH2* inhibitor, indikovaný v monoterapii nemocných s relabující či refrakterní AML s mutací *IDH2*.
- Glasdegib je inhibitor „*hedgehog*“ dráhy, určený pro léčbu nově diagnostikované AML u nemocných nevhodných k intenzivní chemoterapii, v kombinaci s nizkodávkovaným cytarabinem.

Narůstající zkušenosti s těmito léky přináší nejen informace o jejich protileukemickém účinku, vlivu na účinnost dosavadních léčebných postupů, případně novém spektru nežádoucích účinků, ale postupně

přináší i řadu otázek, na které zatím nemáme jednoznačnou odpověď. Týkají se zejména léčby kombinující azacytidin s venetoclaxem, která má ze všech výše uvedených postupů zřejmě nejširší potenciál uplatnění u AML a její reálné využití není již dnes zdaleka omezeno na původní indikaci, tedy léčbu nemocných s AML nevhodných k léčbě intenzivní chemoterapií.

K těmto otázkám patří např.:

- Jaký je optimální režim indukční léčby u mladých nemocných (či obecně nemocných vhodných k podání intenzivní chemoterapie) s prognosticky nepříznivým subtypem AML, např. mutací *TP53*?
- U kterých nemocných a v jakých fázích léčby je možné a vhodné úplné nahrazení intenzivní chemoterapie kombinací AZA + VENE?
- U kterých nemocných a ve kterých situacích je vhodné a účelné kombinovat chemoterapii (případně kterou) a venetoclax?
- Jaká je optimální dávkování (časování) AZA + VENE v různých situacích (indukce, konsolidace, relaps, chemorezistence, jednotlivé geneticky definované podskupiny AML, kvalita dosud dosažené odpovědi)?
- Kdy je možné a vhodné ukončení léčby AZA + VENE?
- Jaký přístup zvolit u nemocných při selhání terapie AZA + VENE?

Informace z probíhajících klinických studií i zkušenosti získané z používání nových léků v reálné klinické praxi, společně s rozšiřováním diagnostických možností vč. přesnější monitorace dynamiky reziduální nemoci u jednotlivých nemocných nejspíše postupně povedou k zásadním úpravám doporučených postupů a především pozitivním změnám ve výsledcích léčby.

Práce byla podpořena projektem IGA_LF_2023_005.

Literatura

1. NCCN Guidelines Version 2.2023. [online]. Dostupné z: https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/aml.pdf.
2. Shimony S, Stahl M, Stone RM. Acute myeloid leukemia: 2023 update on diagnosis, risk-stratification, and management. *Am J Hematol.* 2023;98:502–526.
3. Jaramillo S, Schlenk RF. Update on current treatments for adult acute myeloid leukemia: to treat acute myeloid leukemia intensively or non-intensively? That is the question. *Haematologica.* 2023. [online]. Dostupné z: <https://doi.org/10.3324/haematol.2022.280202>.
4. Döhner H, Wei AH, Appelbaum FR, et al. Diagnosis and management of AML in adults: 2022 recommendations from an international expert panel on behalf of the ELN. *Blood.* 2022; 22;140(12):1345–1377.

ZKUŠENOSTI S LÉČBOU AML KOMBINACÍ VENETOCLAXU A AZACITIDINU

Kořístek Z.¹, Víšek B.², Válka J.³, Čerňan M.⁴, Novák J.⁵, Šrámek J.⁶

¹ Klinika hematologie FN Ostrava

² IV. interní hematologická klinika FN Hradec Králové

³ Ústav hematologie a krevní transfúze, Praha

⁴ Hemato-onkologická klinika LF UP a FN Olomouc

⁵ Hematologická klinika 3. LF UK a FN Královské Vinohrady, Praha

⁶ Hematologicko-onkologické oddělení, FN Plzeň

Úvod: Léčba akutní myeloidní leukemie (AML) byla od 70. let 20. století až do nedávna založená téměř výhradně na antracyclinech

a cytosinarabinosidu. V paliativní léčbě se vedle níže dávkovaného cytosinarabinosidu (LDAC) začaly až po roce 2010 využívat hypometylační látky, především azacitidin (AZA), nicméně výsledky paliativní léčby byly velmi neuspokojivé. Venetoklax (VEN), inhibitor BCL-2, prokázal v posledních letech vysokou účinnost v léčbě AML, a to jak v kombinaci s AZA, tak při použití s intenzivní chemoterapií. Z řady klinických studií vyplývá, že kombinace AZA/VEN vede v paliativní léčbě AML ke dvojnásobné míře dosažených léčebných odpovědí (ORR) ve srovnání s léčbou samotným AZA a k významnému prodloužení celkového přežití (OS). ORR při použití AZA/VEN jako náhrady indukční a konsolidační léčby AML se překvapivě významně neliší od výsledků intenzivní léčby. Kombinace AZA/VEN vykazuje poměrně dobrou účinnost i u pacientů s velmi nepříznivou prognózou (mutace/delece *TP53*, komplexní změny karyotypu). Cílem práce byla analýza výsledků léčby AML pomocí AZA/VEN na základě dat poskytnutých ze šesti hematologických center ČR.

Soubor pacientů a metody: Celkově byla zpracována data od 168 pacientů léčených pro AML s využitím venetoclaxu (medián věku 70 let; 18–91). Prognóza dle ELN 2022 příznivá u 25 (15 %), střední u 61 (36 %) a nepříznivá u 75 (45 %) nemocných; u 7 (4 %) nemocných neuvedeno. Léčbu paliativní podstoupilo 67 nemocných (medián věku 74 let; 58–91; nepříznivá prognóza 4 0% pacientů, mutace/delece *TP53* a/nebo komplexní karyotyp 27 % pacientů), neintenzivní léčbu 72 nemocných (68 let; 40–83; nepříznivá prognóza 49 % pacientů, mutace/delece *TP53* a/nebo komplexní karyotyp 21 % pacientů) a léčbu relaps/refrakterní AML 28 nemocných (54 let; 21–70). OS a medián doby sledování je uváděn od data zahájení léčby s venetoklaxem.

Výsledky: Celkem 42 ze 67 paliativně léčených pacientů (63 %) zahájilo léčbu režimem AZA/VEN „7 + 28“ (AZA 75mg/m² den 1–7 + VEN 400 mg den 1–28), 20 nemocných (30 %) modifikovaným režimem AZA/VEN (nejčastěji „7 + 14“), zbytek dostal kombinaci LDAC/VEN. Léčebná odpověď byla zhodnocena u 57 pacientů a ORR byl 63 %: kompletní remise (CR) dosáhlo 24 pacientů (42 %), CR s neúplnou obnovou krevního obrazu (CRi) 9 pacientů (16 %), parciální remise (PR) 3 pacienti. Medián OS byl k datu analýzy 6,4 měsíce při mediánu sledování 4,3 měsíce. Medián OS nemocných, kteří dosáhli léčebné odpovědi, byl 12,9 měsíce (medián sledování 6,4 měsíce). Ze 72 neintenzivně léčených pacientů celkem 64 (89 %) zahájilo léčbu režimem AZA/VEN „7 + 28“, modifikace režimu byla použita u 8 nemocných (11 %). Léčebná odpověď byla zhodnocena u 65 pacientů u kterých ORR dosáhl 85 %: 37 pacientů (57 %) dosáhlo CR, 15 (23 %) CRi, 3 pacienti PR. Medián OS byl 6,4 měsíce při mediánu sledování 6,1 měsíce. Alogenní transplantaci zatím podstoupilo 16 pacientů (22 %). Medián OS u pacientů, kteří dosáhli léčebné odpovědi, byl 10,0 měsíce (medián sledování 7,9 měsíce).

Závěry: Léčba AML kombinací AZA/VEN je vysoce účinná. V paliativní léčbě dosáhlo léčebné odpovědi 63 % nemocných a ve skupině pacientů léčených AZA/VEN pro kontraindikace intenzivní léčby (věk, komorbidita) 85 % nemocných. Medián celkového přežití je zkrácen zatím krátkou dobou sledování. Podrobnější analýza dat zaměřená zejména na jednotlivé podskupiny pacientů, použití G-CSF

u remisních pacientů, čas do dosažení léčebné odpovědi a efektivitu u vysoce rizikových pacientů bude předmětem vlastního sdělení.

TRANSPLANTACE KRVETVORNÝCH BUNĚK (ALOHST) U STARŠÍCH NEMOCNÝCH S AML/MDS

Jindra P.

Hematologicko onkologické oddělení, FN Plzeň

Výskyt akutní myeloidní leukemie (AML) či spíše subkategorie AML/MDS (ELN 2022) se zvyšuje s věkem – u více než poloviny nemocných je tato diagnóza stanovena po 65 letech. Ačkoli celkové přežití (OS) u pacientů s AML/MDS obecně se v průběhu let zlepšilo, klinické výsledky u starších pacientů zůstávají neuspokojivé. Vzhledem k neustále se rozšiřující populaci nad 60 let a pokračujícímu nárůstu incidence AML v této populaci, lze předvídat, že AML u starších lidí zůstane hlavním problémem v hematologii v nadcházejících letech a desetiletích.

AML u starších osob (= AML u pacientů > 60 let), je heterogenní a komplexní entita. Za špatnou prognózu může celá řada faktorů souvisejících (1) s pacientem a (2) s onemocněním. Faktory spojené s pacientem jsou dány vysokou prevalencí komorbidit, špatným celkovým stavem a křehkostí, což vede lékaře k tomu, že je považují za nevhodné pro potenciálně kurativní léčbu či alespoň léčbu zaměřenou na modifikaci přirozeného průběhu onemocnění. Faktory spojené s vlastním onemocněním jsou dány tím, že biologie AML/MDS u starších nemocných se liší od nemoci u mladších jedinců: jedná se častěji o AML s nepříznivou cytogenetikou (komplexní nebo monozomální karyotyp) nebo s vysoce rizikovými molekulárními profily (typicky *TP53* mutace) a/nebo o AML se změnami souvisejícími s myelodysplazií (AML-MRC) či AML související s léčbou (t-AML). Obecným rysem AML/MDS u starších je pak rezistence k chemoterapii a současně a vyšší riziko relapsu.

Podobně jako u mladších pacientů zůstává aloHSCT i u starších nemocných nejlepší potenciálně kurativní léčbou u AML se středním nebo vysokým rizikem. Nicméně definování nejlepší léčebné strategie (zejména toho, zda vůbec přistoupit k transplantaci či nikoli) zůstává pro specifického staršího pacienta obtížným rozhodnutím. Potenciální toxicita přípravných režimů, riziko GVHD, narušená imunitní rekonstituce a potřeba prodloužené imunoprese jsou totiž u těchto zranitelných pacientů limitující a často fatální. Přestože bylo za poslední desetiletí dosaženo významného pokroku v aloHSCT pro starší pacienty a současné důkazy naznačují, že samotný kalendářní věk (mezi 60 a 75 lety) není spolehlivým prediktorem výsledku, je nadále indikace staršího nemocného s AML/MDS k aloHSCT komplexní procedurou.

Výběr vhodného kandidáta aloHSCT by měl být tudíž založen na důkladném a individualizovaném posouzení řady biologických, klinických a sociálních faktorů souvisejících s onemocněním i samotným pacientem, které umožňují částečnou predikci

výsledků transplantace. Zásadní je samozřejmě především diskuse s pacientem o různých možnostech léčby a jeho preference. K dispozici máme celou řadu skórovacích systémů, které teoreticky predikují buď riziko relapsu (např. *disease risk index* – DRI; Armand et al 2014) či transplantační (nerelapsové) mortality (HCT-CI; Sorror 2005, 2014; SCI – Shouval 2022; EASIX – Luft 2020). Problémem většiny z uvedených systémů je to, že obvykle nebyly stanoveny přímo pro specifickou populaci pacientů nad 60 let, ale pro dospělé pacienty obecně, tudíž jejich prediktivní hodnota je u starších nemocných omezená

I přes zmíněné limitace lze však kombinací výše uvedených systémů provést selekci vhodných kandidátů a aloHSCT se u těchto vybraných starších nemocných postupně stávají standardem kurativního přístupu. To dokládají jak mezinárodní data, tak zkušenost našeho pracoviště (HOO FN Plzeň). Dle dat CIBMTR bylo v USA v roce 2020 provedeno 27 % alogenních transplantací u osob \geq 65 let, zatímco v roce 2005 to byla pouhá 4 % (CIBMTR US summary slides, 2021). Podobný trend pozorujeme i na našem pracovišti. Jestliže v období 2001–2007 bylo pouze 14 % transplantovaných starších 60 let (žádný > 70), tak v období 2015–2021 bylo již 35 % transplantovaných > 60 let a 8 % dokonce starších 70 let (data prezentována na EBMT konferenci 2023).

Hodnotit výsledky aloHSCT u těchto starších nemocných pouze pomocí klasických parametrů jako je celkové přežití (OS) a přežití bez nemoci (DFS) není dostatečně reprezentativní, protože málo vypovídá o kvalitě života u této křehké a zranitelné populace. Proto byl do klinické praxe zaveden nový složený (kompozitní) parametr výsledku aloHSCT – přežití bez signifikantní GVHD a bez relapsu: *GVHD-relapse free survival* (GRFS, Holtan 2015). Tento kompozitní parametr zřejmě nejlépe odráží skutečný benefit aloHSCT u starších nemocných s AML/MDS. V retrospektivní analýze našich transplantovaných pacientů s AML/MDS starších 60 let jsme dosáhli 29,5% pravděpodobnosti 3letého GRFS (Jindra, 2023) což jsou výsledky srovnatelné či dokonce lepší než jiná publikovaná data. Např. Nazha et al. (2016) reportovali 25 % v 1 roce (2016) a Hsu et al. (2020) pouze 9,3% pravděpodobnost GRFS ve 3 letech. Naše data navíc ukazují, že při náležité selekci únosných pacientů je výsledek transplantace (stejně jako u mladých nemocných) ovlivňován primárně především DRI – tedy rizikovostí (cytogenetika, mol. genetika) a stavem základního onemocnění v době transplantace. Nástup bcl-2 inhibitorů (veneteoclax) v kombinaci s hypometylačními léky má samozřejmě potenciál část pacientů dostat do remise a tím zlepšit jejich celkový stav směrem k únosnosti k transplantaci a současně zlepšit její výsledky, protože budou moci být transplantováni v kompletní či alespoň částečné remisi.

Závěrem lze shrnout, že u pacientů s AML/MDS > 65 let zůstává stále stěžejní otázkou jejich pečlivý výběr k aloHSCT. Jde o co nejpřesnější definování skupiny starších pacientů, kteří reálně mohou profitovat z alloHSCT. Tento výběr musí nezbytně zahrnovat nejen pravděpodobnost přežití/dlouhodobé kontroly onemocnění, ale také zhodnocení rizika zhoršení kvality života spolu s preferencemi pacienta (jeho očekávání a životní filozofii). Přes existenci řady

komplexních prognostických modelů (zahrnujících faktory souvisejících s pacientem, onemocněním a transplantací) je zřejmé, že pro tuto specifickou populaci musí být výše uvedený proces silně individuální. Další důležitou výzvou u nezpůsobilých starších pacientů s AML je to, jak je dovést k alloHSCT s minimální nemocí, ale zároveň je udržet v optimálním celkovém stavu. Působivá data účinnosti a současně relativní bezpečnosti kombinace AZA-VEN při indukční terapii u pacientů dříve považovaných za nezpůsobilé pro chemoterapii/transplantaci přináší do budoucna šanci pro širší uplatnění kurativního potenciálu aloHSCT u starších nemocných s AML/MDS.

ALTERACE IKZF1 MAJÍ NEGATIVNÍ VLIV NA DOSAŽENÍ ČASNÉ MOLEKULÁRNÍ ODPOVĚDI A CELKOVÉ PŘEŽITÍ U DOSPĚLÝCH PACIENTŮ S BCP-ALL LÉČENÝCH PODLE PROTOKOLU GMALL 07/2003

Polívková V.¹, Hrabovský Š.², Vrzalová Z.², Štika J.³, Horáček J.⁴, Pecherková P.¹, Halamová H.², Zuna J.⁵, Trka J.⁵, Froňková E.⁵, Žaliová M.⁵, Doubek M.², Machová Poláková K.¹, Šálek C.¹

¹ Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

² Interní hematologická a onkologická klinika FN Brno

³ Lékařská genomika, Ceitec, Brno

⁴ IV. interní hematologická klinika FN Hradec Králové

⁵ Laboratorní centrum CLIP, Klinika dětské hematologie a onkologie 2. LF UK a FN Motol, Praha

Úvod a cíle: Alterace *IKZF1* jsou asociovány se špatnou prognózou u vysoce rizikových BCP-ALL (B-progenitorových ALL). Současný výskyt delecí *IKZF1* a minimálně jednoho dalšího genu (*CDKN2A/CDKN2B/PAX5* nebo *PAR1* region) při nepřítomnosti delece *ERG* byl definován jako genotyp *IKZF1^{plus}*. V této práci jsme analyzovali 79 dospělých pacientů s BCP-ALL léčených podle protokolu GMALL 07/2003 (společně s imatinibem u Ph+ ALL). Cílem bylo určit prognostický význam přítomnosti alterací *IKZF1* na dosažení molekulární odpovědi v 11. týdnu (T11) a na celkové přežití.

Metody: Metodou MLPA (kity P335, P202; Coffalyser software; MRC Holland) bylo analyzováno 38 Ph-positivních (Ph+) a 41 Ph-negativních (Ph-) pacientů. Podle nálezu byli pacienti rozděleni do skupin: *IKZF1^{plus}*, *IKZF1^{del}*, MLPA pozitivní (*MLPA^{pos}* – alterace v genech *CDKN2A/CDKN2B/PAX5/RB1/ETV6/BTG1/CRLF2/PAR1* region vyjímaje *IKZF1*) a MLPA negativní (*MLPA^{neg}*). Molekulární odpověď byla hodnocena kvantifikací specifických IG/TCR přestaveb nebo *BCR::ABL1* transkriptu. Dosažení molekulární odpovědi (MR) v T11 bylo definováno jako MRN < 10⁻⁴.

Výsledky: Genotyp *IKZF1^{del}* a *IKZF1^{plus}* byl přítomen častěji u Ph+ ALL (42 %/34 %) v porovnání s Ph- ALL (7 %/7 %). Genotyp *MLPA^{pos}* byl zachycen častěji u Ph- (29 %) oproti Ph+ pacientům (11 %).

Celkové přežití bylo signifikantně kratší u Ph+ pacientů s *IKZF1^{plus}* oproti ostatním skupinám (p = 0,04). Pravděpodobnost dosažení MR v T11 byla signifikantně nižší u Ph+ pacientů s *IKZF1^{plus}* a *IKZF1^{del}* oproti *MLPA^{pos}* a *MLPA^{neg}*. Celkové přežití pacientů, kteří nedosáhli MR v T11 bylo nižší u *IKZF1^{plus}* a *IKZF1^{del}* oproti *MLPA^{pos}* a *MLPA^{neg}* (p = 0,07 a p = 0,08). I přes dosažení MR v T11 byla doba přežití nižší u pacientů s *IKZF1^{del}* a ještě nižší u *IKZF1^{plus}*. Přes nízký počet Ph- ALL pacientů s *IKZF1^{plus}* (n = 3) a *IKZF1^{del}* (n = 3), bylo možno pozorovat horší léčebnou odpověď v těchto skupinách oproti *MLPA^{pos}* a *MLPA^{neg}* pacientům. Signifikantní rozdíl byl nalezen mezi pacienty *IKZF1^{plus}* a *MLPA^{neg}* (p = 0,003). Pravděpodobnost dosažení MR v T11 byla nižší u pacientů s *IKZF1^{plus}* a *MLPA^{pos}* (p = 0,003). Bez ohledu na alterace *IKZF1*, Ph- pacienti, kteří nedosáhli MR v T11, měli nižší celkové přežití.

Závěr: *IKZF1* alterace byly častější u Ph+ ALL. Jejich detekce koreluje s kratším celkovým přežitím Ph+ a Ph- ALL pacientů léčených podle protokolu GMALL 07/2003. Jedinci s *IKZF1^{plus}* měli horší léčebnou odpověď. *IKZF1* alterace představují špatný prognostický faktor pro celkové přežití i přes dosažení MR v T11 u Ph+ pacientů. Analýza profilu *IKZF1* by měla být u BCP-ALL běžně prováděna z důvodu potřeby intenzivní terapie u rizikových pacientů.

Podpořeno grantem- AZV ČR NU22-03-00210.

HODNOCENÍ MINIMÁLNÍ ZBYTKOVÉ CHOROBY U NEMOCNÝCH S DE NOVO AKUTNÍ MYELOIDNÍ LEUKEMIÍ LÉČENÝCH KOMBINOVANOU TERAPIÍ AZACITIDINE A VENETOCLAX

Semerád L., Weinbergerová B., Podstavková N., Kvetková A., Mrkvová Z., Voldřich J., Procházková J., Ježíšková I., Folta A., Borský M., Jarošová M., Mayer J.

Interní hematologická a onkologická klinika FN Brno

Úvod: Standardem léčby nemocných s AML, kteří nejsou způsobilí k podání intenzivní chemoterapie, je kombinace hypometylační látky azacitidine (AZA) a BCL-2 inhibitoru venetoclaxu (VENE). Tato léčba byla do reálné klinické praxe zavedena relativně nedávno a celá řada otázek souvisejících s optimalizací tohoto léčebného režimu a s rozdíly v léčebné odpovědi u jednotlivých geneticky definovaných skupin nemocných zůstává neobjasněna. Jednou z těchto otázek je význam minimální zbytkové choroby (MRD) pro klinickou praxi.

Metody: U nemocných s neléčenou AML, kteří jsou indikováni k terapii AZA + VENE, je ve FN Brno v době diagnózy stanoven biologický profil onemocnění vč. vyšetření NGS myeloidního panelu, cytogenetického a flowcytometrického vyšetření, a to s cílem určit markery vhodné pro sledování MRD. Následně je prospektivně sledována efektivita terapie AZA + VENE vč. stanovení MRD pomocí různých laboratorních metod.

Výsledky: V období mezi 1. 11. 2021 a 1. 03. 2023 zahájilo terapii AZA + VENE ve FN Brno celkem 43 nemocných s novou AML, z toho 23 (53,4 %) žen. Medián sledování je 4,8 měsíce (0,8–16,8 měsíců). Medián věku nemocných v době zahájení léčby je 71 let (45–83 let). Primární a sekundární AML mělo 31 (72,1 %), resp. 12 (27,9 %) pacientů. Nízké, střední a vysoké riziko dle ELN 2017 bylo prokázáno u 4 (9,3 %), 12 (27,9 %), resp. 27 (62,8 %) pacientů. Imunofenotyp vhodný pro sledování MRD pomocí flowcytometrického vyšetření byl zjištěn u 23 (53,5 %) pacientů. Cytogenetiku bylo možné hodnotit u 41 pacientů; u 29 (70,7 %) z nich byla prokázána cytogenetická abnormalita. Klasické molekulárně biologické markery možné vyšetřit kvantitativní RT-PCR byly prokázány u 7 pacientů (16,3 %), u 17 pacientů (39,5 %) je MRD sledována metodou NGS. Kompletní remise s úplnou nebo neúplnou restitucí (CR + CRi) dosáhlo 32 (74,4 %) nemocných.

MRD negativity v průběhu léčby dosáhlo 16 (37,2 %) pacientů; 8 pacientů dosáhlo negativity flow i molekulární MRD, 5 pacientů molekulární MRD negativity a 3 pacienti flow MRD negativity. Diskrepantní MRD bylo u 5 pacientů, kdy 4 pacienti měli flow MRD negativitu, ale molekulární MRD pozitivitu a 1 pacient měl flow MRD pozitivitu a molekulární negativitu. K hematologickému relapsu došlo u 4 pacientů, u jednoho byla před tím dosažena MRD negativita, u ostatních přetrvávala po celou dobu MRD pozitivita.

Závěr: Kombinace AZA + VENE umožňuje dosažení MRD negativity u podstatné skupiny pacientů s AML. I když v současnosti MRD negativita nemá vliv na terapeutické rozhodování, bude pravděpodobně možné u těchto nemocných deescalovat intenzitu léčby.

Podpora projektu: MZ ČR – RVO (FNBr 65269705) a Program EXCELES, ID: LX22NPO5102).

6. MALIGNÍ LYMFOMY

HODGKINŮV LYMFOM – BUDOUCNOST PRVNÍ LINIE LÉČBY

Móčíková H., Maco M., Kozák T.

Hematologická klinika 3.LF UK, Praha

V současné době jsou pacienti s Hodgkinovým lymfomem (HL) v 85–90 % vyléčení první linií léčby, ale 10–15 % nadále relabuje. Morbiditu a mortalitu vyléčených pacientů ovlivňují pozdní následky léčby, především kardiotoxicita a sekundární malignity. Ve snaze snížit pozdní toxicitu léčby byly do první linie zavedeny nové léky: brentuximab vedotin (BV) a imunoterapie. Pro hodnocení iniciální velikosti nádorové masy a stanovení odpovědi tumoru na léčbu je zásadní pozitronová emisní tomografie kombinovaná s CT (PET/CT). Tímto vyšetřením lze stanovit i celkový metabolický objem tumoru a léčbu přizpůsobit. Cirkulující nádorová DNA (ctDNA) je neinvazivní metoda vhodná k určení individuálního mutačního spektra nádorových buněk v době diagnózy a zároveň slouží jako biomarker k určení prognózy HL. Perspektivně bude ctDNA užitečným nástrojem k úpravě strategie léčby. Poznatky v oblasti interakce nádorových buněk s mikroprostředím umožnily vývoj a využití nových léčiv vč. cílené imunoterapie. Předpokládá se, že v budoucnu u časných stádií nahradí aktuální standardy chemoterapie a radioterapie individualizovaná imunoterapie s anti-PD1 protilátkou (studie fáze 2 GHSG Indie, pilotní studie GHSG HD19). Pokrokem u časných stádií s rizikovými faktory je možnost vynechání radioterapie po podání dvou cyklů eskalovaného BEACOPP (bleomycin, etoposid, doxorubicin, cyklofosfamid, vinkristin, prokarbazin, prednison) a dvou cyklů ABVD (doxorubicin, bleomycin, vinblastin, dakarbazin) u PET-negativních pacientů (studie GHSG HD17). Otázkou zůstává, zda přidání nových léčiv (BV, nivolumab, pembrolizumab) souběžně nebo v konsolidaci (NCT01868451, NCT03712202, studie RADAR a BREACH) k méně intenzivní iniciální chemoterapii AVD (doxorubicin, vinblastin, dakarbazin) umožní vynechání radioterapie a současně nezhorší prognózu. V pokročilých stádiích je trendem přidání BV nebo imunoterapie k deeskalované chemoterapii (studie ECHELON-1, GHSG HD21, SWOG1826) s cílem zlepšit nebo zachovat účinnost léčby a snížit její toxicitu. U starších pacientů se sníženou celkovou výkonností je možnost využít BV s dakarbazinem nebo BV s nivolumabem. V budoucnu se budou režimy s imunoterapií bez chemoterapie pravděpodobně kombinovat s jinou novou biologickou léčbou, která vzejde z úspěšných léčiv nebo režimů, které se zatím zkouší u relabovaných/refrakterních HL. Perspektivou u HL v první linii je personalizovaná léčba upravená pro jednotlivého pacienta.

Podpořeno grantem AZV NU22-03-00182 a programem Cooperatio (2022–2026).

IMMUNE CHECKPOINT SIGNALING IN T-CELL LYMPHOMA CELL LINES

Heřman V.^{1,2}, Seňavová J.^{1,2}, Chrbolková T.¹, Rajmonová A.¹, Onděčková I.^{1,2}, Havránek O.^{1,2}

¹BIOCEV, 1. LF UK, Vestec

²I. interní klinika – klinika hematologie 1. LF UK a VFN v Praze

Background: Immune evasion mechanisms are critical for establishment, growth and spread of malignant tumors. Tumor cells frequently bind and engage T-cell inhibitory receptors called immune checkpoints (IC) to escape recognition by the immune cells. IC blockade is a new but already widely used treatment strategy capable of inducing complete responses even in advanced stages of various cancers. However, in the case of T-cell lymphomas (TCL), malignant cells themselves express these receptors. It is not clear what might be the consequences of IC blockade in T-cell derived malignancies. Therefore, we analyzed IC signaling and its blockage and/or stimulation in the context of TCL models.

Methods: We used CRISPR/Cas9 system and electroporation to generate knockouts (KO) of IC receptor Programmed Death-1 (PD-1) in model TCL cell lines. We studied IC signaling using multiple fluorescent reporters to detect activity of different cellular pathways by means of flow cytometry. Sleeping Beauty transposon system was used for overexpression models.

Results: By itself, PD-1 KO or pharmacological blockade did not affect growth rate of tested TCL cell lines. On the other hand, overexpression of PD-1 ligand 1 (PD-L1) seems to decrease proliferation of OCI-Ly13.2 cell line which has the highest amount of surface PD-1 protein. Engagement of PD-1 by soluble PD-L1 following T-cell receptor (TCR) stimulation results in attenuation of Lck kinase activity, however, PD-1 KO does not affect OCI-Ly13.2 sensitivity to inhibitors of Lck or other downstream TCR signaling effectors.

Conclusion: Even though PD-1 signaling seems to be functional in TCL cell lines, PD-1 blockade by itself does not have direct effect on TCL cells *in vitro*.

This study was supported by project "Grant Schemes at CU" (reg. no. CZ.02.2.69/0.0/0.0/19_073/0016935).

PŘÍNOS SEKVENOVÁNÍ NOVÉ GENERACE (NGS) V DETEKCI FÚZNÍCH GENŮ, IMUNOMU A CTDNA/MRN U PACIENTŮ S ALK POZITIVNÍM ANAPLASTICKÝM VELKOBUNĚČNÝM LYMFOMEM

Kalinová M.^{1,2}, Prouzová Z.^{3,3}, Mrhalová M.⁴, Kabíčková E.⁵, Řezníčková L.⁵, Skotnicová A.⁵, Svatoň M.⁵, Kodet R.⁴, Divoká M.⁶, Křenová Z.⁷, Kolenová A.⁸, Froňková E.⁵

¹ Ústav patologie 3. LF UK, FNKV, Praha

² Centrální laboratoře, FNKV, Praha

³ Ústav patologie, 1. LF UK, VFN v Praze

⁴ Ústav patologie a molekulární medicíny, 2. LF UK FN Motol, Praha

⁵ CLIP, Klinika dětské hematologie a onkologie 2. LF UK FN Motol, Praha

⁶ Hemato-onkologická klinika FN Olomouc

⁷ Klinika dětské onkologie FN Brno

⁸ Národný ústav detských chorôb, Klinika detskej hematológie a onkológie LF UK, Bratislava, Slovensko

Úvod: Anaplastický velkobuněčný lymfom ALK pozitivní (ALK + ALCL) patří do skupiny T lymfomů s patologickou aktivací onkogenu ALK. Bylo popsáno více než 10 fúzních partnerů s genem ALK, nejčastější je fúze *NPM1::ALK*. Diagnosticky i výzkumně může přispět detekce přestavby T-buněčného receptoru (TCR). Studie zkoumající přestavby TCR u ALCL používaly kvalitativní metody a došly k částečně diskordantním výsledkům. Metody NGS usnadňují detekci fúzních partnerů genu *ALK* a umožňují charakterizaci přestavby TCR nejen u nádorových buněk, ale současně i u infiltrujících T lymfocytů. Vyšetřování ctDNA v krvi se jeví jako slibná možnost pro sledování MRN, jeho prediktivní hodnota není jasná.

Cílem práce bylo vyšetřit pomocí NGS fúzní partnery genu *ALK* a profil přestavby TCR u souboru pacientů s ALK + ALCL, zjistit, které z vyšetřovaných znaků jsou nejvhodnější pro sledování MRN a pilotně testovat možnost detekce MRN v ctDNA pomocí přestavby TCR.

Metody: Detekce *NPM1::ALK* pomocí PCR, kvantitativní PCR detekce exprese translokované části genu *ALK*, detekce fúzních transkriptů pomocí cíleného NGS, NGS detekce přestavby TCR beta (TCRB) a TCR gama (TCRG).

Výsledky: Celkem jsme vyšetřili 96 ALK+ALCL pacientů. U 71 jsme detekovali fúzní gen *NPM1::ALK*, u 9 fúzi *AT1C::ALK*, u 3 *TPM3::ALK*. U dvou pacientů jsme detekovali fúzi *CLTC::ALK*, resp. *MYH9::ALK*, resp. *RNF213::ALK*. Dále jsme detekovali fúzní gen *TPM4::ALK* a *SATB1::ALK* a nepopsané fúze u ALK+ALCL *SQSTM1::ALK* a *CAPRN1::ALK*. Pouze u 3 pacientů se nám nepodařilo identifikovat translokačního partnera genu *ALK* díky nedostupnosti materiálu. Ve všech vyšetřených vzorcích (92) jsme detekovali vysokou hladinu exprese genu *ALK*. Vyšetření imunomu jsme provedli u 23 pacientů s dostupnou DNA. U 15 (65 %) jsme našli aspoň jednu (nejvýše čtyři) klonální přestavby TCR; minimálně jedna přestavba byla vždy produktivní. U 13 pacientů jsme našli současně přestavby TCRB i TCRG. Neodhalili jsme sdílené fyziologické klony cílené proti neoantigenu. Dle klonálních přestavby jsme navrhli primery pro detekci MRN v ctDNA.

Hladiny MRN 32 vzorků sledované v buňkách pomocí kvantitativní detekce exprese genu *ALK* vykazovaly vyšší citlivost oproti hladinám v ctDNA.

Závěr: NGS umožňuje detekovat translokační partnery (i nepopsané) genu *ALK*. Kvantitativní detekce exprese genu *ALK* slouží k diagnostice i ke sledování MRN. Vyšetření TCR pomocí NGS umožňuje nastavení cílů pro sledování MRN v ctDNA i v buňkách a umožňuje popsat i přidružené klony nenádorových lymfocytů, které jsou ale specifické pro daného pacienta a nemohou sloužit jako marker onemocnění.

Podpořeno AZV NU20-03-00284.

TYPE OF ATM ABERRATION HAS A DIFFERENT IMPACT ON SURVIVAL PARAMETERS IN MANTLE CELL LYMPHOMA

Obr A.¹, Maláriková D.², Kriegová E.¹, Zemanová Z.², Urbánková H.¹, Hrušková A.¹, Kovaříková P.², Petráčková A.¹, Vatolíková M.¹, Maňáková J.¹, Benešová K.², Forsterová K.², Cigánková P.¹, Papajík T.¹, Trněný M.², Klener P.²

¹ FN Olomouc

² VFN v Praze

Introduction: The ataxia-telangiectasia mutated (*ATM*) gene plays an important role in the cellular response to DNA damage. Whether different types of *ATM* aberrations (mutation and/or deletion of (del)11q) differentially affect survival in mantle cell lymphoma (MCL) has not yet been reported.

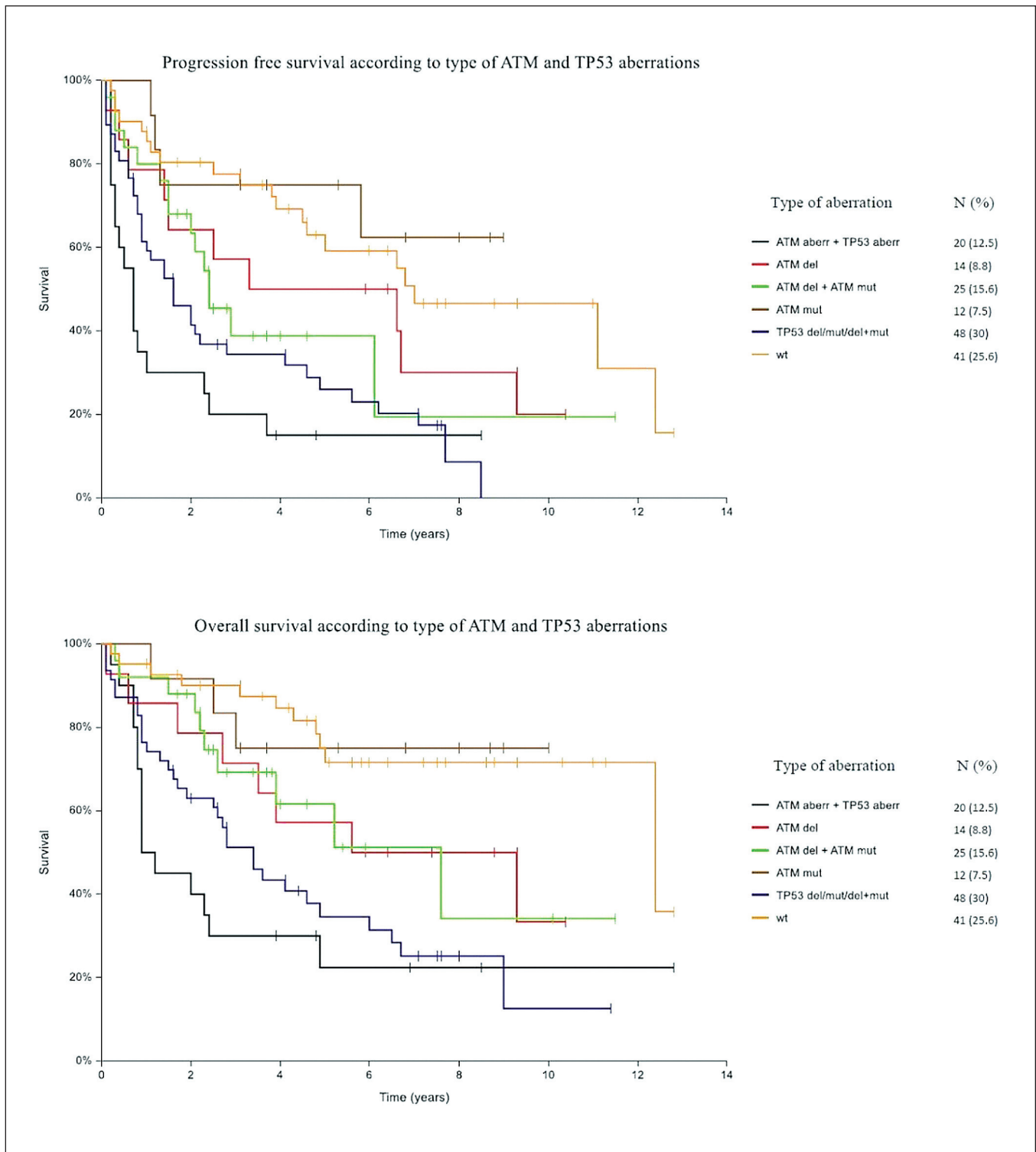
Methods: We analyzed 160 consecutive MCL patients (pts) treated in two Czech university centers from 11/2006 to 12/2021. Both fluorescence in situ hybridization and NGS (Illumina), were performed in all pts to identify *ATM* and *TP53* gene aberrations on tumoral tissue (peripheral blood, bone marrow); the cutoff value for *ATM* and *TP53* mutation was 3% variant allele frequency. Peripheral blood and/or bone marrow had at least 5% MCL involvement as analyzed by FACS. Progression free (PFS) and overall (OS) survival were calculated from the date of diagnosis.

Results: The median age at diagnosis was 67 (30–87) years. MIPI score was low, intermediate and high in 15.6%, 26.3% and 58.1% pts, respectively. Treatment approaches used were as follows: watch and wait in 5.0%, R-CHOP/R-CHOP-like in 50.6%, intensive R-HDAC-containing in 34.4% and non-anthracycline/palliative regimen in 10.0% of pts. Complete and partial response was achieved in 56.3% and 21.9% of pts, respectively. Stable and progressive disease was observed in 13.1% of pts. Almost 29% of pts underwent ASCT. Sixty percent of pts received rituximab maintenance. Overall, 71 (44.4%) and 68 (42.5%) pts had *ATM* and *TP53* aberration(s) (del/mut/del+mut), respectively. Of these, 20 (12.5%) pts had aberrations in both genes. Disruption of *ATM* gene was related to B-symptoms ($P \leq 0.005$). Age, sex, ECOG PS, cytomorphology, Ki67 index, MIPI and treatment response did not correlate with *ATM*

aberration. With a median follow-up of 3.8 years, 2-year PFS and 2-year OS in all pts was 58.1% and 74.6%, respectively. Median PFS in pts with ATM mutation, ATM deletion and ATM + TP53 aberration was not reached, 3.3 and 0.7 years, respectively ($P \leq 0.005$). Median OS in pts with ATM mutation, ATM deletion and ATM + TP53 aberration was not reached, 5.6 and 0.9 years, respectively ($P \leq 0.005$). No significant

difference in OS was found between ATM mutated and wild-type pts (graphs).

Conclusions: Deletion but not mutation of *ATM* gene correlates with shorter survival in MCL. Patients with concurrent disruption of the *ATM* and *TP53* genes have extremely poor outcomes and call for innovative treatment.



Graph 1. Obr A. et al. Kaplan-Meier estimate of MCL patients according to type of *ATM* and *TP53* aberrations.

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

Sýkorová A.¹, Polgárová K.², Folber F.³, Ďuraš J.⁴, Móciková H.⁵, Steinerová K.⁶, Obr A.⁷, Belada D.¹, Smolej L.¹, Trněný M.², Pytlík R.⁸

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

²I. interní klinika 1. LF UK a VFN v Praze

³Interní hematologická a onkologická klinika LF MU a FN Brno

⁴Klinika hematoonkologie FN Ostrava

⁵Oddělení klinické hematologie, 3. LF UK a FNKV, Praha

⁶Hematoonkologické oddělení, LF UK a FN Plzeň

⁷Hemato-onkologická klinika LF UP a FN Olomouc

⁸Ústav 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. V současné době je limitované množství dat o léčebných přístupech pro zlepšení prognózy této skupiny nemocných, optimální management není v současné době definován. Na základě dosud publikovaných dat se zdá, že některé z nových léků zkoušených v klinických hodnoceních u relaps/refrakterních agresivních B-lymfomů by mohly být využity u části nemocných jako „bridge“ k alogenní transplantaci, která zůstává pro část těchto nemocných potenciálně kurativní léčebnou metodou.

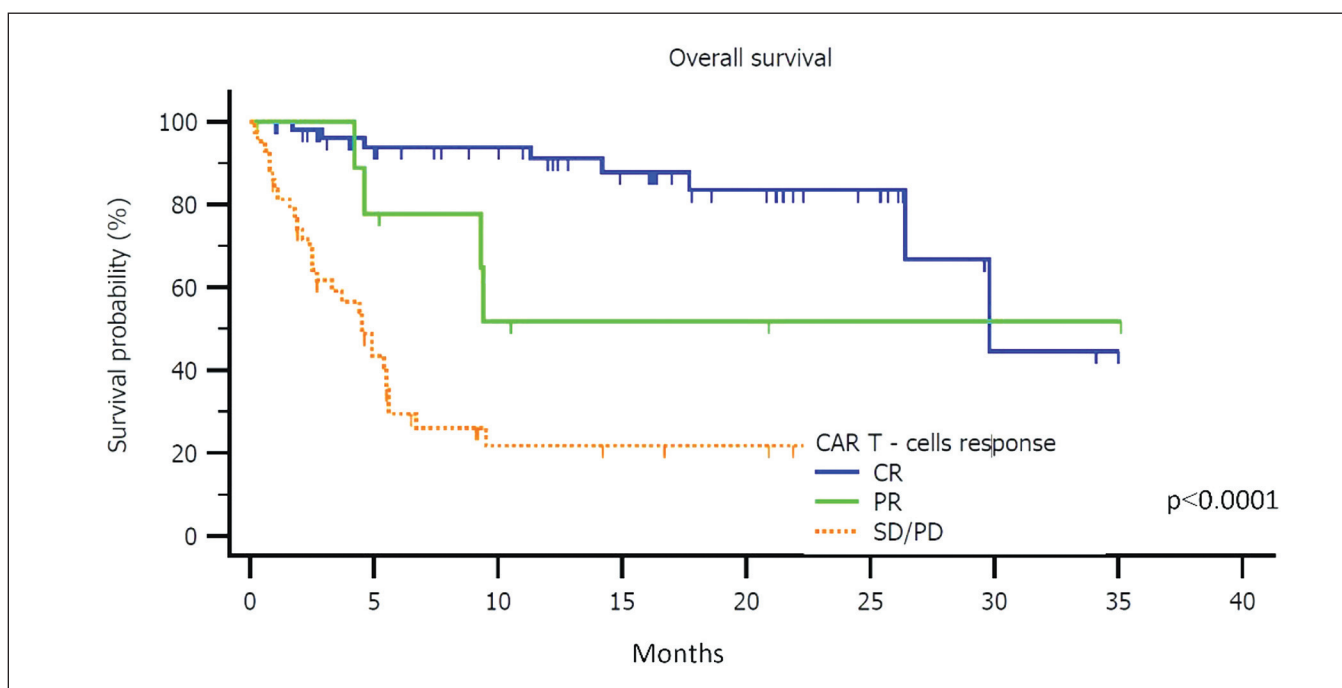
Metody: Analyzovali jsme nemocné s agresivními B-lymfomy, kteří byli v letech 2019–2022 léčeni antiCD19 CAR-T lymfocyty. Jedná se o multicentrickou retrospektivní analýzu z 5 hematologických center, kam byli referováni nemocní z České a Slovenské republiky, kteří byli

indikováni k antiCD19 CAR-T léčbě po selhání ≥ 2 linií. Zaměřili jsme se na skupinu nemocných, kteří neodpovídali na tuto léčbu (dosažení stabilní nemoci/progrese) nebo u nich lymfom relaboval/progredoval po iniciační odpovědi (kompletní (CR)/parciální remise).

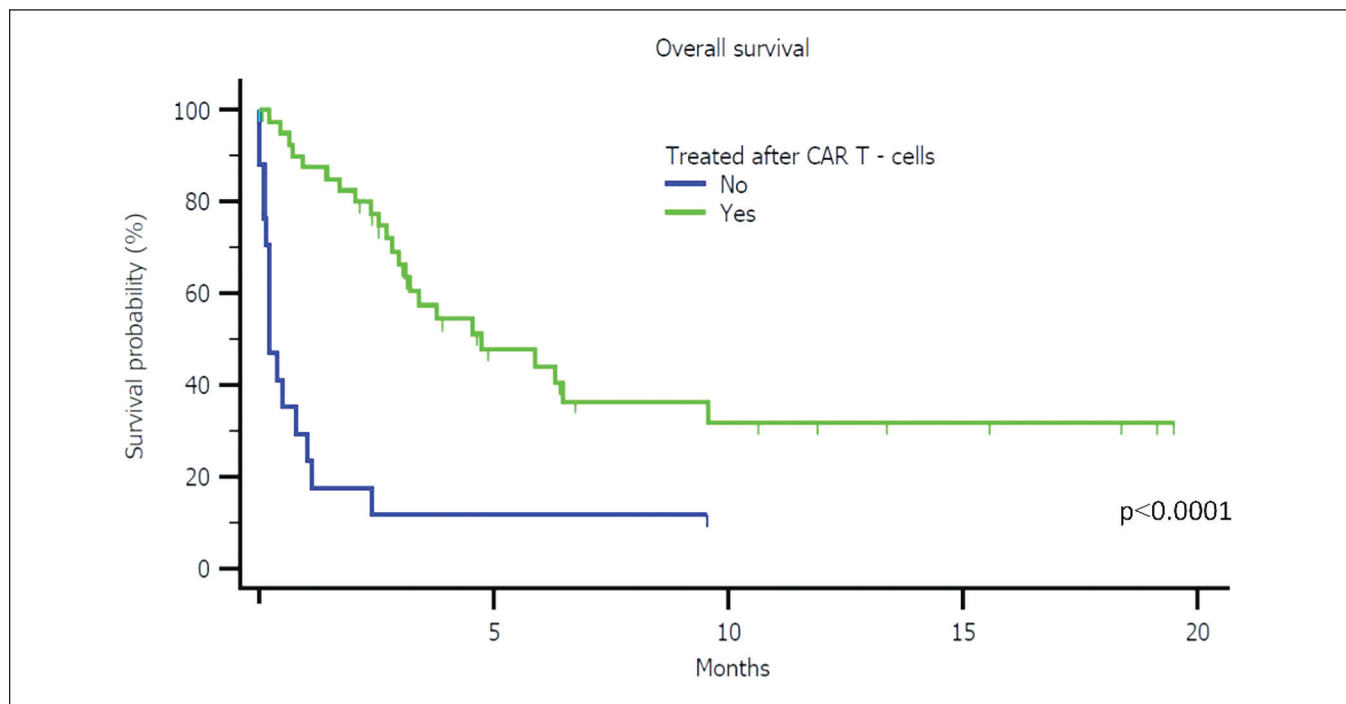
Výsledky: 106p bylo léčeno antiCD19 CAR-T léčbou (79p tisagenlecleucel a 27p axicabtagenem ciloleucel). Medián období bez progresu (PFS) a celkové přežití (OS) byly 4,3 a 26,4 měsíce. Medián sledování byl 16,4 měsíce. Léčebná odpověď (ORR) byla pozorována u 63p (60 %, CR 52 %). Na léčbu neodpovědělo 43p a 17p zrelabovalo/zprogredovalo; analyzovali jsme tedy skupinu 60p. Celkem 42p podstoupilo léčbu, u 18p onemocnění rychle progredovalo a léčeni nebyli. Čtyři pacienti byli léčeni radioterapií (2p dosáhli CR) a 38p systémovou léčbou – glukokortikoidy (6p), lenalidomid + rituximab (6p), chemoterapie + rituximab (16p), polatuzumab + bendamustin a rituximab (6p), reinfuze CAR-T (2p), ostatní (2p). Léčebná odpověď byla pozorována po systémové léčbě u 17% nemocných. Pacienti, kteří nebyli léčeni, měli častěji masivní postižení > 5 cm v době aferézy ($p = 0,02$). Z 60p se selháním antiCD19 CAR-T léčby zemřelo 39p (65 %). Medián OS u pacientů, u kterých CAR-T léčba selhala, byl 3,1 měsíc od diagnózy progresu/relapsu po léčbě CAR-T (6měsíční a 1letý OS 34,9 % a 26 %). Medián OS byl 4,7 měsíce pro léčené nemocné a 0,2 měsíce pro nemocné bez léčby od diagnózy progresu/relapsu.

Závěr: Naše výsledky prokazují mírné zlepšení (OS, PFS) oproti analýze z roku 2022, ale stále potvrzují špatnou prognózu nemocných s relaps/refrakterními agresivními B-lymfomy, u nichž selhala antiCD19 CAR-T léčba. Léčebná odpověď na podávanou léčbu byla nedostatečná a u většiny nemocných lymfom progredoval.

Podpořeno grantem AZV NU21-03-00411, program Cooperatio – vědní oblast „ONCO“.



Graph 2A. Sýkorová A. et al. Overall survival of patients after anti-CD19 CAR-T therapy according to treatment response.



Graph 2B. Sýkorová A. et al. Overall survival of anti-CD19 CAR-T failed patients (treated vs. untreated)

7. MEET THE EXPERTS – VZÁCNÁ DĚDIČNÁ ONEMOCNĚNÍ

RIZIKA VROZENÝCH PORUCH KRVETVORBY A DŮVODY K JEJICH DLOUHODOBĚMU SLEDOVÁNÍ OD DĚTSKÉHO VĚKU DO DOSPĚLOSTI

Pospíšilová D.¹, Horváthová M.², Čermák J.³

¹ Dětská klinika LF UP a FN Olomouc

² Ústav biologie, LF UP, Olomouc

³ Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

Vrozené poruchy krvetvorby zahrnují velkou skupinu geneticky podmíněných hematologických onemocnění s variabilní etiologií. Pro mnohé z těchto onemocnění je typické, že příznaky nemoci v dětském věku nejsou závažné a stupňují se v dospělosti, kdy se vyvíjí řada komplikací. Cílem sdělení je na vybraných případech ukázat rozvoj onemocnění od dětského věku do dospělosti a zdůraznit důležitost pečlivého sledování pacientů i po dosažení 19. roku věku, kdy se mohou často objevit závažné komplikace.

Fanconiho anémie (FA) Fanconiho anémie (FA) vzniká v důsledku mutace genů FANC komplexu (nejčastěji FANCA), jež se podílejí na opravě poškození DNA, u nemocných bývá přítomna progredující pancytopenie a zvýšené riziko maligního bujení, jež je 50× vyšší než v běžné populaci díky neschopnosti reparace poškození a persistenci vznikajících mutací. U nemocných mohou být přítomny kožní projevy (hyperpigmentované okrsky kůže), malformace skeletu (hypoplasie radia), malformace GIT, urogenitálního traktu aj.). Základním diagnostickým vyšetřením je vyšetření zvýšené incidence chromozomálních zlomů (DEB test), k potvrzení slouží molekulárně genetické vyšetření mutace genů FANC komplexu. Onemocnění se projevuje rozvojem cytopenií v krevním obraze (nejčastěji trombocytopenií) mezi 6.–10. rokem věku, ale u části nemocných mohou projevy vzniknout až v rané dospělosti, kdy je třeba onemocnění odlišit od primárního MDS. Selhání kostní dřeně postihne do věku 40 let 50 % pacientů. Kumulativní incidence AML je do věku 40 let 15–20 %, MDS do věku 50 let 40 %. Nejčastějšími solidními nádory jsou gynekologické malignity a nádory hlavy a krku s kumulativní incidencí 30 % do věku 40 let. Vyšetření zvýšené incidence chromozomálních zlomů (DEB test), k potvrzení slouží molekulárně genetické vyšetření mutace genů FANC komplexu. V léčbě FA je metodou volby transplantace krvetvorných buněk, jež je absolutně indikována při známkách selhávání krvetvorby či progresu do MDS.

Diamondova-Blackfanova anémie (DBA) je charakterizovaná izolovanou poruchou erytropoézy s anémií různého stupně.

Onemocnění je způsobeno ve většině případů mutacemi genů pro ribozomální proteiny. V dětském věku je hlavním příznakem anémie, která často vyžaduje podávání transfúzí. Postupně se rozvíjí přetížení železem. Onemocnění je také spojeno se zvýšeným rizikem rozvoje hematologických malignit i solidních tumorů.

Mechanismus přechodu od hypoproliferativního onemocnění k hyperproliferativnímu onkogennímu fenotypu v pozdější fázi života DBA pacientů není zcela objasněn. Jedním s diskutovaných faktorů je oxidační stres.

Dědičné mutace genu pro GATA2 – GATA2 gen představuje tzv. zinc finger transkripční faktor, jenž se uplatňuje v regulaci efektivní genové exprese v kmenových krvetvorných buňkách, regulaci proliferace a diferenciací. Heterozygotní mutace jsou spojeny s různým stupněm cytopenie, absolutní monocytopenií (MonoMack syndrom), imunodeficitem (plicní infekty), akvizicí mutací a chromozomálních aberací (–7, +8) a vysokým rizikem maligní transformace (85 % nemocných – AML ve 40 letech!). Léčebnou metodou volby je transplantace krvetvorných buněk.

Deficit pyruvátkinázy (PKD) je třetí nejčastější enzymopatie s variabilním stupněm anémie a ikteru. U části pacientů je pro závažnou anémii nutno podávat transfúze erytrocytární masy. V dospělosti se u nejzávažnějších anémií vyvíjí osteopenie a přetížení železem. Již dříve jsme ukázali, že erytroenzymopatie, vč. PKD se projevují různým stupněm poruchy produkce hepcidinu; klíčové molekuly inhibující absorpci, mobilizaci a recyklaci železa. Právě v důsledku nepřiměřené suprese hepcidinu neefektivní erytropoézou jsou pacienti s PKD náchylnější k přetížení železem, které se může rozvinout i nezávisle na krevních transfúzích.

Vrozené erytrocytózy, charakterizované zvýšenou tvorbou erytrocytární masy, představují velmi heterogenní skupinu poruch, o jejíž incidenci a prevalenci nejsou spolehlivé informace. Navíc, u téměř dvou třetin pacientů zůstává kauzální mutace neodhalena. Vrozené erytrocytózy jsou obecně považovány za benigní, i když u některých pacientů jsou v dospělosti popisovány život ohrožující trombotické anebo kardiovaskulární komplikace. Recentní data také naznačují, že některé mutace spojené s vrozenými erytrocytózami mají predispoziční potenciál pro vznik myeloproliferativních neoplazií. Dlouhodobé systematické sledování těchto pacientů je proto nezbytné pro lepší pochopení průběhu nemoci a zlepšení terapeutických přístupů i celkového managementu pacientů s vrozenými erytrocytózami.

8. MNOHOČETNÝ MYELOM / / MONOKLONÁLNÍ GAMAPATIE

SOUČASNÉ MOŽNOSTI DIAGNOSTIKY A LÉČBY AL AMYLOIDÓZY

Pika T.

Hematoonkologická klinika LF UP a FN Olomouc

AL amyloidóza (light chain) je systémové nebo orgánově limitované onemocnění patřící do skupiny monoklonálních gamapatií, resp. plazmocelulárních dyskrázií. Jedná se o méně obvyklé onemocnění a incidence je přibližně 5–12 nemocných na milion obyvatel za rok, představuje však více než 70 % případů ze všech typů amyloidóz. Onemocnění je charakterizované depozicí fibril tvořených fragmenty nebo kompletními molekulami monoklonálních lehkých řetězců imunoglobulinu produkovaných klonální plazmocelulární populací. Imbibice tkání amyloidem má za následek progredující poškození orgánů – nejčastěji ledvin, srdce, jater a periferního nervového systému. V naprosté většině případů bývá u nemocných zjevné multiorgánové poškození.

Diagnostika AL amyloidózy zahrnuje komplexní vyšetření zahrnující průkaz monoklonálního imunoglobulinu v séru a/nebo v moči či strukturálních podjednotek – volných lehkých řetězců imunoglobulinu, průkaz produkujícího B-buněčného klonu (klonální plazmocyty ev. vyloučení asociace s mnohočetným myelomem, Waldenströmovou makroglobulinémií či jinou B-lymfoproliferací) a orgánový screening (echokardiografie ev. MR srdce, UZ ledvin a jater, stanovení proteinurie, kardiomarkerů (troponin, natriuretické peptidy) a aktivity alkalické fosfatázy). Nezbytností je biopsický odběr tkáně s histologickým průkazem (barvení Konžskou červení) a následnou typizací amyloidových mas (imunofluorescence, imunohistochemie, hmotnostní spektrometrie).

Stratifikaci nemocných do jisté míry umožňuje stážovací systém Mayo clinic, který má nejen prognostický význam, ale napomáhá rovněž ve výběru vhodné terapie.

Léčba AL amyloidózy je přísně individuální s volbou terapie s ohledem na věk, komorbidity a pokročilost orgánového poškození. Eliminace B-lymfocytárního klonu a redukce nálože amyloidogenních lehkých řetězců (tedy dosažení hematologické remise) je podmínkou k dosažení orgánové léčebné odpovědi a tím i delšího přežití nemocných. Doposud nejúčinnější léčebnou modalitu pro nemocné s AL amyloidózou terapie vysokodávkovaným melfalanem s podporou autologního štěpu, které může předcházet 3–4měsíční indukční terapií. Tato léčebná modalita je spojena s vysokým procentem dosažených remisí, ale vzhledem k částečnému vyššímu věku nemocných, orgánovému poškození a dalším komorbiditám lze tuto terapii poskytnout pouze asi 20 % pacientů. V současnosti jsou definována kritéria, umožňující posoudit bezpečnou indikaci této léčby. Vysokodávkovaná terapie je spojena s dosažením hematologické odpovědi u více než 70 % nemocných.

Základem terapie 1. linie je v současnosti léčba zahrnující monoklonální protilátku daratumumab nejčastěji v kombinaci s bortezomibem, cyklofosfamidem a dexametasonem. Léčebná kombinace se využívá jako indukční režim před plánovanou autologní transplantací, ale i jako konvenční režim pro nemocné, kteří k vysokodávkované terapii indikováni nejsou. Tato léčba je spojena s vysokým procentem nejen hematologických, ale i orgánových léčebných odpovědí. V případě relabujících nemocných lze užít řadu dalších léků s biologickým účinkem ze skupiny IMiD (lenalidomid, pomalidomid), inhibitorů proteasomu (karfilzomib, ixazomib) či bcl-2 inhibitorů (venetoclax).

V současnosti probíhají klinické studie testující terapeutické použití protilátek vůči amyloidovým depozitům v tkáních. Nedílnou součástí léčby podpůrná terapie cílená na zlepšení či náhradu funkce poškozených orgánů, nezbytná je mezioborová spolupráce. Přísně individuálně lze zvážit orgánovou transplantaci u mladších nemocných s významným izolovaným orgánovým poškozením, zejména srdce.

NOVÁ DOPORUČENÍ PRO DIAGNOSTIKU A LÉČBU WALDENSTRÖMOVY MAKROGLOBULINÉMIE

Kašćák M.

Oddělení transplantační a buněčné terapie, Klinika hematoonkologie LF OU a FN Ostrava

Waldenströmova makroglobulinémie (WM) je raritním onemocněním charakterizovaným infiltrací kostní dřeně buňkami lymfoplasmocytárního lymfomu (LPL) s produkcí monoklonálního imunoglobulinu (Mlg) třídy IgM (Owen RG et al. 2003). Svým chováním je sice blízká indolentním B-lymfomům, unikátní biochemické a imunologické vlastnosti molekuly IgM ale způsobují pestrou škálu jedinečných projevů. Mimo známé projevy jako je hyperviskózní syndrom, kryoglobulinémie a nemoc chladových aglutininů může WM provázet i sekundární amyloidóza, infiltrace CNS popisována jako Bing-Neelův syndrom nebo různorodé formy získané neuropatie.

V roce 2014 byli vydány první národní doporučení pro diagnostiku a léčbu WM. Doporučení z roku 2022 představují pokračující aktivitu autorů České myelomové skupiny a Kooperativní lymfomové skupiny po čtyřech letech od předchozího druhého vydání. Se zásadních novinek představují aktuální doporučení v diagnostické části zejména možnosti celogenomového sekvenování sledovaných mutací a v léčebné části výsledky klíčových randomizovaných klinických studií lépe definujících postavení imunochemoterapie,

inhibitorů Brutonovy tyrosinkinázy a udržovací léčby. Zcela nová je kapitola věnující se problematice Bing-Neelova syndromu.

Standardem v diagnostice zůstává nadále histologické a imunohistochemické vyšetření biopsie kostní dřeně. Klíčovou diagnostickou metodou je vyšetření pomocí multiparametrické průtokové cytometrie. Charakteristický imunofenotyp CD22^{low}/CD23^{neg}/CD25⁺/CD27⁺/sIgM⁺ s negativitou antigenů CD5/CD10/CD11c a CD103 pomáhá odlišit WM od jiných B-lymfoproliferací. Pomocí dostupných metod polymerázové řetězové reakce vyšetřujeme v klinické praxi přítomnost mutací v genu *MYD88* tak *CXCR4* u pacientů jak z kostní dřeně, tak periferní krve či mozkomíšního moku (Growkova et al. 2017). Aktivační mutace L265P v genu *MYD88* (záměna aminokyseliny leucinu za prolin na pozici 265) se vyskytuje u > 90 % a somatické mutace v genu *CXCR4* jsou přítomny u > 30 % pacientů s WM (Treon et al. 2012; Hunter et al. 2014). Metody sekvenování nové generace (NGS) zpřesňují zejména vyšetření mutací genu *CXCR4*, kterých bylo doposud popsáno více než 30 a nápomocné jsou i při vylučování alternativních (non-L265P) mutací genu *MYD88*. Citlivost molekulárně genetických vyšetření zvyšuje předchozí selekce CD19 pozitivní populace (Dogliotti et al. 2022).

Hlavním cílem léčby je dlouhodobá kontrola nemoci se zachováním kvality života při minimální toxicitě. Hlavní pilíře léčby u nově a dříve léčené WM jsou kombinace anti-CD20 protilátky rituximabu s chemoterapií a inhibitory Brutonovy tyrosinkinázy (ibrutinib, zanubrutinib) v monoterapii nebo s rituximabem.

Výsledky několika prospektivních randomizovaných klinických studií definovali kombinace rituximabu s cyklofosfamidem a dexamethasonem nebo s bendamustinem jako vysoce účinné a bezpečné léčebné režimy u nově léčené WM. Nově již není doporučována udržovací léčba rituximabem po vstupní léčbě režimem bendamustin, rituximab. Kombinace s proteasomovým inhibitorem bortezomibem jsou vyhrazené v léčbě pacientů ze sekundární IgM asociovanou amyloidózou. Monoterapie rituximabem se zvažuje zejména v situacích imunologických komplikací. Doporučení se věnuje i intoleranci rituximabu u WM, která je u jiných B-lymfoproliferací zcela výjimečná a navrhuje alternativní léčbu anti-CD20 protilátkou obinutuzumabem.

Inhibitory Brutonovy tyrosinkinázy – ibrutinib a zanubrutinib představují nejvýznamnější léčebný posun u WM. U nově i dříve léčených pacientů s WM je pomocí ibrutinibu nebo zanubrutinibu dosahováno > 90 % celkových léčebných odpovědí, z toho převážná většina velkých léčebných odpovědí (PR a lepší) s mediánem bezpříznakového přežití > 5 let. Léčebné odpovědi nebyly ovlivněny žádným z obvyklých negativních prognostických ukazatelů jako vyšší věk, horší biologický stav, vyšší riziko podle mezinárodního prognostického ukazatele ani mírou infiltrace kostní dřeně či počtem předchozích linií. Významný vliv na léčebnou odpověď, její hloubku a rychlost nástupu ale mají mutace genů *MYD88* a *CXCR4*. Mutace genu *CXCR4* a nemutovaný (*wild-type*) gen *MYD88* zhoršují výsledky

léčby ibrutinibem a v případě druhé jmenované mutace významně (Treon et al. 2020). Menší dopad mutací byl pozorován při léčbě zanubrutinibem (Trotman et al. 2020). Negativní prognostický dopad nemutovaného genu *MYD88* může překonat jeho kombinace s rituximabem (Dimopoulos et al. 2018). Stanovením mutací u WM lze tedy předvídat účinnost léčby a volit vhodnější lék či kombinaci.

Dalšími účinnými v léčbě relabované/refrakterní WM jsou inhibitory proteasomu bortezomib, carfilzomib a ixazomib v kombinaci s glukokortikoidy a rituximabem, kombinace lenalidomidu a s cílených inhibitoru idealisib v kombinaci s obinutuzumabem. Účinná je i léčba pomocí venetoclaxu po selhání léčby ibrutinibem.

Diagnostická a léčebná doporučení pro Waldenströmovou makroglobulinemii představují významný systémový nástroj pro využití moderních diagnostických postupů a dostupných účinných léků u tohoto vzácného onemocnění.

Literatura

- Dogliotti I, Jiménez C, Varettoni M, et al. Diagnostics in Waldenström's macroglobulinemia: a consensus statement of the European Consortium for Waldenström's Macroglobulinemia. *Leukemia*. 2023;37(2):388–395. doi:10.1038/s41375-022-01762-3.
- Hunter ZR, Xu L, Yang G, et al. The genomic landscape of Waldenström macroglobulinemia is characterized by highly recurring *MYD88* and *WHIM*-like *CXCR4* mutations, and small static deletions associated with B-cell lymphomagenesis. *Blood* 2014;123(11):1637–1646.
- Growkova K, Kuřová Z, Sevcikova T, et al. Diagnostic Tools of Waldenström's Macroglobulinemia – Best possibilities for non-invasive and long-term disease monitoring. *Klin Onkol*. 2017 Summer;30(Supplementum2):81–91. doi: 10.14735/amko20172S81.
- Kaščík M, Hájek R, Minařík J, et al.: Diagnostika a léčba Waldenströmovy makroglobulinemie. Diagnostika a léčba systémové AL amyloidózy: Doporučení vypracovaná Českou myelomovou skupinou, Myelomovou sekci České hematologické společnosti, Kooperativní lymfomovou skupinou, Lymfomovou sekci České hematologické společnosti. *Transfuzie Hematol dnes* 2022;19(Supplementum 1):71.
- Owen RG, Treon SP, Al-Katib A, et al. Clinicopathological definition of Waldenström's macroglobulinemia: consensus panel recommendations from the Second International Workshop on Waldenström's Macroglobulinemia. *Semin Oncol* 2003;30:110–115.
- Paiva B, Montes M, García-Sanz R, et al. Multiparameter flow cytometry for the identification of the Waldenström's clone in IgM-MGUS and Waldenström's Macroglobulinemia: new criteria for differential diagnosis and risk stratification. *Leukemia*. 2014;28:166–173
- Treon SP, Xu L, Yang G, et al. *MYD88* L265P somatic mutation in Waldenström's macroglobulinemia. *N Engl J Med*. 2012;367(9):826–833.
- Treon SP, Xu L, Guerrero ML, et al. Genomic landscape of Waldenström macroglobulinemia and its impact on treatment strategies. *J Clin Oncol*. 2020;38(11):1198–1208.
- Treon SP, Meid K, Gustine J, et al. Long-Term Follow-Up of Ibrutinib Monotherapy in Symptomatic, Previously Treated Patients With Waldenström Macroglobulinemia. *J Clin Oncol*. 2021 Feb 20;39(6):565–575. doi: 10.1200/JCO.20.00555.
- Trotman et al. 2020 Long-Term Follow-up of Ibrutinib Treatment for Rituximab-Refractory Waldenström's Macroglobulinemia: Final Analysis of the Open-Label Substudy of the Phase 3 iINNOVATETM Trial, ASH 2020.

PŘÍNOS SUBSTITUČNÍ LÉČBY IMUNOGLOBULINY U PACIENTŮ S HEMATOONKOLOGICKÝMI ONEMOCNĚNÍMI – KLINICKÉ ZKUŠENOSTI

Jungová A.¹, Mohammadová L.¹, Vozobulová V.¹, Stejskal L.²,
Jindra P.¹

¹ Hematologicko onkologické oddělení, FN Plzeň

² Hematologicko-transfúzní oddělení, Slezská nemocnice v Opavě

Úvod: Sekundární imunodeficit (SID) je získaná porucha imunity, projevující se nejčastěji jako porucha produkce polyklonálních imunoglobulinů. Nejčastěji se vyskytuje u hematologických pacientů a to jak vlivem základní nemoci, tak vlivem podávané léčby. Mezi nejrizikovější patří chronická lymfatická leukemie (CLL), mnohočetný myelom (MM), B buněčné lymfomy a Waldenströмова makroglobulinémie (MW). Dalším rizikovým faktorem je B cell ablativní terapie, nejčastěji léčba rituximabem. V našem sledování jsme hodnotili výskyt infekčních komplikací vyžadujících ATB terapii a hospitalizace pro infekční komplikace u pacientů léčených imunoglobuliny před zahájením substituční léčby a během prvního roku podávání substituce.

Pacienti a metody: Retrospektivní analýza u 61 pacientů (Hematologicko-onkologické oddělení FN Plzeň 33 pacientů, Slezská nemocnice Opava 28 pac.) léčených substituční léčbou formou subkutánního podání imunoglobulinů (SCIG). Indikací k podání byly opakované infekty, infekty vyžadující JIP, či pokles IgG pod 4 g/l. Data byla sbírána od 1/2017 do 12/2021. Sledovali jsme výskyt infekčních komplikací vyžadující ATB léčbu a počty hospitalizací primárně z důvodu infekční komplikace. Porovnávalo bylo období 1 roku před zahájením SCIG a první rok léčby SCIG. JMM –10 (16%), MW –3 (5%) a ostatní –9 (15%). Hodnocení dat probíhalo podle publikací Benbrahim 2019 a Vacca 2019.

Výsledky: V porovnání výskytu infekčních komplikací vyžadující ATB léčbu před a během léčby SCIG došlo u všech pacientů k –125 vs. 43 infekcí ($p = 0,0001$). Celková doba podávání SCIG byla s mediánem 11 měsíců (2–38). Medián podání během sledovaného prvního roku substituce SCIG byl 6 (2–14). Medián IgG před zahájením byl 3,6 g/l (0,1–6,5), po ukončení SCIG 5,7 g/l (3,4–10,7). Došlo také k poklesu hospitalizací 40 vs. 15 ($p = 0,053$).

Závěr: Většina hematologických pacientů má SID, který z našich dat je patrný signifikantní pokles infekčních komplikací vyžadující ATB léčbu po zahájení SCIG. Stejně tak je patrné i snížení hospitalizací z důvodu infekční komplikace. Vše toto pak vede ke zlepšení QoL. Podávání SCIG je také možné v domácích podmínkách, což zvyšuje dostupnost této léčby.

ANALYSIS OF MONOCYTE SUBSETS IN PATIENTS WITH MULTIPLE MYELOMA IN PAIRED BONE MARROW ASPIRATE AND PERIPHERAL BLOOD

Nesnadná R.¹, Petráčková A.¹, Minařík J.², Mikulková Z.¹, Manukyan G.¹,
Savara J.¹, Papajík T.², Pika T.², Kriegová E.¹

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

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

Background: The bone marrow (BM) microenvironment plays an important role in the pathogenesis of multiple myeloma (MM). The recent study (Edwards et al., Blood Adv. 2023) reveals that absolute peripheral blood monocyte count (AMC) reflects the BM microenvironment and is associated with inferior overall survival (OS). The prognostic value of monocytes and their subsets in BM and peripheral blood (PB) in MM is still unclear.

Methods: The study cohort consisted of 53 MM patients (sampling at diagnosis, N = 20; relapse, N = 33). Immunophenotyping of monocyte subsets (classical, intermediate and non-classical monocytes) and other immune cell populations in paired BM aspirate and PB was performed using a 14-color flow cytometry (BD FACS Canto II, Becton Dickinson). Patients were stratified according to the treatment response as follows: complete response (CR, N = 13), very good partial response (VGPR, N = 10), partial response (PR, N = 16), stable disease (SD, N = 5), progressive disease (PD N = 2) and minimal response (MR, N = 7). Progression-free survival (PFS) was estimated by the Kaplan-Meier method and compared between subgroups using the log-rank test.

Results: Patients with CR were characterized by increased percentage of classical monocytes in BM compared to patients with MR ($P = 0.035$). Moreover, monocytes in CR group expressed elevated levels of CD64 ($P < 0.001$) and CD163 ($P = 0.015$) in BM comparing to MR group. Our analysis revealed that percentage of classical monocytes in BM (cut-off 71%) correlates with PFS. Particularly, MM patients with lower percentage of classical monocytes in BM ($\leq 71\%$, N = 23) had shorter PFS, than those with higher number of classical monocytes (N = 30, median PFS 18 vs. 23 months; $P = 0.011$). Additionally, patients achieving CR showed a lower percentage of T regulatory cells in BM comparing to MR ($P = 0.036$). In PB, a trend to lower AMC ($P = 0.088$) and higher platelet-to-lymphocyte ratio ($P = 0.005$) was detected in patients achieving CR compared to MR, but not in distribution of monocyte subsets.

Conclusion: Our pilot data suggests that low percentage of classical monocytes in BM aspirate in patients with MM is associated with poor response to the treatment and worse PFS. The role of classical monocytes in BM microenvironment in MM is still unclear and should be further investigated.

Supported by IGA_LF_2023_010, MH_CZ-DRO (FNOL_00098892).

9. TRANSPLANTACE / BUNĚČNÁ TERAPIE

LÉČBA T LYMFOCYTY S CHIMERICKÝM ANTIGENNÍM RECEPTOREM (CAR-T) V ČESKÉ REPUBLICE

Folber F.¹, Pytlík R.², Polgárová K.³, Belada D.⁴, Šrámek J.⁵, Mihályová J.⁶, Szotkowski T.⁷, Šrámková L.⁸

¹ Interní hematologická a onkologická klinika FN Brno

² Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

³ I. interní klinika – hematologie VFN v Praze

⁴ IV. interní hematologická klinika FN Hradec Králové

⁵ Hematologicko-onkologické oddělení, FN Plzeň

⁶ Klinika hematonekologie FN Ostrava

⁷ Hemato-onkologická klinika FN Olomouc

⁸ Klinika dětské hematologie a onkologie FN Motol, Praha

Úvod: CAR-T lymfocyty patří mezi moderní metody buněčné terapie, jsou vyráběny genetickou modifikací autologních T lymfocytů odebraných pomocí nemobilizované leukaferézy. Ve výrobním závodě příslušné farmaceutické firmy je poté provedena selekce T lymfocytů, do kterých je vložen gen pro chimerický antigenní receptor (CAR), obsahující vazebnou, kostimulační a aktivační doménu. Po kultivaci a kontrole kvality jsou vyrobené CAR-T lymfocyty zamrazeny a odeslány zpět. Vlastnímu podání pacientovi předchází lymfodepleční přípravná chemoterapie, obsahující obvykle fludarabin a cyklofosamid. Přípravek CAR-T je rozmražen přímo u lůžka pacienta a podán formou intravenózní infuze.

Tato léčba je možná pouze v centrech, která jsou certifikována k podání příslušného preparátu.

Preparáty CAR-T, jejich indikace a dostupnost v ČR: Níže jsou v abecedním pořadí uvedeny registrované komerční preparáty, jejich terapeutické indikace podle SPC a dostupnost v ČR (stav k dubnu 2023):

- **Axikabtagen ciloleucel** (axi-cel, Yescarta, anti-CD19–CD28–CD3zeta) je indikován k léčbě:
 - dospělých pacientů s difúzním velkobuněčným B-lymfomem (DLBCL) a s high-grade B-buněčným lymfomem (HGBL), který relabuje do 12 měsíců po dokončení chemoimunoterapie první linie nebo je na ni refrakterní [1]; v ČR k dispozici od roku 2023,
 - dospělých pacientů s relabujícím nebo refrakterním DLBCL a s primárním mediastinálním velkobuněčným B-lymfomem (PMBCL), po dvou či více liniích systémové léčby [2]; v ČR k dispozici od roku 2019,
 - dospělých pacientů s relabujícím nebo refrakterním folikulárním lymfomem (FL) po třech či více liniích systémové léčby [3]; v ČR k dispozici od roku 2022.
- **Brexukabtagen autoleucel** (brexu-cel, Tecartus, anti-CD19–CD28–CD3zeta) je indikován k léčbě:
 - dospělých pacientů s relabujícím nebo refrakterním lymfomem z pláštových buněk (MCL) po dvou či více liniích systémové léčby,

které zahrnovaly léčbu inhibitorem Brutonovy tyrosinkinázy [4]; v ČR k dispozici od roku 2021,

- dospělých pacientů ve věku 26 let a starších s relabujícím nebo refrakterním akutním lymfoblastickou leukémií (ALL) z prekursorů B-buněk [5]; v ČR k dispozici od roku 2023.
- **Ciltakabtagen autoleucel** (cilta-cel, Carvykti, 2× anti-BCMA–4-1BB–CD3zeta) je indikován k léčbě:
 - dospělých pacientů s relabujícím a refrakterním mnohočetným myelomem (MM), kteří podstoupili alespoň 3 předchozí terapie zahrnující imunomodulátor, inhibitor proteazomu, a protilátku proti CD38 a kteří během poslední léčby vykázali progresi onemocnění [6]; dostupnost v ČR je očekávána v roce 2024.
- **Idekabtagen vikleucel** (ide-cel, Abecma, anti-BCMA–4-1BB–CD3zeta) je indikován k léčbě:
 - dospělých pacientů s relabujícím a refrakterním MM, kteří podstoupili alespoň tři předchozí léčby zahrnující imunomodulátor, inhibitor proteazomu a protilátku anti-CD38 a při poslední léčbě u nich došlo k projevům progresse onemocnění [7]; dostupnost v ČR je očekávána nejdříve v roce 2024.
- **Lisokabtagen maraleucel** (liso-cel, Breyanzi, anti-CD19–4-1BB–CD3zeta s balancovaným poměrem CD4:8 1 : 1) je indikován k léčbě:
 - dospělých pacientů s relabujícím nebo refrakterním DLBCL, PMBCL a FL grade 3B, po dvou nebo více liniích systémové terapie [8]; dostupnost v ČR je očekávána nejdříve v roce 2024.
- **Tisagenlekleucel** (tisa-cel, Kymriah, anti-CD19–4-1BB–CD3zeta) je indikován k léčbě:
 - pediatrických a mladých dospělých pacientů do 25 let vč. s B-ALL, která je refrakterní, v relapsu po transplantaci nebo ve druhém nebo pozdějším relapsu [9]; v ČR k dispozici od roku 2019,
 - dospělých pacientů s relabujícím nebo refrakterním DLBCL po dvou nebo více liniích systémové terapie [10]; v ČR k dispozici od roku 2019,
 - dospělých pacientů s relabujícím nebo refrakterním FL po dvou nebo více liniích systémové terapie [11]; v ČR k dispozici od roku 2022.

Výběr pacienta a posouzení způsobilosti k léčbě: Výběr vhodného pacienta a zhodnocení jeho klinického a laboratorního stavu je zásadní pro úspěch této finančně i organizačně náročné léčby. Posouzení způsobilosti konkrétního pacienta v jednotlivých časových bodech (indikace, aferéza, zahájení lymfodeplece, podání CAR-T) je vždy na zodpovědnosti daného certifikovaného odběrového nebo léčebného centra a vychází z mezinárodních doporučení EBMT, JACIE a EHA [12].

Léčebné výsledky a nežádoucí účinky: Výsledky léčby v registračních studiích nejsou vzájemně porovnatelné vzhledem k odlišným populacím pacientů, diagnózám, indikačním kritériím a liniím léčby. V případech zájmu jsou k dohledání v citovaných publikacích.

Po podání CAR-T lymfocytů dochází jejich k aktivaci, přihojení a expanzi. Následná aktivace imunitního systému se může projevit jako **syndrom z uvolnění cytokinů** (*cytokine release syndrome* – CRS). Při této velmi časté komplikaci se objevují vždy febrilie, může ale docházet také k hypotenzi nebo hypoxii. Symptomatická léčba spočívá v podávání antipyretik, podpoře oběhu katecholaminy, podávání kyslíku a v nejtěžších případech i umělé plicní ventilaci. Efektivní řešení CRS představuje podávání tocilizumabu a kortikoidů. Nejzávažnější, ale naštěstí vzácnou formou CRS je **syndrom aktivovaných makrofágů** (*macrophage activation syndrome* – MAS), projevující se navíc koagulopatií, vzestupem ferritinu a jaterních testů a hemofagocytózou. V léčbě jsou doporučeny vysoké dávky kortikoidů v kombinaci s preparátem anakinra a případně i cytostatiky.

Druhým nejčastějším specifickým nežádoucím účinkem je **syndrom neurotoxicity** (*immune effector cell-associated neurotoxicity syndrome* – ICANS). Projevuje se mírnými poruchami koordinace jemných pohybů, expresivní afázií, poruchami paměti, orientace nebo počítání. Může ale vyústit i v závažnější formy s epileptickými křečemi, poruchou hrubé motoriky, otokem mozku nebo bezvědomím. Léčba je symptomatická a zahrnuje kortikoidy a antiepileptika.

Mezidlouhodobé nežádoucí účinky patří **hypogamaglobulinemie**, která je způsobena potlačením normálních B lymfocytů. Substituci si však vyžaduje pouze v případech závažných nebo recidivujících infekcí.

Zanedbatelné nejsou ani **infekční komplikace**. V prvních týdnech po podání jde zejména o bakteriální, virové a kvasinkové infekce, v prvních měsících i invazivní mykózy. Během prvního roku jsou nebezpečím herpetické a respirační viry a pneumocystová pneumonie.

Nejčastějším vedlejším účinkem po podání jsou **cytopenie** (neutropenie, trombocytopenie nebo anémie), nejen v důsledku přípravné lymfodepleční chemoterapie, ale i systémové imunitní odpovědi. Dlouhodobou a závažnou neutropenií lze řešit podáním autologních periferních krvetvorných buněk, pokud jsou k dispozici. Dlouhodobou a závažnou trombocytopenií lze zkusit řešit mimetiky trombopoetinového receptoru.

Zkušenosti a výsledky léčby v ČR v zásadě kopírují data klinických studií a reálné praxe zahraničních center a budou prezentovány v rámci ústního sdělení.

Závěr: Buněčná terapie pomocí CAR-T lymfocytů přináší naději pro část pacientů s relabujícími nebo refrakterními non-hodgkinskými B lymfomy a akutní B lymfoblastickou leukémií. Moderní terapie s sebou přináší nové spektrum toxicity, která je však dobře zvladatelná a obvykle nezávažná. V budoucnosti očekáváme rozšíření indikací i na mnohočetný myelom.

Literatura

1. Locke FL, Miklos DB, Jacobson CA, et al. Axicabtagene Ciloleucel as Second-Line Therapy for Large B-Cell Lymphoma. *N Engl J Med.* 2022;386(7):640–654.
2. Neelapu SS, Locke FL, Bartlett NL, et al. Axicabtagene ciloleucel CAR T-cell therapy in refractory large B-cell lymphoma. *N Engl J Med.* 2017;377:2531–2544.

3. Jacobson CA, Chavez JC, Sehgal AR, et al. Axicabtagene ciloleucel in relapsed or refractory indolent non-Hodgkin lymphoma (ZUMA-5): a single-arm, multicentre, phase 2 trial. *Lancet Oncol.* 2022;23(1):91–103.
4. Wang M, Munoz J, Goy A, et al. KTE-X19 CAR T-cell therapy in relapsed or refractory mantle-cell lymphoma. *N Engl J Med.* 2020;382:1331–1342.
5. Shah BD, Ghobadi A, Oluwole OO, et al. KTE-X19 for relapsed or refractory adult B-cell acute lymphoblastic leukaemia: phase 2 results of the single-arm, open-label, multicentre ZUMA-3 study. *Lancet.* 2021;398(10299):491–502.
6. Berdeja JG, Madduri D, Usmani SZ, et al. Ciltacabtagene autoleucel, a B-cell maturation antigen-directed chimeric antigen receptor T-cell therapy in patients with relapsed or refractory multiple myeloma (CARTITUDE-1): a phase 1b/2 open-label study. *Lancet.* 2021;398(10297):314–324.
7. Munshi NC, Anderson Jr LD, Shah N, et al. Idecabtagene vicleucel in Relapsed and Refractory Multiple Myeloma. *N Engl J Med.* 2021;384(8):705–716.
8. Abramson JS, Palomba ML, Gordon LI, et al. Lisocabtagene maraleucel for patients with relapsed or refractory large B-cell lymphomas (TRANSCEND NHL 001): a multicentre seamless design study. *Lancet.* 2020;396(10254):839–852.
9. Maude SL, Laetsch TW, Buechner J, et al. Tisagenlecleucel in children and young adults with B-cell lymphoblastic leukemia. *N Engl J Med.* 2018;378:439–448.
10. Schuster SJ, Bishop MR, Tam CS, et al. Tisagenlecleucel in adult relapsed or refractory diffuse large B-cell lymphoma. *N Engl J Med.* 2019;380:45–56.
11. Fowler NH, Dickinson M, Dreyling M, et al. Tisagenlecleucel in adult relapsed or refractory follicular lymphoma: the phase 2 ELARA trial. *Nat Med.* 2022;28(2):325–332.
12. Hayden PJ, Roddie C, Bader P, et al. Management of adults and children receiving CAR T-cell therapy: 2021 best practice recommendations of the European Society for Blood and Marrow Transplantation (EBMT) and the Joint Accreditation Committee of ISCT and EBMT (JACIE) and the European Haematology Association (EHA). *Ann Oncol.* 2022;33:259–275.

TRENDS IN ALLOGENEIC HEMATOPOIETIC CELL TRANSPLANTATION OVER THE PAST 21 YEARS – A SINGLE CENTRE ANALYSIS

Jindra P., Karas M., Steinerová K., Lysák D., Šrámek J., Jungová A., Hrabětová M., Bergerová V., Dekojová T., Procházková T.

Department of Haematology and Oncology, University Hospital Plzeň

Introduction: alloHCT has achieved significant advances in recent years, which have enabled its extension and made it feasible for elderly patients. Conversely, the availability of innovative treatment significantly changes the indications of alloHCT. We evaluated the reflection of these changes at our center.

Methods: The file consists of 855 patients who underwent 1st alloHCT during 2001–2021. For the analysis we divided the file into three 7-years periods: 2001–2007 (A = 257 pts), 2008–2014 (B = 304 pts) and 2015–2021 (C = 294 pts).

Results: A significant gradual increase in the median age of patients was evident for the consecutive periods – 50y (range 20–68) vs. 53y (19–71) vs. 55y (20–74); $P < 0.0001$. Likewise, the proportion of patients over 70 increased from 0% in period A to 23 (8%) in period C; $P < 0.0001$. This was reflected in a decline in the use of the myeloablative regimen (43% in A compared to 24% and 28% in periods B and C, respectively; $P < 0.0001$). Bone marrow use increased from 11% to 20% in period

B ($P = 0.0049$), then remained the same for C (18%; $P = 0.943$). There were fundamental changes in the type of donors with an increase in haplodonors in the C: 27% vs. 1% and 0% in B and A ($P < 0.0001$). This was at the expense of siblings (41%–26%–9%; $P < 0.0001$), as the proportion of unrelated donors remained essentially the same (60% vs. 73% vs. 64%). Regarding GVHD prophylaxis, CNIs/MTX remained the mainstay for all types of transplantation except for haplodonors (exclusive PTCY). However, administration of ATG as an adjunct to CNIs increased (22%–30%–55%; $P < 0.0001$). In all periods, the main indication was myeloid malignancies (AML/MDS), the proportion of which rose steadily (39% in A to 62% in C; $P < 0.0001$). Conversely, there was a significant decrease in transplants for CML (11%, 4% and 1%; $P < 0.0001$) and for CLL (14, 13 and 3%; $P < 0.0001$). The share of another indications-ALL/NHL/MM/MH/MPN-remained essentially the same (e.g., ALL 9%, 13% and 9%; $P = 0.1608$).

Conclusion: Our results mirror the EBMT&CIBMTR data. It documents a continuing trend towards transplantation of increasingly older patients and unrelated&haplodonors as the currently predominant. AML/MDS/MPN remain the main indication, while in response to the new drugs, some diagnoses (CML, CLL) decreased substantially. CAR-T treatment has not yet been reflected. In contrast to the EBMT, there were no decline in the BM utilization, as its certain benefit is supported by evidence

2. ALOGENNÍ TRANSPLANTACE PO RELAPSU PO 1. ALOGENNÍ TRANSPLANTACI – ANALÝZA OBDOBÍ 2012–2022 NA HOO FN PLZEŇ

Karas M., Hrabětová M., Steinerová K., Lysák D., Šrámek J., Jindra P.

Hemato-onkologické oddělení, Fakultní nemocnice Plzeň

Úvod: Relaps hematologické malignity po alogenní transplantaci (aloTx) má špatnou prognózu a limitované možnosti léčby. Potenciálně kurativní možnosti je provedení 2. aloTx, které je nicméně dostupné jen pro menší část pacientů a je spojeno s vyššími riziky dalšího relapsu základního onemocnění a transplantační mortality. K zhodnocení výsledků 2. aloTx jsme analyzovaly výsledky tohoto způsobu léčby v posledních 10 letech na našem pracovišti.

Metody: Od 1/2012 do 12/2022 28 pacientů s mediánem věku 42 let (rozmezí 20–71let) podstoupilo 2. aloTx. Medián doby od 1. aloSCT byl 11 měsíců (rozmezí 3–108 měsíců). Základní onemocnění bylo v 12 (43%) případech AML (58% v CR), v 9 (32%) ALL (66% v CR), v 3 (11%) CLL, v 2 (7%) MDS a v 2 (7%) případech MPO. Předtransplantační příprava byla redukována a zdrojem krvetvorných buněk byla v 82% periferní krev a v 18% kostní dřeň. Vždy byl použit jiný dárcce než při 1. aloTx. V 14 (50%) případech se jednalo o haploidentického, ve 2 (7%) případech o shodného příbuzného a ve 12 (43%) případech o nepříbuzného dárcce (z nich 33% HLA neshoda).

Výsledky: U 27 (96%) pacientů došlo k přihojení štěpu. Z 27 hodnocených pacientů se akutní GVHD rozvinula u 15 (55%)

pacientů a chronická GVHD u 5 (29%) ze 17 hodnocených pacientů. S mediánem sledování žijících pacientů 80 měsíců (rozmezí 6–120 měsíců) žije 8 (29%) nemocných, z nichž 7 (25%) je v trvalé kompletní remisi základního onemocnění (3× ALL, 2× AML, 2× MPO). U 16 (57%) pacientů došlo k progresi či relapsu onemocnění a medián doby do relapsu/progrese po 2. aloSCT byl 3 měsíce (rozmezí 0–16 měsíců). Celkem 5 (18%) pacientů zemřelo z důvodu NRM. NRM do dne +100 byla 11% a do roku 14%. Předpokládané celkové přežití (OS) v 1 a 3 letech po 2. aloSCT je 38% a 29%. OS bylo ovlivněno stavem základního onemocnění v době 2. aloTx a dobou do relapsu po 1. aloTx. Pro pacienty s akutní leukemií s pozdním relapsem (> 6 měsíců) a CR v době 2. aloSCT byl OS ve 3 letech 58% vs. 10% pro ostatní pacienty ($p = 0,02$).

Závěr: Získané výsledky ukazují, že 2. aloSCT může u části pacientů s relapsem hematologické malignity zlepšit jejich prognózu a to především u pacientů s pozdním relapsem a v opětné remisi základního onemocnění. Do budoucna využití nových léčebných postupů může snížit rizika relapsu po 1. aloSCT, případně umožnit dosažení kontroly hematologické malignity před 2. aloSCT a tím zlepšit její výsledky.

EXTRAKORPORÁLNÁ FOTOFERÉZA V TERAPII GVHD – SKŮSENOSTI Z 1 900 EXTRAKORPORÁLNÝCH FOTOFERÉZ NA KHAT BRATISLAVA

Martinka J.¹, Sopko L.¹, Bojtárová E.¹, Farkaš F.¹, Hatalová A.¹, Horváthová D.¹, Lukáš J.¹, Slezáková K.¹, Skráková M.¹, Horáková J.², Demitrovičová L.³, Mikušková E.³, Mistrík M.¹, Bátorová A.¹

¹ KHAT LFUK, SZU a UN Bratislava

² KDHO NÚDCH Bratislava

³ NOÚ Bratislava

Úvod: Akútne a chronická GvHD predstavuje závažný problém pri alogénnej transplantácii kmeňových krvetvorných buniek, zvyšuje výrazne morbiditu a mortalitu. Extrakorporálna fotoferéza (ECP) predstavuje účinnú terapeutickú alternatívu k imunosupresívnej liečbe. Je to liečebná procedúra, pri ktorej sa do produktu mononukleárných buniek získaného separáciou celej krvi pridáva fotoaktívna látka (8 MOP). Následne sa produkt ožiarí UVA svetlom o vlnovej dĺžke 365 nm a podáva sa naspäť pacientovi. Od februára 2012 sa ECP na KHAT v Bratislave vykonávajú ako štandardná metóda liečby GvHD tzv. off-line spôsobom a od augusta 2018 aj on-line spôsobom u dospelých aj u detských pacientov.

Metódy: Autori vysvetľujú rozdiely medzi off-line a on-line metódou ECP, kontraindikácie ECP a psoralénu. Odbery sa vykonávali na krvinkových separátoroch Cobe Spectra a Spectra Optia. Na úplnom začiatku sa používal aj krvinkový separátor Amicus. Od decembra 2012 sa využíva na odbery mononukleárných buniek za účelom ECP hlavne krvinkový separátor Spectra Optia. Jeho najväčšou výhodou je jeho prenosnosť. To znamená že u detských pacientov vo vážnom

klinickom stave bolo možné vykonávať ECP priamo v transplantačnej jednotke DFNSP. V auguste 2018 sme dostali možnosť odskúšať prístroj firmy Therakos, Therakos CellEx, ktorý pracuje on-line spôsobom. Väčšina ECP výkonov sa vykonávala cez dialyzačný katéter, len u niektorých pacientov bolo možné použiť ako venózný prístup periférne žily.

Výsledky: Od februára 2012 do februára 2023 sme vykonali 1 900 ECP u 110 dospelých aj detských pacientov z toho 1 069 off-line spôsobom a 831 on-line spôsobom, prevažne s diagnózou akútnej a chronickej GvHD bez závažnejších komplikácií s dobrými výsledkami. Porovnávajú sa výsledky obidvoch systémov, off-line aj on-line. Komplikácie boli spojené s periférnymi žilami, alebo so zavedeným centrálnym venóznym katétrom. ECP má veľmi dobrý bezpečnostný profil a patrí právom do sekundárnej línie liečby na steroidy refraktérnej GvHD.

VÝZNAM PŘEDTRANSPLANTAČNÍ ODPOVĚDI T LYMFOCYTŮ NA ANTIGENY ASOCIOVANÉ S LEUKEMIÍ PRO VÝSKYT RELAPSU MYELOIDNÍCH MALIGNIT BĚHEM PRVNÍCH MĚSÍCŮ PO TRANSPLANTACÍ HEMATOPOETICKÝCH KMENOVÝCH BUNĚK

Němečková Š., Hainz P., Kryštofová J., Macková J., Roubalová K., Šťastná Marková M., Vydra J.

Oddělení imunologie, Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

Úvod: Akutní myeloidní leukemie (AML) a myelodysplastický syndrom (MDS) jsou hemato-onkologické malignity myeloidní buněčné linie. Standardní léčba první linie spočívá v kombinované chemoterapii. Ke snížení rizika relapsu mohou být pacienti indikováni k alogenní transplantaci hematopoetických kmenových buněk (HSCT). Bylo prokázáno, že mnoho myeloidních malignit exprimuje s leukemií asociované (LAA) a leukemické specifické antigeny (LSA), které mohou být rozpoznány pacientovými T buňkami a mohou

sloužit jako antigenní cíle pro imunoterapeutické účely. Cílem této studie bylo popsat změny v repertoáru T buněk specifických pro LAA během imunitní rekonstituce po HSCT.

Metody: Šedesát sedm dospělých pacientů s myeloidní malignitou (AML nebo MDS), kteří podstoupili alotransplantaci s HSC, darovalo vzorek krve před zahájením kondicioningu (preT) a ve 4. a 7. a 11. měsíci po HSCT. V těchto intervalech byla měřena odpověď T buněk proti WT1, PRAME, MUC1, CCNA1, NPM1 a NPM1mut pomocí testu ELISPOT-IFNy a IC-FACS. Byla analyzována asociace mezi velikostí LAA specifické odpovědi T buněk s demografickými a klinickými faktory, jako je věk, pohlaví, diagnóza, riziko ELN, shoda HLA a relaps onemocnění.

Výsledky: Pozitivní T buněčná LAA-specifická odpověď proti CCNA1, MUC1 a PRAME před HSCT je spojena s nízkým rizikem relapsu po HSCT u pacientů s AML, ale zvýšená odpověď T buněk proti MUC1 a PRAME v 7. měsíci byla spojena s rizikem pozdního relapsu. Velikost LAA-specifické odpovědi T buněk před transplantací byla spojena se stavem diferenciací AML buněk v době diagnózy. Zvýšená frekvence LAA-specifických T buněk u příjemců HSCT v 11. měsíci po přenosu buněk se významně nelišila od frekvence před HSCT a od zdravých dárců, což ukazuje, že odpověď T buněk proti LAA lze v tomto intervalu považovat za rekonstituovanou. T buněčná specifická odpověď proti kterémukoli z testovaných LAA byla nalezena alespoň jednou během prvního roku, což ukazuje na imunogennost LAA pro hematologické pacienty. Specifická odpověď T buněk proti NPM1wt a mutované sekvenci NPM1c+ byla ve studovaném souboru pacientů méně častá a nekorelovala s výskytem mutace genu *NPM1*.

Bude ukázána obdobná souvislost velikosti odpovědi T buněk proti antigenům BkPyV před transplantací a potransplantačního průběhu onemocnění.

Závěr: Stanovení odpovědi proti vybraným LAA ukázalo zásadní význam přítomnosti specifických T lymfocytů před transplantací pro další rozvoj pacientova onemocnění.

Podpořeno: Evropský fond pro regionální rozvoj (ERDF), AIIHHP_CZ.02.1.01/0.0/0.0/16_025/0007428_OP_VVV.

10. KONZULTAČNÍ HEMATOLOGIE – GRAVIDITA

TROMBOCYTOPENIE V TĚHOTENSTVÍ

Červinek L.

Interní hematologická a onkologická klinika FN Brno

Zjištění trombocytopenie u gravidní pacientky je v klinické praxi poměrně časté a zaujímá cca 8–10 % gravidních žen. Obecně je nejčastěji zcela benigní gestační trombocytopenie, bez nutnosti terapeutické intervence. Pokud se o toto onemocnění nejedná, je před lékařem poměrně široká diferenciální diagnostika od imunitní trombocytopenie, polékové a sekundární trombocytopenie až po mikroangiopatické syndromy spojené s trombocytopenií. Pokud je již u pacientky imunitní trombocytopenie, známa můžeme se na případnou graviditu připravit, ale i pacientky s imunitní trombocytopenií dlouhodobě v remisi mohou v graviditě s ITP relabovat. Imunitní trombocytopenie obecně není kontraindikací k těhotenství. Pokud se objeví nová trombocytopenie v graviditě, je naše úloha složitější, jelikož nemáme k dispozici test, který by byl schopen jednoznačně stanovit diagnózu ITP. Pro další postup při diagnóze ITP je určující počet krevních destiček a výskyt krvácení. Hematologové s dlouhodobými zkušenostmi s péčí o těhotné pacientky doporučují v průběhu těhotenství udržovat počet trombocytů $> 20\text{--}30 \times 10^9/l$. Pro bezpečné vedení porodu je doporučován počet krevních destiček $> 50 \times 10^9/l$ a v případě podání epidurální anestezie $> 80\text{--}100 \times 10^9/l$.

Pokud je indikovaná léčba ITP v těhotenství máme obecně několik možností. Pokud není kontraindikace lze především v druhém trimestru léčit nízkými dávkami kortikoidů (např. prednison 10–20 mg perorálně). Další možností vhodnou i v prvním trimestru je podání imunomodulační dávky intravenózních imunoglobulinů (IVIg). Tuto léčbu lze v graviditě opakovat, ale problémem je zpravidla nižší účinnost při opakovaném podání. Mezi další možnosti patří imunosupresivní léčba azathioprinem. Mezi stále diskutované lékové skupiny v těhotenství patří agonisté trombopoetického receptoru (TPO). Tato léčba není pro ITP standardní, ale již máme kazuistická data podání agonistů TPO v graviditě. Jedna skupina pacientek, jež byla před těhotenstvím agonisty TPO receptoru léčena v léčbě pokračovala, další části pacienta byla léčba podána cíleně při refrakternitě na veškerou ostatní léčbu a vysokém riziku krvácení pro matku i plod. Publikovaná data o užití agonistů TPO receptoru nesignalizují zvýšená rizika pro matku ani plod a jejich nasazení lze individuálně zvážit dle rizikovosti primárního onemocnění.

IMUNOSUPRESIVNÍ LÉČBA V GRAVIDITĚ POHLEDEM FARMAKOLOGA

Matalová P.

Ústav farmakologie, LF UP a FN Olomouc

Farmakoterapie v těhotenství by měla splňovat požadavek na účinnost a bezpečnost nejenom z pohledu ženy, ale i embrya,

respektive vyvíjejícího se plodu. Mnohá, jinak velmi bezpečná léčiva, jsou v tomto období kontraindikovaná. Optimální volba farmakoterapie navíc musí reflektovat fyziologické změny organismu ženy, ke kterým během gravidity dochází. Vzhledem k obtížnosti hodnocení bezpečnosti většiny moderních léčiv během gravidity jsme většinou odkázáni pouze na velmi omezený soubor informací, jenž je v Souhrnu údajů o přípravku reflektován tvrzením, že daný lék je možné podat pouze tehdy, jestliže očekávaný potenciální přínos převáží nad možným rizikem. Rozhodnutí a konečná zodpovědnost jsou tedy ponechány na lékaři. Stupeň teratogenity léčivé látky lze dělit podle různých klasifikací, přičemž nejčastěji je používána klasifikace dle FDA, podle které jsou imunosupresiva řazena do kategorie D. Jedná se tedy o léčiva, která jsou teratogenní u lidí, ale je možno je podat pro jejich nenahraditelnost.

Potřeba imunosuprese nastává např. u žen po orgánové transplantaci nebo u pacientek s autoimunitním onemocněním. Zásadní je těhotenství naplánovat v době kompenzace choroby a ve stabilizovaném stavu pacientky. Vybrat vhodný lék, který bude dostatečně fungovat, ale pro plod bude přinášet co nejméně rizik. Imunosupresiva, která je možné v těhotenství podávat jsou azathioprin, takrolimus, cyklosporin. Kontraindikovaný je mykofenolát mofetil, metotrexát, leflunomid, cyklofosamid. U některých je potřeba navýšit dávkování, jedná se o inhibitory kalcineurinu, cyklofosfamidu A a takrolimus. Kortikosteroidům se snažíme vyhnout v I. trimestru. Později se snažíme nalézt nejmenší účinnou dávku.

Některá imunosupresiva jsou teratogenní a měla by být zaměněna ještě před otěhotněním (např. mykofenolát), zatímco jiná vyžadují pravidelné monitorování plazmatických koncentrací jak v průběhu těhotenství, tak v brzkém poporodním období, což jsou zejména kalcineurinové inhibitory takrolimus a cyklosporin A. U těchto dvou imunosupresiv byla jako u většiny ostatních léčiv prokázána změna farmakokinetiky během těhotenství a doporučeno zvýšení dávky tak, aby byla dosažena bezpečná a stabilní údobní koncentrace v séru matky.

Terapeutické monitorování je vhodné zejména u léčiv, u nichž byl prokázán užší vztah mezi farmakologickým efektem a jeho koncentrací v organismu než s dávkou. Výsledkem této metody je nastavení dávky léčiva tak, aby byl dosažen optimální klinický účinek se současnou minimalizací výskytu nežádoucích účinků. Právě těhotenství je období charakterizované nestabilní a obtížně předvídatelnou změnou farmakokinetiky mnoha léčiv. Jestliže je potřeba v průběhu těhotenství dávku léčiva zvýšit, bývá většinou po porodu snižována, aby nedošlo k předávkování.

Dedikace: IGA_LF_2023_004.

HEMOLÝZA V GRAVIDITĚ

Procházková J., Hluší A., Slavík L., Úlehlová J.

Hemato-onkologická klinika LF UP a FN Olomouc

Za fyziologických okolností je délka života erythrocytu v periferní krvi přibližně 100–120 dnů. Pokud dochází ke zvýšené destrukci červených krvinek a intenzita hemolýzy přesáhne kompenzační možnosti organismu, dané především akcentací erythropoezy v kostní dřeni, vyvíjí se hemolytická anémie, charakterizovaná typickými laboratorními nálezy a klinickými příznaky. Hemolytické anémie jsou velmi heterogenní skupinou onemocnění a lze je členit podle různých kritérií – např. na korpuskulární a extrakorpuskulární, imunitní a neimunitní, vrozené a získané.

V těhotenství je při hodnocení krevního obrazu nutné počítat se změnami podmíněnými samotnou graviditou – hemoglobin klesá i za fyziologických okolností o 10–20 g/l. Gravidita rovněž znamená specifickou situaci ohledně terapie – z důvodu omezení léčebných možností pro riziko embryotoxicity či zvýšení rizika porodnických komplikací.

V graviditě se můžeme setkat s celou řadou hemolytických anémií, prezentovány budou jednotky klinicky nejvýznamnější svou četností,

závažností či významem z diferenciálně diagnostického hlediska – autoimunitní hemolytická anémie a trombotické mikroangiopatie.

Těhotenství vede k významným regulačním změnám imunitního systému, které umožňují toleranci pro mateřský organismus cizorodých antigenů otcovského původu. Mezi imunitní poruchy během gravidity patří tvorba antierythrocytárních protilátek. Přibližně 1 z 50 000 těhotenství je provázeno tvorbou těchto protilátek různého fenotypu, většina případů ovšem nevede k rozvoji hemolytické anémie. Incidence autoimunitní hemolytické anémie (AIHA) v graviditě není známa, v literatuře lze nalézt pouze kazuistická sdělení nebo multicentrické retrospektivní analýzy.

Gravidita vede rovněž ke zvýšenému riziku vzniku život ohrožujících stavů – trombotických mikroangiopatií provázených různou intenzitou hemolýzy. Podkladem trombotických mikroangiopatií je mikroangiopatická hemolýza, trombopenie a poškození orgánů vlivem ischemizace. Některé tyto stavy se vyskytují pouze v graviditě, pro další je gravidita predisponujícím stavem. V tabulce jsou uvedeny typické klinické projevy a laboratorní nálezy u jednotlivých diagnostických jednotek.

Tab. 1. Diferenciální diagnostika trombotických mikroangiopatií v graviditě.

	TTP	HELLP	CM HUS	Preeklampsie	DIC
trombocytopenie	+++	++	++	+-	+++
koagulopatie	-	+-	-	-	+++
hemolýza	+++	+++	+++	+-	++
nefropatie	+-	+-	+-	+-	-
proteinurie	+-	+-	+++	++	-
hypertenze	+-	+++	++	+++	-
hepatopatie	+	+++	-	+	-
neurolog. symptom.	+++	+-	+-	-	-
def. ADAMTS13	+++	+-	-	-	-
doba vzniku	II./III.t	III.t	80 % postpart.	po 20. týdnu g.	peripartálně

Upraveno dle: Záhumenský a kol., Porodnictvo, 2022.

ÚLOHA TRANSFUZIOLOGA V PĚČI O TĚHOTNÉ

Holusková I., Galuszková D.

Transfuzní oddělení, FN Olomouc

Péče o těhotnou ženu je zajišťována jak ošetřujícím gynekologem, tak i imunohepatologem, který postupuje v souladu s Doporučením Společnosti pro transfuzní lékařství ČLS JEP č. STL2010_06 Imunohepatologická vyšetření v těhotenství a po porodu.

U každé těhotné ženy by mělo být mezi 10.–16. týdnem těhotenství provedeno vstupní imunohepatologické vyšetření

zahrnující vyšetření krevní skupiny v AB0 systému, RhD antigen a screening nepravidelných tepelných antierythrocytárních protilátek. V případě pozitivního screeningu antierythrocytárních protilátek by měla následovat jejich identifikace a v případě, že se jedná o klinicky významnou aloprotilátku i její kvantifikace. Důvodem je určení potenciálně rizikových těhotných z hlediska rozvoje hemolytického onemocnění plodu a novorozence (HON). Další vyšetření se řídí nálezem vstupního vyšetření v souladu s Doporučením Společnosti pro transfuzní lékařství ČLS JEP č. STL2010_06 Imunohepatologická vyšetření v těhotenství a po porodu.

Z hlediska klinické významnosti antierytrocytárních protilátek v patogenezi HON dělíme protilátky na klinicky významné (anti-D, -c, -K, -E, -C, -e, -Ce, -cE, -Fy^a, -Jk^a, anti-A, anti-B), klinicky nevýznamné (Anti-P1, -Le^a, -Le^b, -H, -I, -HI, -N, -Lutheran, protilátky reagující s celým panelem diagnostických erytrocytů a s vlastními erytrocyty, chladové protilátky, protilátky reagující pouze v enzymovém prostředí) a skupinu protilátek, jejichž význam je zvažován individuálně (Anti-C^w, -ce, -C^x, -E^w, -G, -M, -S, -s, -U, -Fy^b, -k, -Kp^{a,b}, -Js^{a,b}, -PP₁P^k, -Jkb, -Tj^a, -Yt^a, -LW, -Diego, -Gerbich, -En^a, -Jr^a, -Wr^a, a další).

Z hlediska specifity protilátek způsobujících HON dělíme HON do tří skupin: Rh HON, způsobený protilátkami z Rh systému, ABO HON, způsobený protilátkami anti-A, anti-B a ostatní, způsobený protilátkami jiných antigenních systémů (anti-K, anti-Jk^a, ...).

V letech 2000–2022 bylo na našem Transfuzním oddělení vyšetřeno celkem 66 156 těhotných žen, u kterých byl vždy vstupně vyšetřen i screening nepravidelných tepelných antierytrocytárních protilátek metodou sloupcové aglutinace a v případě pozitivního screeningu následovala identifikace s panelem typových erytrocytů rovněž metodou sloupcové aglutinace.

Klinicky významné antierytrocytární aloprotilátky byly v letech 2000–2022 detekovány u 2,0 % těhotných žen (1 342/66 156). Nejčastěji byla detekována aloprotilátka anti-E s incidencí 7,8 ‰ (517/66 156), o které ovšem víme, že může vznikat i přirozeně, bez erytrocytárního antigenního podnětu, následována aloprotilátkou

anti-D s incidencí 4,3 ‰ (283/66 156), a to i přes provádění anti-D imunoprofylaxe u RhD negativních žen, dále následovaly aloprotilátky anti-M s incidencí 2,5 ‰ (163/66 156), anti-K s incidencí 1,8 ‰ (116/66 156), anti-C s incidencí 1,6 ‰ (104/66 156), anti-c s incidencí 1,3 ‰ (88/66 156).

V souvislosti s těmito protilátkami byla v letech 2000–2022 provedena intrauterinní transfuze u 28 těhotných žen a bylo provedeno 54 výměnných transfuzí u novorozenců. Aloprotilátka anti-D byla příčinou 23 intrauterinních a 39 výměnných transfuzí (3× směs anti-D+C), aloprotilátka anti-c byla příčinou 1 intrauterinní transfuze a 8 výměnných transfuzí a aloprotilátka anti-K 1 intrauterinní a 1 výměnné transfuze. Počet intrauterinních transfuzí v posledních letech velmi výrazně poklesl a od roku 2011 nebyla ve Fakultní nemocnici Olomouc provedena ani jedna intrauterinní transfuze.

Plod je však ohrožen rozvojem hemolytické nemoci pouze v případech, že má na povrchu svých erytrocytů přítomen komplementární antigen. Přítomnost komplementárního antigenu lze vyšetřit neinvazivně stanovením genotypu plodu z volné fetální DNA cirkulující v periferní krvi těhotné ženy. Genotypování lze uplatnit u systému Rh (*D, c, E*), Kell (*K*), Kidd (*Jk^a*), Duffy (*Fy^a*), největší význam má genotypování pro gen ^{RHD}.

Snahou našeho oddělení je ve spolupráci s ošetřujícím gynekologem poskytnout těhotné ženě maximální možnou dostupnou péči v průběhu celého těhotenství i po porodu.

11. CHRONICKÁ MYELOIDNÍ LEUKEMIE

ASP210 – ŠPECIFICKÝ INHIBÍTOR *BCR-ABL1* MRNA PRE LIEČBU CML

Rázga F.^{1,2}, Némethová V.^{1,2}, Mazancová P.², Téglásová B.², Uhelská L.², Bábelová A.^{3,4}, Šelc M.^{3,4}, Jakič K.³, Mitrovský O.^{5,6}, Myslivcová D.⁵, Žáčková M.⁵, Poturnayová A.⁷, Bátorová A.^{1,8}, Hatalová A.⁸, Slezáková K.^{1,8}, Drgoňa L.⁹, Oravcová I.⁹, Mikušková E.⁹, Demitrovičová L.⁹

¹ LF UK, Bratislava, Slovensko

² Selecta Biotech SE, Bratislava, Slovensko

³ Oddelenie nanobiológie, Ústav experimentálnej onkológie, Biomedicínske centrum SAV, Bratislava, Slovensko

⁴ Centrum pre využitie pokročilých materiálov SAV, Bratislava, Slovensko

⁵ Oddelenie proteomiky, Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha, ČR

⁶ Oddelenie biochémie, Přírodovědecká fakulta UK, Praha, ČR

⁷ Ústav molekulární fyziologie a genetiky, Centrum bioved SAV, Bratislava, Slovensko

⁸ Klinika hematologie a transfuziologie, LF UK, SZU a UNB, Bratislava, Slovensko

⁹ Oddelenie onkohematológie, Národný onkologický Ústav, Bratislava, Slovensko

V predmetnom príspevku budú prezentované predklinické výsledky vysoko-špecifického inhibítora na báze oligonukleotidov – ASP210, vyvinutého pre cieleňú inhibíciu a degradáciu *BCR-ABL1* mRNA. ASP210 účinne indukuje bunkovú smrť všetkých testovaných *BCR-ABL1*-pozitívnych buniek vrátane TKI-rezistentných nesúcich klinicky relevantnú mutáciu T315I, zatiaľ čo nevykazuje žiaden pozorovaný negatívny dopad na *BCR-ABL1*-negatívne, tj. zdravé bunky. Terapeutický potenciál ASP210 pre liečbu CML bude ďalej diskutovaný v kontexte *in vivo*, kedy 10-dňové systémové i.v. podávanie ASP210 myšiam s indukovanou CML v režime 1mg/kg/deň viedlo k redukcii hladiny *BCR-ABL1* mRNA až o 99 %, pričom už v tomto krátkom čase došlo k signifikantnej redukcii leukemickej masy infiltrovaných orgánov až o 50 %.

Predmetná práca bola podporená Agentúrou na podporu výskumu a vývoja prostredníctvom projektov APVV-15-0215, APVV-19-0070, a VEGA grantami 1/0069/20 a 2/0160/21. Práca bola ďalej podporená Ministerstvom zdravotníctva ČR v rámci projektu č. 00023736 ako aj projektom Centra pre využitie pokročilých materiálov SAV č. 313021T081.

EFEKTIVNÍ KOMBINAČNÍ TERAPIE ASCIMINIBEM A PONATINIBEM V LÉČBĚ CDX MODELU BLASTICKÉHO ZVRATU CHRONICKÉ MYELOIDNÍ LEUKEMIE

Čuřík N.¹, Lázníčka A.¹, Polívková V.¹, Křížková J.¹, Semerák P.², Pokorná E.³, Suchánková P.¹, Burda P.¹, Hochhaus A.⁴, Machová Poláková K.¹

¹ Oddělení molekulární genetiky, Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha, ČR

² Childhood Leukaemia Investigation Prague, 2. LF UK a FN Motol, Praha, ČR

³ Ústav patologické fyziologie, 1. LF UK, Praha, ČR

⁴ Klinik für Innere Medizin II, Universitätsklinikum Jena, Germany

Cíle: Blastický zvrát chronické myeloidní leukemie (CML-BP) představuje molekulárně heterogenní pokročilou fází onemocnění, kde i při intenzivní léčbě bývá prognóza pacientů neuspokojivá. Cílem práce bylo otestovat na myším CDX modelu odvozeném od buněčné linie myeloidního blastického zvratu účinek kombinační terapie *BCR::ABL1* inhibítorem 3. generace – ponatinibem (PON), *BCR::ABL1* STAMP inhibítorem asciminibem (ASC) a *BCL-2* inhibítorem venetoclaxem (VEN).

Metody: Z imatinib rezistentního klonu linie KCL-22 nesoucího *BCR::ABL1* mutaci T315I bylo ustanoveno 5 klonů rezistentních k 10 nM PON, které byly charakterizovány na přítomnost mutací v *BCR::ABL1* a v dalších genech asociovaných s hematologickými malignitami (tab. 1). Byly stanoveny hodnoty IC50 pro testovaná léčiva. Shodné množství buněk od každého klonu bylo smícháno a subkutánně transplantováno do NSG myší (5×10⁶ buněk/myš; n = 42). Myši byly náhodně rozděleny do skupin podle způsobu léčby: 1) neléčená kontrola; 2) PON 25 mg/kg tělesné váhy; 3) ASC 30 mg/kg; 4) VEN 50 mg/kg; 5) PON + VEN; 6) ASC + VEN; 7) PON + ASC. Léčiva byla podávána denně od záchytu tumoru (průměr 5 mm v jednom směru), pravidelně byla měřena velikost tumorů. Na konci experimentu byla z vyjmutých tumorů izolována DNA a RNA a provedena NGS mutační analýza prokazující zastoupení jednotlivých klonů.

Výsledky: Zatímco terapie samotným ASC nebo PON neměla žádný vliv na rychlost růstu nádorů oproti kontrolní skupině, kombinovaná terapie ASC a PON vedla k redukcii tumorů na úroveň neměřitelnosti. Analýza mutačních profilů nádorů ukázala, že IC50 hodnoty pro ASC a PON stanovené *in vitro* byly prediktivní pro zastoupení jednotlivých klonů v nádorech. Míra proliferace klonů na terapii ASC *in vivo* byla v sestupném pořadí C7 > F5 > E72 > D8 > D9, zatímco účinek PON na proliferaci klonů jevil inverzní profil D9 > E72 > D8 > F5 > C7. Kombinace ASC a PON měla synergický účinek proti klonům C7 a D9 a aditivní účinek proti růstu dalších klonů. Terapie s VEN a kombinace PON + VEN signifikantně zpomalily růst nádorů. Kombinační léčba vedla svým synergickým účinkem k potlačení klonu C7 a úplné eliminaci klonu D8 z nádorů. Profil inhibice proliferace *in vivo* pro VEN,

C7 > E72 > F5 > D9 > D8, jevil podobnost s inhibičním profilem ASC, nicméně nejevil korelaci s IC50 hodnotami stanovenými pro VEN *in vitro*.

Závěr: Ačkoliv připravený CDX model CML-BP představuje heterogenní onemocnění s rezistencí k PONA, kombinační terapie

ASC + PON byla schopna účinně potlačovat růst nádorů. Hodnoty IC50 asciminibu a ponatinibu vůči každému klonu prediktivně korespondovaly s *in vivo* výsledky monoterapie.

Podpořeno: EUTOS 2022, MZCR 00023736.

Tab. 1. Čuřík N. et al.

Klon	BCR::ABL1 mutace	mutace dalších genů
C7	T315I + H396R	–
D8	T315I + H396R + I418T	–
D9	T315I + E255V	IKZF1 E383G
E72	T315I + Y253H	ZRSR2 R451H
F5	T315I + G250E	SETD1B G1963Gfs

IMATINIB VERSUS NILOTINIB V PRVNÍ LINII V LÉČBĚ PACIENTŮ S CHRONICKOU MYELOIDNÍ LEUKEMIÍ – ANALÝZA S VYUŽITÍM PROPENSITY SKÓRE PÁROVÁNÍ Z DAT REGISTRU INFINITY

Bělohávková P.¹, Žáčková D.², Klamová H.³, Faber E.⁴, Karas M.⁵, Stejskal L.⁶, Cmunt E.⁷, Černá O.⁸, Jurková T.⁹, Balcarová V.⁹, Mayer J.¹⁰

¹ IV. Interní hematologická klinika, FN Hradec Králové

² Interní hematologická a onkologická klinika LF MU a FN Brno

³ Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

⁴ Hematoonkologická klinika LF UP a FN Olomouc

⁵ Hematoonkologická klinika LF UK a FN Plzeň

⁶ Klinika hematoonkologie FN Ostrava

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

⁸ Interní hematologická klinika 3. LF UK a FN KV, Praha

⁹ Institut biostatistiky a analýz, s.r.o., Brno

¹⁰ Interní hematologická a onkologická klinika a Středoevropský technologický institut (CEITEC) LF MU a FN Brno

Úvod: Imatinib (IMA) a nilotinib (NILO) představují léčebnou možnost první linie pro pacienty s chronickou myeloidní leukemií v chronické fázi (CML-CP) a volba preparátu je ovlivněna rizikovými faktory choroby, komorbiditami a věkem nemocného.

Metoda: Od roku 2008 do roku 2020 zahájilo v České republice léčbu CML-CP 984 pacientů, IMA v první linii obdrželo 821 pacientů (83,4 %) a NILO 163 pacientů (16,6 %). Naším cílem bylo zhodnotit význam zvoleného preparátu pro léčebnou odpověď a očekávaná přežití, proto bylo pro hodnocení užito metody propensity skóre párování na základě vstupní charakteristiky „nilotinibových“ pacientů. Retrospektivně bylo tedy hodnoceno 326 párovaných pacientů

léčených IMA (163 pacientů) nebo NILO (163 pacientů) a 658 pacientů IMA nepárovaných.

Výsledky: Pacienti léčení NILO dosáhli rychleji kompletní cyto-genetickou (CCyR) i velkou molekulární odpověď (MMR): CCyR v 6 měsíci (M) u IMA 32,9 % vs. 74,3 % u NILO; MMR ve 12M u IMA 42,5 % vs. 69,2 % u NILO ($p < 0,001$; $p < 0,001$). Pětileté celkové přežití (OS) bylo u skupiny NILO 94,3 % vs. IMA párování 90,5 % srovnatelné ($p = 0,602$), ale OS u skupiny IMA nepárování bylo 86,3 % ($p = 0,021$ při hodnocení všech skupin). Při hodnocení úmrtí ve vztahu k CML nebo její léčbě (disease-specific survival – DSS) nebyl prokázán rozdíl v přežití mezi všemi skupinami ($p = 0,809$). Pravděpodobnost přežití bez progresu (PFS) v 5 letech u skupiny NILO byla 92,9 % vs. IMA párování 88,0 % vs. IMA % vs. IMA nepárování 85,0 % a statistický význam mezi párovanými skupinami IMA a NILO a všemi hodnocenými skupinami nebyl zjištěn ($p = 0,614$; $p = 0,053$). Mezi párovanými skupinami NILO a IMA byl prokázán rozdíl u přežití bez selhání (FFS) a přežití bez události (EFS): 71,7 % vs. 54,3 % ($p = 0,040$) a 71,7 % vs. 53,5 % ($p = 0,025$). 5-leté FFS a EFS u skupiny IMA nepárování bylo zjištěno 54,3 % a 52,0 % ($p = 0,029$; $p = 0,006$ při hodnocení všech skupin).

Závěr: Naše analýza potvrdila rychlejší a hlubší dosažení CCyR a MMR u pacientů léčených NILO. U párovaných skupin IMA a NILO bylo OS srovnatelné, horší přežití měli nemocní IMA nepárování. Tito nemocní však umírají na choroby nesouvisející s CML nebo léčbou, neboť se jedná o skupinu nemocných starších, komorbidních což potvrzuje i zjištěné DSS. Tato analýza z registru INFINITY potvrdila, že stále preferovanou volbu TKI v první linii představuje imatinib. Léčba nilotinibem je zahajována především u mladších pacientů s vyšším rizikem choroby bez závažnějších komorbidit s cílem v budoucnosti dosáhnout remise bez nutnosti léčby.

ANALYSIS OF FACTORS INFLUENCING THE DECISION TO STOP TKI TREATMENT IN CML PATIENTS IN DEEP MOLECULAR RESPONSE

Semerád L.¹, Žáčková D.¹, Bělohávková P.², Voglová J.², Žák P.², Faber E.³, Papajík T.³, Skoumalová I.³, Karas M.⁴, Jindra P.⁴, Klamová H.⁵, Šálek C.⁵, Srbová D.⁵, Žižková H.⁵, Stejskal L.⁶, Černá O.⁷, Cmunt E.⁸, Čičátková P.¹, Kvetková A.¹, Horňák T.¹, Ježíšková I.¹, Jurček T.¹, Weinbergerová B.¹, Procházková J.¹, Machová Poláková K.⁵, Svobodník A.⁹, Štěpánová R.⁹, Mayer J.¹

¹ Interní hematologická a onkologická klinika FN Brno

² IV. interní hematologická klinika FN Hradec Králové

³ Hemato-onkologická klinika FN Olomouc

⁴ Hematologicko-onkologické oddělení, FN Plzeň

⁵ Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

⁶ Klinika hematoonkologie FN Ostrava

⁷ Hematologická klinika FN KV, Praha

⁸ I. interní klinika – hematologie VFN v Praze

⁹ Farmakologický ústav, MU, Brno

Background: Stopping TKI treatment in CML patients is getting more frequent but many questions remain unanswered. It is not even known the proportion of patients who do not want to stop the TKI treatment although they are in the long-term deep molecular response.

Aim: To determine how many CML patients in deep molecular response do not wish to stop TKI treatment. To evaluate the reasons for that decision.

Methods: The Czech nation-wide clinical trial HALF, which started in June 2020, tests to stop TKIs in CML patients after the two-step dose reduction. An integral part of the clinical trial was the questionnaire Anti-HALF. All patients who did not want to enter the HALF project were asked to complete the questionnaire.

Results: In June 2020, the number of living CML patients registered in CELL database was 1,751. By the end of 2022, the stopping of TKI treatment was offered to 246 of them (14%/1,751 pts); 190 of 246 (77.2%) were enrolled (HALF patients, H pts), 45 (18.3%) did not want to participate, but completed the Anti-HALF questionnaire (Anti-HALF patients, AH pts), and 11 (4.5%) refused to complete the survey. AH pts were more frequently of female sex (64.4% vs. 46.8%; $p = 0.046$), elderly (median 67.5y vs. 61.8y; $p = 0.0342$), more frequently retired or unemployed (75.6% vs. 54.5%; $p = 0.0171$) and with already reduced dosing of imatinib (55.6% vs. 34.3%; $p = 0.0223$). The factors which did not seem to play a role were the type of TKI and, unexpectedly, the presence of subjective side effects, or the average distance to travel to treating physician. The AH pts took longer their current TKI, but this difference had a borderline statistical significance (median 9.2y vs. 8.0y; $p = 0.0764$). The AH pts were minimally or not stressed during the regular follow up (82.2%), they felt the TKI as effective and safe treatment (57.8%), were compliant (80.0%), mostly without any subjective side effects of TKI (62.2%). The decision to enter or not the trial was rather difficult for AH pts (53.3%), with serious concern about the disease recurrence (62.2%) and less effective re-treatment (55.6%).

Conclusion: A high proportion of CML patients do not want to stop TKI treatment despite fulfilling the generally accepted stopping criteria. This fact has to be taken into the account when counselling the patients.

Supported by MEYS, RI CZECRIN; ERDF Project CZECRIN_4 PATIENTS; by Ministry of Health of the Czech Republic and by Programme EXCELES.

JE VYSAZENÍ TKI PO PŘEDCHOZÍ DVOUSTUPŇOVÉ REDUKCI JEJICH DÁVKY ÚSPĚŠNÉ A BEZPEČNÉ? AKTUÁLNÍ STAV CELONÁRODNÍ STUDIE HALF U PACIENTŮ S CHRONICKOU MYELOIDNÍ LEUKEMIÍ

Žáčková D.¹, Faber E.², Klamová H.³, Stejskal L.^{4,5}, Bělohávková P.⁶, Karas M.⁷, Černá O.⁸, Cmunt E.⁹, Machová Poláková K.³, Čičátková P.¹, Semerád L.¹, Horňák T.¹, Kvetková A.¹, Procházková J.¹, Rychlíčková J.¹⁰, Štěpánová R.¹⁰, Svobodník A.¹⁰, Skoumalová I.², Žižková H.³, Srbová D.³, Šálek C.³, Buffa D.^{4,5}, Voglová J.⁶, Ježíšková I.¹, Jurček T.¹, Folta A.¹, Borský M.¹, Wiewiorka O.¹¹, Demlová R.¹⁰, Mayer J.^{1,12}

¹ Interní hematologická a onkologická klinika LF MU a FN Brno

² Hematoonkologická klinika LF UP a FN Olomouc

³ Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

⁴ Klinika hematoonkologie FN Ostrava

⁵ Klinika hematoonkologie LF OU, Ostrava

⁶ IV. Interní hematologická klinika LF UK a FN Hradec Králové

⁷ Hematoonkologická klinika LF UK a FN Plzeň

⁸ Interní hematologická klinika 3. LF UK a FN KV, Praha

⁹ I. Interní klinika – klinika hematologie 1. LF UK a VFN v Praze

¹⁰ Farmakologický ústav, LF MU, Brno

¹¹ Oddělení klinické biochemie, FN Brno

¹² Středoevropský technologický institut (CEITEC), MU, Brno

Úvod: Vysazování TKI u pacientů s CML v hluboké molekulární odpovědi (DMR) se stalo novým postupem s ambicí dosáhnout remise bez nutnosti léčby (*treatment-free remission* – TFR). Náhlé vysazení je však úspěšné jen u poloviny vhodných pacientů a je zatíženo syndromem z vysazení až u 30 % z nich.

Cíl: Ve snaze zvýšit úspěšnost TFR a snížit výskyt/tíži syndromu z vysazení jsou od června 2020 v ČR vysazovány TKI v rámci akademické multicentrické studie fáze II, nazvané HALF. Kromě celonárodního charakteru je studie inovativní i způsobem vysazení TKI po předchozí dvoustupňové redukci jejich dávky: v prvním půlroce je dávka TKI redukována na polovinu standardní dávky a v následujících 6 měsících je taťáž dávka podávána obden.

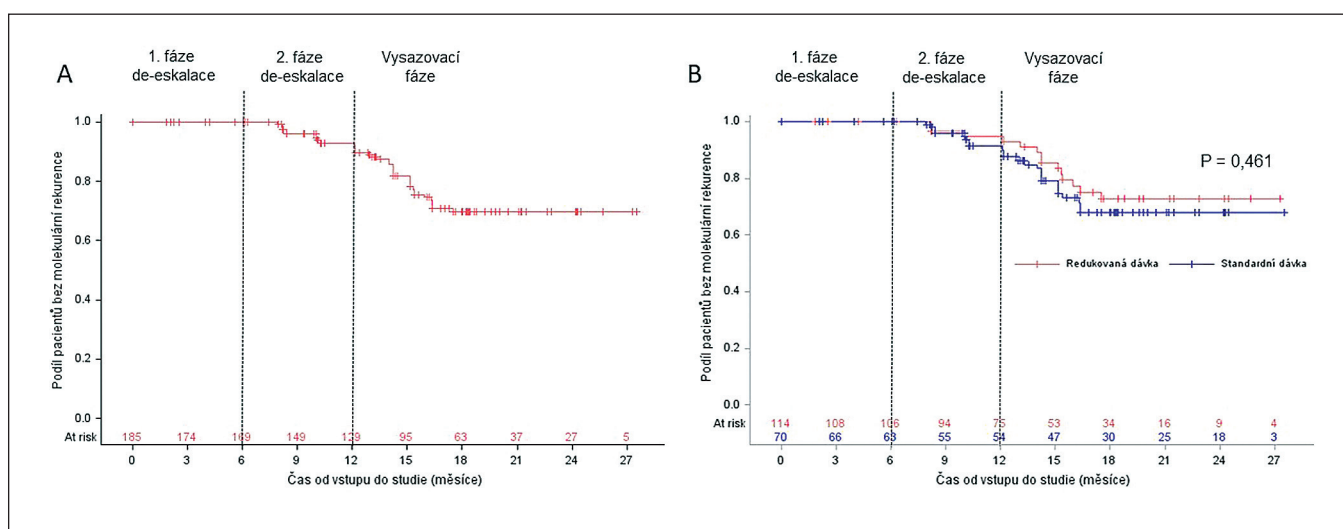
Metody: Přežití bez molekulární rekurence (MRFS) bylo vyhodnoceno pomocí Kaplan-Meierovy analýzy na celém souboru a v rámci podskupin podle vstupní dávky TKI. Podskupiny byly porovnány pomocí log-rank testu.

Výsledky: Ve sledovaném období 1/6/2020–28/2/2023 bylo do studie zařazeno celkem 195 pacientů ze všech 8 center vysoce specializované hematologické péče. Analýze bylo podrobena 185 pacientů, zařazených k 31/1/2023, převážně mužů (100; 54 %), mediánu věku 61 let (rozmezí 24–86). Medián doby trvání předchozí léčby TKI byl 8,8 let (rozmezí 4,1–20,3) a medián doby trvání DMR 6,4 let (rozmezí 2,1–18,4). Při vstupu do studie bylo 139 (75 %) pacientů léčeno imatinibem, 30 (16 %) nilotinibem a 15 (8 %) dasatinibem, přičemž u 71 (38 %) pacientů byla dávka TKI již při vstupu do studie redukována. V době analýzy postoupilo 118 (63,7 %) pacientů do vysazovací fáze studie. Konfirmovaná molekulární rekurence, tj. ztráta MMR ve dvou konsekutivních odběrech, byla zaznamenána u 38 (20,5 %) pacientů, z toho u 15 během druhé fáze deeskalace a u 23 během TFR fáze. Pravděpodobnost MRFS celého souboru v 6,

12 a 18 měsících od vstupu do studie byla 100 %, 92,7 % a 69,9 %. MRFS pro pacienty se standardní vs. redukovanou dávkou TKI při vstupu do studie nevykazovalo statisticky významného rozdílu (obr. 1). Kumulativní incidence MMR a DMR ve 3, 6, resp. 9 měsících po restartu TKI byla 76 a 56 %, 88 a 72 %, resp. 92 a 80 %.

Závěr: Dosavadní průběh studie se 195 zařazenými pacienty potvrzuje zájem ze strany center i pacientů o postupný způsob vysazování TKI. Předběžné výsledky naznačují vyšší pravděpodobnost dosažení TFR než při náhlém vysazení, realizovaném většinou publikovaných studií. Bezpečnost zvoleného postupu potvrzuje i rychlá obnova MMR a DMR po opětovném nasazení TKI.

Podpořeno grantem MZČR č. NU22-03-00136, grantem č. MUNI/A/1224/2022 a prostřednictvím projektu CZECRIN (LM2023049).



Obr. 1. Žáčková D. et al. Přežití bez molekulární rekurence ve studii HALF všech pacientů (A) a dle dávky TKI při vstupu do studie (B).

12. MYELOPROLIFERATIVNÍ CHOROBY / CHRONICKÁ MYELOIDNÍ LEUKEMIE

AKO LIEČIME A CHCEME LIEČIŤ PH NEGATÍVNE MYELOPROLIFERATÍVNE NEOPLÁZIE

Hatalová A., Sopko L., Bátorová A.

*Klinika hematológie a transfúziológie, LF UK a SZU, Univerzitná nemocnica
Bratislava, Slovensko*

Myeloproliferatívne neoplázie (MPN) sú klonové ochorenia, ktoré pochádzajú z jednej krvotvornej kmeňovej bunky; je pre ne typická nadmerná produkcia zrelých krviniek najmä v kostnej dreni. Ku klinickým prejavom tejto hyperproliferatívnej aktivity patria tri základné podtypy MPN, polycytémia vera (PV), esenciálna trombocytémia (ET) a primárna myelofibróza (PMF).

Základnou príčinou MPN sú získané somatické mutácie *JAK2*, *CALR* a *MPL*, podporujúce vznik MPN bez toho, aby si vyžadovali prítomnosť ďalších mutácií [1]. Mutáciu *JAK2* V617F pozorujeme u > 95 % pacientov s PV a tiež asi u polovice pacientov s ET alebo PMF. Mutácie v *CALR* alebo *MPL* spôsobujú aj ET a PMF. Somatické mutácie v hematopoetických kmeňových bunkách (HSC) sú podkladom MPN, samotná expanzia týchto mutovaných HSC sa riadi ďalšími faktormi, vrátane pretrvávajúceho zápalu [2]. Pre manifestáciu ochorenia nie je podstatné získanie mutácie, skôr expanzia klonu, ktorý určí, ako a kedy sa MPN [3] prejaví.

Faktory, ktoré riadia premenu z klonálnej hematopoézy na MPN, zahŕňajú dedičnú predispozíciu, prítomnosť ďalších mutácií a zápal. Včasná liečebná intervencia interferónom alfa (IFN α) má potenciál modifikovať a ovplyvňovať ochorenie vo včasných fázach, vplývať na spomínanú premenu klonovej hematopoézy na MPN. Dnes používané pegylované formy IFN (PegIFN alfa2a, RopegIFN alfa 2b) preukazujú aktivitu proti neoplastickým hematopoetickým kmeňovým alebo progenitorovým bunkám a vyvolávajú hematologickú remisiu a molekulárnu odpoveď, znižujú progresívne udalosti PV a vykazujú zlepšenie celkového prežívania pacienta bez myelofibrózy [4]. IFN alfa je efektívna cytoredukcia aj v prípade ET a prefibrótickej fázy PMF [5]. Predmetom klinických štúdií sú aj lieky s benefitom pre skupinu pacientov s ET a PV bomedemstat a rusfertid (mimetikum hepcidínu), ktorý u pacientov s PV a excesívnou erytrocytózou významne redukuje potrebu flebotómii [6].

V liečbe myelofibrózy (MF) úspech ruxolitinibu zostáva naďalej kľúčový. Nové klinické štúdie majú pomôcť zvládnuť niektoré klinické problémy (cytopénie, stratu odpovede na inhibítor JAK), a to kombináciou liekov, ktoré preukazujú s ruxolitinibom synergizmus. Nové stratégie obsahujú kombinácie ruxolitinibu a luspaterceptu na zvládnutie anémie navodenej liečbou MF.

Ako posilniť a zlepšiť odpoveď na JAK2 inhibíciu v prvej línii liečby MF? Riešením budú kombinácie ruxolitinibu a navitoclaxu (induktor

apoptózy) alebo kombinácia rux a pelabresibu (BET inhibítor). Kým spomínané kombinácie prinášajú pozitívne výsledky, skúšobná kombinácia ruxolitinibu a pascalisibu (selektívny PI3K inhibítor) bola predčasne ukončená pre malú pravdepodobnosť, že sa podarí dosiahnuť redukcii parenchýmu sleziny – primárny cieľ klinickej štúdie.

Pacienti, ktorí prerušia liečbu ruxolitinibom, majú medián celkového prežívania trisťnásť, od 11 do 16 mesiacov [7], preto sa ako naliehavá ukazuje potreba nových liečebných možností. V prípade, že zlyhá liečba ruxolitinibom, existuje možnosť výberu nového JAK inhibítora, fedratinibu schváleného EMA aj FDA na liečbu MF, zatiaľ čo pacritinib je schválený FDA a na schválenie čaká momelotinib.

Momelotinib patrí k potenciálne novým liekom s inhibičnou schopnosťou v rámci troch kľúčových signálnych dráh: JAK1 a JAK2 a receptoru aktíviny A, typ I (ACVR1) s očakávaným klinickým benefitom nielen v zlepšení konštitučných symptómov a splenomegálie, ale aj znížením rizika anémie, ktorá je v liečbe MF limitujúca a zhoršuje prognózu [8]. Imetalstat (inhibítor telomerázy) predstavuje ďalšie sľubné riešenie v prípade rezistencie, zlyhania liečby ruxolitinibom [9].

V problematike MPN zažívame exponenciálny rast klinických skúšaní s kombinovanými terapiami a novými liečebnými cieľmi zodpovedajúcimi molekulovým a klinickým charakteristikám pacientov. Keďže problematika je rozsiahla, nami predkladaný prehľad sa sústreďuje len na kľúčové oblasti liečby MPN.

Literatúra

1. Skoda RC, Duek A, Grisouard J. Pathogenesis of myeloproliferative neoplasms. *Expert Hematol.* 2015;43:599–608.
2. Fleischman AG. Inflammation as a driver of Clonal Evolution of myeloproliferative neoplasms. *Mediators Inflamm.* 2015;2015:606819.
3. Williams N. Et al. Phylogenetic reconstruction of myeloproliferative neoplasm reveals very early origins and lifelong evolution. Preprint at: <https://doi.org/10.1101/2020.11.09.374710> (2020).
4. Kiladjian JJ, Klade C, Georgiev P, et al. Long-term outcomes of polycythemia vera patients treated with ropeginterferon Alfa-2b. *Leukemia.* 2022;36(5):1408–1411.
5. Silver RT, Kiladjian JJ, Hasselbalch HC. Interferon and the treatment of polycythemia vera, essential thrombocythemia and myelofibrosis. *Expert Rev Hem.* 2013;6(1):49–58.
6. Gerds AT, Gotlib J, Palmer JM, et al. Rusfertid for Polycythemia Vera: Similar Dosing in Patients Receiving Therapeutic Phlebotomy Alone or in Combination with Cytoreductive Treatment. 2022;140:12241–12243.
7. Palandri F, Breccia M, Bonifacio M et al. Life after ruxolitinib: reasons for discontinuation, impact of disease phase, and outcomes in 218 patients with myelofibrosis. *Cancer.* 2020;126:1243–1252.
8. Verstovsek S, et al. MOMENTUM: momelotinib vs danazol in patients with myelofibrosis previously treated with JAKi who are symptomatic and anemic. *Future Oncol.* 2021;17(12):1449–1458.
9. Mascarenhas J, Harrison CN, Kiladjian JJ, et al. Imetalstat in intermediate-2 or high-risk myelofibrosis refractory to JAK inhibitor: IMPactMF phase III study design. *Future Oncology.* 2022;2377–2494.

CHARAKTERISTIKA A VÝSLEDKY LÉČBY ROPEGINTERFERONEM ALFA- 2B U PACIENTŮ S PH NEGATIVNÍMI MYELOPROLIFERACEMI

Podstavková N.¹, Weinbergerová B.¹, Kvetková A.¹, Bohúnová M.²,
Marečková A.², Kotašková J.², Ježíšková I.², Doubek M.¹, Mayer J.^{1,2}

¹ Interní hematologická a onkologická klinika FN Brno

² Centrum molekulární biologie a genetiky, Interní hematologická
a onkologická klinika LF MU a FN Brno

Úvod: Ropeginterferon alfa-2b (RopegIFN) prokázal v randomizovaných studiích jako jediný z dostupných léčivých přípravků potenciál dosáhnout nejen hematologickou ale i molekulární odpověď u vysokého procenta pacientů s pravou polycytémií. Cílem této analýzy bylo zhodnotit reálná klinická data pacientů léčených RopegIFN na Interní hematologické a onkologické klinice (IHOK) LF MU a FN Brno.

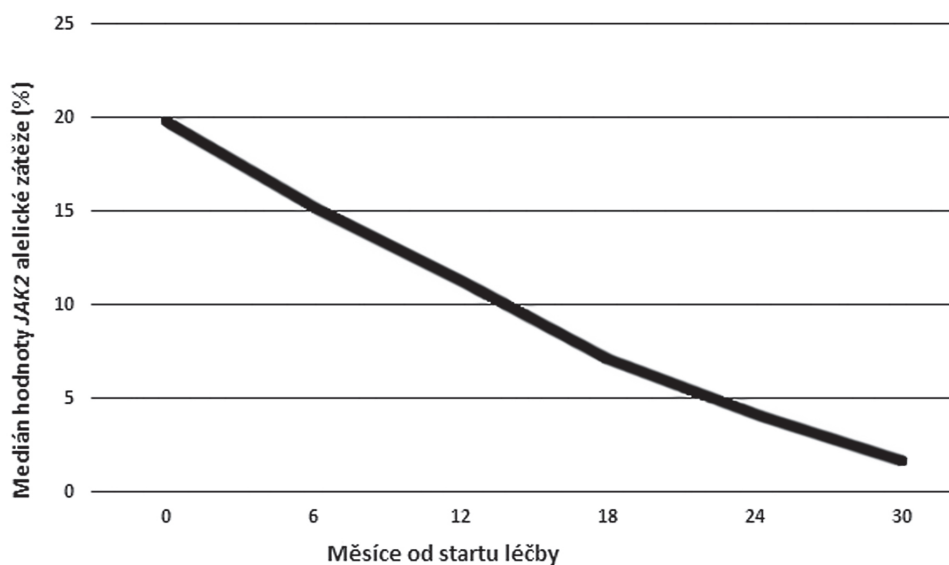
Metody: Retrospektivní analýza dat pacientů s Ph negativními myeloproliferacemi (Ph-MPN) léčených RopegIFN na IHOK od května 2020 do února 2023. Hodnocena byla data týkající se dávkování, efektu a tolerance léčby. Zdrojové údaje byly čerpány z dokumentace pacientů a z databáze České leukemické skupiny pro život (*the Czech Leukemia Study Group – for Life, CELL*) pro Ph-MPN (*Myeloproliferative Neoplasia Database – MIND*).

Výsledky: Ve sledovaném období bylo RopegIFN léčeno 22 pacientů, z toho 17 s pravou polycytémií (77 %), 2 s esenciální trombocytémií (9 %), 2 s myelofibrózou (9 %) a 1 s myeloproliferativním onemocněním

blíže histologicky neurčeným (5 %). Medián věku sledovaných byl 51 let, v souboru převažovali pacienti v nízkém trombotickém riziku v době diagnózy (n = 14; 54 %). U žádného pacienta nebyla terapie zahájena v rámci první léčebné linie, dominantně se jednalo o terapii v rámci 3. nebo vyšší linie (n = 16; 73 %). Nejčastějším důvodem pro zahájení léčby byla intolerance (n = 11; 50 %) nebo nedostatečný efekt předchozí terapie (n = 10; 46 %). Medián délky terapie byl 378 dní. Celková hematologická remise byla dosažena u 11 pacientů (50 %), pokles alelické nálože mutace *JAK2^{V617F}* pod 10 % byl zaznamenán u 8 pacientů (42 %). Postupný pokles mediánu alelické nálože mutace *JAK2^{V617F}* v periferní krvi během doby sledování ukazuje graf 1. Medián celkové dávky RopegIFN podávané jednou za 14 dní byl 150 µg. Terapie byla ukončena u 3 pacientů (14 %). Nežádoucí účinky byly dokumentovány u 10 pacientů (46 %), přičemž u všech se jednalo o nižší stupeň závažnosti. V době sledování byla zaznamenána pouze 1 tromboembolická příhoda.

Závěr: Naše práce prokázala na základě dat z běžné klinické praxe, že terapie RopegIFN je spojená s vysokou efektivitou ve smyslu dosažení celkové hematologické remise ale i poklesu alelické nálože mutace *JAK2^{V617F}*, což je spojeno nejen se snížením rizika tromboembolických příhod, ale i zpomalením přirozené progresy onemocnění. Neméně důležitou předností této terapie je výborná tolerance mezi pacienty.

Práce byla podpořena grantem MZ ČR – RVO (FNBr 65269705), MUNI/A/1224/2022 a projektem Národního ústavu pro výzkum rakoviny (Program EXCELES, ID: LX22NPO5102) – financováno Evropskou unií – Next Generation EU.



	start terapie	6. měsíc	12. měsíc	18. měsíc	24. měsíc	30. měsíc
medián <i>JAK2</i> alelické zátěže (%)	19,8	15,2	11,3	6,4	4,15	1,7
min <i>JAK2</i> alelické zátěže (%)	0,4	0,2	0,1	3,1	1,1	1,1
max <i>JAK2</i> alelické zátěže (%)	98,6	91,6	89,8	74,2	10,7	11,4

VÝSKYT ČASNÉ TOXICITY FEDRATINIBU U PACIENTŮ LÉČENÝCH PRO PRIMÁRNÍ MYELOFIBROZU NEBO POST-PV-MYELOFIBROZU NEBO POST-ET-MYELOFIBROZU

Stejskal L.^{1,3}, Buffa D.^{1,2}, Zuchnická J.^{1,2}, Demel I.^{1,2}, Lachnit M.^{1,2}, Heinzová V.³, Macurová J.⁴, Janek D.⁴, Hájek R.^{1,2}

¹ Klinika hematologie FN Ostrava

² Klinika hematologie LF OU, Ostrava

³ Hematologicko-transfuzní oddělení, Slezská nemocnice v Opavě

⁴ Hematologicko-transfuzní oddělení, Nemocnice Karviná

Úvod: Fedratinib (FEDR) je další z řady inhibitorů Janus kináz (JAK) používaných k léčbě splenomegalie nebo příznaků souvisejících s onemocněním u dospělých pacientů s primární myelofibrózou (PMF), s myelofibrózou po polycytemii vera (post-PV-MF) nebo s myelofibrózou po esenciální trombocytémii (post-ET-MF). Specificky pro tento lék byl výskyt časných nežádoucích účinků gastrointestinální (GIT) a neurologických (NEU). V předchozích studiích s FEDR byly hlášeny případy závažné a fatální encefalopatie, vč.

Wernickeho encefalopatie. Wernickeho encefalopatie je neurologický akutní stav způsobený nedostatkem thiaminu = vitamín B1 (vit. B1).

Cíl: Cílem studie je ověřit bezpečnost a efektivitu FEDR, nového JAK-inhibitoru, dostupného pro pacienty v ČR od 5/2022 v reálné praxi. Zhodnotit efektivitu doporučených profylaktických opatření ke snížení GIT a NEU toxicity.

Metody: Retrospektivní hodnocení souboru 10 pacientů ze 3 pracovišť Moravskoslezského kraje, kterým byl nasazen FEDR, preparát „INREBIC“ v období od 1. 5. 2022 do 28. 2. 2023. Analyzujeme výskyt časných nežádoucích účinků s důrazem na GIT a NEU příznaky, rozbor hladin vit. B1. Rizikovým pacientům, byla poskytnuta profylaktická substituce vit. B1.

Výsledky: Navzdory doporučené farmakoprophylaxi (loperamidem a prokinetiky, u některých i setrony) byla pozorována časná GIT toxicita fedratinibu v souboru našich 10 pacientů s MF, st. 2 v 80 % (8/10), gr. 3/4 – 0 %, bylo třeba u 70 % (7/10) přistoupit k redukci dávek FEDR. K přerušení a/nebo úplné vysazení léčby a převedení na jiný JAK inhibitor došlo u 70 % (7/10) pac. s mediánem doby do vysazení 18 týdnů (min-max 6–42 týdnů) viz. tab. 1.

Tab. 1. Stejskal L. et al. Toxicita fedratinibu.

Pořadové číslo pacienta	Délka užívání FEDR v týdnech (úvodní dávka)	Typ MF (prokázána mutace)	Linie léčby (předcházela jiný JAK-inhibitor?)	Současně užívá ANG	GIT toxicita	Non-GIT nebo neurologická toxicita	Redukce dávek FEDR během léčby (redukce dávky na mg)	Přerušení swtich na jiný JAK inhibitor
1.	25 (400)	PMF (JAK2+)	2 HU, ANG (ne)	+	nauzea st. 2	otoky DKK st. 1	ne	ne
2.	6 (400)	Post-ET (CALR+)	ANG (ne)	+	nauzea st. 2	porucha paměti	ano (200)	ano (na RUXO)
3.	24 (400)	PMF (–)	4. linie (po RUXO)	+	nauzea st. 2	únava st. 1, bolesti hlavy st. 2	ano (200)	ano (na RUXO)
4.	42 (400)	Post-PV (JAK2+)	6. linie (po RUXO)	–	nauzea st. 2, nechutenství, zvracení, průjem st. 2	únava st. 1	ano (200, 100, 300)	ano (na RUXO)
5.	27 (400)	PMF (triple negativní NGS mutace)	2. linie (po HU)	–	ne	anémie st. 3, trombocytopenie st. 4	ano (200)	ano z důvodu trombocytopenie gr. 4
6.	34 (400)	Post-ET (CALR+)	2. linie (po HU)	–	hubnutí st. 2	závratě st. 2	ano (200)	ano (na RUXO)
7.	17 (400)	Post-ET (JAK2+)	3. linie (po RUXO)	–	průjem st. 2, hubnutí st. 2	třes, apatie st. 2	ano (200)	ano (na RUXO)
8.	11 (400)	Post-PV (JAK2+)	3. linie (po RUXO)	+	nauzea, nechutenství, zvracení, průjem st. 2	deprese st. 2	ano (100, 200)	ano (na RUXO)
9.	18 (400)	Post-PV (JAK2+)	1. linie	–	nauzea, nechutenství, zvracení, průjem st. 2	deprese st. 2	ano (200, 300)	ano (na RUXO)
10.	10 (400)	Post-ET (JAK2+)	2. linie	–	ne	anémie st. 2	ano (300)	ne

Hladiny vit. B1 – vstupně i během užívání FEDR byl medián hodnot 205 nmol/l, průměr 287 a SD $\sigma = 204,78829779453$. Kontrolním měření na léčbě bylo bez záchytu poklesu hladiny vit. B1 pod dolní hranici normy (115 nmol/l).

Závěr: Přinášíme rozbor případů, ověření hladin vit. B1, toxicita a další osud nemocných pokud léčbu netolerovali. Navzdory farmakoprophylaxi byla pozorována časná GIT toxicita fedratinibu u 80 % našich pacientů s MF a bylo třeba u 70 % přistoupit k redukci dávek, přerušení a/nebo úplnému vysazení léčby FEDR a následně převedení na jiný JAK inhibitor.

GIT toxicita byla častěji u pac. užívajících současně anagrelid (ANG). Nebyl zaznamenán klinicky významný pokles hladiny vit. B1 a nedošlo u sledovaného souboru pacientů kromě poruchy paměti, bolestí hlavy a závratí k neurologické toxicitě \geq st. 3.

Do budoucna bude třeba pečlivého výběru pacientů vhodných k FEDR a individuální úpravy anti-emetické premedikace k bezpečnému podávání zvláště v kombinaci s ANG.

Literatura

SPC Inrebic.

Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE) Version 5.0 Published: November 27, 2017 U.S. DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES National Institutes of Health National Cancer Institute.

BOSUTINIB V TERAPII CHRONICKÉ MYELOIDNÍ LEUKEMIE V KAŽDODENNÍ KLINICKÉ PRAXI – ANALÝZA Z DATABÁZE INFINITY

Čičátková P.¹, Klamová H.², Bělohávková P.³, Stejskal L.⁴, Faber E.⁵, Cmunt E.⁶, Karas M.⁷, Horňák T.¹, Kvetková A.¹, Semerád L.¹, Procházková J.¹, Jurková T.⁸, Balcarová V.⁸, Mayer J.^{1,9}, Žáčková D.¹

¹ Interní hematologická a onkologická klinika LF MU a FN Brno

² Ústav hematologie a krevní transfuze Praha

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

⁴ Klinika hematoonkologie FN Ostrava

⁵ Hemato-onkologická klinika LF UP a FN Olomouc

⁶ I. interní klinika – hematologie LF UK a VFN v Praze

⁷ Hematologicko-onkologické oddělení, FN Plzeň

⁸ Institut biostatistiky a analýz, s.r.o., Brno

⁹ Středoevropský technologický institut – MU, Brno

Úvod: Bosutinib je nejmladším zástupcem 2. generace inhibitorů tyrozinkináz (TKI) používaných v léčbě chronické myeloidní leukemie

(CML). V podmínkách ČR může být po schválení revizním lékařem zdravotní pojišťovny pacienta použit do druhé či dalších linií terapie. Zkušenostem s jeho podáním v klinické praxi v ČR se věnuje předkládaná analýza.

Metody: Byla provedena retrospektivní analýza dat z rutinní praxe získaných cestou databáze INFINITY. Pacienti byli popsáni pomocí absolutních a relativních četností v případě kategoriálních proměnných. Pokud se jednalo o spojitě proměnné, tak byl vypočítán průměr, medián, minimum a maximum. Pro vyhodnocení celkového přežití byla využita metodika dle Kaplan-Meiera.

Výsledky: V ČR byla v období od 1. 1. 1985 do 27. 1. 2023 CML celkem diagnostikována u 2 290 pacientů, bosutinibem bylo léčeno 41 (1,8 %), přičemž 34 (83,7 %) pacientům byl bosutinib nasazen v 2. a dalších liniích (medián 5. linie). V 61,0 % se jednalo o muže a medián věku při diagnóze byl 58 let (rozmezí 24–82). Dva pacienti byli diagnostikováni v pokročilých fázích onemocnění, ostatní (95,1 %) v chronické fázi (CP). Důvodem ukončení předchozího TKI byla nejčastěji intolerance (61,8 %) a/nebo rezistence (44,1 %). Délka léčby bosutinibem se pohybovala od 0,2 do 92,7 měsíců (medián 7,7 měsíců). Nehematologické nežádoucí účinky (NÚ) se během léčby vyskytly celkem u 58,5 % pacientů, nejčastěji se jednalo o průjem, pleurální výpotek, dyspepsie, nevolnost a zvracení, periferní otoky a exantém. Všechny NÚ byly nízkého stupně závažnosti, s výjimkou pleurálních výpotků grade 3/4 přítomných u 2 pacientů. Relativně nižší výskyt NÚ v porovnání s literaturou může být dán malým souborem pacientů, retrospektivním charakterem analýzy i kvalitou a rychlostí doplňování dat do registru. Léčba bosutinibem byla v době analýzy již ukončena u 29 pacientů (70,7 %) a to nejčastěji na vrub intolerance (34,5 % pacientů), úmrtí (27,6 % pacientů) a rezistence (24,1 % pacientů). Z 8 případů úmrtí byla progresse CML příčinou u 2 pacientů. Při hodnocení léčebné odpovědi na terapii bosutinibem bylo u 37,8 % pacientů zaznamenáno dosažení hluboké molekulární odpovědi (což odpovídá hladině transkriptu BCR::ABL1 \leq 0,01 % dle IS). Velké molekulární odpovědi (hladina transkriptu BCR::ABL1 \leq 0,1 % dle IS) dosáhlo dalších 13,5 % pacientů. Celkové přežití 3 roky od zahájení terapie bosutinibem bylo 74,4 % (95% interval spolehlivosti 61,0 %–90,6 %).

Závěr: Léčbou bosutinibem bylo u často předléčených pacientů dosaženo velmi dobrých výsledků s přijatelným profilem nežádoucích účinků. Reálná klinická praxe potvrdila oprávněnou pozici léku v nabídce terapeutických možností pro pacienty s CML.

Práce byla podpořena grantem číslo MUNI/A/1224/2022.

13. MORFOLOGIE

WHO KLASIFIKACE HEMATOONKOLOGICKÝCH NÁDORŮ V ROCE 2023

Mikulenková D., Campr V.

Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

WHO klasifikace hematookologických onemocnění, která je celosvětově používána a která i nyní vychází z původních návrhů skupiny FAB u myeloidních procesů a Kielské (tzv. Lennertovy) klasifikace lymfomů a na ní navazující REAL klasifikace, integruje nejen morfologická, ale i biologická a klinická data. Obě skupiny výše zmíněných chorob byly poprvé souhrnně uvedeny ve 3. vydání klasifikace WHO z roku 2001 a od té doby klasifikace prodělávala různé významné a průběžné modifikace. Např. u myelodysplastického syndromu (MDS) je nejvýraznější změnou postupné snižování hranice počtu blastů, která odlišuje MDS od akutní myeloidní leukemie (AML) a narůstající dominance genetických a molekulárních znaků nad čistou morfologií. Tento proces až do roku 2022 probíhal víceméně postupně, a hlavně jednotně v rámci klasifikací WHO až po aktuální 5. vydání (WHO-HAEM5). V době jejího vydání však situaci změnilo (a znepřehlednilo) souběžné vydání tzv. Mezinárodní konsenzuální klasifikace (ICC), takže v současné době existují dva odlišné přístupy k definici jednotlivých typů hematookologických nádorů. Přístup ICC ke klasifikaci je v porovnání s předchozí 4. revidovanou verzí klasifikace WHO (WHO-HAEM4R) více navazující a zároveň konzervativní, než poněkud radikálnější přístup WHO-HAEM5. Přestože role morfologie se obecně v nové WHO klasifikaci snižuje, paradoxně se v některých oblastech posílil význam histologického vyšetření, neboť např. v klasifikaci MDS jsou dvě jednotky, které nelze diagnostikovat jinak než z trepanobiopsie kostní dřeně (hypoplastický a fibrotický typ MDS); cytologie je ale bohužel v novém „subcelulárně“ diagnostickém trendu z diagnostiky vytlačena. Přechodné období se dvěma klasifikacemi doufejme nebude dlouhé a dospěje se k opravdovému konsensu. Do té doby se nám jako nejpragmatictější přístup jeví diagnostikovat hematolymfoidní malignity podle WHO-HAEM5 a v případech diskrepance doplnit i název podle ICC. Autoři ve své prezentaci diskutují svůj pohled na změny v jednotlivých diagnostických skupinách a vyjadřují svůj názor, že přes všechny převratné změny morfologie stále není mrtvá, i když možná její část už ano.

ÚSKALÍ VYŠETŘENÍ KREVNIHO OBRAZU ANEB JAK NEPŘEHLÉDNOUT LEUKEMII V KAŽDODENNÍ PRAXI

Vytisková S.^{1,2}, Mottlová V.³, Bourková L.², Kissová J.², Buliková A.²

¹ Oddělení klinických laboratoří, Vojenská nemocnice, Brno

² Oddělení klinické hematologie, FN Brno

³ Interní oddělení, Vojenská nemocnice, Brno

Úvod: Vyšetření krevního obrazu (KO) je základním vyšetřením nejen v hematologii, ale patří mezi nejvíce požadovaná laboratorní

vyšetření napříč všemi odbornostmi. I když se jedná o nejčastější laboratorní vyšetření vůbec, interpretace jeho výsledků nemusí být úplně snadná a má svá úskalí.

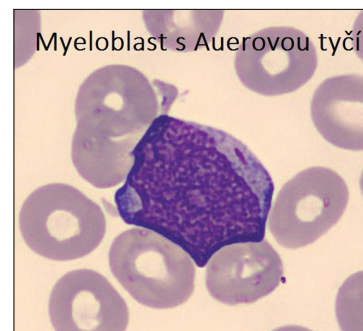
Cíl: Tato práce je koncipovaná jako několik kazuistických sdělení, na jejichž příkladech chceme poukázat jednak na nutnost správně definovat kritéria provedení a hodnocení nátěru periferní krve v hematologické laboratoři a také chceme upozornit na to, jak zásadní je vyšetřovat KO společně s diferenciálním počtem leukocytů (DIFF). Pokud je totiž požadován a vyšetřen pouze prostý KO, tak i nejvyšší třídy analyzátorů nevydají suspektní hlášení na přítomnost patologické populace leukocytů, která může být ve vzorku přítomna. Navíc prostý KO může být i u hematookologických onemocnění ve fyziologických mezích a vyšetření prostého KO bez DIFF je pak k jejich diagnostice nedostačující.

Metodika: První kazuistika popisuje případ doposud zcela zdravé, bezpříznakové pacientky, které byla v rámci preventivní pracovnělékařské kontroly diagnostikována akutní leukemie. Vstupní KO+DIFF byl vyšetřen na hematologickém analyzátoru Abbott CD Ruby a základní biochemická vyšetření provedena na analyzátoru Abbott Architect ci16200 ve Vojenské nemocnici Brno. Speciální cytomorfoloická vyšetření kostní dřeně byla provedena ve Fakultní nemocnici Brno.

Výsledky: leukocyty $4,78 \times 10^9/l$, erytrocyty $3,38 \times 10^{12}/l$ (↓), hemoglobin 114 g/l (↓), hematokrit 0,35, MCV 102 fl (↑), MCH 33,8 pg, MCHC 331 g/l, RDW 12,4 %, trombocyty $168 \times 10^9/l$, neutrofilů $1,15 \times 10^9/l$ (↓) 24 % (↓), lymfocytů $3,35 \times 10^9/l$, 70 % (↑), monocytů $0,09 \times 10^9/l$, 2 %, eozinofily $0,05 \times 10^9/l$, 1 %, bazofily $0,14 \times 10^9/l$, 3 % (↑), hlášení patologické populace blastů. Základní biochemické vyšetření séra i moče zcela v normě. Vzhledem k patologickému hlášení analyzátoru „BLAST“ bylo provedeno mikroskopické hodnocení nátěru periferní krve, kde bylo nalezeno 11 % blastů a 2,5 % myeloblastů s Auerovými tyčemi (viz obrázek). Následně bylo provedeno cytomorfoloické vyšetření kostní dřeně, kde bylo zastiženo 81,6 % blastů a byla stanovena definitivní diagnóza akutní myeloidní leukemie bez vyzrávání (AML NOS bez vyzrávání).

Závěr: I přestože byla pacientka v době odběru v rámci preventivní prohlídky zcela bezpříznaková a výsledky prostého KO vykazovaly pouze mírnou makrocytární anémii, díky vyšetření diferenciálního počtu leukocytů a následnému cytomorfoloickému vyšetření byla okamžitě stanovena překvapivá diagnóza akutní myeloidní leukemie.

Díky vyšetření KO + DIFF a přesně definovaným kritériím pro provedení a hodnocení nátěru periferní krve, jež uvedu v přednášce společně s ostatními kazuistikami, jsme schopni v hematologické laboratoři dříve odhalit závažná hematookologická onemocnění.



Myeloblast s Auerovou tyčí

K FENOMENU BUNĚČNÉ DYSPLAZIE

Smetana K.¹, Klamová H.¹, Mikulenková D.¹, Karban J.², Trněný M.²

¹ Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

² 1. Interní klinika LF UK a VFN v Praze

Při charakteristice změn krevních buněk bývá často v kvalitativním popisu uváděn u atypických buněk termín dysplazie. Tento termín však zahrnuje jejich různou morfologickou i funkční charakteristiku, která při jejich popisu může přispět k objasnění jejich patologie a patogeneze krevních chorob. Konečně tato okolnost různých definic dysplazie je vystižena i neurčitými definicemi tohoto jevu ve Wikipedii i v Cambridge Dictionary of Biology. Cílem předloženého pojednání je uvedení alespoň základních fenoménů, které takto bývají označovány. Nejčastěji takto bývá označována diferenciací, či maturationí asynchronie (anarchie) diferenciací jádra a cytoplazmy. V běžně vizualizovaných buňkách se projevuje „jemnou chromatinovou strukturou jádra“ a předčasnou diferenciací, tj. snížením bazofilie cytoplazmy exprimované redukcí přítomnosti RNA. Tato asynchronie může však mít i opačný charakter, tj. předčasnou kondenzaci chromatinu (urychlené stárnutí jádra) a přetrvávání nezralosti – bazofilie cytoplazmy, tj. cytoplazmatické RNA. Nejčastěji bývají oba fenomény nacházeny v leukemických buňkách, kdy však často není možné stanovit, zda jejich vznik je podmíněn leukemickým procesem, či anti-leukemickou terapií. Oba fenomény jsou také charakteristické pro erytroblasty megaloblastických, či megaloblastoidních anémií. Za dysplastické fenomény je také možno považovat předčasnou kondenzaci heterochromatinu zevních chromozomálních teritorií jádra v myeloblastech AML. Ta je signálem předčasné terminální diferen-

ciace ve stadia blastů a alterace diferenciacího procesu. Za tímto fenoménem se skrývá nemožnost aktivace genů v této nukleární oblasti pro jejich nedostupnost pro aktivační faktory. Při použití cytochemických metod pro vizualizaci RNA nukleolů je zachytitelná i porucha jejich diferenciací a maturace kdy dochází k poruchám při tvorbě pre-ribosomů – hlavních komponent translačního aparátu v cytoplazmě. Podobně i změny poměru jádra k buněčnému tělu mohou být pokládány za dysplazii. Tyto změny však by měly být posuzovány podle náležitosti k buněčné linii, neboť lymfocytární řady jsou charakterizovány zcela odlišně od jiných krevních řad. U těchto linií totiž se poměr jádra k cytoplazmě prakticky nemění vzdor velikostním změnám buněk. Projevem dysplazie je také porucha segmentace jader, která je znakem porušené diferenciací a to jak vrozené, tak získané. Dysplazií jsou i inkluze Fe v mitochondriích v erytroblastech refrakterní anemie u MDS, nebo vzácně se vyskytující tyčkovité inkluze u CLL. Za dysplastické fenomény jsou pokládány i poruchy tvorby specifických granul u granulocytových leukemií, nebo přetrvávání azurofilních granul ve zralých neutrofilech.

Termín buněčná dysplazie zahrnuje celou řadu mikroskopických abnormalit různých buněčných komponent. Jejich viditelnost a poznávání však závisí na metodách jejich vizualizace. Četnost jejich výskytu může být velmi charakteristická pro buněčnou linii vč. její abnormality a to jak *in vivo*, tak *in vitro*. Popis a definování buněčné dysplazie může představovat užitečnou informaci jak z hlediska diagnostiky, tak pro pochopení patogeneze stavu buněčné linie a klonu vč. vývojových stadií za různých stavů celého organismu. To je i zřejmé z popisů buněčné dysplazie v četných publikacích v odborných časopisech i monografiích.

14TH SYMPOSIUM ON ADVANCES IN MOLECULAR HEMATOLOGY

VLIV VZÁCNÝCH GERMINÁLNÍCH MISSENSE VARIANT V GENU *ATM* NA TRANSKRIPTOM CHRONICKÉ LYMFOCYTÁRNÍ LEUKEMIE

Petráčeková A.¹, Savara J.^{1,2}, Papajík T.¹, Brown J. R.³, Kriegová E.¹

¹ LF UP a FN Olomouc

² VŠB-TUO, Ostrava

³ CLL Center, Dana-Farber Cancer Institute, Boston, MA, USA

Úvod: Germinální patogenní varianty v genu *ATM* jsou spojeny s predispozicí k chronické lymfocytární leukemii (CLL). Genetické testování však odhaluje velké množství vzácných germinálních missense variant nejasného významu (VUS) v genu *ATM*, jejichž funkční dopad není znám. V této studii jsme se zabývali analýzou vlivu těchto variant na transkriptom CLL.

Metody: Germinální a somatický genom vč. párového RNAseq byl analyzován u CLL veřejného datasetu (n = 237; EGAD00001001464, EGAD0000100146612). Studovány byly vzácné (frekvence minoritní alely < 0,5 %) missense varianty anotované jako VUS databázemi Clinvar/Varsome a s patogenní predikcí SIFT/PolyPhen.

Výsledky: Devět (3,8 %) pacientů s CLL neslo vzácnou germinální missense VUS v *ATM* (predikovanou patogenní). Následná analýza byla provedena v rámci podskupin pacientů na základě jejich mutačního stavu IGHV, protože předběžná klastrová analýza ukázala odlišné profily genové exprese pro tyto podskupiny. V podskupině s mutovaným stavem *IGHV* (m-*IGHV*) neslo šest pacientů germinální missense VUS *ATM*, čtyři měli pouze del(11q) a 77 bylo bez somatické a/nebo germinální aberace v genech spojených s odpovědí na poškození DNA (DDR), ani nenesli mutace v panelu 10-ti rekurentně mutovaných genů spojených s horší prognózou u CLL. U pacientů s nemutovaným *IGHV* (u-*IGHV*) nesli tři jedinci *ATM* VUS, vč. jednoho se současnou del(11q), 7 mělo pouze del(11q) a 20 bylo bez somatické a/nebo zárodečné aberace v DDR a CLL-asociovaných genech.

Analýza transkriptomu m-*IGHV* s germinální missense *ATM* VUS odhalila odlišnou expresi genů v drahách signalizace mitotického vřetenka, reaktivních forem kyslíku, homeostáze cholesterolu, peroxizomu, metabolismu mastných kyselin, signalizace Wnt/ β -kateninu, odpovědi na UV-záření a oxidativní fosforylaci a genů regulovaných transkripčními faktory MYC, E2F, RUNX1 a CREB1. Podobný profil byl také detekován u pacientů s del(11q), u kterých byla navíc zjištěna aberantní exprese genů v drahách NF- κ B, apoptózy a IFN- γ . U pacientů s u-*IGHV* a *ATM* VUS nebyl zjištěn odlišný profil genové exprese ve srovnání s případy bez aberací v genech DDR, což mohlo být způ-

sobeno nízkým počtem případů. U pacientů u-*IGHV* pouze s del(11q) byla zjištěna aberantní exprese genů zapojených do dráhy p53, homeostázy cholesterolu a genů regulovaných transkripčním faktorem MYC. V současné době probíhá hodnocení další nezávislé kohorty CLL.

Závěr: Naše předběžná analýza ukázala podobný vliv vzácných germinálních *ATM* VUS na transkriptom CLL jako del(11q) u m-*IGHV* CLL, který byl charakterizován rozdílně exprimovanými geny zapojenými do signalizace mitotického vřetenka a oxidativního stresu a genů regulovaných transkripčními faktory MYC, RUNX1 a CREB1.

Podpora projektu: IGA_LF_2023_010, MH_CZ-DRO(FNOL,00098892).

THE FUTURE OF LIQUID BIOPSY IN HEMATO-ONCOLOGY

Kriegová E.¹, Petráčeková A.¹, Nesnadná R.¹, Savara J.^{1,2}, Wojewodová K.¹, Gajdoš P.², Minařík J.¹, Papajík T.¹

¹ LF UP a FN Olomouc, Olomouc

² VŠB-TUO, Ostrava

The analysis of biomarkers in liquid biopsy is beginning to change cancer diagnostics, as it has shown considerable clinical relevance in various types of cancer. Promising markers for liquid biopsy include circulating cell-free tumor DNA, circulating tumor cells, extracellular vesicles, circulating microRNAs, as well as tumor platelets released into the blood. These markers can be obtained by minimally invasive sampling of blood and other body fluids, allowing repeated sampling with minimal burden to the patient. Recent studies have shown that analyses in liquid biopsy can be used to detect cancer early, predict patients at risk of recurrence, monitor response to treatment, and monitor minimal residual disease. The challenge now is to make liquid biopsy a standard diagnostic tool. To do this, technical standardization and clinical validation of liquid biopsy tests is necessary to further demonstrate their utility and to incorporate liquid biopsies into clinical diagnostics and widespread use. The perspectives and disadvantages of liquid biopsy in haemato-oncology as minimal-invasive disease diagnostic and prognostic tool are presented with emphasis on exosome-entrapped molecules.

Grant support: IGA_LF_2023_010, MH_CZ-DRO (FNOL, 00098892), SANGUINE-HORIZON-101097026.

SINGLE CELL ANALÝZA U PACIENTŮ S AKUTNÍ MYELOIDNÍ LEUKEMIÍ

Drcnová M., Folta A., Klemešová I., Weinbergerová B., Mayer J., Ježíšková I.

Interní hematologická a onkologická klinika LF MU a FN Brno

Úvod: Akutní myeloidní leukemie (AML) je onemocněním charakteristické biologickou heterogenitou a často složitou klonální kompozicí. Technologický vývoj posledních dvou dekád posunul možnosti studia heterogenity až na úroveň individualizovaných buněk, a to za využití inovativních přístupů kombinujících mikrofluidní systémy se sekvenováním nové generace (NGS). Na rozdíl od konvenčních technik NGS, které poskytují informaci za celou populaci (bulk) nádorových buněk, mají DNA *single cell* přístupy (scDNAseq) potenciál identifikovat kookurenci a vylučnost jednotlivých variant v buňkách, detekovat majoritní a minoritní subklony, určit jejich velikost či popsat trajektorii vývoje klonů v čase. scDNAseq tak představují nástroj pro přesnější prognostiku, stratifikaci AML či sledování odezvy na terapii. Jednou z nejnovějších mikrofluidních scDNAseq technologií je platforma Tapestri (MissionBio, USA). Spojuje dvoustupňový mikrofluidní dropletový systém s molekulárním barkódováním a NGS. Poskytuje tak informace o genotypu několika tisíc individualizovaných buněk analyzovaných současně.

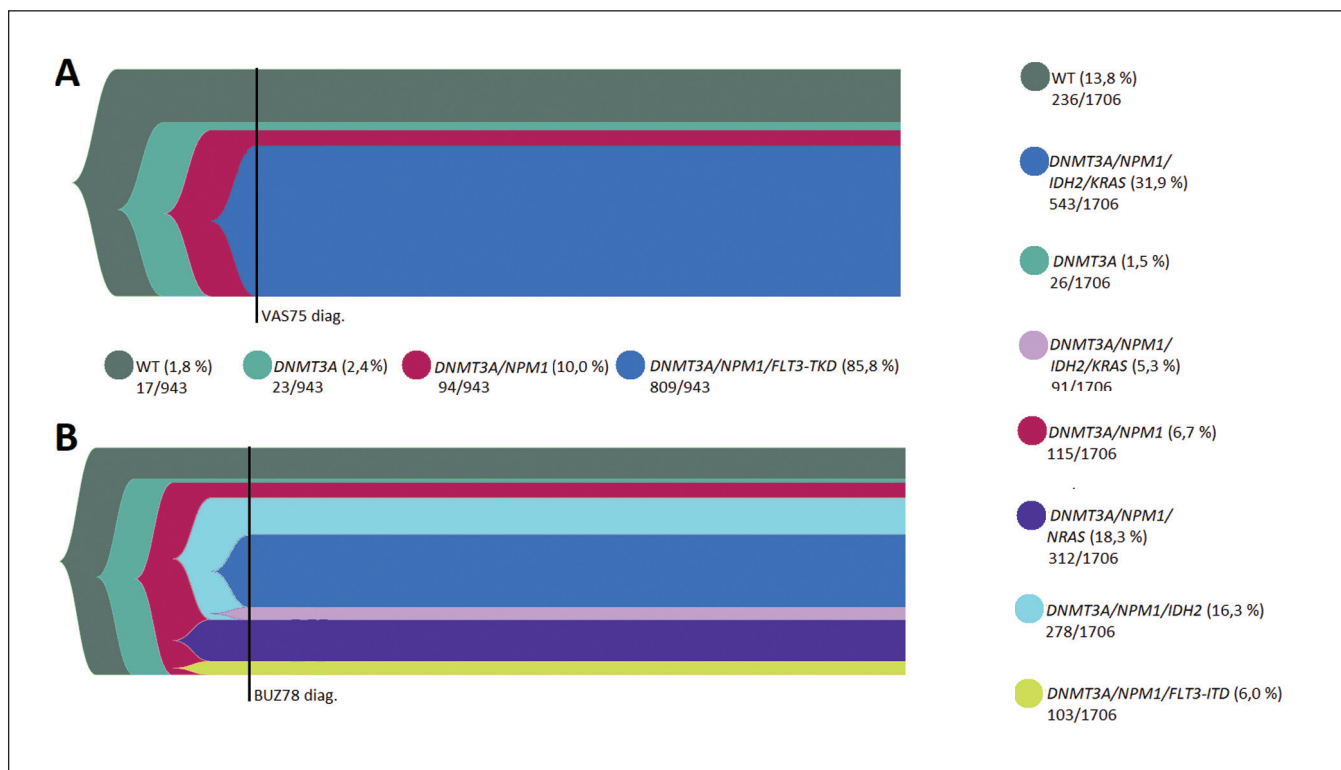
Cíle: Využití scDNAseq analýz pro studium klonální heterogenity u nově diagnostikovaných AML pacientů a identifikace molekulárního markeru pro sledování minimální reziduální nemoci (MRN) u pacientů bez obvyklého MRN markeru.

Metody: Na základě analýzy panelem VariantPlex Core Myeloid Kit for Illumina (IDT, USA) byl vybrán soubor 10 kurativně léčených pacientů s de novo AML a vícečetnými mutacemi. scDNAseq analýzy byly provedeny z vitálně kryoprezervovaných leukocytů kostní dřeně za použití panelu Acute Myeloid Leukemia Panel platformy Tapestri (MissionBio, USA). Tento panel pokrývá 20 AML rekurentních genů s celkem 529 cílovými lokusy typu SNVs, INDELs, LOHs. Připravené single cell knihovny byly sekvenovány na přístroji NextSeq (Illumina, USA). Výsledná data byla hodnocena pomocí softwaru Tapestri Pipeline a Tapestri Insights (MissionBio, USA).

Výsledky: Na základě výsledků scDNAseq analýz byla u všech analyzovaných pacientů přesně identifikována jejich klonální kompozice, která se interindividuálně výrazně odlišovala (lineární/paralelní/komplexně kombinovaná evoluce) (obr. 1). U každého pacienta byl popsán jeho mutační profil, koexistence aberací a velikost jednotlivých klonů. Kompoziční diferencí bylo možno pozorovat také napříč nositeli aberací ve stejných genech. U pacientů, u kterých konvenční sekvenování neposkytlo jasný molekulární marker pro sledování MRN, byl tento pomocí scDNAseq analýz dourčen.

Závěr: Technologie scDNAseq Tapestri je unikátním nástrojem pro analýzu a důkaz interindividuální heterogenity u pacientů s AML. Umožňuje vizualizovat diferencí klonálních evolučních trajektorií jednotlivých pacientů. Pro rutinní diagnostiku nově otevírá možnost určit marker vhodný pro sledování MRN.

Práce byla podpořena projekty MŠMT MUNI/A/1224/2022, MZ ČR – RVO (FNBr, 65269705) a programem EXCELES (ID: LX22NPO5102).



Obr. 1. Drcnová M. et al. Ukázka klonální kompozice detekované pomocí scDNAseq analýz u vybraných pacientů s AML.

VÝZNAM GENETICKÝCH ABERACÍ TP53 U PACIENTŮ S CHRONICKOU LYMFOCYTÁRNÍ LEUKEMIÍ V ÉŘE CÍLENÉ TERAPIE

Kubová Z.^{1*}, Kašková V.^{2*}, Petráčková A.², Zvárová E.¹, Turcsányi P.¹, Papajík T.¹, Kriegová E.², Maňáková J.², Savara J.³, Doleží V.³, Gajdoš P.³

*Kubová, Kašková přispěly stejným dílem

¹ Hemato-onkologická klinika LF UP a FN Olomouc

² Ústav imunologie, LF UP a FN Olomouc

³ Katedra informatiky, Fakulta elektrotechniky a informatiky, VŠB-Technická Univerzita v Ostravě

Úvod: Chronická lymfocytární leukemie (CLL) je nejčastěji se vyskytující leukemií v západních zemích. Její léčba prošla v předešlých letech revolučními změnami. Během posledního desetiletí vstoupila na scénu cílená terapie inhibitory BTK (BTKi), která zlepšila výsledky léčby vysoce rizikových skupin pacientů s CLL a zdá se, že modifikovala význam některých prognostických ukazatelů.

Cíl: Analýza prognostické hodnoty genetických aberací TP53, zahrnující TP53 mutaci a/nebo delecí 17p u pacientů s CLL léčených cílenou terapií BTKi.

Metoda: Analyzovali jsme soubor 169 nemocných s CLL léčených v letech 2014–2022 na Hemato-onkologické klinice FN Olomouc, které jsme rozdělili do 2 podskupin dle typu terapie. První (n = 83) zahrnovala pacienty léčené BTKi, druhá (n = 86) pacienty s chemoimunoterapií (CIT). V podskupině pacientů s BTKi byli nemocní léčení převážně ibrutinibem (n = 73; 88 %). V této skupině bylo hodnoceno celkem 49 mužů (59 %) a 34 žen (41 %) ve věkovém rozmezí 46–85 let (medián 67 let). V souboru bylo 6 pacientů léčbě naivních (7 %), většina nemocných bylo předléčených (n = 77; 93 %), z toho 4 a více linií léčby dostalo 11 pacientů (13 %). V souboru jsme hodnotili genetické aberace TP53, což zahrnuje mutace TP53, stanovené pomocí sekvenování nové generace (NGS) a/nebo delecí 17p metodami fluorescenční *in situ* hybridizace (FISH). V rámci analýzy jsme porovnávali pacienty v jednotlivých podskupinách s TP53wt (bez mutace a/nebo delecí 17p) oproti pacientům s aberací TP53 (s mutací a/nebo delecí 17p).

Výsledky: V souboru bylo identifikováno 50 pacientů (30 %) s mutací TP53 či delecí 17p. V jednotlivých podskupinách dle léčby BTKi vs. CIT se vyskytla aberace v TP53 u 38 pacientů (46 %) vs. 12 (14 %). U pacientů léčených CIT jsme v souladu s předchozími výsledky prokázali kratší dobu přežití bez progresu (PFS) ve skupině s aberací TP53 vs. TP53wt (p = 0,027) s mediánem PFS 16 měsíců. V podskupině pacientů léčených BTKi bylo prokázáno delší PFS u pacientů s TP53wt (p = 0,017). Medián PFS u těchto pacientů nebyl dosažen vs. 40 měsíců u pacientů s aberací TP53. Pacienti s TP53 aberacemi léčení

BTKi měli současně také patogenní sekvenční varianty (n = 29; 76 %) v genu *SF3B1* (32 %), *ATM* (18 %), *NOTCH1* (21 %) a dalších CLL-asociovaných genech.

Závěr: Analýza prokázala, že i u naší kohorty předléčených pacientů na terapii BTKi zůstává zachována statistická významnost již dříve stanoveného silného negativního prognostického ukazatele, aberace TP53. Studium příspěvku kombinace aberací TP53 a dalších genetických variant je předmětem následujících analýz.

Podpořeno grantem IGA_LF_2023_005, IGA_LF_2023_010, MH_CZ-DRO (FNOL, 00098892).

GERMLINE AND SOMATIC VARIANTS IN HEMATO-ONCOLOGY DIAGNOSTICS AND THEIR CLINICAL UTILITY

Šablauskas K.

Hematology, Oncology and Transfusion Medicine Center, Vilnius University Hospital Santaros Klinikos, Vilnius, Lithuania

The field of hemato-oncology diagnostics has seen significant advancements in recent years with the identification of germline and somatic variants that can inform clinical decision-making. In particular, the discovery that a significant proportion of AML cases have pathogenic or likely-pathogenic germline variants has highlighted the importance of understanding the genetic landscape of patients.

Germline variants are inherited genetic changes that are present in all cells of an individual's body, while somatic variants arise spontaneously in certain cells during a person's lifetime. Both types of variants can contribute to the development and progression of hematologic malignancies, and their identification can provide valuable insights into disease pathogenesis and prognosis.

In addition to informing personalized treatment plans, the identification of germline variants can also have important implications for the patient's family members, who may be at increased risk of developing similar conditions. As such, there is a growing need for comprehensive genetic testing in the diagnosis and management of hematologic malignancies.

Vilnius University Hospital Santaros Klinikos has developed a workflow for performing whole exome and targeted sequencing in AML patients, which has enabled the identification of germline and somatic variants with high accuracy and precision.

Grant support: SANGUINE-HORIZON-101097026.

SALVAGE VENETOCLAX COMBINATION THERAPY IN PATIENTS WITH AML TRANSFORMATION AFTER AZACITIDINE THERAPY FAILURE FOR HIGH-RISK MDS – SINGLE-CENTER EXPERIENCE.

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

¹ TROD, VFN, Prague

² BIOCEV, CUNI, Vestec

³ Center of oncocytogenomics, Institute of biochemistry, CUNI and VFN, Prague

Background and aims: Venetoclax in combination with azacitidine (VEN + AZA) showed efficacy and prolonged overall survival (OS) in patients with newly diagnosed de novo acute myeloid leukemia (AML) ineligible for intensive treatment. The prognosis of patients with high-risk myelodysplastic syndrome (HR-MDS) that are progressing on AZA therapy into secondary AML remains dismal.

Methods: Our cohort consists of 19 patients (men, N = 10; women, N = 9) diagnosed with secondary AML after failure of AZA therapy at the time of initiation of salvage VEN + AZA combination. The median age was 73 years. The median number of AZA cycles administered before AML transformation was 8.5 with achieving ORR 37%. A panel of genes frequently mutated in myeloid neoplasia was used for mutation screening.

Results: VEN + AZA was administered in the 5–2–2 regimen in standard dosage of AZA. The mean total dose of VEN was 2,200 mg per cycle, which is lower compared to the standard dose for de novo AML patients due to myelotoxicity. In the group of patients with AML transformation, we observed an ORR of 68% (CR = 37%, Cri = 16%, PR = 16%) with a median OS 14.7 months. In the comparison with the group of patients with de novo AML (N = 13), we observed an ORR of 70% (CR = 38%, PR = 32%) with a median OS 11.9 months. In the comparison with the historic cohort of patients with AML transformation on AZA led VEN + AZA salvage combination to prolonged OS (P < 0.001).

Conclusion: VEN + AZA is an effective therapy for patients with transformed AML on established AZA therapy. The failure of VEN + AZA remains unclear and requires further study.

CLINICAL IMPACT OF BASOPHILIA DURING CYTOREDUCTION IN PATIENTS WITH CHRONIC MYELOID LEUKAEMIA

Vráblová L.¹, Hrbčková L.¹, Kriegová E.¹, Kudělka M.², Radvanský M.², Papajík T.¹, Faber E.¹

¹ Department of Hemato-oncology, University Hospital and Faculty of Medicine and Dentistry, Palacký University, Olomouc

² Department of Computer Science, Faculty of Electrical Engineering and Computer Science, VSB-Technical University of Ostrava

Background: Although $\geq 20\%$ basophils at diagnosis is used as one of the criteria of acceleration of chronic myeloid leukemia (CML)

according to the WHO definition, there is limited information on the clinical significance of routine blood count parameters such as leukocytes, relative and absolute basophils at diagnosis and during cytoreduction.

Methods: A real-world cohort of newly diagnosed 136 BCR-ABL1+ CML patients (56 females/80 males, median age 58 years, range: 24–92 years) indicated for the first-line tyrosine kinase inhibitor (TKI) treatment was included. Blood counts and laboratory parameters were assessed at the diagnosis and after cytoreduction, the median follow-up was 6.3 years (3.5 months–15.7 years). Mayer-Kaplan curves, odds ratios including 95% confidence intervals (CI) and receiver operation curves were calculated using R software. A multivariate patient similarity network (PSN) was applied.

Results: At diagnosis, there was high interindividual heterogeneity in basophil percentage (median 4%, range 0–45%) and basophil counts (4.6, 0–67.6 $\times 10^9/L$). After cytoreduction, 65 (47.8%) patients had a decreased/stable and 71 (52.2%) patients increased basophil percentages comparing to the diagnosis. Using PSN, six patients's clusters were formed based on absolute counts of leukocytes and basophils and percentage of basophils at diagnosis and during cytoreduction. Of them, three clusters with highest absolute count of basophils at diagnosis, independently on these parameter values at cytoreduction, included patients requiring therapy change. Patients with high absolute leukocyte ($\geq 164 \times 10^9/L$), basophil ($\geq 12 \times 10^9/L$) counts, and relative basophils ($\geq 5\%$) at diagnosis had higher chance of treatment change (odds ratio 17.3, 95%CI 5.1–57.8). The relative and absolute basophils after cytoreduction were not predictive for the TKI therapy change.

Conclusion: Our study showed that absolute basophilia at the time of diagnosis is a strong prognostic factor. Future studies on larger cohorts should confirm the results.

Support: IGA_LF_2023_05, MH_CZ-DRO (FNOL, 00098892).

L-ASPARAGINASE BY-PRODUCT GLUTAMATE IMPEDES THE EFFECT OF CHEMOTHERAPY BY AUGMENTING GLUTATHIONE BIOSYNTHESIS

Hložková K.¹, Vasylikivska M.¹, Zwyrtková M.¹, Kolárik M.¹, Potůčková E.¹, Žaliová M.¹, Trka J.¹, Tennant D.², Starková J.¹

¹ CLIP – Childhood Leukaemia Investigation Prague, CUNI, Prague

² Institute of Metabolism and Systems Research, University of Birmingham, Birmingham, UK

Background: L-asparaginase (ASNase) is one of the crucial components of acute lymphoblastic leukemia (ALL) therapy. ASNase transforms asparagine (Asn) and glutamine (Gln) to aspartate (Asp) and glutamate (Glu), respectively. High Asp and Glu extracellular concentrations are considered to be a by-product of ASNase treatment without any known consequences. However, our results show that even though

TCA cycle, the important producer of Asp and Glu, is diminished after ASNase treatment, leukemic cells are able to maintain intracellular Asp and Glu levels.

Aims: The main aim is to elucidate the mechanism by which leukemic cells are able to maintain Asp and Glu levels. The second aim is to evaluate the role of Asp and Glu in the resistance mechanism of leukemic cells to ASNase.

Methods: Stable isotope tracing was used to measure Asp and Glu import and activity of glutathione (GSH) synthesis. Growth, viability and reactive oxygen species (ROS) production of leukemic cells under different nutrient conditions were determined by flow cytometry.

Results: Using U13C-Asp and U13C-Glu we discovered that leukemia cell lines were able to import Asp and Glu from the media. Noteworthy, leukemia cell lines and also primary leukemia cells expressed the genes coding for Asp/Glu transporters. Moreover, inhibitor of Asp/Glu transporters moderately sensitized NALM6 cell line to ASNase.

Next, we discovered that high Glu doses, but not high Asp doses, helped the cells to survive in Asn /Gln depleted conditions. Furthermore, in high Glu, but not in high Asp conditions, we detected elevated intracellular ROS compared to Asn /Gln depleted media. Since GSH is the main antioxidant molecule in the cells and Glu is one of its three amino acids, we pursued the idea that cells under Asn /Gln depleted conditions use Glu to synthesize GSH and by that overcome the nutrient stress. We discovered that leukemia cells used imported Glu to biosynthesize GSH. Preliminary data with ROS scavenger showed that ROS scavenging further improved leukemia cell proliferation in high Glu conditions. Together with the fact that imported Glu also fueled TCA cycle, GSH biosynthesis probably partially rescues the cells from oxidative stress caused by respiration. When we used GSH synthesis inhibitor BSO, proliferation of NALM6 cells was significantly more affected in high Glu condition compared to media without Glu.

Conclusion: This is the first study describing the transport of Glu into leukemic cells and its survival advantage after ASNase treatment.

Supported by NU20J-03-00032 and NU22-07-00087.

COMING ERA OF LONG-READ SEQUENCING FOR GENETIC DIAGNOSTICS – COMPARISON OF DIFFERENT TECHNOLOGIES

Savara J.^{1,2}, Minařík J.³, Maňáková J.¹, Novosád T.², Gajdoš P.², Běhálek M.², Vašínek M.², Papajík T.³, Kriegová E.¹

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

²Department of Computer Science, Faculty of Electrical Engineering and Computer Science, Technical University of Ostrava

³Department of Hematooncology, Faculty of Medicine and Dentistry, Palacky University and University Hospital Olomouc

Background: There is a growing body of evidence that long-read DNA technologies may become powerful players in clinical genomics, enabling the detection of complex structural variants (SVs) that may be difficult to detect with short-read sequencing. There is limited data on the overlap between different long-read technologies: long/linked read whole-genome sequencing (lr-WGS) and optical genome mapping (OGM).

Methods: Analyses were performed using linked lr-WGS (TELL-SeqTM) and OGM (Bionano Genomics) for bone marrow aspirate from a patient with multiple myeloma (female, 39 yrs, IgG lambda, stage IIIA, ISS II) and standard DNA control (cell line NA12878). Effective coverage using OGM was >300x for both samples. In the case of lr-WGS coverages were 30x and 60x. Outputs were compared using own software tool.

Results: To compare lr-WGS and OGM, we developed a tool for comparison, validation and visualization of detected SVs across the whole genome. Our study revealed large differences in the detection of SVs when the same sample was sequenced at different coverages. Using 30x or 60x lr-WGS coverages, it was possible to confirm about half of deletions detected by OGM in lr-WGS data using available variant callers, independently on the coverage. Using our tool, it was possible to confirm majority of deletions (> 82%). Our algorithm was also able to confirm a large proportion of inversions that were not called by variant callers. We present the examples of detected variants in a real sample. We also comment on novel telomere-to-telomere (T2T) human reference genome as well as on opportunities and challenges of long-read sequencing in genetic diagnostics.

Conclusion: Our study came up with a novel approach to validate SVs detected by OGM. In the case of manual inspection of the deletion images, our detection almost matched variant callers. However, we still encountered a portion of clearly present deletions that were not called by current available variant callers. Improvements in bioinformatics analysis of long-read sequencing may open the new era of genetic diagnostics, not only in hemato-oncology.

Availability: <https://github.com/novosadt/om-samplot-svc>, <https://github.com/novosadt/om-hts-svc>.

Grant support: IGA_LF_2023_010, MH_CZ-DRO (FNOL, 00098892).

POSTEROVÁ SEKCE

P01. BAALC JAKO ALTERNATIVNÍ MARKER MINIMÁLNÍ REZIDUÁLNÍ NEMOCI U PACIENTŮ S AKUTNÍ MYELOIDNÍ LEUKEMIÍ

Cerovská E.^{1,2}, Brožinová I.¹, Polášková E.¹, Zobalová D.¹, Čechová E.¹, Šálek C.¹, Stefflová L.¹, Marinov I.¹, Beličková M.¹, Remešová H.¹

¹ Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

² Karlova Univerzita v Praze, Přírodovědecká fakulta, Praha

Úvod a cíle: Minimální reziduální nemoc (MRN) je jedním z nejdůležitějších nezávislých prognostických faktorů u pacientů s akutní myeloidní leukemií (AML). Bohužel 20 % AML pacientů nemá vhodný molekulární MRN marker a spoléhá se u nich pouze na vyšetřování specifického leukemického imunofenotypu (LAIP) pomocí průtokové cytometrie, která však nevykazuje tak vysokou citlivost jako molekulární metody. Naším cílem bylo zhodnotit využitelnost exprese genu *BAALC* jako alternativního markeru MRN u AML pacientů s absencí standardně sledovaných markerů. Tento gen má vysokou expresi v hematopoetických kmenových buňkách a jeho zvýšená exprese u AML má negativní prognostický vliv.

Metody: Exprese genu *BAALC* a kontrolního genu *ABL* byla pomocí qPCR (TaqMan eseje) změřena v leukocytech z periferní krve pacientů (n = 67) bez vhodného molekulárního MRN markeru (*NPM1*, *PML::RARA*, *RUNX1::RUNX1T1*, *CBFB::MYH11*, *WT1*) a u zdravých dárců (n = 18). Pokud byla normalizovaná exprese genu *BAALC* při diagnóze AML $\geq 100\times$ vyšší než exprese u zdravých dárců (průměr + 3SD), byl gen považován za vhodný pro sledování MRN. Výsledky exprese byly porovnány s výsledky průtokové cytometrie (% LAIP), případně i buněčného chimerizmu, Spearman korelačním testem.

Výsledky: U 9 pacientů (13,4 %) měl gen *BAALC* dostatečně vysokou expresi pro monitorování MRN. Exprese korelovala s výsledky monitorování MRN pomocí LAIP (p = 0,0003) a u 4 pacientů po alogenní transplantaci také s mírou buněčného chimerizmu (p = 0,0006). U 3 pacientů došlo k relapsu choroby, přičemž u 2 z nich byl *BAALC* nejcitlivějším markerem MRN, který jako jediný svými zvýšenými hodnotami relaps predikoval.

Závěr: Monitorování exprese genu *BAALC* je snadným a cenově dostupným způsobem, jak získat přídatnou informaci o MRN ke standardnímu sledování pacientů pomocí průtokové cytometrie a případně buněčného chimerizmu. Měření exprese genu *BAALC* pomocí qPCR navíc vykazuje vysokou citlivost a v některých případech predikuje relaps dříve, než dojde k záchytu LAIP nebo zvýšení buněčného chimerizmu. Při absenci jiných molekulárních MRN markerů a dostatečně zvýšené expresi genu *BAALC* při diagnóze je vhodné do pravidelného monitorování AML pacientů tento marker zahrnout.

Podpořeno MZČR (00023736, ÚHK)T

P02. IMPLANTACE A DLOUHODOBÉ POUŽÍVÁNÍ PICC JSOU BEZPEČNÉ U NEMOCNÝCH S AKUTNÍ PROMYELOCYTÁRNÍ LEUKEMIÍ

Szotkowski T., Čerňan M., Vráblová L., Labudíková M., Papajík T.

Hemato-onkologická klinika FN Olomouc

Úvod: Akutní promyelocytární leukemie (APL) je při stanovení diagnózy spojena s vysokým rizikem krvácivých komplikací při koagulopatii a trombocytopenii. Mezinárodní doporučení explicitně zmiňují potřebu vyhnout se zavedení centrálního žilního katetru. Nemocní však nezbytně potřebují kvalitní žilní vstup pro podávání protinádorové i podpůrné léčby.

Periferně zaváděný centrální katetr (PICC) je centrální žilní katetr, určený pro střednědobé až dlouhodobé využití. Jeho implantace a používání jsou v rukou zkušeného personálu bezpečné. Program zavádění PICC jsme na našem pracovišti zahájili v roce 2016. Po získání potřebných zkušeností jsme tento typ katetru začali implantovat i nemocným s akutními leukemiemi. Vzhledem k nižšímu riziku krvácivých komplikací spojených s implantací jsme se rozhodli jej preferovat i u nemocných s APL.

Soubor nemocných: Od roku 2017 jsme léčili celkem 13 nemocných s APL; u všech jsme použili PICC již od začátku indukční léčby. Šlo o 8 žen a 5 mužů v průměrném věku 59 (24–73) let. Prvních pět nemocných bylo léčeno kombinací ATRA a chemoterapie, ostatní podle protokolu ATRA/ATO. PICC byl implantován nejčastěji druhý den hospitalizace (7 pacientů), méně často první den (3 nemocní), v případě prvních dvou nemocných v souboru byla implantace provedena 6., resp. 5. den. Punktovanou žilou byla v 10 případech v. brachialis či v. basilica, u 3 nemocných v. axillaris. Častěji byl použit 2lumenný katetr (7x – mj u všech 5 nemocných léčených chemoterapií), 6x byl zaveden 1lumenný katetr. Průměr počtu trombocytů při implantaci byl $53 (20-118)\times 10^9/l$. Všichni nemocní měli koagulopatii obvyklou při APL.

Výsledky: U 7 nemocných byl katetr používán po celou dobu léčby a extrahován až po jejím ukončení. Průměrná doba použití byla 219 (159–298) dnů. Tři nemocní v léčbě pokračují s katetrem používaným 116, 151 a 262 dnů. U dvou nemocných byl katetr extrahován před ukončením léčby – u první nemocné v souboru po 30 dnech pro lokální zarudnutí v místě vstupu, u sedmého nemocného v pořadí po 31 dnech pro febrilie nejasné etiologie. Jedna nemocná zemřela během indukce na respirační selhání způsobené COVID-19 pneumonií. Kromě výše uvedených jsme zaznamenali jen jednu komplikaci, která však nevyžadovala extrakci katetru – parciální trombózu žíly s katetrem 26 dnů od implantace. U žádného nemocného nedošlo ke komplikaci během implantace katetru ani krátce po ní.

Závěr: Naše dosavadní zkušenosti nasvědčují, že PICC je v rukou zkušeného týmu bezpečnou pomůckou zajišťující dlouhodobý

centrální žilní přístup pro péči o nemocné s APL, vč. nejrizikovější iniciální fáze léčby.

Podpořeno IGA_LF_UP_2023_005 a MZ ČR–RVO (FNOL, 00098892).

P03. KOMPLEXNÍ HODNOCENÍ GERIATRICKÝCH SYNDROMŮ U STARŠÍCH PACIENTŮ S AML

Voldřich J., Semerád L., Podstavková N., Kvetková A., Mrkvová Z., Procházková J., Weinbergerová B., Mayer J.

Interní hematologická a onkologická klinika FN Brno

Úvod: Pacienti nad 65 let jsou nejpočetnější skupinou pacientů s AML. Zároveň se jedná o skupinu vysoce heterogenní stran celkového stavu pacientů i biologie AML. Tato skutečnost značně komplikuje individuální terapeutickou rozvahu, neboť je nutno odlišit pacienty, kterým léčba přinese spíše komplikace než benefit, a naopak pacienty, kteří budou z léčby i přes vyšší kalendářní věk významně profitovat. V rozhodnutí o léčbě napomáhá komplexní hodnocení tzv. geriatrických syndromů, jež se celosvětově dostává do rutinní praxe.

Cíle: Naším cílem bylo vytvoření skórovacího systému, který s využitím geriatrických syndromů komplexně zhodnotí stav pacienta před zahájením a jeho vývoj v průběhu léčby.

Metody: Bylo provedeno prospektivní hodnocení geriatrických syndromů a dalších významných prognostických faktorů u pacientů ≥ 60 let s nově diagnostikovanou AML (kromě APL) v období 4/2022–2/2023. Skórovací systém hodnotil kognitivní a fyzickou výkonnost, komorbiditu, polyfarmacii a nutriční. Dle jednotlivých výsledků byli pacienti zařazeni do jedné z celkových kategorií: fit, vulnerabilní či křehcí. Hodnocení bylo u léčených pacientů pravidelně opakováno.

Výsledky: V projektu bylo zařazeno celkem 50 pacientů, kompletně zhodnoceno bylo 42 pacientů (medián věku 72 let, 48 % mužů). Celkem 8 pacientů (19 %) bylo zařazeno do kategorie fit, 18 pacientů (43 %) do kategorie vulnerabilní a 16 pacientů (38 %) do kategorie křehkých. Ve skupině fit bylo 7 pacientů (88 %) léčeno VENE + AZA s efektem 6x CR, 1x dosud nehodnoceno, 1 zemřel před zahájením terapie. Z vulnerabilních pacientů bylo 15 (83 %) léčeno VENE + AZA s efektem 10x CR, 2x PR, 2x PROG a 1x dosud nehodnoceno, 1 (5 %) LD-ARA-C s efektem PROG, 1 (5 %) symptomaticky a 1 (5 %) studiovou terapií. 10 křehkých pacientů (63 %) bylo léčeno VENE + AZA s efektem 7x CR/CRI, 2x PROG, 1x dosud nehodnoceno, 4 (25 %) LD-ARA-C s efektem 1x PROG, 2x nehodnoceno a 1x neznámo a 2 (13 %) symptomaticky. 12 pacientů (29 %) zemřelo, 9 na progresi AML, 2 na infekční komplikace, 1 bez souvislosti s AML. Opakované hodnocení bylo provedeno u 5 fit pacientů, 3 zůstali fit, 1 se přesunul do vulnerabilních a 1 do křehkých. Vulnerabilních bylo znovu hodnoceno 13, 9 zůstalo vulnerabilními a 4 se zlepšili do fit. Z 8 křehkých pacientů 6 zůstalo křehkých a 2 se přesunuli mezi vulnerabilní.

Závěr: Skórovací systém prokázal funkčnost v selekci pacientů do jednotlivých kategorií a odhadu tolerance léčby. U většiny opakovaně hodnocených pacientů nedošlo ke zhoršení celkové kategorie, u části došlo naopak ke zlepšení.

Podpořeno MZ ČR–RVO (FNBr 65269705) a Program EXCELES, ID: LX22NPO5102).

P04. GEMTUZUMAB OZOGAMICIN S MIDOSTAURINEM V INTENZIVNÍ LÉČBĚ CD33 / FLT3+ AML – AKTUALIZOVANÁ DATA

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 klinika LF MU a FN Brno

² Hemato-onkologická klinika LF UP a FN Olomouc

Úvod: Midostaurin (MIDO) v kombinaci s intenzivní chemoterapií (IC) a podobně gemtuzumab ozogamicin (GO) představují cílené preparáty s potenciálem zlepšení léčebných výsledků u pacientů s AML.

Cíle: Naším cílem bylo zhodnocení klinických dat týkajících se současného použití GO a MIDO se standardní IC u pacientů s nově diagnostikovanou AML.

Metody: Provedli jsme retrospektivní analýzu na rozšířeném souboru dat z DATOOL-AML týkajících se epidemiologie/léčby/prognózy pacientů s novou FLT3+/CD33+ AML v nízkém/středním cytogenetickém riziku léčených na 2 českých hematoonkologických centrech kombinací GO+MIDO+IC během 07/2020–03/2023.

Výsledky: Celkem bylo analyzováno 13 případů (62 % mužů; medián věku 44 let). Medián sledování od diagnózy – 66 týdnů. Podle klasifikace ICC 2022 byly zastoupeny: 7x AML s rekurentní genetickou abnormalitou – 54 % (NPM1 – 46 %; RUNX1::RUNX1T1-8%); 4x AML s mutacemi spojenými s myelodysplázií – 31 %; 2x AML NOS – 15 %. 2 pacienti měli AML „therapy related“ – 15 %. FLT3-ITD+ byla u 7 pacientů – 54 %, 31 % FLT3-TKD+, 15 % FLT3-ITD+/FLT3-TKD+. Cytogenetika byla u většiny střední riziko – 92 %.

Medián počtu dní od diagnózy do zahájení intenzivní léčby byl 8 dní. Všichni pacienti zahájili indukci 3(daunorubicin 60mg/m²)+7+-GO+MIDO, z toho 10 dosáhlo CR/CRI – 77 %; 2 pacienti NPM1-MRD negativní – 15 %. Dva pacienti měli RD – 15 % s efektem FLAG+/-IDA/VENE a alo-HSCT. Jeden pacient neměl hodnocení odpovědi – 8 %. Celkem 8 pacientů – 62 % pokračovalo 1–2 konsolidacemi+GO+MIDO a 4 z nich měli alo-HSCT – 31 %. Čtyři – 31 % pacienti nedostali GO v konsolidaci pro nežádoucí účinky (1x VOD – 8 %/3x infekce – 23 %). Doba do obnovy neutrofilů $\geq 1,0 \times 10^9/l$ od zahájení indukce byla 38 dní. Midostaurin nebyl nikdy ukončen pro toxicitu.

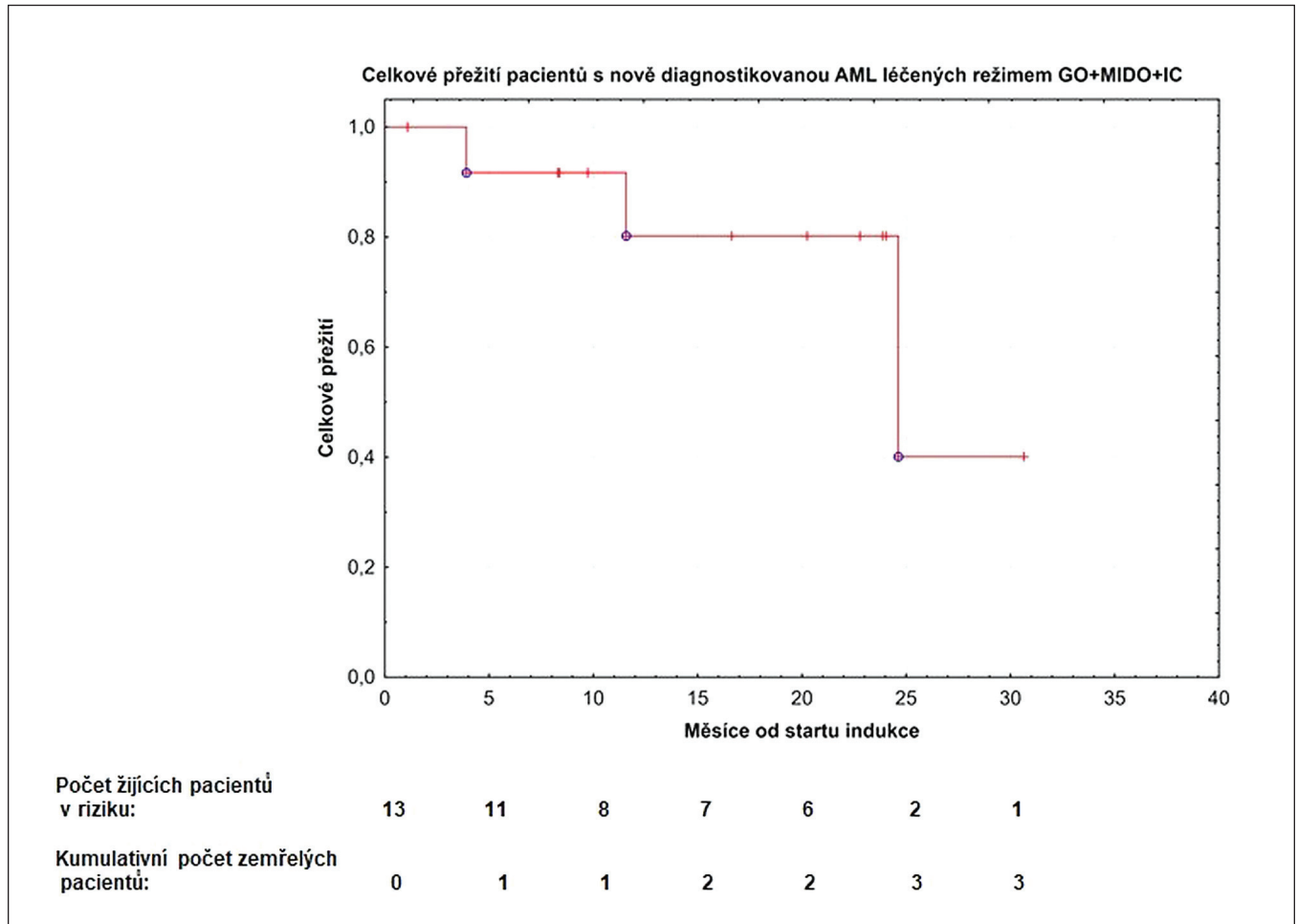
Na posledním „follow-up“ žije 10 pacientů – 77 %; příčiny úmrtí byly: 1x progresí – 8 %, 2x úmrtí v aplázii po alo-HSCT – 15 %. Sedm

žijících pacientů je v CHR – 54 %; z toho 4 *NPM1+* AML v CRmol – 31 %. Dva z žijících pacientů zrelabovali – 15 %. 60denní mortalita činila 0 %.

Závěr: Naše data zdůraznila vysokou míru efektivity a dobrou snášenlivost bez významného navýšení toxicity, s výjimkou mírně prodlouženého času do obnovy počtu neutrofilů, při použití kombi-

nované léčby GO+MIDO+IC u pacientů s nově diagnostikovanou *FLT3+/CD33+* AML.

Práce byla podpořena Českou leukemickou skupinou pro život (CELL), grantem MZ ČR – RVO (FNBr 65269705) a programem EXCELES, ID: LX22NPO5102).



Graf 1. Weinbergerová B. et al. Celkové přežití pacientů s nově diagnostikovanou AML léčených režimem GO + MIDO + IC.

P05. FREKVENCIA SOMATICKÝCH VARIANTOV U SLOVENSKÝCH PACIENTOV S AML

Klučková D., Sopkovičová M., Hikkel I., Čermák M.
 Oddelenie lekárskej genetiky, Národný onkologický ústav, Bratislava

Úvod: Akútna myeloidná leukémia (AML) je heterogénna malignita, u ktorej sa stanovenie diagnózy opiera o viaceré faktory, vrátane cytomorfológie, imunofenotypu, cytogenetických a molekulovo-genetických vyšetrení. Cytogenetická analýza sa stala základnou nevyhnutnosťou pre diagnostiku ochorenia, klasifikáciu, prognostickú stratifikáciu a vedenie liečby [1]. Nemenej dôležitú úlohu však zohráva molekulovo-genetická analýza génov asociovaných s AML, ktorá

otvára nové možnosti pre vývoj vysoko účinných terapeutických molekúl a protokolov umožňujúcich personalizovanú liečbu, monitoring a lepší manažment pacientov. V poslednej dekáde sa jej hlavným nástrojom v rutínnej praxi stalo NGS [2,3]. NGS má obrovský význam pri diagnostike a prítomnosť špecifických génových variantov poskytuje dôležité prognostické informácie a taktiež má význam pri liečebnom manažmente pacientov, najmä v prípadoch dostupnej cieľenej liečby.

Ciele: Cieľom je zosumarizovať výsledky a doterajšie skúsenosti s panelovou NGS diagnostikou u pacientov s AML.

Metódy: V rokoch 2020–2022 sme na Oddelení lekárskej genetiky, NOÚ analyzovali 248 vzoriek (periférna krv/ kostná dreň) s diagnózou AML. Vzorky boli testované použitím Ion AmpliSeq DNA

Custom panel (ThermoFisher Scientific), který obsahoval 11 genů nejčastěji asociovaných s AML. Data jsme vyhodnocovali pomocí Ion Reporter™ Software (ThermoFisher Scientific).

Výsledky: V takmer 35 % případů nebyl identifikovaný prostřednictvím NGS panelu žádný relevantní variant, avšak až u 21 % pacientů byla identifikována rekurentní translokace. Vo viac ako 65 % testovaných vzoriek sme identifikovali minimálne jeden variant, ktorý bol klasifikovaný ako patologický, pravdepodobne patologický, prípadne ako variant nejjasnej signifikancie. Najčastejšie boli identifikované varianty v génoch *NPM1*, *DNMT3A* a *FLT3*, a to v približne 30 %. V géne *RUNX1* boli varianty identifikované u viac ako 22 % pacientov, nasledovali varianty v génoch *IDH2* (14,8 %), *TP53* (14,2 %), *IDH1* (11,1 %). V približne 10 % prípadoch sme identifikovali varianty v génoch *ASXL1*, *WT1* a *KIT*.

Záver: Analýza pomocou NGS je v súčasnosti esenciálnym nástrojom v klinickej praxi pri manažovaní pacientov s AML. Potvrdili sme, že výsledky z NGS dávajú poskytnúť ďalšie relevantné diagnostické a prognostické informácie.

Podpora projektu: Thermo Fisher Scientific.

Literatúra

1. Arber DA, et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology* 2016;127(20):2391–2405.
2. Padmakumar D, et al. A concise review on the molecular genetics of acute myeloid leukemia. *Leukemia Research* 2021;111:106727.
3. Haferlach T. Advancing leukemia diagnostics: Role of Next Generation Sequencing (NGS) in acute myeloid leukemia. *Hematology Reports* 2020;12:8957.

P06. ÚSPĚŠNÁ LÉČBA MDS-EB2 A CLL VENETOKLAXEM – KAZUISTIKA

Šafránková E., Bělohávková P.

IV. interní hematologická klinika FN Hradec Králové

V kazuistice prezentujeme případ 61leté pacientky s chronickou lymfocytární leukémií (CLL) a myelodysplastickým syndromem s nadbytkem blastů 2 (MDS-EB2). Vzácná koincidencí těchto dvou chorob umožnila podkryt léčebný potenciál venetoklaxu u pacientů s high-risk MDS. Zatímco v diagnóze CLL je venetoklax běžnou terapeutickou možností, v managementu léčby MDS je zatím předmětem klinických studií. Pro předpokládaný terapeutický přesah zmíněného BCL2 inhibitoru byl v naší kazuistice zvolen v první linii pro léčbu CLL. Ačkoli byl průběh v úvodu komplikován těžkou protrahovanou pneumonií, po krátké kúře venetoklaxu a azacitidinu bylo dosaženo remise obou chorob a pacientka byla schopna podstoupit alogenní transplantaci hematopoetických buněk (HSCT). Kromě kortikosenzitivní potransplantační akutní GvHD kúže a jater proběhla HSCT bez obávaných infekčních komplikací a i 14 měsíců po převodu štěpu nadále trvá kompletní léčebná odpověď obou diagnóz se 100% chimérismem.

P07. VÝZNAM STANOVENÍ CD34+CD38-CD25+CD26+ BUNĚK PRO DIAGNOSTIKU CHRONICKÉ MYELOIDNÍ LEUKEMIE POMOCÍ PRŮTOKOVÉ CYTOMETRIE

Pešek A., Prosková V., Hofmannová V., Marinov I.

Laboratoř průtokové cytometrie, Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

Úvod a cíle: Diagnostika chronické myeloidní leukémie (CML) je založena na průkazu přítomnosti Ph chromozomu, bcr-abl1 fúzního transkriptu a přestavby bcr-abl1 genů vznikajících na úrovni CML specifických kmenových buněk (CML LSC). Cílem této práce bylo vyhodnotit diagnostickou senzitivitu, specifitu, pozitivní a negativní predikční hodnotu stanovení CD34+CD38-CD25+CD26+ buněk v periferní krvi od pacientů s CML pomocí průtokové cytometrie.

Metody: Na stanovení CML LSC byla použita jedna 8 barevná zkumavka s kombinací markerů: CD25/CD45/CD15/CD26/CD34/CD117/CD38/HLA-DR. Výsledek multiplex RT-PCR pro detekci transkriptu bcr-abl1 byl považován za referenční ve vztahu k výsledku průtokové cytometrie.

Výsledky: Celkem bylo vyšetřeno 213 pacientů. Diagnostická senzitivita (SP/SP+FN) byla 100% (0 falešně negativních výsledků), diagnostická specifita (SN/SN+FP) byla 92,5% (7 z 93 falešně pozitivních výsledků), pozitivní (SP/SP+FP) a negativní (SN/SN+FN) predikční hodnoty byly 94,5%, resp. 100%. Celková shoda obou metod byla 96,7 %. U 1 z 7 falešně pozitivních výsledků byla potvrzena dg.: CML, u 2 z 7 falešně pozitivních výsledků byla potvrzena dg.: atypická CML (MDS/MPS).

Závěr: Stanovení CD34+CD38-CD25+CD26+ CML LSC v periferní krvi pomocí průtokové cytometrie vykazuje příznivé výkonnostní charakteristiky pro spolehlivou diagnostiku CML a napomáhá diagnostice atypické (bcr-abl1 neg.) CML.

P08. POUŽITÍ MOLNUPIRAVIRU V TERAPII COVID-19 U NEMOCNÝCH S NÁDOROVÝMI ONEMOCNĚNÍMI KRVETVORBY – ZKUŠENOSTI JEDNOHO CENTRA

Čerňan M.¹, Szotkowski T.¹, Vaculová G.², Zalibera A.³, Papajík T.¹

¹ Hemato-onkologická klinika LF UP a FN Olomouc

² Oddělení klinické farmacie, FN Olomouc

³ LF UP, Olomouc

Úvod: COVID-19 představuje významnou infekční komplikaci u nemocných s nádorovými onemocněními krvetvorby. V důsledku poruchy imunity při základním onemocnění či protinádorové terapii jsou nemocní ohroženi těžkým průběhem infekce s vysokou mortalitou. Molnupiravir je perorální antivirotikum inhibující replikaci viru SARS-CoV-2. Prezentovaná práce přináší roční zkušenosti jednoho centra specializované hematologické péče s použitím molnupiraviru v terapii COVID-19 u vysoce rizikových hemato-onkologických nemocných.

Pacienti a metodika: Práce je retrospektivní popisnou analýzou souboru nemocných s nádorovými onemocněními krvetvorby, s prokázanou infekcí virem SARS-CoV-2, kteří byli léčeni molnupiravirem

a terapie byla indikována, příp. podána na pracovištích Fakultní nemocnice Olomouc. Hodnocení probíhalo v období od 1. 1. 2022 do 31. 12. 2022. Infekce virem SARS-CoV-2 byla u nemocných potvrzena pozitivním PCR a/nebo antigením testem z nasofaryngeálního stěru. Hodnoceným parametrem, u ambulantně léčených nemocných s COVID-19, byla potřeba terapie za hospitalizace a infekční mortalita.

Výsledky: Soubor tvořilo celkem 69 nemocných, 39 žen a 30 mužů, s mediánem věku 64,4 (21,6–87,3) let. Terapie molnupiravirem byla zahájena v mediánu 3 dnů od začátku klinických symptomů. Myeloproliferativní onemocnění bylo diagnostikováno celkem u 15 (21,7 %) nemocných a lymfoproliferativní onemocnění u 54 (78,3 %) nemocných. Základní onemocnění v kompletní remisi mělo při diagnóze COVID-19 jen 33 (47,8 %) nemocných a protinádorovou terapii dostávalo v období 3 měsíců před infekcí celkem 47 (68,1 %) nemocných. Vakcinaci proti SARS-CoV-2 podstoupilo celkem 52 (75,4 %) nemocných a předchozí COVID-19 infekce byla dokumentována u 20 (29,0 %) nemocných. Celkem 6 ze 66 (9,1 %) nemocných, kteří dostávali molnupiravir v ambulantní terapii COVID-19, následně vyžadovalo hospitalizaci, přičemž jen v jednom případě byla nutná arteficiální ventilační podpora. Nekomplikovaný průběh COVID-19 bez potřeby hospitalizace byl pozorován u 60 (90,9 %) nemocných. U 3 (4,3 %) nemocných byla terapie molnupiravirem podávána primárně za hospitalizace. Celkem 2 nemocní ve sledovaném souboru zemřeli, přičemž dominantní příčinou bylo refrakterní základní onemocnění, resp. bakteriální nozokomiální pneumonie.

Závěr: Naše zkušenosti na limitovaném souboru nemocných naznačují efektivitu molnupiraviru v ambulantní terapii COVID-19 u pacientů s nádorovými onemocněními krevetvorby. Bude však nutný další výzkum ke zhodnocení postavení molnupiraviru v terapii COVID-19 v kontextu dalších preventivních a terapeutických modalit.

Práce byla podpořena grantem IGA_LF_2023_005.

P09. KOMPLEXNÍ HODNOCENÍ ETIOLOGIE PLICNÍCH INFILTRÁTŮ U HEMATO-ONKOLOGICKÝCH PACIENTŮ S PROVEDENOU BRONCHOALVEOLÁRNÍ LAVÁŽÍ

Kabut T.

Interní hematologická a onkologická klinika FN Brno

Úvod: Plicní infiltráty (PI) infekční i neinfekční etiologie jsou významnou příčinou morbidita a mortality u imunokompromitovaných pacientů. Časná a správná diagnostika je nezbytná pro volbu optimálního léčebného postupu a posouzení závažnosti stavu pacienta. Vyšetření bronchoalveolární tekutiny (BAT) získané bronchoalveolární laváží (BAL) je nenahraditelnou metodou v diagnostice a spektrum dostupných vyšetřovacích metod se neustále rozšiřuje. Obsahem analýzy jsou výsledky komplexního hodnocení etiologie PI u pacientů léčených na naší klinice, u nichž byla provedena BAL dle aktualizovaného lavážního protokolu.

Metody: Retrospektivní analýza etiologie PI na základě výsledků rozboru BAT u pacientů podstupujících BAL na naší klinice. Postup odběru a spektrum vyšetření BAT a doprovodných vyšetření byl standardizován a prováděn v plném rozsahu u všech pacientů. Získaná BAT byla vyšetřena cytologicky, biochemicky, flowcytometricky, kultivačně, serologicky (galaktomanan, glukán) a molekulárně genetickým vyšetřením (multiplex PCR, specifická-RT PCR, panfungální PCR). K výslednému hodnocení etiologie PI byly krom rozboru BAT využity i výsledky ostatních provedených vyšetření. Veškeré případy byly uzavírány v reálném čase po kompletizaci výsledků.

Výsledky: Od 1/2021 bylo provedeno celkem 66 BAL u 51 pacientů. Celkem se jednalo o 58 jednotlivých případů plicních infiltrátů, 8 BAL bylo provedeno opakovaně v rámci jednoho případu. Finální diagnóza byla stanovena u 48 (83 %) případů, v 5 (9 %) případech byla diagnóza stanovena jako suspektní a v 5 (9 %) případech zůstala diagnóza neobjasněna. V 5 případech nejednoznačně uzavřených příčin plicních infiltrátů byla jako možné příčiny stanoveny např. potransfúzní poškození, toxicita midostaurinu nebo plicní GvHD. V 48 jednoznačně uzavřených případech PI byl výsledek rozboru BAT jednoznačný nebo rozhodující pro diagnózu v 22 (46 %) případech a v 19 (40 %) se na stanovení diagnózy významně spolupodílel. V 7 (14 %) uzavřených případech byla diagnóza stanovena pouze na základě jiných vyšetření. Z uzavřených případů 30 (63 %) tvořily infekční příčiny, nejčastěji mykotické (12; 40 %) a virové (10; 33 %) následované případy bakteriální (4; 13 %) a pneumocystové (4; 13 %) pneumonie. Mykotické infekce byly klasifikovány jako prokázané (2), pravděpodobné (5) a možné (5), přičemž u 2 případů možné byla identifikována mykóza v panfungální PCR. Neinfekční příčina byla stanovena u 11 (23 %) případů, konkrétně specifické neinfekční procesy (6), infiltrace základním onemocněním (3), difúzní alveolární hemorhagie (1) a kombinace více faktorů (1). U zbylých 7 uzavřených případů byla prokázána kombinace infekčních a neinfekčních stavů.

Závěr: Komplexní hodnocení případů plicních infiltrátů v reálném čase u pacientů s provedeným BAL vedlo k vysokému podílu objasněných příčin.

P10. SIMULTANEOUS HODGKIN LYMPHOMA AND OVARIAN CARCINOMA – CHALLENGES IN DIAGNOSIS AND TREATMENT MONITORING WITH CIRCULATING TUMOR DNA AND MOLECULAR GENETIC METHODS

Hanáčková V.¹, Grohmann J.¹, Vatolíková M.¹, Procházková V.¹, Urbánková H.¹, Buriánková E.², Henzlová L.², Papajík T.¹

¹Department of Haemato-oncology, University Hospital Olomouc and Faculty of Medicine and Dentistry, Palacký University Olomouc

²Department of Nuclear Medicine, University Hospital Olomouc and Faculty of Medicine and Dentistry, Palacký University Olomouc

Introduction: The co-occurrence of Hodgkin lymphoma (HL) with gynaecologic neoplasms is a rare event that can pose challenges for diagnosis and treatment monitoring. Detection and monitoring

of point mutations and expression of candidate genes involved in the pathogenesis of lymphoproliferative diseases and solid tumors could potentially aid in refining the diagnosis and monitoring treatment response. Circulating tumor DNA, which is extracellular DNA released from apoptotic tumor cells into the peripheral blood, is a readily accessible material for these methods. We present a case of a woman who was simultaneously diagnosed with relapsed Hodgkin lymphoma and ovarian carcinoma.

Case Report: A 42-year-old woman in remission from Hodgkin lymphoma for nearly 7 years was referred with enlarged axillary lymph nodes (LNs), PET/CT surprisingly detected asymptomatic advanced serous ovarian carcinoma (OC). Axillary LNs biopsy confirmed late HL relapse. Pt was referred to the radical treatment and adjuvant chemotherapy for OC and achieved complete remission of OC with persistent supradiaphragmatic lymph node enlargement due to the HL. The patient was then recommended salvage chemotherapy, autologous stem cell transplantation, and maintenance therapy of brentuximab vedotin and PD1 immune check-point inhibitor for progressive disease. Analysis of the circulating tumor DNA with next-generation sequencing (NGS) revealed Hodgkin-driver mutation in the *STAT6* gene (N417Y/N421S). To find a marker for OC we analysed paraffin embedded tissue and detected the presence of the *BRAF V600E* mutation. These two mutations were used for MRD monitoring of both cancers during the anti PD-1 therapy using digital droplet PCR (ddPCR).

Conclusion: The use of molecular genetic methods, such as digital droplet PCR and next-generation sequencing, to detect and monitor point mutations using cell-free DNA and genomic DNA from paraffin samples is a promising approach for monitoring treatment response and minimal residual disease in cases of concurrent haematological and solid malignancy.

Supported by IGA_LF_2023_005, MZCR-RVO (FNOL, 00098892) and AZV NU22-03-0018 grants.

P11. PRIMARY FOLLICULAR LYMPHOMA LIMITED TO THE ENDOMETRIUM IN A 55-YEAR-OLD WOMAN

Prouzová Z.^{1,2}, Kalinová M.^{1,3}, Mrhalová M.⁴

¹ Ústav patologie, 3. LF UK a FNKV, Praha

² Ústav patologie, 1. LF UK a VFN v Praze

³ Centrální laboratoře, Úsek laboratorní genetiky, 3. LF UL a FNKV, Praha

⁴ Ústav patologie a molekulární medicíny, 2. LF UK a FN Motol, Praha

Introduction: A 55-year-old woman with no history of malignancy was indicated for hysterectomy for significant postmenopausal bleeding.

Methods: The material from the hysterectomy was processed in a standard way, formalin fixed and paraffin embedded tissue blocks were used for standard histological examination. Further

immunohistochemical evaluations were used for detailed investigations of the process and, moreover, fluorescent in situ hybridisation (FISH) was added.

Results: The endometrium was atrophic, infiltrated by the nodular lymphoid infiltrate composed of medium-sized centrocytoid cells with minimal admixture of large centroblasts. Immunohistochemical examination revealed a CD20 positive B-lymphocyte population with co-expression of CD10 and BCL2 markers. FISH revealed characteristic aberration t(14;18) and, thus, confirmed the diagnosis of follicular lymphoma.

Conclusion: The patient underwent a detailed hematological examination and since she did not show signs of lymphadenopathy or generalization of the disease, a „watch and wait“ approach was chosen for the patient. She has now been relapse-free for 4 years.

Discussion: Primary lymphomas of the female genital tract are very rare (they account for only 0.2–1.1% of all extranodal lymphomas), moreover follicular lymphomas are unique, especially when they are not generalized. Treatment depends on the extent of the underlying disease, in our case, hysterectomy was a curative therapeutic procedure for the patient.

Podpořeno AZV NU20-03-00284.

P12. VÝZNAM SOLUBILNÝCH CYTOKÍNŮV AKO PREDIKTORA SKOREJ PROGRESIE U PACIENTOV S KLASICKÝM HODGKINOVÝM LYMFÓMOM

Kredátusová A.¹, Procházka V.¹, Móciková H.², Sýkorová A.³, Marková J.², Lukášová M.¹, Štěpánková P.³, Gahérová L.², Kriegová E.⁴, Maco M.², Kozák T.², Papajík T.¹

¹ Hemato-onkologická klinika LF UP a FN Olomouc

² Interní hematologická klinika 3. LF UK a FNKV, Praha

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

⁴ Ústav imunologie, LF UP, Olomouc

Úvod: Hodgkinov lymfóm je veľmi dobre liečiteľnou malignitou všeobecne s dobrou prognózou. U pacientov so skorou progresiou choroby (POD) je však prognóza výrazne horšia, stále však nie sú známe dostatočné indikátory jej rizika. Analýza solubilných cytokínov môže byť vhodným nástrojom na presnejšiu stratifikáciu rizika u týchto pacientov.

Ciel: Stanovenie prognostického významu hladín solubilných biomarkerov klasického Hodgkinovho lymfómu pred liečbou vo vzťahu k riziku POD.

Metódy: Realizovali sme prospektívnu štúdiu hladín solubilných cytokínov zo sér pacientov s Hodgkinovým lymfómom liečených v troch hemato-onkologických centrách v Českej republike v rokoch 2017–2021. Analyzovali sme štyri cytokíny (TARC, pg/ml; sCD30,

ng/ml; sCD163, ng/ml; a sIL-6, pg/ml), analýza prebiehala centrálnou metódou ELISA. Údaje o pacientoch boli získané z národného registra Hodgkinovho lymfómu.

Výsledky: Analyzovali sme 148 pacientov, 49 % tvorili muži. Medián veku bol 41 rokov (18–81). Najčastejším histologickým subtypom bola nodulárna skleróza (55 %), nasledoval cHL so zmiešanou celularitou (36 %), cHL bohatý na lymfocyty (5 %), cHL s lymfocytárnou depléciou (< 1 %), u 4 pacientov (2,5 %) nebol subtyp bližšie určený. Celkom 10 % pacientov bolo diagnostikovaných v štádiu I podľa Ann Arbor, 38 % v štádiu II, 23 % v štádiu III a 29 % v štádiu IV. Väčšina pacientov (59 %) spĺňala kritériá pokročilého štádia podľa GHSG, 16 % pacientov bolo v iniciálnom štádiu, 25 % v intermediárnom. Medián sledovania bol 41 mesiacov. Liečebná odpoveď bola hodnotená u 137 (92 %), z ktorých 94 % dosiahlo kompletnú remisiu po prvej línii liečby. 11 pacientov (7 %) sprogredovalo do 24 mesiacov (POD24). Títo pacienti mali signifikantne kratšie celkové prežitie ($p < 0,0001$). Hladiny IL-6 (148 vs. 884; $p < 0,001$) a sCD163 (232 vs. 800; $p < 0,01$) korelovali s dosiahnutím CR. Vyššia hladina 2 cytokínov korelovala s POD24: sIL-6 (1107,5 vs. 399,5; $p = 0,01$) a sCD30 (1050,5 vs. 456,5; $p = 0,03$). TARC nepreukázal štatistickú súvislosť s liečebnou odpoveďou ani s POD24.

Záver: Vyššia hladina sCD30 a sIL-6 pred liečbou je asociovaná s vyšším rizikom POD24 a horšou prognózou.

Podporené grantom IGA_LF_2023_005, MZCR-RVO (FNOL_00098892) a AZV NU22-03-0018.

P13. KLONÁLNI VÝVOJ CYTOGENETICKÝCH ZMĚN U PACIENTA S CHRONICKOU LYMFOCYTÁRNÍ LEUKEMIÍ A NÁSLEDNÝM VÝVOJEM DO RICHTEROVY TRANSFORMACE

Vatolíková M.¹, Grohmann J.¹, Kriegová E.², Juráňová J.¹, Píkalová Z.¹, Formánek R.³, Hanáčková V.¹, Kurfürstová D.⁴, Flodr P.⁴, Procházka V.¹, Urbánková H.¹, Papajík T.¹

¹ Hemato-onkologická klinika LF UP a FN Olomouc

² Ústav imunologie, LF UP a FN Olomouc

³ Klinika nukleární medicíny LF UP a FN Olomouc

⁴ Ústav klinické a molekulární patologie LF UP a FN Olomouc

Richterova transformace (RT) je definována jako vývoj chronické lymfocytární leukemie (CLL) nejčastěji do agresivní formy ne-hodgkinského lymfomu. V průběhu onemocnění se může vyskytnout až u 10 % CLL pacientů. Většinu případů tvoří klonálně příbuzná onemocnění s identickou přestavbou *IGHV*, s omezenými možnostmi terapie a nepříznivou prognózou. Pravděpodobnost vzniku RT je vyšší u pacientů v pokročilém klinickém stádiu nemoci, u jedinců s nemutovaným *IGHV* a delecí 11q22, resp. s nálezem některých

dalších genetických aberací (komplexní karyotyp, aberace genů *TP53*, *CDKN2A*, *MYC*, *NOTCH1* nebo *MGA*). Frekvence RT se zvyšuje s dobou od diagnózy a počtem linií terapie.

V našem sdělení popisujeme postupný klonální vývoj u pacienta s CLL, jehož onemocnění se po 12 letech transformovalo do difuzního B-velkobuněčného lymfomu (DLBCL).

Pacient byl v průběhu onemocnění sledován metodami klasické cytogenetiky, FISH, mFISH, arrayCGH, mutační stav *IGHV* byl určen Sangerovým sekvenováním, mutace vybraných genů byly sledovány pomocí NGS.

63letý muž byl diagnostikován v roce 2011 jako CLL s nemutovaným *IGHV* a monoalelickou delecí 13q14 v rámci t(2;13)(q?12;q?13), ve stádiu Binet B, s přítomností B-symptomů, výraznou lymfocytózou, lymfadenomegalií a splenomegalií. Z těchto důvodů byla bezprostředně zahájena imunochemoterapie FCR (6 cyklů) s dosažením kompletní remise. V roce 2015 došlo k relapsu onemocnění a cytogenetické vyšetření odhalilo nově delecí 17p a delecí 18p v rámci dic(17;18)(p11;p11). Sekvenování genu *TP53* navíc prokázalo jeho vícečetné mutace. Jednalo se tedy o komplexní karyotyp s bíalelickou aberací *TP53*. V roce 2016 byla pro výraznou aktivitu onemocnění zahájena léčba kombinací rituximab-idelalisib, idelalisib byl podáván až do roku 2020, kdy došlo k progresi onemocnění. Cytogenetické vyšetření prokázalo další klonální vývoj, nově s bíalelickou delecí 13q14. Pacient byl indikován k monoterapii venetoklaxem, která byla podávána do února 2023, kdy došlo opět k aktivitě onemocnění s významně zvýšenou hodnotou LDH a výraznou trombocytopenií. Pro podezření na RT bylo indikováno PET/CT, které prokázalo akumulaci FDG v lymfatických uzlinách, slezině a kostní dřeni. Následně bylo provedeno vyšetření kostní dřene, kde byla histologicky prokázána transformace do DLBCL. Cytogenetická analýza odhalila řadu nových změn zahrnujících monozomii 8, 9, 12 a 22 a delecí 6q21 a 6q23.

Určení genetických změn patří mezi základní pilíře prognostické stratifikace u pacientů s CLL. Náš případ dokládá, že se i zdánlivě příznivý cytogenetický nále v době diagnózy, může v rámci klonálního vývoje postupně změnit ve velmi rizikový komplexní karyotyp související s následnou RT.

Práce je podporována granty IGA_LF_2023_005, MZCR-RVO (FNOL_00098892).

P14. SLEDOVÁNÍ KVALITY ŽIVOTA A OBAV PACIENTŮ S CHRONICKOU LYMFOCYTÁRNÍ LEUKEMIÍ LÉČENÝCH CÍLENÝMI PERORÁLNÍMI LÉKY – DOTAZNÍKOVÉ ŠETŘENÍ

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

IV. interní hematologická klinika LF UK a FN Hradec Králové

Úvod: Chronická lymfocytární leukemie (CLL) je nejčastější leukemií dospělých. V poslední době je patrný trend k podávání cílených

léků spíše než chemoterapie. Cílené perorální léky, vč. ibrutinibu, akalabrutinibu, venetoklaxu a idelalisibu, prokázaly působivé profily bezpečnosti a účinnosti v registračních studiích i v analýzách z běžné praxe. Je však důležité poznamenat, že mírné projevy toxicity spojené s těmito léky ne vždy pacienti sdělují svým lékařům. V této pilotní studii jsme se zaměřili na hodnocení kvality života pacientů, projevů toxicity a obav souvisejících s léčbou cílenými léky, abychom získali komplexní porozumění jejich reálným zkušenostem a mohli vylepšit péči o nemocné.

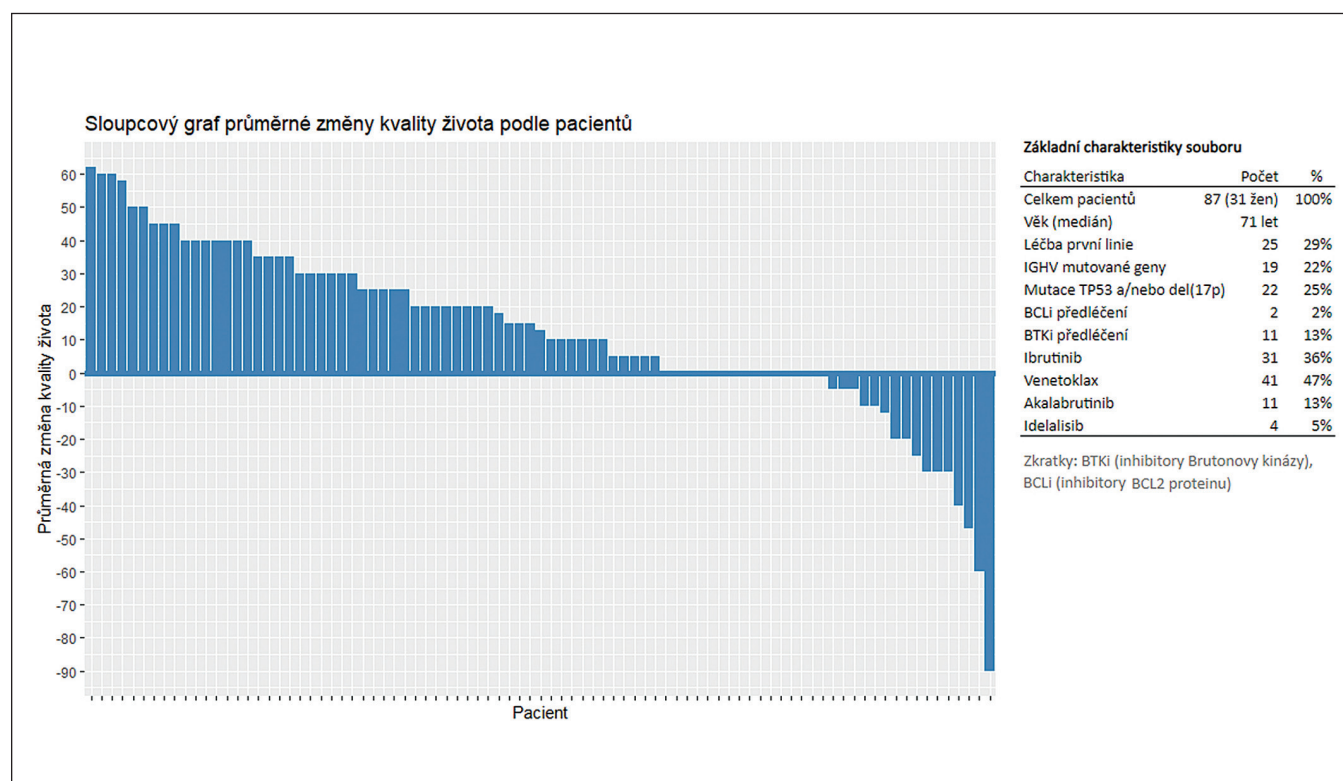
Cíle: Primárním cílem této studie bylo zhodnotit kvalitu života pacientů s CLL, kteří jsou léčeni cílenými perorálními léky. Sekundární cíle zahrnovaly hodnocení toxicity těchto léků a identifikaci obav pacientů souvisejících s léčbou.

Metody: Provedli jsme monocentrický dotazníkový průzkum u 87 pacientů s CLL, kteří jsou léčeni ibrutinibem, akalabrutinibem, venetoklaxem nebo idelalisibem více než 6 měsíců, nejsou v progresi a není u nich zaznamenána tak závažná toxicita, aby léčba musela být přerušena. Dotazníky byly distribuovány pacientům při běžných kontrolách a zahrnovaly otázky týkající se kvality života, toxicity a obav souvisejících s léčbou. Při přípravě dotazníku jsme vycházeli ze standardních dotazů skupiny EORTC Quality of Life Group Item Library.

Výsledky: Bylo zařazeno celkem 87 pacientů, z toho 31 žen (medián věku 72 let; 51–87) a 56 mužů (medián věku 70 let; 39–88). 19 pacientů mělo mutovaný IGHV a 22 dysfunkci TP53. První linii terapie mělo 25 pacientů, 62 bylo již po relapsu. Toxicita související s léčbou byla zjištěna u významné části pacientů. Zvýšené krvácení bylo zaznamenáno u 24 %, zatímco průjem, nauzea a snížená chuť k jídlu byly hlášeny u 12 %, 15 % a 13 % pacientů. Svalovou slabost uvedlo 33 % pacientů, únavu 46 %. Bolesti hlavy uvedlo dvanáct pacientů, z nichž pouze 2 byli léčeni BTKi. Pacienti byli požádáni, aby před léčbou a v době průzkumu hodnotili svůj celkový zdravotní stav na stupnici od 0 do 100. Medián ratingu vzrostl o 13 %. Pacienti také vyjadřovali obavy související s jejich léčbou. Mezi nejčastější obavy patřila ztráta soběstačnosti, krvácení a rozvoj jiného nádorového onemocnění.

Závěr: Tento pilotní projekt odhalil, že zatímco pacienti hlásili zlepšení celkového zdraví s novými cílenými léky, významná část nemocných zaznamenala toxicitu a měla obavy související s léčbou. Tato zjištění zdůrazňují potřebu průběžného sledování toxicity souvisejících s léčbou a obav pacientů s CLL.

Tato práce byla podpořena DRO (UHHK, 00179906) a programem Cooperatio, výzkumná oblast ONCO.



Graf 2. Écsiová D. Sloupcový graf průměrné změny kvality života podle pacientů.

P15. MĚNĚ ČASTÉ ABNORMALITY CHROMOZÓMU 13 U PACIENTŮ S MNOHOČETNÝM MYELOMEM

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

¹ Hemato-onkologická klinika: laboratoř cytogenetiky a molekulární cytogenetiky, HOK FN Olomouc

² Hemato-onkologická klinika, FN Olomouc

Úvod: Mnohočetný myelom (MM) je maligní onemocnění plazmatických buněk charakterizované jejich proliferací, akumulací v kostní dřeni a produkcí monoklonálního imunoglobulinu. V patogenezi MM mají prognostický význam specifické početní i strukturní chromozómové abnormality. Jednou z nejčastějších abnormalit u pacientů s MM je monozomie chromozómu 13/delece dlouhých ramen chromozómu 13 (13q). Minimální deletovaná oblast zahrnuje pruh 13q14, kde se nachází tumor supresorový gen *RB1*. V této oblasti se nachází také další významné geny: *FOXO1*, *DLEU1/2*, *MIR16-1*, *MIR15A* zapojené do regulace genové exprese.

Cíle: Cílem této práce je analyzovat méně časté abnormality chromozómu 13 v plazmatických buňkách kostní dřene pacientů s MM.

Metody: Analýza chromozómových aberací byla provedena metodami aCGH (array komparativní genomová hybridizace), FICTION (imunofluorescenční detekce plazmatických buněk v kombinaci s fluorescenční *in situ* hybridizací), M-FISH (vícebarevná fluorescenční *in situ* hybridizace) a G – pruhování.

Výsledky: Metodou aCGH byl vyšetřen soubor 215 pacientů. Postižení chromozómu 13 bylo zjištěno u 111 (52 %) pacientů. Většina změn zahrnovala monozomii 13 (79 %), jiná aberace byla zachycena u 23 pacientů (21 %). U této skupiny byla nejčastější aberací delece oblasti 13q14, která byla pozorována u 16/23 pacientů. U 4/23 pacientů byly nalezeny delece jiných oblastí chromozómu 13. Duplikace oblasti 13q14 byla zjištěna u 2/23 pacientů, u 1 pacienta (1/23) byla prokázána duplikace oblasti 13q21.3-13q34. Metoda FICTION odhalila méně časté aberace u dalších 9 pacientů. U 3/9 pacientů byla detekována bíaleická delece genu *RB1*. Duplikace oblasti 13q14 byla pozorována u 1/9 pacientů. Trizomie chromozómu 13 byla nalezena u 5/9 pacientů. U všech pacientů byly nalezeny další cytogenetické změny. Jednalo se o polyzomie (trizomie, tetrazomie) jiných chromozómů – 22/32 pacientů, translokaci t(11;14) - 6/32 a jinou *IGH* translokaci – 4/32 pacientů, abnormality chromozómu 1 – 10/32 a delecí genu *TP53* – 7/32 pacientů.

Závěr: Prokázali jsme, že u pacientů s MM dochází kromě monozomie 13 i k méně častým abnormalitám tohoto chromozómu. Ty mohou být heterogenní a jsou spojeny s dalšími cytogenetickými změnami. Detailní analýza aberací chromozómu 13 může přispět k lepšímu porozumění patogeneze MM.

Podpořeno MZ ČR – RVO (FNOI, 00098892).

P16. SPECTRAL FINGERPRINTING OF MULTIPLE MYELOMA AND PLASMA CELL LEUKEMIA BY MASS SPECTROMETRY COUPLED WITH ADVANCED BIOSTATISTICS AND MACHINE LEARNING

Ševčíková S.¹, Vlachová M.¹, Pečinka L.¹, Moráň L.¹, Almáši M.², Pour L.², Štork M.², Havel J.¹, Vaňhara P.³

¹ MU Brno

² FN Brno

³ FN u sv. Anny v Brně

Introduction: Multiple myeloma (MM) is the second most common hematological malignancy of the elderly. It is characterized by infiltration of bone marrow by malignant monoclonal plasma cells. MM diagnosis is based on bone marrow biopsy and detection of abnormal immunoglobulin in serum and/or urine. Plasma cell leukemia (PCL) is a very rare neoplasm of plasma cells, characterized by circulating plasma cells (CPC) in peripheral blood. Our study aimed at new diagnostic tests and strategies for early detection of these diseases.

Methods: Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF MS) coupled with machine learning (ML) is an advanced method used to distinguish between samples from healthy donors and cancer patients. The advantage of this advanced analytical method is speed, robustness and accuracy. However, in case of MM, there are difficulties due to the complexity of this biological material. Extraction is an inexpensive and quick solution, which removes unmeasurable components from the sample. Classification methods using ML algorithms are methods with great power. In our previous study, ANN specifically predicted MM samples with high sensitivity, specificity and accuracy. Herein, the main aim is to develop a method for discriminating MM and PCL patients using MALDI MS coupled with ML methods.

Results and conclusions: In this work, we optimized sample preparation including extraction of low mass chemical entities and developed a reliable method for MS analysis of MM and PCL samples. Using this method, we processed samples from MM, PCL and healthy donors and subjected them to MS and ML analysis. Two-step extraction provided a robust method for sample preparation with high quality mass spectra. Overall, mass spectra increased in total intensity, which allows reliable reproducibility of measurements, even after repeated thawing. The resulting MS dataset contained informative regions of mass spectra, suitable for advanced statistical analysis and machine learning methods. In conclusion, we revealed differences in spectral fingerprints of MM, PCL, and healthy donors with high accuracy.

This work was supported by Masaryk University (grant no.: MUNI/A/1301/2022), grant AZV NU21-03-00076 and the project National Institute for Cancer Research (Programme EXCELES, ID Project No. LX22NPO5102) – Funded by the European Union – Next Generation EU.

P17. SKLADOVÁNÍ A VYUŽITELNOST TRANSPLANTÁTŮ PERIFERNÍCH KMENOVÝCH KRVETVORNÝCH BUNĚK U PACIENTŮ S MNOHOČETNÝM MYELOMEM

Suk Š., Lysák D., Jungová A., Jindra P.

Hematologicko-onkologické oddělení, FN Plzeň

Úvod/cíle: Autologní transplantace kostní dřeně (ASCT) patří ke standardnímu léčebnému postupu u pacientů s mnohočetným myelomem (MM). Je často prováděna opakovaně, ať už v rámci tandemové transplantace (např. riziková cytogenetika), či v případě další linie léčby při relapsu. Samotné ASCT předchází sklizeň periferních kmenových krvetvorných buněk (PBSC) v množství dostatečném pro zajištění předpokládaného počtu transplantací. Práce analyzuje reálnou využitelnost transplantátů odebraných pro případné opakované autologní transplantace u MM pacientů.

Soubor a metody: Retrospektivní analýza pacientů s MM, s odběrem PBSC v letech 2015–2019. Celkově soubor čítá 197 pacientů s mediánem věku 64 let (37–75), kterým byly odebrány CD34+ v množství $10,45 \times 10^6/\text{kg}$ ($2,1\text{--}31,0 \times 10^6/\text{kg}$), dostačující u 87 % pacientů k zajištění alespoň dvou ASCT. Část pacientů (13 %) byla plánována pouze k jedné transplantaci, u jiných (35 %) bylo teoreticky možné provést až 3 procedury. Medián FU celého souboru byl 51 měsíců.

Výsledky: V rámci celého souboru bylo u 197 pacientů kryokonzervováno 727 vaků, z nich bylo použito 419 (57,6 %) a zlikvidováno po úmrtí pacienta 109 (15 %). Zbýlých 199 vaků (27,4 %) bylo k datu analýzy stále skladováno.

Pro analýzu doby skladování byla využita podskupina nemocných zemřelých k roku 2021 (78 pacientů). Z celkového počtu 298 zamražených vaků, bylo transplantováno 189 (63,4 %) a zlikvidováno 109 (36,6 %). Alespoň jedna ASCT byla provedena u 100 % pacientů s mediánem doby od mobilizace 2 měsíce, druhou ASCT prodělal již pouze 36 % ($n = 28$), z nichž bylo 10 tandemových (medián 7 měsíců od první ASCT) a 18 salvage při relapsu (medián 25 měsíců od první ASCT). Třetí ASCT byla indikována pouze u 3 % pacientů ($n = 2$; medián 19 měsíců) jako cytoredukce před alogenní procedurou. Zlikvidované vaky byly skladovány 4 281 vak/měsíců a náklady na jejich uložení činily 693 000 Kč.

Ve skupině žijících pacientů byly k datu analýzy pro potřeby opakovaných transplantací k dispozici vaky u 70,5 % pacientů ($n = 84$) a medián doby jejich skladování byl 45 měsíců.

Vyšší pravděpodobnost nevyužitých vaků pro následné transplantace měli dialyzovaní pacienti (50 % zlikvidováno), naopak pokročilý věk (nad 70 let) nebyl spojen s vyšším rizikem nevyužití transplantátu (31 % zlikvidováno).

Závěr: Pravděpodobnost využití produktů kryokonzervovaných pro opakované autologní transplantace se s odstupem od první ASCT snižuje. Počet nevyužitých vaků je více než 30 % a náklady na jejich „zbytečný“ odběr, zpracování a skladování zatěžují rozpočty tkáňových zařízení. Již při mobilizaci je nutné zvažovat budoucí léčebný plán s ohledem na charakteristiky pacienta a onemocnění a v kontextu nových léků a realisticky definovat potřebný počet transplantátů.

P18. CONCURRENT AMYLOID PRODUCING DISEASES

Flodr P.¹, Navrátilová M.¹, Pika T.², Holub D.³, Michálek J.¹, Minařík J.², Džubák P.³

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

²Department of Hemato-oncology, University Hospital Olomouc

³Department of Molecular and Translational Medicine, Faculty of Medicine and Dentistry, Palacky University Olomouc

Introduction: Amyloidosis is an acquired or hereditary, systemic or localised disease with an abnormal deposition of beta-sheet fibrillar protein aggregates in various tissues with variable distribution in extracellular space. Current nomenclature classification distinguishes 36 amyloidogenic proteins, 18 proteins in systemic and 22 proteins in localised amyloidosis (ISA 2020). AL amyloidosis is the most common type, in app. 12–15% is associated with multiple myeloma (MM), and in 1–2% ass. with MGUS. 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. Coincidence of non-AL amyloidosis (ATTRwt, ATTRv, AA and another) with B-NHL (excl. MM and MGUS) extends the differential diagnosis.

Material and methods: Our file contains 357 positive specimens (in total 767 FFPE and native samples analysed) with amyloid deposits diagnosed between the years 2007–2022 in variable tissues and organs stained with Congo red and/or Saturn red as a diagnostic step with consequent immunohistochemical analysis (IHC) a proteomic analysis (laser captured microdissection-liquid chromatography/tandem mass spectrometry – LMD-LC/MS/MS) as a typing step with completely analysed 241 specimens.

Results: Results are in tab. 1.

Discussion: Detected hybrid types of amyloid are highly important in differential diagnosis of coincidental diseases both producing amyloid deposits (commonly AL amyloidosis + another one) and are also challenging the correct interpretation of amyloid protein deposition process e.g. a/ deposits from different specimens or organs in a same patient, b/ deposits from the same specimen and organ in diverse microspaces, c/ deposits from the same specimen and organ in the same microspace. These microanatomical variabilities reveal distinct subtypes of amyloid fibrillogenesis (simple coincidence of variable amyloidosis, true hybrid amyloidosis, combined seeding and fibrillogenesis). Presented algorithm shows highly valid method with crucial impact on novel therapeutic decisions (siRNA, antisense mRNA, anti-human-SAP antibodies, monoclonal antibody binding amyloid protofilaments, accelerators of fibrillization etc.) which are different in particular amyloidosis and concurrent diseases (e.g. ATTRwt amyloidosis with MGUS/ MM without AL amyloidosis, and more combinations exist). Polymorphisms and mutation burden is another horizon in amyloid deposits survey.

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

Supported by MZ ČR – RVO (FNOI, 00098892)

Tab 1. Plodr P. et al.

Amy- loid (Σ)	AL (Σ)	AL lambda	AL kappa	hybrid AL/ATTR	hybrid AL/ AApoAIV	hybrid AL/AH	ATTR	AA	AH	AApoAI	AIAPP	ASem1	ACal	AFib
241	103	70	33	1	1	4 (3 lambda/ IgG, 1 kappa/IgG)	100	13	4	1	1	5	6	2

P19. ZÁVAŽNÉ PODKOŽNÍ KRVÁCENÍ A KOAGULOPATIE U DOSPĚLÉHO MUŽE V DŮSLEDKU NUTRIČNĚ-PODMÍNĚNÉ HYPOVITAMINÓZY K

Polák P.¹, Prudková M.², Zavřelová J.²

¹ Hematologicko-transfúzní oddělení, Nemocnice Břeclav

² Oddělení klinické hematologie, FN Brno

Úvod: Vitamín K je nezbytný pro terminální modifikaci koagulačních faktorů tzv. vnitřní i zevní koagulační kaskády (II, VII, IX, X) a tzv. přirozených inhibitorů koagulace (proteinu C a proteinu S). Zdrojem vitamínu K je jednak endogenní mikroflóra, jednak potrava. Před zavedením systematického profylaktického podávání vitamínu K bývala hypovitaminóza K častou příčinou závažných krvácivých komplikací především v novorozeneckém a dětském věku. U dospělých je závažná hypovitaminóza K se sekundární koagulopatií vzácná – nejčastěji se jedná o důsledek malabsorpčního syndromu, chronického střevního zánětu (např. při Crohnově chorobě), širokospektré antibiotické terapie či terapie cholestyraminem. Prostý nutriční deficit je v ČR raritní.

Cíle: Cílem práce je didakticky stanovit diferenciální diagnostiku prvního kontaktu v malé nemocnici s omezenými laboratorními možnostmi při rozsáhlém podkožním krvácení a závažné koagulopatii.

Metody: Autor prezentuje případ 62letého muže se spontánně vzniklými rozsáhlými hematomy, s makroskopickou hematurií a se sekundární anémií (koncentrace hemoglobinu 83 g/l, hematokrit 0,247). S výjimkou anamnézy trombocytopenie 1. stupně (vedené jako „imunitní“) se pacient s ničím neléčil a neužíval žádné léky. Při přijetí byl nápadně prodloužený aPTT-R (3,52; norma do 1,2) a PT-R (7,15; norma do 1,2) a mírná hyperfibrinotenémie (4,59 g/l; norma do 4,0). Koncentrace D-dimerů byla jen nadhraniční 0,78 mg/l (norma do 0,5). Při akutním mikroskopickém odečtu nátěru periferní krve nebyly zachyceny blasty ani promyelocyty, nebyl přítomen fenomén rouleaux erytrocytů, nebylo zvýšené zastoupení schistocytů a nebyly pozorovány patognomické změny trombocytů. Během venepunkce nebylo pozorováno abnormální krvácení. Bez prodlevy bylo nitrožilně aplikováno 5 mg vitamínu K, následně byly podávány 2 TU čerstvě zmražené plazmy po 6 hodinách.

Výsledek: Při provedení tzv. směsných testů následující den (již z odběru po prvních dvou TU čerstvě zmražené plazmy) byla

zaznamenána plná korekce PT-R i aPTT-R do normy, což svědčilo proti přítomnosti protilátek s inhibiční aktivitou proti koagulačním faktorům. Z odběru ještě před zahájením transfúzní terapie byla vyloučena získaná hemofilie A (aktivita koagulačního faktoru VIII zvýšená na 303 %), naopak byl potvrzen těžký kvantitativní deficit koagulačního faktoru II (10 %), VII (21 %), IX (30 %) i X (6 %). Transfúzní terapie byla ukončena po dvou dnech léčby. Po 6 dnech pravidelné suplementace vitamínu K došlo k plné normalizaci aPTT-R (1,19) a téměř kompletní normalizaci PT-R (1,39). Podrobnější anamnézou byla zjištěna povšechně chudá strava (slovy pacienta: „kuře-rýžarizoto; petrželka do polívky“). Při kontrolách byl bez krvácivých projevů, bez anémie a měl normální koagulogram.

Závěr: hypovitaminóza K je v naší zemi raritní, přesto může vést i k život-ohrožujícímu krvácení, a měla by patřit do diferenciální diagnostiky krvácivého stavu.



Obr. 1. Polák P. et al.

P20. ULTIMATE CLARIFICATION OF THE RELATIONSHIP BETWEEN ASPARAGINE SYNTHETASE ACTIVITY AND SENSITIVITY OF LEUKEMIA TO L-ASPARAGINASE

Hložková K.¹, Heřmanová I.¹, Šafrhansová L.¹, Alquézar Artieda N.¹, Janoušková K.¹, Trka J.¹, Tennant D.², Starková J.¹

¹ CLIP – Childhood Leukaemia Investigation Prague, Second Faculty of Medicine, Charles University, Prague, Czech Republic

² Institute of Metabolism and Systems Research, University of Birmingham, Birmingham, UK

Background: L-asparaginase (ASNase) is one of the crucial drugs used in treatment of childhood acute lymphoblastic leukemia (ALL). ASNase administration in vivo depletes circulating Asn. Leukemia cells are sensitive to ASNase because they have lower asparagine synthetase (ASNS) level compared to healthy cells. All studies trying to correlate ASNase sensitivity with ASNS are based on gene/protein levels. So far, none of them assessed the enzymatic activity of ASNS.

Aims: The main aim is to evaluate the role of ASNS enzymatic activity in predicting sensitivity of ALL cells to ASNase (Asn-depletion).

Methods: We employed stable isotope tracing to study the activity of ASNS. Sensitivity of cells to Asn-depletion and chloroquine (CQ) was measured using MTS assay. Protein levels were detected using western blot (WB).

Results: We measured the activity of ASNS together with ASNS protein levels in ALL cell lines. Six of them had ASNS detectable on WB (ASNS-plus). None of the ASNS-plus cell lines synthesized Asn when it was present in the culture media. When Asn was limited in the media, ASNS-plus cells were able to synthesize Asn whereas ASNS-null cells were not. Although ASNS-plus cell lines were able to import aspartate (Asp), they did not use imported Asp to synthesize Asn. They used exclusively Asp synthesized from glutamine (Gln) via TCA cycle. Therefore, substrate channeling could play a role in ASNS activity.

Then, we measured the sensitivity of ALL cell lines to Asn-depletion. In B-ALL, all ASNS-plus cell lines were resistant to Asn-depletion whilst ASNS-null cell line was not. In T-ALL, ASNS-plus cell lines together with one ASNS-null cell line (ALL-SIL) were resistant to Asn-depletion. The second ASNS null cell line (DND-41) was sensitive. Since autophagy could provide Asn when it is limited in the media, we looked into autophagy activity. ALL-SIL cells were more sensitive to autophagy inhibitor CQ and also had higher autophagic flux compared to DND-41 cells. In accordance with that, we detected higher mTOR activity in DND-41 than in ALL-SIL cells.

Summary: Altogether, our study for the first time determined ASNS activity in leukemia cells under different nutrient availability. ASNS activity correlates with ASNS protein levels in Asn-deplete conditions. In general, ASNS-plus cells are less sensitive to Asn-depletion than ASNS-null cells. However, ASNS-null cells could overcome ASNase treatment by high autophagy state and therefore bias the correlation between ASNS protein level and sensitivity to ASNase.

Supported by NU20J-03-00032 and NU22-07-00087.

P21. EXPRESE PIWI-INTERAGUJÍCÍCH RNA V CD34+ BUŇKÁCH U MYELOYDYPASTICKÝCH NEOPLÁZIÍ

Krejčík Z.¹, Kunderát D.¹, Hruštincová A.¹, Trsová I.¹, Beličková M.¹, Čermák J.², Jonášová A.³, Dostálová Merkerová M.¹

¹ Oddělení genomiky, Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

² Laboratoř anémií, Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

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

Úvod: Piwi-interagující RNA (piRNA) jsou relativně nedávno identifikovanou třídou malých (24-34 nt) nekódujících RNA. Ačkoliv byly původně objeveny v zárodečných buňkách, jsou také důležitou součástí somatických i hematopoetických kmenových buněk (HSC). Jsou aberantně exprimovány u různých onemocnění, a mohou také sloužit jako potenciální biomarkery, a dokonce i terapeutické cíle. Ačkoli dysregulace piRNA již byla popsána u některých hematologických malignit, informace o expresi piRNA u myelodysplastických neoplázií (MDS) jsou zatím ojedinělé. Naším cílem bylo změřit a porovnat expresní profily piRNA v HSC u různých subtypů MDS.

Metody: Pomocí NGS byly osekvenovány knihovny malých RNA připravené z celkové RNA CD34+ HSC u kohorty 73 MDS pacientů a 14 zdravých kontrol. Získané sekvence byly mapovány proti databázi piRNABank.

Výsledky: S průměrnou hloubkou 34,5 milionů čtení na vzorek bylo napříč kohortou identifikováno celkem 257 různých piRNA molekul. Při srovnání profilů piRNA zdravých kontrol a pacientů s MDS byly identifikovány pouze tři signifikantně (padj ≤ 0,05, |logFC| ≥ 0,5) deregulované piRNA (piR_016659, piR_016658, a piR_019368). Po stratifikaci pacientů podle IPSS-R bylo identifikováno 17 diferencially exprimovaných piRNA mezi pacienty s nižším (LR, IPSS-R ≤ 3,5, n = 45) a s vyšším (HR, n = 28) rizikem, z toho 10 bylo sníženo a 7 zvýšeno u HR pacientů. Tento rozdíl byl ještě výraznější při srovnání LR (n = 31) a HR (n = 7) pacientů s normálním karyotypem, kdy bylo nalezeno 30 diferencially exprimovaných piRNA (nejsignifikantněji piR_020829, piR_005271 a piR_019914), z toho 20 bylo sníženo a 10 zvýšeno u HR pacientů. HR pacienti s normálním karyotypem také vykazovali větší rozdíly oproti kontrolám (25 diferencially exprimovaných piRNA) oproti LR pacientům s normálním karyotypem (pouze 2 deregulované piRNA (piR_016659, piR_016742) mezi LR pacienty a kontrolami). Dále jsme testovali vliv karyotypu (del5q, +8, -Y, n = 12, 3, 3) a somatických mutací (SF3B1, TP53, U2AF1, n = 10, 4, 3) na expresi piRNA, byly však detekovány pouze menší změny spojené s del5q a s mutací SF3B1.

Závěr: Piwi-interagující RNA a jejich význam pro lidské zdraví byly rozpoznány teprve nedávno díky rychlému pokroku sekvenační technologie. Zde prezentujeme profily exprese piRNA u kohorty MDS pacientů, a specifikujeme odlišné vzorce dle IPSS-R. Vliv nesených karyotypů a mutací nebyl příliš výrazný pravděpodobně díky menšímu počtu testovaných vzorků.

Tato práce vznikla za podpory AZV ČR (NU20-03-00412)

a MZ CZ-DRO (UHK, 00023736).

P22. SÉROVÉ HLADINY CYTOKINŮ A SOLUBILNÍCH ADHEZNÍCH MOLEKUL U NEMOCNÝCH S MYELOYDYSPLASTICKÝM SYNDROMEM VYŠŠÍHO RIZIKA, SROVNÁNÍ SE SEKUNDÁRNÍ AKUTNÍ MYELOIDNÍ LEUKEMIÍ A ZDRAVÝMI JEDINCI

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

¹ Katedra vojenského vnitřního lékařství a vojenské hygieny, Fakulta vojenského zdravotnictví Hradec Králové

² IV. interní hematologická klinika, FN Hradec Králové

Cíl: Cílem studie bylo zjistit, jak se liší hladiny vybraných cytokinů a solubilních adhezních molekul nemocných s myelodysplastickým syndromem (MDS) vyššího rizika od jedinců se sekundární akutní myeloidní leukemií (AML) a od zdravých kontrol.

Metodika: Byly studovány soubory 30 nemocných s MDS vyššího rizika léčených azacytidinem, 21 nemocných se sekundární AML a 15 dárců krve jako zdravých kontrol. Vzorky od skupin nemocných s MDS a AML byly odebrány před zahájením léčby. Skupiny nemocných s MDS a AML se nelíšily věkem. Biomarkery byly stanoveny pomocí proteinového biochipu na analyzátoru Evidence Investigator (Randox). Byly měřeny sérové hladiny 22 markerů: interleukiny IL-1 α , IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, EGF, VEGF, IFN- γ , TNF- α , Monocyte Chemoattractant Protein-1 (MCP-1), E-selectin (E-SEL), P-selectin (P-SEL), L-selectin (L-SEL), ICAM-1, VCAM-1, solubilní receptory pro IL-2 (sIL-2R α), IL-6 (sIL-6R), TNF- α typu I a II (sTNFR-I, sTNFR-II) a matrix metaloproteináza 9 (MMP-9).

Statistické zpracování bylo provedeno s využitím Mann-Whitney U testu. Hodnoty pravděpodobnosti $p < 0,05$ po korekci na vícenásobné testování byly považovány za statisticky významné.

Výsledek: Nemocní s MDS vyššího rizika měli vyšší sérové hladiny VCAM-1 ($p = 0,0176$) a nižší L-SEL ($p < 0,0001$) a IL-6 ($p = 0,048$) a ve srovnání s nemocnými s AML.

Obě skupiny (MDS i AML) se od zdravých jedinců lišily vyššími hladinami IL-6, IL-8, VCAM-1, ICAM-1, TNFR-I a zároveň měli nižší hladiny IL-2, IL-4 a MMP-9.

Nemocní s MDS měli nižší hladiny E-SEL ($p = 0,0165$) ve srovnání se zdravými jedinci.

Nemocní s AML měli ve srovnání se zdravými jedinci vyšší hladiny L-SEL ($p = 0,044$).

Závěr: Skupina nemocných s MDS vyššího rizika i AML se v některých markerech nádorového mikroprostředí shodně liší od zdravých kontrol, ke změnám v nádorovém mikroprostředí nedochází lineárně. Této problematice se budeme dále věnovat po rozšíření souboru nemocných s MDS.

Práce byla podpořena z MO ČR – DZRO 1011 (FVZ UO) a MZ ČR – RVO 00179906 (FN HK).

P23. CHARAKTERISTIKA PŘÍDATNÝCH CYTOGENETICKÝCH ABERACÍ U PACIENTŮ S MYELOYDYSPLASTICKÝMI NEOPLÁZIEMI (MDS) S IZOLOVANOU DELECÍ 5Q

Radová A., Holzerová M., Urbánková H., Balcárková J., Mlynářčiková M., Machová R., Papajík T.

Hemato-onkologická klinika FN Olomouc

Myelodysplastické neoplázie (MDS) jsou klonální onemocnění krvetvorby zahrnující skupinu heterogenních malignit, které jsou charakterizovány ve většině případů nálezem genetických alterací. Jednou z WHO definovaných entit MDS jsou pacienti s izolovanou delecí 5q – del(5q) zahrnující mimo jiné i případy s 1 přídatnou chromozomální aberací (vyjma aberací chromozomu 7), kteří spadají dle Cytogenetického skórovacího systému (Schanz et al., 2012) do skupiny s dobrou prognózou. Dle literatury se však udává, že pacienti s del(5q) postižující i telomerickou oblast (od 5q34 distálně) vykazují agresivnější průběh onemocnění. Zároveň se ukazuje, že mutace některých genů detekované u pacientů s izolovanou del(5q) nemusí mít stejný klinický dopad, jako je obecně popisováno u pacientů s MDS.

Cílem projektu bylo blíže cytogeneticky charakterizovat kohortu pacientů s MDS s izolovanou del(5q) vyšetřovaných v letech 2002–2022 na HOK FN Olomouc. Retrospektivně u pacientů s detekovanou izolovanou del(5q) s neúplným FISH (fluorescenční *in situ* hybridizace) vyšetřením doplnit chybějící údaje a určit tak zastoupení dalších cytogenetických aberací, případně tyto pacienty dále restratifkovat.

Všichni pacienti byli vyšetřeni konvenční cytogenetickou metodou (G-pruhování), metodou FISH zaměřenou na nejčastější aberace (delece 5q, TP53, 20q, 7q/monosomie 7, trisomie 8 a přestavby genu MECOM), případně M-FISH (mnohobarevná FISH). U pacientů, u nichž byla dostupná odpovídající DNA, byla retrospektivně provedena metoda aCGH (array komparativní genomová hybridizace).

V průběhu 20 let byla v Laboratoři cytogenetiky a molekulární cytogenetiky HOK FNOL detekována aberace chromozomu 5 u 101 pacientů (33 %) z celkově 310 pacientů s diagnostikovaným MDS. Monosomie chromozomu 5 byla prokázána u 6 pacientů (2 %), z toho u 5 pacientů v rámci komplexního karyotypu (KK). Delece 5q byla detekována u 95 pacientů (31 %), z toho u 53 pacientů (17 %) byla del(5q) prokázána v rámci KK a u 1 pacienta v rámci karyotypu s del(5q) a monosomií 7. U zbylých 41 pacientů (13 %) byla tato aberace detekována buď izolovaně (36 pacientů, tj. 12 %), nebo u 5 pacientů s jednou další aberací (+8/+21/delece TP53). Delece telomerické oblasti (5q35.3) byla detekována pouze u jediné pacientky s izolovanou del(5q).

Detekce genetických změn metodami klasické a molekulární cytogenetiky je nezbytná ke správnému diagnostickému zařazení

pacientů s MDS do jednotlivých podtypů a prognostických skupin. Do popředí se však již dostávají i genetické alterace v kandidátních genech, které mohou přispívat nejen k diagnostické či prognostické stratifikaci, ale také mohou u jednotlivých pacientů předpovědět terapeutickou odpověď, na což se zaměříme v další fázi naší studie.

Podpořeno: IGA_LF_2023_005.

P24. JEDNODÁVKOVÝ SCREENING PRO SELEKCI LÁTEK S ANTIPROLIFERAČNÍM ÚČINKEM ODHALIL SKUPINU FLT3 INHIBITORŮ S JEDINEČNOU STRUKTUROU

Kazimírová P., Janská B., Petráčková L.

Ústav lékařské biochemie, LF UK, Hradec Králové

Úvod a cíl: Jednodávkový screening prováděný dle zavedeného protokolu umožňuje zachytit nové látky s antiproliferačním účinkem. Ústav lékařské biochemie Lékařské fakulty v Hradci Králové dlouhodobě spolupracuje s řadou pracovišť – Farmaceutická fakulta Univerzita Karlova, Centrum biomedicínského výzkumu FN HK, Fakulta chemicko-technologická Univerzita Pardubice, Přírodovědecká fakulta Univerzity Palackého v Olomouci. Právě tato pracoviště jsou zdrojem různorodé skupiny látek, ze které je potřeba racionálně vyselektovat slibné kandidátní látky pro podrobnější studium antiproliferačního účinku.

Metody: Roztoky látek jsou testovány v koncentraci 10 μ M na deseti lidských buněčných liniích (9 nádorových s různým histiotypem, jedna nenádorová) po dobu 48 hodin. Po skončení inkubace se provádí stanovení proliferace pomocí WST-1 testu a vyhodnocení růstového procenta pomocí MS Excel.

Výsledky: Látky, které v uvedené koncentraci a časovém intervalu vyvolají pokles proliferace pod 50% proliferace kontrolních buněk, jsou vybrány pro podrobnější studium účinků na vybraných nádorových liniích.

Závěr: Uvedený protokol představuje první krok ve výběru látek, které si ze široké knihovny látek izolovaných, modifikovaných nebo nově syntetizovaných, zaslouží hlubší studium případného protinádorového účinku. Ročně je takto testováno zhruba 80 látek, ze kterých je přibližně 1/10 vybrána pro další experimenty. V loňském roce tento screening pomohl odhalit skupinu látek, u kterých se prokázal inhibiční účinek na Flt3 kinázu. Tyto látky, se strukturou zcela odlišnou používaným Flt3 inhibitorům, jsou nyní dále testovány a zároveň slouží jako vzor pro další modifikace vedoucí ke zvýšení protinádorového účinku.

Tato práce byla podpořena projektem INOMED CZ.02.1.01/0.0/0.0/18_069/0010046, který je spolufinancovaný Evropskou unií.

P25. GENETIC DIAGNOSTICS IN CHILDHOOD IMMUNE THROMBOCYTOPENIA BY WHOLE-GENOME OPTICAL MAPPING

Maňáková J.¹, Pospíšilová D.², Savara J.¹, Kriegová E.¹

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

²Department of Paediatrics, Faculty of Medicine and Dentistry, Palacky University and University Hospital Olomouc, Olomouc

Background: 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.

Methods: We used whole-genome optical mapping (Saphyr, Bionano Genomics) to analyse the genomic architecture of high-weight DNA isolated from peripheral blood of 7 pediatric patients diagnosed with ITP (M/F, 2/5; median (min-max) age 8 (4–19) years).

Results: Using a whole-genome optical mapping (coverage ~180x), we revealed complex genetic rearrangements, including numerous deletions (median 15 deletions/patient, range 13–36; deletion size 0.5–489 kbp) and large insertions (8, 5–19; 0.5–489 kbp) in analysed blood samples of patients with ITP. One of these patients (P1) had 14.5 kbp deletion involving the *IL4R* gene, previously associated with ITP (Takahashi et al. 2017). Other patient (P2) had a deletion in the *SUPH3* gene, which is associated with increased *ADAMTS13* activity whose genetic or acquired deficiency causes ITP (de Vries et al. 2015). In two other patients, deletions in the genes *RASA3* (size 21.5 kbp), *ANGPT1* (0.6 kbp), *DAD1* (1.3 kbp), which have been associated with hematopoietic (erythropoiesis and megakaryopoiesis) and platelet disorders, were detected. Additional deletions were found in all patients that did not involve genes associated with ITP. The detailed analysis of involved genes encompassing the detected deletions is ongoing.

Conclusions: Our pilot data highlights the use of novel genetic approaches based on the analysis of high-molecular weight DNA to complement NGS results and refining complex the genetic diagnosis of ITP.

Grant support: NU21-06-00370, IGA_LF_2023_010, and MH CZ-DRO (FNOL, 00098892).

P26. DVOJITĚ MODIFIKOVANÉ CAR+ TGTCR+ T LYMFOCYTY PRO TERAPII INFEKCE LIDSKÝM CYTOMEGALOVIREM

Kroutilová M., Musil J., Labská K., Alexová Žůrková K., Gabriel P., Němečková Š.

Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

Úvod: T lymfocyty geneticky modifikované (GM) pomocí chimérických antigenních receptorů (CAR) a transgenních T re-

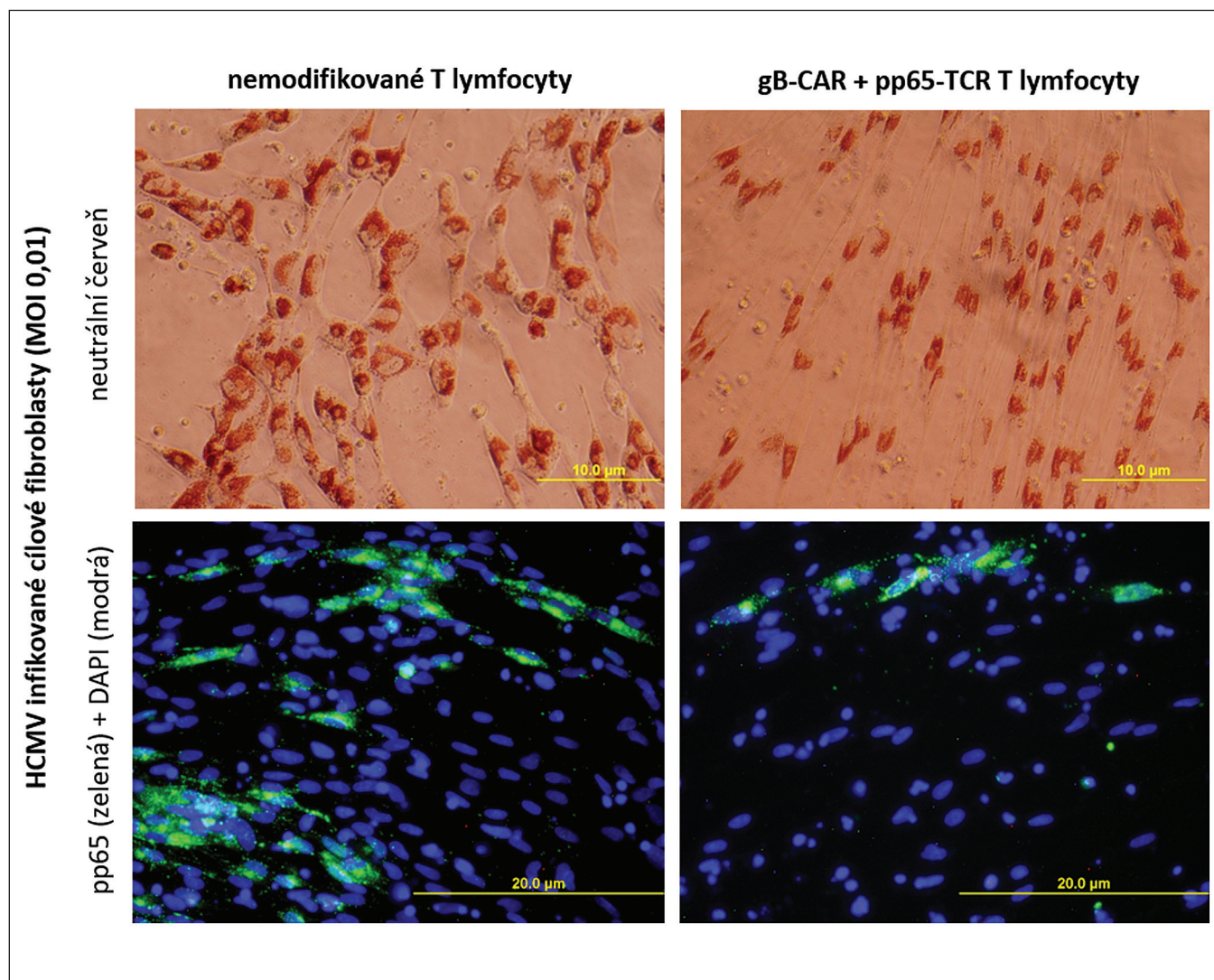
ceptorů (tgTCR) jsou extenzivně studovány v souvislosti s léčbou rakoviny. V našem projektu jsme se rozhodli využít technologii GM T lymfocytů pro terapii virové infekce, konkrétně pro terapii reaktivace lidského cytomegaloviru (HCMV), která ohrožuje pacienty podstupující transplantaci hematopoetických kmenových buněk.

Metody: Elektroporací plasmidů piggyBac transpozonového systému do PBMC HCMV- HLA-A2+ dárců jsme připravili primární T lymfocyty exprimující CAR proti glykoproteinu B (gB) HCMV v kombinaci s tgTCR proti specifickému peptidu z fosfoproteinu pp65 HCMV prezentovanému v komplexu s HLA-A2. Dvojitě modifikované T lymfocyty jsme následně specificky stimulovali přes CAR nebo tgTCR a pěstovali v přítomnosti IL-2, IL-4 a IL-7. Testování funkčnosti T lymfocytů jsme prováděli koinkubací s HCMV infikovanými fibroblasty. Výsledky koinkubace jsme vyhodnocovali barve-

ním/cytotoxickým testem s neutrální červení, imunofluorescenčním barvením na virový protein pp65 a kvantitativní PCR detekující HCMV DNA.

Výsledky: Během expanze jsme dokázali získat až 65 % dvojitě modifikovaných gB-CAR+ pp65-TCR+ T lymfocytů. HCMV infikovaná kultura fibroblastů inkubovaná devět dní s těmito dvojitě pozitivními T lymfocyty byla morfoloicky odlišná od kultury inkubované s T lymfocyty nemodifikovanými. V jamkách s gB-CAR+ pp65-TCR+ T lymfocyty jsme rovněž zjistili výrazné snížení celkového množství cílových virových proteinů společně se sníženým množstvím virového proteinu a virové DNA.

Závěr: Z provedených experimentů vyvozujeme, že naše dvojitě modifikované T lymfocyty dokáží cytotoxicky zabít HCMV infikované buňky a inhibovat virovou replikaci *in vitro*. Pro potvrzení plánujeme provést další testy a opakování pokusů.



Obr. 2. Kroutilová M. et al. Rozdíly v působení dvojitě modifikovaných T lymfocytů a nemodifikovaných T lymfocytů na kulturu cílových fibroblastů infikovanou HCMV.

horní řádek – supravitální barvení cílových fibroblastů neutrální červení; spodní řádek – imunofluorescenční barvení fibroblastů na HCMV antigen pp65

P27. STANOVENÍ POČTŮ KOPIÍ GENU *CAR19* VE VZORKU POMOCÍ DIGITÁLNÍHO PCR – VALIDACE METODY V REŽIMU SPRÁVNÉ VÝROBNÍ PRAXE (SVP)

Petráčková M., Rychlá J., Kaštánková I., Šroller V., Mucha M., Žižková H., Polívková V., Pecherková P., Kulíšková M.

Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

Ústav hematologie a krevní transfuze má zájem implementovat imunoterapii do kliniky, a podpořit standardní léčbu svých pacientů. V ÚHKT byl zaveden systém SVP (GMP) pro léčivé přípravky pro moderní terapii (ATMP), zřízeny čisté prostory, ve kterých se izolují, modifikují a expandují imunitní buňky pro pacienty. Probíhá zde výroba buněk NK, CAR19-T lymfocytů, a v dohledné době dojde k zahájení výroby CAR123-T lymfocytů. Jde o pacientovy T-lymfocyty, do kterých je vnesen gen s chimerickým antigenním receptorem (CAR) pro molekulu CD19 nebo CD123. Výsledné produkty jsou testovány, zda splňují kvalitu jakosti, a jsou vhodné pro podání pacientovi. Laboratoř funkčních testů ÚHKT se zaměřuje na vývoj a validaci imunologických a molekulárně genetických kontrolních metod v SVP režimu potřebných k ověření těchto produktů.

Naším cílem bylo zavedení a validace kontrolní metody, která dokáže stanovit počet kopií genu *CAR19* ve vzorku. K absolutní kvantifikaci kopií molekul DNA jsme zvolili metodu digitálního PCR (ddPCR). V jedné reakční směsi se sleduje v tisíci kapičkách počet kopií genu *CAR19* a zároveň genu pro albumin, a z těchto údajů se vypočítá počet kopií genu *CAR19*/buňku. Celý proces kontrolní metody začíná rozmrazením buněk, pokračuje izolací genomové DNA (gDNA) a končí ddPCR a jeho analýzou.

V rámci validace metody jsme zjišťovali tyto charakteristiky: selektivitu, specifitu, detekční rozmezí, linearitu, opakovatelnost a robustnost. Z výsledků vyplývá, že metoda je vysoce selektivní a specifická, a potvrzuje se tím vhodný výběr primerů, sond a nastavení PCR. Vypočetli jsme limit detekce LOD = 0,7 pozitivních dropletů, tj. 0,05 kopií/ul reakce a limit kvantifikace LOQ = 2 pozitivní droplety, tj. 0,12 kopií/ul reakce. Prokázali jsme lineární vztah mezi procentem *CAR19* pozitivních buněk a počtem kopií *CAR19*/buňku. Metoda ddPCR je velmi citlivá, vzorek obsahující 0,05 % *CAR19*-lymfocytů vyhodnotila jako pozitivní bez falešných negativit. Detekční rozmezí koncentrace gDNA pro ddPCR je 0,1–15 ng/μl. Výsledky experimentů zjišťující opakovatelnost, tj. intra i inter-assay, ale i robustnost, se významně nelišily, variační koeficient byl ve všech případech menší než 10 %. Na základě opakované izolace *CAR19*-T lymfocytů, tzv. interní kontroly, a jejich testování na počet kopií/buňku jsme stanovili nejistotu měření, a to ± 11 %. Zároveň jsme porovnali výsledky ddPCR a kvantitativní PCR. Metoda ddPCR je pro účely stanovení počtu kopií v buňce vhodná a vyhovující všem kritériím přijatelnosti.

P28. NK CELLS COMPATIBILITY WITH DIFFERENT LINES OF AML THERAPY

Szabová J.¹, Feglarová T.¹, Jedlička M.^{1,2}, Janstová L.^{1,2}, Mašíňová E.^{1,2}, Švubová V.^{1,2}, Nádeníková M.^{1,2}, Frič J.^{1,3}

¹ Oddělení Moderní Imunoterapie, ÚHKT, Praha

² PpF UK, Praha

³ FNUSA, Brno

Despite development and improvements of new drugs, multiple treatment strategies or stem cell transplantation, the AML relapse remains a severe problem responsible for patients' mortality. Recently, a developing cellular immunotherapy approaches provide new candidate treatment options. This includes therapies based on adoptive transfer of natural killer (NK) cells, as NK cells are tested as promising immunotherapy due to their antitumor effects and cytotoxic capacity.

Here, we selected 3 candidate cohorts of patients suitable for future clinical studies using *in vitro* expanded NK cells. This includes patients who showed primary resistance to classical "3 + 7" chemotherapy (A) or continued to be MRD-positive after stem cell transplantation (B) or who have primary resistance on classical "3 + 7" and also "FLAIDA" chemotherapy (C).

Experimental *in vitro* assessment has been performed to model the potential viability and cytotoxicity of NK cells after exposing them to various chemotherapy approaches. This approach aims to determine the best strategy for clinical applications of NK cells in patients treated with specific inhibitors. The main goals of our research are therefore (1) to evaluate when this possible transfer to patients will be most efficient in context of used therapy, where chemotherapy will be combined with donor-derived *in vitro* activated NK cells for various exposure time. (2) How the given NK cells and leukemic target cells are affected by chemotherapy, in order to evaluate the effectivity of cytotoxic properties of NK cells and their phenotype, and (3) the susceptibility of the inhibitor pre-treated tumor cells to NK cells cytotoxic killing.

Material and methods: On the THP-1 cell line and NK cells we tested the effect of chemotherapeutics using the Alamar blue viability assay, Calcein AM and ELISA methods. NK cells were expanded 14 days in presence of irradiated K562 feeder cells and cytokines.

Results: The target THP-1 cell line and expanded NK cells were treated for 24h with chemotherapeutics used in patients' treatment strategy. Our preliminary data showed that mainly Cyclophosphamide, Busulfan and Fludarabine had significantly decreased NK cell cytotoxic properties while Cytarabine and Idarubicin had no significant effect. Also, there was significantly decreased level of TNFα in NK cells treated with Cyclophosphamide, which correlates with their reduced ability of cytotoxic killing.

Summary and conclusion: Our findings describe impact of compounds use in AML therapy to NK cells and as such pave the road to better design of future immunotherapies using adoptive transfer of NK cells.

P29. RNA SEKVENOVANIE JEDNOTLIVÝCH BUNIEK UMOŽŇUJE CHARAKTERIZÁCIU A SLEDOVANIE ZRIEDKAVÝCH CLL BUNIEK S POTENCIÁLOM NAVODIŤ REFRAKTÉRNE OCHORENIE

Kurucová T.^{1,2}, Réblová K.^{1,3}, Vališová M.^{1,3}, Porc J. P.¹, Navrkalová V.^{1,3}, Závacká K.^{1,3}, Plevová K.^{1,3}, Tichý B.^{1,3}, Doubek M.^{1,3}, Kotašková J.^{1,3}, Pospíšilová Š.^{1,3}

¹ Středoevropský technologický institut, MU, Brno

² Ústav experimentální biologie, Přírodovědecká fakulta, MU, Brno

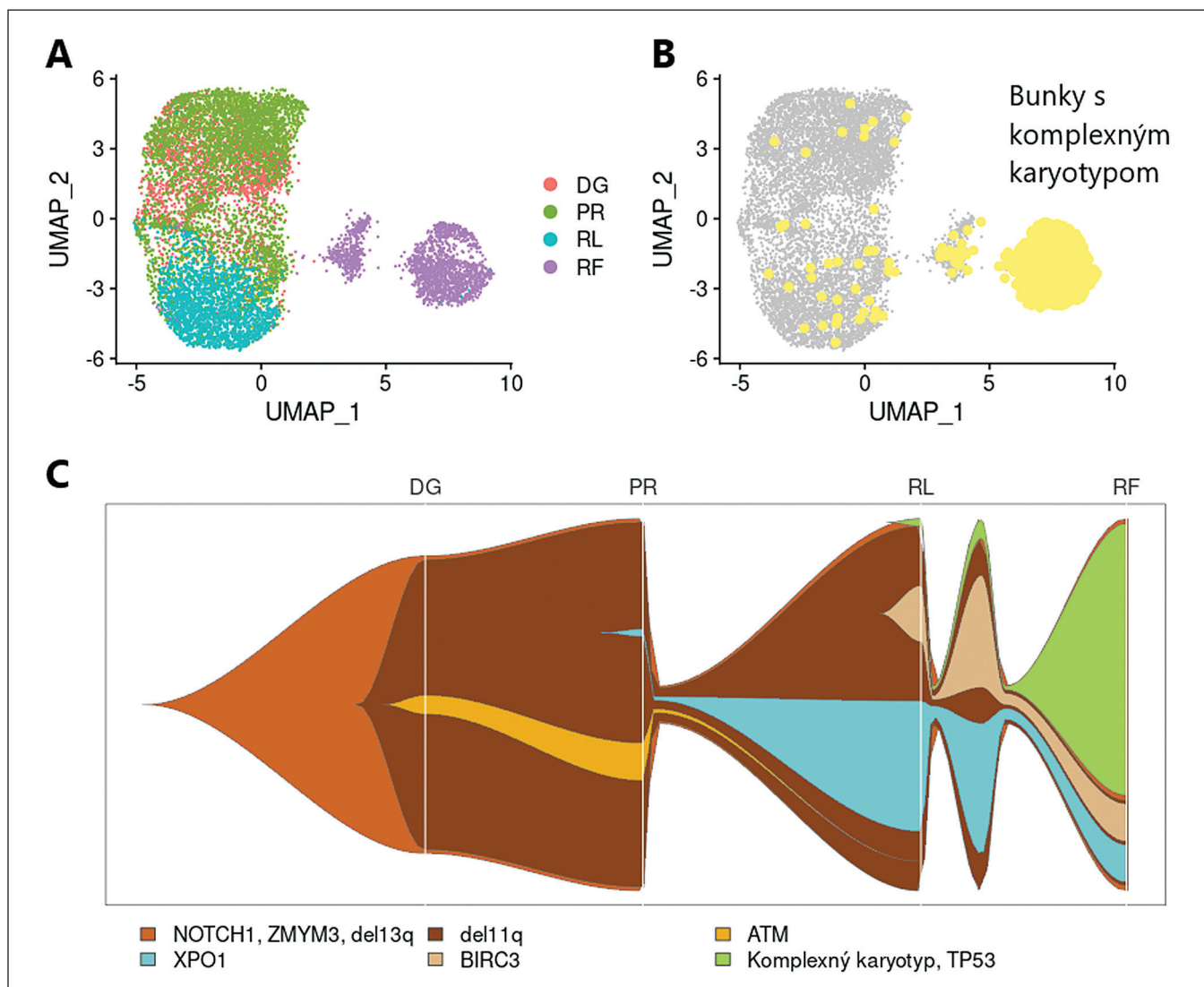
³ Interní hematologická a onkologická klinika LF MU a FN Brno

Úvod a ciele: Chronická lymfocytová leukémia (CLL) je považovaná za nevyliciteľné ochorenie vzhľadom na obmedzenú schopnosť súčasných liečebných postupov úplne vyhubiť leukemické bunky. Opakované recidívy môžu byť zapríčinené expanziou zriedkavých rezistentných buniek pod vplyvom selekčného tlaku terapie. Cieľom štúdie bolo preskúmať možnosti identifikácie a charakterizácie zriedkavých populácií CLL buniek rezistentných na

liečbu spôsobujúcich recidívy a sledovať prítomnosť týchto buniek v priebehu ochorenia pomocou sekvenovania RNA jednotlivých buniek (scRNA-seq).

Metódy: Prostredníctvom metódy scRNA-seq sme analyzovali CLL bunky z periférnej krvi jedného pacienta, pochádzajúce z času diagnózy (DG), progresie (PR), prvého relapsu (RL) a terminálnej refraktérnej fázy (RF), ktorá nastala po niekoľkých terapiách a bola sprevádzaná masívnou lymfadenopatiou. Na odhad aberácií počtu kópií (CNA) zo scRNA-seq dát sme využili nástroj InferCNV. Výsledky CNA sme následne overili prostredníctvom metódy SNP array spolu s NGS sekvenovaním panelu LYNX (PMID: 34082072), ktorý poskytol ďalšie genomické dáta.

Výsledky: scRNA-seq odhalil výraznú zmenu v klonálnej dominancii v RF. Refraktérne bunky vykazovali upreguláciu negatívnych regulátorov apoptózy (*CFLAR*, *BIRC3*, *BCL2*, *YBX3*) a downreguláciu *MS4A1* (kódujúceho terapeutický cieľ CD20), imunoglobulínových génov, *CD19*, *CD79A* a transkripčných faktorov *PAX5* a *TCF3*. Okrem toho RF vzorka pozostávala z dvoch bunkových populácií líšiacich sa prítomnosťou komplexného karyotypu (CK) (obr. 3A, 3B). CK



Obr. 3 A–C. Kurucová T. et al.

obsahoval množství chromozomálních aberací, konkrétně delécie v 1p, monozómiu chromozómu 9 a delécie 12q, 13q a 17p. Hierarchické zhlukovanie priradilo 0,6% PR buniek a 1,3% RL buniek do zhluku s CK.

SNP array a NGS panel LYNX potvrdili prítomnosť viacerých CNA v RF a odhalili prítomnosť delécií 11q a 13q vo všetkých analyzovaných časových bodoch. Avšak delécia 11q pôvodne prítomná v 96% DG buniek bola prítomná iba v 20% RF buniek, čo podporilo hypotézu o zriedkavých rezistentných bunkách, ktoré sa vyseletovali nasledujúcimi terapiami. LYNX navyše odhalil prítomnosť mutácie v génoch *NOTCH1* a *ZMYM3* s narastajúcou frekvenciou variantných alel (VAF) v RF oproti DG. Okrem toho sa v čase objavili nové mutácie v génoch *XPO1*, *TP53*, *BIRC3* a *RB1*.

Záver: Spojením dát z scRNA-seq, SNP array a NGS LYNX panelu sa nám podarilo zrekonštruovať mutačné zloženie bunkových populácií RF vzorky a vysledovať ich prítomnosť v predchádzajúcich odberoch (obr. 3C). Táto štúdia potvrdzuje prítomnosť buniek stojacich za progresiou a agresivitou už v počiatočných štádiách ochorenia.

Podporené MZ-CR AZV NU20-08-00314, MZ-CR RVO 65269705, MUNI/A/1224/2022, NPO-NUVR LX22NPO5102.

P30. POUŽITÍ PLNÉ KRVE DELEUKOTIZOVANÉ PRO UNIVERZÁLNI PODÁNÍ (PKDU) V AKUTNÍ MEDICÍNĚ VE FAKULTNÍ NEMOCNICI OLOMOUC

Entrová A., Sekaninová P., Smital J.

Transfuzní oddělení, FN Olomouc

Úvod: Plná krev deleukotizovaná pro univerzální podání (PKDU) je nový transfuzní přípravek, jehož výroba byla na Transfuzním oddělení Fakultní nemocnice v Olomouci zahájena v březnu 2022. Podání PKDU je indikováno v akutní medicíně u pacientů s masivním nebo život ohrožujícím krvácením.

Metodika: PKDU je získávána od jednoho dárce, kromě erytrocytů a plazmy obsahuje i chlazené trombocyty a koagulační faktory. PKDU pro transfuzi je 0 RhD negativní, fenotyp ccddee kk, s titrem anti-A a anti-B protilátek ≤ 32, expirace přípravku je 14 dnů, objem 450 ml/T.U. ± 10 %. Odběr je prováděn do odběrové soupravy Imuflex WB-SP (Terumo BCT) s integrovaným leukodeplečním filtrem šetřícím trombocyty. PKDU je možno před expirací zpracovat v sekundární výrobě na 1 T.U. erytrocytů resuspendovaných deleukotizovaných (ERD) a nativní plazmu, která je však určena k likvidaci.

Výsledek: Pro použití v akutní medicíně jsou ve FNOL deponovány 2 T.U. PKDU na Oddělení urgentního příjmu. Za období 3/2022–2/2023 bylo na Oddělení urgentního příjmu deponováno 86 T.U. PKDU. Pacientům bylo vydáno 68/86 T.U. (79 %), 18/86 T.U. (21 %) bylo před expirací vráceno zpět na Transfuzní oddělení a následně zpracováno na 1 T.U. erytrocytů resuspendovaných deleukotizovaných (ERD). 7 pacientům byly z vitální indikace mimo PKDU aplikovány i 1–3 T.U.

ERD univerzální krevní skupiny 0 RhD negativní a 1–4 T.U. přípravku Octaplas LG krevní skupiny AB.

PKDU byli aplikovány 38 pacientům. Největší skupinu 13/38 tvořili pacienti s indikací podání PKDU z důvodu život ohrožujícího krvácení v důsledku polytraumatu (účastníci autonehod, srážka chodce s vlakem, pády z výšky). Dva pacienti dostali PKDU z důvodu masivní krevní ztráty při střelném nebo bodném poranění. Pacienti s krvácením do GIT tvořili 32 % (12/38) – (masivní hemoptýza nebo meléna při krvácení z tumoru v oblasti laryngu, krvácení z jícnových varixů, z ulcerace bulby duodena). U 2/38 pacientek byla důvodem podání PKDU hemoragická komplikace s rozvojem šokového stavu v souvislosti s porodem. Dalším důvodem aplikace PKDU byla ruptura aneurysmatu aorty, ruptura sleziny, krvácení jako komplikace chirurgických výkonů, komplikace neurochirurgického ošetření AV malformace.

Závěr: Plná krev deleukotizovaná pro univerzální podání se v průběhu roku stala nedílnou součástí hemoterapie aplikované v akutní medicíně ve Fakultní nemocnici v Olomouci. Úspěšná etablace PKDU umožní v nejbližších měsících ve spolupráci se Zdravotnickou záchrannou službou Olomouckého kraje zavedení PKDU i do přednemocniční hemoterapie.

P31. VÝSKYT A VÝZNAM ANTIERYTROCYTÁRNÍCH PROTILÁTEK-STUDIE 2018–2022

Nedomová R., Jahnová H., Krátká L., Langerová J., Černá M.

OLM, laboratoř klinické hematologie a krevní banky, Nemocnice AGEL Prostějov

Úvod: Laboratoř klinické hematologie a krevní banky Nemocnice AGEL Prostějov zajišťuje běžná imunohepatologická vyšetření: vyšetření a ověření krevní skupiny, screening antierytrocytárních protilátek, vyšetření přímého antiglobulinového testu, předtransfuzní vyšetření vč. testů kompatibility u dospělých pacientů i novorozenců. Vyšetření jsou prováděna sloupcovou aglutinací na gelových kartách automatizovaně nebo manuální technikou. V případě pozitivního screeningu nepravidelných antierytrocytárních protilátek u příjemce jsou nálezy odesílány k přešetření na pracoviště vyššího typu. Transfuzní oddělení Fakultní nemocnice Olomouc zjišťuje specifitu protilátek, uvádí doporučení k hemoterapii, případně provádí testy slučitelnosti pro naše pacienty s komplikovaným nálezem.

Cíl: Cílem naší studie bylo stanovit počet vyšetření s prokázaným pozitivním screenem antierytrocytárních protilátek v našem souboru pacientů za období 2018–2022. Každoročně byly vyhodnoceny pozitivní nálezy a stanoveny protilátky s nejvyšší frekvencí výskytu.

Metoda: Vyšetření bylo prováděno ze vzorku periferní krve odebrané do zkumavky s K3EDTA. Základní imunohepatologické vyšetření screening antierytrocytárních protilátek bylo provedeno metodou sloupcové aglutinace na DG Gel systému (Grifols). Mimo

manuální techniku se dříve využívalo automatizované stanovení na analyzátoru Wadiana (Grifols), od roku 2021 pak na analyzátoru Erytra Eflexis (Grifols). Pozitivní nálezy byly přešetřeny pracovištěm vyššího typu Transfuzní oddělení Fakultní nemocnice Olomouc.

Výsledky: V letech 2018–2022 jsme provedli celkem 11 425 vyšetření screeningu antierytrocytárních protilátek. Prokázali jsme pozitivitu u 580 nálezů (5,1 %), z toho u 407 žen (70,2 %) a 173 mužů (29,8 %). Přešetření zachytilo nejčastěji nespecifické protilátky (26 %). Specifické aloprotilátky pocházely nejčastěji z Rh systému: protilátky anti-D (17 %) a anti-E (10 %). Dále byly nalezeny protilátky anti-Le(a) (3,3 %), anti-K (2,9 %), anti-M (2,1 %). Nejčastější kombinace protilátek tvoří aloprotilátky Rh systému. U 24 pacientů nebyla nalezena při konfirmaci žádná protilátka (4,1 %). Další protilátkové nálezy nebo jejich vzájemná kombinace byla statisticky nesignifikantní.

Závěr: Ze studie našeho souboru vyplývá, že nejčastější jsou nespecifické antierytrocytární protilátky, pak anti-D, anti-E, anti-Le(a), anti-K, anti-M. Na krevní bance jsou standardně transfuzní přípravky (TP) typované pro systémy ABO, Rh a Kell. Krevní banka ne vždy disponuje zásobou adekvátních TP pro příjemce dle doporučení k hemoterapii, proto je velmi zásadní úzká spolupráce s pracovišti, která dle stanoveného protilátkového nálezu přípravky připraví, v našem případě většinou Transfuzní oddělení FN Olomouc. Krevní banka Nemocnice AGEL Prostějov disponuje metodikami pro sice základní, ale stěžejní imunohematologická vyšetření a ve spolupráci s pracovišti vyššího typu je schopna zabezpečit TP i pro pacienty s komplikovaným fenotypem. Správně provedené předtransfuzní vyšetření a vyhodnocení protilátkového nálezu má pro pacienty mimořádný klinický význam.

P32. ZAJÍMAVÉ IMUNOHEMATOLOGICKÉ NÁLEZY NA TRANSFUZNÍM ODDĚLENÍ FNOL – VYBRANÉ KAZUISTIKY

Šianská J., Holusková I., Galuszková D.

Transfuzní oddělení, FN Olomouc

Úvod: Transfuzní oddělení FN Olomouc (TO FNOL) zajišťuje základní i speciální imunohematologická vyšetření nejen pro pacienty FNOL, ale rovněž pro celý region střední Moravy a některých dalších vybraných zdravotnických zařízení. Cílem práce je prostřednictvím uvedených kazuistik seznámit posluchače se složitějšími nálezy, se kterými se mohou v rámci imunohematologických vyšetření setkat, a v některých případech rovněž přiblížit náročnost zajištění kompatibilních transfuzních přípravků (TP).

Metody: Jako materiál slouží krevní vzorek odebraný do zkumavky s K3EDTA. Základní imunohematologická vyšetření krevní skupiny v ABO RhD a screeningu antierytrocytárních protilátek jsou rutinně prováděna metodou sloupcové aglutinace na analyzátoru IH-500 System nebo IH-1000 System f. BioRad. K dalším sérologickým vyšetřením, která jsou prováděna manuálně, jsou používána diagnostika f. BioRad, Grifols, Immucor či Sanquin.

Výsledky:

Kazuistiky:

1. Chlapec, nar. 07/2023, ze vzorku pupečnickové krve určena krevní skupina A RhD negativní a PAT pozitivní 4+, v rámci přešetření hemolytického onemocnění novorozence u matky prokázána protilátka anti-Wr(a), novorozenec má fenotyp Wr(a)+ (četnost antigenu v populaci je asi 0,01 %).
2. Muž, nar. 1932, na TO FNOL poprvé vyšetřen v r. 2005 dg. AIHA, v r. 2019 dg. MDS a následná pravidelná substituce erytrocytárními TP dle fenotypu ..D.ee kk Wr(a-) Kp(a-) Le(a-) Jk(b-), na TO 17 vhodných dárců.
3. Žena, nar. 1938, na TO FNOL poprvé vyšetřena v r. 2011, postupně vytvořena směs pěti aloprotilátek. Minimalizace aplikace TP, erytrocytární TP podávat dle fenotypu ..D.ee kk Cw- ss Fy(a-) Jk(b-), na TO 22 vhodných dárců.
4. Žena, nar. 1945, v r. 2006 transplantace ledviny, vzácný fenotyp ee kk Cw- SS Jk(a+b-), postupně vytvořena směs tří aloprotilátek. Na TO nyní 13 vhodných dárců.
5. Žena, nar. 1940, 02/2023 zjištěna směs čtyř aloprotilátek. Vzácný fenotyp ee kk NN, Jk(b-), obtížné zajištění kompatibilních TP, na TO 16 vhodných dárců.

Závěr: Vybrané kazuistiky prezentují spektrum komplikovaných imunohematologických nálezů, se kterými se na našem oddělení setkáváme. Přestože TO disponuje širokou dárcovskou základnou a pravidelně provádíme typování dárců krve v různých antigenních systémech, zajištění optimální hemoterapie pro tyto pacienty není vždy snadné, a proto je v některých případech nezbytná spolupráce s okolními transfuzními pracovišti.

P33. NOVINKY MOLEKULÁRNÍ DIAGNOSTIKY V TRANSFUZNÍM LÉKAŘSTVÍ

Papoušek P.¹, Kracík M.², Dolinová I.², Procházková R.^{1,3}

¹ Transfuzní oddělení, Krajská nemocnice Liberec, a.s.

² Oddělení genetiky a molekulární diagnostiky, Krajská nemocnice Liberec, a.s.

³ Fakulta zdravotnických studií, Technická univerzita v Liberci

Úvod: Cílem tohoto sdělení je shrnout aktuálně dostupné technologie vyšetřování genotypu erytrocytárních antigenů a jejich výhody. Tyto technologie se rutinně používají u pacientů transfundovaných v posledních 3 měsících, u pacientů s pozitivním přímým antiglobulinovým testem, při identifikaci neznámých protilátek, v těhotenství pro prevenci hemolytického onemocnění plodu a novorozence a u dárců krve.

Metody: SSP PCR (sekvenčně specifické primery): používají se primery komplementární k vyšetřovaným alelám. Amplifikované fragmenty DNA je detekované elektroforézou.

RT PCR (quantitative real-time): kromě primerů jsou do reakce přidávány další oligonukleotidy (probe), které nasedají na amplifikovaný úsek DNA v jiném místě než primery. Při elongaci produktu se fluorescenční sonda uvolní do roztoku, je měřena fluorescence úměrná množství syntetizovaného PCR produktu.

Luminex technology (xMAP®): DNA je amplifikována a označena biotinem v rámci vícenásobné PCR. Denaturované produkty PCR se hybridizují s oligonukleotidovými sondami spojené s mikrokuličkami. Hybridizovaná DNA je značena fluorescenčním konjugátem a výsledný signál je detekován.

DNA čip (microarray): DNA je amplifikována, fragmentovaná a obarvené produkty jsou naneseny na povrch sklíčka pro hybridizaci. Navázaná DNA je detekovaná jako fluorescence. Ve vývoji jsou čipy umožňující detekci 800 tisíc variant DNA a vaky s transfuzními přípravky budou moci být označeny fenotypem predikovaným na základě výsledku z čipu.

Sekvenování nové generace (next generation sequencing, NGS) představuje paralelní sekvenování až tisíců molekul DNA současně. Vyšetřovaná DNA je nejdříve fragmentovaná na úseky dlouhé několik set bazí. Ty se následně spojí s adaptéry (oligonukleotidy). Tyto celé fragmenty jsou odděleně amplifikovány pomocí PCR a v dalším kroku paralelně sekvenovány.

Long read next generation sequencing (single molecule sequencing, sekvenování třetí generace) využívá fluorescenčně značené nukleotidy, které jsou inkorporovány během polymerace, nebo jednovláknová DNA prochází membránou s proteinovými nanopóry, kdy dochází k detekci elektrického proudu. Obě tyto metody umožňují sekvenaci delších úseků DNA než NGS.

Hmotnostní spektrometrie s laserovou desorpcí a ionizací za účasti matrice s průletovým analyzátozem (*Matrix assisted laser desorption/ionisation, time-of-flight mass spectrometry, MALDI-TOF MS*). Laser excituje matrix, která ionizuje fragment DNA umístěný na matrix. Ionizovaný fragment DNA je vytržen z matrice a urychlen silným elektrickým polem a vstupuje do vakua detektoru (hmotnostní analyzátor doby letu). Výsledkem jsou specifická hmotnostní spektra.

Výsledky: V našem prostředí se nejvíce používají technologie SSP PCR a RT PCR. Vysoce specializovaná pracoviště využívají sofistikovanější technologie Luminex a DNA čipů.

Závěr: Současné technologie molekulární biologie umožňují obecně přesnější cílenou analýzu genů erytrocytárních antigenů nebo celogenomovou analýzu velkého množství dárců a pacientů. Další rozšiřování těchto metod povede ke zvýšení bezpečnosti hemoterapie.

P34. PRVNÍ AUTOMATICKÉ ZPRACOVÁNÍ PLNÉ KRVY V ČESKÉ REPUBLICE NA PŘÍSTROJÍCH REVEOS

Vymětalová R., Sekaninová P., Skotáková A., Kubišová K., Entrová A., Galuszková D.

Transfuzní oddělení FN Olomouc

V 2022 byly na transfuzní oddělení FN Olomouc instalovány tři nové přístroje Reveos, které v jednom kroku zvládnou jak centrifugaci plné krve (PK), tak separaci transfuzních přípravků vč. výroby trombocytů. Odběry PK provádíme do soupravy vaků jak bez filtru, tak s filtrem.

Před vlastním vložením PK do přístroje si obsluha vybere požadovaný typ zpracování dle předem nastavených protokolů.

Výsledkem zpracování jsou erytrocyty, plazma, reziduální buffy coat a trombocyty, pokud byly požadovány. Ty se dále mohou využít k výrobě směsných trombocytů (TBSDR) pouhým smísením, takže odpadá mnoho pracných manuálních úkonů. Přístroj Reveos vždy navíc zobrazuje odhadovaný počet trombocytů v přípravku, což s výhodou využíváme při výrobě TBSDR. Výsledkem je pak standardně vysoký obsah trombocytů v terapeutické dávce.

V listopadu 2022 po zkušebním provozu byla zahájena validace výroby TP. U každého protokolu bylo zkontrolováno 30 odběrů PK, celkem 240 odběrů. Všechny kontrolované parametry vyhověly, mají vysokou standardní kvalitu. Přístroje byly propuštěny do rutinního provozu.

Zavedením zpracování PK pomocí přístrojů Reveos jsme museli kompletně přeorganizovat výrobu TP, zbavili jsme se mnoha dílčích činností a díky této technologii se výroba TP výrazně zefektivnila.

Zveme vás na workshop, který by se uskutečnil v pátek dne 26. května 2023 odpoledne na našem transfuzním oddělení FN Olomouc v přítomnosti zástupce firmy Terumo BCT, hodina bude upřesněna.



Obr. 4. Vymětalová R. et al.

P35. STANOVENÍ REFERENČNÍCH MEZÍ SEDIMENTACE ERYTROCYTŮ POMOCÍ ANALYZÁTORU ALCOR ISED

Ryšková B.

Hematologie, Krevní centrum s.r.o., Frýdek-Místek

Úvod: Analyzátor rychlosti sedimentace erytrocytů ALCOR iSED je automatizovaný analyzátor, který používá pokročilé technologie reologie k měření nejranější a nejkritičtější fáze sedimentace erytrocytů, která se nazývá formace Rouleaux. Inovace spočívá v „přímém“ měření agregace červených krvinek, zatímco tradiční sedimentace erytrocytů měří „nepřímou“ agregaci červených krvinek zaznamenáním doby,

ve které se červené krvinky usazují ve Westergren trubici. Referenční meze analyzátoru, které uvádí výrobce (USA), jsou pouze orientační, proto jsme byli nuceni si stanovit své referenční meze v laboratoři.

Cíl: Stanovení referenčních mezí sedimentace erytrocytů, které jsou měřeny pomocí analyzátoru ALCOR iSED.

Metody: Metoda měření sedimentace erytrocytů je založena na principu fotometrické reoskopie. Stanovuje se přímým měřením raná a nejvíce kritická fáze sedimentace erytrocytů, které jsou nazývány Rouleauxovy formace. Tyto formace nakonec určují délku, po kterou budou červené krvinky sedimentovat ve Westergrenově trubici.

Analyzátor využívá vzorky přímo z primární zkumavky na odběr krve 13 × 75 mm, EDTA. Vzorky se vkládají do kruhového podavače, maximální kapacita podavače je 20 vzorků, lze vložit jen 1 vzorek a průběžně přidávat. Míchání vzorků se provádí na začátku analýzy pomocí kruhového podavače po dobu 3 min (promíchání 180×), první výsledek je vydán za 3 min, každý další za 20 s. Jakmile jsou vzorky promíchány, dojde k nasátí 100 µl vzorku do mikroprůtokové kyvety, kde se pomocí detektoru měří agregace erytrocytů v čase. Vytvoří se signál, který je přímou reprezentací agregace. Výsledky jsou udávány v mm/h. Díky přímému měření sedimentace erytrocytů jsou výsledky méně ovlivněny hematokritem.

Rejstřík

A			
Adam Z.		S9	
Alexová Žůrková K.		S71	
Almáši M.		S66	
Alquézar Artieda N.		S69	
B			
Bábelová A.		S43	
Bačovský J.		S66	
Bachanová V.		S16	
Balcárková J.		S66, S70	
Balcarová V.		S44, S50	
Bátorová A.		S38, S43, S47	
Běhálek M.		S57	
Belada D.		S30, S36	
Beličková M.		S58, S69	
Bělohávková P.		S44, S45, S50, S61, S70	
Benešová K.		S28	
Bergerová V.		S37	
Bohúnová M.		S48	
Bojtárová E.		S38	
Borský M.		S25, S45	
Bourková L.		S51	
Brown J. R.		S53	
Brožinová I.		S58	
Buffa D.		S45	
Bulíková A.		S51	
Burda P.		S43	
Buriánková E.		S62	
C			
Campr V.		S51	
Cerovská E.		S58	
Cigánková P.		S28	
Cmunt E.		S44, S45, S50	
Č			
Čechová E.		S58	
Čermák J.		S7, S32, S69	
Čermák M.		S60	
Černá M.		S75	
Černá O.		S44, S45	
Čerňan M.		S22, S23, S58, S59, S61	
Červinek L.		S40	
Čičátková P.		S45, S50	
Čuřík N.		S43	
D			
Dekojoyová T.		S37	
Demel I.		S49	
Demitrovičová L.		S38, S43	
Demlová R.		S45	
Divoká M.		S28	
Doleží V.		S65	
Dolinová I.		S76	
Dostálová L.		S66	
Dostálová Merkerová M.		S69	
Doubek M.		S25, S48, S74	
Drgoňa Ľ.		S43	
Drncová M.		S54	
Džubák P.		S67	
Ď			
Ďuraš J.		S30	
E			
Écsiová D.		S19, S64	
Entrová A.		S75, S77	
F			
Faber E.		S44, S45, S50, S56	
Farkaš F.		S38	
Feglarová T.		S73	
Flodr P.		S64, S67	
Folber F.		S30, S36	
Folta A.		S25, S45, S54, S59	
Formánek R.		S64	
Forsterová K.		S28	
Frič J.		S73	
Froňková E.		S25, S28	
G			
Gabriel P.		S71	
Gahérová L.		S63	
Gajdoš P.		S53, S55, S57	
Galuszková D.		S41, S76, S77	
Grohmann J.		S62, S64	
H			
Hainz P.		S39	
Hájek R.		S49	
Halamová H.		S25	
Hanáčková V.		S62, S64	
Hatalová A.		S38, S43, S47	
Havel J.		S66	
Havránek O.		S27	
Heinzová V.		S49	
Heřman V.		S27	
Heřmanová I.		S69	
Hikkel I.		S60	
Hložková K.		S56, S69	
Hluší A.		S6, S41	
Hofmannová V.		S61	
Hochhaus A.		S43	

Holub D.	S67	Kotašková J.	S48, S74
Holusková I.	S41, S76	Kovaříková P.	S28
Holzerová M.	S70	Kozák T.	S27, S63
Horáček J.	S25, S70	Kracík M.	S76
Horáková J.	S38	Krátká L.	S75
Horňák T.	S45, S50	Kredátusová A.	S63
Horváthová D.	S38	Krejčík Z.	S69
Horváthová M.	S32	Krhovská P.	S66
Hrabětová M.	S37, S38	Kriegová E.	S28, S35, S53, S55–S57, S63, S64, S71
Hrabovský Š.	S25	Kroutilová M.	S71
Hrbčková L.	S56	Kryštofová J.	S39
Hrušková A.	S28	Křenová Z.	S28
Hruštinová A.	S69	Křížková J.	S43
		Kubová Z.	S55
CH		Kubišová K.	S77
Chrbolková T.	S27	Kudělka M.	S56
		Kulišková M.	S73
J		Kundrát D.	S69
Jahnová H.	S75	Kupsa T.	S70
Jakič K.	S43	Kurfürstová D.	S64
Janoušková K.	S69	Kuručová T.	S74
Janská B.	S71	Kvetková A.	S25, S45, S48, S50, S59
Janstová L.	S73		
Jarošová M.	S25	L	
Jebavý L.	S70	Labská K.	S71
Jedlička M.	S73	Labudíková M.	S58
Ježíšková I.	S25, S45, S48, S54, S59	Lachnit M.	S49
Jindra P.	S24, S35, S37, S38, S45, S67	Langerová J.	S75
Jonášová A.	S56, S69	Lázníčka A.	S43
Jungová A.	S35, S37, S67	Lukáš J.	S38
Juráňová J.	S64	Lukášová M.	S63
Jurček T.	S45	Lysák D.	S37, S38, S67
Jurková T.	S44, S50		
		M	
K		Macková J.	S39
Kabíčková E.	S28	Maco M.	S27, S63
Kabut T.	S59, S62	Macurová J.	S49
Kalinová M.	S28, S63	Machová R.	S70
Kamarádová K.	S19	Machová Poláková K.	S25, S43, S45
Karas M.	S37, S38, S44, S45, S50	Maláriková D.	S28
Karban J.	S52	Maňáková J.	S28, S55, S57, S71
Kasalová N.	S66	Manukyan G.	S35
Kašková V.	S55	Marečková A.	S48
Kaštánková I.	S73	Marinov I.	S58, S61
Kaščák M.	S33	Marková J.	S63
Kašparová P.	S19	Martinka J.	S38
Kazimírová P.	S71	Mašínová E.	S73
Kissová J.	S51	Matalová P.	S40
Klamová H.	S44, S45, S50, S52	Mayer J.	S25, S44, S45, S48, S50, S54, S59
Klemešová I.	S54, S59	Mazancová P.	S43
Klener P.	S28	Mihályová J.	S36
Klučková D.	S60	Michálek J.	S67
Kodet R.	S28	Mikulénková D.	S51, S52
Kolárik M.	S56	Mikulková Z.	S35
Kolenová A.	S28	Mikušková E.	S38, S43
Kořístek Z.	S23		

Minařík J.	S35, S53, S56, S57, S66, S67	Procházka T.	S37
Mistrík M.	S38	Procházka V.	S17, S62–S64
Mitrovský O.	S43	Procházková J.	S6, S25, S41, S45, S50, S59
Mlynářčiková M.	S66, S70	Procházková R.	S76
Mócičková H.	S27, S30, S63	Prosková V.	S61
Mohammadová L.	S35	Prouzová Z.	S28, S63
Moráň L.	S66	Prudková M.	S68
Mottlová V.	S51	Pytlík R.	S30, S36
Mrhalová M.	S28, S63		
Mrkvová Z.	S25, S59	R	
Mucha M.	S73	Radová A.	S70
Musil J.	S71	Radvanský M.	S56
Myslivcová D.	S43	Rajmonová A.	S27
		Rázga F.	S43
N		Réblová K.	S74
Nádeníková M.	S73	Remešová H.	S58
Navrátilová J.	S59	Roubalová K.	S39
Navrátilová M.	S67	Rychlá J.	S73
Navrkalová V.	S74	Rychlíčková J.	S45
Nedomová R.	S75	Ryšková B.	S77
Němečková Š.	S39, S71		
Némethová V.	S43	Ř	
Nesnadná R.	S35, S53	Řezníčková L.	S28
Novák J.	S23		
		S	
O		Savara J.	S35, S53, S55, S57, S71
Obr A.	S28, S30	Sekaninová P.	S75, S77
Ondečková I.	S27	Semerád L.	S25, S45, S50, S59
Oravcová I.	S43	Semerák P.	S43
		Seňavová J.	S27
P		Skotáková A.	S77
Panovská A.	S19	Skotnicová A.	S28
Papajík T.	S20, S28, S35, S45, S53, S55–S58, S61–S64, S66, S70	Skoumalová I.	S45
Papoušek P.	S76	Skraková M.	S38
Pečinka L.	S66	Slavík L.	S41
Pecherková P.	S25, S73	Slezáková K.	S38, S43
Pešek A.	S61	Smetana K.	S52
Petráčková A.	S28, S35, S53, S65	Smital J.	S75
Petráčková L.	S71	Smolej L.	S19, S30, S64
Petráčková M.	S73	Sopko L.	S38, S47
Pika T.	S33, S35, S66, S67	Sopkovičová M.	S60
Pikalová Z.	S64	Sotáková S.	S56
Plevová K.	S74	Srbová D.	S45
Podstavková N.	S25, S48, S59	Starková J.	S56, S69
Pokorná E.	S43	Stefflová L.	S58
Polák P.	S25, S68	Steinerová K.	S30, S37, S38
Polášková E.	S58	Stejskal L.	S35, S44, S45, S49, S50
Polgárová K.	S30, S36	Stopka T.	S56
Polívková V.	S25, S43, S73	Suchánková P.	S43
Porc J.	S74	Suk Š.	S67
Pospíšilová D.	S32, S71	Svatoň M.	S28
Pospíšilová Š.	S74	Svobodník A.	S45
Potůčková E.	S56	Sýkorová A.	S30, S63
Poturnayová A.	S43	Szabová J.	S73
Pour L.	S66	Szotkowski T.	S22, S36, S58, S59, S61

Š			
Šablauskas K.	S55	Válka J.	S23
Šafránková E.	S61	Vaňhara P.	S66
Šafrhansová L.	S69	Vasytkivska M.	S56
Šálek C.	S25, S45, S58	Vašínek M.	S57
Ščudla V.	S66	Vatolíková M.	S28, S62, S64
Šelc M.	S43	Víšek B.	S23
Ševčíková S.	S66	Vlachová M.	S66
Šianská J.	S76	Vodárek P.	S19, S64
Šimkovič M.	S19, S64	Voglová J.	S45
Špaček M.	S19	Voldřich J.	S25, S59
Šrámek J.	S23, S36–S38	Vozobulová V.	S35
Šrámková L.	S36	Vráblová L.	S56, S58
Šroller V.	S73	Vrzalová Z.	S25
Štajer M.	S70	Vydra J.	S39
Šťastná Marková M.	S39	Vymětalová R.	S77
Štěpánková P.	S63	Vytisková S.	S51
Štěpánová R.	S45		
Štika J.	S25	W	
Štork M.	S66	Weinbergerová B.	S25, S45, S48, S54, S59
Švubová V.	S73	Wiewiorka O.	S45
		Wojewodová K.	S53
T			
Téglášová B.	S43	Z	
Tennant D.	S56, S69	Zalibera A.	S61
Tichý B.	S74	Závacká K.	S74
Trka J.	S25, S56, S69	Zavřelová J.	S68
Trněný M.	S15, S28, S30, S52	Zemanová Z.	S28, S56
Trsová I.	S69	Zobalová D.	S58
Turcsányi P.	S20, S55	Zuchnická J.	S49
		Zuna J.	S25
		Zvárová E.	S55
		Zwyrtková M.	S56
U			
Uhelská L.	S43	Ž	
Úlehlová J.	S41	Žáčková D.	S44, S45, S50
Urbánková H.	S28, S62, S64, S66, S70	Žáčková M.	S43
Urbanová R.	S20	Žák P.	S5, S45, S70
		Žaliová M.	S25, S56
V		Žižková H.	S45, S73
Vaculová G.	S61		
Vališová M.	S74		

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

ZA ČESKOU HEMATOLOGICKOU SPOLEČNOST

doc. MUDr. Luboš 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

doc. MUDr. Peter Rohoň, Ph.D.
Klinika hematologie a transfúziologie, Univerzitná
nemocnica Bratislava Ústav biologie LF UP v Olomouci

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

ZA ČESKOU SPOLEČNOST PRO TROMBÓZU A HEMOSTÁZU

doc. MUDr. Petr Dulíček, Ph.D.
IV. interní hematologická klinika FN Hradec
Králové

MUDr. Jaromír Gumulec
Klinika hematoonkologie FN Ostrava

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. Martin Písačka
Ústav hematologie a krevní transfuze,
Praha

MUDr. Vít Řeháček
Transfuzní oddělení, FN Hradec Králové

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

ZA ČESKOU HEMATOLOGICKOU SPOLEČNOST

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

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

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

ZA SPOLEČNOST PRO TROMBÓZU A HEMOSTÁZU

doc. MUDr. Tomáš Kvasnička, CSc.
Ústav lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky,
VFN v Praze

prof. MUDr. Miroslav Penka, CSc.
Oddělení klinické hematologie, FN Brno

© Česká lékařská společnost J. E. Purkyně, Praha 2023

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 poskytují 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 17. 5. 2023



SEZNAMTE SE S GARANTY ODBORNÝCH SEKČÍ

Lymfomy



prof. MUDr. Marek Trněný, CSc.

CLL



prof. MUDr. Michael Doubek, Ph.D.

Akutní leukémie Myelodysplastický syndrom



doc. MUDr. Anna Jonášová, Ph.D.

Myelom



prof. MUDr. Roman Hájek, CSc.

Myeloproliferativní onemocnění



prof. MUDr. Edgar Faber, CSc.

Podpůrná terapie a paliativní péče



prof. MUDr. Pavel Žák, Ph.D.

Trombóza a hemostáza



prof. MUDr. Miroslav Penka, CSc.

Anémie, cytopenie a vzácné choroby

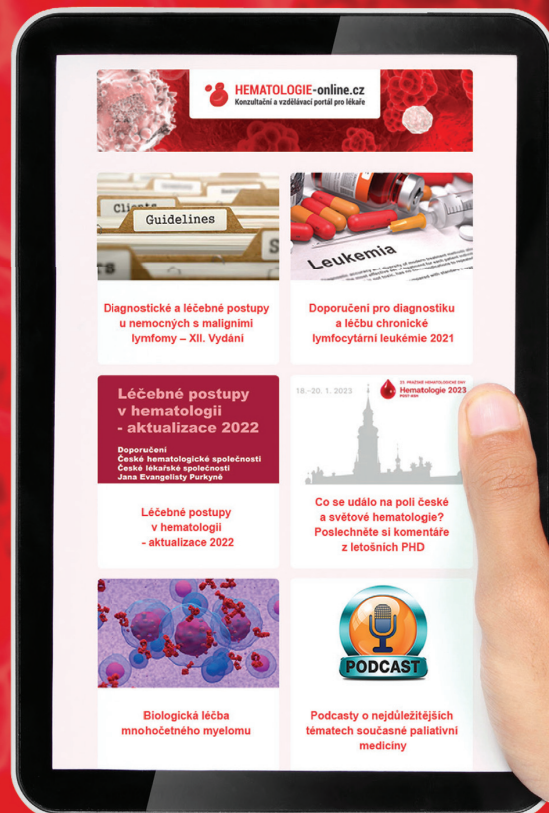


prof. MUDr. Tomáš Kozák, Ph.D.

NA ROZHODOVÁNÍ O TERAPII SVÝCH PACIENTŮ NEJSTE SAMI

- ✓ Konzultujte **ANONYMNĚ** postup terapie u Vašeho pacienta
- ✓ Reakce kolegia zašleme na Váš **E-MAIL**
- ✓ **ODBORNÉ KOLEGIUM** je tu pro Vás a dotazy zodpovídá **OBRATEM**
- ✓ **25členné** ODBORNÉ KOLEGIUM
- ✓ Konzultované případy publikujeme na webu pro účely **EDUKACE**
- ✓ Přinášíme novinky **Z OBORU** - guidelines, kazuistiky, přednášky, články, podcasty

OBJEVTE AKREDITOVANÝ CYKLUS KAZUISTIK



JAK SE DOZVÍTE, CO JE NOVÉHO?

- ▶ Registrujte se k odběru novinek na www.hematologie-online.cz
- ▶ Jsme na Twitteru. Sledujte nás: twitter.com/hematologie-online
- ▶ Rychlý přístup umožňuje přidání ikony webu na plochu mobilu či PC

REAKCE LÉKAŘŮ

„Velice oceňuji tuto možnost dalších názorů na konkrétní případ a hlavně rychlost získání dalších doporučení...po telefonu by to trvalo déle v rámci vytíženosti všech.“

„Děkuji za možnost poradit se! Když nenajdu odpověď v knížkách, kde bych ji očekával, je osobní pozornost a čas opravdových odborníků opravdovou spásou.“



SAVE THE DATE:

SRDEČNĚ VÁS ZVEME NA

**XXXVI. OLOMOUCKÉ
HEMATOLOGICKÉ DNY**

XXVI. KONFERENCE OŠETŘOVATELSTVÍ
A ZDRAVOTNÍCH LABORANTŮ

15TH SYMPOSIUM ON ADVANCES
IN MOLECULAR HEMATOLOGY

TERMÍN:

22. – 24. 5. 2024

NH COLLECTION OLOMOUC CONGRESS