

Ohlédnutí za čtvrtstoletím léčby chronické lymfocytární leukemie

Papajík T., Urbanová R., Turcsányi P.

Hemato-onkologická klinika FNOL a LF UP v FN Olomouci

Transfuze Hematol. dnes, 25, 2019, No. 1, p. 72–80

SOUHRN

Nárůst poznatků o buněčné povaze, patogenezi a genetických změnách chronické lymfocytární leukemie (CLL) spolu s novými možnostmi terapie purinovými analogy a monoklonálními protilátkami v 90. letech minulého století vedly k dalšímu zvýšení zájmu o výzkum této chorobné jednotky. Dosažené poznatky z počátku tohoto století významně pomohly ve vývoji nových cílených léků, které se dnes stávají páteří léčby CLL a zásadním způsobem budou měnit terapeutické algoritmy v budoucích několika příštích letech. Pro většinu pacientů bude zřejmě optimální léčebná strategie založena na režimech bez použití cytostatik. Při kombinaci či sekvenční aplikaci monoklonálních protilátek a cílených molekul se můžeme v blízké budoucnosti dočkat kurabilního efektu takto vedené terapie u významného počtu pacientů s CLL.

KLÍČOVÁ SLOVA

chronická lymfocytární leukemie – chemoterapie – monoklonální protilátky – cílená léčba – inhibitory buněčných drah

SUMMARY

Papajík T., Urbanová R., Turcsányi P.

Evolution of chronic lymphocytic leukemia treatment over the past 25 years

Advances in understanding the cell origin, pathogenesis, genetic and molecular biology together with introduction of novel agents – purine nucleoside analogues and monoclonal antibodies – led to dynamic changes in the field of chronic lymphocytic leukaemia (CLL) in the 1990s. In the 2000s and 2010s, important biological insights helped develop small targeted drugs that now form the backbone of CLL therapy and will dramatically change therapeutic algorithms in the near future. Modern treatment approaches will most probably be chemotherapy-free for a majority of CLL patients. Optimal combination or sequencing of monoclonal antibodies and targeted molecules may cure a substantial proportion of CLL patients in the next years.

KEY WORDS

chronic lymphocytic leukaemia – chemotherapy – monoclonal antibodies – targeted therapy – pathways inhibitors

ÚVOD

Chronická lymfocytární leukemie (CLL) je bezesporu nejfrekvencovanější z leukemií, se kterou se hematolog ve své praxi setkává. Na onemocnění, historicky považované za indolentní, bylo v minulosti nezdědka pohlíženo jako na biologicky a klinicky nepřilíš zajímavou jednotku. Také omezené možnosti veskrze paliativní léčby, která nedokázala ovlivnit průběh onemocnění v pokročilých stadiích a v terminálních fázích aktivního onemocnění, vedly dříve lékaře k defenzivnímu přístupu k pacientům a roli spíše mlčenlivého pozorovatele vývoje choroby [1]. Teprve obrovský nárůst poznatků o buněčné povaze, patofyziologii a genetických změnách CLL spolu

s novými možnostmi terapie purinovými analogy a monoklonálními protilátkami na přelomu století vedly k výraznému nárůstu zájmu o tuto chorobnou jednotku jak mezi experimentálními výzkumníky, tak i klinickými hematoonkology. Tento dynamický vývoj dále akceleroval v posledních desíti letech, kdy díky moderním metodám výzkumu byla detailněji pochopena patogeneze onemocnění a biologické děje v leukemických buňkách a jejich interakce s mikroprostředím krvetvorné a lymfatické tkáně. Dosažené poznatky ve svém důsledku vedly k expanzi ve vývoji nových cílených léků, které se dnes stávají páteří léčby CLL a zásadním způsobem budou měnit terapeutické algoritmy v budoucích několika příštích letech [2].

ČASNÁ HISTORIE LÉČBY CLL: OD RADIOTERAPIE A KORTIKOSTEROIDŮ K POUŽITÍ ALKYLAČNÍCH LÁTEK A PURINOVÝCH ANALOG

Za zásadní průkopnickou práci, která popsala klinické charakteristiky souboru pacientů s CLL a možnosti léčebného ovlivnění průběhu choroby pomocí ozařování, je považován článek Minota a Isaacse z roku 1924 [3]. Ti u 50 pacientů použili radioterapii na zvětšené lymfatické uzliny a slezinu, 30 dalších pacientů pouze sledovali. Autoři zaznamenali, že přežití obou skupin nemocných nebylo zásadně rozdílné, i když u některých pacientů radioterapie zmírnila některé symptomy choroby. Následné výzkumy jejich pozorování potvrdily, a také práce publikované v druhé polovině dvacátého století prokázaly jen paliativní efekt radioterapie u nemocných s CLL (aplikace ^{32}P , celotělové ozařování, radioterapie cílená na thymus či extrakorporální ozáření pacientovy krve) [4].

První systematicky podávanou terapií pro pacienty s CLL byla aplikace kortikosteroidů/glukokortikoidů, která do léčby vstoupila v průběhu 40. let minulého století [5, 6]. Při léčbě glukokortikoidy docházelo k rychlé redukci velikosti uzlin a sleziny, nápadně se však zvyšoval počet lymfocytů v periferní krvi. Po přerušení terapie lymfocytóza regredovala a hodnota lymfocytů byla nižší než na počátku terapie. Lymfocytární redistribuce indukovaná glukokortikoidy byla považována za základní mechanismus jejich účinku, z dnešního pohledu je zajímavé, že tento fenomén nacházíme také u moderních inhibitorů signalizace z B-buněčného receptoru (ibrutinib, idelalisib) [7]. Opakovaná pozorování dospěla k tomu, že efekt glukokortikoidů je pouze dočasný a jejich dlouhodobé podání vede k řadě dnes dobře známých nežádoucích účinků. Ani jejich kombinace s řadou dalších látek testované v následujících letech (alkylační látky, purinová analoga, monoklonální protilátky) nepřinesly zásadní zlepšení léčebných výsledků. V současné době se glukokortikoidy u pacientů s CLL podávají v léčbě imunitních komplikací choroby a svoje místo mohou mít vysoké dávky methylprednisolonu či dexametazonu v kombinaci s anti-CD20 monoklonální protilátkou (rituximab) u opakovaně relabujících a refrakterních nemocných [7, 8, 9].

V průběhu 40. a 50. let dvacátého století byla syntetizována řada protinádorových látek, které byly studovány u nádorů lymfatické tkáně. Z nich se páteří protinádorové léčby staly takzvané alkylační látky, které jsou obecně schopny přidat alkylovou skupinu (CnH_{2n+1}) k DNA. Ta se naváže na guaninovou bázi DNA, interferuje s její replikací a vyvolává buněčnou apoptózu aktivací dráhy genu TP53 [10]. Prvním z těchto

léků byl u CLL testován chlorambucil, dalším alkylačním cytostatikem pak byl cyklofosfamid a v 60. letech k nim pak přibyl nově syntetizovaný bendamustin, alkylační protinádorová látka s jedinečnou aktivitou, která zároveň vykazuje některé vlastnosti antimetaboličkových cytostatik [12].

V roce 1955 Galton s kolegy poprvé popsal výsledky léčby nemocných s CLL a dalšími lymfatickými nádory pomocí chlorambucilu [11]. Od té doby se chlorambucil stal po dlouhá desetiletí základním lékem používaným u většiny nemocných s CLL. Režimy jeho podávání jsou dodnes velmi variabilní – od intermitentních dávkování až po kontinuální aplikaci trvajících do dosažení kompletní remise choroby (CR) či projevů významné toxicity. Počet léčebných odpovědí (ORR) se obecně pohybuje v rozmezí 30–70 %, procento potvrzených CR hodnoceno dnešními kritérii je však poměrně malé [13]. Vyšší počet ORR a CR byl prokázán u kontinuálního podávání chlorambucilu (15 mg denně), aplikace tohoto režimu u CLL však nenašla širšího uplatnění [14]. Snaha kombinovat chlorambucil s glukokortikoidy také nepřinesla nemocným další terapeutický benefit [2, 13]. Velmi důležitou otázku řešila Francouzská kooperativní skupina pro CLL, kdy ve dvou klinických studiích na kohortě 1535 dosud neléčených pacientů v počátečním stadiu onemocnění (Binet A) testovala hypotézu prospěšnosti časně léčebné intervence chlorambucilem, resp. kombinace chlorambucilu s glukokortikoidy, oproti sledování nemocných a zahájení léčby jen v případě progredujícího, klinicky a laboratorně aktivního onemocnění. Obě studie a s nimi posléze i další podobná klinická hodnocení neprokázaly výhodu časně terapeutické intervence u asymptomatických nemocných v počátečním stadiu choroby [15]. Tento poznatek nebyl do dnešní doby překonán žádnou z dalších výzkumných studií a je stále základem našeho přístupu k pacientům s asymptomatickou CLL zakotveného v mezinárodních doporučeních [16].

Použití cyklofosfamidu v monoterapii léčby CLL nebylo sice tak extenzivně studováno jako v případě chlorambucilu, pokud zhodnotíme ORR, CR a celkové přežití (OS), tak dosažená účinnost cyklofosfamidu nebyla nikdy vyšší než u chlorambucilu [13]. Jistou nadějí na zlepšení léčebných výsledků vzbudily na přelomu 80. a 90. let kombinované režimy chemoterapie, založené na cyklofosfamidu a glukokortikoidech, popřípadě na přidání doxorubicinu (COP, CHOP), s úspěchem používané v léčbě ne-hodgkinských lymfomů. Dlouhodobé hodnocení efektu uvedených kombinací u CLL však neprokázalo jakýkoliv podstatný benefit stran prodloužení OS a jejich podávání dnes zůstalo vyhrazeno pouze pro specifické situace (imunitní komplikace, Richterova

transformace) [15]. Bendamustin byl syntetizován v 60. letech v Německé demokratické republice a z historicko-politických důvodů bylo jeho používání víceméně omezeno na země tzv. socialistického bloku. K rozšíření použití zejména v léčbě CLL došlo až na počátku nového století. I přes vyšší účinnost z pohledu dosažení ORR a CR nebyl ve srovnání s chlorambucilem prokázán jeho zásadní vliv na prodloužení OS [17].

Objev purinových analog (fludarabinu, kladribinu a deoxykoformicinu), ověření jejich působení na fyziologické i patologické lymfocyty a jejich zavedení do léčby CLL na konci 80. let se stalo přelomovou záležitostí, která rozšířila terapeutické možnosti zejména u mladších nemocných s CLL [18, 19]. Díky inkorporaci purinového analoga do DNA a RNA nádorové buňky a inhibici důležitých buněčných enzymů dochází k poruše syntézy a opravy obou nukleotidových kyselin a k ovlivnění exprese řady klíčových genů. Svým mechanismem působení jsou tyto léky účinné jak na proliferující leukemické buňky, tak i na elementy v klidové fázi buněčného cyklu, u kterých indukují apoptózu [13]. Ve studiích, které zahrnovaly pacienty s relabující a refrakterní CLL (R/R CLL), často vysoce předléčené, dosahovala terapie fludarabinem a kladribinem více než 50 % ORR, zároveň však odhalila i řadu možných nežádoucích účinků těchto léků u starších nemocných a těch, kteří již v minulosti podstoupili opakovanou terapii alkylačními látkami [13]. Na druhé straně první zmínky o vysoké a rychlé efektivitě podávání fludarabinu (ORR 79 %, CR 33 %) u dosud neléčených nemocných s CLL ukázaly směr, kterým se začala ubírat terapie v dalších letech [20].

NOVODOBÁ HISTORIE LÉČBY CLL: OD PURINOVÝCH ANALOG PŘES IMUNOCHEMOTERAPII K CÍLENÝM INHIBITORŮM BUNĚČNÝCH DRAH

Klinická hodnocení podávání purinových analog v první linii léčby pacientům s CLL odstartovala před čtvrtstoletím novou historickou etapu terapie CLL. Lékem, který byl z této skupiny použit zdaleka nejčastěji byl fludarabin, významně méně poznatků máme k dispozici o efektivitě kladribinu, resp. o deoxykoformicinu. Monoterapie fludarabinem byla v první etapě srovnávána s podáváním kombinované polychemoterapie (CAP, CHOP) a se samotným chlorambucilem. Prvotní výsledky optimisticky potvrzovaly vyšší stupeň léčebných odpovědí u fludarabinu oproti polychemoterapii a také delší období do selhání léčby a progresivní onemocnění (PFS) [21]. Data naznačovala, že fludarabin by mohl prodloužit i délku OS. Při rozšíření analyzovaných počtů pacientů a prodloužení doby sledování se

tyto předpoklady nenaplnily a medián OS ve skupině léčených fludarabinem (69 měsíců) se významněji nelišil od kohorty léčených polychemoterapií (67 a 70 měsíců) [22]. Stejný výsledek přineslo i srovnání iniciální léčby mezi fludarabinem a chlorambucilem, když mediány OS se také statisticky významně nelišily (66 versus 56 měsíců) a léčba fludarabinem byla provázena vyšším výskytem myelosuprese a infekcí [23]. Strukturálně obdobná data byla publikována i ze studie srovnávající kladribin s prednisonem oproti chlorambucilu s prednisonem [24]. Shrnutí všech dat v systematické analýze potvrdilo, že purinová analoga oproti alkylačním látkám a kombinované chemoterapii prodloužují PFS, resp. snižují počet událostí o zhruba 30 %, a tento efekt je zřetelnější u nemocných s nemutovaným stavem IGHV genů [25]. Prodloužení OS však nebylo objektivně prokázáno, i když statisticky nevýznamné zlepšení bylo opět konstatováno pro nemocné s nemutovaným stavem IGHV genů. Dalším zajímavým zjištěním byl postupně se snižující léčebný efekt purinových analog s narůstajícím věkem, kdy ve skupině pacientů starších 70 let purinová analoga dokonce zkracovala OS ve srovnání s chlorambucilem.

Snaha dále zlepšit výsledky léčby fludarabinem byla směřována k testování jeho kombinace s alkylačními cytostatiky, zejména s cyklofosfamidem (režim FC). Z preklinických *in vitro* experimentů bylo patrné, že účinek kombinace obou cytostatik je synergní a že fludarabin zabraňuje opravě DNA poškozené cyklofosfamidem [26]. Pilotní studie prokázaly, že počet ORR se pohybuje kolem 80–90 % s významným podílem CR, a to jak u dosud neléčených, tak i předléčených pacientů s CLL [27, 28]. Následně randomizované studie potvrdily, že kombinace FC dosahuje významně vyššího počtu léčebných odpovědí (včetně CR), což vede k významnému prodloužení PFS ve srovnání se samotným fludarabinem, když tento rozdíl činí až 20 % při pětiletém sledování. Nicméně opět bylo potvrzeno, že ani při použití FC nedošlo k statisticky významnému prodloužení OS, i když u rizikových pacientů ve vyšším stadiu choroby byl trend ke zlepšení OS patrný [25, 29, 30, 31]. Navzdory tomu, že kombinace FC vedla k vyššímu výskytu a tíži neutropenie, frekvence závažných či život ohrožujících infekcí zásadně nenarůstala. Režim FC se proto stal novým standardem intenzivní léčby CLL u mladších nemocných a základem pro pozdější testování účinnosti ve spojení s novými biologickými léky – monoklonálními protilátkami.

Inkorporace monoklonálních protilátek do terapeutických schémat CLL znamenala významný evoluční posun našich léčebných možností a přinesla další naději na zlepšení prognózy a přežití pacientů s touto

chorobou. Rituximab – chimerická IgGk anti-CD20 protilátka, byl na konci 90. let první oficiálně schválenou a komerčně dostupnou monoklonální protilátkou pro léčbu CD20+ B-buněčných lymfoidních nádorů [32]. Studie testující účinek monoterapie rituximabem u R/R CLL nepřinesly tak přesvědčivé výsledky jako u jiných indolentních lymfomů. To může být z velké části dané poměrně nízkou densitou výskytu antigenu CD20 na povrchu leukemických lymfocytů či velkým množstvím těchto buněk v periferní krvi nemocných, což zřejmě přispívá ke zrychlení eliminace protilátky z oběhu [33, 34]. Také efekt samotného rituximabu u dříve neléčených nemocných nebyl nijak impresivní a jen o něco více než polovina pacientů dosáhla částečné léčebné odpovědi (PR) po podání 4 dávek protilátky (375 mg/m²) v týdenních odstupech [35]. Důkazy o tom, že zvýšení dávky rituximabu může mít pozitivní vliv na počet léčebných odpovědí, přineslo jeho další klinické testování a vyšší dávka protilátky se stala základem i pro jeho další použití v kombinaci s cytostatiky [36].

V následujícím období řada studií fáze II prokázala vysoký efekt a dobrou toleranci kombinace fludarabinu s rituximabem, ať už u R/R CLL (ORR 70–85 %) či dříve neléčených nemocných (ORR až 90 %, CR až 47 %) [37, 38, 39], a některá retrospektivní srovnání začala hovořit o možnosti významného prodloužení OS v případě iniciačního podání této terapie [40]. Na druhou stranu bylo patrné, že nemocní s nemutovaným stavem IGHV genů, jedinci s delecí 17p nebo mutací TP53 nebo delecí 11q dosahují sice při imunochemoterapii přibližně stejného počtu ORR, ale PFS a OS je u nich kratší než u pacientů bez těchto rizikových faktorů [41].

Uvedené poznatky podnítily další extenzivní studium kombinované imunochemoterapie, zejména pak rituximabu s FC (FCR). U R/R pacientů podání FCR indukovalo 74 % ORR (30 % CR), medián PFS byl 21 měsíců, OS pak 47 měsíců [42]. Vysoká předlécenost, předchozí refrakterita na fludarabin, nemutovaný stav IGHV genů a delece 17p byly spojeny s horšími léčebnými výsledky. Terapie byla komplikována výskytem těžké neutropenie (81 %) a infekcí (16 %), oba dva nežádoucí účinky se vyskytovaly častěji u pacientů předlécených více režimy terapie. Zásadním milníkem éry imunochemoterapie pak byla implementace režimu FCR do první linie léčby CLL. Výsledky studie fáze II (300 pacientů léčených v M. D. Anderson Cancer Center v Houstonu) a randomizované studie fáze III (CLL8, mezinárodní multicentrická studie vedená Německou skupinou pro výzkum CLL), která porovnávala 409 pacientů léčených FC s 408 pacienty léčenými FCR, poprvé v historii prokázaly, že imunochemoterapie dokáže u velké skupiny nemocných s CLL navodit hlubokou a dlouhodobou re-

misí (ORR 90–95 %, CR 44–70 %), u některých z nich bez návratu choroby při dlouhodobém sledování (pacienti s mutovaným stavem IGHV bez dalších nepříznivých genetických změn), a významně prodloužit OS [43, 44, 45]. O poznání horší léčebné výsledky byly dosaženy u pacientů s nemutovaným stavem IGHV a jako velmi málo efektivní se kombinace FCR ukázala být pro jedince s delecí 17p či mutací genu TP53 (PFS 15 měsíců, OS 36 měsíců). U 34 % pacientů se vyskytla závažná neutropenie, u 25 % infekce, téměř 17 % léčených mělo v prvním roce po léčbě protražovanou neutropenii, a u 13 % se po léčbě objevil sekundární nádor (včetně myelodysplastického syndromu či akutní myeloidní leukemie) či Richterův syndrom [44, 45]. Sumárně lze konstatovat, že FCR se stal standardním režimem iniciační léčby CLL pro mladší nemocné (pod 65 let věku), s dobrou kondicí, optimálními renálními funkcemi, bez závažnějších přidružených chorob a bez přítomnosti delecí 17p či mutace genu TP53.

Otázkou tedy zůstávalo, jak účinně léčit starší pacienty v dobré kondici, starší pacienty s přidruženými chorobami, pacienty s delecí 17p či mutací genu TP53 a všechny ty, kteří časně zrelabují či zprogredují po iniciační terapii?

Studie fáze II naznačily, že pro starší nemocné v dobré kondici bez výraznějších komorbidit by mohl být vhodnou léčebnou alternativou režim kombinující bendamustinu s rituximabem (BR). V randomizované studii CLL10 dosáhla kombinace BR u nemocných nad 65 let nevýznamného rozdílu délky PFS v porovnání s režimem FCR, OS bylo totožné pro oba dva režimy dokonce bez ohledu na věk (91 % vs. 92 % ve 3 letech) [46]. Nežádoucí účinky kombinace BR byly sice statisticky významně nižší než u FCR (nejvýraznější rozdíl byl pozorován opět u starších pacientů), stále se však ukázaly jako příliš četné a závažné na to, aby tato kombinace byla efektivní u pacientů vyššího věku s přítomností více přidružených chorob (nežádoucí účinky stupně 3–5 byly dokumentovány u 84 % léčených).

Z těchto důvodů se pro starší, komorbidní a fragilní nemocné začala používat léčba založená především na účinku rituximabu kombinovaném se standardně dávkovaným chlorambucilem (R-CLB) [47]. Ke zlepšení výsledků takto vedené léčby pak došlo při použití nově vyvinuté anti-CD20 protilátky 2. typu – obinutuzumabu na konci prvního desetiletí 21. století. Obinutuzumab díky svým vlastnostem vede k eliminaci nádorového CD20-pozitivního B-lymfocytu zejména pomocí přímé indukce buněčné smrti nezávislé na kaspázách a bcl-2 proteinu (oproti rituximabu asi 50krát silnější efekt), dále pomocí buněčné cytotoxicity závislé na proti-

látce (ADCC; oproti rituximabu zvýšená 35–100krát) a na protilátce závislé buněčné fagocytóze (ADCP) [48]. V randomizované mezinárodní studii (CLL11) u starších nemocných se sníženou renální clearance a dalšími komorbiditami (CIRS skóre vyšší než 6) navodila kombinace obinutuzumabu s chlorambucilem (G-CLB) 77 % ORR (22 % CR). Medián PFS dosáhl 29 měsíců a byl statisticky výrazně vyšší než u nemocných léčených R-CLB (16 měsíců) a podle posledních zveřejněných dat došlo také k významnému prodloužení OS (medián nedosažen vs. 73 měsíce, OS v 5 letech 66 % vs. 57 %) [49]. G-CLB se díky uvedeným výsledkům stal standardem léčby založené na monoklonální protilátce a cytostatiku v této kategorii pacientů s CLL.

I když imunochemoterapie pomohla významně zlepšit osud řady nemocných a prodloužit u některých z nich OS, její účinek u nemocných s rizikovou CLL je limitován. Jak již bylo zmíněno výše, jde o zejména o nemocné s nemutovaným stavem IGHV, s nepříznivými genetickými lézemi (delece 17p a 11q, komplexní změny karyotypu) či mutacemi klíčových genů (TP53, ATM, BIRC3, SF3B1, NOTCH1 a další). I přes určitou parciální efektivitu některých léků (alemtuzumab, lenalidomid) či postupů (alogenní transplantace) se dlouhodobě nedařilo zásadně ovlivnit průběh onemocnění u těchto prognosticky nepříznivých pacientů [2]. Historický zlom, který začal přepisovat schémata léčby CLL, přišel až v posledních pěti letech [1, 2].

Laboratorní experimenty a posléze klinické studie prokázaly vysokou efektivitu nových cílených léků, které interferují s významnými biologickými dráhami v nádorové buňce a vedou k dosažení velmi nadějných léčebných výsledků i u rizikových forem CLL a jsou dobře tolerovány bez ohledu na věk nemocných. Z těchto léků jsou nyní v klinické praxi dostupné tři zásadní molekuly – ibrutinib, idelalisib a venetoklax.

Ibrutinib je silným a relativně velmi cíleným inhibítorem Brutonovy tyrozinkinázy (BTK). Lék vede k inhibici DNA syntézy, redukci proliferace a přežití nádorových buněk a indukci apoptózy. Ibrutinib redukuje také buněčnou migraci, ruší adhezi nádorových buněk a snižuje uhnízdění („*homing*“) patologických lymfocytů v mikroprostředí kostní dřeni a lymfatické tkáně. Lék vede k rychlé redukci velikosti lymfatických uzlin a sleziny a redistribuci části buněk CLL do periferní krve, což u řady pacientů zvyšuje lymfocytózu (fenomén lymfocytární redistribuce), která však s dalším podáváním léku postupně klesá. Léčba je iniciálně účinná napříč všemi biologickými podtypy onemocnění, jedince s delecí 17p či mutací TP53 genu nevyjímaje. V pilotních studiích bylo u nemocných s R/R CLL ibrutinibem navozeno 89 % ORR, z toho 10 % tvořily CR [50]. Medián trvání léčebné

odpovědi dosáhl 57 měsíců při době sledování 5 let. Lék byl efektivní i u nemocných s komplexními změnami karyotypu (medián PFS 55 měsíců), nicméně u nemocných s přítomností delece 17p se i přes počáteční dobrou léčebnou odezvu nepodařilo dosáhnout dlouhodobé kontroly onemocnění (medián PFS 26 měsíců). I tak je délka PFS pro tuto skupinu opakovaně léčených a relabovaných pacientů nadějná v porovnání s ostatními dosud používanými léčebnými modalitami, což dokládají sumární výsledky 4 studií zahrnující předléčené nemocné s delecí 17p (pravděpodobnost PFS byla 57 % a OS 69 % ve 30 měsících) [51]. Léčba ibrutinibem není bez komplikací, řada z nich je pro tento lék specifická (zvýšené riziko krvácení, fibrilace síní, hypertenze, průjem, hepatopatie) a mohou vést k přerušení či zastavení léčby. Významné jsou také jeho lékové interakce (lék je metabolizován cestou cytochromu P450 3A4 – CYP3A4). Ibrutinib prokázal svoji efektivitu (významné zlepšení ORR, PFS, OS) v randomizovaných srovnáních se standardními léčebnými postupy u R/R CLL (ibrutinib vs ofatumumab), tak také u dosud neléčených nemocných (ibrutinib vs. chlorambucil) [52, 53]. U neléčených nemocných s delecí 17p existují povzbudivá data z nerandomizovaných studií [54]. Ibrutinib je díky svému lékovému profilu vhodným partnerem do kombinačních režimů, v klinické testování je jeho společně podávání s monoklonálními protilátkami a/ nebo venetoklaxem [2].

Dalším z nových cílených léků je idelalisib, reverzibilní vysoce selektivní inhibitor delta izoformy fosfatidylinozitol-3-kinázy (PI3K δ). Důsledkem jeho působení je zastavení proliferaci nádorových lymfocytů, omezení jejich přežití, migrace a uhnízdění („*homing*“) v kostní dřeni a lymfatické tkáni. Idelalisib prokázal rovněž vysokou účinnost u R/R CLL (ORR 72 %, medián PFS 32 měsíce), která narostla při jeho podávání s rituximabem (ORR 81 %), jak vyplývá z randomizované studie srovnávající podávání rituximabu a placebo v druhé kohortě pacientů (ORR pro rituximab jen 13 %) [56]. To vedlo i k významnému rozdílu v OS mezi oběma skupinami pacientů (92 % vs. 80 % v 1 roce od léčby). Stejně jako ibrutinib prokázal idelalisib (v kombinaci rituximabem) účinnost u nepředléčených starších nemocných s CLL (ORR 97 %, CR 19 %, PFS 83 % ve 3 letech) [57]. Na druhé straně však některé studie s idelalisibem testujícím jeho efekt v primární terapii musely být zastaveny, a to pro některé závažné nežádoucí účinky léku. Mezi ně patří infekce (včetně oportunních) či reaktivace virových nákaz, hepatopatie (transaminitis), pneumonitida a těžká kolitida (pozdní typ), kterou způsobuje imunitní reakce indukovaná lékem [2]. Řadě komplikací léčby idelalisibem však lze jak předejít, tak

je léčebně ovlivnit, a lék tak zůstává součástí našeho terapeutického portfolia zejména u R/R CLL.

Poslední revoluční molekulou, o které je nutno detailněji referovat je venetoklax, vysoce selektivní perorální inhibitor bcl-2 proteinu. Lék se váže na BH3 doménu bcl-2 (BH3 mimetikum), což vede k permeabilizaci vnější membrány mitochondrie, aktivaci kaspáz a indukci apoptózy nádorových buněk za pomoci regulačních proteinů bax a bak. V pilotní studii 116 nemocných s R/R CLL navodil lék 79 % ORR a 20 % CR/iCR, medián PFS dosáhl 25 měsíců, OS ve dvou letech pak 84 % [58]. Od počátku studie bylo patrné, že nástup účinku venetoklaxu je velmi rychlý a u řady z pacientů dochází k syndromu náhlého rozpadu nádoru (TLS). Bylo proto vypracováno eskalační (titrační) schéma podávání léku v průběhu 5 týdnů (počáteční dávka 20 mg, cílová dávka 400 mg), které riziko klinicky významného TLS redukovalo na minimum. Venetoklax prokázal rovněž velmi nadějnou efektivitu v souboru 107 R/R CLL s delecí 17p, kdy ORR byla dosažena u 79 % léčených a u 18 z 45 hodnocených potvrdilo vyšetření průtokovou cytometrií negativní nález stran zbytkové populace leukemických buněk v periferní krvi [59]. Pravděpodobnost PFS a OS ve 12 měsících dosáhla 72 % a 87 %. Venetoklax je účinný i u nemocných, kteří jsou rezistentní či progredují na léčbě ibrutinibem či idelalisibem. Počet ORR ve studiích fáze II dosáhl 65 %, resp. 67 %. 80 % nemocných úspěšně léčených po selhání ibrutinibem zůstávalo v remisi i po 12 měsících terapie venetoklaxem, předpokládaný medián PFS byl vypočítán na 25 měsíců, u nemocných se selháním na léčbě idelalisibem byla pravděpodobnost trvání remise ve 12 měsících 79 % [60, 61]. Významnou potenciaci účinku venetoklaxu přináší jeho společné podávání s rituximabem. Jak pilotní klinické hodnocení, tak zejména randomizovaná studie Murano prokázaly vysokou účinnost této kombinace u R/R CLL, kdy rozdíl ve dvouletém PFS oproti kombinaci BR byl více než dvojnásobný (85 % vs. 36 %) a téměř trojnásobný u nemocných s delecí 17p (82 % vs. 28 %) [62]. Venetoklax je rovněž vhodný ke kombinaci s ostatními cílenými molekulami (obinutuzumab, ibrutinib), kde lze předpokládat synergní léčebný efekt bez podstatnějšího navýšení toxicity terapie, jak ukazují první výsledky klinického výzkumu [63].

Na závěr je nutné zmínit ještě dvě léčebné modality, které dnes můžeme řadit do širší skupiny buněčné terapie. Jde o alogenní transplantaci kmenových buněk krvetvorby a léčbu T-lymfocyty s chimerickým antigenním receptorem namířenou proti antigenu CD19 na povrchu CLL buněk (CAR-T lymfocyty). Obě dvě metody mají kurativní potenciál a jsou účinné

u všech biologických podtypů CLL. Zatímco alogenní transplantace je v éře nových molekul indikována u mladších nemocných s R/R CLL, kteří selhávají na léčbě ibrutinibem, idelalisibem či posléze venetoclxem a nemocné s Richterovou transformací, význam a načasování léčby CAR-T lymfocyty se teprve testuje v klinických hodnoceních [64, 65]. Hlavními riziky alogenní transplantace jsou infekce a nemoc štetu proti hostiteli, u léčby CAR-T lymfocyty je to především vysoká frekvence výskytu syndromu z uvolnění cytokinů a neurotoxicita.

V klinickém zkoušení je řada dalších léků (acalabrutinib, tirabrutinib, zanubrutinib, umbralisib, entospletinib, ublituximab, oltertuzumab), které mohou v příštích letech hrát významnou úlohu v léčbě CLL, ale vzhledem k teprve předběžným výsledkům jejich testování je předčasné je zde detailněji představovat [2, 66].

ZÁVĚRY

Léčba nemocných s CLL doznala v posledním čtvrtstoletí dramatických změn, které prudce akcelerovaly zejména v posledních pěti letech. I když imunochemoterapie může některé skupiny pacientů uvést do dlouhodobé remise choroby, její role s nástupem nových cílených léků – inhibitorů klíčových buněčných drah v leukemických elementech – bude postupně slábnout. Pro většinu pacientů indikovaných k léčbě budou optimální terapeutickou strategií zjevně režimy bez použití cytostatik. Již dnes je však zřejmé, že samotná aplikace jednoho léku či protilátky nepovede v naprosté většině případů k hluboké a dlouhodobé remisi choroby tak, jak jsme to například zvyklí vídat u chronické myeloidní leukemie léčené jedním z inhibitorů tyrozinkinázy. U CLL, a zvláště pak u jejich prognosticky méně příznivých forem, budeme muset léky používat v chytrých kombinacích a sekvencích, které zajistí jejich dlouhodobou účinnost bez vývoje rezistence k léčbě, jejího následného selhání, s minimalizací selekce agresivnějších subklonů nemoci či transformace onemocnění. Bude zajímavé sledovat, pro které pacienty bude výhodnějším postupem rychlé navození hluboké remise choroby (na úrovni negativity minimální zbytkové choroby), která pak bude vhodnou následnou léčbou udržována (nebo bez léčby jen observována), a pro které bude naopak dostatečné uvést onemocnění do určitého „chronického“ stavu, kde by pod terapeutickou kontrolou bylo po dlouhé období stabilizováno. Je zřejmé, že na tyto otázky nebudeme znát ještě dlouhou dobu jednoznačnou odpověď. Nicméně velmi dynamický vývoj léčby CLL v posledních letech a řada povzbudivých dat z klinických studií s novými léky a jejich kombinacemi nás vede k optimismu a tvr-

zení, že většina pacientů může v blízké budoucnosti žít plnohodnotný život ve stejné délce jako jejich vrstevníci bez podobného nádorového onemocnění a řad z nich dokonce s vyléčenou leukemií.

LITERATURA

- Egle A. Milestones in chronic lymphocytic leukemia: An exciting decade of progress-10th anniversary of memo. *Memo* 2017;10:8-12.
- Burger J, O'Brien S. Evolution of CLL treatment – from chemoimmunotherapy to targeted and individualized therapy. *Nat Rev Clin Oncol* 2018;15:510-527.
- Minot GR, Isaacs R. Lymphatic leukemia; age incidence, duration, and benefit derived from irradiation. *Boston Med Surg J* 1924;191:1-10.
- Binet JL. Treatment of chronic lymphocytic leukaemia. French Co-operative Group on CLL. *Baillieres Clin Haematol* 1993;6:867-878.
- Pearson OH, Eliel LP, Rawson RW, et al. Adrenocorticotrophic hormone- and cortisone-induced regression of lymphoid tumors in man; a preliminary report. *Cancer* 1949;2:943-945.
- Pearson OH, Eliel LP. Use of pituitary adrenocorticotrophic hormone (ACTH) and cortisone in lymphomas and leukemias. *J Am Med Assoc* 1950;144:1349-1353.
- Burger JA, Montserrat E. Coming full circle: 70 years of chronic lymphocytic leukemia cell redistribution, from glucocorticoids to inhibitors of B-cell receptor signaling. *Blood* 2013;121:1501-1509.
- Castro JE, James DF, Sandoval-Sus JD, et al. Rituximab in combination with high-dose methylprednisolone for the treatment of chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia* 2009;23:1779-1789.
- Šimkovič M, Motýčková M, Belada D, et al. Five years of experience with rituximab plus high-dose dexamethasone for relapsed/refractory chronic lymphocytic leukemia. *Arch Med Sci* 2016;12:421-427.
- Singh RK, Kumar S, Prasad DN, Bhardwaj TR. Therapeutic journey of nitrogen mustard as alkylating anticancer agents: Historic to future perspectives. *Eur J Med Chem* 2018;151:401-433.
- Galton DAG, Israels LG, Nabarro JDN, Till M. Clinical trials of p-(DI-2-chloroethylamino)-phenylbutyric acid (CB 1348) in malignant lymphoma. *Br Med J* 1955;12:1172-1176.
- Leoni LM, Bailey B, Reifert J, et al. Bendamustine (Treanda) displays a distinct pattern of cytotoxicity and unique mechanistic features compared with other alkylating agents. *Clin Cancer Res* 2008;14:309-317.
- Robak T, Kasznicki M. Alkylating agents and nucleoside analogues in the treatment of B cell chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia* 2002;16:1015-1027.
- Jaksic B, Brugiattelli M, Krc I, et al. High dose chlorambucil versus Binet's modified cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone regimen in the treatment of patients with advanced B-cell chronic lymphocytic leukemia. Results of an international multicenter randomized trial. *International Society for Chemo-Immunotherapy, Vienna. Cancer* 1997;79:2107-2114.
- CLL Trialists' Collaborative Group. Chemotherapeutic options in chronic lymphocytic leukemia: a meta-analysis of the randomized trials. *J Natl Cancer Inst* 1999;91:861-868.
- Hallek M, Cheson BD, Catovsky D, et al. iwCLL guidelines for diagnosis, indications for treatment, response assessment, and supportive management of CLL. *Blood* 2018;131:2745-2760.
- Knauf WU, Lissitchkov T, Aldaoud A, et al. Bendamustine compared with chlorambucil in previously untreated patients with chronic lymphocytic leukaemia: updated results of a randomized phase III trial. *Br J Haematol* 2012;159:67-77.
- Grever MR, Kopecky KJ, Coltman CA, et al. Fludarabine monophosphate: a potentially useful agent in chronic lymphocytic leukemia. *Nouv Rev Fr Hematol* 1988;30:457-459.
- Piro LD, Carrera CJ, Beutler E, Carson DA. 2-Chlorodeoxyadenosine: an effective new agent for the treatment of chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 1988;72:1069-1073.
- Keating MJ, Kantarjian H, O'Brien S, et al. Fludarabine: a new agent with marked cytoreductive activity in untreated chronic lymphocytic leukemia. *J Clin Oncol* 1991;9:44-49.
- Johnson S, Smith AG, Löffler H, et al. Multicentre prospective randomised trial of fludarabine versus cyclophosphamide, doxorubicin, and prednisone (CAP) for treatment of advanced-stage chronic lymphocytic leukaemia. The French Cooperative Group on CLL. *Lancet* 1996;347:1432-1438.
- Leporrier M, Chevret S, Cazin B, et al. Randomized comparison of fludarabine, CAP, and ChOP in 938 previously untreated stage B and C chronic lymphocytic leukemia patients. *Blood* 2001;98:2319-2325.
- Rai KR, Peterson BL, Appelbaum FR, et al. Fludarabine compared with chlorambucil as primary therapy for chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med* 2000;343:1750-1757.
- Robak T, Błoński JZ, Kasznicki M, et al. Cladribine with prednisone versus chlorambucil with prednisone as first-line therapy in chronic lymphocytic leukemia: report of a prospective, randomized, multicenter trial. *Blood* 2000;96:2723-2729.
- CLL Trialists' Collaborative Group. Systematic review of purine analog treatment for chronic lymphocytic leukemia: lessons for future trials. *Haematologica* 2012;97:428-436.
- Plunkett W, Gandhi V, Huang P, et al. Fludarabine: pharmacokinetics, mechanisms of action, and rationales for combination therapies. *Semin Oncol* 1993;20:2-12.
- O'Brien SM, Kantarjian HM, Cortes J, et al. Results of the fludarabine and cyclophosphamide combination regimen in chronic lymphocytic leukemia. *J Clin Oncol* 2001;19:1414-1420.
- Hallek M, Schmitt B, Wilhelm M, et al. Fludarabine plus cyclophosphamide is an efficient treatment for advanced chronic lymphocytic leukaemia (CLL): results of a phase II study of the German CLL Study Group. *Br J Haematol* 2001;114:342-348.
- Catovsky D, Richards S, Matutes E, et al. Assessment of fludarabine plus cyclophosphamide for patients with chronic lymphocytic leukaemia (the LRF CLL4 Trial): a randomised controlled trial. *Lancet* 2007;370:230-239.
- Flinn IW, Neuberg DS, Grever MR, et al. Phase III trial of fludarabine plus cyclophosphamide compared with fludarabine for patients

- with previously untreated chronic lymphocytic leukemia: US Intergroup Trial E2997. *J Clin Oncol* 2007;25:793-798.
31. Eichhorst BF, Busch R, Hopfinger G, et al. Fludarabine plus cyclophosphamide versus fludarabine alone in first-line therapy of younger patients with chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2006;107:885-891.
 32. Grillo-López AJ, White CA, Varns C, et al. Overview of the clinical development of rituximab: first monoclonal antibody approved for the treatment of lymphoma. *Semin Oncol* 1999;5(Suppl. 14):66-73.
 33. Lin TS, Byrd JC. Monoclonal antibody therapy in lymphoid leukemias. *Adv Pharmacol* 2004;51:127-167.
 34. Golay J, Lazzari M, Facchinetti V, et al. CD20 levels determine the in vitro susceptibility to rituximab and complement of B-cell chronic lymphocytic leukemia: further regulation by CD55 and CD59. *Blood* 2001;98:3383-3389.
 35. Hainsworth JD, Litchy S, Barton JH, et al. Single-agent rituximab as first-line and maintenance treatment for patients with chronic lymphocytic leukemia or small lymphocytic lymphoma: a phase II trial of the Minnie Pearl Cancer Research Network. *J Clin Oncol* 2003;21:1746-1751.
 36. O'Brien SM, Kantarjian H, Thomas DA, et al. Rituximab dose-escalation trial in chronic lymphocytic leukemia. *J Clin Oncol* 2001;19:2165-2170.
 37. Schultz H, Klein SK, Rehwald U, et al. Phase 2 study of a combined immunochemotherapy using rituximab and fludarabine in patients with chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2002;100:3115-3120.
 38. Wierda W, O'Brien S, Wen S, et al. Chemoimmunotherapy with fludarabine, cyclophosphamide, and rituximab for relapsed and refractory chronic lymphocytic leukemia. *J Clin Oncol* 2005;23:4070-4078.
 39. Byrd JC, Peterson BL, Morrison VA, et al. Randomized phase 2 study of fludarabine with concurrent versus sequential treatment with rituximab in symptomatic, untreated patients with B-cell chronic lymphocytic leukemia: results from Cancer and Leukemia Group B 9712 (CALGB 9712). *Blood* 2003;101:6-14.
 40. Byrd JC, Rai K, Peterson BL, et al. Addition of rituximab to fludarabine may prolong progression-free survival and overall survival in patients with previously untreated chronic lymphocytic leukemia: an updated retrospective comparative analysis of CALGB 9712 and CALGB 9011. *Blood* 2005;105:49-53.
 41. Byrd JC, Gribben JG, Peterson BL, et al. Select high-risk genetic features predict earlier progression following chemoimmunotherapy with fludarabine and rituximab in chronic lymphocytic leukemia: justification for risk-adapted therapy. *J Clin Oncol* 2006;24:437-443.
 42. Badoux XC, Keating MJ, Wang X, et al. Fludarabine, cyclophosphamide, and rituximab chemoimmunotherapy is highly effective treatment for relapsed patients with CLL. *Blood* 2011;117:3016-3024.
 43. Thompson PA, Tam CS, O'Brien SM, et al. Fludarabine, cyclophosphamide, and rituximab treatment achieves long-term disease-free survival in IGHV-mutated chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2016;127:303-309.
 44. Hallek M, Fischer K, Fingerle-Rowson G, et al. German Chronic Lymphocytic Leukaemia Study Group. Addition of rituximab to fludarabine and cyclophosphamide in patients with chronic lymphocytic leukaemia: a randomised, open-label, phase 3 trial. *Lancet* 2010;376(9747):1164-1174.
 45. Fischer K, Bahlo J, Fink AM, et al. Long-term remissions after FCR chemoimmunotherapy in previously untreated patients with CLL: updated results of the CLL8 trial. *Blood* 2016;127:208-215.
 46. Eichhorst B, Fink AM, Bahlo J, et al. First-line chemoimmunotherapy with bendamustine and rituximab versus fludarabine, cyclophosphamide, and rituximab in patients with advanced chronic lymphocytic leukaemia (CLL10): an international, open-label, randomised, phase 3, non-inferiority trial. *Lancet Oncol* 2016;17:928-942.
 47. Hillmen P, Gribben JG, Follows GA, et al. Rituximab plus chlorambucil as first-line treatment for chronic lymphocytic leukemia: Final analysis of an open-label phase II study. *J Clin Oncol* 2014;32:1236-1241.
 48. Goede V, Klein C, Stilgenbauer S. Obinutuzumab (GA101) for the treatment of chronic lymphocytic leukemia and other B-cell non-Hodgkin's lymphomas: a glycoengineered type II CD20 antibody. *Oncol Res Treat* 2015;38:185-192.
 49. Goede V, Fischer K, Dyer MJS, et al. Overall survival benefit of obinutuzumab over rituximab when combined with chlorambucil in patients with chronic lymphocytic leukemia and comorbidities: final survival analysis of the CLL11 study. EHA Congress; June 14-17, 2018; Stockholm, Sweden. Abstract S151.
 50. O'Brien S, Furman RR, Coutre S, et al. Single-agent ibrutinib in treatment-naïve and relapsed/refractory chronic lymphocytic leukemia: a 5-year experience. *Blood* 2018;131:1910-1919.
 51. Jones J, Mato A, Coutre S, et al. Evaluation of 230 patients with relapsed/refractory deletion 17p chronic lymphocytic leukaemia treated with ibrutinib from 3 clinical trials. *Br J Haematol* 2018;182:504-512.
 52. Byrd JC, Brown JR, O'Brien S, et al. Ibrutinib versus ofatumumab in previously treated chronic lymphoid leukemia. *N Engl J Med* 2014;371:213-223.
 53. Burger JA, Tedeschi A, Barr PM, et al. Ibrutinib as initial therapy for patients with chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med* 2015;373:2425-2437.
 54. Farooqui MZ, Valdez J, Martyr S, et al. Ibrutinib for previously untreated and relapsed or refractory chronic lymphocytic leukaemia with TP53 aberrations: a phase 2, single-arm trial. *Lancet Oncol* 2015;16:169-176.
 55. Wanner D, Steurer M. Chronic lymphocytic leukemia at ASH 2017. *Memo* 2018;11:105-108.
 56. Furman RR, Sharman JP, Coutre SE, et al. Idelalisib and rituximab in relapsed chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med* 2014;370:997-1007.
 57. O'Brien SM, Lamanna N, Kipps TJ, et al. A phase 2 study of idelalisib plus rituximab in treatment-naïve older patients with chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2015;126:2686-2694.
 58. Roberts AW, Davids MS, Pagel JM, et al. Targeting BCL2 with venetoclax in relapsed chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med* 2016;374:311-322.
 59. Stilgenbauer S, Eichhorst B, Schetelig J, et al. Venetoclax in relapsed or refractory chronic lymphocytic leukaemia with 17p deletion:

- a multicentre, open-label, phase 2 study. *Lancet Oncol* 2016;17:768–778.
60. Jones JA, Mato AR, Wierda WG, et al. Venetoclax for chronic lymphocytic leukaemia progressing after ibrutinib: an interim analysis of a multicentre, open-label, phase 2 trial. *Lancet Oncol* 2018;19:65–75.
61. Coutre S, Choi M, Furman RR, et al. Venetoclax for patients with chronic lymphocytic leukemia who progressed during or after idelalisib therapy. *Blood* 2018;131:1704–1711.
62. Seymour JF, Kipps TJ, Eichhorst B, et al. Venetoclax-rituximab in relapsed or refractory chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med* 2018;378:1107–1120.
63. Rogers KA, Huang Y, Ruppert AS, et al. Phase 1b study of obinutuzumab, ibrutinib, and venetoclax in relapsed and refractory chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2018;132:1568–1572.
64. Gribben JG. How and when I do allogeneic transplant in CLL. *Blood* 2018;132:31–39.
65. Dreger P, Ghia P, Schetelig J, et al. High-risk chronic lymphocytic leukemia in the era of pathway inhibitors: integrating molecular and cellular therapies. *Blood* 2018;132:892–902.
66. Jain N, Thompson P, Ferrajoli A, Nabhan C, Mato AR, O'Brien S. Approaches to chronic lymphocytic leukemia therapy in the era of new agents: the conundrum of many options. *Am Soc Clin Oncol Educ Book* 2018;38:580–591.

Podíl autorů na přípravě rukopisu

- PT – příprava rukopisu, závěrečná kontrola rukopisu
 UR, TP – pomoc při přípravě rukopisu, revize, korekce rukopisu

Čestné prohlášení

Autoři práce prohlašují, že vznik ani publikace článku nebyly podpořeny žádnou farmaceutickou firmou.

Autoři deklarují tento možný střet zájmů:

- Papajík T. – Roche, Abbvie, Janssen, Gilead, Celgene – cestovní a výzkumné granty, konzultace, prezentace
 Urbanová R. – Roche, Janssen, Gilead – cestovní granty, konzultace, prezentace
 Turcsányi P. – Abbvie, Janssen, Gilead – cestovní granty, konzultace, prezentace

Poděkování

Příprava rukopisu byla podpořena grantem AZV ČR VES16-32339A

Doručeno do redakce dne 1. 11. 2018.

Přijato po recenzi dne 19. 12. 2018.

prof. MUDr. Tomáš Papajík, CSc.

Hemato-onkologická klinika FNOL a LF UP v Olomouci
 I. P. Pavlova 6
 779 00 Olomouc
 e-mail: tomas.papajik@upol.cz