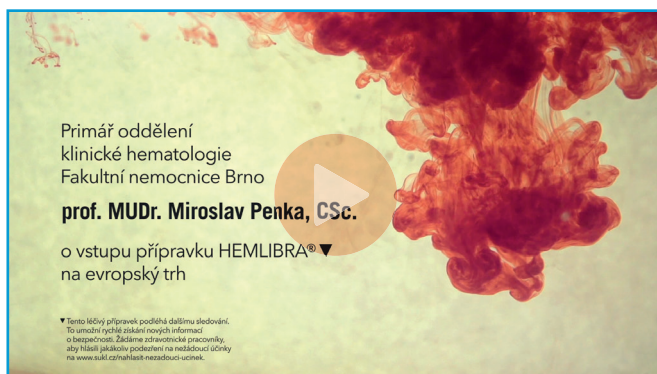


# Názor předního českého odborníka v léčbě hemofilie



**Prof. MUDr. Miroslav Penka, CSc., Oddělení klinické hematologie Fakultní nemocnice Brno**

„Hemlibra představuje zcela odlišný přípravek oproti těm, které jsme doposud používali. Díky rozdílnému mechanismu účinku funguje také u pacientů s inhibitory, u kterých jsme měli dosavadní možnosti léčby velmi krkolomně nastavitelné, což významně zvyšovalo její ekonomickou náročnost. Pacienti na něm ocení především komfortnější způsob aplikace – podává se podkožně a v delších intervalech než jiné léky pro hemofiliky.“



Video sledujte na  
[mojemedicina.cz](http://mojemedicina.cz)

## ▼ HEMLIBRA 30 mg/ml injekční roztok, HEMLIBRA 150 mg/ml injekční roztok - Zkrácená informace o přípravku

**Účinná látka:** emicizumab. **Držitel rozhodnutí o registraci:** Roche Registration GmbH, Grenzach-Wyhlen, Německo. **Registrační číslo:** EU/1/18/1271/001-004. **Indikace:** Přípravek Hemlibra je indikován k rutinní profylaxi krvácivých epizod u pacientů s hemofilií A s inhibitory faktoru VIII a u pacientů s těžkou hemofilií A (vrozená deficeience koagulačního faktoru VIII, FVIII < 1%) bez inhibitorů faktoru VIII.\* Přípravek Hemlibra mohou používat všechny věkové kategorie. **Dávkování a způsob podání:** Léčba musí být zahájena pod dohledem lékaře se zkušeností s léčbou hemofilie a/nebo krvácivých poruch. Den před zahájením léčby přípravkem Hemlibra musí být ukončena léčba (včetně rutinní profylaxe) bypassovými přípravky. Profylaxe faktorem VIII (FVIII) může pokračovat během prvních 7 dnů léčby přípravkem Hemlibra. Doporučená dávka je 3 mg/kg jednou týdně během prvních 4 týdnů (nasyovací dávka), po kterých následuje udržovací dávka buď 1,5 mg/kg jednou týdně, nebo 3 mg/kg každé dva týdny nebo 6 mg/kg každé čtyři týdny, všechny dávky podávané formou subkutánní injekce.\* Režim nasycovací dávky je vždy stejný bez ohledu na režim udržovací dávky. Při sestavování celkového objemu pro podání nesměšujte různé koncentrace roztoku Hemlibra (30 mg/ml a 150 mg/ml). Nepodávejte objem větší než 2 ml na jedno aplikační místo. Přípravek Hemlibra je určen k dlouhodobé profylaktické léčbě. Nejsou doporučeny žádné úpravy dávkování přípravku Hemlibra. Přípravek Hemlibra je určen pouze k subkutánnímu použití a musí být aplikován pomocí vhodné aseptické techniky. Během léčby přípravkem Hemlibra mají být jiné léčivé přípravky k subkutánní aplikaci aplikovány přednostně v jiných místech. Přípravek Hemlibra je určen k používání pod vedením zdravotnického pracovníka. Po důkladném zaškolení v aplikaci subkutánní injekce jej může aplikovat pacient nebo pečovatel, uzná-li to lékař za vhodné. **Kontraindikace:** Hypersenzitivita na léčivou látku nebo na kteroukoli pomocnou látku. **Významné interakce:** Nebyly provedeny žádné adekvátní ani dostatečně kontrolované studie interakcí. Klinické zkušenosti naznačují, že emicizumab interaguje s aPCC. Emicizumab zvyšuje koagulační potenciál; dávka koagulačního faktoru potřebná k zajištění hemostázy může být proto nižší než bez profylaxe přípravkem Hemlibra. Zkušenosti se souběžným podáváním antifibrinolytik s aPCC nebo rFVIIa u pacientů léčených emicizumabem jsou omezené. Při podávání systémových antifibrinolytik v kombinaci s aPCC nebo rFVIIa u pacientů léčených emicizumabem je však třeba vzít v úvahu možnost trombotických příhod. **Hlavní klinicky významné nežádoucí účinky:** Nejzávažnějšími nežádoucími účinky hlášenými v klinických studiích s přípravkem Hemlibra byly trombotická mikroangiopatie (TMA) a trombotické příhody včetně trombózy kavernózního splavu (CST) a trombóza povrchových žil s kožní nekrózou. Nejčastějšími nežádoucími účinky u pacientů léčených přípravkem Hemlibra byly reakce v místě vpichu, bolest hlavy a bolest kloubů. Celkem čtyři pacienti na profylaxi přípravkem Hemlibra v klinických studiích ukončili léčbu kvůli nežádoucím účinkům, ke kterým patřila TMA, kožní nekróza a povrchová tromboflebitida a reakce v místě vpichu. **Druh obalu a dostupná balení:** Injekční lahvička 3ml, Hemlibra s koncentrací 30 mg/ml obsahuje emicizumabum 30 mg v 1ml injekčního roztoku. Injekční lahvička 3 ml, Hemlibra s koncentrací 150 mg/ml obsahuje emicizumabum 60 mg v 0,4 ml injekčního roztoku, nebo obsahuje emicizumabum 105 mg v 0,7 ml injekčního roztoku, nebo obsahuje emicizumabum 150 mg v 1 ml injekčního roztoku. Balení obsahuje vždy jednu injekční lahvičku. **Podmínky uchování:** Uchovávejte v chladničce (2–8 °C). Neotevřené injekční lahvičky lze po vyjmutí z chladničky uchovávat při pokojové teplotě (do 30 °C) až po dobu 7 dnů. Chrňte před mrazem a před světlem. **Datum poslední revize textu:** 11. 4. 2019.

▼ Tento léčivý přípravek podléhá dalšímu sledování. To umožní rychlé získání nových informací o bezpečnosti. Žádáme zdravotnické pracovníky, aby hlásili jakákoliv podezření na nežádoucí účinky na [www.sukl.cz/nahlasit-nezadouci-ucinek](http://www.sukl.cz/nahlasit-nezadouci-ucinek).

Výdej léčivého přípravku je vázán na lékařský předpis. Léčivý přípravek je v indikaci rutinní profylaxe krvácivých epizod u pacientů s hemofilií A s inhibitory faktoru VIII hrazen z prostředků veřejného zdravotního pojištění. Léčivý přípravek zatím není hrazen u pacientů s těžkou hemofilií A bez inhibitoru. Podmínky úhrady viz [www.sukl.cz](http://www.sukl.cz). Další informace o přípravku získáte z platného Souhrnu údajů o přípravku Hemlibra, nebo na adrese Roche s.r.o., Sokolovská 685/136f, 186 00 Praha 8, Tel: +420 220 382 111. Podrobné informace o tomto přípravku jsou uveřejněny na webových stránkách Evropské lékové agentury (EMA) <http://www.ema.europa.eu/>.

Edukační materiály v tištěné formě: návod pro lékaře, návod pro laboratorní pracovníky, návod pro pacienty a karta pacienta jsou u zástupců firmy Roche k dispozici na vyžádání. Jejich účelem je informovat o tromboembolických příhodách (spojených s emicizumabem a aPCC), o trombotické mikroangiopatii (spojené s emicizumabem a aPCC) a o život ohrožujícím krvácení způsobeném nesprávným vykladem standardních koagulačních testů.

\* Všimněte si, prosím, změn v informacích o léčivém přípravku.



## OBSAH

**Úvodník**

Editorial

**25 let časopisu .....7****25 years of the journal**

Faber E.

**Transfuze a hematologie dnes - průřez historií .....7****Transfusion and Haematology Today - historical overview**

Masopust J.

**Souhrnné/edukační práce**

Review/Educational Papers

**Vývoj transfuzní služby v České republice po roce 1990 ..... 11****Development in the Blood Transfusion Service of the Czech Republic over the year 1990**

Turek P.

**25 let nepřibuzenského darování krvetvorných buněk ..... 20****25 years of unrelated stem cells donation**

Jindra P.

**Vývoj transplantací hematopoetických buněk v posledních 25 letech ..... 26****Developments in haematopoietic stem cell transplantation over the past 25 years**

Cetkovský P.

**25 roků podpornej antiinfekčnej liečby v hematoonkologii ..... 30****25 years of supportive anti-infective treatment in haemato-oncology**

Drgoňa Ľ.

**25 let vývoje metod molekulární biologie a jejich uplatnění v hemato(onko)logii ..... 34****Development of molecular biology methods and their applications in haemato(onco)logy in the last 25 years**

Machová Poláková K., Čuřík N., Votavová H., Trka J.

**25 let vývoje dětské hematologie ..... 43****25 years of developments in paediatric haematology**

Starý J., Blatný J., Pospíšilová D.

**25 roků v komplexnej starostlivosti a liečbe hemofílie ..... 50****25 years in comprehensive care and treatment of haemophilia**

Bátorová A.

**Ohlédnutí za vývojem antitrombotické profylaxe s akcentem na posledních 25 let ..... 56****Looking back at developments in antithrombotic prophylaxis, focusing on the past 25 years**

Penka M., Matýšková M., Michalcová J.

**Chronická lymfocytární leukemie - současné využití moderních prognostických a prediktivních faktorů v diagnostice ..... 66****Chronic lymphocytic leukaemia - contemporary application of modern prognostic and predictive markers in diagnostics**

Pospíšilová Š., Jarošová M., Doubek M.

**Ohlédnutí za čtvrtstoletím léčby chronické lymfocytární leukémie..... 72**

**Evolution of chronic lymphocytic leukemia treatment over the past 25 years**

Papajík T., Urbanová R., Turcsányi P.

**Non-Hodgkinův lymfom v České republice..... 81**

**Non-Hodgkin lymphomas in the Czech Republic**

Trněný M.

**Hodgkinův lymfom -nekončící příběh ..... 87**

**Hodgkin lymphoma - endless story**

Marková J.

**Vývoj diagnostiky a léčby mnohočetného myelomu v průběhu posledních 25 let ..... 96**

**Developments in the diagnosis and treatment of multiple myeloma over the past 25 years**

Hájek R.

**Posledních 25 let v diagnostice a léčbě myelodysplastického syndromu .....108**

**Last 25 years in the diagnosis and treatment of myelodysplastic syndrome**

Čermák J.

**Vývoj léčby chronické myeloidní leukémie v posledních 25 letech .....118**

**Development of chronic myeloid leukaemia treatment over the past 25 years**

Faber E., Indrák K.

**Původní práce**

Original Papers

-

**Doporučené postupy**

Guidelines

-

**Kongresy • Symposia • Konference • Studijní pobyty**

Congresses • Symposium • Conferences • Educational Exchange

-

**Výběr z tisku a zprávy o knihách**

Selection of the Press and Reports of New Book

-

**Zprávy odborných společností**

News of the Societies

-

**Dopisy redakci • Diskuse**

Letters to the Editor • Discussion

-

**Zprávy**

News

-

# První a jediná imunostimulační protilátka proti SLAMF7 v kombinaci s Rd\* k léčbě pacientů s mnohočetným myelomem a nejméně jednou předchozí terapií<sup>1</sup>

**AKTIVACE** IMUNITNÍHO SYSTÉMU<sup>2,3</sup>  
**PRO DLOUHODOBOU ÚČINNOST**<sup>4,5</sup>



Empliciti® je první a jediná imunostimulační protilátka, která přímo aktivuje NK-buňky cestou SLAMF7. Léčba přípravkem Empliciti® v kombinaci s Rd\* prokázala signifikantně delší udržení PFS\* v porovnání s léčbou Rd\* (HR 0,68 [97,6% CI, 0,55, 0,85]; P = 0,0001).<sup>1-5</sup>

\*Rd = lenalidomid (Revlimid) + dexamethason  
PFS = přežití bez progresu [progression free survival]

# Empliciti® (elotuzumab)

▼ Tento léčivý přípravek podléhá dalšímu sledování.

#### ZKRÁCENÁ INFORMACE O PŘÍPRAVKU

**NÁZEV PŘÍPRAVKU:** EMPLICITI 300 mg prášek pro koncentrát pro infuzní roztok. EMPLICITI 400 mg prášek pro koncentrát pro infuzní roztok **SLOŽENÍ:** Jedna injekční lahvička obsahuje elotuzumabum 300 mg nebo 400 mg. **FARMAKOTERAPEUTICKÁ SKUPINA:** antineoplastické látky; monoklonální protilátky. **ATC KÓD:** L01XC23. **INDIKACE:** V kombinaci s lenalidomidem a dexametasonem k léčbě mnohočetného myelomu u dospělých po nejméně jedné předchozí terapii. **DÁVKOVÁNÍ A ZPŮSOB PODÁNÍ:** Doporučená dávka přípravku Empliciti je 10 mg/kg intravenózně jednou týdně (28denní cyklus) v prvních dvou cyklech, a poté každé dva týdny 1. a 15. den. Doporučená dávka lenalidomidu je 25 mg perorálně jednou denně 1-21. den v opakovaných 28denních cyklech, a nejméně 2 hodiny po infuzi přípravku Empliciti, je-li podáván týž den. Podávání dexamethasonu je následující: v den, kdy je podán přípravek Empliciti, musí být podán dexamethason 28 mg perorálně jednou denně v rozmezí 3 až 24 hodin před přípravkem Empliciti plus 8 mg intravenózně v rozmezí 45 až 90 minut před přípravkem Empliciti 1., 8., 15. a 22. den opakovaných 28denních cyklů. V den, kdy přípravek Empliciti není podáván, ale je naplánovaná dávka dexamethasonu (8. a 22. den třetího a dalších následných cyklů), musí být dexamethason podán perorálně v dávce 40 mg. Přípravek Empliciti je určen pouze k intravenóznímu podání. Pro podrobnější informace viz Souhrn údajů o přípravku. **KONTRAINDIKACE:** Hypersenzitivita na léčivou látku nebo na kteroukoli pomocnou látku tohoto přípravku. Před zahájením léčby je třeba se seznámit s údaji pro léčivé přípravky použité v kombinaci. **ZVLÁŠTNÍ UPOZORNĚNÍ:** Reakce na infuzi. Před infuzí přípravku Empliciti musí být podána premedikace sestávající z dexamethasonu, H1 blokátoru, H2 blokátoru a paracetamolu. Výskyt reakcí na infuzi byl mnohem vyšší u pacientů, kteří nebyli premedikováni. Přípravek Empliciti se používá v kombinaci s dalšími léčivými přípravky; proto se na kombinovanou terapii vztahují podmínky použití platné pro tyto léčivé přípravky. Četnost výskytu infekcí. Vyšší výskyt dalších primárních malignit. Pro podrobnější informace viz Souhrn údajů o přípravku. **INTERAKCE S JINÝMI LÉČIVÝMI PŘÍPRAVKY A JINÉ FORMY INTERAKCE:** Studie farmakokinetických interakcí nebyly provedeny. Pro podrobnější informace viz Souhrn údajů o přípravku. **TĚHOTENSTVÍ A KOJENÍ:** Přípravek nemají užívat ženy, které mohou otěhotnět a mají používat účinnou antikoncepci. Mužští pacienti musí používat účinnou antikoncepci, a to během léčby a ještě 180 dnů po ní, pokud je jejich partnerka těhotná nebo ve fertilním věku a neužívá účinnou antikoncepci. Elotuzumab se podává v kombinaci s lenalidomidem, který je během těhotenství kontraindikován. Není známo, zda se elotuzumab vylučuje do mateřského mléka. Elotuzumab se podává v kombinaci s lenalidomidem, kojení tak má být kvůli užívání lenalidomidu ukončeno. Před zahájením léčby je nutné se seznámit se souhrny údajů o přípravku pro všechny léčivé přípravky použité v kombinaci s přípravkem Empliciti. Viz Souhrn údajů o přípravku. **NEŽÁDOUCÍ ÚČINKY:** Většina nežádoucích účinků byla mírného až středně závažného stupně (stupeň 1 nebo 2). Nejzávažnějším nežádoucím účinkem, který se může vyskytnout, je pneumonie. Nejčastějšími nežádoucími účinky (vyskytující se u > 10 % pacientů) byly reakce spojené s infuzí, průjem, herpes zoster, nazofaryngitida, kašel, pneumonie, infekce horních cest dýchacích, lymfopenie a snížená hmotnost. Pro další informace viz Souhrn údajů o přípravku. **VELIKOST BALĚNÍ:** Injekční lahvička. **UCHOVÁVÁNÍ:** Uchovávejte v chladničce (2° C-8° C). **DRŽITEL ROZHODNUTÍ O REGISTRACI:** Bristol-Myers Squibb Pharma EEIG, Dublin, Irsko. **REGISTRAČNÍ ČÍSLO:** EU/1/16/1088/001-002. **DATUM REGISTRACE:** 11. 5. 2016. **DATUM POSLEDNÍ REVIZE TEXTU:** 02/2019.

Výdej přípravku EMPLICITI je vázán na lékařský předpis. Dříve než předepíšete tento lék, přečtěte si prosím úplné znění Souhrnu údajů o přípravku.

Podrobnější informace o tomto přípravku jsou uveřejněny na webových stránkách Evropské lékové agentury (EMA) <http://www.ema.europa.eu> nebo jsou dostupné na adrese Bristol-Myers Squibb spol. s r.o., Budějovická 778/3, 140 00 Praha 4, tel: +420 221 016 111.

**POUZE PRO ODBORNOU VEŘEJNOST.**

Reference: 1. SPC přípravku Empliciti, únor 2019. 2. Hsi ED et al. Clin Cancer Res. 2008;14(9):2775-84. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-07-4246. 3. Collins SM et al. Cancer Immunol Immunother. 2013;62(12):1841-9. doi: 10.1007/s00262-013-1493-8. 4. Lonial S et al. N Engl J Med. 2015;373(7):621-31. doi: 10.1056/NEJMoa1506654. 5. Dimopoulos M et al. Cancer. 2018;124:4032-4043. doi: 10.1002/cncr.31680.

# TRANSFUZE A HEMATOLOGIE

## *dnés*

číslo 1 • květen • ročník 25/2019

### VEDOUcí REDAKTOR

prof. MUDr. Edgar Faber, CSc.  
Hemato-onkologická klinika Fakultní nemocnice, Olomouc

### REDAKCE

#### ZA SPOLEČNOST PRO TRANSFUZNÍ LÉKAŘSTVÍ

MUDr. Petr Turek, CSc., hlavní redaktor pro transfuzní lékařství  
Transfuzní oddělení, Thomayerova nemocnice, Praha  
MUDr. Dana Galuszková, Ph.D., MBA  
Transfuzní oddělení Fakultní nemocnice Olomouc  
MUDr. Hana Lejdarová  
Transfuzní a tkáňové oddělení FN Brno  
MUDr. Martin Písačka  
Ústav hematologie a krevní transfuze Praha  
MUDr. Vít Řeháček  
Transfuzní oddělení Fakultní nemocnice, Hradec Králové

#### ZA ČESKOU HEMATOLOGICKOU SPOLEČNOST

MUDr. Jan Blatný, Ph.D.  
Oddělení dětské hematologie, Fakultní nemocnice Brno  
prof. MUDr. Edgar Faber, CSc., hlavní redaktor pro hematologii  
Hemato-onkologická klinika, Fakultní nemocnice Olomouc  
doc. MUDr. Luboš Drgoňa, CSc.  
Klinika onkohematologie, Národní onkologický ústav Bratislava  
MUDr. Zdeněk Kořístek, Ph.D.  
Klinika hematoonkologie, Fakultní nemocnice Ostrava  
prof. MUDr. Marta Krejčí, Ph.D.  
Interní hematologická a onkologická klinika, Fakultní nemocnice Brno  
doc. MUDr. Daniel Lysák, Ph.D.  
Hematoonkologické oddělení, Fakultní nemocnice Plzeň  
Mgr. Kateřina Machová Poláková, Ph.D.  
Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha  
MUDr. Martin Šimkovič, Ph.D.  
IV. interní hematologická klinika, Fakultní nemocnice, Hradec Králové

### REDAKČNÍ RADA

#### ZA SPOLEČNOST PRO TRANSFUZNÍ LÉKAŘSTVÍ

MUDr. Petr Biedermann  
Transfuzní oddělení Nemocnice České Budějovice  
plk. MUDr. Miloš Bohoněk, Ph.D.  
Odd. hematologie, biochemie a krevní transfuze  
Ústřední vojenská nemocnice, Praha  
doc. MUDr. Zuzana Čermáková, Ph.D.  
Krevní centrum Fakultní nemocnice, Ostrava  
MUDr. Dana Galuszková, Ph.D., MBA  
Transfuzní oddělení Fakultní nemocnice, Olomouc  
doc. MUDr. Zdenka Gašová, CSc.  
Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha  
MUDr. Růžena Herynková  
Transfuzní oddělení Fakultní nemocnice, Plzeň  
MUDr. Jitka Kraciková  
Transfuzní oddělení Fakultní nemocnice Královské Vinohrady, Praha  
MUDr. Libuše Pagáčová  
Autotransfuzní jednotka PLM Institutu klinické a experimentální  
medicíny, Praha  
MUDr. Renata Procházková, Ph.D.  
Transfuzní oddělení Krajské nemocnice, Liberec  
MUDr. Eva Tesařová  
Transfuzní oddělení a krevní banka Fakultní nemocnice, Brno

#### ZA ČESKOU HEMATOLOGICKOU SPOLEČNOST

prof. MUDr. Angelika Bátorová, CSc.  
Klinika hematologie a transfúziologie, Univerzitní nemocnice  
Bratislava  
doc. MUDr. Jaroslav Čermák, CSc.  
Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha  
prof. MUDr. Tomáš Kozák, Ph. D., MBA  
Interní hematologická klinika, Fakultní nemocnice  
Královské Vinohrady, Praha  
prof. MUDr. Jiří Mayer, CSc.  
Interní hematologická a onkologická klinika, Fakultní nemocnice Brno  
prof. MUDr. Tomáš Papajik, CSc.  
Hemato-onkologická klinika, Fakultní nemocnice Olomouc  
prof. MUDr. Jan Starý, CSc.  
Klinika dětské hematologie a onkologie, Fakultní nemocnice Motol, Praha  
prof. MUDr. Marek Trněný, CSc.  
I. interní klinika – klinika hematologie Všeobecná fakultní nemocnice Praha  
doc. MUDr. Pavel Žák, Ph. D.  
IV. interní hematologická klinika, Fakultní nemocnice, Hradec Králové





Příprava smíšené plazmy v prostorách transfuzního oddělení v Tomešově ulici v Brně. Fotografie byla poskytnuta primářkou MUDr. Danou Galuszkovou, Ph.D., MBA z Transfuzního oddělení FN Olomouc.

Vydání časopisu bylo podpořeno Ministerstvem zdravotnictví České republiky.

<http://www.cls.cz>

© Česká lékařská společnost Jana Evangelisty Purkyně, Praha 2019

## TRANSFUZE A HEMATOLOGIE DNES

Online verze časopisu na: [www.prolekare.cz/tmd](http://www.prolekare.cz/tmd)

Registraci a zadáním svého předplatitelského kódu, který najdete na přebalu časopisu, získáte přístup do online verze časopisu a jeho archivu.

Kontakt pro dotazy: [info@prolekare.cz](mailto:info@prolekare.cz) nebo +420 602 244 819



**Vedoucí redaktor**  
prof. MUDr. Edgar Faber, CSc.

**Odpovědná redaktorka**  
Ing. Lenka Špíchalová  
e-mail: [lenkaspichalova@hotmail.com](mailto:lenkaspichalova@hotmail.com)

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

**Pro ČLS JEP  
připravuje Mladá fronta a. s.**



**Generální ředitel:**  
Ing. Jan Mašek

**Ředitel divize Medical Services**  
Karel Novotný, MBA

**Koordinátor odborných časopisů ČLS JEP**  
MUDr. Michaela Lízlerová

**Grafická úprava, sazba:**  
Jan Borovka

### Marketing a distribuce

ředitel marketingu, výroby a distribuce:  
Jaroslav Aujezdský  
Brand Manager: Petra Trojanová

**Tisk: GRAFOTECHNA PLUS, s.r.o.**

**V ČR rozšiřuje: SEND Předplatné, spol. s r.o.,**  
Ve Žlíbku 1800/77, hala A3, 193 00 Praha 9  
Tel.: 225 985 225, Mobil: 777 330 370  
Email: [mf@send.cz](mailto:mf@send.cz), [www.send.cz](http://www.send.cz)

**V SR: Mediaprint Kapa – Pressegrasso, a. s.,**  
Vajnorská 137, P.O. BOX 183  
831 04 Bratislava

**Vychází: 4krát ročně**  
**Předplatné:** na rok pro ČR je 320 Kč,  
SR 19,20 €, jednotlivé číslo 80 Kč,  
SR 4,80 €.

**Informace o předplatném podává  
a objednávky předplatitelů přijímá:**  
ČLS JEP, Sokolská 31, 120 26 Praha 2,  
tel.: 296 181 805  
e-mail: [nto@cls.cz](mailto:nto@cls.cz)

**Inzerce:** Ing. Kristína Kupcová  
[kupcova@mf.cz](mailto:kupcova@mf.cz); 225 276 355

### Rukopisy zasílejte v elektronické formě na adresu:

[Edgar.Faber@fnol.cz](mailto:Edgar.Faber@fnol.cz),  
prof. MUDr. Edgar Faber, CSc.,  
Hemato-onkologická klinika FN Olomouc,  
I. P. Pavlova 6, 775 20 Olomouc

Rukopis byl předán do výroby 29. 3. 2019.  
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 jakýmkoliv způsobem, ať již mechanickým nebo elektronickým, včetně pořizování fotokopii, nahrávek, informačních databází na magnetických nosičích bez písemného souhlasu vlastníka autorských práv a vydavatelského oprávnění.

Vážení čtenáři,

v rukou držíte první číslo letošního jubilejního 25. ročníku časopisu. Redakce se rozhodla tohoto významného výročí využít a sestavit „bilanční“ speciální vydání. Vyzvali jsme přední odborníky, kteří byli tak laskavi, že přes svou vytíženost připravili přehledové články věnované změnám ve vybraných oblastech hematologie a transfuzního lékařství během posledních 25 let. Každý z oslovených expertů k tématu pochopitelně přistoupil z poněkud jiného úhlu a svým osobitým stylem, což záměru jen prospělo. Dostává se k Vám tak pestrá mozaika toho, co se událo v hematologii i transfuziologii za poslední čtvrtstoletí s důrazem na dění v České republice. Pamětníci si jistě velmi dobře vzpomínají na období, které dokumentuje fotografie na titulní straně. Těm mladším je vhodné zase připomenout, že to není tak dávno, co byla krev pro transfuze odebírána do transfuzních lahví, místo koncentrátu faktoru VIII se podával kryoprecipitát nebo byly nově zavedeny separátory krevních elementů. Všem je nezbytné připomenout, že náš časopis dění a změny

reflekoval. Odkazy na příslušné publikace najdete v seznamech literatury jednotlivých článků. Samozřejmě, výčet novinek, které se během posledních dvou desítek let dostaly do běžné praxe, by sám o sobě mohl zabrat prostor několika stran. Důležitější je ale to, kam se podařilo dostat úroveň výzkumu, kvalitu péče o nemocné nebo kooperaci ať už v rámci republiky či Evropy. Ještě větší význam má pravděpodobně to, co teprve přijde: zkuste si tedy představit, co všechno nás v hematologii a transfuzním lékařství čeká během budoucích 25 let. Redakce časopisu pracuje na novinkách již nyní: nově bude každý přijatý rukopis předběžně zveřejněn před vydáním tiskem „on-line“ na internetových stránkách [www.prolekare.cz](http://www.prolekare.cz). Připravujeme nový portál časopisu, který by ulehčil autorům odesílání příspěvků, zrychlil recenzní řízení a pomohl v práci redaktorům. Dlouhodobým cílem zůstává zařazení našeho časopisu do databáze PubMed a další zlepšování jeho vědeckého impaktu.

**Edgar Faber**



## Transfuze a hematologie dnes – průřez historií

### PREAMBULE

Současný vedoucí redaktor časopisu *Transfuze a hematologie dnes* prof. MUDr. Edgar Faber, CSc., mne požádal o sepsání článku o historii našeho časopisu. Vnímám to jako poctu, ale zároveň i jako nálepku letitého pamětníka, který se vezl v podpalubí, na palubě i za kormidlem tohoto 25letého škuneru. Co nejsem ve svém příspěvku schopen splnit, a vedoucímu redaktorovi se tímto omlouvám, je požadovaná formální úprava (souhrn, úvod, soubor pacientů a metody, výsledky, diskuse, závěr). Nějak mi to k historickému přehledu nepasuje.

### DOBA PRENATÁLNÍ

Myšlenka založení odborného periodika vznikla již v roce 1990 v porevolučně otevřených myslích pracovníků Fakultního transfuzního oddělení Fakultní nemocnice I s poliklinikou v Praze pod vedením primáře MUDr. Vladimíra Veselého, CSc. Prvotní snahou byla distribuce odborných zpráv, novinek a organizačních informací z činnosti tehdy ještě československé transfuzní služby s tím, že se jedná o přelomové období, než bratislavští

kolegové obnoví řádný časopis transfuzní služby (volně citováno z prvního samizdatového čísla). Výběr názvu nepravidelného bulletinu byl zcela nepochybně inspirován společenským časopisem ISBT (International Society of Blood Transfusion) *Transfusion today*. Naštěstí se copyright nikdy neřešil. Prvních devět vydání v počtu 300–400 kopií kompletně vyťukali jejich autoři na psacím stroji, překlady se především vzhledem k pracnosti neřešily.

Paralelně s informačním bulletinem spatřil světlo světa, přesněji byl spatřen svými čtenáři, v roce 1991 nový federální odborný časopis *Hematológia & transfuziológia*, vydávaný Společností pro hematologii a transfuzní službu ČSFR, kde jednoznačně převažovala hematologická témata a hematologičtí redaktori.

### ZROZENÍ ČASOPISU

Československo se od roku 1993 nenásilně rozdělilo do dvou suverénních států. Ještě 2 roky byla česká odborná veřejnost zásobována příspěvky cyklostylovanými Transfuzní sekcí České společnosti pro hema-

## ÚVODNÍK

tologii a krevní transfuzi, později již nově založenou Společností pro transfuzní lékařství. Projekt pohrobka již dříve zmíněného federálního časopisu postupně skomíral. Konečně v roce 1995 byl ustanoven pětičlenný porodní a ošetrovatelský tým (MUDr. V. Veselý, CSc., MUDr. P. Biedermann, Z. Pospíšilová, J. Ohrablová, J. Kukučka) vedený šéfredaktorem MUDr. Vladimírem Kulichem. Finančním kmotrem se stala firma DiagHuman. Tím se na planetě odborného tisku zrodil nový jedinec toužící po dlouhém životě.

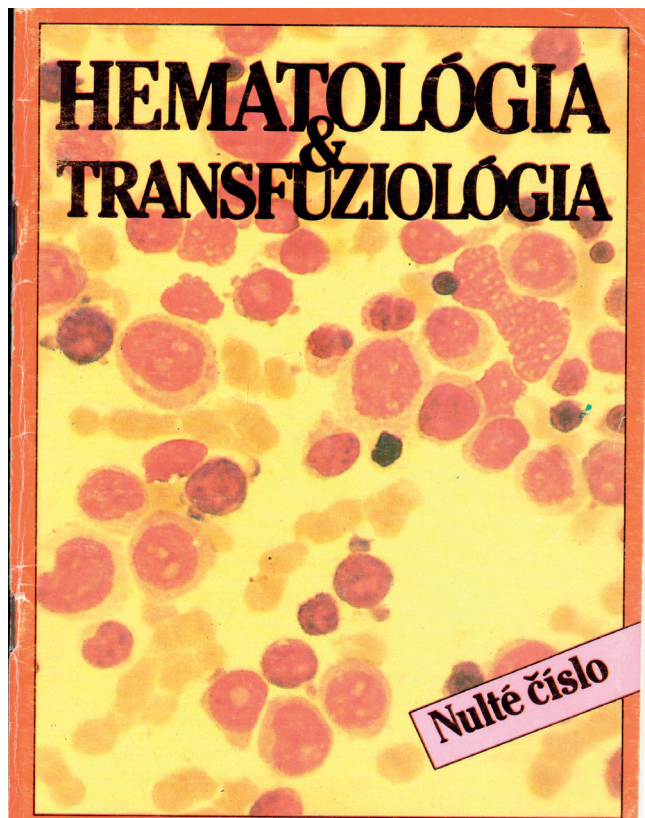
### RANÉ DĚTSTVÍ

Novorozenec našťestí nezůstal nahý. Oděl se do prostého, ale barevného oblečku, na prsa si připnul znak Společnosti pro transfuzní lékařství a na záda kmotrovské logo. Byla nastavena kvartální periodičita. Jednotlivá čísla byla jednotně strukturována, zahrnovala původní práce, zprávy z domácích a zahraničních odborných akcí, odborné informace, zprávy ze zahraničních cest a dopisy čtenářů. Původní práce obvykle neměly standardní členění (Úvod, Materiál a metodika, Výsledky, Diskuse a Závěr). Nutno však podotknout, že většinu odborných sdělení tvořily přehledné články. Neprobíhalo recenzní řízení, neprováděly se jazykové korekce. Odborných

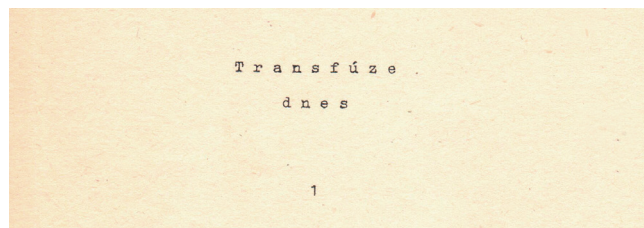
článků nebylo mnoho, převažovaly zprávy z kongresů a takzvané odborné informace či zprávy, pod jejichž pokličku se vešlo prakticky cokoliv od zápisů ze schůzí či pracovních jednání, přes různá odborná stanoviska, informace firem až po pozvánky na odborné akce či vzpomínky na zemřelé či ještě živé kolegy. V batolecím věku byl časopis docela „hubeňour“, jeho PMI (*page mass index*) čítal maximálně 20 stran, později trochu již trochu přibral, ale přes PMI 30 se nepropracoval.

### DOSPÍVÁNÍ

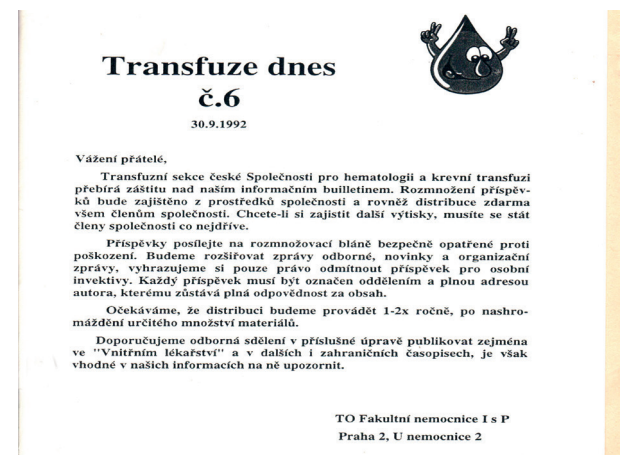
Mystický rok 2000 znamenal v životě časopisu velký zlom. Výbor Společnosti pro transfuzní lékařství rozhodl po dohodě se zástupci firmy DiagHuman o převodu *Transfuze dnes* do početné rodiny odborných periodik České lékařské společnosti JEP pod křídla Nakladatelského a tiskového střediska této organizace. Jeho novými staršími bratry se tak staly například Časopis lékařů českých nebo Vnitřní lékařství. Časopis získal nové šaty, redakční radu a přísnější vedení autorských prací zajištěné vychovatelskou suitou recenzentů a odpovědné redaktorky. Byl ocejchován značkou ISSN a excerpován v Bibliographia medica Českoslovacca. *Transfuze dnes* nabídla svou náruč i problematice styčné s transfuzním lékařstvím, jako



Obr. 1. Slovensko-český časopis Hematológia – transfuziológia



Obr. 2. První cyklostylované číslo



Obr. 3. Bulletin zaštiťuje Transfúzní sekce České společnosti pro hematologii a krevní transfuzi

jsou hematologie, obory intenzivní péče, imunologie, mikrobiologie a další. Roztomilé batolení se tak postupně přetavilo v pevnější chůzi a sebevědomější vystupování. Časopis zesílil na zhruba 40 stran. V září 2001 došlo k opětovnému časopiseckému spojení dvou větví jednoho oborového stromu s košatou korunou redakce a redakční rady zastupující Společnost pro transfuzní lékařství a Českou hematologickou společnost. Počet redaktorů a radních se rozrostl na úctyhodných třicet, což nebylo obvyklé ani u mnoha renomovanějších časopisů, ale dávalo to naději na podporu *Transfuze dnes* napříč celou republikou i vzhledem k tomu, že všem členům obou odborných společností přicházely do schránek zdarma. Přítomnost hematologů nalila novou mízu v podobě odborných publikací postupně zastiňujících původní hlavní peň, ale od roku 2002 také vznik nové křížené odrůdy s nečekaně inovativním názvem *Transfuze a hematologie dnes*. Poměr recenzovaných publikací k ostatním příspěvkům se výrazně vychýlil ve prospěch těch prvních. Objevily se přílohy či samostatné suplementy s doporučeními odborných společností, s monotematickým zaměřením na diagnostické a léčebné postupy a také sborníky postgraduálních přednášek či abstrakt z významných celostátních sjezdů. Výrazně posílený časopis také přilákal silné sponzory,

bez jejichž vydatného finančního zavlažování by časopis záhy zchřadnul či zahynul, jak se to přihodilo několika jiným odborným periodikům. Ačkoliv finance nebyly prakticky žádnou brzdou, ke zpomalování dalšího růstu vedl především nedostatek kvalitních rukopisů a ne vždy dostatečně rychlá odezva recenzentů či autorů způsobující někdy i výrazný časový skluz plánovaného harmonogramu. K nalákání dalších kvalitních autorů mělo sloužit ocenění za nejlepší práci publikovanou v daném ročníku, což se zcela jednoznačně neprojevovalo, ale alespoň se zvýšila autorská prestiž v rámci transfuziologické komunity. Stejně jako v přírodě se střídaly roky s větší či menší úrodou, s chutnějším či méně stravitelným obsahem. V jubilejním desátém roce života po zdánlivě nadějném ročním očekávání byla z National Library of Medicine do redakce zaslána odmítavá odpověď na žádost o zařazení časopisu do Index Medicus/MEDLINE, což časopis *Transfuze a hematologie dnes* zakonzervovalo v řadách časopisů spíše „nižší“ kategorie, alespoň z pohledu citovanosti a prestižnosti. Postup mezi výběrové odrůdy medicínských periodik se tedy zcela nezdařil. V roce 2008 došlo k další změně zevního vzhledu, když titulní stranu začaly zdobit obrázkové výjevy především z cytologické morfologie. V hodnocení citovanosti v databázi Scopus do-



Obr. 4. Transfuze dnes se stává časopisem



Obr. 5. Časopis vydává Česká lékařská společnost J. E. Purkyně

## ÚVODNÍK

kázal časopis v tomto období svého života obsadit 6. místo mezi lékařskými souputníky, bohužel jen jednorázově.

## DOSPĚLOST

V magickém roce 2012, ve kterém Mayové předpověděli podle některých konec světa, podle jiných jen konec jedné epochy, připravilo vedení České lékařské společnosti JEP k dosažení plnoletosti *Transfuze a hematologie dnes* dárek v podobě rozhodnutí předat svůj poněkud prořídilý sad odborných časopisů jinému nakladateli, a to Mladé frontě, a. s. Bez předchozího projednání s výbory odborných společností, bez jasné koncepce a podmínek. Po četných někdy i bouřlivých následných jednáních byl oběma odbornými společnostmi přijat nový koncept ozdobený výraznou grafickou změnou ve prospěch barevnosti a modernosti. Kontinuita zůstala zachována s větším důrazem na edukační přehledné články. Tradiční rubriky se nezměnily. Pokyny pro autory také. Bohužel také přetrvávala omezená tvůrčí plodnost či ochota autorů. Mnohé původní práce putovaly do jiných časopisů s viditelným impakt faktorem, přehledné články pak proudily do nerecenzovaných periodik pohybujících se na hraně populárně naučného světa. Chronická neúroda se jen neochotně střídala s vý-

jimečnou nadúrodou. V roce 2017 se chopil uvolněného kormidla nový vedoucí redaktor a zdá se, že se mu daří zdárně proplouvat zrádnými mělkými vodami autorského zájmu do čtenářských přístavů.

## ZÁVĚR

Časopis *Transfuze a hematologie dnes* přes všechna protivitství završil čtvrtstoletí své existence a rozhodně se nemá za co stydět. Jeho budoucnost, ať nadále tištěná či možná jen elektronická, je pouze v rukách, v myslích a srdcích všech členů Společnosti pro transfuzní lékařství a České hematologické společnosti. Je na nich, kolik budou ochotni pro časopis vynaložit svého času a sil pro jeho zachování po další léta.

**MUDr. Jiří Masopust**

Transfuzní oddělení, KZ, a. s.,  
Masarykova nemocnice, o. z.  
Sociální péče 3316/12A  
400 02 Ústí nad Labem  
e-mail: jiri.masopust@kzcr.eu



Obr. 6. Spojení dvou sesterských odborných společností vede k novému názvu časopisu



Obr. 7. Novým vydavatelským partnerem se stává Mladá fronta, a. s.

# Vývoj transfuzní služby v České republice po roce 1990

**Turek P.**

Transfuzní oddělení, Thomayerova nemocnice, Praha

*Transfuzie Hematol. dnes, 25, 2019, No. 1, p. 11-19*

## SOUHRN

Transfuzní lékařství a transfuzní služba v České republice (ČR) prošly za posledních 25 let dramatickými změnami: ideově i technologicky zaostalý obor, který jen s obtížemi a neúplně pokrýval potřeby praxe, velmi rychle dohnal to, co v předchozích letech zameškal. Již v první polovině 90. let minulého století došlo k přechodu z odběrů do skleněných láhví na práci s krevními vaky, to umožnilo výrobu kvalitních transfuzních přípravků. Podařilo se stabilizovat dárcovskou základnu. Spolupráce se zahraničními zpracovateli plazmy urychlila zavádění správné výrobní praxe (SVP), legislativně byly požadavky SVP ukotveny ve druhé polovině 90. let. Postupně se prosazovala automatizace laboratorního vyšetření i zpracování odebrané krve a krevních složek a výroby transfuzních přípravků. V produkci transfuzních přípravků je ČR soběstačná, v posledních letech se postupně prosazují modernější a bezpečnější transfuzní přípravky (deleukotizace, používání resuspenzních roztoků, výběr dárců plazmy ...). Produkce plazmy pro průmyslové zpracování je vysoká. Organizační struktura transfuzní služby se změnila jen nevýrazně, produkci i nadále zajišťuje síť vzájemně nezávislých zařízení transfuzní služby, i když některá z nich omezila spektrum své činnosti a odesílají odebranou krev ke zpracování do větších zařízení. Důsledkem je „poměrně značná pestrost“ pracovních postupů (týká se i vyšetřování infekčních markerů nad rámec povinného minima), což činí situaci málo přehlednou pro kliniky. Použití transfuze odpovídá evropským standardům, prosazuje se účelná hemoterapie, velká pozornost je věnována hemovigilanci. Při relativně příznivé epidemiologické situaci je přenos infekce krevní transfuzí poměrně vzácnou (nikoli však vyloučenou) událostí. Výzvou do budoucnosti zůstává standardizace pracovních postupů (zčásti vázáno na organizační strukturu), zvyšování bezpečnosti transfuze (včetně standardizace vyšetření infekčních markerů) a zajištění dostupnosti léčby při měnící se věkové struktuře české populace (ubývá potenciálních dárců a rychle přibývá potenciálních příjemců transfuze).

## KLÍČOVÁ SLOVA

transfuzní služba v ČR – darování krve – výroba transfuzních přípravků – hemoterapie

## SUMMARY

**Turek P.**

### Development in the Blood Transfusion Service of the Czech Republic over the year 1990

The Blood Transfusion Service and Transfusion Medicine in the Czech Republic have seen dramatic changes over the past 25 years: obsolete principles and technology hardly meeting the needs of other medical fields have been quickly replaced by up-to-date technologies. Collection of blood into glass bottles has been replaced by collection into plastic bags and production of high quality blood components began in the mid-90s. The donor pool has stabilized. Cooperation with foreign plasma-processing companies has sped up the implementation of good manufacturing practice (legal requirements for GMP were set in 1997). Automatization of laboratory testing and processing of collected blood is continuing progressively. The Czech Republic is self-sufficient in the production of blood components and modern, safer products have been introduced in the past years (leukodepletion, resuspension of blood cells in artificial solutions, selection of plasma donors to decrease TRALI risk ...). Production of plasma for fractionation is also on the rise. The organisation structure remains hospital-based, although some centres limit their activities to blood collection and sending blood for processing to bigger centres. This results in a relatively wide spectrum of products and procedures making the situation difficult to understand for clinicians. Transfusion use corresponds to European standards, rational haemotherapy is implemented and significant attention is given to haemovigilance. Due to the favourable epidemiological situation and safety measures, transmission of infection via blood is rare (but not inexistent). Standardization of procedures (related to complex organisation) and ensuring general availability of blood products for our patients remains a challenge for the future.

## KEY WORDS

Czech Blood Transfusion Service – blood donation – production of blood components – haemotherapy

## ÚVOD

V období posledních 25 let prošly transfuzní služba i transfuzní lékařství jako lékařský obor v ČR poměrně významnými změnami. I přesto, že ve sledovaném období nalezneme několik uzlových bodů, probíhal vývoj při zpětném hodnocení až překvapivě hladce a technologicky i ideově zastaralá transfuzní služba se dostala na úroveň obvyklou v civilizovaných zemích. V kvantitativních údajích vychází práce z údajů o činnosti zařízení transfuzní služby tradičně shromažďovaných a publikovaných Ústavem zdravotnických informací a statistiky (ÚZIS), Ministerstvem zdravotnictví (MZ), Státním ústavem pro kontrolu léčiv (SÚKL) i odbornou společností [1-4], strohá čísla a grafy jsou doplněny rozbořením klíčových změn a událostí v osmi oblastech činnosti. Rozdíly v úrovni oboru jsou nejlépe patrné při srovnání současné situace a stavu na počátku devadesátých let minulého století.

## ORGANIZACE TRANSFUZNÍ SLUŽBY

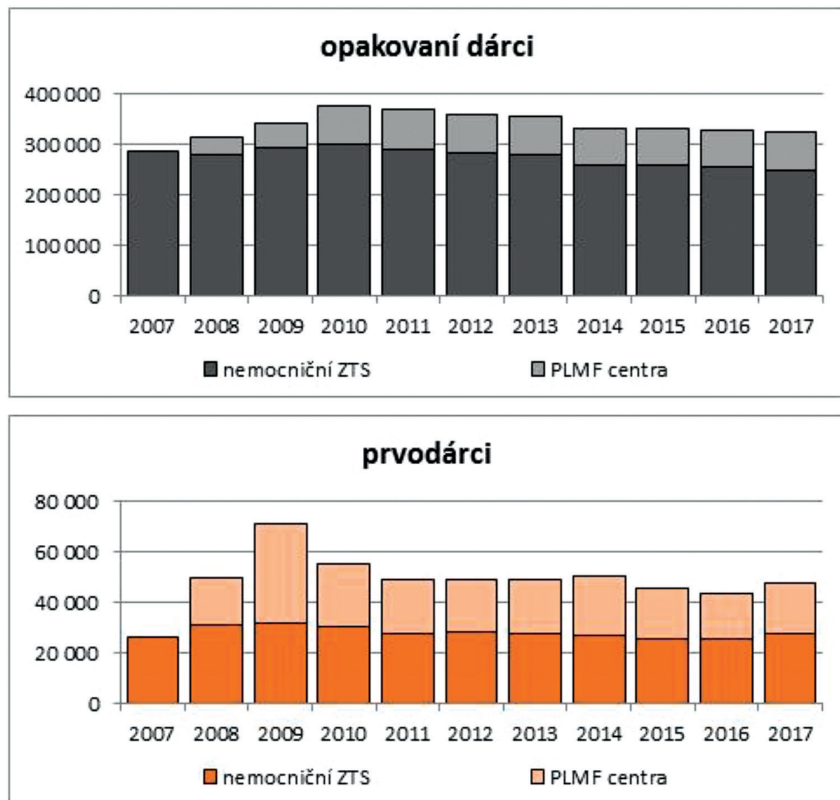
Před rokem 1989 zajišťovala transfuzní službu „nemocniční“ transfuzní nebo hematologicko-transfuzní oddělení v rámci strukturované sítě zdravotnických zařízení (nemocnice I., II. a III. typu) metodicky, ale i fakticky řízená ministerstvem zdravotnictví prostřednictvím hlavního a krajských odborníků (tito odborníci stanovovali nejen „doporučené postupy“, ale předepisovali i jednotlivým oddělením plán odběrů apod.). Snaha vyčlenit transfuzní oddělení z jednotlivých nemocnic a soustředit je do jednoho právního subjektu (Národní transfuzní služba) tak, jak je to obvyklé v některých západoevropských zemích z počátku 90. let, nebyla úspěšná a v letech 1992–1993 nadále zajišťovalo transfuzní službu celkem 68 transfuzních oddělení fakultních a okresních nemocnic (prováděla odběry a vyráběla transfuzní přípravky) doplněných 122 krevními sklady v menších nemocnicích. Činnost těchto vzájemně nezávislých zařízení transfuzní služby (ZTS) nebyla nijak koordinována a jejich eventuální spolupráce vycházela jen z tradice a vzájemných vazeb. Systém hlavního a krajských odborníků byl částečně nahrazen vytvořením Rady transfuzní služby (nyní Národní transfuzní komise), která však sloužila a slouží výlučně jako mezioborový poradní orgán Ministerstva zdravotnictví a nemá žádné výkonné ani jiné pravomoci vůči transfuzní službě jako takové. Ve druhé polovině 90. let začala některá, obvykle menší, zařízení transfuzní služby postupně omezovat rozsah své činnosti a přecházela do režimu „odběrových středisek“ (obvykle propojených s krevní bankou), kde jsou sice prováděny odběry krve, eventuálně jejích složek, ale odebraná krev je ke zpracování na transfuzní přípravky odesílána do jiného, většího zařízení. Zařízení, která pracují v tomto

režimu, velmi pozvolna přibývá. V roce 2017 provádělo odběry plné krve 66 zařízení transfuzní služby (z toho 17 odběrových středisek) a 3 zařízení prováděla jen odběry krevních složek – trombocytů. Odebranou krev a její složky zpracovávalo na transfuzní přípravky 53 zařízení (z toho 3 zařízení jen trombocyty z aferézy).

Již v první polovině 90. let existovaly snahy otevřít v ČR samostatná plazmaferetická střediska, která by se soustředila na získávání plazmy pro průmyslové zpracování. Po krátkodobé existenci jednoho takového zařízení a rozvoji plazmaferézy v nemocničních zařízeních transfuzní služby v první polovině 90. let došlo k útlumu této aktivity a samostatná plazmaferetická střediska začala vznikat zase až po roce 2008. Nástup jejich aktivit byl ale velmi razantní a v roce 2017 již bylo v provozu 16 plazmaferetických center (mimo síť nemocničních zařízení transfuzní služby) provozovaných několika různými subjekty.

## DÁRCOVSTVÍ KRVE

V éře socialistické ČSSR bylo dárcovství krve deklarováno jako „dobrovolné a bezpříspěvkové“, přesto řada dárců plné krve ve velkých městech a označovaných jako „dárci pro speciální účely“ byla finančně motivována (od „dárců pro speciální účely“ bylo získáváno cca 10 % odebrané plné krve). Rovněž dárci krevních složek odbíraných technikou aferézy dostávali finanční příspěvky. Dostupných údajů o velikosti nebo složení registru dárců krve z té doby je velmi málo: na transfuzních odděleních bylo údajně evidováno kolem 440 000 dárců krve a z toho kolem 30 000 představovali prvodárci (vzhledem k tomu, že počet evidovaných dárců převyšoval počet prováděných odběrů, lze vyslovit pochybnost o tom, co uváděná čísla vlastně znamenala). Se změnou systému a vymizením „dobrovolných odběrů“ ve vojenských posádkách a hromadných odběrů v rámci Brigád socialistické práce došlo na počátku 90. let k poklesu počtu evidovaných dárců na 345 000 v roce 1993, zároveň přibývalo dárců, kterým byla poskytnuta finanční kompenzace [4]. Ve druhé polovině 90. let se dárcovství krve stabilizovalo, ale po roce 2006 lze pozorovat mírný, ale systematický pokles počtu osob darujících krev v nemocničních zařízeních transfuzní služby a nárůst počtu dárců v plazmaferetických centrech – graf 1 (v roce 2006 byla metodika sběru dat přizpůsobena požadavkům EU, počty „evidovaných“ dárců v období před tímto rokem a po něm není možné srovnávat). Ve druhé polovině 90. let ubývalo dárců kompenzovaných a od roku 2003 dárci plné krve nedostávají žádnou finanční úhradu (kromě eventuální úhrady cestovních nákladů). Tento stav trvá i v roce 2017. V polovině 90. let prudce stoupl počet prováděných plazmaferéz (graf 2) a stoupl tedy i počet dárců plazmy (viz graf 1), ti dostávali zpočátku



**Graf 1.** Počty opakovaných dárců krve a prvodárců v letech 2007–2017. Vysvětlivky: ZTS – zařízení transfuzní služby; PLMF – plazmaferetická centra.

let měnil jen velmi pozvolna, povinné testování na syfilis bylo do transfuzní služby zavedeno v 50. letech minulého století, vyšetření HBsAg v 70. letech a vyšetření HIV v roce 1987. Vyšetření protilátek proti virové hepatitidě C bylo zavedeno z iniciativy transfuzní služby (nepovinně, ale plošně) v průběhu let 1992–1993. V roce 2003 byl původní požadavek na vyšetření protilátek proti HIV rozšířen o povinné testování antigenu p24 HIV kombinovaným testem. Původně používané testy domácí provenience nahradily velmi rychle CE certifikované testy renomovaných výrobců (během let 1992–1994). V dalších letech zavedla jednotlivá zařízení transfuzní služby do praxe i některé další testy (antigen HCV, protilátka anti-HBc nebo vyšetření HIV/HBV/HCV na úrovni nukleových kyselin ...). Tato vyšetření však nejsou předepsána závaznou legislativou, nejsou prováděna plošně, a tak mohou být výrobky různých výrobců vyšetřeny různým způsobem.

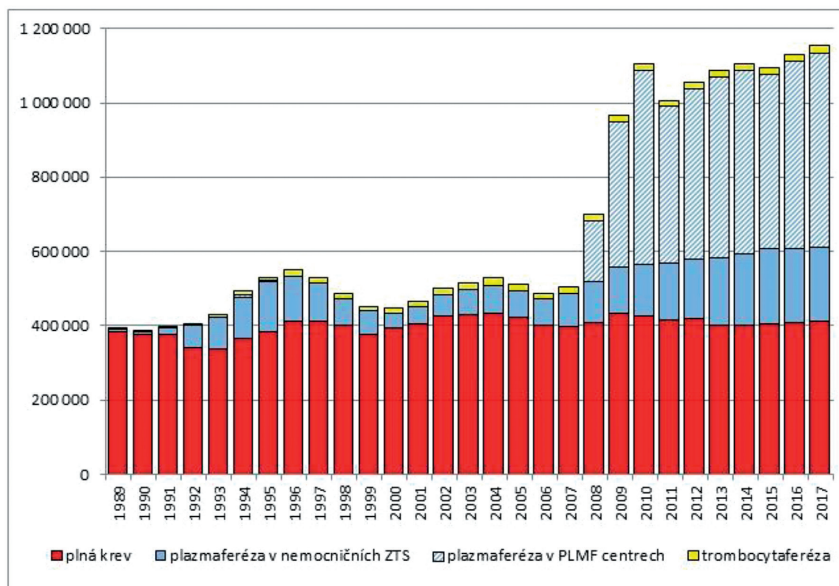
S nárůstem počtu případů HIV/AIDS v české populaci a zvyšujícím se počtem odběrů se od poloviny 90.

finanční kompenzaci, ale s poklesem počtu prováděných plazmaferéz na konci 90. let docházelo k nárůstu podílu neplacených odběrů plazmy. Tento trend zůstal zachován i po roce 2000 při opětovném nárůstu počtu plazmaferéz a před nástupem „komerčních plazmaferéz“ (2008) byly již prakticky všechny plazmaferézy prováděné v nemocničních zařízeních transfuzní služby bezplatné, to platilo i v roce 2017. U dárců plazmy v plazmaferetických centrech je finanční kompenzace běžná, finanční kompenzace dárců zůstává běžná i u dalších přístrojových odběrů krevních složek (trombocytaferéza) – v roce 2017 bylo cca 2/3 těchto kompenzováno finančně.

let pozvolna zvyšoval počet zachycených HIV pozitiv-

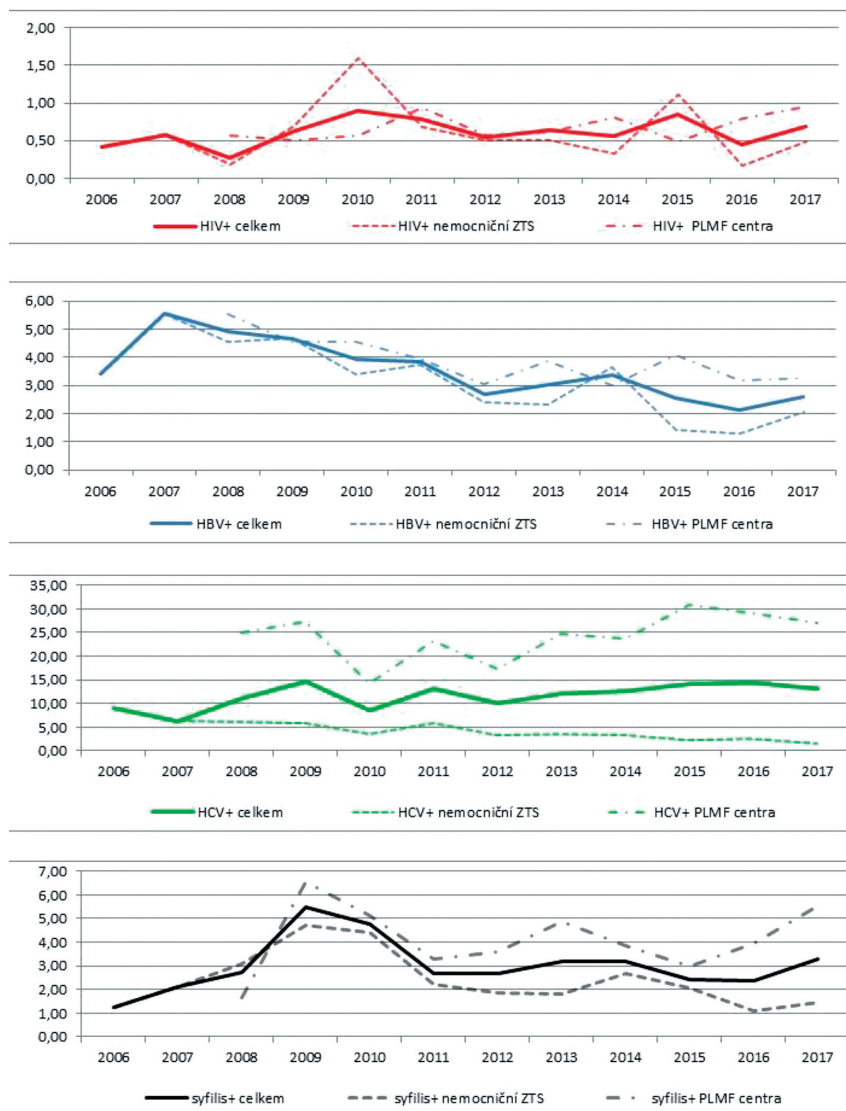
**EPIDEMIOLOGICKÁ SITUACE**

Epidemiologická situace v ČR je relativně příznivá a byla taková i na počátku 90. let. Algoritmus vyšetřování infekčních markerů se během



**Graf 2.** Počty odběrů krve a krevních složek v letech 1989–2017. Vysvětlivky: ZTS – zařízení transfuzní služby; PLMF – plazmaferetická centra.

TUREK P.



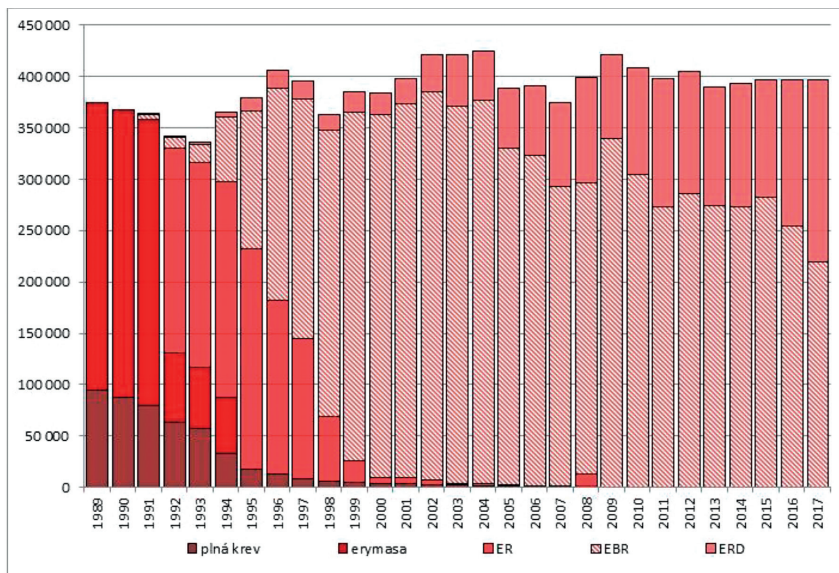
**Graf 3.** Záchyt HIV, HBV, HCV a syfilis mezi dárci krve a jejich složek po r. 2006  
 Vysvětlivky: HIV – virus lidské imunodeficience; HBV – virus hepatitidy B; HCV – virus hepatitidy C; ZTS – zařízení transfuzní služby; PLMF – plazmaferetická centra.

ních dárců krve a v poledních letech bývá zachyceno 5–10 HIV pozitivních dárců krve při provádění cca 1,15 milionu odběrů od 300 000 osob. Naopak výskyt virové hepatitidy B v běžné populaci a záchyt této infekce mezi dárci krve dlouhodobě klesá z původních několika set (312 HBsAg pozitivních dárců na 435 000 vyšetřených odběrů v r. 1993) na několik málo desítek za rok (v r. 2017 celkem 30 případů při 1,15 mil. odběrů). Záchyt infekce virovou hepatitidou C mezi dárci krve zprvu postupně klesal z téměř tisíce ročně (960 HCV pozitivních dárců na 435 tis. vyšetřených odběrů v r. 1993) až na zhruba 50 ročně (při cca 500 tis. odběrů v letech 2006–2007), část

tohoto poklesu lze ale nepochybně přičíst i na vrub zpřesňující se diagnostiky. Po r. 2008 (s rozvojem plazmaferetických center) již podíl HCV pozitivních dárců neklesá – významně vyšší záchyt HCV mezi dárci plazmaferetických center totiž mírně klesající záchyt v nemocničních zařízeních transfuzní služby překrývá (rozdíl je více než desetinásobný). Trendy v záchytu HIV, HBV, HCV a syfilis mezi dárci krve a jejich složek po r. 2006 ukazuje graf 3.

### ODBĚRY KRVE A PRODUKCE TRANSFUZNÍCH PŘÍPRAVKŮ

Na počátku 90. let byla krev odebírána do skleněných láhví a odběry „krevních složek“ technikou aferézy byly prováděny jen na specializovaných pracovištích: prováděno bylo kolem 370 000 odběrů plné krve, asi 4 000 plazmaferéz (manuální plazmaferéza) a jen kolem 300 trombocyt-aferéz (1990). Podstatná část (cca 1/3) odebrané krve zůstávala nezpracována jako „plná krev“ a jen ve zhruba třetině případů byla brzy po odběru izolována plazma centrifugací a vyrobena tzv. „erytrocytová masa“ (EM). Část separované plazmy byla rychle zmrazena (asi 12 000 litrů „antihe-mofilické plazmy“) a byla následně z velké většiny využita k výrobě kryoproteinu (v množství ekvivalentním cca 3 mil. I.U. F VIII) a „plazmy bez kryoproteinu“ („K-plazma“, asi 8 000 litrů). K substituci trombocytů byla určena zejména „plazma bohatá na destičky“, kvalitních trombocytových koncentrátů z aferézy bylo vyráběno jen několik set ročně. Výrobní postupy byly stanoveny doporučeními kolektivu hlavního odborníka, ale kvalita vyráběných přípravků nebyla systematicky kontrolována a „správná výrobní praxe“ byla v té době v transfuzní službě téměř neznámým pojmem. Situace se poměrně významně změnila během let 1991–1993: v krátké době byly zavedeny odběry krve do plastových vaků a prakticky veškerá odebraná plná krev začala být zpracovávána na erytrocytové přípravky, plazmu a případně i na trombocytové přípravky. Rostl podíl plazmy, která byla zmrazena bezprostředně po zpracování odebrané krve, stoupal



**Graf 4.** Trendy v produkci transfuzních přípravků červené krevní řady v letech 1989–2017

Vysvětlivky:

T.U. – transfuzní jednotky

ER – erythrocyty resuspendované

EBR – erythrocyty bez buffy-coatu resuspendované

ERD – erythrocyty resuspendované deleukotizované

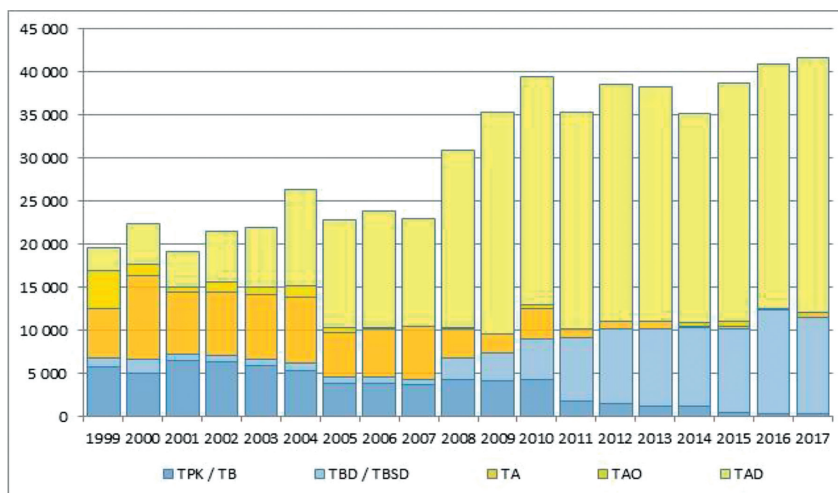
počet prováděných aferetických odběrů a množství vyráběných trombocytových přípravků. Kryoprotein byl v léčbě hemofilie nahrazen koncentráty F VIII. Podstatná část transfuzních zařízení navázala již v první polovině 90. let spolupráci se zahraničními zpracovateli plazmy (viz dále) a snažila se přizpůsobit své postupy standardům správné výrobní praxe běžným v té době v západní Evropě. V r. 1997 zařadil nový zákon o léčivech „transfuzní přípravky“ mezi léčiva a zařízení transfuzní služby mezi výrobce léčiv s tím, že od r. 2000 musejí mít „povolení k výrobě“ udělené Státním ústavem pro kontrolu léčiv a musejí procházet pravidelnou kontrolou správné výrobní praxe [5, 6]. Tím ČR dokonce mírně předběhla Evropu a při vstupu do Evropské Unie (r. 2004) pak nebylo problémem harmonizovat českou „transfuzní“ legislativu s tou evropskou. Počty odběrů krve a jejích složek v letech 1989–2017 ukazuje graf 3.

## HEMOTERAPIE A HEMOVIGILANCE

Během času se důraz na dodržování zásad účelné hemoterapie zvyšoval,

změny v zastoupení jednotlivých typů používaných transfuzních přípravků jsou odrazem měnících se požadavků klinických pracovišť. Celková spotřeba přípravků červené krevní řady během 90. let stoupala a kolem r. 2000 dosáhla cca 36 T.U./tisíc obyvatel a od té doby je víceméně stabilní, což odpovídá průměru EU [7]. Během let 1993–1994 prakticky vymizela z klinického použití „plná krev“ (PK) a byla nahrazena „Erythrocyty resuspendovanými“ (ER), ve druhé polovině 90. let začala většina výrobců z erythrocytových přípravků odstraňovat „buffy-coat“ obsahující 50–70 % původního množství leukocytů (Erythrocyty bez „buffy-coat“ resuspendované, EBR). Efektivní deleukotizace s použitím deleukotizačních filtrů byla v 90. letech vázána na specializovaná pracoviště a byla většinou prováděna až při transfuzi. Po roce 2000 podíl deleukotizovaných přípravků (Erythrocyty resuspendované deleukotizované, ERD) stoupá a stoupá počet erythrocytových přípravků deleukotizovaných již během výroby („in-line“ deleukotizace). V současné době je deleukotizována již zhruba polovina podávaných erythrocytových přípravků, naprostá většina hned při

resuspendované deleukotizované, ERD) stoupá a stoupá počet erythrocytových přípravků deleukotizovaných již během výroby („in-line“ deleukotizace). V současné době je deleukotizována již zhruba polovina podávaných erythrocytových přípravků, naprostá většina hned při



**Graf 5.** Trendy v produkci trombocytových přípravků v letech 1992–2017

Vysvětlivky:

TPK – trombocyty z plné krve

TB – trombocyty z buffy-coatu

TBD – trombocyty z buffy-coatu deleukotizované

TBSD – trombocyty z buffy-coatu směsné deleukotizované

TA – trombocyty z aferézy

TAO – trombocyty z aferézy ochuzené o leukocyty

TAD – trombocyty z aferézy deleukotizované

zpracování odebrané krve (technika „in-line“). Trendy v produkci transfuzních přípravků červené krevní řady ukazuje graf 4. V 90. letech představovala velmi populární a doporučovaný postup autotransfuze a prováděno bylo až 18 000 autologních odběrů. V posledních 10 letech počet odebíraných autotransfuzí klesá (až na polovinu původního množství) – klinici zjevně pečlivěji zvažují, kdy je příprava autologních přípravků účelná. V současnosti autologní přípravky pokrývají méně než 2 % spotřeby erytrocytů.

Spotřeba trombocytů po r. 1990 stoupá (v první polovině 90. let velmi strmě). Zpočátku rostla jak produkce trombocytů z plné krve (TPK) nebo „buffy-coatu“ (TB), tak z přípravků z aferézy (Trombocyty z aferézy, TA), přípravky přitom nebyly obvykle deleukotizovány. Ve druhé polovině 90. let rostla zejména produkce trombocytů z aferézy (TA) a přibývalo přípravků deleukotizovaných (TAD). V posledních 5 letech se produkce aferetických přípravků stabilizovala a zvyšující se spotřeba je pokryta nárůstem produkce trombocytů z „buffy-coat“, obvykle směsných, deleukotizovaných přípravků resuspendovaných (TBDSR), ty pokrývají v současnosti asi 1/4 potřeby. Deleukotizace je v posledních 5 letech standardem, ve zhruba 2/3 trombocytových přípravků je podstatná část plazmy nahrazena resuspendním roztokem, což snižuje riziko závažné alergické reakce. Trendy v produkci trombocytových přípravků uvádí graf 5.

Spotřeba plazmy pro klinické použití v devadesátých letech prudce rostla (plazma nižší kvality a K-plazma byly rychle nahrazeny „čerstvě zmrazenou plazmou“), od poloviny 90. let je plazma před výdejem ukládána do karantény. Po roce 2000 dosáhla spotřeba až 18–20 T. U. /1 tisíc obyvatel. To je několikrát více, než kolik je obvyklé v zemích západní Evropy [8]; jsou přitom prokazatelné výrazné rozdíly mezi jednotlivými nemocnicemi v ČR. V posledních 5 letech však spotřeba plazmy pro klinické použití pozvolna klesá. Po roce 2008 začala některá zařízení transfuzní služby, s ohledem na riziko akutní poškození plic vázané na transfuzi (TRALI; „transfusion-related acute lung injury“), ke klinickému použití vydávat jen plazmu od dárců s malou pravděpodobností přítomnosti HLA protilátek (plazma od mužů, popř. žen, které nebyly těhotné, pokud nedostali v minulosti transfuzi). V současné době je takto pokrýváno cca 60 % spotřeby klinické plazmy.

Závažné potransfuzní reakce a události jsou vzácné. Jejich výskyt podléhal povinnému hlášení od vzniku transfuzní služby, se zařazením transfuzních přípravků mezi léčiva se ale změnila metodika a povinnost sběru dat převzal SÚKL. V posledních letech počet závažných nežádoucích reakcí a události při transfuzi nepřesahuje 10–20 ročně, převažují reakce alergické, respektive

anafylaxe. Hemolytické reakce spojené se záměnou transfuzních přípravků však bohužel stále představují významné riziko. Úmrtí po transfuzi je hlášeno výjimečně, jednou za několik let. Přenos infekce transfuzí je vzácný, ale nelze ho vyloučit. Údaje o případném přenosu hepatitidy B nebo hepatitidy C z 90. let nejsou dostupné, v posledních 10 letech dochází k expozici příjemce transfuze HBV nebo HCV v průměru u 1–2 příjemců transfuze ročně [9]. Kromě povinného hlášení SÚKL sbírá informace o výskytu závažných i nezávažných nežádoucích událostí při transfuzi a reakcích na transfuzi Společnost pro transfuzní lékařství, mezi nezávažnými reakcemi převažují febrilní nehemolytická reakce a mírné reakce alergické [10].

## ZPRACOVÁNÍ PLAZMY A DOSTUPNOST KREVŇÍCH DERIVÁTŮ

Před rokem 1990 byla v ČSSR k průmyslovému zpracování používána prakticky jen plazma získaná po sedimentaci exspirovaných jednotek plné krve a vyráběn byl jen albumin a imunoglobuliny pro i. m. podání. V letech 1990–1993 zpracovával domácí výrobce v omezeném objemu i čerstvě zmrazenou plazmu a vyráběl v menším množství i protiinfekčně ošetřený koncentrát F VIII a imunoglobuliny pro i. v. podání. V průběhu r. 1991–1992 připravilo MZ koncept zpracování plazmy v zahraničí s tím, že mělo jít o dočasnou spolupráci po dobu, než se podaří domácímu zpracovateli plazmy dosáhnout úrovně, která by odpovídala požadavkům správné výrobní praxe zaručující bezpečnost vyráběných krevních derivátů. To bylo mj. impulsem k prudkému zvyšování produkce čerstvě zmrazené plazmy v jednotlivých zařízeních transfuzní služby a k zavádění přístrojové plazmaferézy. Současně s tím se rychle zvyšovala dostupnost krevních derivátů (zejména přípravků určených k léčbě hemofilie, tj. F VIII a F IX), dováženy byly přednostně přípravky vyrobené z české plazmy. Produkce plazmy prudce rostla až do období 1996–1997, kdy už množství přípravků vyráběných z tuzemské plazmy (zejména albuminu) převyšovalo domácí spotřebu. Zároveň se ukázalo, že koncept „národního zpracovatele plazmy“ je neudržitelný (řada odborníků na to upozorňovala už dříve), a stavba zpracovatelského centra na zelené louce byla zastavena před dokončením. Změna legislativy (zákon o léčivu) navíc znemožnila do té doby používaný model spolupráce mezi zařízeními transfuzní služby a zpracovateli plazmy (zakázková frakcionace) [5]. To vedlo k poklesu produkce plazmy pro frakcionaci a omezení plazmaferéz. K opětovnému nárůstu počtu prováděných plazmaferéz a produkce plazmy pro frakcionaci dochází až po roce 2000 a zejména po roce 2008, kdy

svou činnost zahájila samostatná plazmaferetická centra zaměřená výlučně na odběr plazmy pro průmyslové zpracování. Bylo to vyvoláno mj. nárůstem spotřeby imunoglobulinů ve světě a celosvětovým nedostatkem plazmy pro frakcionaci. V roce 2017 produkovala ČR již 61,5 litrů plazmy pro frakcionaci na tisíc obyvatel, což několikanásobně převyšuje průměr EU a asi 3krát převyšuje množství plazmy potřebné pro produkci krevních derivátů spotřebovávaných v ČR [8].

Množství a druhy plazmy odesílané k průmyslovému zpracování v letech 1989–2017 ukazuje graf 6, množství krevních derivátů dostupných na Českém trhu (distribuce) v letech 1989–2017 ukazuje graf 7.

### IMUNOHEMATOLOGICKÁ DIAGNOSTIKA

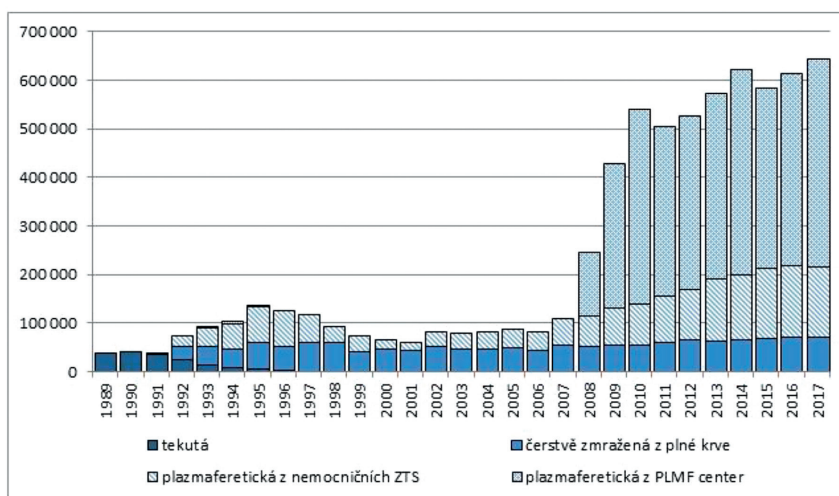
K velkým změnám došlo v posledních 25 letech také v oblasti imunohematologické diagnostiky. Na počátku 90. let byla naprostá většina pracovišť odkázána na manuální provádění zkumavkových, eventuálně sklíčkových testů. Základní diagnostika produkovala transfuzní oddělení nemocnic III. typu (vesměs nyníjší fakultní transfuzní oddělení) případně šlo o diagnostiku vlastní výroby, jen velmi omezené spektrum diagnostik bylo komerčně dostupných. Používané techniky byly obtížně kontrolovatelné a standardizovatelné, až v roce 1993 zavedl ÚHKT systém externí kontroly kvality imunohematologických vyšetření s rozesíláním vzorků neznámých parametrů (ve spolupráci se společností SEKK je provozován dodnes). S pádem železné opony začaly na náš trh pronikat zahraniční certifikovaná diagnostika a první automatické analyzátoři a s tím i nové, robustní techniky – sloupcová aglutinace v gelu, eventuálně aglutinace na

pevné fázi. Tyto techniky představují v současné době „zlatý standard“ a jen těžko si lze představit zařízení transfuzní služby nebo větší krevní banku, které by nepoužívaly automatizované postupy. Dostupné jsou i molekulárně-genetické techniky určení krevně-skupinových znaků, i když jejich použití je zatím omezeno na specializovaná pracoviště a vybrané indikace: analýzu diskrepantních nálezů, podrobnější určení variant RhD nebo prenatální diagnostiku v případě podezření na hemolytické onemocnění plodu.

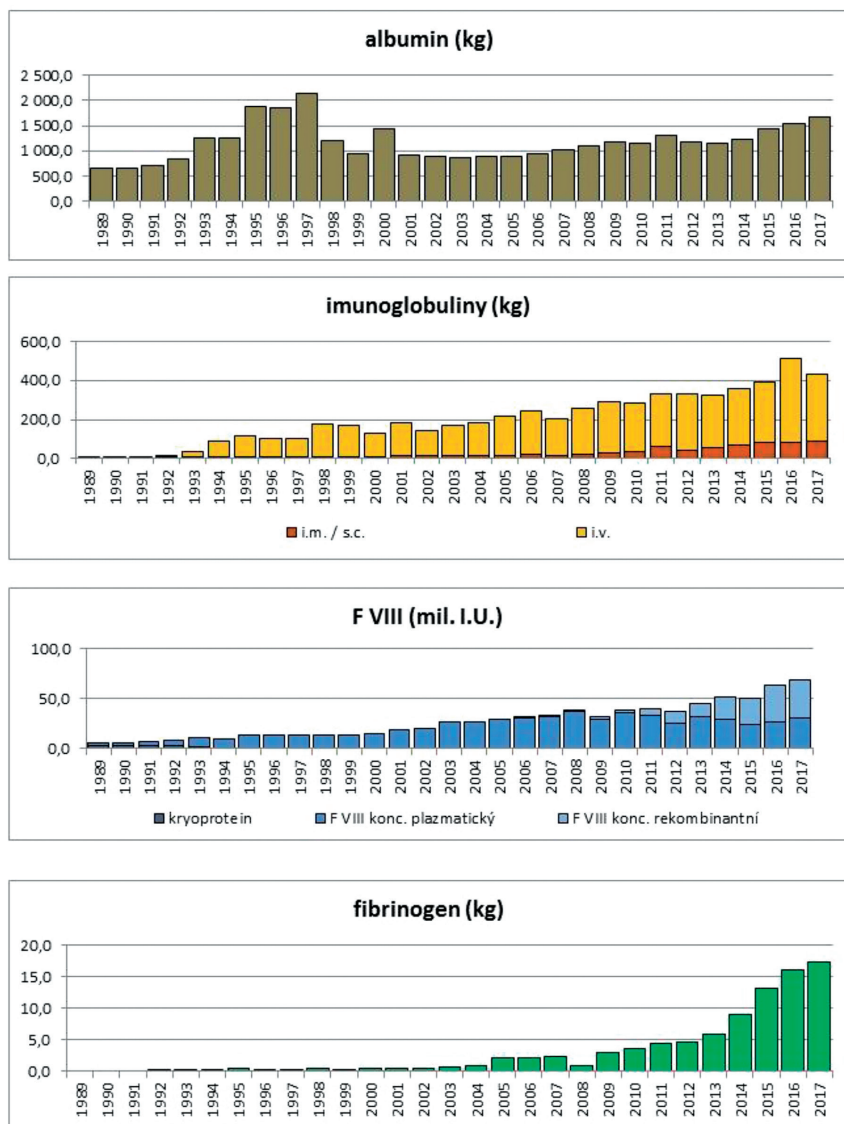
### LÉČEBNÉ VÝKONY, ODBĚRY KRVETVORNÝCH BUNĚK A PŘÍPRAVKY MODERNÍ TERAPIE

Množství léčebných výkonů prováděných v zařízení transfuzní služby za posledních 25 let výrazně narostlo a rozšířilo se i jejich spektrum. V 90. letech byly prováděny výměnné plazmaferézy a depleční výkony (erythrocytaferéza, výjimečně jiné výkony) pouze v několika specializovaných centrech. Do portfolia aferetických jednotek postupně přibyla imunoadsorpce, LDL-aferéza, hemoreoferéza, ale i extrakorporální fotochemoterapie a v současnosti jsou tyto léčebné metody dostupné širokému spektru pacientů.

Také program transplantace krvinek doznal v posledních 25 letech v ČR značného rozvoje. Již v první polovině 90. let vznikly v ČR dva registry dobrovolných dárců kostní dřeně /krvetvorných buněk (názvy se během času měnily), oba jsou v současnosti napojeny na mezinárodní registry. Zařízení transfuzní služby s těmito registry spolupracují, mj. při náborech dárců krvinek. Na počátku 90. let byly krvinek získávány převážně punkcí kostní dřeně na chirurgických pracovištích spolupracujících se třemi transplantními centry (Hradec Králové, Praha, Plzeň), postupem času začalo přibývat štěpů krvinek získaných aferetickou technikou z periferní krve a program se rozšiřoval v návaznosti na vznik dalších transplantních center. V současnosti jsou štěpy krvinek pro autologní i alogenní transplantaci pro česká transplantní centra i pro zahraniční centra (v rámci spolupráce s mezinárodními registry) připravovány v zařízeních transfuzní služby, v provozu je i Banka pupečnickové krve. Zařízení transfuzní služby jsou zapojena i do výroby přípravků moderní terapie, řada specializovaných praco-



**Graf 6.** Množství a druhy plazmy odesílané k průmyslovému zpracování v letech 1989–2017  
Vysvětlivky: ZTS – zařízení transfuzní služby; PLMF – plazmaferetická



**Graf 7.** Množství krevních derivátů dostupných na českém trhu (distribuce) v letech 1989–2017  
Vysvětlivky: F VIII konc. – koncentrát faktoru VIII

transplantaci i krevní buňky pro výrobu přípravků moderní terapie. Přitom je ČR v produkci transfuzních přípravků soběstačná a v produkci plazmy pro průmyslové zpracování dokonce nadbytkem významně přispívá do celoevropského poolu.

I přes nepochybné úspěchy zůstává před transfuzní službou řada výzev. Transfuzní služba v ČR zůstává nejednotná a jednotlivá pracoviště používají odlišné výrobní i vyšetřovací postupy. To činí situaci málo přehlednou pro kliniky a mohou s tím být spojeny i určité rozdíly ve standardu poskytované péče. Bezpečnost transfuze je, historicky vzato, na dosud nejvyšší úrovni, nejsou však plošně využívány všechny postupy ke snížení rizika (bezpříspěvkové odběry, vyšetření infekčních markerů na úrovni NAT...). Stoprocentně bezpečný transfuzní přípravek nebude však možné připravit patrně nikdy – je třeba si rizika transfuze (včetně rizika případného přenosu infekce) uvědomovat a uvážlivá indikace transfuze zůstává nezbytností. Určitou hrozbu do budoucna znamená i relativně nepříznivý demografický vývoj – podíl populace „typických příjemců transfuze“, tedy věkové skupiny nad 60 let významně narůstá, a naopak věková kohorta „potenciálních prodávčů“ (populace ve věku 18–20 let) početně klesá. Jak se s těmito výzvami transfuzní služba vypořádá v budoucnosti, budou hodnotit naši nástupci.

višť separuje krevní buňky, které jsou výchozím materiálem např. pro přípravu protinádorových vakcín.

## ZÁVĚR

Transfuzní služba prošla během posledních 25 let zásadními změnami: produkce transfuzních přípravků stoupla, rozšířilo se jejich spektrum a zvýšila se jejich kvalita, dramaticky stoupla produkce plazmy pro průmyslové zpracování a zlepšila se dostupnost krevních derivátů, zvýšila se citlivost i spolehlivost prováděných imuno hematologických vyšetření, zlepšila se dostupnost léčebných výkonů a rozšířilo se jejich spektrum, daří se zajistit štěpy krvetvorných buněk pro jejich

## LITERATURA

1. Ústav zdravotnických informací a statistiky. Dostupné na [www.uzis.cz/rychle-informace/cinnost-zarizeni-transfuzni-sluzby-v-ceske-republice-v-roce-2015](http://www.uzis.cz/rychle-informace/cinnost-zarizeni-transfuzni-sluzby-v-ceske-republice-v-roce-2015).
2. Ministerstvo zdravotnictví ČR, zprávy o činnosti zařízení transfuzní služby. Dostupné na [www.mzcr.cz/Odbornik/dokumenty/zprava-o-cinnosti-zarizeni-transfuzni-sluzby-za-rok-2016\\_14621\\_1952\\_3.html](http://www.mzcr.cz/Odbornik/dokumenty/zprava-o-cinnosti-zarizeni-transfuzni-sluzby-za-rok-2016_14621_1952_3.html), [http://www.mzcr.cz/Odbornik/dokumenty/zprava-o-cinnosti-zarizeni-transfuzni-sluzby-za-rok-2015\\_13173\\_1952\\_3.html](http://www.mzcr.cz/Odbornik/dokumenty/zprava-o-cinnosti-zarizeni-transfuzni-sluzby-za-rok-2015_13173_1952_3.html).
3. Zimová R, Turek P. Blood Transfusion Service in the Czech Republic – organization, regulation and guidelines, quality and

safety, perspectives and challenges. *Transfus Med Hemother* 2006;33(5):407-414.

4. Turek P, Masopust J. Činnost transfuzní služby v České republice v období 1989–2013. *Transfuzie Hematol dnes* 2014;20(4):125–135.
5. Zákon č. 378/ 2007 Sb., o léčivech, v platném znění, Sběrka zákonů ČR.
6. Vyhláška č. 143/2008 Sb., o lidské krvi, ve znění vyhlášky č. 130 / 2018 Sb., Sběrka zákonů ČR.
7. Rada Evropy, Trends and Observations on the Collection, Testing and Use of Blood and Blood Components in Europe 2001–2011. Dostupné na [www: https://www.edqm.eu/en/blood-transfusion-reports-70.html](https://www.edqm.eu/en/blood-transfusion-reports-70.html)
8. Rada Evropy: Report on the Collection, Testing and Use of Blood and Blood Components in Europe. Dostupné na [www: https://www.edqm.eu/en/blood-transfusion-reports-70.html](https://www.edqm.eu/en/blood-transfusion-reports-70.html)
9. Státní ústav pro kontrolu léčiv. Dostupné na [www: http://www.sukl.cz/vyrocní-zpravy-k-hemovigilanci-archiv](http://www.sukl.cz/vyrocní-zpravy-k-hemovigilanci-archiv).
10. Galuszková D. Potransfuzní reakce v České Republice 2017. *Transfuzie Hematol dnes* 2018;24(Supl 2/b):115.

### Čestné prohlášení

Autor práce prohlašuje, že v souvislosti s tématem, vznikem a publikací tohoto článku není ve střetu zájmů a vznik ani publikace článku nebyly podpořeny žádnou firmou.

### Poděkování

Autor děkuje MUDr. J. Masopustovi za kritickou revizi textu.

*Doručeno do redakce dne 24. 9. 2018.*

*Přijato po recenzi dne 6. 11. 2018.*

**MUDr. Petr Turek, CSc.**

Transfuzní oddělení, Thomayerova nemocnice  
Václavská 800  
140 58 Praha 4  
e-mail: petr.turek@ftn.cz

# 25 let nepříbuzenského darování krvinek

Jindra P.<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup>Hematologicko-onkologické oddělení FN Plzeň

<sup>2</sup>Český národní registr dárce dřeně, Plzeň

<sup>3</sup>Biomedicínské centrum, Lékařská fakulta v Plzni, Univerzita Karlova, Česká republika

*Transfuzní Hematol. dnes, 25, 2019, No. 1, p. 20-24*

## SOUHRN

Založení registrů nepříbuzných dárců krvinek (KB), následný vzestup jejich počtů, propojení jednotlivých národních databází, ale především nelimitovaný přístup pro všechna transplantáční centra, je možno skutečně považovat za klíčový faktor pro globální rozvoj nepříbuzenského darování KB. Aktuálně je pro pacienty bez dárce v rodině celosvětově k dispozici více než 32 milionů nepříbuzných dárců, z nich je každoročně využito více než 18 000. Přibližně v polovině případů pochází dárce z jiného státu než příjemce. V České republice (ČR) je možno více než 25 let využívat služeb 2 registrů nepříbuzných dárců KB – Českého národního registru dárců dřeně (ČNRDD) v Plzni a Českého registru dárců krvinek (ČRDKD) v Praze. Oba disponují databází více než 110 000 dárců (82 000 ČNRDD, 31 000 ČRDKD) s ročním nárůstem o 10–13 000. Registry jsou propojeny s celosvětovou databází dárců a každoročně poskytnou KB pro 40–50 pacientů z ČR i zahraničí. 15–20 % nepříbuzensky transplantovaných českých nemocných získá štěp od „národního“ dárce. Od zahájení činnosti obou registrů darovalo KB 820 dárců (680 ČNRDD/140 ČRDKD) a příjemci byli většinou (cca v 70 %) čeští pacienti. Dárce z ČR darovali KB pacientům z 5 kontinentů, a to i z tak vzdálených zemí jako jsou například Austrálie či Argentina. Oba registry mají mezinárodní certifikaci (ČRDKD) či přímo akreditaci (ČNRDD), což garantuje maximální bezpečnost pro každého dárce podstupujícího proceduru darování KB a také bezpečný a kvalitní štěp pro každého příjemce. Registry navíc dál intenzivně pracují na zkvalitnění svých databází (zaměření na mladé dárce, vysoká úroveň HLA typizace). Úspěchy a renomé programu dárcovství KB v ČR, kterých bylo dosaženo za více než čtvrtstoletí od založení ČNRDD a ČRDKD, je nutno považovat především za společný úspěch celorepublikové sítě spolupracujících dárcovských a náborových center.

## KLÍČOVÁ SLOVA

transplantace – nepříbuzenské dárcovství – dárce – registry

## SUMMARY

Jindra P.

### 25 years of unrelated stem cells donation

The creation of registers of unrelated donors, the subsequent increase in donor counts with linkage of individual national databases and, above all, unlimited access for all transplant centres can indeed be considered key factors in the global development of unrelated hematopoietic stem cell donation, enabling searching among millions of potential donors worldwide. More than 32 million unrelated donors are currently available and more than 18,000 transplants are carried out annually, with around half of the donors coming from a state other than the recipient. For the past 25 years, the Czech Republic has had two registers of unrelated hematopoietic cell donors – the Czech National Marrow Donor Register (CNMDR) in Pilsen and the Czech Stem Cell Registry (CSCR) in Prague. Both databases have more than 110,000 donors (82,000 CNMDR, 31,000 CSCR), with 10–13 000 accrued annually. The registers are connected to the global donor database and annually provide stem cells for 40–50 patients from the Czech Republic and abroad. In the case of the Czech Republic, this represents 15–20% of transplants with a "national" donor. In total, 820 donors (680 CNMDR / 140 CSCR) donated stem cells since the two registries were established. The majority (about 70%) were for Czech patients. Donors from the Czech Republic have donated to patients from 5 continents, including even distant countries such as Australia and Argentina. Both registers have an international certification (CSCR) or full accreditation (CNMDR), which guarantees maximum safety for each donor undergoing stem cells donation and, at the same time, a safe and high-quality graft for each recipient. Moreover, the two registers continue to work intensively on improving their databases (focus on young donors, high level of

HLA typing). The achievements and reputation of the HSC donation program in the Czech Republic for more than a quarter of a century since the founding of the CNMDR and the CSCR represent the joint success of all cooperating donor and recruitment centres whose network covers the whole Czech Republic.

### KEY WORDS

transplantation – unrelated donation – donors – registries

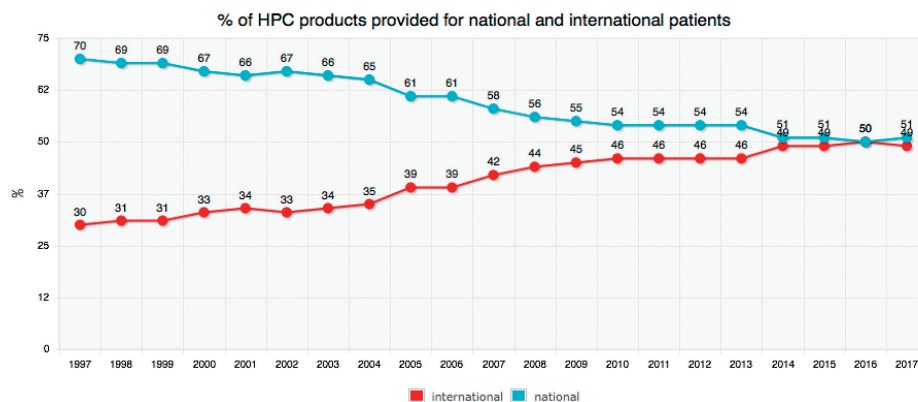
## ÚVOD

Transplantace alogenních KB je jednou z medicínsky nejsložitějších a nejunikátnějších procedur v medicíně. Přestože byl první pokus s infuzí kostní dřeně proveden již před 80 lety [1], do 80. let minulého století zůstávala procedurou víceméně experimentální. To, že je v současnosti standardním léčebným postupem, způsobily mimo jiné především dva faktory – pokroky v imunogenetice a rozvoj registrů nepřibuzných dárců KB. Ty učinily transplantaci KB dostupnou i pro pacienty bez dárce v rodině. Pokroky v imunogenetice s preciznějším stanovením HLA shody pak zásadně zlepšily výsledky nepřibuzenských transplantací. V současnosti tak nalezneme dobře shodného nepřibuzného dárce pro 90 % pacientů kavkazoidního etnika (tedy i českých pacientů) a výsledky těchto transplantací jsou srovnatelné s přibuzenskými (HLA genoidentickými) [2-4]. Následující sdělení se bude zabývat rozvojem programu nepřibuzenského dobrovolného darování KB v uplynulém čtvrtstoletí, a to jak globálně, tak i v kontextu ČR.

## HISTORIE A SOUČASNÝ ROZVOJ NEPŘIBUZENSKÉHO DÁRCOVSTVÍ A REGISTRŮ – GLOBÁLNÍ DATA

Když v roce 1973 v New Yorku mladý chlapec dostal opakované infuze kostní dřeně od dárce z krevní banky v Dánsku, který byl identifikován jako potenciální „match“, jednalo se o víceméně nahodilý, neúspěšný a nepublikovaný experiment (D. Confer, osobní komunikace 2014). Pro systematické využití nepřibuzných dárců v transplantačním programu byla nezbytná jejich databáze (registr). První registr nepřibuzných dárců byl založen v roce 1974 Anglii z iniciativy Shirley Nolanové, maminky nemocného chlapce Anthonyho bez dárce v rodině (tzv. Anthony Nolan Bone Marrow Donor Register).

Přestože Anthony nikdy dárce nenalezl a zemřel v 7 letech v roce 1979, v témže roce byla v Seattle provedena první úspěšná nepřibuzenská transplantace u pacientky s leukémií [5]. Pacientka sice zemřela po 2 letech na relaps leukemie, nicméně, podobně jako paní Nolanová, její rodina pokračovala v iniciativě a úsilí založit národní registr nepřibuzných dárců v USA (byl posléze založen v roce 1986). Ještě v 80. letech následovaly další registry (např. v Rakousku, Nizozemsku). Nicméně s ohledem na HLA diverzitu a tehdejší relativně malou velikost národních registrů (každý čítal pouze několik tisíc dárců) byla pravděpodobnost nalezení dárce velmi malá, a proto profesor Jon van Rood zrealizoval v roce 1988 myšlenku jejich propojení ve formě celosvětové databáze „Bone Marrow Donors Worldwide“ (BMDW). Ta zprvu vycházela ve formě jakýchsi „žlutých stránek“, které byly počátkem 90. let nahrazeny „floppy“ disky a pak online dostupnou databází, která v mnohokrát zdokonalené a průběžně aktualizované formě funguje dodnes [6]. Založení BMDW, následný takřka exponenciální rozvoj databáze a především nelimitovaný přístup pro všechna transplantační centra, je možno skutečně považovat za klíčové faktory pro globální rozvoj nepřibuzenského darování KB. Rozvoj a internacionalizaci tohoto programu ilustruje několik následujících údajů z výročních zpráv WMDA (World Marrow Donors Association) [7]:



**Graf 1.** Trend nepřibuzenských transplantací s národním a mezinárodním dárce  
Převzato z výroční zprávy WMDA 2017 [4]

- V roce 1993 tato databáze zahrnovala pouhých 1 680 000 dárců z 26 registrů (celkem 25 zemí), k 1. 9. 2018 je pro pacienty k dispozici více než 32 500 000 dárců v 79 registrech z více než 50 zemí.
- V roce 1997 bylo celosvětově provedeno celkem pouze 3146 odběrů KB od nepřibuzného dárce. V roce 2017 bylo těchto odběrů provedeno již 18 256.
- V roce 1997 bylo 70 % celosvětově provedených nepřibuzenských transplantací provedeno od „národního“ dárce (ze stejné země jako příjemce). V roce 2017 pak bylo již 49 % nepřibuzenských transplantací – tedy takřka každá druhá – provedeno od dárce z jiné země než pacient. Vývoj je přesvědčivě doložen na grafu 1.

## HISTORIE REGISTRŮ A NEPŘIBUZENSKÉHO DÁRCOVSTVÍ – DATA ČESKÉ REPUBLIKY

Program nepřibuzenského dárcovství byl samozřejmě v 80. letech minulého století ovlivněn tehdejší izolací ČR v důsledku komunistického režimu, kdy myšlenka jakéhokoliv registru nepřibuzných dárců s nutností mezinárodní spolupráce byla utopií. Stejně tak iluzorní byla myšlenka na provedení transplantace od nepřibuzného dárce z registru, neboť registry existovaly pouze v nekomunistických vyspělých zemích. Ještě v prvních letech po revoluci se nepřibuzenské transplantace prováděly v zahraničí a dárce i prostředky na vlastní transplantaci se sháněly osobní iniciativou pacientů (organizací sbírek apod.). Nicméně překvapivě brzy (zvláště ve srovnání s dalšími postkomunistickými státy) byl zahájen program dobrovolného nepřibuzenského darování KB i v ČR (respektive tehdy ještě Československu). V roce 1991 vznikl z iniciativy doc. MUDr. Evy Ivaškové v pražském Institutu klinické a experimentální medicíny (IKEM) Český registr dárců kostní dřeně, dnes Český registr dárců krvetvorných buněk (dále ČRDKB). O rok později – v roce 1992 – byl MUDr. Vladimírem Kozou založen v Plzni Centrální registr dárců kostní dřeně, dnes Český národní registr dárců dřeně (ČNRDD). Každý z nich byl založen na odlišné filozofii. Pražský ČRDKB byl součástí příspěvkové organizace Ministerstva zdravotnictví IKEM a jeho náborová činnost i přes pozdější rozšíření byla primárně směřována do Prahy a bezprostředního okolí. Naproti tomu plzeňský ČNRDD je nestátní obecně prospěšnou společností, jeho činnost je financována charitativně (především prostřednictvím Nadace pro transplantaci kostní dřeně) či vlastní činností a od počátku působil celorepublikově. Založení 2 registrů nepřibuzných dárců kostní dřeně v ČR bylo zpočátku vnímáno nejednoznačně a spíše negativně. Zvláště Ministerstvo zdravotnictví tuto souběžnou činnost považovalo za

kontraproduktivní, škodlivou a síly tříšticí. Historie ukázala, jak byl tento názor mylný. Existence 2 registrů a zdravá rivalita mezi nimi naopak zvýšily počet dárců pro české pacienty a výrazně napomohly celorepublikovému rozvoji programu nepřibuzenských transplantací. Dnes tak mohou česká transplantáční centra hledat mezi více než 110 000 českými dárce, navíc s možností výběru organizování dovozu KB od zahraničního dárce z 2 zajišťujících subjektů.

Každý z registrů se krátce po založení napojil na světovou databázi dárců BMDW – Bone Marrow Donors Worldwide, nyní „Search&Match“) a v roce 1997 podepsal smlouvu o vzájemné spolupráci s největším světovým registrem, americkým NMDP (National Marrow Donors Program). Tím získali čeští nemocní přístup prakticky k celé světové databázi dárců. Oba registry mohou vyhledávat i pomocí automatického integrovaného evropského komunikačního systému EMDIS (European Marrow Donor Information System).

## VÝSLEDKY PROGRAMU NEPŘIBUZENSKÉHO DÁRCOVSTVÍ V ČR

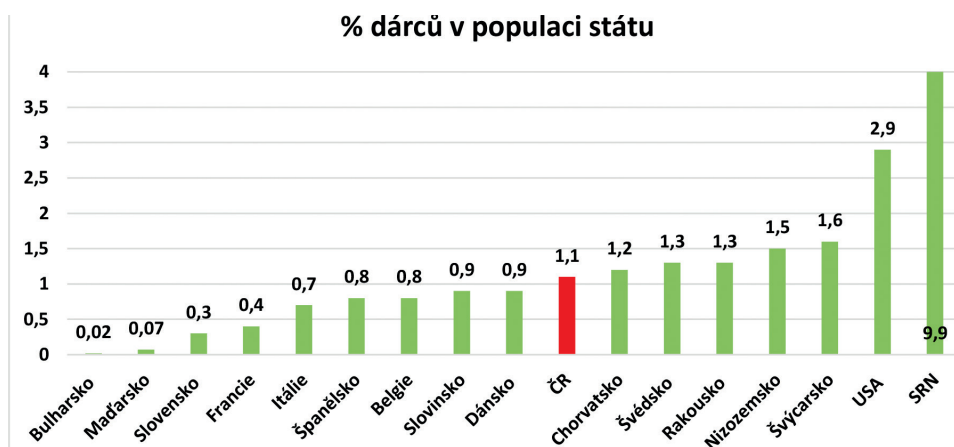
Následující konkrétní fakta dokládají, že i díky souběžné činnosti obou registrů je český program nepřibuzenských transplantací nadprůměrný a srovnatelný s nejrozvinutějšími státy, nejen v rámci regionu, ale i globálně.

K 1. 9. 2018 bylo v ČR registrováno celkem 113 000 potenciálních nepřibuzných dobrovolných dárců – 82 000 v plzeňském ČNRDD a 31 000 v pražském ČRDKB. Nábor nových dárců se v posledních 5 letech pohybuje mezi 10–13 000/rok (75 % ČNRDD, 25 % ČRDKB), přičemž každoročně jich je vyřazeno – obvykle kvůli věku – pouze cca 1 000. Počet registrovaných potenciálních dárců tak v ČR systematicky stoupá.

Zmíněné charakteristiky by však byly jen hrou čísel, pokud by se neodrazily v efektivitě registrů. Jejím primárním parametrem je počet dárců, kteří reálně darovali KB.

První nepřibuzenská transplantace v ČR od českého dárce byla provedena v červenci 1993 na Hematologicko-onkologickém oddělení v Plzni, dárce byl z plzeňského registru ČNRDD. Jednalo se tehdy o první odběr dobrovolného nepřibuzného dárce z registru v České republice. Následoval poměrně prudký rozmach odběrů českých dárců, kdy v poslední dekádě každoročně daruje 40–50 dárců (80–90 % ČNRDD/10–20 % ČRDKB).

Souhrnně od zahájení činnosti obou registrů darovalo KB 820 dárců (680 ČNRDD/140 ČRDKB), příjemcem byli většinou (z cca 70 %) čeští pacienti. Je jistě



Graf 2. Podíl registrovaných nepříbuzných dárců k populaci daného státu (data k 1. 9. 2018)

pozoruhodné, že dárce z ČR poskytli KB pacientům 5 kontinentů, mezi nimi i z tak vzdálených zemí jako jsou například Austrálie či Argentina.

### PROGRAM NEPŘÍBUZENSKÉHO DÁRCOVSTVÍ ČR VE SVĚTOVÉM KONTEXTU

Objektivním ukazatelem úspěšnosti programu či myšlenky dobrovolného dárcovství KB v dané zemi je podíl dárců v registrech k celkové populaci dané země. V ČR je aktuálně v registrech zapsáno 1,1 % populace. Ve srovnání se státy jako je SRN či USA, kde je zapsáno takřka 10 %, respektive 3 %, se to nezdá mnoho. Nicméně jak ukazuje graf 2, v porovnání s ostatními evropskými, nejen postkomunistickými zeměmi je zřejmé, že penetrace myšlenky dobrovolného dárcovství KB je v české populaci spíše nadprůměrná (pro srovnání třeba Slovensko má v registru pouze 0,29 % populace). Lze tvrdit, že nemalou zásluhu na tom má již zmiňovaná souběžná existence dvou registrů a to, že jejich založení bylo a zůstává aktivitou spontánní a nikoliv aktivitou nařízenou shora státním aparátem.

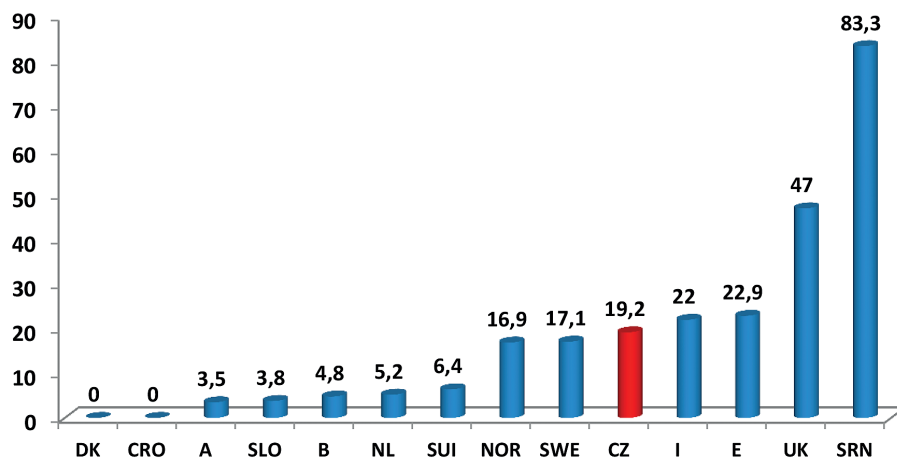
Kvalitu registru však není možno odvozovat pouze od počtu registrovaných dárců (přestože jde o veličinu zásadní), ale i od jejich věkového složení a zejména úrovně jejich HLA. Dosavadní zkušenosti jednoznačně prokazují výrazný příznivý vliv, pokud je transplantace provedena co nejrychleji (než je malignita pokročilá), je-li maximální HLA shoda

da a je-li dárce mladší 35 let [8, 9]. Je tedy logické, že nejlépe tento úkol splní registry disponující velkým počtem dobře HLA typizovaných dárců a s nízkým věkovým mediánem.

ČR v tomto směru disponuje jednou z nejkvalitnějších databází dárců v obou registrech. Většina z nich je typizována na všechny základní HLA antigeny (v případě ČNRDD dokonce cca 99 %) a dárce mají nízký věkový medián. Naprosto objektivním a neoddiskutovatelným

indikátorem celkové úrovně registru je prestižní mezinárodní WMDA certifikace s následnou akreditací. ČNRDD ji obdržel v roce 2005 jako 4. registr na světě a v září 2014 již podruhé obhájil plnou akreditaci, ČRDKD má od roku 2016 WMDA certifikaci. Tato skutečnost garantuje maximální bezpečnost pro každého dárce podstupujícího proceduru darování KB a současně bezpečný a kvalitní štěp pro každého příjemce. Mimochodem tuto akreditaci, respektive certifikaci nemá dosud žádný jiný registr z postkomunistických zemí.

Transplantační centra vybírají optimálního dárce (tedy mladého, s nejlepší shodou a rychlou dostupností), bez ohledu na národnost, je proto dalším nepřímým ukazatelem kvality registru podíl odběrů KB z registru pro příjemce ve stejné zemi k celkovému počtu nepříbuzenských transplantací provedených v dané zemi (tzv. podíl „národních“ dárců).



Graf 3. Podíl „národních“ dárců (v %) k počtu provedených nepříbuzenských transplantací v daném státu (2017)

## JINDRA P.

Pro ČR toto srovnání vyznívá lichotivě, což dokumentuje graf 3. Jestliže v celé ČR bylo v roce 2017 od národního dárce provedeno 19 % nepříbuzenských transplantací (z toho bylo 93 % zajištěno dárce ČNRDD, zbylých 7 % dárce z ČRDKD), ve srovnatelných, dokonce ekonomicky silnějších zemích bylo těchto transplantací provedeno relativně mnohem méně. Je povzbuzující, že i přes dosažené úspěchy oba registry pokračují v intenzivním nábore a současně pracují na zlepšení profilů svých dárců, ať již ve smyslu cíleného zaměření na mladé dárce a zvýšení kvality vstupní HLA typizace (aktuálně jsou všichni nově registrovaní dárce typizováni na úrovni vysokého rozlišení ve všech 6 relevantních HLA lokusech).

**ZÁVĚR**

Zmíněné výsledky činností obou registrů by jistě potěšily jejich zakladatele, předčasně zesnulého primáře MUDr. Vladimíra Kozu a doc. MUDr. Evu Ivaškovou.

Úspěchy a renomé programu dárcovství KB v ČR za více než čtvrtstoletí od založení ČNRDD a ČRDKD je nutno považovat především za společný úspěch všech spolupracujících dárcovských a náborových center. Více než 110 000 dárců a přímý přístup k více než 32 milionům dárců celého světa rozhodně není málo ani v mezinárodním kontextu. Pro transplantační centra ČR je pozitivní zprávou, že pro většinu jejich nemocných nalezneme včas optimálního dárce KB. A to na počátku byla jen vize jednotlivců, kterou do současné podoby rozvinulo systematické úsilí desítek profesionálních a dobrovolných spolupracovníků. Jim a každému z oněch více než 110 000 dárců patří velký dík!

**LITERATURE**

- Osgood EE, Riddle MC, Mathews TJ. Aplastic anemia treated with daily transfusions and intravenous marrow; case report. *Ann Intern Med* 1939;13:357-367.
- Jindra P. Praktický pohled na význam HLA shody pro transplantaci krvetvorných buněk od dospělých nepříbuzných dárců. *Transfuzie Hematol dnes* 2013;19:33-38.
- Pasquini MC, Wang Z, Horowitz MM, Gale RP. 2010 report from the Center for International Blood and Marrow Transplant Research (CIBMTR): current uses and outcomes of hematopoietic cell transplants for blood and bone marrow disorders. *Clin Transpl* 2010;87-105.
- Jindra P, Sedláček P, Žák P. Optimální proces vyhledávání dospělého nepříbuzného dárce krvetvorných buněk. *Doporučení Transplantační sekce České hematologické společnosti. Transfuzie Hematol dnes* 2014;20:33-38.
- Hansen JA, Clift RA, Thomas ED, Buckner CD, Storb R, Giblett ER. Transplantation of marrow from an unrelated donor to a patient with acute leukemia. *N Engl J Med* 1980;303(10):565-567.
- Confer D. The Shirley Nolan Lecture: Celebrating 40 years of the Anthony Nolan Register. Presented at the WMDA IDRC 2014. Dostupné na [www: https://share.wmda.info/pages/viewpage.action?pageId=152797187&preview=/20742412/20749121/20140625-IDRC-PRES-Shirley\\_Nolan\\_Lecture\\_Final\\_.pdf](https://share.wmda.info/pages/viewpage.action?pageId=152797187&preview=/20742412/20749121/20140625-IDRC-PRES-Shirley_Nolan_Lecture_Final_.pdf)
- World Marrow Donor Association. Dostupné na [www: https://statistics.wmda.info/](https://statistics.wmda.info/) (accessed on 1. Sep 2018).
- Lown RN, Shaw BE. Beating the odds: factors implicated in the speed and availability of unrelated haematopoietic cell donor provision. *Bone Marrow Transplant* 2013;48:210-219.
- Collman C, Soellman SR, Zhang MJ, et al. The effect of donor characteristics on survival after unrelated donor transplantation for hematologic malignancy *Blood* 2016;127:260-267.

**Čestné prohlášení**

Autor práce je vedoucím lékařem Českého národního registru dárců dřeně. Vznik ani publikace článku

**Poděkování**

Všem spolupracovníkům všech dárcovských a náborových center, všem dárce.

Práce byla podpořena granty MZd NV18-03-00277, 15-25809A a následujícími projekty: Národního programu udržitelnosti I (NPU I) č. LO1503 a LO1506 poskytovaného Ministerstvem školství, mládeže a tělovýchovy, projektem institucionálního výzkumu MZČR –FNPI, 00669806.

nebyly podpořeny žádnou farmaceutickou firmou.

*Doručeno do redakce dne 5. 9. 2018.*

*Přijato po recenzi dne 8. 10. 2018.*

**MUDr. Pavel Jindra, Ph.D.**

**Hematologicko-onkologické oddělení FN Plzeň  
Alej Svobody 80  
604 60 Plzeň  
e-mail: jindra@fnplzen.cz**



- terapeutická alternativa v případě selhávající mobilizace krvetočných buněk v indikaci MM nebo NHL<sup>1</sup>
- pozitivní vliv na kvalitativní složení transplantátu<sup>2</sup>
- složení transplantátu příznivě ovlivňuje včasné obnovení imunitních procesů a OS i PFS<sup>2</sup>

#### Zkrácená informace o léčivém přípravku • Mozobil 20 mg/ml injekční roztok

**Název přípravku:** Mozobil 20 mg/ml injekční roztok. **Složení:** 1 lahvička obsahuje 24 mg plerixaforu v 1,2 ml roztoku. **Indikace:** Mozobil je v kombinaci s G-CSF určen ke zlepšení mobilizace hematopoetických kmenových buněk do periferní krve pro odběr a následnou autologní transplantaci u pacientů s lymfomem a mnohočetným myelomem, jejichž buňky mobilizují nedostatečně. **Dávkování a způsob podání:** Věk nad 60 let a/nebo předchozí myelosupresivní chemoterapie, extenzivní předchozí chemoterapie a/nebo špičková koncentrace krvetočných kmenových buněk vyplavovaných do periferie menší než 20 buněk/mikrolitr byly identifikovány jako prediktoři slabé (nedostatečné) mobilizace. Doporučená dávka plerixaforu podávaná subkutánně (s.c) je: 20 mg fixní dávky nebo 0,24 mg/kg tělesné hmotnosti u pacientů s tělesnou hmotností ≤ 83 kg denně a 0,24 mg/kg tělesné hmotnosti u pacientů s tělesnou hmotností > 83 kg. Přípravek se podává podkožní injekcí 6 až 11 hodin před zahájením každé aferézy po 4 denní předchozí přípravné léčbě faktorem stimulujícím granulocytární kolonie (G-CSF). Tělesná hmotnost použitá k výpočtu dávky plerixaforu by měla být stanovena během 1 týdne před první dávkou plerixaforu. Celková dávka plerixaforu by neměla s ohledem na zvyšující se expozici při rostoucí hmotnosti přesáhnout 40 mg. Doporučená souběžná farmakoterapie: 10 µg/kg G-CSF po dobu 4 po sobě jdoucích dnů každé ráno před první dávkou plerixaforu a dále každé ráno před aferézou. **Pediatrická populace:** Zkušenosti u dětských pacientů jsou omezené. Bezpečnost a účinnost přípravku Mozobil u dětských pacientů mladších 18 let dosud nebyla hodnocena v kontrolovaných klinických studiích. **Pacienti s poruchou funkce ledvin:** Při volbě dávky nutno dbát zvýšené opatrnosti s ohledem na častější výskyt zhoršených renálních funkcí ve vyšším věku. Pacientům s clearance kreatininu 20–50 ml/min nutno snížit dávku o jednu třetinu na 0,16 mg/kg/den. Klinické údaje hodnotící tuto úpravu dávky jsou omezené. U pacientů s clearance kreatininu méně než < 20 ml/min není dostatek klinických zkušeností k doporučení alternativního dávkování, stejně jako v případě doporučeného dávkování u pacientů léčených hemodialýzou. Celková dávka by neměla překročit 27 mg/denně, pokud je clearance kreatininu nižší než 50 ml/min. **Kontraindikace:** Hypersenzitivita na plerixafor či kteroukoliv pomocnou látku přípravku. **Zvláštní upozornění a opatření:** Při použití přípravku Mozobil společně s G-CSF pro mobilizaci hematopoetických kmenových buněk u pacientů s lymfomem nebo mnohočetným myelomem se z kostní dřené mohou uvolňovat nádorové buňky, které se následně dostanou do leukoferetického produktu. Možnost reinfuze nádorových buněk nebyla dostatečně hodnocena. Při podávání pacientům s akutní myeloidní leukémií a leukémií plazmatických buněk může dojít ke zvýšení počtu leukemických buněk v periferní krvi. Současně s mobilizací hematopoetických kmenových buněk může dojít k mobilizaci leukemických buněk a následně kontaminaci aferetických produktů. Plerixafor se nedoporučuje používat pro mobilizaci hematopoetických kmenových buněk a jejich následný sběr u pacientů s leukémií. Mozobil společně s G-CSF zvyšuje počet cirkulujících leukocytů i populace hematopoetických kmenových buněk. Během léčby přípravkem Mozobil je nutné monitorovat počet bílých krvinek a posoudit klinický stav pacienta. Komplikací aferézy je trombocytopenie a vyskytuje se u pacientů léčených Mozobilem. U všech pacientů je nutné monitorovat počet krevních destiček. Možnost vzniku systémových (kopřivka, periorbitální otoky, dušnost, hypoxie) a vazovagálních reakcí. Nutno přijmout příslušná opatření s ohledem na tyto reakce. Nelze vyloučit možnost vzniku splenomegalie. U léčených pacientů s bolestmi břicha v levém podžebří nutno vyšetřit stav sleziny. **Interakce:** Studie interakcí nebyly provedeny. Plerixafor se nemetabolizuje enzymy cytochromu P450 CYP ani neinhibuje ani neindukuje enzymy P450 CYP. **Fertilita, těhotenství a kojení:** Ženy, které mohou otěhotnět, musí během léčby používat účinnou antikoncepci. Při podávání během těhotenství může přípravek způsobit vrozené vývojové vady. Pokud to klinický stav ženy nevyžaduje, neměl by být Mozobil podáván. Není známo, zdali se plerixafor vylučuje do mateřského mléka. Při léčbě přípravkem Mozobil je nutné ukončit kojení. Účinky na ženskou a mužskou fertilitu nejsou známy. **Účinky na schopnost řídit a obsluhovat stroje:** Mozobil může ovlivnit schopnost řídit a obsluhovat stroje. Vyskytly se: točení hlavy, únava nebo vazovagální reakce; proto se při řízení a obsluze strojů doporučuje zvýšená opatrnost. **Nežádoucí účinky:** alergické reakce, anafylaktické reakce, nespavost, závratě, bolesti hlavy, průjem, nauzea, zvracení, bolesti břicha, žaludeční dyskomfort, dyspepsie, břišní distenze, zácpa, nadýmání, orální hypestézie, sucho v ústech, hyperhidróza, erytém, bolest kloubů a muskuloskeletální bolest, parestézie, reakce v místě injekce a infuze, únava, malátnost, možnost vzniku hyperleukocytózy, vazovagálních reakcí, abnormální sny a noční můry. **Předávkování:** Dosud nebyl hlášen žádný případ předávkování. Při dávkách vyšších než doporučené dávkování může být vyšší výskyt gastrointestinálních poruch, vazovagálních reakcí, ortostatické hypotenze či synkopy. **Doba použitelnosti a podmínky uchování:** 3 roky, po otevření má být okamžitě použit, žádné zvláštní podmínky uchování. **Balení:** 1 lahvička o objemu 2 ml z čirého skla typu I s chlorobutyl/butyl pryžovou zátkou a hliníkovým uzávěrem s plastovým odtrhovacím víčkem. Každá lahvička obsahuje 1,2 ml roztoku. **Držitel rozhodnutí o registraci:** Genzyme Europe, B.V. Gooimeer 10, 1411DD Naarden, Nizozemsko, **Registrační číslo:** EU/1/09/537/001 **Datum revize textu:** 11. 10. 2018.

Před použitím přípravku se seznamte s úplnou informací o přípravku. Přípravek je vázán na lékařský předpis a je částečně hrazen z prostředků veřejného zdravotního pojištění. Souhrn údajů o přípravku obdržíte na adrese: sanofi-aventis, s.r.o., Evropská 846/176a, 160 00 Praha 6, tel.: 233 086 111, fax: 233 086 222, <http://www.ema.europa.eu/>.

Určeno pro odbornou veřejnost

1. SPC přípravku Mozobil

2. Jaakko Valtola, Ville Varmavu, Antti Ropponen et al. Early immune recovery after autologous transplantation in non-Hodgkin lymphoma patients: predictive factors and clinical significance. Reprinted from Leukemia and Lymphoma 2016 early online.

# Vývoj transplantací hematopoetických buněk v posledních 25 letech

**Cetkovský P.**

Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

*Transfuze Hematol. dnes, 25, 2019, No. 1, p. 26–29*

## SOUHRN

V článku je uveden přehled změn, které vedly k rozšíření programů HCT a zlepšení výsledků. Jedná se především o následující změny: transplantční týmy získaly zkušenosti umožňující rychlejší rozpoznání a lepší terapii potenciálně smrtelných komplikací, byly zavedeny citlivé diagnostiky komplikací a jsou k dispozici nové účinné léky, používání hematopoetických buněk získaných po mobilizaci z kostní dřeně, rozšíření spektra dárců (včetně haploidentických), lepší pochopení patogeneze některých komplikací, změna spektra diagnóz i intenzity předtransplantační přípravy.

## KLÍČOVÁ SLOVA

transplantace hematopoetických buněk

## SUMMARY

**Cetkovský P.**

### Developments in haematopoietic stem cell transplantation over the past 25 years

This article reviews the changes that have led to a broadening of the HCT program and have improved its results. These changes predominantly have involved the following: transplant teams have acquired greater experience enabling more rapid recognition and better treatment of potentially lethal complications; highly sensitive methods to diagnose complications and new drugs have been introduced; haematopoietic stem cells acquired via bone marrow mobilisation have been increasingly used; the spectrum of donors has been extended (to include haplo-identical donors); there is now better understanding of the pathogenesis of certain complications and the spectrum of diagnoses as well as pre-transplant intensity have changed.

## KEY WORDS

haematopoietic stem cell transplantation

## ÚVOD

Funkce kostní dřeně („tvorba krvinek, které jsou vypouštěny do malých cév krevního oběhu“) byla objevena v roce 1868, kdy dva nezávislé týmy experimentálních patologů (z Německa a Itálie) popsaly svoje pozorování na zvířecím modelu [1, 2]. Poté bylo provedeno mnoho pokusů s léčebným podáním kostní dřeně (nejen per os, intramuskulárně či do dřeňových dutin, ale i „skutečných“ transplantací kostní dřeně intravenózně s dočasným úspěchem, umožňujících získání času pro návrat autologní krvetvorby u obětí atomových katastrof – prof. Mathé, 1958); zásadním průlomem v klinickém používání transplantací hematopoetických buněk (*hematopoietic cell transplantation*, HCT) byl objev HLA systému v 60. letech minulého století (Dausset 1965; a následná modifikace eseje umožňující prak-

tické využití – Terasaki). Od této doby se datuje éra klinických HCT.

## NEDÁVNÁ HISTORIE

(před více než 25 lety)

V letech 1970–1990 se HCT postupně stala **normální klinickou disciplínou**. Vzniklo mnoho transplantčních týmů po téměř celém světě, které stále zlepšovaly své praktické i teoretické dovednosti; jeden z prvních a nejvýznačnějších týmů byl vybudován v Seattlu pod vedením pozdějšího nositele Nobelovy ceny (v roce 1990) **prof. E. D. Thomase**. Zde byl, po zevrubném výzkumu na zvířecích modelech, poprvé stanoven dnes běžně používaný postup provádění HCT včetně odběru kostní dřeně, základů podpůrné terapie či profylaxe

nemoci z reakce štěpu proti hostiteli (*graft-versus-host disease*, GvHD).

V tomto období rychlý rozvoj HCT umožnily zejména následující pokroky [3, 4]:

- vývoj a zavedení nových léků, např. cyklosporinu A, v prevenci a léčbě GvHD či antiinfekčních látek (acyklovir, nové generace antibiotik a antimykotik), což vedlo ke stálému **snížení morbidity a mortality**, a tedy i zlepšování celkových výsledků HCT;
- prevence GvHD **deplecí T-lymfocytů** ze štěpu (v analýzách se však zjistil vyšší počet relapsů a infekčních komplikací);
- vznikly a rozrůstaly se **registry zdravých dobrovolníků** ochotných darovat hematopoetické buňky (tehdy výhradně odebírané z kostní dřeně), např. Anthony Nolan Research Group v Londýně, Europdonor v Leidenu a North American Marrow Donor Pool (NAMDP) v USA, což vedlo ke stále se zvyšujícímu počtu HCT od nepříbuzných dárců, a více nemocných tak dostávalo šanci na vyléčení;
- byly provedeny první HCT (1988) s **využitím pupečnickové krve** (*umbilical cord blood*, UCB) jako zdroje hematopoetických buněk (HC) k provedení HCT;
- začala být aplikována **vysoce dávkovaná chemoterapie s následnou autologní HCT** v terapii lymfomů, mnohočetného myelomu a některých solidních nádorů;
- do praxe byly zaváděny **nové léky** v rámci předtransplantační přípravy a v programech autologních HCT se vyvíjely metody čištění kostní dřeně od reziduálních maligních buněk;
- začaly být k dispozici první **velké soubory nemocných pro validní analýzy**, na jejichž podkladě byly identifikovány rizikové faktory HCT u jednotlivých chorob nebo ve vztahu nemocný-dárce.

## CO SE STALO ZA POSLEDNÍCH 25 LET?

Období od 90. let minulého století je spojeno s rychlým rozvojem HCT programů.

### Zkušenosti

Transplantační týmy získaly **zkušenosti**, umožňující **rychlejší rozpoznání a lepší terapii potenciálně smrtelných komplikací**. K dispozici začaly být nové citlivé metody umožňující včasnou (profylaktickou či pre-emptivní) terapii infekčních či jiných, např. toxických, komplikací, eventuálně aktivní zásah v případě zvyšování nárůstu měřitelné zbytkové choroby (*minimal residual disease*, MRD) [5].

### Změny v prostředí provádění HCT i podpůrné terapii

Došlo k úpravě prostředí, ve kterém by nemocní po HCT měli setrávat. Na rozdíl od původního umístění

v prostředí srovnatelném s operačními sály (tzv. *Life Islands*), je v současnosti podmínkou provádění alogenního HCT programu umístění nemocných v jednolůžkových pokojích; navíc je vhodná speciální úprava vzduchu (nejlépe tzv. HEPA filtrace). A v některých zemích je již nejen autologní, ale i alogenní HCT program realizován ambulantně.

Zavedení **citlivé diagnostiky infekčních, hlavně virových, komplikací**, především cytomegaloviru (CMV) a **dostupnost nových antivirotik** (ganciclovir, foscarnet atd.), včetně upravených druhů léčby (profylaktická či pre-emptivní aplikace) výrazně snížily morbiditu i mortalitu HCT nemocných. Buněčná terapie (virus specifické T-lymfocyty) bude výsledky zřejmě nadále vylepšovat.

Objevila se také nová **antimykotika** (např. flu-konazol, vorikonazol, posakonazol či isavukonazol, echinokandiny či na lipidy vázané deriváty amfotericinu B) či **antibiotika** a v současné době jsou septické komplikace v potransplantačním období jen málokdy příčinou mortality.

### Používání HC mobilizovaných z kostní dřeně do periferní krve

Velkou změnou bylo zahájení používání hematopoetických buněk (HC) získaných po mobilizaci pomocí hematopoetických stimulačních faktorů (hlavně G-CSF): po aplikaci G-CSF jsou HC zvýšeně vyplavovány z kostní dřeně do periferní krve, z ní následně (pomocí aferézy) „sklizeny“ a použity k HCT. Zlepšení mobilizace lze dosáhnout látkami působícími přímo na vazbu HC v kostní dřeni (plerixafor). V programech autologní HCT nahradily prakticky HC získávané z periferní krve odběr kostní dřeně. Podobně je tomu v mnoha transplantačních centrech i u programů alogenních HCT.

### Rozšíření zdrojů HC

V prvních dekádách byli jako dárci téměř výhradně používáni HLA shodní sourozenci (*matched sibling donors*, **MSD**). S rozvojem registrů dobrovolných dárců a zlepšováním technik testování HLA systému docházelo ke stále vyššímu podílu zastoupení shodných nepříbuzných dárců (*matched unrelated donors*, **MUD**) v programech jednotlivých transplantačních týmů, včetně zlepšování výsledků HCT od MUD. Především v dětských HCT programech docházelo k významnému zvyšování transplantace **UCB** štěpů; trend v posledních několika letech je již zase sestupný [6]. Se zlepšujícími se možnostmi GvHD profylaxe byli také stále více využíváni i zdraví dobrovolníci z registrů s akceptovatelnou HLA neshodou (1-2 z 10 testovaných znaků – tzv. 8/10 či 9/10, *mis-matched unrelated donors*, **MMUD**). Díky prevenci

GvHD aplikací post-transplantačního cyklofosfamidu (*post-transplant cyclophosphamide*, PTCy) došlo k mohutnému rozvoji tzv. haploidentických HCT (**haplo HCT**).

### Pochopení patogeneze GvHD

Pochopení podstaty GvHD a základních mechanismů účastníků se aloreaktivity a tolerance je stále zkoumáno v mnoha studiích a brzy lze očekávat nejen obvyklou globální imunopresi aplikací farmak či neselektivní deplece T-lymfocytů, ale také nové postupy zaměřené na indukci specifické tolerance vedoucí k prevenci GvHD při regeneraci imunity, avšak s posílením reakce štěpu proti nádoru (*graft-versus-tumor effect*, GvT), což povede ke zlepšení výsledků HCT. Bohužel, markery hrozící GvHD zatím nejsou dostatečně citlivé, aby bylo možno zahájit terapii (netoxickou) dříve, než dojde k rozvoji typických klinických projevů GvHD (s poškozením obvyklých orgánů a tkání).

### Reakce štěpu proti nádoru

GvT reakce byla experimentálně zkoumána od 80. let minulého století a v klinické praxi úspěšně využita při aplikaci dárcovských lymfocytů (*donor lymphocyte infusions*, DLI) u nemocných s chronickou myeloidní leukémií (CML). Stále však zůstává mnoho neznámého v pochopení tohoto jevu, stejně jako zatím selhávají pokusy separovat GvHD od GvT (největším problémem je zřejmě neschopnost identifikovat antigeny odpovídající za antileukemickou aloreaktivitu).

### Pokroky v molekulární biologii

Pokroky v laboratorních technikách vedly k tomu, že je možno nejen určit prognózu nemocných, ale i sledovat MRD a na základě těchto informací uzpůsobovat terapii. Neméně důležité jsou pokroky v transfekci genů do lidských buněk. Tato tzv. genová terapie bude mít mnoho možných využití v kontextu HCT, a to od korekce vrozené genetické choroby až po produkci umělých konstruktů (např. tzv. chimérických antigenních receptorů, CAR) využívajících identifikaci a vazby na povrchové antigeny na nádorových buňkách, t. č. především v léčbě lymfoidních malignit.

### Změna spektra transplantovaných diagnóz

Došlo rovněž ke změně spektra chorob, léčených prostřednictvím HCT [7, 8]. V minulosti nejčastější diagnózou indikovanou k alogenní HCT byla CML. S rozvojem moderní léčby (tyrozinkinázové inhibitory, TKI) se praxe zcela změnila a HCT se u této choroby provádějí jen zcela ojediněle u nemocných poměrně vzácně na TKI nereagující (či je netolerující). Rovněž u autologních programech došlo k posunu: téměř úplně

se zastavil program autologních HCT u karcinomu prsu a s vývojem nových léků se rovněž diskutuje o pozici autologní HCT u některých dalších onemocnění.

### Změna v přístupu k intenzitě předtransplantační přípravy

V teoretické rovině se úplně opustil původní postulát, podle kterého musí být eliminována příjemcova krvetvorba, aby se ve dřeni vytvořilo místo pro novou dárcovskou krvetvorbu. Bylo prokázáno, že vytvoření „prostoru“ není nutné a že obě krvetvorby, dárcova i příjemcova, mohou spolu koexistovat. To vedlo k zahájení programu dříve nazývaného tzv. „minitransplantace“, tedy HCT pro **nemyeloablativní přípravě** (*non-myeloablative*, NMA) či po **přípravě s redukovanou intenzitou** (*reduced intensity conditioning*, RIC). Tento méně toxický přístup umožnil provádění HCT i u nemocných dříve kontraindikovaných, ať již z důvodu vyššího věku nebo přítomných komplikací či komorbidit. Porovnávání výsledků s klasickými HCT po myeloablativní (MA) přípravě je obtížné vzhledem k odlišnému složení testovaných skupin nemocných i odlišně reagujících jednotlivých hematologických chorob. Obecně lze říci, že po NMA či RIC je méně komplikací a vyšší počet relapsů, proto potransplantační přežívání pacientů bývají často porovnatelná.

### Budoucnost HCT jako léčebné metody

Je velmi pravděpodobné, že HCT v podobě, v jaké jsou prováděny v současnosti, nemohou v konkurenci netransplantačních technologií přežít dlouho do 21. století. Nevýhody HCT:

- ne vždy vede k vyléčení pacienta;
- provádění je omezeno pouze na nemocné s vhodným dárcem HC;
- počet relapsů v posledních letech výrazněji nepoklesl;
- finančně nákladná a komplikovaná léčebná procedura.

Aby HCT přežily i v 21. století (a uspěly v konkurenci „netransplantačních“ možností), tak musí překonat svoje limity a splnit následující požadavky:

- metoda musí mít méně komplikací;
- musí se snížit stupeň léčebného selhání (redukce relapsů, např. zvýšením GvT a úspěšnou optimalizací přípravného režimu);
- bude se muset jednat o finančně méně nákladnou léčebnou metodu (měly by být prováděny hlavně ambulantně);
- bude se muset rozšířit i do nových oblastí (např. autoimunitní choroby, genová terapie, regenerativní medicína aj.).

Z dnešního pohledu je nepravděpodobné, že by HCT úplně zanikly a byly nahrazeny nějakou netransplantační technologií, např. chytrou cílenou léčbou. Jako nejvíce pravděpodobný se jeví scénář, v němž budou choroby léčeny kombinovanými postupy, a v nichž budou HCT i nadále hrát významnou roli [9].

## LITERATURA

1. Neuman E. Über die Bedeutung des Knochenmarkes für die Blutbildung. *Centralbl f d med Wissensch* 1868;44:69.
2. Bizzozero G. Sulla funzione ematopoetica del midollo delle ossa. *Gaz Med Ital Lombardia* 1868;46:381-382.
3. Barrett AJ, Treleaven J. The clinical practice of stem-cell transplantation. Oxford, Isis Medical Media Ltd, 1998, 960 s.
4. Appelbaum FR, Forman SJ, Negrin RS, Blume KG. Thomas' hematopoietic cell transplantation. 4th Edition. Oxford, Willey-Blackwell, 2011; 1752 s.
5. Vítek A, Vydra J, Marková-Šťastná M, Nováková L, Válková V, Cetkovský P. Transplantace krvetvorných buněk v Ústavu hematologie a krevní transfuze (1986–2016). *Transfuzie Hematol dnes* 2017; 23(S1):50–62.
6. Cetkovský P, Kořístek Z, Starý J, Štěrba J, Žák P. Současnost a budoucnost alternativních zdrojů hematopoetických buněk včetně pupečnickové krve: perspektivy bank pupečnickové krve: závěry Panelu expertů. *Transfuzie Hematol dnes* 2016;22(3):210–223.

7. Krejčí M, Sedláček P, Jindra P, et al. Indikace k alogenním a autologním transplantacím krvetvorných buněk v ČR v roce 2016: doporučení Transplantační sekce České hematologické společnosti ČLS JEP a České onkologické společnosti ČLS JEP. *Transfuzie Hematol dnes* 2016;22(2):127–150.
8. Válková V, Cetkovský P. Současná role transplantace hematopoetických kmenových buněk v léčbě chronické lymfocytární leukemie. *Transfuzie Hematol dnes* 2010;16(S1):81–87.
9. Cetkovský P, Mayer J, Starý J, Hričinová M, et al. Transplantace kostní dřeně a periferních hematopoetických buněk. 1. vyd. Praha, Galén, 2016; 460 s.

## Čestné prohlášení

Autor práce prohlašuje, že v souvislosti s tématem, vznikem a publikací tohoto článku není ve střetu zájmů a vznik ani publikace článku nebyly podpořeny žádnou farmaceutickou firmou.

*Doručeno do redakce dne 22. 11. 2018.*

*Přijato po recenzi dne 12. 12. 2018.*

**prof. MUDr. Petr Cetkovský, Ph.D., MBA**

Ústav hematologie a krevní transfuze  
U Nemocnice 2094/1  
128 00 Praha 2  
e-mail: petr.cetkovsky@uhkt.cz

# 25 rokov podpornej antiinfekčnej liečby v hematoonkológii

**Drgoňa L.**

Klinika onkohematológie, Lekárska fakulta Univerzity Komenského a Národný onkologický ústav, Bratislava

*Transfuzie Hematol. dnes, 25, 2019, No. 1, p. 30–33*

## SÚHRN

Vývoj a pokroky v diagnostike a liečbe hematologických malignít sú neoddeliteľne spojené s pokrokmi v podpornej liečbe. Liečebné postupy prinášali a prinášajú aj svoj diel toxicity a nežiaducich účinkov, ktoré môžu zásadným spôsobom ovplyvniť výsledok protinádorovej terapie. Antiinfekčná podpora sa snaží o redukciu infekčných komplikácií preventívne, alebo ich rieši následne po ich objavení. Význam potvrdzuje aj to, že sa odporúčané postupy podpornej antiinfekčnej liečby objavujú v rámci komplexnej liečby pacientov s hematologickými malignitami. Moderné stratégie na prevenciu a liečbu infekcií patria medzi faktory, ktoré zlepšili nielen kvalitu života ale aj jeho predĺženie u našich pacientov.

## KLÚČOVÉ SLOVÁ

podporná liečba – febrilná neutropénia – hematologické malignity – infekcie – rastové faktory – invazívne mykotické infekcie

## SUMMARY

**Drgoňa L.**

### 25 years of supportive anti-infective treatment in haemato-oncology

Developments and advances in the diagnosis and treatment of haematological malignancies are closely linked to progress in supportive care. Treatment is associated with toxicity and adverse events that can fundamentally influence the effect of antineoplastic therapy. The aim of anti-infective support is to reduce infectious complications preventively or causally once they manifest. Its importance is confirmed by their incorporation into guidelines governing the complex treatment of patients with haematological malignancies. Modern strategies for the prevention and treatment of infections are among the factors have improved not only quality of life but also survival in our patients.

## KEY WORDS

supportive therapy – febrile neutropenia – haematological malignancies – infections – growth factors – invasive fungal infections

## ÚVOD

Výsledky liečby hematologických malignít sa za posledných 25 rokov významne zlepšili, niektoré ochorenia vieme vo vysokom percente vyliečiť, niektoré vieme liečiť tak, že významne predlžujeme život pacientov. Limitujúcim faktorom úspešnej liečby môžu byť komplikácie prameniace z nežiaducich účinkov protinádorovej terapie [1]. Podporná liečba má za úlohu komplikáciám predchádzať alebo ich riešiť v prípade, že sa vyskytnú u konkrétneho pacienta. V tomto článku sa budem venovať antiinfekčnej podpornej liečbe, typickej pre našich pacientov. Nakoľko sa nedá venovať v tomto prehľade všetkým aspektom infekčných komplikácií, výber autora berte ako významne subjektívny.

## FEBRILNÁ NEUTROPÉNIA

Horúčka počas neutropénie je najčastejšou komplikáciou hematologických pacientov. Vzťah medzi neutropéniou, jej hĺbkou a trvaním, a výskytom infekcií definoval Bodey už v roku 1966 [2]. Zásadným krokom vpred bola definícia syndrómu febrilnej neutropénie (horúčka + neutropénia). Poznatky z ranných štúdií v 70. rokoch 20. storočia viedli k prelomovému konceptu empirickej iniciálnej antibiotickej liečby, ktorý sa uplatňuje v podstate dodnes [3]. Pred 25 rokmi zhrnul Pizzo včasnú éru liečby febrilnej neutropénie a presne naznačil nasledujúci vývoj [4]. V tomto období sa objavujú aj originálne práce v našich krajinách [5], pracoviská Českej a Slovenskej republiky sa začali aktívne za-

pájať do medzinárodnej spolupráce vo forme klinických štúdií, účasťou na tvorbe medzinárodných odporúčaní (napr. ECIL – European Conference on Infections in Leukemia), a vytvárajú aj pracovné skupiny a projekty (napr. Oportunní infekce u hematologických pacientů Czech Leukemia Study Group for Life, [6]). Princíp nasadenia širokospektrálnej antibiotickej (ATB) liečby sa nezmenil, prispôboval sa lokálnej epidemiológii a dostupnosti nových antibiotík [7].

Pôvodné kombinácie ATB (napríklad cefalosporín 3. generácie s aminoglykozidom) sa s objavením ATB so spektrom proti gramnegatívnym patogénom vrátane pseudomonád nahradili monoterapiou začiatkom milénia [8]. Nárast výskytu grampozitívnych infekcií súvisiaci s výskytom rizikových faktorov – centrálnymi cievnymi linkami, mukotoxickou chemoterapiou a antibiotickej profylaxiou začlenil do rozhodovacieho algoritmu pridanie vankomycínu do včasnej terapie v prípade dokumentovanej infekcie, nie však v empirickej terapii [9]. Postupná evolúcia rezistencie nemocničných patogénov v poslednej dekáde [10] princíp empirickej iniciálnej liečby nepopiera, ale prirodzene reflektuje návratom ku kombinačnej liečbe u rizikových pacientov, využívaním de-eskalačnej stratégie v centrách s výskytom problémových kmeňov [11, 12]. Po prechodnom nedostatku nových antibiotík proti rezistentným Gram-negatívnym baktériám v predchádzajúcom období sa aktuálne objavujú nové, účinné ATB (ceftolozan/tazobaktám, ceftazidim/avibaktám), ktoré majú potenciál v liečbe infekcií u neutropenických hematologických pacientov.

Koncom 90. rokov minulého storočia sa v priebehu klinických štúdií identifikovali rizikové faktory, ktoré majú význam v predikcii rizika vzniku a priebehu febrilnej neutropénie. Navyše, porovnávacie štúdie potvrdili bezpečnosť a účinnosť perorálnej antibiotickej liečby oproti klasickej intravenózne liečbe u definovanej skupiny pacientov [13]. MASCC skórovací index sa stal vhodným nástrojom na identifikáciu pacientov s nízkym rizikom komplikácií počas febrilnej neutropénie a perorálnu ATB liečbu [14]. V priebehu desaťročí sa dĺžka antibiotickej liečby febrilnej neutropénie mení, v súčasnosti odporúčania preferujú kratšiu liečbu než v minulosti [15].

**Diagnostika infekcií počas febrilnej neutropénie** sa za 25 rokov taktiež vyvíjala. Rýchlejšia, senzitivnejšia detekcia a identifikácia patogénov modernými postupmi (napr. MALDI-TOF, PCR) zlepšila reakčný čas na podanie adekvátnej liečby podľa mikrobiologickej analýzy avšak samotný princíp úvodnej empirickej liečby zatiaľ nezmenila. Vyšetrenie biomarkerov sa

stalo v poslednej dekáde samozrejmosťou v diagnostike a následnej liečbe mykotických infekcií, najmä invazívnej aspergilózy a infekcií spôsobených inými vláknitými hubami [16]. Galaktomanán a jeho detekcia v sére i bronchoalveolárnej laváži je v súčasnosti štandardom v diagnostike invazívnej aspergilózy a spúšťačom tzv. preemptívnej antimykotickej terapie [17]. Rozvoj molekulárnych mikrobiologických techník a ich prenos do praxe priniesie zmenu stratégie – rýchla diagnostika je príslušom rýchlej a presne cielenej liečby [18].

**V prevencii infekcií počas neutropénie** sa vývoj uberal dvoma smermi – cestou podávania antiinfekčnej profylaxie a cestou podávania rastových faktorov (G-CSF, granulocyty stimulujúce rastové faktory). V prípade antiinfekčnej profylaxie sme sa posunuli od celoplošného podávania antibiotík (najmä chinolónov), antimykotík (najmä flukonazolu) a virostatík k lepšej definícii skupín pacientov, ktorí majú z profylaxie významný benefit [19]. Dnes chinolóny profylakticky nepodávame každému neutropenikovi, ale len rizikovým pacientom, napr. po transplantácii krvotvorných buniek. Cieľom je aj zníženie selektívneho tlaku na rezistenciu. Oveľa viac vieme posúdiť riziká vzniku pneumocystovej pneumónie a následne použiť efektívnu profylaxiu kotrimoxazolom [20]. Antimykotická profylaxia je súčasťou moderných prístupov u vysokorizikových pacientov (pacienti po indukčnej liečbe AML, po alogénnej transplantácii krvotvorných buniek) [21, 22], kde využívame účinnejšie a bezpečnejšie antimykotiká. Antivirotiká/virostatiká používame v prevencii CMV infekcie po alogénnej transplantácii krvotvorných buniek použitím preemptívneho prístupu počas pravidelného monitoringu vírusovej nálože. Tento prístup za posledné dekády zásadne znížil výskyt CMV asociovaných komplikácií a mortality [23]. Aktuálne prežíva renesanciu profylaxia s objavením sa bezpečnejších virostatík bez hematologickej toxicity [24].

Druhou cestou, ktorá nevyklučuje použitie vyššie uvedenej profylaxie antiinfekčnými látkami, je podávanie rastových faktorov krvotvorby – G-CSF – s cieľom skrátiť neutropéniu, znížiť výskyt febrilnej neutropénie a celkovo infekčných komplikácií asociovaných s neutropéniou. Pred 25 rokmi sa začínala éra používania filgrastimu v prevencii febrilnej neutropénie [25], ktorá trvá dodnes. Dnes vieme, že G-CSF v primárnej profylaxii skrátujú trvanie neutropénie a znižujú výskyt infekčných komplikácií a skrátujú dĺžku hospitalizácie, o ovplyvnení celkovej mortality sú sporné údaje [26]. Vývoj priniesol do praxe dlhodobé pôsobiace rastové faktory (pegfilgrastím, lipegfilgrastím), ktoré sú minimálne rovnako účinné ako krátkodobé pôsobiace

(filgrastím, lenograstím). G-CSF sú prvými príkladmi používania biosimilárov v dennej praxi v hematookológii [27].

### INVAZÍVNE MYKOTICKÉ INFEKČIE

**V diagnostike a liečbe invazívnych mykoticých infekcií** sa vývoj za 25 rokov posunul k presnejšej a rýchlejšej diagnostike pomocou sérologických markerov (napr. galaktomanán, beta-D-glukán), počítačovej tomografie s vysokým rozlíšením (HRCT) [28]; k používaniu antimykotickej profylaxie u rizikových pacientov [29], k používaniu nových antimykotík s vyššou účinnosťou (vorikonazol [30], posakonazol [21, 22], echinokandíny). Empirická antimykotická liečba známa cca 30 rokov je stále vhodnou stratégiou hoci použitie pre-emptívnej liečby s využitím diagnostických markerov invazívnych mykóz je rovnako účinné a šetriace antimykotiká [31, 32].

### ZÁVER

Čo ostalo a nemalo by sa meniť ani za ďalších 25 rokov? Poctivá anamnéza a klinické vyšetrenie hematookologického pacienta s neutropéniou, horúčkou alebo iným prejavom infekcie. Spolu s modernou diagnostikou a antiinfekčnou terapiou, posúdením rizika pacienta a s pomocou odporúčaní dokážeme úspešne riešiť infekčné komplikácie a zachraňovať životy pacientov s hematologickými malignitami. Rozvoj podpornej antiinfekčnej liečby ide ruka v ruke s rozvojom kauzálnej liečby hematologických malignít, výzvou je potenciál infekčných komplikácií pri nových cielených terapiách [33].

### LITERATÚRA

- Kouba M, Lukášová M. Prevence a léčba infekčních komplikací v hematookológii. *Vnitř Lék* 2012;58(suppl. 2):56–60.
- Bodey GP, Buckley M, Sathe YS, et al. Quantitative relationship between circulating leukocytes and infection in patients with acute leukemia. *Ann Intern Med* 1966;61:328.
- Pizzo PA, Robichaud KJ, Gill FA, et al. Empiric antibiotic and antifungal therapy for cancer patients with prolonged fever and granulocytopenia. *Am J Med* 1982;72:101–111.
- Pizzo PA. Management of patients with cancer and treatment-induced neutropenia. *N Engl J Med* 1993;328:1323–1332.
- Krcméry V Jr., Danisovicová A, Drgona L, et al. Ceftriaxone versus ceftazidime plus aminoglycoside therapy for infections in patients with neutropenia after cytotoxic chemotherapy. *Short communication. Neoplasma* 1993;40(2):103–105.
- <http://www.leukemia-cell.org/index.php?pg=home--projekty--infekce>, (4.11.2018).
- Kolář M, Faber E, Lochmannová J jr., et al. Antibiotická léčba pacientů s febrilní neutropenií. *Transfuzie Hematol dnes* 2002;1:20–24.
- Drgoňa L. Febrilná neutropénia. *Onkológia (Bratisl)* 2012;7(1):20–23.
- Cometta A, Marchetti O, Calandra T. Empirical use of anti-Gram-positive antibiotics in febrile neutropenic cancer patients with acute leukaemia. *Eur J Cancer Suppl* 2007;5:23–31.
- Mikulska M, Viscoli C, Orasch C, et al. for the Fourth European Conference on Infections in Leukemia Group (ECIL-4), a joint venture of EBMT, EORTC, ICHS, ELN and ESGICH/ESCMID. Aetiology and resistance in bacteraemias among adult and paediatric haematology and cancer patients. *J Infect* 2014;68(4):321–331.
- Averbuch D, Cordonnier C, Livermore DM, et al. on behalf of ECIL4, a joint venture of EBMT, EORTC, ICHS, ESGICH/ESCMID and ELN. Targeted therapy against multi-resistant bacteria in leukemic and hematopoietic stem cell transplant recipients – guidelines of the 4th European Conference on Infections in Leukemia. *Haematologica* 2013;98(12):1836–1847.
- Averbuch D, Orasch C, Cordonnier C, et al. on behalf of ECIL4, a joint venture of EBMT, EORTC, ICHS, ESGICH/ESCMID and ELN. European guidelines for empirical antibacterial therapy for febrile neutropenic patients in the era of growing resistance: summary of the 2011 4th European Conference on Infections in Leukemia. *Haematologica* 2013;98(12):1826–1835.
- Kern WV, Cometta A, DeBock R, et al. Oral versus intravenous empirical antimicrobial therapy for fever in patients with granulocytopenia who are receiving cancer chemotherapy. *IATCG EORTC. N Engl J Med* 1999;341:312–318.
- Klastersky J, Paesmans M, Rubenstein EB, et al. The Multinational Association for Supportive Care in Cancer risk index: a multinational scoring system for identifying low-risk febrile, neutropenic cancer patients. *J Clin Oncol* 2000;18:3038–3051.
- Orasch C, Averbuch D, Mikulska M, et al. for the 4th European Conference on Infections in Leukemia. Discontinuation of empirical antibiotic therapy in neutropenic leukaemia patients with fever of unknown origin is ethical. *Clin Microbiol Infect* 2015;21:e25–e27.
- Tissot F, Agrawal S, Pagano L, et al. ECIL-6 guidelines for the treatment of invasive candidiasis, aspergillosis and mucormycosis in leukemia and hematopoietic stem cell transplant patients. *Haematologica* 2017;102(3):433–444.
- Maertens J, Theunissen K, Verhoef G, et al. Galactomannan and computed tomography-based preemptive antifungal therapy in neutropenic patients at high risk for invasive fungal infection: a prospective feasibility study. *Clin Infect Dis* 2005;41:1242–1250.
- Bezdicke M, Lengerova M, Ricna D, et al. Rapid detection of fungal pathogens in bronchoalveolar lavage samples using panfungal PCR combined with high resolution melting analysis. *Med Mycol* 2016;54(7):714–724.
- Čerňan M, Sztokowski T, Kolář M, et al. Infekčné komplikácie behom indukčnej liečby akútnej myeloblastovej leukémie bez použitia antibiotickej profylaxie. *Transfuzie Hematol dnes* 2015;21(1):14–23.
- Cordonnier C, Cesaro S, Maschmeyer G, et al. Pneumocystis jirovecii pneumonia: still a concern in patients with haematological malignancies. *Haematologica* 2015;100(1):1–11.

- nancies and stem cell transplant recipients. *J Antimicrob Chemother* 2016;71:2379–2385.
21. Cornely OA, Maertens J, Drew JW, et al. Posaconazole versus fluconazole or itraconazole prophylaxis in patients with neutropenia. *N Engl J Med* 2007;356:348–359.
  22. Ullman AJ, Lipton JH, Vesole DH, et al. Posaconazole versus fluconazole for prophylaxis for invasive fungal infections in allogeneic hematopoietic stem cell transplant recipients with graft-versus-host disease: results of a multicenter trial. *N Engl J Med* 2007;356:335–347.
  23. Green ML, Leisenring W, Stachel D, et al. Efficacy of a viral load-based, risk- adapted, preemptive treatment strategy for prevention of cytomegalovirus disease after hematopoietic cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2012;18:1687–1699.
  24. Marty F, Ljungman P, Chemaly RF, et al. Letermovir prophylaxis for cytomegalovirus in hematopoietic-cell transplantation. *N Engl J Med* 2017;377:2433–2444.
  25. Trillet-Lenoir V, Green J, Manegold C, et al. Recombinant granulocyte colony stimulating factor reduces the infectious complications of cytotoxic chemotherapy. *Eur J Cancer* 1993;29A:319–324.
  26. Wang L, Baser O, Kutikova L, et al. The impact of primary prophylaxis with granulocyte colony-stimulating factors on febrile neutropenia during chemotherapy: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Support Care Cancer* 2015;23(11):3131–3140.
  27. Gascon P, Fuhr U, Sorgel F, et al. Development of a new G-CSF product based on biosimilarity assessment. *Ann Oncol* 2010;21:1419–1429.
  28. Drgoňa L, Trupl J, Mikula J, et al. Diagnostika a liečba invazívnych mykóz –inovovaná verzia 1.2008. *Antibiotiká a rezistencia* 2008;3(7):5–13.
  29. Ráčil Z, Haber J, Drgoňa L, et al. Primárny profylaxe invazívnych mykotických infekcií u hematookologických nemocných – doporučení odborníku s podporou CELL, CHS JEP, COS JEP, SOS SLS. *Postgrad Med* 2009;11(Suppl.1):39–42.
  30. Herbrecht R, Denning DW, Patterson TF, et al. Voriconazole versus amphotericin B for primary therapy of invasive aspergillosis. *N Engl J Med* 2002;347:408–415.
  31. Cordonnier C, Pautas C, Maury S, et al. Empirical versus preemptive antifungal therapy for high-risk, febrile, neutropenic patients: a randomized, controlled trial. *Clin Infect Dis* 2009;48:1042–1051.
  32. Ráčil Z, Haber J, Drgoňa L, et al. Empirická antimykotická liečba febrilnej neutropenie u nemocných s hematologickou malignitou – doporučení odborníků – s podporou CELL, ČHS ČLS JEP, ČOS ČLS JEP, SCHS SLS. *Postgrad Med* 2010;132(Suppl. 5):23–25.
  33. Drgoňa L, Gudiol C, Lanini S, Salzberger B, Ippolito G, Mikulska M. ESCMID Study Group for Infections in Compromised Hosts (ESGICH) Consensus Document on the safety of targeted and biological therapies: an Infectious Diseases perspective (Agents targeting lymphoid or myeloid cells surface antigens [II]: CD22, CD30, CD33, CD38, CD40, SLAMF-7 and CCR4). *Clin Microbiol Inf* 2018;24(Supl2):S83–S94.

### Čestné prohlášení

Autor práce prehlasuje, že v súvislosti s témou, vznikom a publikáciou tohto článku nie je v strete záujmov a vznik ani publikácia článku nebola podporená žiadnou farmaceutickou firmou.

*Do redakcie doručeno dne 4. 11. 2018.*

*Přijato po recenzii dne 17. 12. 2018.*

### doc. MUDr. Ľuboš Drgoňa, CSc., MHA, FECCM

Klinika onkohematológie  
Lekárska fakulta Univerzity Komenského  
Národný onkologický ústav  
833 10 Bratislava  
Slovenská republika  
e-mail: lubos.drgona@nou.sk

# 25 let vývoje metod molekulární biologie a jejich uplatnění v hemato(onko)logii

Machová Poláková K.<sup>1</sup>, Čuřík N.<sup>1</sup>, Votavová H.<sup>1</sup>, Trka J.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

<sup>2</sup>CLIP – Childhood Leukaemia Investigation Prague a Klinika dětské hematologie a onkologie 2. LF UK a FN Motol, Praha

*Transfuzie Hematol. dnes, 25, 2019, No. 1, p. 34–42*

## SOUHRN

Obor molekulární biologie má za cíl vysvětlovat podstatu fungování živých procesů na úrovni molekul identifikováním mechanismů, které produkují takové procesy. Fundamentální objevy popisující přirozené systémy živé přírody vedly k odvození molekulárních technologií, které fungují *in vitro*. Jejich vlastní použití nejenže dále prohlubuje poznání v oboru molekulární biologie, ale je klíčové pro zlepšování prevence, diagnostiky a léčby lidských onemocnění. Tento souhrnný článek pojednává o zásadních molekulárně genetických metodách, jejichž vývoj v uplynulých 25 letech umožnil jejich uplatnění v diagnostice a monitorování hemato(onko)logických onemocnění, a které zásadním způsobem přispěly ke zlepšení prognózy pacientů a léčebných přístupů.

## KLÍČOVÁ SLOVA

polymerázová řetězová reakce (PCR) – sekvenování nové generace (NGS) – microarray – minimální zbytková nemoc (MRN)

## SUMMARY

Machová Poláková K., Čuřík N., Votavová H., Trka J.

### Development of molecular biology methods and their applications in haemato(onco)logy in the last 25 years

The field of molecular biology aims to explain the fundamentals governing living processes at molecular level by identifying mechanisms that produce such processes. Central discoveries describing the innate systems of living nature helped derive molecular technologies that work *in vitro*. The application of these methods has not only improved understanding of molecular biology but has also helped to improve prevention, diagnosis and treatment of human diseases.

This review focuses on the key technologies of molecular genetics and their development over the past 25 years. The application of these methods in the diagnosis and monitoring of haemato(onco)logical patients that have helped significantly to improve prognosis and treatment approaches, is described.

## KEY WORDS

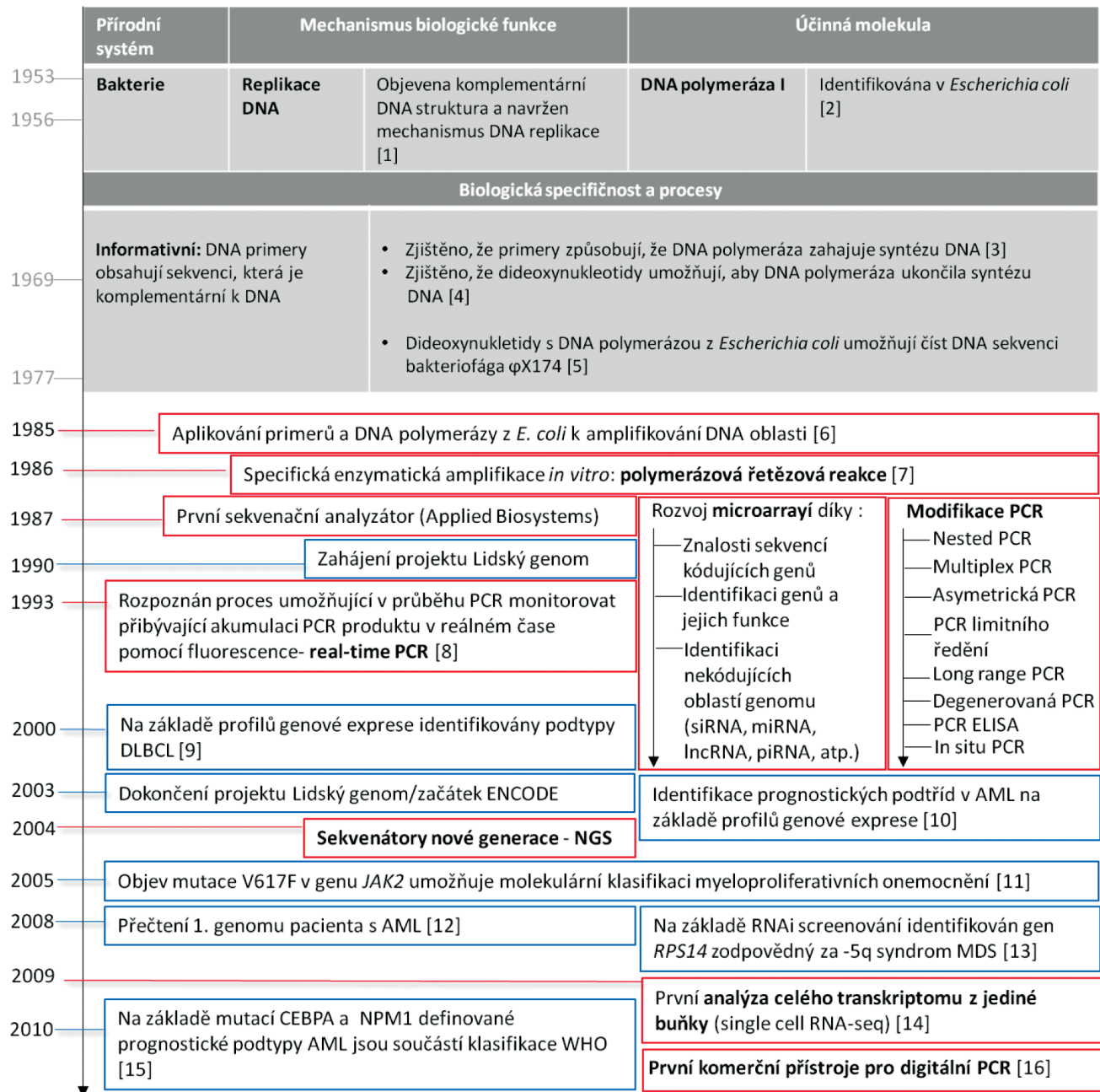
polymerase chain reaction (PCR) – next generation sequencing (NGS) – microarray – minimal residual disease (MRD)

## SEKVENOVÁNÍ DNA A SEKVENOVÁNÍ NOVÉ GENERACE – NGS

První molekulárně genetické technologie (RFLP – *restriction fragment length polymorphism*; SSCP *single strand conformation polymorphism*) umožňující screening nukleotidových změn byly založeny na restriktivních endonukleázách, které jsou přirozeně produkovány bakteriemi pro destrukci cizorodé DNA bakteriofágů. Informační hodnota těchto analýz však byla limi-

tovaná z důvodu neznalosti cílových genů a oblastí genomu. Sekvenování DNA je vysoce informativní technologie, která umožňuje identifikovat definitivní nukleotidové záměny v cílových genech i nekódujících oblastech genomu. Obrázek 1 ve zjednodušené formě představuje přirozenou předlohu principu sekvenování a jeho vývoj jako technologie pro *in vitro* použití. Sekvenování (uváděno též jako sekvencování), je biochemický proces, který umožňuje „číst DNA“, tedy

25 LET VÝVOJE METOD MOLEKULÁRNÍ BIOLOGIE



**Obr. 1.** Časová osa spojená s objevy v molekulární genetice a jejich uplatnění v diagnostice a monitorování hemato(onko)logických onemocnění. V šedých rámečcích jsou vyznačeny zásadní objevy v biologických systémech, které následně umožnily dosažení klíčových technologických inovací (červené rámečky) a na jejich základě pak průlomy v translační medicíně nemocí krevetvorby (modré rámečky).

pořadí nukleových bází A (adenin), C (cytosin), G (guanin) a T (tymin).

S uvedením prvního automatizovaného sekvenátoru (rok 1987) přišel i celosvětový projekt lidského genomu (The Human Genome Project; rok 1990), který umožnil prozkoumat lidskou genetickou výbavu a její změny asociované s různorodými onemocněními. Veškeré

validní informace z prozkoumaných oblastí lidského genomu jsou shromažďovány v různých veřejně dostupných databázích. Nejvíce používanou a nejznámější databází je National Center for Biotechnology Information (U.S. National Library of Medicine, 8600 Rockville Pike, Bethesda MD, 20894 USA). Znalost lidského genomu umožnila prudký rozvoj vysokoka-

pacitních analýz na bázi čipů (anglicky „*microarray*“; o využití čipů v hematologii pojednává následující kapitola). Praktické využití si sekvenování a následné analýzy porovnávací získanou sekvencí z vyšetřovaného vzorku se známou referenční sekvencí zdravého lidského genomu nachází ve vyšetřování somatických a germinálních mutací v cílových genech, které jsou spjaty s prognózou hematologických onemocnění. Dlouhé úseky sekvencí cílových genů, které mohou na různých pozicích nukleotidů nést záměny, je vhodné analyzovat současně, tedy v rámci jedné analýzy. Klasické sekvenování využívající Sangerovy metody [5] a sekvenátory na bázi automatizovaných kapilárních elektroforéz umožňuje v jedné analýze detekovat mutace napříč celou cílovou sekvencí. Klasické sekvenování je například stále zlatým standardem pro vyšetření cca 1000 bp dlouhé kódující oblasti kinázové domény BCR-ABL1, která u pacientů s chronickou myeloidní leukémií (CML) rezistentní k léčbě inhibitory tyrozinových kináz (TKI) může nést jednobodové mutace, které způsobují selhání léčby [17]. Nevýhodou klasického sekvenování pro vyšetřování mutací je nízká citlivost, která limituje celé vyšetření minimálně 15–20% zastoupením mutované sekvence v analyzovaném vzorku. Klinická praxe ukázala, že citlivost vyšetření klasickým sekvenováním limituje časně odhalení mutací v případech rychle postupující progresse onemocnění. Sekvenování nové generace (NGS) umožňuje díky své vysoké citlivosti na úrovni pohybující se mezi 1–3 % odhalit mutace mnohem dříve v průběhu léčby [18–20]. Navíc se ukázalo, že spolehlivě detekuje tzv. „*low-level*“ mutace, které mají prognostický význam, jelikož jsou spjaté s rizikem progresse CML [21]. NGS rovněž umožňuje postihnout biologii klonálního vývoje mutovaných CML klonů, protože rozkrývá celou jejich komplexitu, odlišuje polyklonální mutace od kompozitních, tj. v případech vícečetných mutací NGS určí, zda mutace pocházejí z více klonů nebo z jednoho klonu. Kompozitní mutace určují odlišný stupeň citlivosti CML buňky k TKI oproti situaci, kdy se mutace nacházejí v odlišných klonech, což je důležitá informace pro následnou volbu léčebné strategie pacienta. Podobně lze pomocí NGS analýzy mutací určit přesnou klonální hierarchii rozvoje AML a molekulární kinetiku relapsu tohoto onemocnění [22].

Zmíněné sekvenování nové generace neboli správněji ale méně často používané „*Massive Parallel Sequencing*“ je metoda, která využívá možnosti sekvenovat paralelně mnoho jednotlivých molekul nukleových kyselin v jediném experimentu. Díky pomoci PCR předem připravených tzv. knihoven NGS umožňuje sekvenovat celý genom člověka v jediné reakci („*Whole Genome Sequencing*“

– WGS). Další aplikace NGS jsou určovány typem, resp. druhem přípravy sekvenačních knihoven. Můžeme tak omezit sekvenování na přepisované části genomu („*Whole Exome Sequencing*“ – WES), nebo si vybrat jako cíl sekvenování již přepsanou RNA („*Whole Transcriptome Sequencing*“ – WTS nebo také RNASeq). „*Capture-based Sequencing*“ je metoda založená na vychytávání a sekvenování určitých úseků nukleové kyseliny na základě částečné předchozí znalosti cílové sekvence.

Metody NGS jsou masivně využívány ve výzkumu a čím dál více i v rutinní diagnostice vrozených i získaných geneticky podmíněných chorob, ale i nemocí infekčních. Výhodou NGS je tzv. škálovatelnost („*scalability*“), neboli variabilita hloubky sekvenování – můžeme si totiž zvolit, kolik molekul daného úseku nukleové kyseliny bude sekvenováno. Tato tzv. hloubka pokrytí určuje, zda budeme schopni odhalit i malé subklony v případě krevních malignit, či chiméry při vyšetření zárodečného genomu. Postupy založené na WGS jsou zatím v diagnostice spíše výjimkou kvůli velkému objemu získaných dat a nejasnému významu řady genetických změn v nepřepisované části genomu. Oproti tomu WES či RNASeq jsou již běžně využívané a nahrazují postupně v diagnostice jednotlivé cílené přístupy vycházející z PCR či metod molekulární cytogenetiky. Například u imunodeficiencí je dnes WES metodou první volby z hlediska pracnosti, času i ceny [23]. RNASeq umožňuje identifikaci známých i dosud nepopsaných fúzních genů, určení exprese jednotlivých genů a jejich variant, i přítomnost exprimovaných mutací a malých insercí či delecí („*indels*“), a spojuje tak výhody molekulárně genetického a cytogenetického vyšetření. Navíc přináší možnost vytvoření celkového expresního profilu sekvenovaných buněk, který se využívá pro identifikaci zajímavých subtypů např. u leukemií – nejlépe známým příkladem jsou tzv. BCR-ABL1-like akutní lymfoblastické leukemie (ALL), neboli leukemie s expresním profilem podobným Ph-pozitivním ALL [24].

Individuální návrh knihoven pak umožňuje zvolit si jen určitou oblast genomu, několik oblastí, genů či jen jednotlivých exonů – jednotlivé amplikony. Pak mluvíme o amplikonovém NGS, v případě kombinace řady amplikonů do jedné reakce pak o tzv. panelovém sekvenování. Panelové sekvenování dnes dominuje diagnostice pro svou relativně nižší cenu, jednoduchost provedení a analýzy, ale i pro vyšší hloubku pokrytí. Příkladem je panelové sekvenování u myeloidních a myeloproliferativních onemocnění, která poměrně často nesou mutace v kritických genech ovlivňujících vyžívání myeloidní řady v průběhu křetvorby. Během jediné analýzy získáváme vysoké množství dat, které umožňuje provést stratifikaci pacientů a rozhodovat

o léčbě [25]. Musíme ale mít na paměti, že vybraný „panel“ genů je omezený a neumožňuje popsat nové genetické změny ani se k případně nově popsaným genům vrátit – jedná se tedy o limitovaný diagnostický nástroj ve srovnání s WES, WGS či WTS.

Specifickou oblastí aplikace amplikonového NGS je detekce reziduální nemoci. V posledních letech se rychle rozvíjí sekvenování přestaveb imunoreceptorových genů pro sledování reziduální nemoci u lymfoidních malignit. Konsorcium EuroClonality-NGS zavedlo a validovalo tuto metodu pro identifikaci cílů pro monitorování zbytkové nemoci a v současnosti pracuje na metodách kvantifikace. Zdá se, že NGS zvýší specifitu vyšetření a umožní tak zpřesnit prognostické odhady [26].

Správná analýza výsledků NGS (s výjimkou omezených panelů) vyžaduje přiměřenou počítačovou i bioinformatickou podporu; příprava a skladování dat, stejně jako detekce technických chyb a jejich případná korekce, je zejména v případě větších objemů analyzovaných vzorků velmi důležitá. Nicméně stále platí, že bioinformatický algoritmus je jen přípravným krokem pro skutečnou analýzu dat, kterou musí provádět zkušený lékař s biologickými znalostmi či biolog s medicínskými znalostmi, odborník na danou chorobu.

## DNA A RNA ČIPY

(„microarrays“)

DNA/RNA čip („microarray“) je miniaturizovaná testovací jednotka nesoucí na svém povrchu v přesně definovaném uspořádání imobilizované fragmenty DNA/RNA (sondy), ke kterým hybridizují hledané cílové sekvence ve vzorku. Vzhledem k vysoké hustotě sond na čipu lze současně testovat tisíce až desetitisíce cílových sekvencí, což umožnilo vědcům globální pohled na genom a transkriptom. K masivnímu rozšíření čipů došlo nejdříve v oblasti genové exprese a následně byly vyvinuty platformy pro studium polymorfismů a mutací, molekulárně cytogenetické analýzy, a nakonec i pro nově objevené nekódující RNA (ncRNA). V hematologii byly čipy široce použity pro charakterizaci genových expresních profilů specifických nejen pro daná onemocnění, ale i pro jejich různé podtypy či stadia. Golub et al. (1999) publikovali jednu z prvních studií, která demonstrovala použitelnost expresních profilů pro spolehlivou klasifikaci akutních leukemií [27]. Obdobný přístup byl úspěšně použit například pro subklasifikaci difuzního velkobuněčného B-lymfomu (DLBCL) [9] či pro stanovení prognostických podtříd akutní myeloidní leukemie (AML) [10]. Stejná diskriminační schopnost byla prokázána i u expresních profilů ncRNA, jako jsou mikroRNA (miRNA) a dlouhé ncRNA

(lncRNA) [28, 29]. V neposlední řadě byly v hematologii expresní čipy využity pro hledání vhodných diagnostických/prognostických markerů, genů predikujících odpověď na léčbu a potenciálních terapeutických cílů. V tomto kontextu lze zmínit například prognostický marker ZAP-70 (dnes slouží jako doprovodný faktor), jehož zvýšená genová exprese je asociována s agresivnějším průběhem chronické lymfocytární leukemie (CLL) [30]. U dětské ALL byl pomocí čipů identifikován gen CASP8AP2, jehož expresní hladina v době diagnózy predikovala odpověď na léčbu [31]. Ve studii Hofmann et al. (2002) definovali panel 56 odlišně exprimovaných genů, které byly asociovány s rozvojem sekundární rezistence na imatinib u pacientů s Ph-pozitivní ALL [32].

V oblasti DNA aplikací byla pro sledování změn v počtu kopií DNA úseků (amplifikace, delece, tzv. CNV – „copy number variations“) vyvinuta tzv. arrayCGH (array komparativní genomová hybridizace) založená na kohybridizaci rozdílně značené nádorové a kontrolní DNA k sondám na čipu. V současné době jsou však více používány tzv. „single nucleotide polymorphism“ (SNP) čipy, které umožňují stejnou analýzu CNV včetně detekce SNP. Metoda SNP čipů využívá sondy schopné rozlišit jednotlivé alely konkrétních jednonukleotidových polymorfismů, které jsou ve velkém počtu rozmístěny po celém genomu každého jedince. Rozsáhlou studii využívající SNP čipy pro detekci genetických aberací u dětí s ALL provedli například Mullighan et al. (2007) [33]. V hematologii patří čipy bezesporu mezi užitečné analytické nástroje nejenom pro výzkumné účely, ale našly své uplatnění i v diagnostických postupech (např. SNP čipy).

## POLYMERÁZOVÁ ŘETĚZOVÁ REAKCE - PCR

PCR je výchozí metodou pro většinu molekulárně genetických analýz. Umožňuje množení cílových úseků DNA na taková množství výsledného produktu syntézy, která lze vizualizovat pomocí různých zobrazovacích technologií. K vývoji PCR vedla řada na sebe navazujících objevů, zjištěných v systémech živé přírody, které zobrazuje obrázek 1. V průběhu času se zdokonalovaly PCR termocyklery, což také přispělo k odvození mnoha modifikací PCR.

V hematologických onemocněních se v diagnostice nejvíce uplatňují tyto aplikace PCR:

1. multiplex PCR,
2. real-time qPCR, a do popředí zájmu se dostává
3. digitální PCR.

### 1. Multiplex PCR (M-PCR)

M-PCR představuje modifikaci metody PCR. Funguje na stejných základních principech, ale využívá větší-

ho počtu sad PCR primerů a případně i většího počtu templátů zároveň. To umožňuje souběžnou amplifikaci většího počtu specifických úseků DNA v jedné reakční směsi, což vede k materiálové, finanční a časové úspoře oproti jednotlivým molekulárním vyšetřením příslušných oblastí genomu. Metoda si našla uplatnění v řadě oborů medicínského výzkumu, mezi něž se v průběhu 90. let minulého století zařadila i hematologie.

AML a ALL dětí i dospělých představují vysoce heterogenní onemocnění způsobené, resp. provázené řadou různých chromozomových aberací (translokací), genových fúzí a genových mutací. Cytogenetické vyšetření FISH (fluorescenční *in situ* hybridizace) představuje základní metodu umožňující detekci genových fúzí při diagnostice těchto onemocnění, ale jde o poměrně pracnou metodu. Potenciálem M-PCR je možnost rychlého screeningu většího počtu uvažovaných chromozomových aberací, což je příhodné pro diagnostiku a prognostiku u akutních leukemií. Koncem 90. let byla pomocí osmi paralelních multiplex PCR reakcí provedena úspěšná retrospektivní detekce 29 chromozomových aberací (80 variant zlomů) na 164 vzorcích pacientů s AML, resp. ALL, a ve vysokém procentu vzorků odhalila submikroskopické delece nebo skryté přestavby, které se předtím nepodařilo identifikovat cytogenetickými metodami [34]. Metoda byla opět v paralelním uspořádání s úspěchem využita pro detekci *KMT2A* (*MLL*) fúzních genů u primárních vzorků pacientů s AML a ALL i u buněčných linií s tímto typem přestavby [35] a pro detekci přestaveb *BCR-ABL1* a *PML/RARA* (*PML-RAR $\alpha$* ) typických pro CML, resp. akutní promyelocytární leukemii [36]. Na základě dosažených výsledků si metoda M-PCR postupně nacházela cestu do rutinního využití v klinických laboratořích. Jedním z milníků byla první multicentrická validační studie pro detekci 12 typů fúzních genů asociovaných s AML, ALL a CML, která ukázala, že metoda umožňuje spolehlivou a citlivou detekci molekulárních markerů těchto leukemických onemocnění [37].

Při současném využití v diagnostice, prognostice a monitorování hematologických chorob lze M-PCR vhodně propojovat také s dalšími metodami. *Multiplex* PCR byla v kombinaci s mikroelektronickým hybridizačním čipem a fluorescenční sondou využita k rychlému a přesnému detekování fúzních transkriptů přítomných v ALL, CML nebo AML bez nutnosti srovnávat velikost PCR produktů pomocí gelové elektroforézy [38]. Ve spojení s kapilární elektroforézou byla M-PCR využita k detekci mutací v genu *MPL* u pacientů s esenciální trombocytemií a primární myelofibrózou [39]. Jako perspektivní se jeví kombinace M-PCR připravující amplikony pro následné sekvenování umožňující např.

detekci velkého počtu mutací zároveň [40]. V současné době existují platformy jako například AmpliSeq umožňující najednou amplifikovat až 24 tisíc úseků DNA (reprezentujících stovky genů) a vznik DNA knihoven pro následné masivní sekvenování metodou NGS.

## 2. Real-time qPCR

*Real-time* qPCR (kvantitativní PCR v reálném čase) umožňuje sledovat amplifikaci cílové sekvence v reálném čase díky snímání emitované fluorescence v průběhu PCR. Tento proces byl rozpoznán v roce 1993 [8]. Co je zcela převratné u tohoto typu PCR, je přesná kvantifikace PCR produktů v průběhu exponenciální fáze amplifikačního procesu na rozdíl od odhadovaného množství produktu na konci klasické PCR. Pro snímání fluorescence, která umožňuje kvantifikaci cílového úseku sekvence v průběhu PCR, se nejhojněji využívají tzv. TaqMan hydrolyzační sondy. Exonukleázová aktivita Taq polymerázy v průběhu syntézy DNA řetězce průběhu hydrolyzuje a díky tomu dochází k emitování fluorescence, kterou zaznamenávají detektory *real-time* qPCR přístrojů.

Monitorování minimální zbytkové/reziduální nemoci (MRN) je významným prognostickým markerem a nedílnou součástí řady léčebných protokolů hematologických malignit. V poslední době se termín MRN stále častěji interpretuje jako měřitelná zbytková nemoc, což vychází ze zavedení vysoce citlivých molekulárních technik detekce reziduálních leukemických buněk, jejichž přítomnost je spojena s horší prognózou [41]. MRN je zatím stále nejčastěji kvantifikována prostřednictvím *real-time* qPCR cílových fúzních genů, fúzních transkriptů či onkogenů nesoucích aberace v sekvenci DNA nebo majících narušenou expresi.

Příkladem MRN u lymfoidních malignit je kvantifikace přeuspořádaní genů pro imunoglobulin (IGH) a pro receptor T buněk (TCR). IGH/TCR přestavby jsou unikátní sekvence, u kterých se má za to, že jsou jedinečné pro každou lymfoidní prekurzorovou buňku, tedy i maligní lymfoidní prekurzorovou buňku. Kvantifikace Ig/TCR přestaveb se využívá především u onemocnění postihující B liniové prekurzorové buňky, tedy u dětských a dospělých pacientů s B-ALL, u pacientů s B-CLL, s B-lymfomem a mnohočetným myelomem. Vyšetření se rovněž provádí u onemocnění postihující i T liniové prekurzorové buňky u dětských a dospělých pacientů s T-ALL a u pacientů s T-lymfomy. Určení Ig/TCR přestavby není technicky jednoduchá záležitost, stejně tak jako následující kvantifikace se zajištěním požadované citlivosti a specifčnosti analýzy [42]. Pouze specializované laboratoře, které jsou součástí konsorcií zabývajících se standardizací metodiky,

jako je například EURO-MRD konsorcium (<http://euro-mrd.org>), zaručují kvalitní MRN analýzu založenou na kvantifikaci Ig/TCR.

Chromozomové aberace jsou výborným nádorově-specifickým markerem pro sledování MRN. PCR primery leží na opačných stranách oblasti fúze genů a vysoce specificky a s výraznou citlivostí detekují množství MRN. U folikulárního lymfomu se využívá kvantifikace přestavby chromozomů 14 a 18 zasahující geny *BCL2* a *IGH* [43]. U plášťového lymfomu se kvantifikuje přestavba genů *CCND1(BCL1)* a *IGH*; t(11;14) [44]. Jedná se o pacient-specifické fúze, kdy DNA zlomy postihují oblast genů v rozsahu do 2 kb. U chromozomových aberací, které postihují geny, v kterých se zlomy vytvářejí v rozsáhlejších (více jak 200 kb), především intronových oblastech, se jako markery pro MRN monitorování využívají fúzní transkripty. Většina fúzí na úrovni transkriptů je pro pacienty shodná a je možné pracovat s úzkým setem primerů a prób. Typickým případem monitorování fúzního transkriptu je kvantifikace *BCR-ABL1* u CML a Ph+ ALL [45-46], *NPM1/ALK* u anaplastického velkobuněčného lymfomu s přestavbou t(2;5) a *ETV6/RUNX1 (TEL-AML1)*, *PML/RARA*, *CBFB/MYH11* a *RUNX1/RUNX1T1 (AML1-ETO)* u akutních leukemií [44].

Další využití pro sledování průběhu hematologických onemocnění má *real-time* qPCR při poškozeních genů na úrovni jejich sekvence či míry jejich exprese. Dobře známým příkladem jsou mutace v genu *NPM1*, které představují nejčastější molekulární lézi u pacientů s AML s cytogeneticky normálním nálezem. Přítomnost *NPM1* transkriptů nesoucích mutace se ukázala být velmi silným nezávislým prediktivním faktorem relapsu onemocnění [47]. Příkladem využití aberantní genové exprese pro monitorování MRN v praxi jsou transkripty genů *WT1*, jejichž množství je v krvetvorných buňkách AML pacientů obsaženo v průměru oproti zdravým jedincům. Měření exprese těchto genů slouží jako alternativní marker MRN u pacientů, u kterých nebyla zjištěna chromozomová změna vedoucí k fúzi genů [48].

Kvantifikace MRN přispěla k zásadním změnám v léčebných postupech hematologických malignit, kdy tyto změny významně zlepšily celkové prospívání pacientů. Například u CML mohly být skutečně klinické studie vysazující léčbu TKI, které se opírají právě o spolehlivé, standardizované monitorování hluboké molekulární odpovědi podle zbytkových hladin *BCR-ABL1* [45].

### 3. Digitální PCR

V současné době se v souvislosti s měřením MRN dynamicky rozvíjí využití digitální PCR. Ovšem pojem

digitální PCR byl poprvé použitý již v roce 1999 autory Vogelsteinem a Kinzlerem, kteří popisovali kvantifikaci mutace v *RAS* genu ve vzorku, který byl rozdělen pro provedení PCR reakcí v mikrodestičce obsahující 384 PCR jamek [49]. Termín digitální PCR byl pro tento typ analýzy velmi výstižný, jelikož zachycoval povahu reakce a ducha té doby [50]. Nicméně popisovaná metoda nebyla zcela nová, jelikož již o dekádu dříve byly používány termíny PCR jediné molekuly nebo PCR limitního ředění. Vůbec první publikace využívající digitální PCR pro kvantifikaci cílové sekvence se zabývala virem HIV [51]. Autoři se zaměřili na zjištění genetické diverzity HIV populace infikující lymfocyty ve vzorku krve HIV pozitivních pacientů. Rozpoznali, že analýza celé masy vzorku by neumožňovala zjistit sekvenční odlišnosti mezi individuálními provirálními molekulami. Použili proto limitní ředění vzorků, následnou PCR replikátů a sekvenování získaných PCR produktů. Díky analýzám limitního ředění se zjistilo, že lze na základě míry ředění a frekvence pozitivních amplifikací odvozenou Poissonovou distribucí dosti přesně spočítat množství provirálních molekul HIV. V analogii s touto prací byla PCR limitního ředění využita pro charakterizaci a kvantifikaci Ig/TCR klonální přestavby v době diagnózy u dětských ALL [52]. Metodika limitního ředění byla s příchodem *real-time* qPCR opuštěna, a to především z důvodu toho, že *real-time* qPCR představuje uzavřený systém s minimalizací kontaminace, která se vyskytovala v případě PCR limitního ředění, což byla významná nevýhoda metody v té době. V současné době zažívá PCR limitního ředění velký comeback díky vývoji přístrojů umožňujících v uzavřeném systému s minimem rizika kontaminace provádět digitální PCR. Komerčně dostupné přístroje pro digitální PCR se datují k roku 2011 [16]. Výhoda digitální PCR oproti *real-time* qPCR spočívá především v tom, že umožňuje s daleko vyšší přesností detekovat a kvantifikovat cílové molekuly, které jsou v analyzovaném vzorku obsaženy velmi málo. Zatím nejrozšířenější platforma kapkové digitální PCR (*droplet digital PCR*) distribuuje PCR reakci do několika desítek tisíc individuálních PCR reakcí před samotnou amplifikací. Míra signálu fluorescence vysílaného z jednotlivých kapek po skončení PCR slouží pro zjištění počtu kapek nesoucích cílový analyt, a tím umožňuje kvantifikovat jeho množství přítomné ve vzorku. Pojem absolutní kvantifikace se s oblibou užívá právě v souvislosti s digitální PCR a intuitivně poukazuje na výhodnosti této metody, která nevyžaduje plazmidové standardy pro odvození počtu kopií cílové sekvence, jak je tomu v případě *real-time* qPCR. Digitální PCR má mnoho dalších výhod, jako je například nižší citlivost k různým látkám inhibujícím PCR reakci.

Digitální PCR nalezne své uplatnění v lékařské praxi hemato(onko)logických onemocnění, u kterých bude zapotřebí s vysokou přesností a spolehlivostí kvantifikovat MRN. Zajisté uslyšíme o digitální PCR v souvislosti s kvantifikací zbytkových molekul BCR-ABL1 v případě pacientů s CML, kteří budou splňovat kritéria pro vysazení léčby TKI, a u kterých se léčba bude v praxi vynechávat.

## ZÁVĚR

Postupný rozvoj metod založených na PCR, následovaný objevem sekvenování nové generace, zcela změnil paradigma diagnostiky a sledování zbytkové nemoci u hematologických malignit i diagnostiku poruch krvetvorby či imunity. V současné době musí každé diagnostické pracoviště pečlivě zvažovat, jakou kombinaci laboratorních přístupů zvolí. Hledisek je řada: především jsou to klinické požadavky na minimální nutný rozsah diagnostiky, dále finanční možnosti, přístrojové vybavení, tradice příslušné laboratoře, a zejména objem vzorků procházejících diagnostickým procesem.

Je zřejmé, že postupně dojde k omezení jednotlivých cílených metod (PCR nebo FISH na detekci jednotlivé aberace) ve prospěch širokozáběrových metod typu čipů a nejrůznějších variant NGS. Využití těchto metod, přinášejících množství nových informací, s sebou však nese i určitá úskalí. Mezi ně patří např. potřeba velmi čistých populací buněk k analýzám, která může být zaručena jen sortováním buněk, stejně jako nutnost vyšetřit spolu se somatickým i zárodečný genom. Vývoj také směřuje k analýzám na úrovni jednotlivých buněk. Ty umožní získat informace o „nezprůměrované“ expresi genů (např. markerů MRN) nebo o ko-lokalizaci genových mutací, což bude hrát důležitou roli ve volbě individualizovaných terapeutických strategií, jak tomu již začíná být v translační medicíně solidních nádorů.

Hlavní změnou paradigmatu diagnostiky je ale fakt, že namísto převažující laboratorní práce a jednoduché interpretace výsledků vyšetření jsme konfrontováni s relativním úbytkem práce v laboratoři a výrazným nárůstem analytické a interpretační části vyšetření. Tato změna postupně povede k výrazným změnám v personálním obsazení laboratoří i změně komunikace mezi laboratorními pracovníky a lékaři-kliniky.

## LITERATURA

1. Watson JD, Crick FHC. Molecular Structure of Nucleic Acids: A Structure for Deoxyribose Nucleic Acid. *Nature* 1953;171:737-738.
2. Kornberg A, Lehman I, Simms E. Polydesoxyribonucleotide synthesis by enzymes from *Escherichia coli*. *Fed Proc* 1956b;291-292.

3. Kornberg A, Lehman IR, Bessman MJ, Simms ES. Enzymic synthesis of deoxyribonucleic acid. *Biochim Biophys Acta* 1956a;21:197-198.
4. Atkinson MR, Deutscher MP, Kornberg A, Russell AF, Moffatt JG. Enzymatic synthesis of deoxyribonucleic acid. XXXIV. Termination of chain growth by a 2',3'-dideoxyribonucleotide. *Biochemistry* 1969;8:4897-4904.
5. Sanger F, Nicklen S, Coulson AR. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1977;74:5463-5467.
6. Saiki RK, Scharf S, Faloona F, et al. Enzymatic amplification of beta-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. *Science* 1985;230:1350-1354.
7. Mullis K, Faloona F, Scharf S, Saiki R, Horn G, Erlich H. Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: the polymerase chain reaction. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol* 1986;51:263-273.
8. Higuchi R, Fockler C, Dollinger G, Watson R. Kinetic PCR analysis: real-time monitoring of DNA amplification reactions. *Biotechnology (N Y)* 1993;11:1026-1030.
9. Alizadeh AA, Eisen MB, Davis RE, et al. Distinct types of diffuse large B-cell lymphoma identified by gene expression profiling. *Nature* 2000;403:503-511.
10. Bullinger L, Döhner K, Bair E, et al. Use of gene-expression profiling to identify prognostic subclasses in adult acute myeloid leukemia. *N Engl J Med* 2004;350:1605-1616.
11. James C, Ugo V, Le Couédic JP, et al. A unique clonal JAK2 mutation leading to constitutive signalling causes polycythaemia vera. *Nature* 2005; 434:1144-1148.
12. Ley TJ, Mardis ER, Ding L, et al. DNA sequencing of a cytogenetically normal acute myeloid leukaemia genome. *Nature* 2008;456:66-72.
13. Ebert BL, Pretz J, Bosco J, et al. Identification of RPS14 as a 5q- syndrome gene by RNA interference screen. *Nature* 2008;451:335-339.
14. Tang F, Barbacioru C, Wang Y, et al. mRNA-Seq whole-transcriptome analysis of a single cell. *Nat Methods* 2009;6:377-382.
15. Döhner H, Estey EH, Amadori S, et al. Diagnosis and management of acute myeloid leukemia in adults: recommendations from an international expert panel, on behalf of the European LeukemiaNet. *Blood* 2010;115:453-474.
16. Hindson CM, Chevillet JR, Briggs HA, et al. Absolute quantification by droplet digital PCR versus analog real-time PCR. *Nat Methods* 2013;10:1003-1005.
17. Klamová H, Žižková H, Burda P, et al. Současné trendy v léčbě a diagnostice chronické myeloidní leukemie. *Transfuzie Hematol dnes* 2017;23(Supl 2):34-42.
18. Soverini S, De Benedittis C, Machova Polakova K, et al. Unraveling the complexity of tyrosine kinase inhibitor-resistant populations by ultra-deep sequencing of the BCR-ABL kinase domain. *Blood* 2013;122:1634-1648.
19. Machova Polakova K, Kulvait V, Benesova A, et al. Next-generation deep sequencing improves detection of BCR-ABL1 kinase domain mutations emerging under tyrosine kinase inhibitor treatment of chronic myeloid leukemia patients in chronic phase. *J Cancer Res Clin Oncol* 2015;141:887-899.
20. Musilova M, Razga F, Jurcek T, et al. BCR-ABL1 kinase domain mu-

- tational analysis of CD34+ stem/progenitor cells in newly diagnosed CML patients by next-generation sequencing. *Am J Hematol* 2014;89:1016–1017.
21. Soverini S, De Benedittis C, Papayannidis C, et al. Clinical impact of low-burden BCR-ABL1 mutations detectable by amplicon deep sequencing in Philadelphia-positive acute lymphoblastic leukemia patients. *Leukemia* 2016;30:1615–1619.
  22. Čulen M, Kosařová Z, Ježíšková I, et al. Sekvenování nové generace u akutní myeloidní leukemie: nový pohled na patogenezi a vývoj leukemických klonů. *Transfuzie Hematol dnes* 2017;23:185–191.
  23. Maffucci P, Filion CA, Boisson B, et al. Genetic diagnosis using whole exome sequencing in common variable immunodeficiency. *Front Immunol* 2016;7:220.
  24. Sanchez R, Morgades M, Ayala R, et al. Targeted RNA-Seq identify a subset of adolescent and adult patients with acute lymphoblastic leukemia with BCR-ABL1-like characteristics. *Blood* 2017;130:2710.
  25. Yang F, Press RD. Next-generation sequencing multi-gene mutation panels in myeloid malignancies. *The Hematologist* 2016;13:6–7.
  26. Kotrova M, Muzikova K, Mejstrikova E, et al. Next generation amplicon sequencing of immunoglobulin heavy chain gene rearrangements for minimal residual disease (MRD) stratification in childhood acute lymphoblastic leukemia (ALL): a comparison with classical qPCR-based technique. *Blood* 2014;124:2395.
  27. Golub TR, Slonim DK, Tamayo P, et al. Molecular classification of cancer: class discovery and class prediction by gene expression monitoring. *Science* 1999;286:531–537.
  28. Dostalova Merkerova M, Krejčík Z, Votavova H, Belickova M, Vasikova A, Cermak J. Distinctive microRNA expression profiles in CD34+ bone marrow cells from patients with myelodysplastic syndrome. *Eur J Hum Genet* 2011;19:313–319.
  29. Garzon R, Volinia S, Papaioannou D, et al. Expression and prognostic impact of lncRNAs in acute myeloid leukemia. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2014;111:18679–18684.
  30. Wiestner A, Rosenwald A, Barry TS, et al. ZAP-70 expression identifies a chronic lymphocytic leukemia subtype with unmutated immunoglobulin genes, inferior clinical outcome, and distinct gene expression profile. *Blood* 2003;101:4944–4951.
  31. Flotho C, Coustan-Smith E, Pei D, et al. Genes contributing to minimal residual disease in childhood acute lymphoblastic leukemia: prognostic significance of CASP8AP2. *Blood* 2006;108:1050–1057.
  32. Hofmann WK, de Vos S, Elashoff D, et al. Relation between resistance of Philadelphia-chromosome-positive acute lymphoblastic leukaemia to the tyrosine kinase inhibitor ST1571 and gene-expression profiles: a gene-expression study. *Lancet* 2002;359:481–486.
  33. Mullighan CG, Goorha S, Radtke I, et al. Genome-wide analysis of genetic alterations in acute lymphoblastic leukaemia. *Nature* 2007;446:758–764.
  34. Pallisgaard N, Hokland P, Riishøj DC, Pedersen B, Jørgensen P. Multiplex reverse transcription-polymerase chain reaction for simultaneous screening of 29 translocations and chromosomal aberrations in acute leukemia. *Blood* 1998;92:574–588.
  35. Andersson A, Höglund M, Johansson B, et al. Paired multiplex reverse-transcriptase polymerase chain reaction (PMRT-PCR) analysis as a rapid and accurate diagnostic tool for the detection of MLL fusion genes in hematologic malignancies. *Leukemia* 2001;15:1293–1300.
  36. Salto-Tellez M, Shelat SG, Benoit B, et al. Multiplex RT-PCR for the detection of leukemia-associated translocations: validation and application to routine molecular diagnostic practice. *J Mol Diagn* 2003;5:231–236.
  37. Gocke CD, Mason J, Brusca L, et al. Risk-based classification of leukemia by cytogenetic and multiplex molecular methods: results from a multicenter validation study. *Blood Cancer J* 2012;2:e78.
  38. Corradi B, Fazio G, Palmi C, Rossi V, Biondi A, Cazzaniga G. Efficient detection of leukemia-related fusion transcripts by multiplex PCR applied on a microelectronic platform. *Leukemia* 2008;22:294–302.
  39. Pettersson Cheng A, Viskari A, Odén U, et al. Improved MPL mutation screening with multiplex PCR and capillary electrophoresis. *Br J Haematol* 2017;179:838–840.
  40. Park N, Vassiliou G. Design and application of multiplex PCR seq for the detection of somatic mutations associated with myeloid malignancies. *Methods Mol Biol* 2017;1633:87–99.
  41. Goldman JM, Gale RP. What does MRD in leukemia really mean? *Leukemia* 2014;28:1131.
  42. Van der Velden VHJ, Hochhaus A, Cazzaniga G, Szczepanski T, Gabert J, van Dongen JJM. Detection of minimal residual disease in hematologic malignancies by real-time quantitative PCR: principles, approaches, and laboratory aspects. *Leukemia* 2003;17:1013–1034.
  43. Yunis JJ, Oken MM, Kaplan ME, Ensrud KM, Howe RR, Theologides A. Distinctive chromosomal abnormalities in histologic subtypes of non-Hodgkin's lymphoma. *N Engl J Med* 1982;307:1231–1236.
  44. Tsujimoto Y, Yunis J, Onorato-Showe L, Erikson J, Nowell PC, Croce CM. Molecular cloning of the chromosomal breakpoint of B-cell lymphomas and leukemias with the t(11;14), chromosome translocation. *Science* 1994;224:965–977.
  45. Zemanová K, Žížková H, Jurček T, et al. Chronická myeloidní leukemie – standardizace molekulárního monitorování hladiny transkriptů BCR-ABL1 v České republice. *Transfuzie Hematol dnes* 2016;22:56–64.
  46. Hrabovský Š, Folber F, Šálek C, Horáček JM, Mayer J, Doubek M. Pokroky v léčbě akutní lymfoblastické leukémie dospělých. *Transfuzie Hematol dnes* 2015;21:84–91.
  47. Ivey A, Hills RK, Simpson MA, et al. Assessment of minimal residual disease in standard-risk AML. *N Engl J Med* 2016;374:422–433.
  48. Kreuzer KA, Saborowski A, Lupberger J, et al. Fluorescent 5'-exonuclease assay for the absolute quantification of Wilms' tumour gene (WT1) mRNA: implications for monitoring human leukemias. *Br J Haematol* 2001;114:313–318.
  49. Vogelstein B and Kinzler KW. Digital PCR. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999;96:9236–9241.
  50. Morley AA. Digital PCR: A brief history. *Biomol Detection Quantif* 2014;1:1–2.
  51. Simmonds P, Balfe P, Peutherer JF, Ludlam CA, Bishop JO, Brown AJ. Human immunodeficiency virus-infected individuals contain provirus

in small number of peripheral mononuclear cells and at low copy numbers. *J Virol* 1990;64:864-872.

52. Sykes PJ, Neoh SH, Brisco MJ, Hughes E, Condon J, Morley AA. Quantitation of targets for the polymerase chain reaction by use of limited dilution. *Biotechniques* 1992;13:444-449.

#### Podíl autorů na přípravě rukopisu

KMP – koncept, psaní a finální revize rukopisu

NČ – psaní rukopisu, revize rukopisu a souhlas s finální verzí

HV – psaní rukopisu, revize rukopisu a souhlas s finální verzí

JT – psaní rukopisu (NGS, Závěr), revize rukopisu a souhlas s finální verzí.

#### Čestné prohlášení

Autoři práce prohlašují, že v souvislosti s tématem, vznikem a publikací tohoto článku nejsou ve střetu zájmů a vznik ani publikace článku nebyly podpořeny žádnou farmaceutickou firmou.

#### Poděkování

Autoři Machová Poláková K., Čuřík N. a Votavová H. byli podporováni MZČR 00023736.

*Doručeno do redakce dne 8. 11. 2018.*

*Přijato po recenzi dne 14. 12. 2018.*

#### Mgr. Kateřina Machová Poláková, Ph.D.

Ústav hematologie a krevní transfuze  
U Nemocnice 1  
128 00 Praha 2  
e-mail: katerina.machova@uhkt.cz

# 25 let vývoje dětské hematologie

Starý J.<sup>1</sup>, Blatný J.<sup>2</sup>, Pospíšilová D.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Klinika dětské hematologie a onkologie 2. LF UK a FN Motol, Praha

<sup>2</sup>Oddělení dětské hematologie a EHCCC FN Brno a Masarykova univerzita, Brno

<sup>3</sup>Dětská klinika UP a FN Olomouc

*Transfuze Hematol. dnes, 25, 2019, No. 1, p. 43-49*

## SOUHRN

Přehledné sdělení o pokroku v diagnostice, léčbě a výzkumu dětských onemocnění krve tvorby v České republice v posledních 25 letech.

## KLÍČOVÁ SLOVA

leukemie – hemofilie – neonkologická hematologie – děti

## SUMMARY

Starý J., Blatný J., Pospíšilová D.

### 25 years of developments in paediatric haematology

This is a review of the progress made in the diagnosis, treatment and research of paediatric haematopoietic diseases in the Czech Republic over the past 25 years.

## KEY WORDS

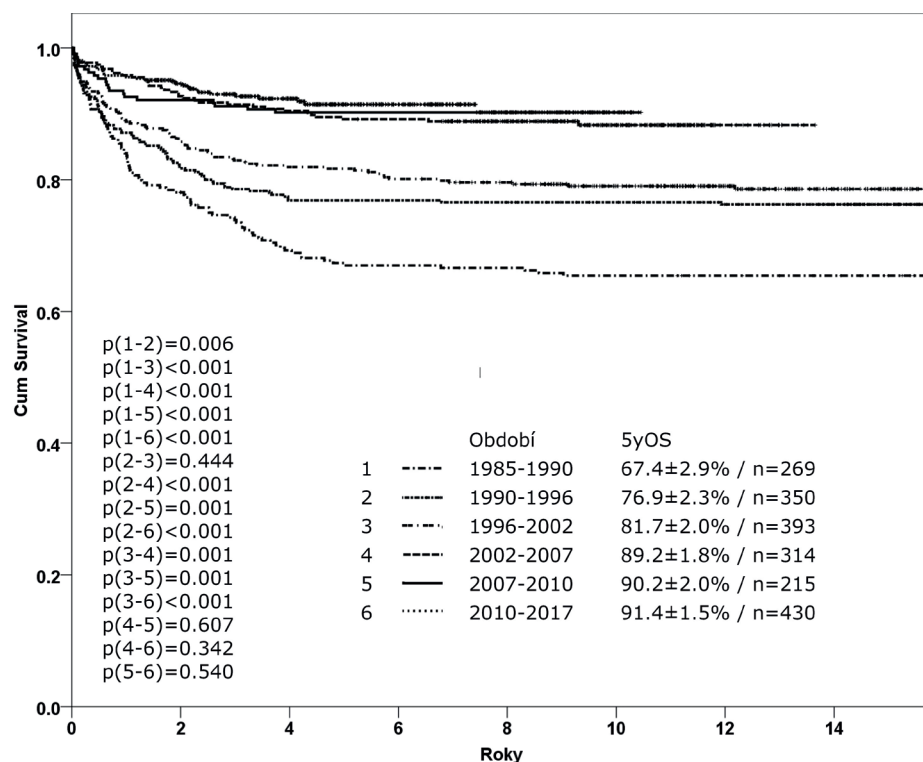
leukaemia – haemophilia – non-oncological haematology – children

## ÚVOD

Pracovní skupina pro dětskou hematologii (PSDH) byla založena v roce 1985 profesorem Hrodkem jako sekce České hematologické společnosti a České pediatrické společnosti ČLS JEP. Tvořili ji dětští hematologové z velkých, fakultních a krajských nemocnic a jejím prvním úkolem bylo sjednotit léčbu nejčastějšího nádorového onemocnění u dětí, akutní lymfoblastické leukemie (ALL). Volba padla na německý léčebný protokol BFM (Berlin-Frankfurt-Münster), který byl v té době jedním ze světově nejuznávanějších léčebných postupů. V průběhu druhé poloviny 80. let minulého století došlo k zdvojnásobení šance na vyléčení, z méně než 30 % na více než 60 % [1]. Léčba se odehrávala v 10 pracovištích a lékaři čelili řadě problémů s nejistou dodávkou cytostatik, podpůrnou léčbou a nedostatkem zkušeností ve zvládnání akutních komplikací léčby do té doby nepoznané intenzity. Druhou velkou výzvou dětské hematologie byla péče o hemofiliky, zajišťovaná transfuzemi čerstvě zmražené plazmy a kryoproteinu, komplikovaná nemožností podávat profylaktickou léčbu a časnou invalidizací těžkých hemofiliků.

## LEUKEMIE, TRANSPLANTACE KRVETVORNÝCH BUNĚK, LYMFOMY

Na počátku devadesátých let vstupovala česká dětská hematologie do mezinárodní konfrontace hendikepovaná chyběním mezinárodních kontaktů, ale s vůlí spolupracovat, učit se a zavádět v zahraničí spatřené postupy na domácích pracovištích. Možnost dlouhodobých zahraničních stáží, návštěvy zahraničních expertů u nás a účast na mezinárodních kongresech přispěly k rychlému rozvoji transplantace krve tvorných buněk (HSCT) v motolském pracovišti, které uskutečnilo první alogenní HSCT u dítěte v listopadu 1989. Od roku 1997 zahájilo ve spolupráci s Ústavem hematologie a krevní transfuze v Praze a českými registry dárců program nepřibuzné HSCT a poskytovalo ji nejen dětem s hematoonkologickými onemocněními, ale i s vrozenými a získanými selháními kostní dřeně, těžkými vrozenými poruchami imunity a některými vrozenými poruchami metabolismu [2-4]. Výsledky léčby ALL se trvale zlepšovaly, lékaři získali zkušenost se zvládnáním komplikací, postupně se sjednocovala léčba relapsu leukemie, upřesňovaly se indikace k transplantaci a vůle dětských hematologů spolupracovat přinášela



**Graf 1.** Léčba dětské akutní leukemie v České republice 1985–2017  
Pravděpodobnost 5letého přežití (OS)

ovoce. Počet pracovišť léčících dětskou ALL se ustálil na osmi (Ostrava, Olomouc, Brno, Hradec Králové, Ústí nad Labem, Plzeň, České Budějovice a Praha-Motol) [5]. Velmi úzká spolupráce byla navázána s cytogenetickými laboratořemi [6, 7]. V roce 1993 byl zahájen první jednotný protokol léčby dětské akutní myeloidní leukemie (AML), opět převzatý od německé pracovní skupiny BFM [8].

V roce 1991 se v Ostravě uskutečnila první konference českých dětských hematologů a již od roku následujícího se stala společným každoročním setkáním českých a slovenských dětských hematologů a od roku 2004 i dětských onkologů. V roce 2018 se uskutečnila 28. výroční konference v Českých Budějovicích.

V roce 1995 se při oddělení dětské hematologie motolské nemocnice otevřela laboratoř molekulární genetiky, ve které pracoval student doktorského studia MUDr. Jan Trka s jednou laborantkou. Po obhajobě doktorského studia a studijním pobytu v Bristolu přivedl do laboratoře další mladé spolupracovníky, s docentem Hrušákem spoluzaložil vědeckou výzkumnou skupinu CLIP (Childhood Leukemia Investigation Prague), která se přednostně věnovala výzkumu dětské ALL a následně i vrozeným imunodeficiencím, selháním kostní dřeně. Jedním z prvních výzkumných projektů

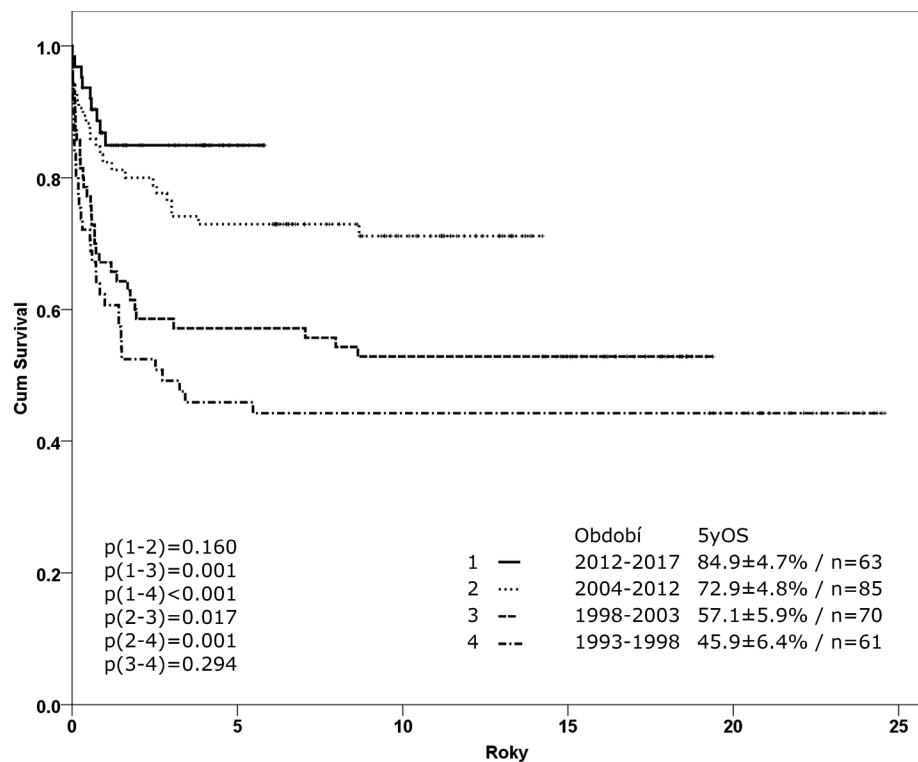
skupiny bylo zavedení detekce minimální reziduální nemoci metodami molekulární genetiky a imunofenotypizace. V druhé polovině devadesátých let umožnil její rozvoj centralizaci vysoce specializovaných diagnostických vyšetření u leukemií do FN Motol. Velký výzkumný potenciál stále se rozrůstající skupiny CLIP pod vedením profesora Trky získal mezinárodní respekt, oceněný jak po dvě funkční období trvajícím předsednictvím prof. Trky výboru pro diagnostiku a biologii dětské leukemie evropské leukemické společnosti I-BFM-SG (International-BFM-Study Group), tak narůstajícím počtem publikací v předních časopisech oboru a počtem získaných grantových projektů [9–18].

Šťastným rozhodnutím byl v roce 1994 vstup našich zástupců do evropské pracovní sku-

piny pro myelodysplastický syndrom v dětském věku (EWOG-MDS). Společné evropské výzkumné projekty tohoto vzácného onemocnění určovaly po dvě desetiletí mezinárodní pokrok v této problematice a zásadním způsobem změnil časnou diagnózu a transplantací prognózu těchto fatálních onemocnění [19].

V letech 2002–2007 jsme vedli mezinárodní studii léčby ALL, již se účastnilo 15 zemí tří kontinentů a bylo do ní zahrženo více než 5 000 dětských pacientů [21]. Její úspěšná realizace byla vstupenkou k přijetí do jednoho z vedoucích mezinárodních konsorcií léčby dětské ALL AIEOP-BFM. Šance na vyléčení dětské ALL tak v České republice stoupla na více než 90 % (graf 1) [21]. Rovněž výsledky léčby dětské AML se stále zlepšují a v současnosti činí 5leté přežití více než 70 % (graf 2). Léčba AML je soustředěna pouze do tří center (Klinika dětské hematologie a onkologie FN Motol, Praha, Klinika dětské onkologie FN Brno, Dětská klinika FN Olomouc), ročně je diagnostikováno v průměru 12 dětí s různými podtypy AML.

Maligní lymfomy jsou třetím nejčastějším maligním onemocněním u dětí s mírnou převahou Hodgkinova lymfomu nad nehodgkinskými lymfomy, které jsou u dětí s výjimkami vysokého stupně malignity a vyžadují velmi intenzivní chemoterapii, která jim dává více než 80% šanci na vyléčení. Tradici



**Graf 2.** Léčba dětské akutní leukemie v České republice 1993–2017  
Pravděpodobnost 5letého přežití (OS)

spolupráce s německou BFM skupinou dodržujeme i u NHL. Mezinárodním oceněním aktivit profesora Štěrbý bylo tříleté předsednictví lymfomového výboru evropské společnosti I-BFM-SG [22, 23]. Léčebné přístupy k Hodgkinovu lymfomu reflektují vysoký výskyt pozdních následků v dospělosti a úspěšně redukuje indikace k radioterapii a opouští léky snižující fertilitu vyléčených mladých lidí.

### VÝVOJ LÉČBY HEMOFILIE V ČESKÉ REPUBLICE ZA POSLEDNÍCH 25 LET

V roce 1993, několik let po změně politického režimu, byly v České republice již dostupné koncentráty faktorů krevního srážení, ale nebylo jich dost. Existovala pracoviště, která měla s léčbou hemofilie značnou zkušenost, ale neměla formální strukturu hemofilických center a mezioborová spolupráce ani komplexní přístup k léčbě osob s poruchami krevního srážení nebyly zdaleka samozřejmostí.

Devadesátá léta minulého století však přesto byla nádherným obdobím. Obdobím objevování nových možností, obdobím překotných změn k lepšímu. Poprvé v naší zemi byla zahájena profylaxe u osob s hemofilií. Tehdy to byla profylaxe sekundární a pouze u dětí, ale pro rodiče, pacienty i lékaře to bylo splnění

přání, o kterých si dříve nedovolili ani snít. Tragédie HIV se naší zemi téměř vyhnula, a tak bylo možno naplno využít možností, které profylaktické podávání tehdy plazmatických, středně čištěných koncentrátů FVIII a FIX přinášelo. Zavedení sekundární profylaxe u dětí a mladistvých snížilo počty krvácení z desítek na jednotky za rok. Dostupnost léků ve formě hromadně vyráběných lékových přípravků vedlo k rozšíření domácí léčby, a tak už pro děti ani pro dospělé neznamenalo krvácení strastiplnou cestu do zdravotnického zařízení a často zdlouhavý pobyt v nemocnici. Dostupnost léčby také umožnila provádění elektivních operačních výkonů, včetně ortopedických, a mnozí hemofilici tak opět „vstali z kolečkového křesla“. Hemofilie se stala léčitelnou chorobou.

Koncem devadesátých let a na přelomu století se dále zvyšovalo množství a zlepšovala kvalita koncentrátů faktorů krevního srážení (vysoce čištěné a dvojitě protivirově ošetřené preparáty) a významně se zlepšila i péče o osoby s inhibitory rozšířením použití tzv. „by-pass“ preparátů. Bylo možno zahájit i první imunotoleranční léčby u dětí. V rámci Pracovní skupiny pro dětskou hematologii začala spontánně vznikat, po vzoru hematologických center, i centra hemofilická. Bylo možno se zaměřit nejen na hemofilii, ale i na ostatní vrozené poruchy krevního srážení, například, ale nejen na von Willebrandovu chorobu [24]. Pediatrická pracoviště se rovněž dohodla na nutnosti prospektivně shromažďovat a sdílet data o léčbě hemofilie a obdobných diagnóz. Vznikl tak projekt HemIS (Hemophilia Information System), který se stal předchůdcem dnešního registru Českého národního hemofilického programu ([www.cnhp.registry.cz](http://www.cnhp.registry.cz)). Byli to právě pediatři, kdo stál u zrodu celonárodní mezioborové platformy Českého národního hemofilického programu (ČNHP).

Začátek 21. století pak jen urychlil další rozvoj péče o osoby s hemofilií. Začali se používat rekombinantní preparáty (poprvé v roce 2003 u pacienta ve FN Motol) a od roku 2006 se staly standardem doporučeným pro léčbu dosud neléčených pacientů [25]. Naplno se roz-

běhla i imunotoleranční léčba u dětí, které to potřebovaly [26]. V letech 2007–2010 se ke snaze pediatriů o spolupráci na národní úrovni postupně přidala i centra pro léčbu dospělých a původní projekt HemIS se transformoval do ČNHP a jeho registru. Jednotlivá pracoviště získala akreditaci a stala se formálně hemofilickými centry na národní a některá i na mezinárodní úrovni. Do péče o hemofiliky se integrálně zapojili i ostatní odbornosti (fyzioterapeuti, stomatologové, ortopedi apod.). Tehdy – právě před deseti lety – jsme i poprvé bilancovali [27].

Druhá dekáda tohoto století s sebou přinesla standardizaci péče o osoby s hemofilií a obdobnými chorobami. ČNHP poprvé v roce 2012 [28] a zatím naposledy v roce 2017 [29] publikoval národní konsenzuální standardy a doporučení pro diagnostiku a léčbu této skupiny onemocnění. Naše zkušenosti jsme zasadili do mezinárodního kontextu střední Evropy [30]. Česká hemofilická centra patří rovněž k těm, která mezi prvními do rutinní praxe zavedla individualizovanou léčbou šitou na míru jednotlivým pacientům pomocí využití farmakokinetiky podávaných léčiv [31]. Podílíme se autorsky i daty na vývoji největší světové akademické databáze populační farmakokinetiky (<http://wapps-hemo.org>). Registr ČNHP, jako zatím jediný na světě, má i elektronický „interface“ mezi svou databází a databází WAPPS-Hemo (Web-based Application for the Population Pharmacokinetic Service – Hemophilia).

Léčba hemofilie s sebou pochopitelně nese i známé komplikace. Tou nejzávažnější je vznik inhibitoru. Česká republika disponuje díky registru ČNHP přesnými národními daty o jeho incidenci a prevalenci a je schopna je sdílet s ostatními [32]. Aktivně se rovněž podílíme na probíhající diskusi o tom, co je příčinou vzniku inhibitorů a je-li možné toto riziko zmírnit, nebo mu dokonce předcházet [33]. Naše centra jsou navázána na mezinárodní odborné i pacientské organizace (EAHAD, EUHANET, EUHASS, EHC, WFH a další).

Je tedy nad čím se zamýšlet, na co být pyšní i z čeho se poučit a co zlepšit [34]. V každém případě však můžeme říci, že za posledních 25 let se změnilo vlastně všechno. A tak se změnil i život dětí s hemofilií. Ty dnešní od zdravých na první pohled nepoznáte. Ještě mnoho nás jistě čeká, ale věříme, že to jsou výhledy radostné a pozitivní – jak pro pacienty, tak pro zdravotníky, kteří se o ně společně starají. Jim všem – zejména sestrám, fyzioterapeutům, psychologům a lékařům patří poděkování.

## **VROZENÁ A ZÍSKANÁ SELHÁNÍ KOSTNÍ DŘENĚ, ANÉMIE, AUTOIMUNITNÍ CYTOPENIE**

První transplantace krevetvorných buněk byla u dítěte s aplastickou anémií provedena v České republice

v roce 1991. V průběhu devadesátých let byl nastaven systém cytomorfoloických, imunohistochemických a cytogenetických referenčních laboratoří, kde jsou vyšetřovány děti s podezřením na získaná selhání kostní dřeně z celé České republiky. Tato centralizace diagnostiky umožnila realizovat ne vždy snadné odlišení aplastické anémie od refrakterní cytopenie dětského věku a včasný záchyt Fanconioho anémie. Léčba pacientů byla soustředěna zpočátku v jednom, postupně ve více centrech. Kombinovanou imunosupresivní léčbou a včasnou HSCT od příbuzných i nepříbuzných dárců se daří vyléčit 90 % dětí se získanou aplastickou anémií [35, 36]. V roce 2010 jsme se aktivně zapojili do evropské prospektivní studie diagnostiky a léčby aplastické anémie EWOG-SAA (European Working Group for Severe Aplastic Anemia).

Před 30 lety, v roce 1988, byl na dětské klinice Fakultní nemocnice v Olomouci iniciován ve světě první observační registr Diamondovy-Blackfanovy anémie (DBA) [37]. V průběhu dalších let při budování registru pokračovalo olomoucké pracoviště ve spolupráci se všemi centry dětské hematologie a s laboratoří buněčných kultur na ÚHKT v Praze a později s Ústavem molekulární a translační medicíny LF UP a FN v Olomouci i některými zahraničními pracovišti. Výzkum v oblasti DBA dosáhl řady prioritních výsledků: byla odhalena patologická translace u DBA, byl objeven léčebný efekt leucinu na patologickou erytropoézu u DBA, byla popsána regulace hepcidinu u DBA a identifikována řada nových kauzálních mutací a delecí ribozomálních i extraribozomálních proteinů [38–42]. Český pracovní tým zabývající se studiem DBA je dnes díky dokonalé spolupráci všech center dětské hematologie respektován světovými odborníky a je zapojen do mezinárodního výzkumu v projektu EURO DBA.

V uplynulých dvaceti letech došlo k zásadnímu posunu v molekulárně-genetické diagnostice vrozených i získaných poruch červené krevní řady. Pracoviště LF UP a FN v Olomouci – Hemato-onkologická klinika, Dětská klinika a Ústav biologie – se staly respektovaným národním i evropským centrem pro studium vrozených i získaných poruch červené krevní řady a vybraným centrem ENERCA (European Network of Rare and Congenital Anaemias) pro diagnostiku vzácných anémií. S podporou celé řady výzkumných projektů a díky spolupráci všech center dětské hematologie se podařilo odhalit molekulární mechanismy u desítek dětských nemocných s vrozenými poruchami erytropoézy, což vedlo ke zvýšení kvality diagnostiky a léčby těchto onemocnění. Podařilo se odhalit i zcela nové mechanismy etiopatogeneze vrozených anémií a polycytemií. Ve spolupráci s výzkumnými skupinami z USA

a Kanady byla u dětského pacienta z ČR popsána nová vrozená porucha transportu iontů železa v erytroidních buňkách [43-46] a ve spolupráci s evropskými centry byla popsána adolescentní erytroidní hyperplazie predisponující k rozvoji myeloproliferativních chorob [47]. Zavedení měření enzymové aktivity erytrocytárních enzymů na Ústavu biologie LF UP v Olomouci umožnilo diagnostikovat (a v řadě případů i nově popsat) vzácné erytrocytární enzymopatie u dětí z jednotlivých center dětské hematologie [48-50].

V rámci pracovní skupiny se vyvíjel i výzkum v problematice metabolismu železa. Byla vyvinuta proteomická metoda ke stanovení hepcidinu, klíčové molekuly systémové regulace metabolismu železa, která umožňuje zpřesnění diagnostiky dětských anémií včetně anémie chronických chorob a je k dispozici pro všechna centra dětské hematologie. [42, 49-53].

V rámci pracovní skupiny věnující se hemoglobinopatiím v Ústavu hematologie a krevní transfuze v Praze a Ústavem biologie LF UP v Olomouci byl odhalen genetický podklad mikrocytární anémie [54, 55], popř. hemolytické anémie [56] u desítek dětí z České republiky. Včasná diagnóza hemoglobinopatie změnila léčebný přístup u těchto pacientů a zamezila nevhodnému podání preparátů železa pro mylně stanovenou diagnózu sideropenické anémie [52].

V letech 1998-99 jsme realizovali celostátní epidemiologickou studii zjišťující incidenci a léčebné přístupy k imunitní trombocytopenické purpře (ITP) u dětí. Incidence 4,6/100 000 dětí a dospívajících do 18 let věku byla v souladu s výskytem tohoto onemocnění v evropské populaci. Zatímco děti s akutní ITP byly léčeny nejen dětskými hematology, ale i v dětských odděleních okresních nemocnic, pacienti s chronickou ITP byli soustředěni v dětských hematologických pracovištích [57]. Zavedením mimetik trombopoetinu do léčby chronické ITP i u dětí došlo k vítané redukci indikací k splenektomii. Recentně zaváděné metody sekvenování nové generace umožňují dosažení pokroku v diagnostice příčin chronických autoimunitních cytopenií a detekci vrozených predispozic k selhání kostní dřeně a maligním onemocněním krvetvorby [58].

Vývoj dětské hematologie za posledních 25 let je dokonalým příkladem výsledků racionální a dobře organizované spolupráce všech center dětské hematologie v České republice a kvalitní výzkumné práce v jednotlivých vědeckých centrech. Vedl ke zvýšení úrovně péče o dětské pacienty s hematologickým onemocněním na úroveň ostatních vyspělých zemí v Evropě i ve světě a spolupráci s řadou zahraničních výzkumných týmů.

## LITERATURA

1. Starý J. Výsledky léčby dětí s akutní lymfoblastickou leukémií dle protokolu BFM 83 v České republice. *Čs Pediatr* 1993;48:391-397.
2. Starý J, Kobyłka P, Kavan P, et al. Alogenní transplantace kostní dřeně v dětském věku. *Čas Lék Čes* 1995;134:779-784.
3. Sedláček P, Formánková R, Keslová P, et al. Low mortality of children undergoing hematopoietic stem cell transplantation from 7 to 8/10 human leukocyte antigen allele-matched unrelated donors with the use of antithymocyte globulin. *Bone Marrow Transplant* 2006;38:745-750.
4. Šrámková L, Mužíková K, Fraňková E, et al. Detectable minimal residual disease before allogeneic hematopoietic stem cell transplantation predicts extremely poor prognosis in children with acute lymphoblastic leukemia. *Pediatr Blood Cancer* 2007;48:93-100.
5. Starý J, Jabali Y, Trka J, et al. Long-term results of treatment of childhood acute lymphoblastic leukemia in the Czech Republic. *Leukemia* 2010;24:425-428.
6. Jarošová M, Holzerová M, Mihál V. Additional evidence of genetic changes in children with ALL and TEL/AML1 fusion gene. *Leukemia* 2002;16:1873-1875.
7. Zemanová Z, Michalová K, Šindelářová L, et al. Prognostic value of structural chromosomal rearrangements and small clones with high hyperdiploidy in children with acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia Res* 2005;29:273-281.
8. Starý J, Gajdoš P, Blažek B, et al. Sjednocení léčby dětí s akutní myeloidní leukémií v České republice podle protokolu AML-BFM 93. *Čas Lék Čes* 2004;143:257-263.
9. Trka J, Zuna J, Hrušák O, et al. Impact of TEL/AML1 positive patients on age distribution of childhood acute lymphoblastic leukemia in Czech Republic. *Leukemia* 1998;12:996-997.
10. Zuna J, Hrušák O, Kalinová M, et al. TEL/AML1 positivity in childhood ALL: average or better prognosis? *Leukemia* 1999;13:22-24.
11. Trka J, Zuna J, Hrušák O, et al. No evidence for MLL/AF4 expression in normal cord blood samples. *Blood* 1999;93:1106-1107.
12. Hrušák O, Trka J, Zuna J, et al. Acute lymphoblastic leukemia incidence during socioeconomic transition: selective increase in children from 1 to 4 years. *Leukemia* 2002;16:720-725.
13. Froňková E, Madžo J, Zuna J, et al. TEL/AML1 real-time quantitative reverse transcriptase PCR can complement minimal residual disease assessment in childhood ALL. *Leukemia* 2005;19:1296-1297.
14. Mejstříková E, Kalina T, Trka J, et al. Correlation of CD33 with poorer prognosis in childhood ALL implicates a potential of anti-CD33 front-line therapy. *Leukemia* 2005;19:1092-1094.
15. Vášková M, Mejstříková E, Kalina T, et al. Transfer of genomics information to flow cytometry: expression of CD27 and CD44 discriminates subtypes of acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia* 2005;19:876-878.
16. Slámová L, Starková J, Froňková E, et al. CD2- positive B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia with an early switch to the monocytic lineage. *Leukemia* 2014;28:609-620.
17. Žaliová M, Zimmermannová O, Dörge P, et al. ERG deletion is associated with CD2 and attenuates the negative impact of IKZF1 deletion in

- childhood acute lymphoblastic leukemia *Leukemia* 2015;28:182–185.
18. Hovorková L, Žaliová M, Venn NC, et al. Monitoring of childhood ALL using BCR-ABL1 genomic breakpoints identifies a subgroup with CML-like biology. *Blood* 2017;129:2771–2781.
  19. Starý J, Housková J, Michalová K, et al. Výskyt, diagnostika a léčebné přístupy k myelodysplastickému syndromu u dětí v České republice. Výsledky prospektivní studie EWOG-MDS 1998–2002. *Transfuzie Hematol dnes* 2003;9:13–21.
  20. Starý J, Zimmermann M, Campbell M, et al. Intensive chemotherapy for childhood acute lymphoblastic leukemia: results of the randomized intercontinental trial ALL IC-BFM 2002. *J Clin Oncol* 2014;32:174–184.
  21. Zdráhalová K, Štěřba J, Domanský J, et al. Šance na vyléčení dětí s akutní lymfoblastickou leukémií stoupla v České republice v 21. století na 90 % – výsledky studie ALL IC-BFM 2002. *Čas Lék Čes* 2015;154:79–89.
  22. Štěřba J, Valík D, Bajčiová V, et al. High-dose methotrexate and/or leucovorin rescue for the treatment of children with lymphoblastic malignancies: do we really know why, when and how? *Neoplasma* 2005;52:456–463.
  23. Štěřba J, Dušek L, Demlová R, Valík D. Pretreatment plasma folate modulates the pharmacodynamic effect of high-dose methotrexate in children with acute lymphoblastic leukemia and non-Hodgkin lymphoma: „folate overrescue“ concept revisited. *Clin Chemistry* 2006;52:692–700.
  24. Blatný J. Von Willebrandova choroba – diagnostika a léčba. *Postgrad Med* 2012;14:803–807.
  25. Blatný J, Blažek B. Rekombinantní faktory krevního srážení v léčbě hemofilie. *Postgrad Med* 2012;14:129–131.
  26. Blatný J, Kohlerová S, Zapletal O, et al. Prophylaxis with recombinant factor VIIa for the management of bleeding episodes during immune tolerance treatment in a boy with severe haemophilia A and high-response inhibitors. *Haemophilia* 2008;14:1140–1142.
  27. Blatný J, Komrska V, Blažek B, et al. Co se v naší zemi změnilo v péči o děti s hemofilii od roku 1989? *Postgrad Med* 2010;12:190–196.
  28. Salaj P, Smejkal P, Komrska V, et al. Standardy péče o nemocné s hemofilii, 1. revize vydání 2012. *Transfuzie Hematol dnes* 2013;19:96–98.
  29. Smejkal P, Blatný J, Hluší A, et al. Konsenzuální doporučení ČNHP pro diagnostiku a léčbu pacientů s hemofilii, vydání 2., rok 2017. *Transfuzie Hematol dnes* 2017;23:82–99.
  30. Nemes L, Blatný J, Klukowska A, et al. Haemophilia care in Central and Eastern Europe: challenges and ways forward from clinician's perspective. *Haemophilia* 2015;21:1–3.
  31. Blatný J, Zapletal O, Kohlerová S, et al. Farmakokinetika jako nástroj k optimalizaci léčby osob s hemofilii. *Transfuzie Hematol dnes* 2014;20:103–106.
  32. Blatný J, Komrska V, Blažek B, et al. Inhibitors incidence rate in Czech previously untreated patients with haemophilia A has not increased since introduction of recombinant factor VIII treatment in 2003. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2015;26:673–678.
  33. Fisher K and Blatný J. Do the SIPPET study results apply to the patients I treat? *Haemophilia* 2017;23:348–349.
  34. Blatný J, Ovesná P. Léčba dětí s hemofilii v České republice. *Čes-slov Pediat* 2017;72:148–153.
  35. Suková M, Mejšťříková E, Camp V, et al. Získaná aplastická anémie v dětském věku – dlouhodobé výsledky a rizika kombinované imunosupresivní léčby antithymocytárním globulinem a cyklosporinem A. *Transfuzie Hematol dnes* 2012;18:112–122.
  36. Pindurová E, Sedláček P, Keslová P, et al. Úloha alogenní transplantace buněk krvetvorby v léčbě získané aplastické anémie u dětí – zkušenost v České republice v letech 1991–2007. *Transfuzie Hematol dnes* 2011;17:122–129.
  37. Pospíšilová D, Čmejlová J, Ludíková B, et al. The Czech National Diamond-Blackfan Anemia Registry: clinical data and ribosomal protein mutations update. *Blood Cells Mol Dis* 2012;48:209–218.
  38. Čmejla R, Čmejlová J, Handrková H, et al. Ribosomal protein S17 gene (RPS17) is mutated in Diamond-Blackfan anemia. *Hum Mutat* 2007;28:1178–1182.
  39. Čmejla R, Čmejlová J, Handrková H, et al. Identification of mutations in the ribosomal protein L5 (RPL5) and ribosomal protein L11 (RPL11) genes in Czech patients with Diamond-Blackfan anemia. *Hum Mutat* 2009;30:321–327.
  40. Horos R, Ijspeert H, Pospisilova D, et al. Ribosomal deficiencies in Diamond-Blackfan anemia impair translation of transcripts essential for differentiation of murine and human erythroblasts. *Blood* 2012;119:262–272.
  41. Pospisilova D, Čmejlova J, Hak J, et al. Successful treatment of a Diamond-Blackfan anemia patient with amino acid leucine. *Haematologica* 2007;92:e66–e67.
  42. Pospíšilová D, Holub D, Židová Z, et al. Hepcidin levels in Diamond-Blackfan anemia reflect erythropoietic activity and transfusion dependency. *Haematologica* 2014;99:e118–e121.
  43. Priwitzerova M, Pospisilova D, Prchal JT, et al. Severe hypochromic microcytic anemia caused by a congenital defect of the iron transport pathway in erythroid cells. *Blood* 2004;103:3991–3992.
  44. Mims MP, Guan Y, Pospisilova D, et al. Identification of a human mutation of DMT1 in a patient with microcytic anemia and iron overload. *Blood* 2005;105:1337–1342.
  45. Priwitzerova M, Nie G, Sheftel AD, et al. Functional consequences of the human DMT1 mutation on protein expression and iron uptake. *Blood* 2005;106:3985–3987.
  46. Pospisilova D, Mims MP, Nemeth E, et al. DMT1 mutation: response of anemia to darbepoetin administration and implications for iron homeostasis. *Blood* 2006;108:404–405.
  47. Kaprálová K, Horváthová M, Pecquet C, et al. Cooperation of germ line JAK2 mutations E846D and R1063H in hereditary erythrocytosis with megakaryocytic atypia. *Blood* 2016;128:1418–1423.
  48. Kořalková P, Mojzíkova R, van Oirschot B, et al. Molecular characterization of six new cases of red blood cell hexokinase deficiency yields four novel mutations in HK1. *Blood Cells Mol Dis* 2016;59:71–76.
  49. Mojzíkova R, Koralkova P, Holub D, et al. Two novel mutations (p.(Ser160Pro) and p.(Arg472Cys)) causing glucose-6-phosphate isomerase deficiency are associated with erythroid dysplasia and inappropriately suppressed hepcidin. *Blood Cells Mol Dis* 2018;69:23–29.

50. Mojzíkova R, Koralkova P, Holub D, et al. Iron status in patients with pyruvate kinase deficiency: neonatal hyperferritinaemia associated with a novel frameshift deletion in the PKLR gene (p.Arg518fs), and low hepcidin to ferritin ratios. *Br J Haematol* 2014;165:556–563.
51. Pospíšilová D, Holub P, Houda J, et al. Význam stanovení hladiny hepcidinu v diagnostice vybraných typů anémií v dětském věku. *Transfuzie Hematol dnes* 2012;18:58–65.
52. Sulovska L, Holub D, Zidova Z, et al. Characterization of iron metabolism and erythropoiesis in erythrocyte membrane defects and thalassemia traits. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub* 2016;160:231–237.
53. Karaskova E, Volejnikova J, Holub D, et al. Hepcidin in newly diagnosed inflammatory bowel disease in children. *J Paediatr Child Health*; publikováno elektronicky 20. června 2018. DOI 10.1111/jpc.14093.
54. Divoká M, Partschová M, Kučerová J, et al. Molecular characterization of  $\beta$ -thalassemia in the Czech and Slovak populations: mediterranean, asian and unique mutations. *Hemoglobin* 2016;40:156–162.
55. Divoká M, Partschová M, Pospíšilová D, et al. Alfa-talasemie u 45 českých rodin a 37 rodin cizinců žijících v České republice: přehled literatury a molekulárně-genetická diagnostika. *Transfuzie Hematol dnes* 2016;22:201–210.
56. Indrák K, Divoká M, Pospíšilová D, et al. Hemoglobinopatie. *Vnitř lék* 2018;64:476–487.
57. Starý J, Smišek P, Spoustová L, et al. Imunní (idiopatická) trombocytopenická purpura – incidence, diagnostické a léčebné přístupy v České republice. *Čs Pediat* 2001;56:111–115.
58. Wlodarski M, Hirabayashi S, Starý J, et al. Prevalence, clinical characteristics, and prognosis of GATA2-related myelodysplastic syndromes in children and adolescents. *Blood* 2016;127:1387–1397.

#### Podíl autorů na přípravě rukopisu

JS – část rukopisu věnovaná leukemiím, lymfomům a transplantacím

JB – část rukopisu věnovaná hemofilii

DP – část rukopisu věnovaná selhání kostní dřeně, anémiím a imunitním cytopeniím

#### Čestné prohlášení

Autoři práce prohlašují, že v souvislosti s tématem, vznikem a publikací tohoto článku nejsou ve střetu zájmů a vznik ani publikace článku nebyly podpořeny žádnou farmaceutickou firmou.

#### Poděkování

Děkujeme lékařům, sestřám a laboratorním pracovníkům dětských lůžkových oddělení a spolupracujících laboratoří za péči o dětské pacienty. Mgr. I. Janotové děkujeme za analýzu dat a tvorbu grafů přežití dětí s leukemií.

*Do redakce doručeno dne 2. 10. 2018.*

*Přijato po recenzi dne 4. 12. 2018.*

**prof. MUDr. Jan Starý, DrSc.**

Klinika dětské hematologie a onkologie  
2. LF UK a FN Motol  
V Úvalu 84  
150 06 Praha 5  
e-mail: jan.starý@lfmotol.cuni.cz

# 25 rokov v komplexnej starostlivosti a liečbe hemofílie

**Bátorová A.**

Klinika hematológie a transfuziológie LFUK, a SZU, Univerzitná nemocnica, Bratislava

*Transfuzie Hematol. dnes, 25, 2019, No. 1, p. 50-55*

## SÚHRN

Obdobie posledných 25 rokov prinieslo významný pokrok v starostlivosti a liečbe hemofílie a ostatných vrodených krvácajúcich ochorení. Práve začiatok 90. rokov 20. storočia znamenal začiatok modernej liečby hemofílie v Slovenskej i Českej republike. Nevyhnutnou podmienkou radikálnej zmeny liečby bolo zavedenie bezpečných vírusovo inaktivovaných koncentrátov a domácej liečby u všetkých jedincov s ťažkým stupňom hemofílie. Postupne sa zvyšujúca dostupnosť koncentrátov, dnes na Slovensku dosahujúca úroveň FVIII 8,0 IU/kg/rok, umožnila zlepšovanie komplexnej starostlivosti, vrátane plánovaných operácií, zavedenia profylaxie i manažmentu inhibítorov. Dosiahnutý významný pokrok priviedol súčasnú starostlivosť o hemofíliu u nás na úroveň ostatných rozvinutých krajín Európy.

## KLÚČOVÉ SLOVÁ

hemofília – komplexná starostlivosť – profylaxia – inhibítory

## SUMMARY

**Bátorová A.**

### 25 years in comprehensive care and treatment of haemophilia

Over the past 25 years, significant progress has been made in the treatment and comprehensive care for haemophilia and other congenital bleeding disorders in Slovakia and the Czech Republic. The era of modern haemophilia treatment began in the early 1990s. The most significant factor that led to a radical change in treatment was the introduction of safe viral-inactivated concentrates and home therapy in all subjects with severe haemophilia. The gradually increasing availability of concentrates, in Slovakia this is currently up to 8.0 IU/kg /year of FVIII, has helped improve comprehensive care, including elective surgery; introduce prophylaxis and manage inhibitors. The significant progress achieved has brought current haemophilia care in our countries to a level comparable with other developed countries in Europe.

## KEY WORDS

haemophilia – comprehensive care – prophylaxis – inhibitors

## ÚVOD

Obdobie ostatných 25 rokov, ktoré možno definovať ako obdobie modernej liečby hemofílie u nás nadväzuje na historické základy starostlivosti o pacientov s hemofíliou v našich krajinách, položené už v 50. rokoch 20. storočia. V súlade s trendom vo svete aj u nás už v 70. rokoch vznikli prvé centrá špecializovanej starostlivosti o hemofíliu, na Slovensku na Klinike hematológie a transfuziológie Fakultnej nemocnice v Bratislave a v Českej republike v Ústave hematologie a krevní transfuze v Prahe. Tieto pracoviská založili celonárodné registre pacientov s hemofíliou a vrodenými krvácajúcimi chorobami, ktoré boli v tom čase jednými z prvých v Európe [1]. Hlavnou limitáciou liečby pred rokom 1990

však bolo, rovnako ako v ostatných krajinách strednej Európy, používanie čerstvo zmrazenej plazmy, kryoprecipitátu a tzv. frakcie PPSB (koncentrát faktorov protrombínového komplexu). Nerovnomerná dostupnosť, limitovaná výrobnými možnosťami transfúzných pracovísk bola absolútne nedostatočná (1-1,5 IU FVIII/1 obyvateľa/rok). Akceptovaným argumentom zdravotníckych autorít pre používanie prípravkov vyrobených z plazmy od malého počtu darcov bola snaha ochrániť našich pacientov pred importom krvou prenášaných infekcií zo zahraničia koncentrátmi vyrobenými z veľkých zmesí („poolov“) plazmy. Táto politika skutočne ochránila našich pacientov pred infekciou HIV (na Slovensku nebol infikovaný ani

jeden hemofilik), ale až 90 % ťažkých hemofilikov bolo infikovaných vírusom hepatitídy C a v čase dostupnosti vírusovo inaktivovaných koncentrátov vo svete od polovice 80. rokov tento argument nemal opodstatnenie. Po politicko-ideologických zmenách Európe v r. 1989 sa stala imperatívom zásadná zmena liečby hemofílie na výhradne bezpečné, vírusovo inaktivované koncentráty koagulačných faktorov (KKF). Začiatkom 90. rokov ešte pretrvávali snahy vtedajších spracovateľov plazmy, SEVAC v Českej republike a na Slovensku Imuna Šarišské Michaľany o vyvinutie vlastnej výroby koncentrátov z domácich zdrojov plazmy. To sa však nepodarilo, neskôršie sa stalo alternatívou spracovanie slovenskej a českej plazmy v renomovaných zahraničných spracovateľských centrách (Grifols v Španielsku a Imunno, neskôr Baxter v Rakúsku). Snahy o budovanie národnej sebestačnosti v produkcii plazmy, ktorá by však nemohla pokryť zvyšujúce sa požiadavky na liečbu hemofílie, našťastie nenarušili zavedenie liečby kvalitnými a bezpečnými komerčnými prípravkami zo zahraničia, čo sa na celom území Slovenska podarilo dosiahnuť už v rokoch 1991–1992.

### ZAISTENIE BEZPEČNOSTI LIEČBY HEMOFÍLIE

Dôležitým nástrojom pri dosiahnutí jednotnej dostupnosti vírusovo inaktivovaných KKF vo všetkých regiónoch začiatkom 90. tých rokov bola existencia národných registrov hemofílie. Na Slovensku sme v roku 1992 zaviedli plošný centralizovaný nákup koncentrátov FVIII a FIX a prestala sa používať plazma a kryoprecipitát. Spočiatku sa zabezpečila dostupnosť koncentráty FVIII v množstve 30.000 IU na každého hemofilika evidovaného v centrálnom registri. To zabezpečilo FVIII na úrovni 2,0 IU/obyv./rok a priemernú spotrebu FVIII u ťažkých a stredne ťažkých hemofilikov až 64.000 IU/rok [2]. V tom čase bola vo svete kritériom uspokojivej úrovne liečby hemofílie ročná spotreba 50.000 IU. V priebehu nasledujúcich 25 rokov sme postupne zvyšovali dostupnosť FVIII až na dnešných 8,0 IU/obyv./rok, čo pri aktuálnom počte 535 pacientov predstavuje 83.000 IU/1 hemofilika a 135.000 IU/1 hemofilika so stredným alebo ťažkým stupňom choroby. V rozvinutých Európskych krajinách bola v roku 2016 priemerná spotreba FVIII 5,8 IU/obyv./rok (4,8–10,4 IU/obyv./rok [3]. Za posledných 30 rokov nedošlo k prenosu vírusov HIV a HCV koncentrátmi koagulačných faktorov, avšak pre možné riziko prenosu parvovírusu 19, prípadne doteraz neznámych patogénov sa v súčasnosti preferuje používanie rekombinantných faktorov (rFVIII a rFIX). V krajinách bez limitovaných zdrojov sa rFVIII začal postupne používať od začiatku 90. rokov a rFIX v roku 1998, dnes v týchto krajinách predstavujú re-

kombinantné prípravky 80–100 % liečby hemofílie. Na Slovensku sme prvý rFVIII použili už v roku 1997 v rámci humanitárneho projektu (1 milión IU), ale do centrálného nákupu sa rFVIII dostal až v roku 2008. V Českej republike bol prvý rFVIII použitý v r. 2003 a od r. 2006 je liečba rFVIII u detí súčasťou národných odporúčaní pre liečbu hemofílie. V súčasnosti predstavuje podiel rFVIII na Slovensku 34 % a v Českej republike už viac ako 60 %.

**Národné registre hemofílie**, ktoré poskytujú údaje o prevalencii, incidencii, regionálnej distribúcii pacientov s hemofíliou, mortalite a výskyte komplikácií liečby (vírusové infekcie, inhibítory) umožňujú aj kontrolu úrovne liečby, vrátane profylaxie vo všetkých regiónoch.

### DOMÁCA LIEČBA A PROFYLAXIA

Bezpečné KKF umožnili aj u nás okamžitú implementáciu domácej liečby, zameranej na rýchlu kontrolu krvácaní a zníženie závažnosti muskuloskeletálneho postihnutia u jedincov s ťažkým stupňom hemofílie. Dnes je zlatým štandardom liečby hemofílie u detí profylaxia. Prvé správy o tejto liečbe, ktorej cieľom je zmena ťažkej na stredne ťažkú hemofíliu (FVIII >1 %) a prevencia spontánnych krvácaní do kĺbov a včasného vývoja hemofilickej artropatie, pochádzajú z konca 50. rokov zo Švédska [4]. Zavedenie profylaxie v Európe však bolo viazané na zvýšenie dostupnosti KKF a potvrdenie jej efektu. Význam profylaxie dokázali retrospektívne štúdie najmä zo škandinávskych krajín [5] a v roku 2007 aj výsledky prvej prospektívnej randomizovanej štúdie porovnávajúcej profylaxiu a epizodickú liečbu u detí [6]. Primárna profylaxia je definovaná ako pravidelná aplikácia FVIII/FIX, začatá pred 2. rokom života alebo v čase či po prvom krvácaní počas najmenej 45 týždňov v roku. Ako sekundárna sa označuje profylaxia začatá neskôršie, po 2. roku života alebo po 1 krvácaní do kĺbu [4]. V literatúre sa však možno stretnúť s viacerými modifikáciami kritérií primárnej a sekundárnej profylaxie. Na Slovensku sme začali primárnu profylaxiu zavádzať v roku 2004 pri úrovni FVIII 4,0 IU/obyv./rok, dnes je na profylaxii 95 % detí do 18 rokov. Prospektívne štúdie potvrdili, že aj u jedincov s už existujúcim kĺbnym poškodením môže profylaxia zlepšiť stav muskuloskeletálneho aparátu a spomaliť progresiu hemofilickej artropatie [7]. Túto tzv. terciárnu profylaxiu dnes v rozvinutých krajinách Európy využíva už 30 % (Francúzsko) až 100 % (Belgicko, Švédsko) [8] a na Slovensku približne 35 % dospelých ťažkých hemofilikov. Pre plné využitie profylaxie existuje viacero prekážok, vrátane zlého venózneho prístupu, spolupráce („*compliance*“) pacienta a obmedzenej dostupnosti liekov [9]. Profylaxia v celej

**BÁTOROVÁ A.**

populácii ťažkých hemofilikov pri štandardnom dávkovaní 30 IU/kg 3x do týždňa by vyžadovala zabezpečenie FVIII na úrovni 8,5–9,0 IU/obyv./rok.

**KOMPLEXNÁ STAROSTLIVOSŤ O HEMOFÍLIU**

Poskytovanie vysokej kvality starostlivosti o hemofíliu vyžaduje dostatočnú erudíciu a skúsenosť od prvej diagnózy a počas celého života hemofilikov [10]. Hemofilické centrá komplexnej starostlivosti dosiahli vďaka sústredeniu veľkého počtu pacientov a dlhoročnej praxi vysoký stupeň expertízy na poskytovanie špecializovaných služieb, vrátane diagnostiky a liečby komplikovaných prípadov, elektívnych chirurgických, najmä ortopedických výkonov, genetického poradenstva i prenatalnej diagnostiky. Na Slovensku poskytuje základnú liečbu hemofílie 42 Hematologicko transfuziologických oddelení a vyššie špecializovanú liečbu hemofilické centrá v Bratislave, Banskej Bystrici, Martine a Košiciach. Národné hemofilické centrum (NHC) v Bratislave je certifikovaným Európskym hemofilickým centrom komplexnej starostlivosti (EHCCC) a Hemofilické centrum v Banskej Bystrici má certifikát Európskeho hemofilického liečebného centra (EHTC), obidve centrá sú súčasťou Európskej siete hemofilických centier (EUHANET). Hlavnými kritériami pre zaradenie do EUHANET je dostatočný počet ťažkých hemofilikov v starostlivosti, komplexný profil poskytovaných služieb a výsledky liečby [11]. NHC v Bratislave v Národnom registri vrodených koagulopatií eviduje 2800 pacientov, z nich 605 s hemofíliou A a B. NHC aktívne dispenzarizuje 800 jedincov s krvácajúcimi chorobami. Substitučnú liečbu každoročne podáva viac ako 250 pacientom, z nich 145 pacientom s hemofíliou A a B (108 s ťažkým stupňom hemofílie), 45 pacientom s von Willebrandovou chorobou a 25 pacientom s vrodeným defektom FVII, zvyšok tvorí liečba jedincov s defektmi fibrinogénu, FXI, FV a vrodenými trombocytopatiami.

V ČR pracuje 17 hemofilických centier komplexnej starostlivosti, z nich 8 centier lieči detských hemofilikov. Šesť hemofilických centier je v sieti EUHANET, z nich jedno centrum v Prahe a Ostrave a 2 centrá v Brne majú certifikát EHCCC a centrá v Plzni a v Liberci majú certifikát EHTC [12].

**ŠTANDARDNÉ POSTUPY PRE LIEČBU HEMOFÍLIE**

Liečba a starostlivosť o hemofíliu sa riadi medzinárodnými a národnými štandardnými odporučeniami [13-18]. Základom sú Európske princípy liečby hemofílie vytvorené odborníkmi veľkých európskych hemofilických centier, vrátane nášho pracoviska [19]. Tabuľka 1 prezentuje základné princípy súčasnej liečby hemofílie,

ktoré majú byť dostupné v každej európskej krajine. Aj na Slovensku aj v Českej republike boli publikované odporúčenia pre liečbu a komplexnú starostlivosť o hemofíliu [13,16–18]. Najnovším výsledkom zasadania expertov európskych hemofilických centier komplex-

**Tab. 1.** Európske princípy starostlivosti a liečby hemofílie [19]

|    |   |
|----|---|
| 1  | Centrálna hemofilická organizácia s podporou regionálnych skupín            |
| 2  | Národný register hemofílie  |
| 3  | Centrá komplexnej hemofilickej starostlivosti a hemofilické liečebné centrá |
| 4  | Spolupráca pri zabezpečovaní liečby hemofílie                               |
| 5  | Bezpečné a účinné koncentráty pre poskytovanie optimálnej úrovne liečby     |
| 6  | Domáca liečba hemofílie   |
| 7  | Dostupnosť profylaxie   |
| 7  | Zabezpečenie špecializovaných služieb a urgentnej starostlivosti            |
| 9  | Manažment inhibítorov   |
| 10 | Vzdelávanie a výskum  |

**Tab. 2.** Odporúčenia zo IV. Kreuth mítingu európskych expertov na liečbu hemofílie v roku 2016 [20]

| Odporúčenie |   |
|-------------|---|
| 1           | Definícia centier podľa kritérií projektu EUHANET (EHCCC/EHTC)  |
| 2           | Národné štandardné postupy pre liečbu hemofilikov vyššieho veku   |
| 3           | Zabezpečenie FVIII minimálne 4 IU/obyv./rok v každej krajine  |
| 4           | Zabezpečenie FIX minimálne 0,5IU/obyv./rok v každej krajine   |
| 5           | Dostupnosť liečby hepatitídy C priamou antivírusovou liečbou pre všetkých hemofilikov                     |
| 6           | Dostupnosť genetickej analýzy a genetického poradenstva   |
| 7           | Dostupnosť ITI pre pacientov s inhibítormi  |
| 8           | Prístup k plánovaným operáciám pre pacientov s inhibítormi v špecializovaných centrách                    |
| 9           | Národné a regionálne tendre pre koncentráty s účasťou odborníkov na hemofíliu a patientskej organizácie   |
| 10          | Dokumentácia výsledkov liečby: HRQoL, ABR, mortality, HJHS, absencia v škole/v práci                      |
| 11          | Koncentráty s predĺženým účinkom: individualizácia liečby, zvýšenie minimálnej hladiny/krvácajúci fenotyp |
| 12          | Inhibítory u PUPs – Rôzna incidencia medzi produktami. Ďalší výskum a minimalizácia rizika.               |

EHCCC – European Hemophilia Centre of Comprehensive Care; EHTC – European Hemophilia Treatment Centre; ITI – imunotolerančná indukcia; HRQoL – Health related quality of life (kvalita života v závislosti na zdraví); ABR – Annual Bleeding Rate (ročný výskyt krvácania); HJHS – Hemophilia joint health score (skóre kĺbneho zdravia hemofílie); PUPs – previously untreated patients (doposiaľ neliečení pacienti).

nej starostlivosti z 36 krajín (IV. Kreuth Meeting 2016) bolo vydanie odporúčaní, ktorých cieľom je odstrániť rozdiely v úrovni liečby medzi Európskymi krajinami, štandardizovať starostlivosť pre všetkých pacientov a zaistiť rovnaký prístup ku komplexnej starostlivosti v každej krajine Európy (tab. 2.) [20].

### POKROKOVÉ SPÔSOBY LIEČBY HEMOFÍLIE

**Operačná liečba** je neodmysliteľnou súčasťou manažmentu pacientov s hemofíliou. Zvyšujúca sa dostupnosť KKF umožnila výkon aj tých najnáročnejších operácií a vďaka profylaxii viedla k posunu elektívnych ortopedických operácií od synovektómií, zameraných na zníženie frekvencie kĺbnych krvácaní, ku rekonštrukčným operáciám veľkých kĺbov. NHC v Bratislave bolo jedným z prvých pracovísk vo svete, ktoré zaviedlo farmakokineticky riadenú kontinuálnu infúziu u pacientov s hemofíliou i von Willebrandovou chorobou (vWCH), ktorá má významný klinický aj ekonomický benefit [21, 22]. Od roku 1993 sme kontinuálnou infúziou KKF manažovali viac ako 160 operácií a vykonali sme viac ako 80 totálnych artroplastík kolenných a bedrových kĺbov s dobrým efektom [23].

**Pri profylaxii** sa dnes preferuje individualizovaný prístup, pri ktorom voľba režimu (dávkovanie a intervaly liečby) zohľadňujú krvácajúci fenotyp, fyzické aktivity pacienta a životný štýl rodiny, udržateľnosť hladiny FVIII >1 % a faktory spolupráce na liečbe („*adherencie*“). Za najmodernejší spôsob sa považuje farmakokineticky riadená profylaxia, ktorá sa opiera o vyšetrenie farmakokinetiky (PK) s využitím viacerých komputrových programov, ktoré určia ideálne dávkovanie a intervaly pre konkrétneho pacienta. Vyšetrenie PK možno vykonať na základe kompletného odberu série 9–11 vzoriek po podaní koncentráту [24], prípadne na základe nového prístupu na určenie individuálnej PK informácie s využitím Bayesovho odhadu a populačnej PK (PopPK) [25].

Novú éru v profylaxii predstavujú koncentráty rFVIII a rFIX s prolongovaným biologickým účinkom, ktorý možno dosiahnuť pegyláciou alebo fúziou rFVIII a rFIX s Fc fragmentom IgG a fúziou rFIX albumínom. Pri rFVIII to znamená 1,5 násobné a pri rFIX až 4,8–5,3 násobné predĺženie biologického polčasu. Tieto lieky budú mať význam predovšetkým u malých detí, jedincov so zlým žilovým prístupom, individuálne kratším biologickým polčasom a potrebou vyššej minimálnej hladiny FVIII [26]. rFVIII-Fc a rFIX-Fc sme na Slovensku začali používať v roku 2018.

### INHIBÍTORY

Inhibítory FVIII a FIX v súčasnosti predstavujú najzávažnejšiu komplikáciu liečby s incidenciou 20–30 % u hemofilikov A ťažkého stupňa a nižšou incidenciou

pri hemofílii B (3–5 %). Prevalencia inhibítorov FVIII u ťažkých hemofilikov (t.j. pacienti s perzistujúcim inhibítorom bez alebo po zlyhaní imunotolerančnej liečby) sa v Európskych krajinách pohybuje medzi 2,5–6,7 %, na Slovensku je prevalencia inhibítorov 2,5 %. Inhibítory spôsobujú neúčinnosť špecifickej liečby a znemožňujú efektívnu profylaxiu. Morbidita aj mortalita jedincov s inhibítormi je signifikantne vyššia ako bez inhibítorov, riziko úmrtia na krvácanie je vyššie až o 70 % [27].

Diagnostika a manažment inhibítorov sa robí v hemofilických centrách komplexnej starostlivosti. V liečbe krvácania sa používajú „*bypassové*“ aktivity (BPA), ako sú rekombinantný FVIIa (rFVIIa) a koncentrát aktivovaných faktorov protrombínového komplexu (aPCC). Profylaktické použitie týchto liekov však nie je štandardizované. Novou nádejou pre profylaxiu u pacientov s inhibítormi je nový liek emicizumab, bišpecifická protilátka proti FIXa a FX, ktorá supluje FVIII v hemostáze a aplikuje sa s. c. raz za týždeň. Klinické skúšky potvrdili vynikajúcu účinnosť profylaxie týmto liekom, zaisťujúcu absenciu spontánnych krvácaní [28]. Vyšetrenia FVIII, inhibítorov a aktivity emicizumabu však vyžadujú špeciálne laboratórium a reagentie. Emicizumab predchádza krvácaniu, ale vzniknuté krvácanie nelieči. Na liečbu krvácania sa používa rFVIIa. Pre obavy z trombogenity a pozorovanie niekoľkých prípadov trombotických komplikácií po liečbe krvácania s aPCC u pacientov užívajúcich emicizumab sa odporúča vyhýbať sa aplikácii aPCC, ten sa môže použiť len v nevyhnutných prípadoch a v dávke nepresahujúcej 100 IU/kg/deň. Emicizumab ako nový liek podlieha prísnej farmakovigilancii a jeho indikácia a sledovanie pacientov sú viazané na EHCCC s adekvátnou nonstop 24 hodinovou službou [29]. V SR sa emicizumab začne používať už začiatkom roka 2019.

Dôležitým cieľom je eradikácia inhibítora pomocou indukcie imunologickej tolerancie FVIII/FIX (ITI), pri ktorej sa denne aplikujú stredne až veľmi vysoké dávky koncentrátu FVIII alebo FIX. Manažment pacientov s inhibítormi je veľmi náročný a vyžaduje zabezpečenie FVIII na úrovni 1–1,5 IU/obyvateľa ročne. Na Slovensku je ITI dostupná pre všetkých pacientov s novo vzniknutým inhibítorom a vhodných pacientov s dlhotrvajúcim inhibítorom. Od roku 1993 sme vykonali celkom 29 ITI u 25 pacientov s inhibítormi s efektívnosťou až 84 %, u troch pacientov ITI ešte pokračuje.

Príčiny vzniku inhibítorov nie sú dodnes jasné. S pacientom súvisiace faktory, ako napr. stupeň hemofílie, veľké génové mutácie alebo výskyt inhibítora v rodine nemožno ovplyvniť. V posledných rokoch sa intenzívne diskutuje najmä vplyv typu koncentrátu FVIII na

## BÁTOROVÁ A.

vznik inhibítorov, závery sú však kontroverzné. Prvá randomizovaná prospektívna štúdia SIPPET (Survey of Inhibitors in Plasma-Products Exposed Toddlers) u predtým neliečených pacientov (PUPs) odhalila vyšší výskyt inhibítorov po rFVIII s HR (hazard ratio):1,87; 95% KI:1,15–3,03 [30]. Podobnú súvislosť potvrdili aj ďalšie štúdie, vrátane sledovania výskytu inhibítorov u 59 PUPs s ťažkou hemofíliou v SR v rokoch 1997–2016 [31] a výsledkov najnovšie publikovanej štúdie z Francúzska [32]. Na druhej strane, iné štúdie [33–34] a metaanalýzy [35] túto súvislosť nepotvrdili a otázka typu používaného koncentráta u PUPs ostáva otvorenou. Faktom však je, že adjustované riziko vzniku inhibítorov v rokoch 2005–2009 sa oproti obdobiu rokov 1990–1994 signifikantne zvýšilo až 2,4 (1,42–4,92) násobne [36]. Úlohu nepochybne zohráva používanie intenzívnejších liečebných postupov a vysoko purifikovaných koncentrátov. Snaha o redukciu vzniku inhibítorov sa preto musí sústrediť na ovplyvnenie tzv. modifikovateľných rizikových faktorov, ako sú včasná intenzívna liečba vysokými dávkami FVIII, typ koncentráta, operácie. Výskyt inhibítorov môže znížiť včasná profylaxia nízkymi dávkami FVIII [37].

### Medzinárodná spolupráca

Posledných 25 rokov prinieslo možnosti medzinárodnej spolupráce v odborných pracovných skupinách i medzinárodných hemofilických organizáciách, ako sú WFH (World Federation of Hemophilia), EAHAD (European Alliance of Hemophilia and Allied Disorders) a EHC (European Hemophilia Consortium). NHC v Bratislave získalo cenu WFH za pokrok liečby hemofílie v 90. rokoch a výsledky odbornej spolupráce s partnerským Národným hemofilickým centrom v Tel Avive a participovalo aj na tvorbe Európskych princípov liečby hemofílie [19]. Doc. Blatný, vedúci HCCC v Brne, je členom Výkonného výboru EAHAD a prof. Bátorová dve funkčné obdobia pracovala vo Výkonnom výbore WFH a toho času pôsobí ako jeden zo 4 členov Medicínskeho výboru EHC. Viaceré hemofilické centrá v SR aj ČR sú zapojené do dôležitého programu EUHASS (European Hemophilia Safety Surveillance), ktorý monitoruje všetky vedľajšie a nežiaduce účinky liečby hemofílie.

### Nové perspektívy liečby hemofílie

V súčasnosti očakávame výsledky klinického skúšania nových liekov, či už nefaktorovej liečby so zásahom do inhibítorov koagulácie (TFPI a antitrombín) alebo nové KKF a BPA s predĺženým účinkom. Sľubné výsledky najnovších štúdií génovej terapie hemofílie A aj hemofílie B potvrdzujú progres aj v génovej liečbe hemofílie [38–39]. I keď existujú mnohé nezodpovedané

otázky a potenciálne riziká génového transferu (mutagenicita, imunogenicita), súčasné výsledky dávajú dobrú nádej na perspektívne definitívne vyliečenie hemofílie.

### LITERATURA

1. Hrubíšková K, Filová A, Bátorová A. Dispenzárna starostlivosť o vrodene krvácajúce ochorenia na Slovensku. *Vnitr Lék* 1984;30(7): 633–641.
2. Bátorová A, Filová A, Makai F, et al. Development of haemophilia care in Slovakia – The rapid progress in the 1990's. *Haemophilia* 1998;4(3):201.
3. WFH Global Survey 2016. World Federation of Hemophilia, 2017. Dostupné na [www.wfh.org](http://www.wfh.org).
4. Nilsson IM, Hedner U, Ahlberg A. Haemophilia prophylaxis in Sweden. *Acta Paediatr Scand* 1976;65:129–135.
5. van den Berg HM, Fischer K, Mauser-Bunschoten EP, et al. Long term outcome of individualised prophylactic treatment of children with severe haemophilia. *Br J Haematol* 2001;107:561–565.
6. Manco-Johnson MJ, Abshire TC, Shapiro AD, et al. Prophylaxis versus episodic treatment to prevent joint disease in boys with severe haemophilia. *N Engl J Med* 2007;357:535–544.
7. Tagliaferri A, Franchini M, Coppola A, et al. Effects of secondary prophylaxis started in adolescent and adult haemophiliacs. *Haemophilia* 2008;14:945–951.
8. Berntorp E, Dolan G, Hay C, et al. European retrospective study of real-life haemophilia treatment. *Haemophilia* 2017;23:105–114.
9. Richards M, Altisent C, Bátorová A, et al. Should prophylaxis be used in adolescent and adult patients with severe haemophilia. An European survey of practice and outcome data. *Haemophilia* 2007;13(5):473–479.
10. Evatt BL, Black C, Bátorová A, Street A, Srivastava A. Comprehensive care for haemophilia around the world. *Haemophilia* 2004;10(Suppl. 4):9–13.
11. Makris M, Calizzani G, Fischer K, et al. The European Haemophilia Network (EUHANET). *Blood Transfus* 2014;12(Suppl 3):s515–s518.
12. EUHANET certified Centres. Dostupné na [www: https://www.euhass.org/asp/asp/certcentres.aspx](https://www.euhass.org/asp/asp/certcentres.aspx). Last update 16/04/2018.
13. Bátorová A, Jankovičová D, Žarnovičanová M, et al. Národné štandardné postupy pre liečbu hemofílie a iných vrodených koagulopatií na Slovensku. *Lek Obzor* 2008;7–8:330–340.
14. Odborné usmernenie Ministerstva zdravotníctva Slovenskej republiky na poskytovanie zdravotnej starostlivosti pacientom s hemofíliou a inými vrodenými koagulopatiami. *Vestník MZ-SR* z dňa 29.5.2009, roč. 57, čiastka 22–24:158–161.
15. Hermans C, Altisent C, Bátorová A, et al. Replacement therapy for invasive procedures in patients with haemophilia: Literature review, European survey and recommendations. *Haemophilia* 2009;15:639–658.
16. Smejkal P, Blatný J, Hluší A, a spol. Konsenzuální doporučení Českého národního hemofilického programu (ČNHPP) pro diagnostiku a léčbu

- pacientů s vrozenou hemofilií a s inhibítorem FVIII/FIX. *Transfuzie Hematol dnes* 2016;22(1):44–54.
17. Hrdličková R, Smejkal P, Blatný J, et al. Konsenzuální doporučení českého národního hemofilického programu (ČNHP) pro zajištění chirurgických a invazivních výkonů u pacientů s hemofilií. *Transfuzie Hematol dnes* 2016;22(1):39–43.
  18. Blatný J, Blažek B, Čermáková Z. Konsenzuální doporučení Českého národního hemofilického programu pro diagnostiku a léčbu pacientů s hemofilií. Vydání 2. *Transfuzie Hematol dnes* 2017;23(2):82–99.
  19. Colvin BT, Astermark J, Fischer K, et al. on behalf of the IDWG. European principles of haemophilia care. *Haemophilia* 2008;14(2):361–374.
  20. Giangrande PLF, Peyvandi F, O'Mahony B, et al. Kreuth IV: European consensus proposals for treatment of haemophilia with coagulation factor concentrates. *Haemophilia* 2017;23:370–337.
  21. Batorova A, Martinowitz U. Intermittent injections vs. continuous infusion of factor VIII in haemophilia patient undergoing major surgery. *Br J Haematol* 2000;110:715–720.
  22. Holme PA, Tjønnfjord GE, Batorova A. Continuous infusion of coagulation factor concentrates during intensive treatment. *Haemophilia* 2018;24(1):24–32.
  23. Jankovičová D, Šteňo B, Prigancová T, et al. Manažment veľkých operácií u pacientov s hemofiliou A kontinuálnou infúziou a bolusovými injekciami FVIII – farmakokinetický prístup k liečbe. *Transfuzie Hematol dnes* 2017;23(2):61–72.
  24. Morfini M, Lee M, Messori A. The design and analysis of half-life and recovery studies for factor VIII and factor IX. *Thromb Haemost* 1991;66:384–386.
  25. Iorio A, Blanchette V, Blatny J, et al. Estimating and interpreting the pharmacokinetic profiles of individual patients with hemophilia A or B using a population pharmacokinetic approach: communication from the SSC of the ISTH. *J Thromb Haemost* 2017;15:2461–2465.
  26. Collins P, Chalmers E, Chowdhary P, et al. The use of enhanced half-life coagulation factor concentrates in routine clinical practice: guidance from UKHCDO. *Haemophilia* 2016;22:487–498.
  27. Peyvandi F, Ettingshausen CE, Goudemand J, et al. New findings on inhibitor development: from registries to clinical studies. *Haemophilia* 2017;23(Suppl.1):4–13.
  28. Oldenburg J, Mahlangu JN, Kim B, et al. Emicizumab prophylaxis in hemophilia A with inhibitors. *N Engl J Med* 2017;377:809–818.
  29. Peyvandi F, Mannucci PM, Garagiola I, et al. A randomized trial of factor VIII and neutralizing antibodies in hemophilia A. *N Engl J Med* 2016;374:2054–2064.
  30. Collins PW, Liesner R, Makris M, et al. Treatment of bleeding episodes in hemophilia A complicated by a F VIII inhibitor in patients receiving emicizumab. Interim Guidance from UKHCDO Inhibitor Working Party and Executive Committee. *Haemophilia* 2018;24:344–347.
  31. Batorova A, Jankovicova D, Morongova A, et al. Inhibitors in severe hemophilia A: 25-year experience in Slovakia. *Semin Thromb Hemost* 2016;42(5):550–562.
  32. Calvez T, Chambost H, d'Oiron R, et al. Analyses of the FranceCoag cohort support differences in immunogenicity among one plasma-derived and two recombinant factor VIII brands in boys with severe hemophilia A. *Haematologica* 2018;103(1):179–189.
  33. Fischer K, Lassila R, Peyvandi F, et al. EUHASS participants. Inhibitor development in haemophilia according to concentrate. Four-year results from the European HAemophilia Safety Surveillance (EUHASS) project. *Thromb Haemost* 2015;113(5):968–975.
  34. Blatny J, Komrska V, Blazek B, et al. Czech National Haemophilia Programme. Inhibitors incidence rate in Czech previously untreated patients with haemophilia A has not increased since introduction of recombinant factor VIII treatment in 2003. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2015;26(6):673–678.
  35. Marcucci M, Mancuso EM, Santagostino E, et al. Type and intensity of FVIII exposure on inhibitor development in PUPs with haemophilia A. *Thromb Haemost* 2015;113:958–967.
  36. van den Berg HM, Hashemi SM, Fischer K, et al. Increased inhibitor incidence in severe haemophilia A since 1990 attributable to more low titre inhibitors. *Thromb Haemost* 2016;115:729–737.
  37. Kurnik K, Bidlingmaier C, Engl W, et al. New early prophylaxis regimen that avoids immunological danger signals can reduce FVIII inhibitor development. *Haematologia* 2010;16:256–262.
  38. George LA, Sullivan SK, Giermasz A, et al. Hemophilia B gene therapy with a high-specific-activity factor IX variant. *N Engl J Med* 2017;377(23):2215–2227.
  39. Rangarajan S, Walsh L, Perry D, Pasi J. AAV5–Factor VIII gene transfer in severe hemophilia A. *N Engl J Med* 2017;377:2519–2530.

### Čestné prohlášení

Autor práce prehlasuje, že v súvislosti s témou, vznikom a publikáciou tohto článku nie je v strete záujmov a vznik ani publikácia článku nebola podporovaná žiadnou farmaceutickou firmou.

*Doručené do redakcie dne 8. 10. 2018.*

*Přijaté po recenzii dne 5. 11. 2018.*

### prof. MUDr. Angelika Bátorová, PhD.

Klinika hematológie a transfuziológie LF UK a SZU  
Univerzitná nemocnica  
Antolská 11  
851 07 Bratislava  
Slovenská republika  
e-mail: batorova@hotmail.sk

# Ohlédnutí za vývojem antitrombotické profylaxe s akcentem na posledních 25 let

Penka M., Matýšková M., Michalcová J.

Oddělení klinické hematologie Fakultní nemocnice Brno

*Transfuze Hematol. dnes, 25, 2019, No. 1, p. 56-64*

## SOUHRN

V posledním čtvrtstoletí došlo stejně jako v jiných oblastech k soustředěnému výzkumu léků snižujících krevní srážení – antitrombotik. Jejich cílevědomé využití lze datovat do počátků minulého století, v posledních 25 letech dochází k jejich intenzivní akceleraci. Jedná se nejen o léky řazené do již klasických přípravků, ale zejména o léky zcela nové vyvíjené cíleně k ovlivnění krevního srážení na specifickém místě. Jedná se o skupinu nových či přímých antikoagulancií (NOAC, resp. DOAC).

## KLÍČOVÁ SLOVA

antitrombotika – antikoagulancia – UFH – LMWH – warfarin – NOAC – DOAC – laboratorní sledování

## SUMMARY

Penka M., Matýšková M., Michalcová J.

### Looking back at developments in antithrombotic prophylaxis, focusing on the past 25 years

As in other fields, the past 25 years have seen concentrated research in the area of drugs that reduce blood clotting – antithrombotics. Their purposeful application dates to the early 20th century and the past 25 years have seen intense acceleration of this interest. These drugs include not only classical products, but mainly new targeted drugs affecting blood clotting at specific sites. These represent the group of novel or direct anticoagulants (NOACs or DOACs).

## KEY WORDS

antithrombotics – anticoagulants – unfractionated heparin (UFH) – low molecular weight heparin (LMWH) – warfarin – non-vitamin K antagonist oral anticoagulants (NOAC) – direct-acting oral anticoagulants (DOAC) – laboratory monitoring

## ÚVOD

Antitrombotická prevence či léčba představuje léčebný postup, který by měl vést ke snížení buď vystupňované aktivity krevního srážení, nebo i její normální aktivity v případě vysokého rizika trombózy.

Cílem je předcházet vzniku nebo zabránit dalšímu rozvoji tromboembolické nemoci (TEN). Patří k jednomu z nejrozšířenějších medicínských opatření. Současně běžně dostupná antikoagulancia navozují hypokoagulační stav, brání narůstání trombu, některá napomáhají endogenní fibrinolýze a rozpouštění trombu. Mezi antitrombotika v nejširším slova smyslu patří i protidestičkové léky, které jsou účinné především v léčbě a profylaxi tepenných trombóz, a antitrombotické léky v užším slova smyslu – často označované jako antikoagulancia, používané v první řadě k řešení žilních okluzí. Někteří autoři sem řadí i trombolytika,

léky stupňující fibrinolytickou aktivitu za účelem rozpuštění trombu.

Od počátku minulého století jsou k léčbě trombózy používaná nepřímá antitrombotika – hepariny či antagonisté K vitamínu. Hledání ideálního antitrombotika vedlo k usilovnému bádání, které dospělo k vývoji přímých antitrombotik, která se dostala do klinické praxe v posledních letech.

## HISTORIE

Již ve starém Egyptě najdeme zmínky o příkládní pijavic, které obsahují celou řadu aktivních látek včetně látek ovlivňujících krevní srážení. Není bez zajímavosti, že se jejich podávání i v současnosti opět objevuje.

Prvním cílevědomě užívaným antitrombotikem je **nefrakcionovaný heparin (UFH)**. Před více než 100 lety medik J. McLean izoloval v laboratoři profesora W. H.

Howella z psích jater látku, která vyvolávala krvácení u zvířat [1]. V roce 1918 W. H. Howell s L. E. Holtem identifikovali další podobnou látku a nazvali ji heparin. Erik Jorpes se snažil vyčistit heparin a vyhnout se jeho vedlejším účinkům. První závěry publikoval 1935 včetně zprávy o struktuře molekuly [2]. V roce 1936 začala švédská společnost Vitrium AB vyrábět parenterální heparin pro lidské použití.

V sedmdesátých letech minulého století začaly pracovat tři různé skupiny ve Stockholmu, Londýně a Hamiltonu v Ontariu na vývoji **nízkomolekulárních heparinů (LMWH)**, které se vyrábí chemickým štěpením heparinu. Mají méně nežádoucích účinků než heparin a předvídatelnější léčebnou odpověď – jejich účinek se ve srovnání s UFH liší tím, že mají výraznější vliv na inhibici faktoru Xa [1]. Do poloviny 80. let byly přípravky LMWH testovány v klinických studiích a nyní nahrazují UFH pro většinu indikací.

V roce 1976 byla identifikována unikátní pentasacharidová sekvence heparinu, která je nezbytná pro vazbu antitrombinu, a tím i antikoagulační aktivitu.

Za asi nejznámějším antikoagulanciem stojí pátrání po příčině úhynu dobytka z důvodu krvácení. Bylo odhaleno, že k němu docházelo při spásání traviny napadené plísní – komonicí bílou. V roce 1940 izoloval K. P. Link z koncentráty z komonice dikumarol a roku 1948 syntetizoval kumarinový derivát **warfarin** využívaný nejprve jako jed na hlodavce. Díky vojákům, kteří přežili sebevražedné pokusy po požití tohoto přípravku, se kumariny staly nejrozšířenějším perorálním antikoagulanciem. Jako lidské antikoagulans byl schválen v roce 1954 a jako jeden z prvních pacientů z něj profitoval americký prezident D. Eisenhower [1]. Je nutno podotknout, že by v dnešní době kumariny velmi pravděpodobně neprošly klinickým testováním, přesto zachránily miliony životů.

Antikoagulační látky byly také extrahovány z řady zvířat (klíšťata, pijavice, hadi a netopýři) a přeměněny na léky chemickou syntézou nebo metodami genetického inženýrství. Další krok ve vývoji antitrombotik představoval **hirudin**. Specifický inhibitor trombinu hirudin produkovaný pijavici (*Hirudo medicinalis*) byl v padesátých

letech izolován a charakterizován jako specifický inhibitor trombinu [3].

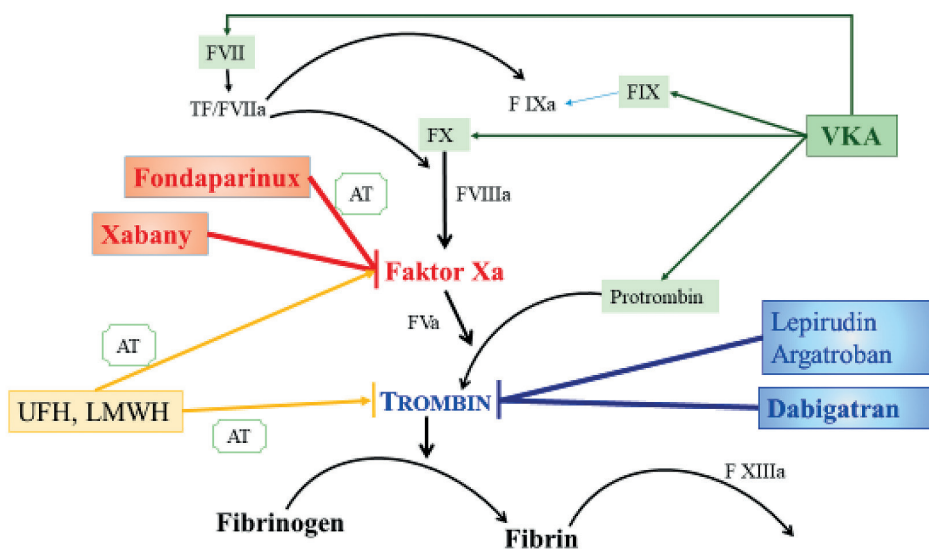
První úspěšná syntetická antikoagulační **fondaparinux** [4] a **bivalirudin** byla vyvíjena v osmdesátých letech. Přírodně se vyskytující inhibitor faktoru Xa poprvé popsal 1971 Spellman et al. u měchovce (psí parazit) [5].

Další vývoj antitrombotických léků se soustředil na **přímé inhibitory trombinu a faktoru Xa (DOAC)**, které se do klinické praxe zařadily od roku 2008.

## TYPY ANTITROMBOTIK

Antitrombotika můžeme dělit na perorálně a parenterálně podávaná, nebo podle místa jejich účinku v procesu krevního srážení (schéma 1).

Ještě před 10 lety byl warfarin jediné **perorálně** dostupné antikoagulans. V posledních letech se objevily studie řady tzv. NOAC (nová perorální antikoagulační, z angl. *Novel Oral Anticoagulants*), mezi něž je řazen přímý inhibitor trombinu dabigatran etexilát a specifické inhibitory faktoru Xa (tzv. xabany). Nyní se diskutuje nad názvem, neboť se už nejedná o „nová“ antitrombotika [6] – slovo „nová“ bylo nahrazeno pojmem „non vitamin K“. Mezinárodní společnost pro trombózu a hemostázu doporučuje používat zkratku DOAC (přímá perorální antikoagulační, z angl. *Direct Oral Anticoagulants*) [7]. V literatuře ale nalezneme i jiné zkratky – TSOAC (Target-Specific Oral Anticoagulants), ODI (Oral Direct Inhibitors), nebo SODA (Specific Oral Direct Anticoagulants).



**Schéma 1.** Ovlivnění koagulace (F – faktor; TF – tkáňový faktor; UFH – nefrakcionovaný heparin; LMWH – nízkomolekulární heparin; AT – antitrombin)

Mezi perorální antitrombotika/antikoagulantia patří tedy warfarin a DOAC. Zatímco warfarin brání jako antagonistu vitamínu K vzniku aktivních forem vitamínu K dependentních faktorů krevního srážení (faktory II, VII, IX a X), je působení nových, resp. přímých působků namířeno selektivně do jednoho místa koagulačního procesu, a to proti účinku trombinu (dabigatran etexilát) a o úroveň výše – proti aktivitě faktoru Xa – apixaban, rivaroxaban, edoxaban.

**Parenterálně** podávanými léky jsou UFH, LMWH, pentasacharidy, hirudiny a argatroban.

Pentasacharidy se váží přímo na vazebné místo antitrombinu podobně jako LMWH a tím zvyšují jeho inhibiční aktivitu. V současné době je z této skupiny dostupný pouze fondaparinux (Arixtra®), který na rozdíl od UFH a LMWH inhibuje pouze faktor Xa a nepůsobí na žádné jiné úrovni. Studie s idraparinuxem (AMADEUS) byla ukončena pro excesivní mozková krvácení [8].

Hirudin je přirozeně se vyskytující skupina protisrážlivých látek nalezená ve slinách pijavice. Tyto látky vysoce selektivně inhibují volný i vázaný trombin a vytvořený komplex je prakticky ireverzibilní. Rekombinantní hirudin se od přírodního liší přesně definovanou homogenní molekulou (např. lepirudin, desirudin). Výhodou hirudinu oproti heparinu je, že je účinný bez antitrombinu jako kofaktoru, není inaktivován heparinázi, neovlivňuje krevní destičky a inhibuje i trombin navázaný v krevní sráženině nebo na subendotel. Podání hirudinu musí být parenterální.

Poločas v plazmě je cca 1–2 hodiny s maximální koncentrací přibližně za 10 minut po i. v. podání. Volný hirudin se vylučuje ze 70–90 % ledvinami. Vazba na bílkoviny je méně než 10%. Neprochází hematoencefalickou bariérou, placentou prochází jen ve stopovém množství a v experimentu na zvířeti byly u plodu zaznamenány pouze minimální koncentrace [3, 9]. Bivalirudin, syntetický analog hirudinu (hirulog), je reverzibilní inhibitor trombinu. Podává se parenterálně s poločasem 25 minut po i. v. aplikaci. Je metabolizován v játrech, pouze malá část je vylučována ledvinami [9].

Argatroban (Novastan®) je kompetitivní přímý reverzibilní inhibitor trombinu. Váže se na aktivní místo trombinu (jak volného, tak vázaného) a současně inhibuje štěpení fibrinogenu trombinem stejně jako aktivaci trombocytů trombinem. Podává se nitrožilně, jeho poločas v plazmě je 40–50 minut. Vylučování není závislé na funkci ledvin. Látka je metabolizována v játrech, a proto je nutná redukce dávkování u osob s jaterní dysfunkcí. Metabolity jsou vylučovány žlučí [10].

Základní charakteristiku antitrombotik uvádí tabulka 1.

## INDIKACE PODÁVÁNÍ

Indikace všech antitrombotik lze shrnout jednoduše jako podání zmíněných léků k prevenci, profylaxi nebo léčbě zvýšeného srážení krve. V posledních letech se indikace zúžily nejen na diagnózu, ale často i přímo na

Tab. 1. Antitrombotika

| Vlastnosti                     | LMWH                 | Kumariny  | Dabigatran                  | Rivaroxaban  | Apixaban         | Edoxaban                    |
|--------------------------------|----------------------|---|-----------------------------|--|------------------|-----------------------------|
| Biologická dostupnost          | 80–90%               | 100%  | 4–7%                        | 80–100%  | 50–80%           | – 62%                       |
| T max (hod)                    | 2                    | 1,2–4*  | 1,5–2                       | 1–4  | 1–3              | 1–2                         |
| Biologický poločas T1/2 (hod)  | 4–7                  | 40  | 12–17                       | **7–13   | 11–14            | 10–14                       |
| Vazba na plazmatické bílkoviny |                      | 99%   | 30–35%                      | 90%  | – 87%            | – 55%                       |
| Metabolizace v játrech         | ano                  | ano   | 15–20%<br>konjugovaná forma | 2/3 inaktivní<br>forma                               | < 4%             | minimální                   |
| Metabolismus CYP 450           | ne                   | S-warfarin<br>CYP2C9<br>R-warfarin<br>CYP1A1, 1A2,<br>a 3A4 | ne                          | Z 1/4 CYP3A4   | CYP3A4 cca 65%   | malá část CYP3A4<br>(< 4 %) |
| Vylučování ledvinami           | ano                  | většina   | 80%                         | 33%  | – 25%            | 35–50%                      |
| Antidotum                      | částečně<br>protamin | vitamin K   | idarucizumab                | v ČR zatím ne, ukončena III. fáze klinických zkoušek |                  |                             |
|                                |                      |   | dialyzovatelný              | nedialyzovatelný                                     | nedialyzovatelný | nedialyzovatelný            |

\*nejedná se o maximum účinku

\*\*závislost na věku

zvolený léčebný postup. Jednotlivé preparáty se mohou v indikacích navíc lišit (např. LMWH mezi sebou).

Nejširší a obecné indikace mají i z historického hlediska hepariny a warfarin, někdy označované jako „klasická“ antikoagulantia. Indikace jejich podání jsou následující:

- Léčba a prevence hluboké žilní trombózy a plicní embolie. Využití heparinů v prevenci vychází z výsledků studií, které prokázaly snížení výskytu pooperační hluboké žilní trombózy. Podkožně podávaný UFH v dávce 5000 j. dvakrát nebo třikrát denně snižuje riziko pooperační hluboké žilní trombózy z 22 na 9 % [11]. Při použití LMWH dochází k poklesu výskytu pooperační hluboké žilní trombózy dokonce o 70 % [12].

- Sekundární prevence infarktu myokardu a prevence tromboembolických komplikací (iktus nebo systémová embolie) po infarktu myokardu.

- Prevence tromboembolických komplikací (iktus nebo systémová embolie) u pacientů s fibrilací síní, onemocněním srdečních chlopní nebo s náhradou srdečních chlopní. Léčba warfarinem snižuje výskyt mozkových příhod při fibrilaci **síní o dvě třetiny a celkovou mortalitu o čtvrtinu [13]**.

- Léčba a prevence tranzitorních ischemických atak (TIA) a iktu [14].

Fondaparinux je indikován v prevenci žilní trombózy u nemocných po ortopedických operacích (např. při fraktuře kyčle, po náhradě kyčelního či kolenního kloubu), po břišních operacích (např. pro zhoubný nádor) a v neposlední řadě i u pacientů s interním onemocněním, u kterých je přítomno vysoké riziko TEN. Spolu s warfarinem je schválen v léčbě akutní žilní trombózy a plicní embolizace [15]. Fondaparinux bývá rovněž podáván u pacientů s heparinem indukovanou trombocytopenií (HIT).

V případě hirudinu je jasnou indikací k podávání HIT nebo HIT s trombózou.

#### Indikace DOAC [16, 17, 18, 19]

- Prevence žilního tromboembolismu u pacientů podstupujících elektivní náhradu kyčelního nebo kolenního kloubu (dabigatran, apixaban, rivaroxaban).

- Léčba hluboké žilní trombózy a plicní embolie a prevence jejich recidivy (dabigatran, apixaban, edoxaban, rivaroxaban).

- Prevence cévní mozkové příhody a systémové embolizace u nevalvulární fibrilace síní s jedním nebo více rizikovými faktory (dabigatran, apixaban, edoxaban, rivaroxaban).

- Prevence aterotrombotických příhod po akutním koronárním syndromu se zvýšenými hladinami sr-

dečních biomarkerů v kombinaci s ASA nebo ASA + klopido-grel/tiklopidin (pouze rivaroxaban).

#### Nežádoucí účinky

Všechna antitrombotika provází logicky především vyšší riziko krvácení. Jednou z hlavních námitek proti warfarinu bylo riziko krvácení, které se samozřejmě zvyšuje s mírou účinnosti léčby a především při předávkování. To ale není jedinou příčinou krvácivých komplikací. Lze říct, že většina faktorů, které zvyšují riziko krvácení u warfarinu, se uplatňuje i u všech ostatních antitrombotik (tab. 2).

#### Kontraindikace

Udávané kontraindikace jsou často relativní a lékař musí zvažovat při podávání všechna rizika, současně s častým monitorováním i tam, kde to není běžně nutné. Pro všechna antitrombotika to jsou krvácivé stavy, případně stavy s vysokým rizikem krvácení, včetně souběžného podávání léků, které toto riziko zvyšují.

Nefropatie, resp. chronická renální insuficience je problematická u LMWH, které se ledvinami vylučují, podobně jako dabigatran etexilát – postup se řídí podle aktuálních hodnot clearance kreatininu, kdy buď je doporučena redukce dávkování, či dokonce je lék kontraindikován. Xabany se vylučují ledvinami jen zčásti, přesto i zde je nutná opatrnost a případné snížení dávkování, či vysazení léku při těžké renální insuficienci [16, 17, 18, 19].

Podobně těžká hepatopatie je považována za kontraindikaci podávání většiny antitrombotik.

Absolutní kontraindikací je u UFH a LMWH výskyt HIT [20].

DOAC nejsou doporučena v těhotenství ani v období kojení, protože nejsou v tomto směru k dispozici relevantní studie. LMWH lze u těhotných žen podávat; do mateřského mléka sice přecházejí, ale jsou neutralizovány kyselým pH žaludku dítěte. Warfarin je kontrain-

Tab. 2. Rizika zvyšující krvácení u warfarinu a dalších antitrombotik

|  |
|--|
| • Věk > 75 let   |
| • Anamnéza nekontrolované hypertenze (definovaná jako systolický krevní tlak > 180 mm Hg nebo diastolický krevní tlak > 100 mm Hg)         |
| • Abúzus alkoholu (akutní nebo chronický), onemocnění jater  |
| • Špatná spolupráce nemocného nebo nedostatečná docházka na kontroly   |
| • Lokální predispozice ke krvácení zejména nedostatečná v gastrointestinálním traktu (např. vředová choroba) nebo nedávné mozkové krvácení |
| • Krvácivé stavy (včetně poruch koagulace, trombocytopenie) nebo souběžné užívání nesteroidních protizánětlivých léků a antibiotik         |
| • Nestabilita kontroly INR a INR > 3   |

dikován v I. a III. trimestru těhotenství, ve II. trimestru lze ve vybraných případech podávat po důkladném zvážení přínosu/rizika (např. pacientky s mechanickou chlopenní náhradou nebo s hereditárním defektem antitrombinu). Do mateřského mléka warfarin nepřechází, lze jej tedy podávat i u kojících žen.

## INTERAKCE

Vzhledem ke zvýšenému riziku krvácení je třeba postupovat opatrně, zvláště pokud jsou pacienti současně léčeni více léky.

Interakce jsou řešeny především v souvislosti s warfarinem a jeho kompeticí s vitamínem K, který je obsažen v celé řadě potravinových doplňků, především na přírodní bázi. Od extrémních doporučení vynechávání potravin, které vitamín K obsahují, jsme se propracovali k doporučením zohledňujícím úpravy jídelníčku u potravin, které obsahují vitamín K v nekonstantním množství, a kde je třeba obezřetnosti.

Také celá řada lékových interakcí předpokládá povědomí o medikaci, na níž je nemocný užívající warfarin, a jak souběžná medikace může úroveň účinku warfarinu ovlivnit [21].

V souvislosti s metabolismem warfarinu byla snaha předurčit dávkování na základě genetické dispozice ke zvýšené či snížené odpovědi na warfarin [22].

U UFH ani LMWH nejsou udávány žádné interakce, pouze v případě heparinu je upozorněno na inkompatibilitu s hydrokortizonem, streptomycinem, cefaloridinem, tetracyklinem, prometazinem, a chlorpromazinem [23].

Dabigatran-etexilát je substrátem glykoproteinu P (P-gp). Současné podávání s induktory P-gp (např. rifampicin, karbamazepin, fenytoin, třezalka tečkovaná) vede ke snížení plazmatické koncentrace dabigatranu. Podávání silných inhibitorů P-gp je kontraindikováno (ketokonazol, cyklosporin, itraconazol a dronedaron). Souběžná léčba s takrolimem se nedoporučuje. U slabých až středně silných inhibitorů P-gp je nutná opatrnost (např. amiodaron, posakonazol, chinidin, verapamil, tikagrelor). Souběžná léčba selektivními inhibitory zpětného vychytávání serotoninu (SSRI) nebo selektivními inhibitory zpětného vychytávání serotoninu a noradrenalinu (SNRI) může zvyšovat riziko krvácení.

Současné podávání rivaroxabanu s látkami, které jsou silnými inhibitory CYP3A4 i P-gp (např. systémově podávaná azolová antimykotika, nebo ritonavir), může vést ke zvýšenému riziku krvácení. Předpokládá se, že flukonazol má menší vliv na rivaroxaban a může být souběžně s opatrností podáván. Současné podání rivaroxabanu se silnými induktory CYP3A4 může vést ke snížení jeho plazmatické koncentrace. Silné inhibitory CYP3A4 a P-gp mohou zvýšit, silné induktory CYP3A4 a P-gp snížit plazmatické koncentrace apixabanu.

## LABORATORNÍ SLEDOVÁNÍ

Všechna antitrombotika mohou ovlivňovat základní koagulační testy (tab. 3). Podávaný lék tak může být jedinou příčinou prodloužení koagulačních testů a následně zbytečného došetřování. Předjetí této situaci se dá tím, že se lék uvede na žádance a současně se udá i čas podání poslední dávky léku. Odběr se také může provést před podáním další dávky, případně výraznější prodloužení testů v tomto případě může svědčit pro předávkování. Informace na žádance laboratoři ušetří opakování vyšetření a telefonické konzultace s klinickými lékaři.

Při léčbě mohou být ovlivněna i některá speciální koagulační vyšetření, jako např. některé metody stanovení hladiny antitrombinu, rezistence k aktivovanému proteinu C či vyšetření lupus antikoagulans.

Mezi základní koagulační testy patří aktivovaný parciální tromboplastinový test (APTT), protrombinový test (PT), trombinový test (TT), fibrinogen. Výsledků protrombinového testu u všech osob, včetně pacientů na LMWH či DOAC, by měly být vydávány buď jako poměr časů (PT-R), nebo pouze čas pacienta. Dříve byly výsledky vydávány také v procentech nebo jako bezrozměrné číslo (jednalo se o odečet z kalibrační křivky). Toto se již nedoporučuje.

Laboratorní sledování je nutné u warfarinu, UFH, argatrobanu a hirudinu; naopak není obecně požadováno u LMWH, fondaparinuxu či DOAC s výjimkou stavů, kdy jde o krvácení, nutnost akutního chirurgického výkonu, renální insuficienci, suspektní předávkování, ale také třeba při podezření na nespolečnou nemocného, případně při neobvyklé hmotnosti. U LMWH je doporučováno provádět kontroly u těhotných a dětí.

Tab. 3. Ovlivnění základních koagulačních testů

|      | Warfarin | UFH | LMWH | Dabigatran | Rivaroxaban | Apixaban | Edoxaban |
|------|----------|-----|------|------------|-------------|----------|----------|
| APTT | ↑        | ↑↑  | N    | ↑↑         | N-↑         | N-↑      | N        |
| PT   | ↑↑       | N-↑ | N    | N-↑        | N-↑         | N-↑↑     | N-↑      |
| TT   | N        | ↑↑↑ | ↑    | ↑↑↑        | N           | N        | N        |

Pravidelné kontroly protrombinového testu vyjádřené jako PT-INR (mezinárodní normalizovaný poměr) jsou nezbytností u všech kumarinů. Je zde také prokazatelná závislost rizika krvácení na hodnotě PT-INR. Parametr PT-INR byl zaveden jako standardizace léčby. Jedná se o poměr protrombinového času pacienta k času normálu umocněný na ISI (mezinárodní index senzitivity tromboplastinu). Výsledek PT-INR by měl být používán pouze u osob, které užívají deriváty kumarinů. U některých jedinců se při léčbě warfarinem prodlužuje i APTT, ke sledování léčby však není vhodné. TT není ovlivněn.

Při podávání UFH je nutné sledovat hodnotu APTT. Jednotlivé reagenty pro vyšetření APTT se významně liší citlivostí k heparinu, a proto by laboratoř měla mít definováno, v jakém rozmezí by se hodnoty při terapeutickém dávkování měly pohybovat. Obecně se doporučuje, aby se výsledek pohyboval mezi 2–3násobkem normálu.

Hirudin v závislosti na dávce ovlivňuje jak APTT, tak PT a TT. Má úzké terapeutické rozmezí a jeho dávkování je nutné upravovat podle APTT (doporučené rozmezí je poměr R 1,5–2,0 za čtyři hodiny po podání). APTT dobře koreluje s koncentrací hirudinu, ale křivka je velmi plochá a závislost není zcela lineární. Pro monitorování vyšší dávky hirudinu se doporučuje použití ekarinového testu (ECT), který však v běžné praxi není dostupný.

Léčebný účinek bivalirudinu je monitorován aktivanou dobou srážení (ACT) [9].

K monitorování léčby argatrobanem se používá APTT, doporučené terapeutické rozmezí je poměr R 1,5–3,0. Argatroban ovlivňuje také PT, což může dělat problémy při současném zavádění antikoagulační léčby antagonisty K vitamínu.

Laboratorní monitorování LMWH není nutné, přesto se stále častěji indikuje. Využívá se stanovení anti-Xa aktivity chromogenní metodou. Limitací vyšetření je, že naměřená hodnota nás informuje pouze o koncentraci molekul, které jsou schopny anti-Xa (případně anti-IIa) působení, nekoreluje však s rizikem krvácení [24] ani při předávkování. Riziko krvácení se zvyšuje především s věkem a závisí na celkovém klinickém stavu nemocného, případně na dávce LMWH [25].

K monitorování hladiny fondaparinuxu lze v případě potřeby použít chromogenní stanovení anti-Xa aktivity stejně jako u LMWH. Pro fondaparinux se však musí použít specifické kalibrátory. Léčebné rozmezí není pro daný lék jasně definováno.

## DOAC

I když se rutinní laboratorní sledování u osob užívajících DOAC nepovažuje za nutné, jsou situace, kdy je nezbytné – viz výše uvedené.

Vzhledem k relativně krátkému poločasu DOAC je při interpretaci laboratorních výsledků potřeba znát čas, kdy byla podána poslední dávka. Při podezření na předávkování je odběr krve vhodné provést v době minimálního účinku. Pokud ověřujeme vstřebávání preparátu či spolupráci nemocného, je optimální odběr v době maximální koncentrace. Prodloužení základních testů závisí na typu použité reagenty, většina je na léčbu DOAC málo citlivá [26].

Ke stanovení plazmatické hladiny **dabigatranu** se používá ředěný trombinový čas (dTT, např. Hemoclot® Thrombin Inhibitors). Doporučován je i ECT či ekarinový chromogenní test (ECA), v našich podmínkách se ale nepoužívají. Nejvyšší hladina se očekává cca za 2 hodiny po podání léku. K orientačnímu zhodnocení antikoagulačního účinku lze využít APTT. Citlivost testu ale závisí na použité reagenty. APTT ve fyziologických mezích prakticky vylučuje terapeutickou hladinu. Prodloužení APTT nad dvojnásobek horní hranice normy v době minimálního účinku může upozornit na zvýšené riziko krvácení. Stupeň prodloužení ale nekoreluje s koncentrací dabigatranu. Dabigatran v terapeutických koncentracích PT-R prakticky neovlivňuje, v případě předávkování dochází k jeho prodloužení. Velmi citlivý je TT, který vykazuje na dávce závislou lineární odpověď. Test je využitelný, pokud chceme vyloučit, že dabigatran není v krvi přítomen.

Ke stanovení plazmatické hladiny **přímých inhibitorů faktoru Xa** provádíme vyšetření anti-Xa aktivity chromogenní metodou s kalibrátory pro jednotlivé přípravky (rivaroxaban, apixaban, edoxaban). Farmakodynamické účinky stanovené analýzou anti-Xa aktivity jsou předvídatelné a korelují s jejich dávkou a koncentrací.

K orientačnímu posouzení antikoagulace rivaroxabanem lze použít PT. Citlivost metody se však liší podle použité reagenty. PT je vhodný zejm. při podezření na předávkování či kumulaci léku. Apixaban a edoxaban také prodlužují PT, tyto změny jsou ale malé a podléhají vysokému stupni variability. Nelze je proto ke sledování antikoagulačního účinku použít. Hodnota APTT může být u všech inhibitorů faktoru Xa mírně prodloužená, avšak metoda není dostatečně citlivá a její použití proto není vhodné [27].

## ANTIDOTUM

Látka, která by neutralizovala účinek, je u většiny antitrombotických léků problém.

UFH lze neutralizovat podáním protaminu, i když tento nemusí stoprocentně fungovat a sám může riziko krvácení zvyšovat. U LMWH protamin již ale z velké části nefunguje a fondaparinux protaminem neutra-

lizován není. V současnosti pro něj nemáme účinné antidotum, podobně jako ani pro hirudin.

Antidotem warfarinu, či lépe kompetitivním protivníkem, je sám vitamin K, jehož účinek však nastupuje nejdříve za 4 hodiny po podání, spíše však později. Pro akutní použití je nutné podání koncentrátů protrombinového komplexu, čerstvě zmražená plazma nemá dostatečnou koncentraci potřebných koagulačních faktorů.

Fab-fragment humanizované monoklonální protilátky idarucizumab (Praxbind®) se s vysokou afinitou specificky váže na dabigatran a neutralizuje jeho účinek. Vazebná afinita je asi 300krát vyšší než afinita dabigatranu k trombinu. Výsledkem je okamžitá, úplná a přetrvávající (až 12 hodin u více než 90 % pacientů) reverze antikoagulačního účinku dabigatranu [28].

Pro inhibitory faktoru Xa byl vyvinut andexanet alfa (Andexxa®). Jedná se o modifikovaný rekombinantní faktor Xa, který není koagulačně aktivní. Byla již ukončena III. fáze klinického zkoušení [29] a v USA je přípravek registrován pro případ život ohrožujícího či nekontrolovaného krvácení u pacientů užívajících rivaroxaban nebo apixaban. V České republice ale ještě nebyl andexanet alfa ke klinickému použití schválen.

Ve vývoji je také ciraparantag (aripazine) – je to malá syntetická molekula, která se nekovalentně váže na UFH, LMWH, fondaparinux, dabigatran i xabany. Jde tedy o univerzální antidotum. Látka se aktuálně nachází ve fázi II klinického hodnocení [30].

## ZÁVĚR

Zavedení DOAC do léčby tromboembolické nemoci v nejširším slova smyslu je velkým přínosem v hledání ideálního antikoagulans (tab. 4). Výstupy dosavadních studií prezentují velmi dobré výsledky, přesto se ale jedná v podstatě o nové léky – asi nejdůležitější informace přinese čas a výsledky registrů.

V každém případě je nutné vždy posoudit, který postup je pro nemocného optimální, je nutné zohledňovat věk a komorbidity. Pokud se zvažuje redukce dávek, měla by být jasně zdůvodněná – jak ukazují poslední práce, není toto vždy ku prospěchu nemocného [31].

Problémy mohou nastat u nemocných s poruchou funkce ledvin, kde jediný lék, který není ledvinami vylučován, je argatroban. Všechna antitrombotika jsou metabolizována a/nebo vylučována játry, proto i u těchto osob je jejich podávání problematické.

V některých klinických situacích se jako výhodná může ukazovat určitá skupina léků. Například u nemocných s trombózou a nádorovým onemocněním je

upřednostňované podávání LMWH před warfarinem i DOAC. Naopak u pacientů s chlopenními náhradami je nejvhodnější warfarin, podávání DOAC se nedoporučuje.

Pro těhotné máme stále k dispozici jen LMWH, případně u pacientek s defektem antitrombinu nebo chlopenní náhradou warfarin v druhém trimestru. Při kojení je možné podávat také jen warfarin, případně LMWH (je sice exkrece do mléka, ale lék je inaktivován v žaludku dítěte – kyselé pH).

Veškeré dosud prováděné studie byly stavěny proti LMWH, warfarinu nebo placebo. Dosud neproběhly srovnávací studie „face to face“ mezi jednotlivými DOAC.

Jednou z udávaných výhod DOAC je, že není nutné laboratorní monitorování. Ukazuje se však, že máme skupinu pacientů, u kterých je monitorování hladin léků nezbytné.

Přestože léčba warfarinem vyžaduje pravidelné laboratorní sledování a dobrou spolupráci nemocného, je s tímto přípravkem stále nejvíce zkušeností, podobně jako s LMWH.

## Shrnutí přínosu posledních let z hlediska antitrombotické medikace

• **Systematický charakter** antitrombotické prevence, terapie, sledování a depistáže podle doporučených postupů.

Tab. 4. Ideální antitrombotikum

|  |
|--|
| • <b>Efektivnost</b> (především v místě patologické formace trombu)  |
| • Dobrá terapeutická účinnost při <b>bezpečném profilu</b> (žádná závažná toxicita)<br>– látka by se neměla významně vázat na bílkoviny plazmy                 |
| • <b>Nízké riziko</b> nežádoucích účinků   |
| • <b>Žádné laboratorní sledování</b> (= pevná, paušální dávka)<br>– předvídatelný účinek bez nutnosti rutinní laboratorní kontroly                             |
| • Jednoduché podávání<br>– možnost p. o. podávání (dlouhodobá léčba); 1krát denně<br>– možnost perorálního i parenterálního podávání                           |
| • Rychlý nástup účinku   |
| • <b>Krátký poločas</b> pro akutní užití   |
| • Dlouhý poločas pro dlouhodobé podávání (profylaxe)   |
| • Dostupné, snadno užitelné <b>antidotum</b> (reverzibilitnost účinku)   |
| • Minimální ovlivnění potravou či souběžnými léky<br>– malá nebo žádné interakce s potravou/léky<br>– mechanismus účinku nezávislý na systému cytochromu P-450 |
| • Bezpečné použití v těhotenství   |
| • Nízká cena (příznivý poměr cena/účinnost), tj. ekonomická dostupnost   |

- Intenzivní výzkum s objevením a zavedením nových preparátů do praxe – LMWH, DOAC.

- Sofistikované propracování klinického i laboratorního sledování. Zavedení klinických skórovacích systémů – např. CHA<sub>2</sub>DS<sub>2</sub>-VASc skóre (Birmingham schéma z roku 2009) [14]. Rozšíření možností laboratorního sledování antitrombotické léčby – specifické testy pro jednotlivé způsoby medikace (PT-INR pro warfarin, anti-Xa pro inhibitory faktoru Xa, dTT pro dabigatran etexilát apod.) [32].

- **Prospektivní studie a po uvedení preparátu do klinické praxe založení registrů s vyhodnocením výstupů a jejich vzájemným srovnáváním** [33].

- Doporučené postupy s určením úrovně důkazu a stupně doporučení, s expertním a recenzním řízením.

- **Vzájemné srovnání používaných preparátů** [34].

- Vytvoření odborných mezinárodních a národních společností (ISTH, ESTH, ČSTH) a pravidelné konference včetně vědeckých standardizačních výborů (SSC) a multidisciplinární přístup [35].

## LITERATURA

1. Wardrop D, Keeling D. The story of the discovery of heparin and warfarin. *Br J Haematol* 2008;141: 757–763.
2. Shampo MA, Kyle ARJ. Erik Jorpes – pioneer in the identification and clinical applications of heparin. *Mayo Clin Proc* 1997;72:1056.
3. Markwardt F. Historical perspective of the development of thrombin inhibitors. *Pathophysiol Haemost Thromb* 2002;32(suppl 3):15–22.
4. Bauer KA, Hawkins PCP, Petitou M, et al. Fondaparinux, a synthetic pentasaccharide: the first in a new class of antithrombotic agents – the selective factor Xa inhibitors. *Cardiovasc Drug Rev* 2002;20(1): 37–52.
5. Yeh CH, Fredenburgh JC, Weitz JI. Oral direct factor Xa inhibitors. *Circ Res* 2012;111:1069–1078.
6. Kearon C, Akl EA, Ornelas J, et al. Antithrombotic therapy for VTE disease. CHEST Guideline and Expert Panel Report. *CHEST* 2016;149(2):315–352.
7. Barnes GD, Ageno W, Ansell J, Kaatz S. For the subcommittee on the control of anticoagulation. Recommendation on the nomenclature for oral anticoagulants: communication from the SSC of the ISTH. *J Thromb Haemost* 2015;13(6):1154–1156.
8. Nutescu EA, Burnett A, Fanikos J, et al. Pharmacology of anticoagulants used in the treatment of venous thromboembolism. *J Thromb Thrombolysis* 2016;41:15–31.
9. Greinacher A, Warkentin TE. The direct thrombin inhibitor hirudin. *Thromb Haemost* 2008;99:819–829.
10. Escolar G, Bozzo J, Maragall S. Argatroban: A direct thrombin inhibitor with reliable and predictable anticoagulant actions. *Drugs Today* 2006;42(4):223.
11. Clagett GP, Reisch JS. Prevention of venous thromboembolism in general surgical patients: results of meta-analysis. *Ann Surg* 1988;208:227–240.
12. Bergqvist D. Low molecular weight heparin for the prevention of venous thromboembolism after abdominal surgery. *Br J Surg* 2004;91:965–974.
13. Bultas J, Karetová D. Antitrombotika v prevenci cévní mozkové příhody, 2. Část – význam antikoagulační léčby. *Kardiolog Rev* 2013;15(1):41–53.
14. Lip GYH, Nieuwlaat R, Pisters R, Lane DA, Crijns HJ. Refining clinical risk stratification for predicting stroke and thromboembolism in atrial fibrillation using a novel risk factor-based approach: the euro heart survey on atrial fibrillation. *Chest* 2010;137:263–272.
15. The European Medicines Agency. Souhrn údajů o přípravku Arixtra. [online]. Dostupné na www: [http://www.ema.europa.eu/docs/cs\\_CZ/document\\_library/EPAR\\_-\\_Product\\_Information/human/000403/WC500027746.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/cs_CZ/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/000403/WC500027746.pdf).
16. The European Medicines Agency. Souhrn údajů o přípravku Pradaxa. [online]. Dostupné na www: [http://www.ema.europa.eu/docs/cs\\_CZ/document\\_library/EPAR\\_-\\_Product\\_Information/human/000829/WC500041059.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/cs_CZ/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/000829/WC500041059.pdf).
17. The European Medicines Agency. Souhrn údajů o přípravku Eliquis. [online]. Dostupné na www: [http://www.ema.europa.eu/docs/cs\\_CZ/document\\_library/EPAR\\_-\\_Product\\_Information/human/002148/WC500107728.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/cs_CZ/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/002148/WC500107728.pdf).
18. The European Medicines Agency. Souhrn údajů o přípravku Xarelto. [online]. Dostupné na www: [http://www.ema.europa.eu/docs/cs\\_CZ/document\\_library/EPAR\\_-\\_Product\\_Information/human/000944/WC500057108.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/cs_CZ/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/000944/WC500057108.pdf).
19. The European Medicines Agency. Souhrn údajů o přípravku Lixiana. [online]. Dostupné z: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/lixiana-epar-product-information\\_cs.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/lixiana-epar-product-information_cs.pdf)
20. Junqueira DR, Perini E, Penholati RR, Carvalho MG. Unfractionated heparin versus low molecular weight heparin for avoiding heparin-induced thrombocytopenia in postoperative patients. *Cochrane Database Syst Rev* 2012;(9):CD007557 doi: 10.1002/14651858.CD007557.pub2.
21. Matýšková M. Warfarin, potrava a potravinové doplňky. *Interní Med* 2010;12(2):87–91.
22. Kvasnička J, Hájková J, Bobčíková P, et al. Prevalence polymorfismů CYP2C9 a VKORC1 v České republice a zamyšlení nad výhledy antikoagulační léčby warfarinem. *Cor et Vasa*, Epstein et al., *JACC* 2010;55: 280.
23. Heparin-leciva-spc.pdf. Dostupné na www: <http://www.sukl.cz/modules/medication/detail.php?code=0091915&tab=texts>.
24. Fitzmaurice DA, Blann AD, Lip GYH. Bleeding risks of antithrombotic therapy. *BMJ* 2002;325(7368):828–831.
25. Baglin T, Barrowcliffe TW, Cohen A, Greaves M. for the British Committee for Standards in Haematology. Guidelines on the use and monitoring of heparin. *Br J Haematol* 2006;133:19–34 doi:10.1111/j.1365-2141.2005.05953.x.
26. Samuelson BT, Cuker A, Siegal DM, et al. Laboratory assessment of the anticoagulant activity of direct oral anticoagulants. *Chest* 2017;151(1):127–138 <http://dx.doi.org/10.1016/j.chest.2016.08.1462>.

27. Salmonson T, Dogné J-M, Janssen H, et al. Non-vitamin-Koral anticoagulants and laboratory testing: now and in the future. Views from a workshop at the European Medicines Agency (EMA). *Europ Heart J – Cardiovasc Pharmacoth* 2017;3:42–47 doi:10.1093/ehjcvp/pvw032.
28. Pollack CV, Reilly PA, van Ryn J, et al. Idarucizumab for dabigatran reversal – full cohort Analysis. *N Engl J Med* 2017;377:431–441 DOI: 10.1056/NEJMoa1707278.
29. Siegal DM, Curnutte JT, Connolly SJ, et al. Andexanet alfa for the reversal of factor Xa inhibitor activity. *N Engl J Med* 2015;373:2413–2424 DOI: 10.1056/NEJMoa1510991.
30. Hu TY, Vaidya VR, Asirvatham SJ. Reversing anticoagulant effects of novel oral anticoagulants: role of ciraparantag, andexanet alfa, and idarucizumab. *Vascular Health Risk Management* 2016;12:35–44 <https://doi.org/10.2147/VHRM.S89130>.
31. Nielsen PB, Skjøth F, Søgaard M, et al. Effectiveness and safety of reduced dose non-vitamin K antagonist oral anticoagulants and warfarin in patients with atrial fibrillation: propensity weighted nationwide cohort study. *BMJ* 2017;356:j510 doi: 10.1136/bmj.j510.
32. Michalčová J, Penka, M, Buliková A, et al. Nová – přímá perorální anti-koagulancia: aktuální přehled. *Vnitř Lek* 2016;62(10):805–813.
33. Robertson L, Kesteven P, McCaslin JE. Oral direct thrombin inhibitors or oral factor Xa inhibitors for the treatment of deep vein thrombosis. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2015;6: Art. No.:CD010956 DOI: 10.1002/14651858.CD010956.pub2.
34. Cohen AT, Hamilton M, Mitchell SA, et al. Comparison of the novel oral anticoagulants apixaban, dabigatran, edoxaban, and rivaroxaban in the initial and long-term treatment and prevention of venous thromboembolism: systematic review and network meta-analysis. *PLoS ONE* 2015;10(12):e0144856 doi.org/10.1371/journal.pone.0144856.
35. Kvasnička J, Penka M, Kvasnička T, et al. Doporučení České společnosti pro trombózu a hemostázu České lékařské společnosti J. E. Purkyně pro bezpečnou léčbu novými perorálními antikoagulanty (NOAC) – dabigatran etexilátem, apixabanem a rivaroxabanem. *Vnitř Lek* 2015;61(6):537–546.

#### Podíl autorů na přípravě rukopisu

MP – příprava první a finální verze rukopisu

MM – připomínkování a korektura rukopisu

JM – připomínkování a korektura rukopisu

#### Poděkování

Podpořeno granty MUNI/A/1105/2018 a MZ ČR – RVO (FNBr, 65269705).

#### Čestné prohlášení

V souvislosti s tématem, vznikem a publikací tohoto článku nejsou autoři ve střetu zájmů a vznik ani publikace článku nebyly podpořeny žádnou farmaceutickou firmou.

*Doručeno do redakce dne 4. 10. 2018.*

*Přijato po recenzi dne 12. 11. 2018.*

#### prof. MUDr. Miroslav Penka, CSc.

Oddělení klinické hematologie  
Fakultní nemocnice Brno-Bohunice  
Jihlavská 20  
625 00 Brno  
e-mail: penka.mirosla@vnbrno.cz

# ELOCTA<sup>®</sup> ▼

## Dává šanci Vaším pacientům s hemofilií A<sup>1</sup>

▶▶▶ zlepšit flexibilitu, adherenci a rovněž dlouhodobé výsledky jejich léčby<sup>\*,2,3,4</sup>

▶▶▶ ve všech věkových skupinách<sup>1,2,3,4</sup>



**ELOCTA<sup>®</sup>**  
efmoroctocog alfa  
(rekombinantní lidský koagulační faktor VIII,  
Fc fuzní protein)

**První ve své třídě – rekombinantní faktor s prodlouženým účinkem založeným na Fc technologii<sup>2</sup>**

Přípravek ELOCTA<sup>®</sup> je indikován k léčbě a prevenci krvácení u pacientů s hemofilií A (vrozený deficit faktoru VIII) ve všech věkových skupinách.<sup>1</sup>

 sobi

Swedish Orphan Biovitrum s.r.o.  
Na Strži 65/1702, 140 00 Praha 4  
tel.: +420 257 222 034,  
e-mail: mail.cz@sobi.com

PP-5316 s datem přípravy: březen 2019

[www.sobi.com](http://www.sobi.com)

\* Populace pacientů s těžkou hemofilií A dříve léčených konvenčním faktorem VIII, kteří byli v rámci klinického programu převedeni na léčbu faktorem s prodlouženým účinkem (rFVIIIc).<sup>2,3,4</sup>

**Odkazy:** 1. SPC ELOCTA<sup>®</sup>, datum poslední revize textu 13. 12. 2018. 2. Frampton JE. Drugs 2016; 76:1281–1291. 3. Pasi KJ, et al. Abstrakt a poster č. P070. Prezentováno na: 9th Annual Congress of the European Association for Haemophilia and Allied Disorders (EAHAD) 2016, Malmö, Švédsko. 4. Nolan B, et al. Abstrakt a poster č. P072. Prezentováno na: 9th Annual Congress of the European Association for Haemophilia and Allied Disorders (EAHAD) 2016, Malmö, Švédsko.

# Chronická lymfocytární leukemie – současné využití moderních prognostických a prediktivních faktorů v diagnostice

Pospíšilová Š.<sup>1,2</sup>, Jarošová M.<sup>1,2</sup>, Doubek M.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Interní hematologická a onkologická klinika LF MU a FN Brno

<sup>2</sup>Centrum molekulární medicíny, CEITEC, Masarykova univerzita, Brno

*Transfuzní Hematol. dnes, 25, 2019, No. 1, p. 66-71*

## SOUHRN

Poznatků o biologii a patogenezí chronické lymfocytární leukemie (CLL) za posledních 25 let dramaticky přibýlo. Výrazně se rovněž změnila terapie této nemoci. Jde o jeden z nejvýraznějších pokroků v rámci celé onkologické hematologie. CLL má různorodý klinický průběh, který závisí na mnoha faktorech. Zjištění prognostických markerů CLL tak má dnes důležitou roli v přístupu k onemocnění u konkrétního pacienta i ve volbě vhodné terapie. Rozhodujícím prognostickým a prediktivním faktorem jsou aberace v genu TP53. Jejich význam roste v současné době nových léčebných možností u CLL. Zavedení zevrubných genomických přístupů do analýzy CLL vedlo k identifikaci dalších genetických abnormalit, které mohou přispět ke zlepšení stratifikace pacientů s CLL a ke sledování tak zvané klonální evoluce u této nemoci.

## KLÍČOVÁ SLOVA

chronická lymfocytární leukemie – prognostické faktory – prediktivní faktory – cytogenetika – TP53 – IGHV

## SUMMARY

Pospíšilová Š., Jarošová M., Doubek M.

**Chronic lymphocytic leukaemia – contemporary application of modern prognostic and predictive markers in diagnostics**

Insights into the biology and pathogenesis of chronic lymphocytic leukaemia (CLL) have dramatically increased over the past 25 years. Treatment of this disease has also dramatically changed. This is an example of one of the most striking advances in the entire field of oncological haematology. CLL has a very heterogeneous clinical outcome depending on many factors. Prognostic markers thus play an important role in disease management and assist in the selection of the best treatment option. The key prognostic and predictive factors influencing treatment decisions are TP53 gene aberrations, especially in the era of novel therapies. The introduction of high-throughput genomic approaches has led to the identification of novel genetic abnormalities that could contribute to improved risk stratification of CLL patients and also enable tracking of leukemic clone(s) evolution.

## KEY WORDS

chronic lymphocytic leukaemia – prognostic factors – predictive factors – cytogenetics – TP53 – IGHV

## ÚVOD

Když jsme v polovině 90. let 20. století léčili pacienta s chronickou lymfocytární leukémií (CLL), měli jsme jen omezené léčebné možnosti. Byl k dispozici chlorambucil, někteří nemocní dostávali kortikoidy, případně chemoterapeutické režimy podobně jako pacienti s lymfomy. Prognóza nemoci byla určována v podstatě jen podle systémů Raie či Bineta [1, 2]. Ve druhé polovině

90. let se začal používat fludarabin v monoterapii. Tento lék jsme považovali za malý zázrak. O to větší bylo naše zklamání, když u mnoha nemocných neměl fludarabin žádný léčebný účinek. Dodnes si tyto pacienty, mnohdy mladé, vybavujeme. Proč tomu tak bylo? První odpověď jsme dostali v roce 1997, kdy byl objeven prognostický význam delece krátkého raménka chromozomu 17, del(17p), tedy prognostická role genu

Tab. 1. Mezinárodní prognostický index

| Parametr  | Bodová hodnota              |
|---|-----------------------------|
| Přítomnost 17p delece a/nebo TP53 mutace                  | 4                           |
| Nemutovaný IGHV mutační stav                              | 2                           |
| Koncentrace $\beta_2$ -mikroglobulinu v séru nad 3,5 mg/l | 2                           |
| Klinické stadium (Rai I-IV / Binet B a C)                 | 1                           |
| Věk nad 65 let  | 1                           |
| Rizikové skupiny  |                             |
| Nízké riziko  | 0-1 (5leté přežití 93,2 %)  |
| Střední riziko  | 2-3 (5leté přežití 79,3 %)  |
| Vysoké riziko   | 4-6 (5leté přežití 63,3 %)  |
| Velmi vysoké riziko                                       | 7-10 (5leté přežití 23,3 %) |

Index (IPI, International Prognostic Index) chronické lymfocytární leukemie [9]; IGHV – gen pro těžký řetězec imunoglobulinu

TP53 [3]. V roce 2000 byl publikován první genomický model prognózy CLL [4]. A poté se již vršil jeden objev za druhým, což nakonec vedlo k tomu, že pacienti s CLL dnes žijí daleko déle než před 25 lety. Prevalence nemoci se za posledních 25 let více než zdvojnásobila (data České hematologické společnosti).

Dnes ještě lépe, než kdy dříve víme, že CLL má velmi variabilní klinický průběh závislý na celé řadě biologických, biochemických a genetických faktorů. Klasické prognostické faktory jako věk, pohlaví, klinické stadium, hladina  $\beta_2$ -mikroglobulinu, výskyt somatických hypermutací v genu pro variabilní oblast těžkého řetězce imunoglobulinu (mutační stav IGHV) a chromozomální aberace jsou využívány v diagnostice již od začátku 21. století a dodnes jsou součástí prognostických modelů či skórovacích systémů [5–9]. Prudký rozvoj genomických technologií v posledních letech, převážně masivního paralelního sekvenování DNA neboli sekvenování nové generace (NGS), však umožnil další detailní analýzy genomu leukemických buněk a nalezení nových genetických markerů, které korelují s prognózou onemocnění a mohou predikovat odpověď na léčbu [10–12]. Celogenomové, resp. exomové sekvenování (WGS/WES) pomohlo identifikovat genetické mutace asociované s rozvojem a progresí onemocnění (tzv. „driver“ mutace), jejichž detekce může přispět k lepší stratifikaci pacientů a optimalizaci volby terapie. Nicméně i přes řadu probíhajících studií byl zatím přímý prognostický a/nebo prediktivní význam prokázán jen u několika genetických abnormalit.

## PROGNOSTICKÉ A PREDIKTIVNÍ MARKERY DNES

Zatímco mnoho pacientů s CLL nemá po řadu let klinické příznaky onemocnění, jiní potřebují časný terapeutický zásah a taktéž vykazují rozdílnou odpověď

na léčbu. Je zřejmé, že se tyto skupiny pacientů liší přítomností pozitivních nebo negativních prognostických a prediktivních faktorů. U CLL bylo popsáno mnoho prognostických faktorů poskytujících informaci o pravděpodobném vývoji onemocnění, přičemž některé z nich mohou sloužit i jako prediktivní faktory předpovídající efekt vybrané léčby. Avšak ne všechny z prognostických a prediktivních faktorů už byly validovány multivariačními analýzami nebo prospektivními klinickými studiemi. Za účelem definování nejvýznamnějších faktorů bylo pro CLL pacienty vytvořeno několik prognostických skórovacích systémů. Mezinárodním týmem vedeným prof. Hallekem publikoval metaanalýzu zahrnující data z 8 randomizovaných klinických studií, která identifikovala 5 nezávislých prognostických faktorů: delece a/nebo mutace TP53 genu, přítomnost somatických hypermutací IGHV, hladina sérového  $\beta_2$ -mikroglobulinu, klinické stadium a věk [7, 9, 13]. Tento prognostický index (IPI, *International Prognostic Index*) tak zahrnuje klinické, biochemické i genetické faktory (tab. 1).

Klinické stadium onemocnění (Rai 0–IV, Binet A–B–C) má přímý vliv na indikaci terapie, avšak neidentifikuje pacienty s vysokým rizikem progresu, a ani nepredikuje odpověď na léčbu. Jako významný prognostický faktor se ukazuje také věk (hranice 65 let), který má významný vliv na celkové přežití pacienta [9]. Z biochemických parametrů se jeví jako nejvýznamnější prognostický faktor sérová koncentrace  $\beta_2$ -mikroglobulinu [14]. Z genetických faktorů je nejdéle využíván tzv. mutační stav IGHV neboli přítomnost somatických hypermutací v genu pro variabilní oblast těžkého řetězce imunoglobulinu. Mnoho studií jasně prokázalo, že jde o robustní prognostický marker založený na asociaci výskytu nemutovaných/minimálně mutovaných sek-

venci IGHV genu s nepříznivou prognózou onemocnění [15, 16]. Mutační stav IGHV ve většině případů není ovlivněn progresí onemocnění, a obvykle je analyzován v počátečních fázích onemocnění – viz aktuální doporučení Evropské CLL organizace (ERIC) [17–20]. Jen vzácně může v průběhu onemocnění dojít ke změně mutačního stavu, obvykle v případě paralelního výskytu více leukemických klonů a v souvislosti s terapií [21, 22]. Zvyšující se prognostický význam má i podrobná imunogenetická charakterizace B-buněčného receptoru (BcR), zejména v souvislosti s terapeutickým využitím inhibitorů BcR dráhy. Analýzou rozsáhlého mezinárodního souboru CLL pacientů bylo zjištěno, že třetina CLL pacientů má tzv. stereotypní B-buněčné receptory [23] seskupené do jednotlivých skupin – tzv. subsetů, které vykazují podobné biologické i klinické vlastnosti – od velmi indolentních subsetů (např. subset 4) až po subsety s velmi agresivním chováním (např. subsety 1 a 2) [24]. Různé subsety stereotypních B-buněčných receptorů také korelují s výskytem různých typů rekurentních genetických mutací [25].

Klíčovou roli při stanovení prognózy CLL má nepochybně také detekce chromozomálních abnormalit pomocí fluorescenční *in situ* hybridizace (FISH). Na základě typu genomických aberací bylo definováno pět kategorií: del(17p), del(11q), trizomie 12q, normální karyotyp a samostatná del(13q), přičemž pacienti s del(17p) mají nejkratší medián doby bez terapie [4]. Lokus 17p13 kóduje antionkogen TP53 a jeho delece je často asociována s mutacemi druhé alely genu. TP53 mutace se vyskytují také samostatně, nezávisle na del(17p). Frekvence výskytu dysfunkce TP53 genu se významně liší v závislosti na stadiu onemocnění. Při diagnóze a v počátečních stádiích onemocnění se TP53 defekty vyskytují jen u několika procent nemocných, před první terapií je už TP53 gen inaktivován v 15–20 % případů a u pacientů refrakterních na chemoimunoterapii jsou TP53 abnormality detekovány až u poloviny CLL pacientů [26]. Defekty v genu TP53 jsou v současnosti nejvýznamnějším prognostickým i prediktivním markerem u CLL pacientů. Jsou spojeny s velmi špatnou prognózou a rezistencí na chemoimunoterapii. Mutace v TP53 genu a del(17p) proto musí být testovány vždy před začátkem každé terapie [27, 28], opakované analýzy jsou nezbytné kvůli možné selekci nových mutací v průběhu vývoje onemocnění [27]. Evropská CLL organizace (ERIC) provádí pravidelné certifikace laboratoří provádějících mutační analýzy TP53 genu u CLL, certifikaci už získalo více než 130 laboratoří z 28 zemí včetně ČR. Poslední výzkumy navíc ukazují, že dokonce i minoritní TP53 mutace (přítomné jen v malé frakci – klonu

leukemických buněk) detekované pomocí vysoce senzitivní NGS technologie mohou představovat velmi špatnou prognózu [29–31]. O problematice významu minoritních mutací v TP53 genu se v současné době velmi intenzivně diskutuje také v rámci organizace ERIC, která koordinuje prospektivní studii cílenou na objasnění vlivu TP53 mutací přítomných v méně než 10 % leukemických buněk.

Delece 11q22-23 zahrnující gen *ATM* (*ataxia-telangiectasia mutated*) má taktéž negativní dopad na prognózu onemocnění, zvláště u starších pacientů. CLL pacienti s bialelickou delecí *ATM* mají zkrácené období do progresu (PFS) i celkové přežití (OS) [32].

V poslední době se ukazuje, že velmi významným prognostickým a prediktivním faktorem je rovněž přítomnost komplexního karyotypu. Komplexní karyotyp je možné určit pomocí klasického cytogenetického vyšetření, které se provádí kultivací buněk kostní dřeně, ale mnohem častěji kultivací buněk periferní krve. Z důvodů nízké proliferativní aktivity nádorových B lymfocytů *in vitro* se B lymfocyty kultivují po dobu 72 hodin v médiu se stimulačními látkami, jako jsou CpG oligonukleotidy DSP30 a interleukin 2 (IL-2) [33, 34]. Komplexní karyotyp je obecně definován nálezem  $\geq 3$  nebo  $\geq 5$  chromozomových změn ve dvou a více metafázích [35–36]. Nepříznivý prognostický význam komplexního karyotypu nálezem 3 a více změn byl u nemocných s CLL opakovaně potvrzen [34–36]. U nemocných léčených ibrutinibem zkracuje například PFS i OS [37]. V poslední době se diskutuje o větším prognostickém významu komplexního karyotypu s nálezem 5 a více změn, a to zejména v kombinaci s defekty TP53 genu. Jaglowski et al. potvrdili, že tento nález nepříznivě ovlivňuje průběh onemocnění u CLL nemocných po alogenní transplantaci [38], Baliakas et al. pozorovali, že nález 5 a více změn nepříznivě ovlivňuje čas do první léčby (TTFT) [39]. Detekce komplexního karyotypu se proto stává součástí rutinní diagnostiky, zejména v souvislosti s možnou aplikací BcR inhibitorů.

Kromě uvedených nejčastěji používaných prognostických a prediktivních faktorů se začínají uplatňovat i další geny, jejichž prognostický význam byl identifikován celoxomovými a celogenomovými NGS analýzami [10, 11, 40]. Bylo prokázáno, že mutace v genech *NOTCH1* a *SF3B1* korelují s kratším celkovým přežitím CLL pacientů v klinických studiích [41, 42]. Mutace v *NOTCH1* genu navíc asociují s kratším intervalem do první terapie (TFS) a vyšším rizikem Richterovy transformace [43]. Defekty v *NOTCH1* and *SF3B1* společně s mutacemi v dalších genech (*BIRC3* nebo *MYD88*) byly zahrnuty do nových genetických prognostických modelů CLL [44, 45].

## PROGNOSTICKÉ A PREDIKTIVNÍ FAKTORY CLL

Tab. 2. Význam prognostických a prediktivních genetických faktorů u pacientů s chronickou lymfocytární leukémií

|                                       | Karyotyp<br>(posouzení komplexních změn) | Chromozomální aberace (FISH; cytogenetika) |                    |                    |          | TP53 mutace        | Mutační stav IGHV                |
|---------------------------------------|--|--|--------------------|--------------------|----------|--------------------|----------------------------------|
|                                       |  | del (11)                                   | trizomie 12        | del (13)           | del (17) |                    |                                  |
| Při stanovení diagnózy                | může být provedeno                       | ano  | ano                | ano                | ano      | může být provedeno | ano                              |
| Progrese onemocnění/ před 1. terapií  | ano                                      | může být provedeno                         | může být provedeno | může být provedeno | ano      | ano                | ano, nebylo-li analyzováno dříve |
| Relaps onemocnění/ před další terapií | ano                                      | může být provedeno                         | může být provedeno | může být provedeno | ano      | ano                | ano, nebylo-li analyzováno dříve |
| Prognostický význam                   | ano                                      | ano, u starších pacientů                   | ano                | ano                | ano      | ano                | ano                              |
| Prediktivní význam                    | ano (BcR inhibitory)                     | ano  | ?                  | ano                | ano      | ano                | ano (FCR, BcR inhibitory)        |

BcR-B – buněčný receptor; FCR – fludarabine, cyklofosfamid, rituximab; IGHV – gen pro těžký řetězec imunoglobulinu

Prognostický nebo prediktivní význam dalších faktorů, jako jsou například exprese znaků CD38 a ZAP70, periferní lymfocytóza, infiltrace kostní dřeně nebo solubilní antigen CD23, už v současné době ustupuje do pozadí [8]. Lze naopak předpokládat, že u CLL poroste význam analýzy minimální zbytkové nemoci v průběhu terapie [46, 47]. V posledních letech je také přikládán stále větší význam roli metylací v rozvoji a průběhu onemocnění. Změny v metylačních profilech CLL pacientů byly jasně prokázány už v raných fázích onemocnění a metylační stav některých míst v genomu je také spojen s agresivnějším průběhem nemoci [48].

## ZÁVĚR

Heterogenní klinický průběh CLL lze vysvětlit četnými rozdíly v imuno-, cyto- a molekulárněgenetických faktorech. Analýza těchto molekulárních faktorů při stanovení diagnózy a/nebo při progresi onemocnění (před první terapií) a/nebo při relapsu (před následnou terapií) je dnes jednoznačně doporučována (blíže tab. 2).

Využití moderních genomických technologií, především cíleného amplikonového NGS s vysokou citlivostí umožňuje rozkrýt podstatu nádorové heterogenity a klonální evoluce CLL [49] a stále více se stává součástí rutinní diagnostiky onemocnění. Zvyšující se dostupnost celogenomového sekvenování usnadňuje personalizovaný přístup k pacientům a optimalizaci volby terapie [50, 51].

## LITERATURA

1. Rai KR, Sawitsky A, Cronkite EP, et al. Clinical staging of chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 1975;46:219–234.
2. Binet JL, Auquier A, Dighiero G, et al. A new prognostic classification of chronic lymphocytic leukemia derived from a multivariate survival analysis. *Cancer* 1981;48:198–206.
3. Lens D, Dyer MJ, Garcia-Marco JM, et al. p53 abnormalities in CLL are associated with excess of prolymphocytes and poor prognosis. *Br J Haematol* 1997;99(4):848–857.
4. Dohner H, Stilgenbauer S, Benner A, et al. Genomic aberrations and survival in chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med* 2000;343:1910–1916.
5. Hallek M, Cheson BD, Catovsky D, et al. iwCLL guidelines for diagnosis, indications for treatment, response assessment, and supportive management of CLL. *Blood* 2018;21;131(25):2745–2760.
6. Delgado J, Doubek M, Baumann T, et al. Chronic lymphocytic leukemia: A prognostic model comprising only two biomarkers (IGHV mutational status and FISH cytogenetics) separates patients with different outcome and simplifies the CLL-IPI. *Am J Hematol* 2017;92(4):375–380.
7. Doubek M, Špaček M, Pospíšilová Š, et al. Doporučení pro diagnostiku a léčbu chronické lymfocytární leukémie (CLL) – 2018. *Transfuzie Hematol dnes* 2018;24(3):208–221.
8. Pflug N, Bahlo J, Shanafelt TD, et al. Development of a comprehensive prognostic index for patients with chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2014;124:49–62.
9. International CLL-IPI working group. An international prognostic index for patients with chronic lymphocytes leukemia (CLL-IPI): a meta-analysis of individual patient data. *Lancet Oncol* 2016;17:779–790.

10. Landau DA, Tausch E, Taylor-Weiner AN, et al. Mutations driving CLL and their evolution in progression and relapse. *Nature* 2015;526(7574):525–530.
11. Puente XS, Beà S, Valdés-Mas R, et al. Non-coding recurrent mutations in chronic lymphocytic leukaemia. *Nature* 2015;526(7574):519–524.
12. Rodríguez-Vicente AE, Bikos V, Hernández-Sánchez M, et al. Next-generation sequencing in chronic lymphocytic leukemia: recent findings and new horizons. *Oncotarget* 2017;8(41):71234–71248.
13. Navrkalová V, Kantorová B, Jarošová M, Pospíšilová Š. Molekulární prognostické markery CLL a jejich klinický význam. *Klin Onkol* 2015;28(S3):3S6–S15.
14. Pratt G, Thomas P, Marden N, et al. Evaluation of serum markers in the LRF CLL4 trial:  $\beta$ 2-microglobulin but not serum free light chains, is an independent marker of overall survival. *Leuk Lymphoma* 2016;57(10):2342–2350.
15. Hamblin TJ, Davis Z, Gardiner A, Oscier DG, Stevenson FK. Unmutated Ig V(H) genes are associated with a more aggressive form of chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 1999;94(6):1848–1854.
16. Damle RN, Wasil T, Fais F, et al. Ig V gene mutation status and CD38 expression as novel prognostic indicators in chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 1999;94(6):1840–1847.
17. Ghia P, Stamatopoulos K, Belessi C, et al. ERIC recommendations on IGHV gene mutational status analysis in chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia* 2007;21:1–3.
18. Langerak AW, Davi F, Ghia P, Hadzidimitriou A, Murray F, Potter KN, et al. Immunoglobulin sequence analysis and prognostication in CLL: guidelines from the ERIC review board for reliable interpretation of problematic cases. *Leukemia* 2011;25(6):979–84.
19. Rosenquist R, Ghia P, Hadzidimitriou A, et al. Immunoglobulin gene sequence analysis in chronic lymphocytic leukemia: updated ERIC recommendations. *Leukemia* 2017;31(7):1477–1481.
20. Sutton LA, Hadzidimitriou A, Baliakas P, et al.; European Research Initiative on CLL (ERIC). Immunoglobulin genes in chronic lymphocytic leukemia: key to understanding the disease and improving risk stratification. *Haematologica* 2017;102(6):968–971.
21. Plevova K, Francova HS, Burckova K, et al. Multiple productive immunoglobulin heavy chain gene rearrangements in chronic lymphocytic leukemia are mostly derived from independent clones. *Haematologica* 2014;99(2):329–338.
22. Brazdilova K, Plevova K, Skuhrova Francova H, et al. Multiple productive IGH rearrangements denote oligoclonality even in immunophenotypically monoclonal CLL. *Leukemia* 2018;32(1):234–236.
23. Agathangelidis A, Darzentas N, Hadzidimitriou A, et al. Stereotyped B-cell receptors in one-third of chronic lymphocytic leukemia: a molecular classification with implications for targeted therapies. *Blood* 2012;119(19):4467–4475.
24. Baliakas P, Hadzidimitriou A, Sutton LA, et al. Clinical effect of stereotyped B-cell receptor immunoglobulins in chronic lymphocytic leukaemia: a retrospective multicentre study. *Lancet Haematol* 2014;1(2):e74–e84.
25. Sutton LA, Young E, Baliakas P, et al. Different spectra of recurrent gene mutations in subsets of chronic lymphocytic leukemia harboring stereotyped B-cell receptors. *Haematologica* 2016;101(8):959–967.
26. Zenz T, Häbe S, Denzel T, et al. Detailed analysis of p53 pathway defects in fludarabine-refractory chronic lymphocytic leukemia (CLL): dissecting the contribution of 17p deletion, TP53 mutation, p53-p21 dysfunction, and miR34a in a prospective clinical trial. *Blood* 2009;114(13):2589–2597.
27. Pospisilova S, Gonzalez D, Malcikova J, et al. ERIC recommendations on TP53 mutation analysis in chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia* 2012;26(7):1458–1461.
28. Malcikova J, Tausch E, Rossi D, et al. ERIC Recommendations for TP53 mutation analysis in chronic lymphocytic leukemia – update on methodological approaches and results interpretation. *Leukemia* 2018;32(5):1070–1080.
29. Rossi D, Khiabanian H, Spina V, et al. Clinical impact of small TP53 mutated subclones in chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2014;123:2139–2147.
30. Malcikova J, Stano-Kozubik K, Tichy B, et al. Detailed analysis of therapy-driven clonal evolution of TP53 mutations in chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia* 2015;29(4):877–885.
31. Nadeu F, Delgado J, Royo C, et al. Clinical impact of clonal and subclonal TP53, SF3B1, BIRC3, NOTCH1, and ATM mutations in chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2016;127(17):2122–2130.
32. Skowronska A, Parker A, Ahmed G, et al. Biallelic ATM inactivation significantly reduces survival in patients treated on the United Kingdom Leukemia Research Fund Chronic Lymphocytic Leukemia 4 trial. *J Clin Oncol* 2012;30(36):4524–4532.
33. Dicker F, Schnittger S, Haferlach T, et al. Immunostimulatory oligonucleotide-induced metaphase cytogenetics detect chromosomal aberrations in 80% of CLL patients: a study of 132 CLL cases with correlation to FISH, IgVH status, and CD38 expression. *Blood* 2006;108(9):3152–3160.
34. Haferlach C, Dicker F, Schnittger S, et al. Comprehensive genetic characterization of CLL: a study on 506 cases analysed with chromosome banding analysis, interphase FISH, IgVH status and immunophenotyping. *Leukemia* 2007;21(12):2442–2451.
35. Baliakas P, Jeromin S, Iskas M, et al. Cytogenetic complexity in chronic lymphocytic leukemia: definitions, associations with other biomarkers and clinical impact; a retrospective study on behalf of Eric. *Haematologica* 2017;102(s2):170.
36. Puiggros A, Collado R, Calasanz MJ, et al. Patients with chronic lymphocytic leukemia and complex karyotype show an adverse outcome even in absence of TP53/ATM FISH deletion. *Oncotarget* 2017;8:54297–54303.
37. Thompson PA, O'Brien SM, Wierda WG, et al. Complex karyotype is a stronger predictor than del(17p) for an inferior outcome in relapsed or refractory chronic lymphocytic leukemia patients treated with ibrutinib-based regimens. *Cancer* 2015;121:3612–3621.
38. Jaglowski SM, Ruppert AS, Heerema NA, et al. Complex karyotype predicts for inferior outcomes following reduced-intensity conditioning allogeneic transplant for chronic lymphocytic leukaemia. *Br J Haematol* 2012;159:82–87.

39. Baliakas P, Iskas M, Gardiner A, et al. Chromosomal translocations and karyotype complexity in chronic lymphocytic leukemia: A systematic reappraisal of classic cytogenetic data. *Am J Hematol* 2014;89:249–255.
40. Hernández-Sánchez M, Kotaskova J, Rodríguez AE, et al. CLL cells cumulate genetic aberrations prior to the first therapy even in outwardly inactive disease phase. *Leukemia*; publikováno elektronicky 12. září 2018; DOI: 10.1038/s41375-018-0255-1.
41. Quesada V, Conde L, Villamor N, et al. Exome sequencing identifies recurrent mutations of the splicing factor SF3B1 gene in chronic lymphocytic leukemia. *Nat Genet* 2011;44(1):47–52.
42. Oscier D, Rose-Zerilli MJ, Winkelmann N, et al. The clinical significance of *NOTCH1* and *SF3B1* mutations in the UK LRF CLL4 trial. *Blood* 2013;121:468–475.
43. Rossi D, Rasi S, Fabbri G, et al. Mutations of *NOTCH1* are an independent predictor of survival in chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2012;119(2):521–529.
44. Rossi D, Rasi S, Spina V, et al. Integrated mutational and cytogenetic analysis identifies new prognostic subgroups in chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2013;121(8):1403–1412.
45. Baliakas P, Hadzidimitriou A, Sutton LA, et al. Recurrent mutations refine prognosis in chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia* 2015;29(2):329–336.
46. Rawstron AC, Kreuzer KA, Soosapilla A, et al. Reproducible diagnosis of chronic lymphocytic leukemia by flow cytometry: an European Research Initiative on CLL (ERIC) & European Society for Clinical Cell Analysis (ESCCA) harmonisation project. *Cytometry B Clin Cytom* 2018;94(1):121–128.
47. Rawstron AC, Fazi C, Agathangelidis A, et al. A complementary role of multiparameter flow-cytometry and high-throughput sequencing for minimal residual disease (MRD) detection in chronic lymphocytic leukemia (CLL): An European research initiative on CLL (ERIC) study. *Leukemia* 2015;30(4):929–936.
48. Poppová L, Plevová K, Pospíšilová Š. Epigenetické změny jako nový nástroj pro prognostickou stratifikaci pacientů s chronickou lymfocytární leukémií. *Transfuzie Hematol dnes* 2017;23(4):210–214.
49. Landau DA, Carter SL, Stojanov P, et al. Evolution and impact of subclonal mutations in chronic lymphocytic leukemia. *Cell* 2013;152(4):714–726.
50. Pospíšilová S, Sutton LA, Malciková J, et al. Innovation in the prognostication of chronic lymphocytic leukemia: how far beyond TP53 gene analysis can we go? *Haematologica* 2016;101(3):263–265.
51. Tom N, Pardy F, Kotašková J, Plevová K, Pospíšilová Š. Základní bioinformatické pojmy a postupy využívané pro analýzu DNA pomocí sekvenování nové generace. *Transfuzie Hematol dnes* 2018;24(3):174–181.

#### Podíl autorů na přípravě rukopisu

ŠP, MJ, MD – příprava rukopisu

ŠP, MD – závěrečná kontrola rukopisu

#### Čestné prohlášení

Autoři práce prohlašují, že v souvislosti s tématem, vznikem a publikací tohoto článku nejsou ve střetu zájmů a vznik ani publikace článku nebyly podpořeny žádnou farmaceutickou firmou.

#### Poděkování

Práce byla podpořena grantovými projekty AZV MZ ČR 15-31834A-4/2015, AZV MZ ČR 15-30015A-4/2015 a EATRIS-CZ, reg.č. CZ.02.1.01/0.0/0.0/16\_013/000181 8 financovaného z EFRR.

*Doručeno do redakce dne 8. 10. 2018.*

*Přijato po recenzi dne 13. 11. 2018.*

#### prof. MUDr. Michael Doubek, Ph.D.

Interní hematologická a onkologická klinika  
LF MU a FN Brno  
Jihlavská 20  
625 00 Brno  
e-mail: doubek.michael@fnbrno.cz

# Ohlédnutí za čtvrtstoletím léčby chronické lymfocytární leukemie

Papajík T., Urbanová R., Turcsányi P.

Hemato-onkologická klinika FNOL a LF UP v FN Olomouci

*Transfuzie 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 stádiích 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  $^{32}\text{P}$ , celotělové ozařování, radioterapie cílená na thymus či extrakorporální ozařování 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 ( $\text{CnH}_{2n+1}$ ) 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 antimetaboličtých 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 synergický 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/m<sup>2</sup>) 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 uhníždění („*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 $\delta$ ). Důsledkem jeho působení je zastavení proliferaci nádorových lymfocytů, omezení jejich přežití, migrace a uhníždění („*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 modalilty, 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 venetoclaxem 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 imunoterapie 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 vidat 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, Brugiatielli 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

# Non-Hodgkinův lymfom v České republice

Trněný M.

I. interní klinika, Všeobecná fakultní nemocnice a LF UK v Praze

*Transfuzní Hematol. dnes, 25, 2019, No. 1, p. 81-86*

## SOUHRN

V článku je podán přehled vývoje v oblasti non-Hodgkinových lymfomů (NHL) v České republice (ČR) v uplynulých 30 letech. Incidence lymfomů má stoupající tendenci a dosahuje nyní 14,4 nových případů na 100.000 obyvatel. Mortalita začala od roku 2001 klesat a v současné době je 5,4 na 100.000 obyvatel. Za posledních 15 let došlo zavedením imunochemoterapie ke snížení rizika úmrtí zhruba o 40 % u B NHL. Mezi důvody jsou zlepšená diagnostika, zavedení cílené imunoterapie, resp. imunochemoterapie, transplantační léčba, zlepšující se organizace péče, národní i mezinárodní spolupráce reprezentovaná Kooperativní lymfomovou skupinou. Základním nedostatkem je stále podfinancování této péče.

## KLÍČOVÁ SLOVA

non-Hodgkinův lymfom – Česká republika

## SUMMARY

Trněný M.

### Non-Hodgkin lymphomas in the Czech Republic

This article presents a review of the developments in the diagnosis and treatment of non-Hodgkin lymphomas (NHL) in the Czech Republic over the past 30 years. The incidence of lymphomas is on the increase and currently corresponds to 14.4 new cases per 100 000 inhabitants. Mortality has been on the decrease since 2001 and is currently 5.4 per 100 000 inhabitants. The past 15 years have seen the introduction of immunochemotherapy and the subsequent decrease of risk of mortality by 40% in B-NHL. The reasons for this include improved diagnostics; the introduction of targeted immune therapy or immunochemotherapy; transplantation; improving organisation of care as well as national and international collaboration represented by the Czech Cooperative Lymphoma Group. However, the basic drawback remains insufficient funding.

## KEY WORDS

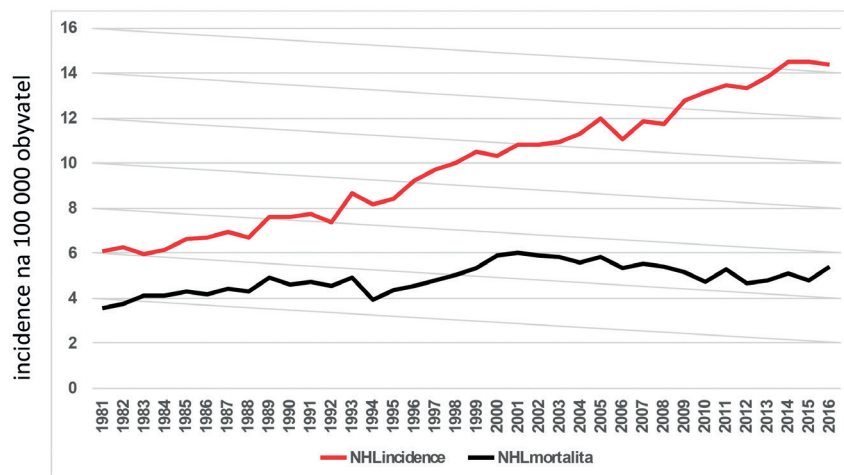
non-Hodgkin lymphoma – Czech Republic

Non-Hodgkinův lymfom (NHL) je vysoce heterogenní onemocnění. Máme-li se ohlédnout zpět za posledními 25 lety, je nutné připomenout několik základních změn, které se v oblasti lymfomů udály obecně. Rozvoj monoklonálních protilátek, jejich přínos k definici jednotlivých podskupin lymfoproliferativních malignit vedl k návrhu revidované evropsko-americké klasifikace lymfomů (REAL) [1]. Tento návrh se stal základem WHO klasifikace publikované v roce 2001 a v dalších upravených vydáních v letech 2008 a 2017 [2, 3].

Další zásadní změnou v oblasti NHL bylo zavedení monoklonálních protilátek do terapie, jednalo se zejména o zavedení rituximabu, chimerické antiCD20 IgG1 protilátky typu I, která byla poprvé použita v roce 1994, na základě studie z roku 1998 byla schválena

k použití u folikulárního lymfomu (FL) a v tomtéž roce jsme měli možnost ji použít u prvního pacienta v ČR [4,5]. Následovalo schválení pro použití v kombinaci s chemoterapií (R-CHOP) pro nejčastější podtyp lymfomu – difuzní velkobuněčný lymfom z B buněk (DLBCL) po studii prezentované v roce 2000 a publikované v roce 2002 [6, 7]. Další změnou, která výrazně ovlivnila způsob hodnocení léčebné odpovědi, bylo zavedení celotělové pozitronové emisní tomografie (PET) s radionuklidem značenou glukózou <sup>18</sup>F<sub>2</sub>FDG. Zavedení této metody změnilo mezinárodní pravidla pro hodnocení odpovědi z roku 1999 založená pouze na počítačové tomografii (CT) již dvakrát, a to v roce 2007 a 2014, kdy byla přijata tzv. Luganská klasifikace pro úvodní stážování a hodnocení klinické odpovědi u maligních lymfomů [8-11].

TRNĚNÝ M.



Obr. 1. Vývoj incidence a mortality nemocných s non-Hodgkinovým lymfomem v ČR v čase

V neposlední řadě je nutné zmínit rozvoj transplantační terapie, ať již vysokodávkované terapie s autologní transplantací (ASCT) nebo alogenní transplantaci krvetvorných buněk (aloSCT), který nastal od první poloviny 90. let. V roce 2000 byla publikována první práce charakterizující DLBCL na základě genové exprese, postupně bylo zavedeno sekvenování nové generace a další molekulárně biologické metody, které vedou ke stále lepšímu pochopení mechanismů důležitých pro lymfomovou buňku či její mikroprostředí a interakci s imunitním systémem [12]. Tyto poznatky umožňují zavádění nové cílené terapie, která je testována (a zaváděna) s cílem dále zlepšit osud nemocných.

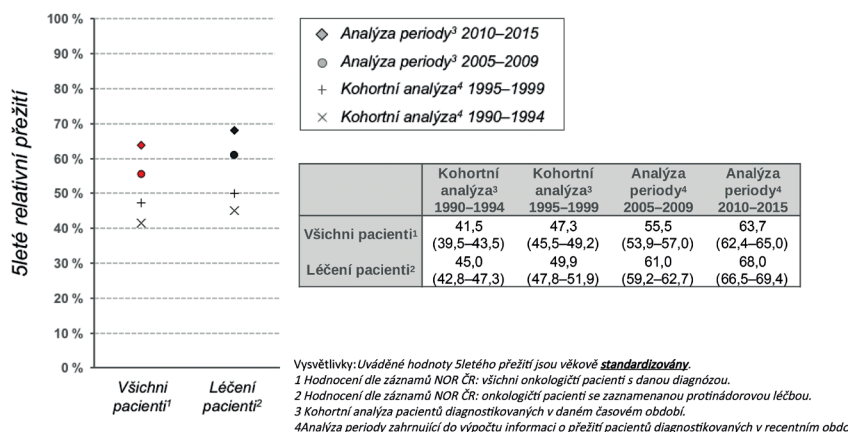
Zmapování vývoje znalostí a způsobu péče u nemocných s maligními lymfomy v ČR je nutné provést v rámci vymezeném výše velmi zjednodušeně uvedenými hlavními změnami v oblasti lymfomů. V ČR sehrály roli i organizační faktory, jakými bylo například v první polovině 90. let ustanovení center intenzivní hematologické péče v univerzitních (fakultních) nemocnicích, kde byl rozvíjen transplantační program. Založení Kooperativní lymfomové skupiny (Czech Lymphoma Study Group - CLSG, www.lymphoma.cz) v roce 1999 sehrálo velmi důležitou roli v rozvoji spolupráce a také v získávání dat, která mohla být použita při jednání s organizátory, regulátory a plátcí zdravotní péče.

V roce 2016 bylo v Česku diagnostikováno 1510 nových případů NHL, což představuje incidenci 14,4 na 100

000 obyvatel [13]. Pokud bychom přičetli nové případy s Hodgkinovým lymfomem, chronickou lymfocytární leukemií (společná jednotka s lymfomem z malých lymfocytů) a akutní lymfoblastovou leukemií (společná jednotka s lymfoblastovým lymfomem), bylo v Česku v roce 2016 diagnostikováno celkem 2 465 nových případů, což představuje situaci, kdy každé 3,5 hodiny je diagnostikován jeden nový pacient. Incidence a mortalita NHL v čase narůstá, jak ukazuje obrázek 1. Jestliže v roce 1981 byla incidence 6,1, v roce 2001 10,8 a v roce 2016 to je 14,4. Zároveň do roku 2001 narůstala mortalita z 3,6 (v roce 1981) na 6,0 (v roce 2001).

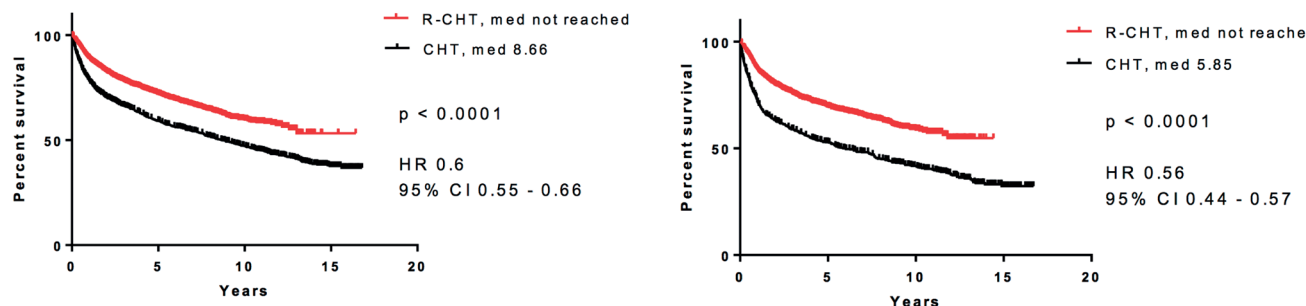
Od té doby začala mortalita klesat a s malými výkyvy se v posledních 4 letech pohybuje kolem 5 (2013 - 4,8; 2014 - 5,1; 2015 - 4,8; 2016 - 5,4).

Vysvětlení tohoto vývoje může být celá řada. Zdá se, že se na něm podílí zavedení rituximabu, který po 30 letech od zahájení léčby pomocí kombinované chemoterapie CHOP (první polovina 70. let) zlepšil celkové přežití nemocných. Více než 95 % nemocných má totiž lymfoproliferativní nádor vycházející z B lymfocytů a tudíž senzitivní k léčbě rituximabem. V průběhu let se výrazně zlepšilo pětileté relativní přežití nemocných, jak ukázala recentní analýza, když u nemocných léčených v letech 1990-1994 bylo pětileté relativní přežití 45 %, zatímco v letech 2010-2015 to bylo již 68 % (obr. 2) [14]. Při analýze jednotlivých podtypů B NHL bylo ukázano, že zavedením rituximabu výrazně kleslo riziko



citace: Dusek L et al, Edukační přednáška na 1.sjezdu CHS 2018, Transfuzie Hematol dnes 2018;24(Supl 2a):5-8.

Obr. 2. Vývoj pětiletého relativního přežití (%) nemocných s non-Hodgkinovým lymfomem v ČR



**Obr. 3.** Pravděpodobnost přežití u nemocných léčených imunoterapií (rituximab + chemoterapie) proti nemocným léčeným pouze chemoterapií  
 A: B-buněčný non-Hodgkinův lymfom (n = 543)  
 B: difúzní velkobuněčný lymfom (n = 4 187)

**Tab. 1.** Relativní snížení rizika úmrtí (OS) či progresse nebo úmrtí (PFS) pacientů léčených kombinací rituximabu s chemoterapií proti samotné chemoterapii

| B-NHL [%]                               | DLBCL [%] | FL [%] | SLL [%] | MCL | [%] |
|---|-----------|--------|---------|-----|-----|
| Snížení rizika úmrtí (OS)               | -40       | -34    | -24     | -40 | -33 |
| Snížení rizika progresse či úmrtí (PFS) | -40       | -35    | -40     | -47 | -66 |

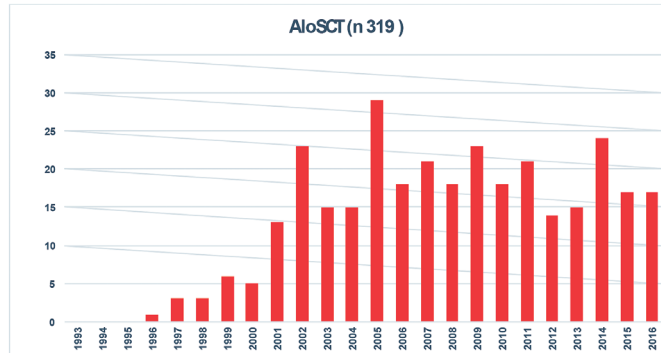
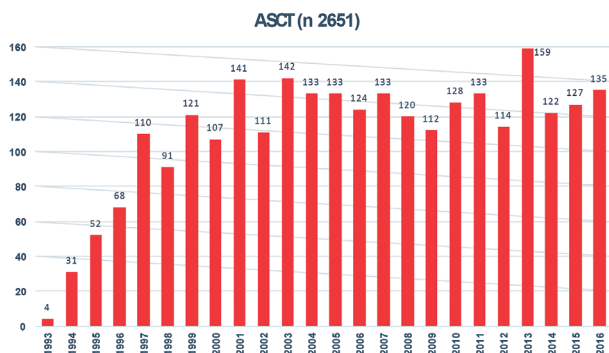
Poznámky: B-NHL – B-buněčný non-Hodgkinův lymfom, DLBCL – difúzní velkobuněčný lymfom z B-lymfocytů, FL – folikulární lymfom, SLL – lymfom z malých lymfocytů, MCL – lymfom z pláštěvých buněk

úmrtí, resp. úmrtí či progresse jak u celé skupiny B NHL (-40 %), tak u největších podskupin B NHL, jako jsou DLBCL (-34 %, resp. -35 %), FL (-24%, resp. -40 %), SLL (-40 %, resp. -47%) nebo MCL (-33% resp. -66%) – tabulka 1 [15]. Výsledky jsou také částečně demonstrovány na obrázku 3, který ukazuje srovnání křivek celkového přežití nemocných s B NHL a DLBCL. Je zajímavé, že došlo také k trendu ve zlepšení celkového přežití u nemocných s T buněčnými lymfomy (o 18 %), přestože nebylo

statisticky významné. To ukazuje, že i další faktory, jako je celková kvalita péče, její organizace, spolupráce mezi regionálními a univerzitními pracovišti, mají dopad na léčebné výsledky u pacientů.

Systematický transplantační program v ČR byl založen v roce 1986 v Ústavu hematologie a krevní transfuze a od počátku 90. let se rozvíjel i na dalších pracovištích.

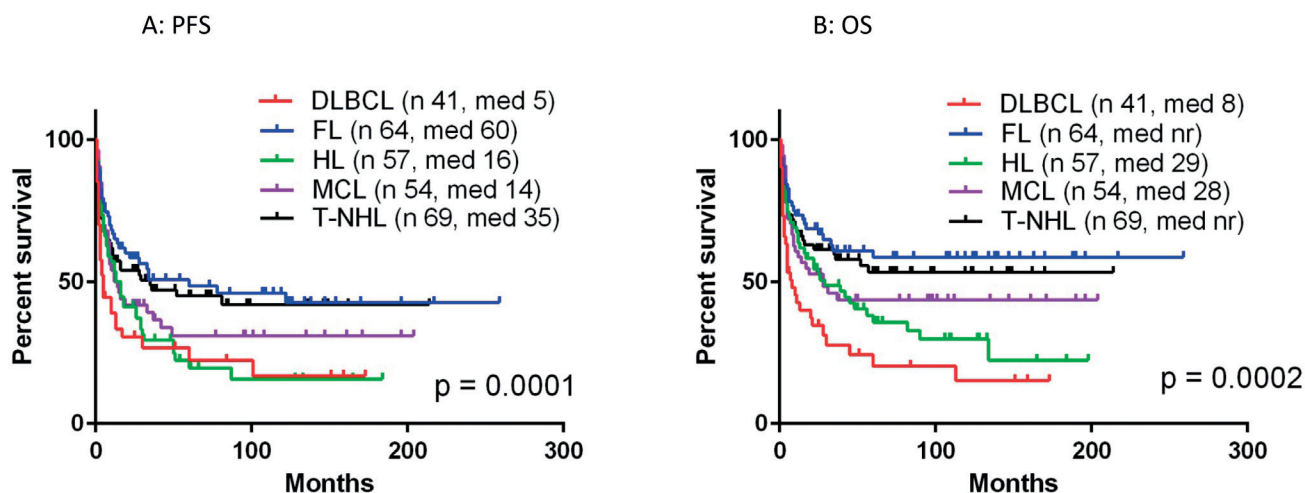
Data sbíraná centrálně v národním registru provedených transplantací křetvorných buněk na I. interní klinice VFN a 1. LF UK Praha od roku 1993 (součást EBMT registru) ukazují postupný nárůst počtu transplantací jak ASCT, tak aloSCT, kdy zhruba od roku 1999 se počet provedených ASCT pro lymfomy pohybuje kolem 120 za rok a od roku 2002 kolísá počet provedených aloSCT mezi 15–20 za rok (obr. 4) [16]. Postupem doby se měnily indikace pro ASCT, kdy poklesl počet nemocných s Hodgkinovým lymfomem a DLBCL, na-



Poznámky: ASCT – autologní transplantace křetvorných buněk, AloSCT – alogenní transplantace křetvorných buněk

**Obr. 4.** Vývoj počtu transplantací pro lymfomy v ČR od roku 1993 do roku 2016

TRNĚNÝ M.



**Obr. 5.** Výsledky aloSCT pro jednotlivé typy lymfomů  
 A: doba do progresu či úmrtí (PFS)  
 B: celkové přežití (OS)

opak postupně vzrůstá počet nemocných s periferními T lymfomy (PTCL) a MCL. Výsledky aloSCT se významně liší pro jednotlivé podtypy lymfomů, kdy nejlepší jsou dosahovány u T lymfomů a FL, neuspokojivé jsou stále u DLBCL a HL (obr. 5). Postupně se výrazně zvýšil věkový medián transplantovaných nemocných ze 41 let v 90. letech na 55 let v době od roku 2010 u ASCT a ze 42 na 47 let u aloSCT.

V posledních deseti letech jsme svědky nástupu celé řady nových léků cílených na nitrobuňčné pochody (ibrutinib, idelalisib, copanlisib, venetoclax, inhibitory histondeacetyláz - HDAC inhibitory, epigenetická terapie - tazemetostat a další), cílené radioterapie (radioimunoterapie ibrutinomab tiuxetan), cílené chemoterapie (konjugáty cytostatika s protilátkou (brentuximab vedotin, polatuzumab vedotin)). Využívají se léky cílené jak na nádorovou buňku, tak na imunitní systém (lenalidomid a další), léky ovlivňující imunitní systém, jako jsou nové modifikované protilátky (obinutuzumab, ublituximab, MOR208 a další), bispecifické protilátky (blinatumomab a další), inhibitory kontrolních imunitních bodů (nivolumab, pembrolizumab), terapie pomocí geneticky modifikovaných T lymfocytů exprimujících tzv. CAR - chimerické antigenní receptory [17-19]. Dopad těchto

nových léků nebude tak výrazný na celou populaci lymfomů, bude spíše cílený na jednotlivé podtypy lymfomů, kterých je celkem více než sedmdesát, a tam může sehrát významnou roli. Jejich dostupnost je však v ČR limitovaná a úhradu získávají velmi pomalu a je nutné tuto situaci řešit. V řadě center však s těmito léky probíhají klinické studie.

Jak již bylo uvedeno výše, výraznou měrou se na postupném zlepšování výsledků na poli lymfomů jak léčebných, tak vědeckých podílí Kooperativní lymfomová skupina (CLSG, obr. 6). Prakticky od počátku svého založení vydává léčebná doporučení pro diagnostiku a léčbu lymfomů, v roce 2018 to byla již 10. aktualizova-



**Obr. 6.** Fotografie z posledního setkání Kooperativní lymfomové skupiny v roce 2018

ná verze [20]. Podporuje vzdělávání v oblasti lymfomů, výměnu informací. Velmi důležitou součástí je práce na poli prospektivního sběru dat, která se postupně transformovala do projektu NiHiL (GovTrial: NCT03199066), v jehož rámci jsou analyzována prospektivně sbíraná data pro jednotlivé typy lymfomů, a výstupem je celá řada prezentovaných a publikovaných výsledků. Kromě již zmíněných jmenujme alespoň za poslední rok jen výběrem analýzu incidence transformace u nemocných s FL a jejich osud [21], význam udržovací terapie rituximabem u starších nemocných s folikulárním lymfomem [22], význam udržovací terapie rituximabem u nemocných s lymfomem z pláštových buněk [23], osud mladších nemocných s lymfomem z pláštových buněk léčených vysoce intenzivní terapií s ASCT a udržovacím podáváním rituximabu [24]. Z prospektivních studií byly publikovány výsledky ukazující možnost léčby alternujícím režimem R-CHOP a R-„high dose“ Ara-C u starších nemocných s MCL [25] a také mění se význam minimální reziduální choroby v kontextu udržovací terapie [26].

V oblasti péče o pacienty je nutné zmínit velmi úspěšně se rozvíjející spolupráci s patientským sdružením LymfomHelp (www.lymfomhelp.cz). Účast lékařů na akcích této patientské organizace, vzájemná spolupráce v oblasti dostupnosti nových léků a v dalších oblastech je velmi dobře kvitována.

Existuje však také výrazný rozvoj práce v oblasti experimentální, ať již na úrovni molekulárně biologické zabývající se např. významem mir150 a FOXP1 v transformaci folikulárních lymfomů [27], významem mutace TP53 a komplexního karyotypu u MCL [28], či preklinických myších modelů derivovaných xenotransplantací z pacientů (PDX; „patient-derived xenograft“) z pro testování nových léčebných postupů [29, 30].

Kromě spolupráce na úrovni národní bylo v posledních 25 letech dosaženo i významného pokroku na úrovni mezinárodní spolupráce, ať již v rámci European Mantle Cell Lymphoma Network, rozvíjející se spolupráce na úrovni Lymphoma Scientific Study Group EHA, bilaterální spolupráce s dalšími lymfomovými skupinami – francouzská LYSA, italská FIL, německá GLA a další.

Celkově lze shrnout, že v posledních 25 letech došlo k výraznému zlepšení jak v oblasti péče o nemocné s lymfomy, tak v oblasti klinického i preklinického výzkumu a vzájemné spolupráce. Díky za to patří všem spolupracujícím centrům, lékařům, vysokoškolákům, ošetrovatelským týmům, vědeckým pracovníkům a v neposlední řadě pacientům a jejich rodinám.

## LITERATURA

- Harris NL, Jaffe ES, Stein H, et al. A revised European-American classification of lymphoid neoplasms: a proposal from the International Lymphoma Study Group. *Blood* 1994;84:1361–1392.
- Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, et al. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. Lyon, IARC 2008.
- Swerdlow AJ, Campo E, Harris NL, et al. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues, Revised 4th Edition. Lyon, IARC 2017.
- Maloney DG, Liles TM, Czerwinski DK, et al. Phase I clinical trial using escalating single-dose infusion of chimeric anti-CD20 monoclonal antibody (IDEC-C2B8) in patients with recurrent B-cell lymphoma. *Blood* 1994;84:2457–2466.
- McLaughlin P, Grillo L, Link BK, et al. Rituximab chimeric anti-CD20 monoclonal antibody therapy for relapsed indolent lymphoma: half of patients respond to a four-dose treatment program. *J Clin Oncol* 1998;16:2825–2833.
- Coiffier B, Lepage E, Herbret R, et al. MabThera (rituximab) plus CHOP is superior to CHOP alone in elderly patients with diffuse large B-cell lymphoma (DLCL): Interim results of a randomized GELA trial. *Blood* 2000;96(Suppl 1):950.
- Coiffier B, Lepage E, Briere J, et al. CHOP chemotherapy plus rituximab compared with CHOP alone in elderly patients with diffuse large-B-cell lymphoma. *N Engl J Med* 2002;346:235–242.
- Cheson BD, Horning SJ, Coiffier B, et al. Report of an international workshop to standardize response criteria for non-Hodgkin's lymphomas. NCI Sponsored International Working Group. *J Clin Oncol* 1999;17(4):1244.
- Juweid ME, Stroobants S, Hoekstra OS, et al. Use of positron emission tomography for response assessment of lymphoma: consensus of the imaging subcommittee of international harmonization project in lymphoma. *J Clin Oncol* 2007;25(5):571–578.
- Cheson BD, Pfistner B, Juweid ME, et al. Revised response criteria for malignant lymphoma. *J Clin Oncol* 2007;25:579–586.
- Cheson BD, Fisher RI, Barrington SF, et al. Recommendations for initial evaluation, staging, and response assessment of Hodgkin and non-Hodgkin lymphoma: the Lugano classification. *J Clin Oncol* 2014;32:3059–3067.
- Alizadeh AA, Eisen MB, Davis RE, et al. Distinct types of diffuse large B-cell lymphoma identified by gene expression profiling. *Nature* 2000;403:503–511.
- UZIS: Novotvary 2016 v ČR. Dostupné na: <https://www.uzis.cz/katalog/zdravotnicka-statistika/novotvary>.
- Dušek L, Krejčí D, Mužík J, Jarkovský J, Pavlík T, Brabec P. Hematologické malignity v české populaci: aktuální epidemiologické trendy, predikce vývoje a jejich dopad do úhrad zdravotní péče. *Transfuzie Hematol dnes* 2018;24(Supl 2a):5–8.
- Trnny M, Campr V, Janikova A, et al. The improving outcome of non-Hodgkin lymphoma (NHL) within 15 years period – real world data of national-wide lymphoma project. *Haematologica* 2016;101:479–480.

## TRNĚNÝ M.

16. Konirova E, Vitek A, Krejci M, et al. Vývoj transplantací pro lymfomy v České republice. *Transfuzie Hematol dnes* 2018;24(Supl 2b):30.
17. Younes A, Ansell S, Fowler N, et al. The landscape of new drugs in lymphoma. *Nat Rev Clin Oncol* 2017;14:335–346.
18. Shuster 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.
19. 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.
20. Belada D, Trněný M, et al. Kooperativní lymfomové skupiny. Diagnostické a léčebné postupy u nemocných s maligními lymfomy X. vydání, dostupné na: [https://www.lymphoma.cz/assets/pdf/KLS\\_guidelines\\_10\\_2018.pdf](https://www.lymphoma.cz/assets/pdf/KLS_guidelines_10_2018.pdf).
21. Janikova A, Bortlicek Z, Camp V, et al. The incidence of biopsy-proven transformation in follicular lymphoma in the rituximab era. A retrospective analysis from the Czech Lymphoma Study Group (CLSG) database. *Ann Hematol* 2018;97:669–678.
22. Belada D, Prochazka V, Janikova A, et al. The influence of maintenance therapy of rituximab on the survival of elderly patients with follicular lymphoma. A retrospective analysis from the database of the Czech Lymphoma Study Group. *Leuk Res* 2018;73:29–38.
23. Obr A, Prochazka V, Papajik T, et al. Maintenance rituximab in newly diagnosed mantle cell lymphoma patients: a real world analysis from the Czech Lymphoma Study Group registry. *Leuk Lymphoma* 2018; publikováno elektronicky 6. září 2018. DOI: 10.1080/10428194.2018.1508672.
24. Klener PJ, Salek D, Pytlik R, et al. Rituximab maintenance significantly prolongs progression-free survival of patients with newly diagnosed mantle cell lymphoma treated with the Nordic MCL2 protocol and autologous stem cell transplantation. *Am J Hematol*; publikováno elektronicky 13. prosince 2018. DOI: 10.1002/ajh.25362.
25. Klener P, Fronkova E, Belada D, et al. Alternating R-CHOP and R-cytarabine is a safe and effective regimen for transplant-ineligible patients with a newly diagnosed mantle cell lymphoma. *Hematol Oncol* 2018;36:110–115.
26. Klener P, Fronkova E, Kalinova M, et al. Potential loss of prognostic significance of minimal residual disease assessment after R-CHOP based induction in elderly patients with mantle cell lymphoma in the era of rituximab maintenance. *Hematol Oncol* 2018;36(1):110–115.
27. Musilova K, Devan J, Cerna K, et al. miR-150 downregulation contributes to the high-grade transformation of follicular lymphoma by upregulating FOXP1 levels. *Blood* 2018;132:2389–2400.
28. Obr A, Prochazka V, Jirkuvova A, et al. TP53 mutation and complex karyotype portends a dismal prognosis in patients with mantle cell lymphoma. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk* 2018;18:762–768.
29. Klener PJ, Trněný M, Andera L, et al. Co-targeting of BCL2 with venetoclax and MCL1 with S63845 is synthetically lethal in vivo in relapsed refractory mantle cell lymphoma with complex karyotype changes. *Blood* 2018;132:42.
30. Etrych T, Daumova L, Pokorna E, et al. Effective doxorubicin-based nano-therapeutics for simultaneous malignant lymphoma treatment and lymphoma growth imaging. *J Control Release* 2018;289:44–55.

**Čestné prohlášení**

Autor práce prohlašuje, že v souvislosti s tématem, vznikem a publikací tohoto článku není ve střetu zájmů a vznik ani publikace článku nebyly podpořeny žádnou farmaceutickou firmou.

*Doručeno do redakce dne 26. 11. 2018.*

*Přijato po recenzi dne 29. 1. 2019.*

**prof. MUDr. Marek Trněný, CSc.**

I. interní klinika  
Všeobecná fakultní nemocnice  
U Nemocnice 2  
128 08 Praha 2  
e-mail: trneny@cesnet.cz

# Hodgkinův lymfom – nekončící příběh

**Marková J.**

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

*Transfuzní Hematol. dnes, 25, 2019, No. 1, p. 87-95*

## SOUHRN

Hodgkinův lymfom (HL) je relativně vzácné nádorové onemocnění lymfatické tkáně. Tvoří pouze 0,5 % všech malignit, incidence je 2,9 osob/100 000 obyvatel. V průmyslově vyspělých zemích má výskyt typickou dvouvrcholovou křivku: nejvíce postihuje mladé lidi (věk 70 % pacientů je v době diagnózy 20–35 let), druhý vzestup počtu onemocnění je ve věku nad šedesát let, častěji onemocní muži (3 : 2). V anamnéze mají pacienti často infekční mononukleózu, autoimunitní onemocnění nebo imunosupresi. Význam mají pravděpodobně i genetické faktory (rodinný výskyt). V současné době je HL jedno z nejlépe léčitelných hemato-onkologických onemocnění. Za úspěchy stojí nezměrné a finančně náročné úsilí světových hemato-onkologických center. Dlouhodobé remise dosahuje (podle stadia a rizikových faktorů) 85–95 % pacientů, jejich životní naděje je v současné době více než 40 let. Do popředí však začaly vystupovat pozdní následky léčby, především kardiotoxicita a sekundární malignity. Současné cíle výzkumu HL se koncentrují do dvou směrů: snížit výskyt pozdních následků u vyléčených pacientů (snížit intenzitu chemoterapie, dávku a rozsah radioterapie) při zachování výborné účinnosti primární léčby. Zdůrazněn je význam pozitronové emisní tomografie (PET). Druhým cílem je zvrátit tragický osud pacientů s relabujícím a refrakterním HL (RR HL). Mimo radioterapie a chemoterapie nabývají významu nové léky na bázi imunoterapie, brentuximab vedotin (BV; „anti-drug-conjugate“) a tzv. „check-point“ inhibitory (CPI; anti PD1 – nivolumab a pembrolizumb).

## KLÍČOVÁ SLOVA

Hodgkinův lymfom – chemoterapie – radioterapie – refrakterní/relabující Hodgkinův lymfom – brentuximab vedotin – „check-point“ inhibitory – anti PD1

## SUMMARY

**Marková J.**

### Hodgkin lymphoma – endless story

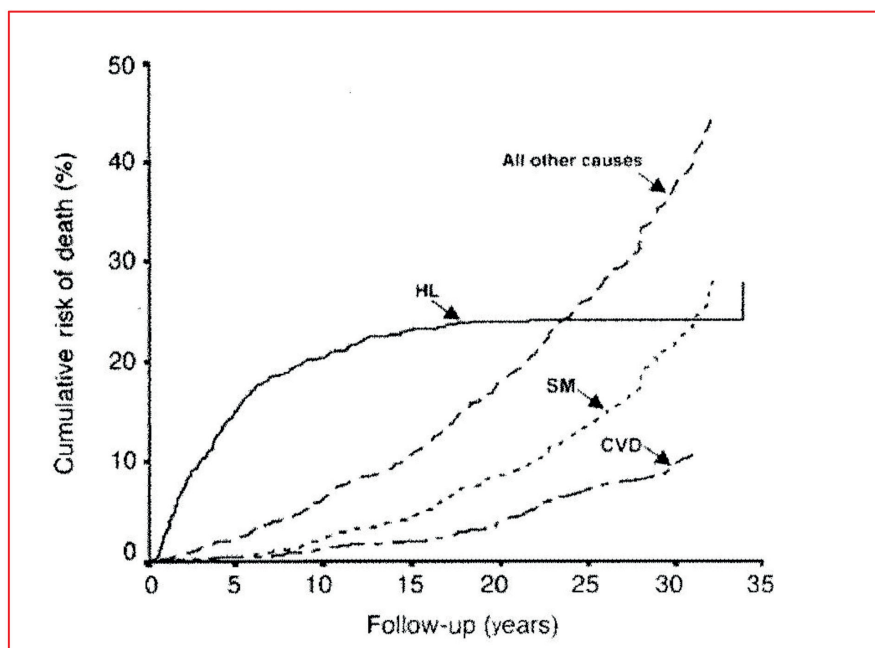
Hodgkin lymphoma (HL) is a relatively rare malignant disease of lymphatic tissue. It accounts for only 0.5% of all cancer cases with an incidence of 2.9 cases per 100 000 of men and women per year. The typical curve of incidence has 2 peaks in developed industrial countries: young people are most frequently affected (age at diagnosis is 20–35 years in 70% of patients); the second peak of the disease is at the age over 60 years, more frequently in men (3:2). Medical history frequently includes infectious mononucleosis, autoimmune diseases and immunosuppression. Genetic factors (familial occurrence) have probably additional impact on the disease. Currently, HL is a malignant disease with the highest rate of curability. This success was achieved by is due to immeasurable and financially demanding efforts of haemato-oncological centres worldwide. Long-lasting remissions are achieved (according to the clinical stage and risk factors) in 85–95% of patients and their life expectancy is currently more than 40 years. Late effects of treatment are coming to the fore, especially cardiotoxicity and secondary malignancies. Current research is focused on two goals: reduction of late effects in cured patients (by reducing chemotherapy intensity and by reducing radiotherapy dose and extent) while maintaining excellent efficacy of first-line treatment: positron emission tomography (PET) plays a central role in this effort. The second goal is to rescue the otherwise tragic fate of patients with relapsed/refractory HL (RR HL). New drugs based on immunotherapy such as brentuximab vedotin- an antibody-drug conjugate and anti-PD1 check-point inhibitors (nivolumab and pembrolizumab) are increasing in importance alongside conventional chemotherapy and radiotherapy.

## KEY WORDS

Hodgkin lymphoma – chemotherapy – radiotherapy – refractory/relapsed Hodgkin lymphoma – brentuximab vedotin – check-point inhibitors– anti-PD1

## ÚVOD

V roce 1832 publikoval v Londýně v časopisu *Medico-Chirurgical Transactions* patolog Thomas Hodgkin práci s názvem „*On Some Morbid Appearances of the Absorbent Glands and Spleen*“. Popsal sekční nález u sedmi pacientů se zvětšenými uzlinami a obrovskou slezinou [1]. V roce 1865 Samuel Wilks učinil podobná pozorování a nazval toto onemocnění Hodgkinovou chorobou [2].



**Graf 1.** Příčiny úmrtí pacientů s HL [8, 9]

Upraveno podle [8].

CVD – kardiovaskulární onemocnění, SM – sekundární malignity, HL – Hodgkinův lymfom. Na HL umírají pacienti prvních 10 let, později na kardiovaskulární onemocnění a sekundární malignity.

Až v roce 1994 se podařilo rozluštit 160 let starou otázku – je Hodgkinova choroba infekce, zánět nebo maligní nádor? Ralf Küppers prokázal, že patognomické Hodgkinovy/Reedové–Sterbergovy buňky (HRS buňky) jsou původem monoklonální B-lymfocyty germinálních center a označil Hodgkinovu chorobu za Hodgkinův lymfom (HL) [3].

HL je charakterizovaný výjimečnou histologií s minimem nádorových buněk (0,5–1 %). HRS buňky jsou těsně obklopené nenádorovými buňkami lymfatické

uzliny. Mikroprostředí je tvořeno reaktivními zánětlivými/imunogenními buňkami s možností vzájemné interakce (cytokiny, signální síť) [4].

HRS buňky se *in vitro* obtížně kultivují. Poznatky o biologii HRS buněk byly získány díky první buněčné línii (German Hodgkin Study Group – GHSG) [5]. S detekcí CD30 antigenu HRS buněk se otevřely nové možnosti cílené léčby. V USA byl vyvinut brentuximab vedotin

(BV), což je konjugát monoklonální protilátky anti CD30 s toxickou látkou monomethyl auristatin E (ADC – „*antibody drug conjugate*“) [6]. Dalším nadějným lékem na bázi imunoterapie jsou PD-1 inhibitory („*check-point*“ inhibitory, CPI) [7].

Výzkum velkých světových center je zaměřen na snížení pozdních následků léčby (především kardiotoxicitu a sekundární malignity), které zvyšují morbiditu a mortalitu vyléčených pacientů [8, 9] – graf 1. Zdůrazňována je snaha o maximálně účinnou přísně cílenou léčbu s minimálními vedlejšími toxicitami (akutními i dlouhodobými). Budoucnost ukáže, jaký bude výskyt pozdních následků u pacientů léčených současnou moderní léčbou.

Dalším cílem výzkumů je zlepšení tragického osudu opakovaně relabujících a k léčbě rezistentních pacientů (R/R HL) [10].

Od poloviny 90. let minulého století strategií léčby HL v České republice nejvíce ovlivnila GHSG, vedená univerzitou v Kolíně nad Rýnem, v čele s profesorem Volkerem Diehlem, později profesorem Andreasem Engertem. Od roku 1995 naše centra zařazovala pacienty do aktuálních studií (Interní hematologická klinika FN Královské Vinohrady Praha, Interní hematologická a onkologická klinika FN Brno). Aktivně jsme se účastnili studií pro pokročilá stadia: HD9, HD12, HD15, HD18; pro intermediární stadia: HD8, HD11, HD14; pro počáteční stadia: HD7, HD10, HD13; studie PVAG pro starší pacienty

**Tab. 1.** GHSG – úspěchy první linie léčby, Borchmann, [12, 13, 14]

| Stadia HL     | Studie | Chemoterapie        | Radioterapie          | PFS 5 let % | OS 5 let % |
|---------------|--------|---------------------|-----------------------|-------------|------------|
| Časná         | HD10   | 2 x ABVD            | 20 Gy IF              | 91,6        | 96,6       |
| Intermediární | HD14   | 2 x eBEA + 2 x ABVD | 30 Gy IF              | 95,4        | 97,2       |
| Pokročilá     | HD18   | 6 x eBEA            | 30 Gy jen PET + rezid | 92,2        | 96,2       |

a studie recidiv HD-R2. Díky tomu jsme spoluautory mnoha publikací v prestižních časopisech [11–17].

**Poznámka:** Článek se zabývá převážně klasickým Hodgkinovým lymfomem (cHL), NLPHL (nodulární lymfocytárně predominantní HL), kterého je přibližně jen 5 %, krátce zmiňujeme.

Tabulka 1 zachycuje úspěchy první linie léčby GHSG, [12–14]

### Kontraverze v léčbě HL

Přes úspěchy v léčbě HL není zcela shoda, jak nejlépe léčit pacienty s různě pokročilým onemocněním. Mají se pacienti s počátečními stadii HL léčit chemoterapií a radioterapií, anebo je dostatečná jen chemoterapie? Jaká je správná léčba první linie u pokročilých stadií HL? Vzhledem k naší 25 let trvající spolupráci s GHSG budeme především zmiňovat strategie evropských skupin; GHSG a EORTC (European Organisation for Research and Treatment of Cancer).

### VÝZNAM PET

HL silně akumuluje radiofarmakum fluorodeoxyglukózu (FDG), je výrazně FDG avidní (v metabolicky aktivní tkáni se glukóza s navázaným izotopem rychle spotřebovává). Pomocí PET je možno u HL na rozdíl od ostatních zobrazovacích metod (např. CT) prokázat aktivní nádorovou tkáň. Při iniciačním vyšetření (stanovení rozsahu nemoci, „staging“) není již potřeba provádět trepanobiopsie (histologické vyšetření kostní dřevě). PET spolehlivěji prokáže ložiskovité léze nádoru v kostní dřevě [18]. Léčba HL je přísně adaptovaná na rozsah tumoru, stanovený stadiem a rizikovými faktory, které jsou jasně definované [19]. Metoda stanovení celkového metabolického volumu nádorové masy TMTV („total metabolic tumor volume“) pomocí PET je přesnější, zejména při stanovení intermediárního stadia, ale není zatím v praxi zcela běžná [20, 21].

GHSG a EORTC rozlišuje tři terapeutické skupiny: GHSG časná, intermediální a pokročilá stadia, EORTC časná stadia příznivá („early favorable“) a časná stadia nepříznivá („early unfavorable“) a pokročilá stadia [22].

PET je významný nejen pro stanovení strategie chemoterapie, ale i pro přesnou navigaci **radioterapie (RT)**. Důležitý je při plánování co nejmenších objemů ozařovacího pole: **IS RT** („involved side“), **IN RT** („involved node“). V souvislosti s RT HL se hovoří o výhodách protonové radioterapie, zvláště při nutnosti ozařování mediastina u mladých pacientů. Protonová RT je stejně tumoricidní jako klasická RT (fotonová). Při protonové RT je svazek protonů koncentrovaný do úzkého svazku („pencil beam scanning“), který přesně vykreslí ozařované pole. Vzhledem k přesnosti se minimalizuje ozáření plic, myokardu a míchy [23–26].

### „PET response“ studie

Výsledek časně provedeného PET (průběžný, „interim“), většinou po dvou cyklech chemoterapie, určuje další intenzitu léčby. „Interim PET“ dokumentuje odpověď nádoru na terapii [24–26]. Semikvantitativní hodnocení efektu léčby pomocí PET používá termín DS (Deauville skóre, 5stupňová škála aktivity fluorodeoxyglukózy – FDG\*). \*Poznámka: aktivita FDG: DS1, menší než mediastinální pool. DS2, stejná jako mediastinální pool. DS3, větší než mediastinální pool a menší nebo stejná jako jaterní pool. DS4, větší než jaterní pool – pozitivní. DS5, ještě silnější než 4, značí progresi [26]. Jako PET negativní byl iniciačně označován DS1 a 2. DS3 byl považován za pozitivní (u studií plánovaných více než před 10 lety). Bylo zjištěno, že pacienti s DS3 mají stejně dobrou prognózu jako DS1,2. Nyní je proto DS1–3 považováno za negativní a pozitivní je až DS4 (viz závěry **11. International Symposium on Hodgkin Lymphoma (ISHL) v Kolíně nad Rýnem v říjnu 2018**). Podle nově definované pozitivivity „interim“ PET (až DS4) byly aktualizovány výsledky studie GHSG HD18 pro pokročilá stadia a provedeno první hodnocení studie GHSG HD16 pro počáteční stadia [27].

Obecně: PET negativní interim PET má vysokou prediktivní hodnotu na rozdíl od pozitivního interim PET, který má prediktivní hodnotu nižší.

Mezi recentně vyhodnocené „PET response“ studie patří EORTC H10, RAPID a RATHL (Velká Británie) a jmenované GHSG HD16 a HD18 [14, 22, 27–30]. V krátké době má být vyhodnocena studie HD17 GHSG (intermediární stadia). Studie HD17 a HD18 (pokročilá stadia) zahajují terapii dvěma cykly eBEA (časná internizifikace). Studie skupiny EORTC začínají chemoterapii většinou dvěma cykly ABVD (adriamycin, bleomycin, vinblastin, dacarbazin) a dále postupují podle výsledku „interim“ PET2. Je-li pozitivní, intenzifikují (eskalují) léčbu podáním dalších cyklů chemoterapie eBEA (bleomycin, etoposid, adriamycin, cyklofosamid, oncovin-vincristin, procarbazin, prednison).

### AKTUÁLNÍ STRATEGIE LÉČBY HL

#### Počáteční stadia

Standardem léčby GHSG je podle výsledků studie HD10 terapie 2 x ABVD + RT 20 Gy IS, [12]. Na 11. ISHL (Kolín 2018) prezentoval profesor A. Engert konečné hodnocení studie HD16, která řešila otázku: Je možné u PET negativních pacientů po chemoterapii 2 x ABVD vynechat radioterapii? NE! PFS („progression-free survival“) při vynechání RT je signifikantně horší (93,4 % vs. 86,1 %), OS („overall survival“) se při mediánu sledování 47 měsíců neliší (vzhledem k účinné léčbě druhé linie). Studie

neprokázala zvýšení toxicity v rameni s RT. Zároveň byla řešena další otázka: je u PET pozitivních pacientů po 2 x ABVD zvýšené riziko zhoršení PFS? ANO! Pozitivní PET (DS4) po 2 x ABVD ukazuje signifikantně horší PFS: 93,1 % vs. 80,9 %. Standardem léčby pro počáteční stadia zůstává chemoterapie následovaná RT, PFS bez RT je horší. Stejný závěr potvrdily i další studie pro počáteční stadia (H10 a Rapid studie) [22, 29].

### Intermediární stadia

Standardem GHSG je chemoterapie 2 x eBEA + 2 x ABVD + RT 30 Gy IF (výsledky HD14 studie). Relaps u pacienta s intermediárním stadiem může mít stejně špatnou prognózu jako relaps u pacienta s pokročilým stadiem. Předností studie HD14 je jistější kontrola tumoru. [13]. Čeká se na závěr HD17 studie GHSG, která podle výsledků PET2 redukuje radioterapii.

**Studie EORTC/LYSA/FIL H10** pro časná stadia („early favorable“ a „unfavorable“ – v naší nomenklatuře počáteční a intermediární stadia). Intenzita léčby je upravená podle interim PET2. Přesto po iniciálních dvou cyklech ABVD s negativním PET2 a následném vynechání RT IN v obou ramenech studie došlo častěji k relapsům HL (obě ramena bez radioterapie byla uzavřena) [29]. U PET2 pozitivních pacientů byla léčba dále intenzifikovaná dvěma cykly eBEA. Tuto intenzifikaci potřebovala ale jen necelá čtvrtina pacientů. Chemoterapie byla posléze u všech pacientů konsolidována RT IN 30 Gy [30].

### Pokročilá stadia

Léčba pokročilých stadií klasickou terapií ABVD selhává u 30–40 % pacientů. V 90. letech minulého století došlo k výrazným pokrokům v oblasti podpůrné léčby, především díky dostupnosti růstových faktorů leukocytů (G-CSF). Umožnilo to léčit pacienty účinnějšími terapeutickými schémata s vyššími dávkami cytostatik. GHSG intenzifikovala dávku i čas standardní terapie COPP+ ABVD. Vzniklo nové schéma polychemoterapie BEACOPP eskalovaný (eBEA), který prokázal velmi dobrou účinnost právě u pokročilých stadií HL. Bohužel, léčba 8 cykly eBEA měla vyšší toxicitu, především vyšší počet sekundárních MDS/AML (myelodysplastických syndromů s přechodem do akutních leukemií).

Základní strategií GHSG se stal tzv. Kairos efekt\* (Volker Diehl). HRS buňky jsou cytogeneticky velmi nestabilní, náchylné k vývoji časné sekundární rezistence. Mají být eliminovány tak brzy, jak jen je možné při prvním terapeutickém zásahu. Jsou velmi citlivé na léčbu, která však musí být zpočátku intenzivní, jinak hrozí nebezpečí vzniku rezistence [15]. (\*Poznánka: Kairos je v řecké mytologii bůh příhodného času.) Intenzivní terapie na počátku léčby zlepšuje přežití. Rozdíl pětiletého OS je 10 % při časné intenzifikaci chemoterapií eBEA (oproti ABVD). Studie pokročilých stadií HL jsou v rámci GHSG během posledních let výrazně zaměřené na deeskalaci dávky chemoterapie a rozsahu radioterapie za podmínky zachování výborných výsledků léčby. Cílem je redukovat akutní a hlavně pozdní toxicitu léčby [10, 14].

**Studie GHSG HD18.** 2 x eBEA, při negativním interim PET2, jen další dva cykly, celkem jen 4 cykly eBEA. Při pozitivitě PET2 pokračuje léčba dalšími čtyřmi eBEA (celkem 6 cyklů) + RT reziduálního tumoru 30 Gy zaměřená jen na PET pozitivní reziduum [14]. Asi 70 % pacientů nepotřebuje intenzivní léčbu a bylo by vyléčeno ABVD. Internacionální prognostické skóre pro pokročilá stadia HL (IPS Hasenclever) hodnotí jen klinické rizikové faktory a nedokáže tyto pacienty identifikovat [31–35].

**Co nás naučila studie HD18 ?** [27]. Spolehlivou identifikací pacientů, kteří po dvou cyklech eBEA potřebují intenzifikovat léčbu dalšími čtyřmi cykly eBEA je pozitivní „interim“ PET2 (DS4,5). Tito pacienti jsou léčeni celkem 6 cykly eBEA. Přežití (PFS a OS) je díky této strategii velmi dobré. PET2 (DS1-3) má vysokou negativní prediktivní hodnotu a dovoluje 76 % pacientů léčit jen čtyřmi cykly eBEA. Toxicita při léčbě jen čtyřmi cykly eBEA (76 % pacientů) je únosná [14]. OS po čtyřech cyklech eBEA je 98 %. Díky výrazně snížené toxicitě je signifikantně lepší ve srovnání s 6/8 cykly.

Britská studie **RATHL pro pokročilá stadia HL.** Při pozitivním „interim“ PET po dvou cyklech ABVD je terapie intenzifikovaná eBEA. Má vyšší selhání léčby u PET2 negativních pacientů (negativní význam pozdní intenzifikace). U PET2 negativních pacientů byl od třetího cyklu vynechán bleomycin (méně plicní toxicity) bez signifikantního zhoršení výsledků [36].

Tab. 2. Srovnání studie HD18 (GHSG) s ostatními strategiemi léčby pokročilých stadií [36–40]

| Studie     | Chemoterapie | Věk    | Selhání (%) | PFS 3 roky (%) | TRM (%) | Toxicita 3 a 4 (%) |
|------------|--------------|--------|-------------|----------------|---------|--------------------|
| RATHL      | ABVD PET2    | 18 -60 | 21          | 79             | 0,7     | 64                 |
| ESCHELON 1 | BV + AVD     | ≥ 18   | 18          | 82,1 (2 roky)  | 1,2     | 83                 |
| HD18       | eBEA PET2    | 18 -60 | 8           | 92,1           | 0,8     | 94,5               |

TRM: treatment related mortality

**LYSA AHL 2011** (studie fáze III) u pokročilých stadií CHL: u PET2 negativních pacientů po dvou cyklech eBEA je možné pokračovat čtyřmi cykly ABVD. Pacienti po 4 cyklech eBEA, je-li PET 4 pozitivní, tvoří vysoce rizikovou skupinu se špatnou prognózou [27].

Srovnání studie HD18 (GHSC) s ostatními strategiemi léčby pokročilých stadií [36–40] viz tabulka 2.

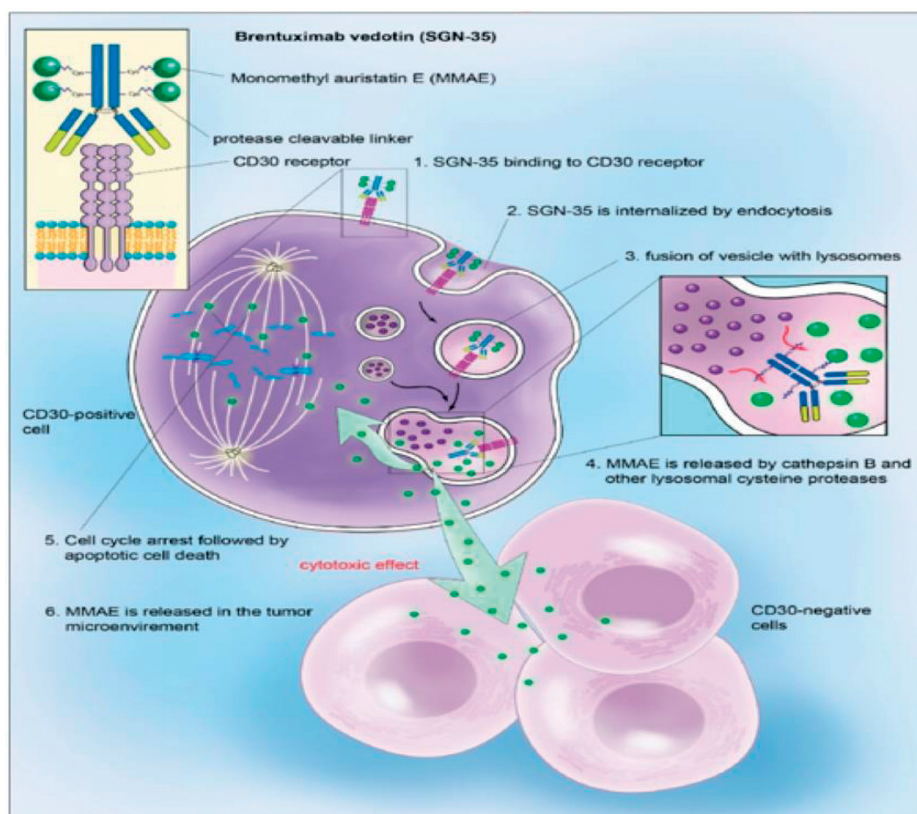
**Pacienti nad 60 let věku** mají horší prognózu. eBEA se nedoporučuje, obvykle se používá terapie ABVD. Nebezpečnou komplikací představuje hematotoxicita spolu s akutní a chronickou plicní toxicitou. Je-li PET2 negativní, možno v dalších cyklech bleomycin vynechat a pokračovat jen terapií AVD. Radioterapie IF/IS 30 Gy doplňuje terapii. Starší pacienti hůře tolerují i RT. Pravděpodobně bude výhodnější použití nových léků na bázi imunoterapie [10, 11, 22, 30].

**Rezistentní a relabující HL.** U 10–20 % pacientů dochází k progresi nebo relapsu onemocnění (RRHL).

Standardem 2. linie léčby je záchranná („salvage“) terapie. U nás se nejčastěji používá chemoterapie 2 x DHAP (dexamethazon, vysoká dávka cytosin-arabinosidu a cisplatina) s následnou vysokodávkovanou terapií (HDT) s podporou autologní transplantací periferních kmenových buněk (ASCT) – studie HDR2 [41]. Tato strategie je účinná asi u 50 % pacientů. Osud zbylé poloviny pacientů byl do nedávna velmi špatný i přes možnost alogenní transplantace (aloSCT), většina pacientů zemřela do dvou až tří let [42, 43]. AloSCT ztrácí postupně na významu vzhledem k možnosti použití nových léků na bázi imunoterapie. Je to **ADC (antibody-drug conjugate) brentuximab vedotin - BV**. Na monoklonální protilátku anti CD30 je bílkovinnými můstky navázána silně toxická látka – momometyl auristatin E (MMAE) – obrázek 1.

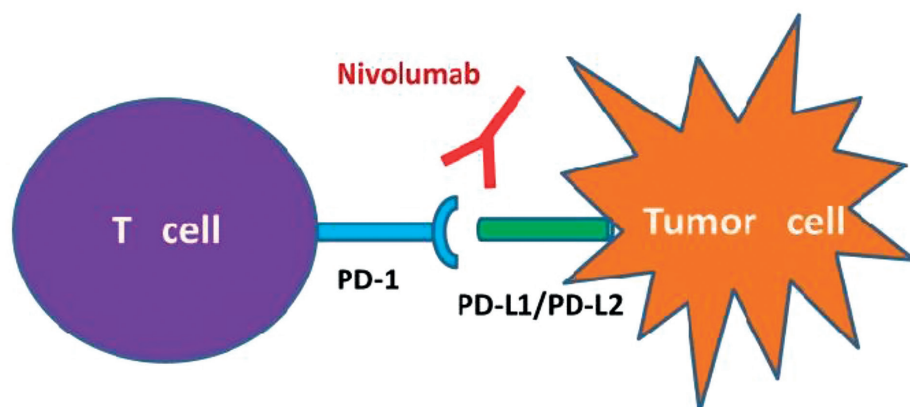
Younes prezentoval v roce 2012 studii, které se účastnilo 102 pacientů s RRHL, léčených BV. Celková odpověď („overall response rate“, ORR) byla 75 %, z toho kompletní remisi dosáhlo 34 pacientů (33 %) [6]. Povzbudivé je konečné hodnocení studie, která dokumentuje pětileté trvání kompletní remise u části pacientů s RR HL, léčených jen monoterapií BV. U 13 ze zmíněných 34 pacientů (38 %) trvala kompletní remise v době posledního hodnocení více než 5 let. Devět z těchto 13 pacientů (9 % všech zařazených pacientů) bylo léčeno jen BV, bez další konsolidační léčby alogenní transplantací. Celkové 5leté OS celého souboru (102 pacientů) je 41 % a 5leté PFS je 22 %. Pacienti, kteří dosáhli CR po léčbě BV mají OS 64 % a PFS 52 %. Konečné hodnocení prokázalo, že část pacientů s RR HL je léčitelná jen monoterapií BV [44].

Profil toxicity BV je relativně příznivý. Z vedlejších účinků je nejvýznamnější neurotoxicita (kumulativní dávka BV). Způsobuje jí antitubulární toxicita MM Auristatinu E v distálních neuronech. Periferní senzoričkou neuropatií má více než 50 % pacientů (< 10 % stupně 3). Periferní motorická neuropatie se vyskytuje asi u 10 % pacientů (< 5 % stupně 3). Přibližně u poloviny pacientů neuropatie vymí-



**Obr. 1.** ADC – brentuximab vedotin, ADC – „antibody-drug conjugate“, mechanismus cytotoxického účinku

Na protilátku anti-CD30 je pomocí proteinového můstku (v plazmě stabilního) připojen cytotoxický antitubulinový monomethyl auristatin E (MMAE). Konjugát se váže na receptory CD 30, které jsou exprimované na povrchu H/RS buněk, pomocí lysozomů se noří do nitra buňky. Lysozomální proteázy degradují proteinovou vazbu na anti CD30 protilátku. MMAE je uvolněn, rozruší mikrotubulární síť, buněčný cyklus se zastaví, dochází k apoptóze buňky. (Upraveno podle Younes A, Bartelett NL, Leonard JP, et al. Brentuximab vedotin (SGN 35) for relapsed CD30-positive lymphomas. N Engl J Med 2010;363:1812–1821.)



**Obr. 2.** Immune checkpoint 2 Nivolumab, „check-point“ inhibitor PD-1, mechanismus působení CPI Nivolumab je humánní monoklonální protilátka IgG4 fungující jako inhibitor „check point“ PD-1 („programmed death“). Aktivuje protinádorovou imunitní odpověď T lymfocytů. Zabraňuje vazbě PD-1 na jeho ligandy PD-L1 a PD-L2 a tím blokuje přenos inhibičního signálu do T-lymfocyty. IgG4 – imunoglobulin G4. (Upraveno podle Postow MA, Callahan MK, Wolchok JD, Blockade in cancer therapy. J Clin Oncol 2015;33(17):1974–1982).

zí, u jedné třetiny přetrvává v mírné formě. Závažnými, i když vzácnými vedlejšími účinky jsou: akutní pankreatitida, těžké kožní reakce a progredující multifokální leukoencefalopatie. Pravděpodobným vysvětlením je skutečnost, že pankreas exprimuje u některých pacientů malé množství CD30 receptorů. Ostatní vedlejší účinky jsou mírné [44]. Prezentovali jsme pacientku s relapsem po ASCT, která je v CR 5 let po monoterapii šestnácti cykly BV. Konsolidaci aloSCT odmítla [45].

Další novou substancí, jejíž účinek je na imunologické bázi jsou monoklonální protilátky anti PD-1 nivolumab a pembrolizumab – obrázek 2.

Málokterý pacient by byl v roce 2019 indikován k aloSCT, aniž by prodělal léčbu některým tímto novým lékem, působícím na imunologické bázi [46, 47]. Přesto se doporučuje kontaktovat centrum, které aloSCT provádí. Při druhém relapsu není nutno spěchat s indikací aloSCT a zahajovat drahé vyhledávání v našich i zahraničních registrech dárců kostní dřeně. Umožňují to i pokroky v oblasti aloSCT – možnost transplantovat periferními kmenovými buňkami haploidického dárce s redukcovanou dávkou přípravného režimu (RIC aloSCT). Následné podání cyklofosfamidů tlumí GvHD (reakci štěpu proti hostiteli), ale GvHL (reakce štěpu proti lymfomu) je zachována [48]. (Poznámka redakce: viz také příspěvek Cetkovského). Pacienti po aloSCT mají obvykle horší kvalitu života, četné komplikace: relapsy, GvHD, oportunní infekce.

Nové léky (BV a anti-PD1 inhibitory, „check-point“ inhibitory – CPI) jsou nadějí pro pacienty s druhým a dalším relapsem HL po ASCT nebo po dvou liniích „salvage“ terapie u pacientů, kteří nejsou únosní pro transplantaci [44, 49, 50].

Další vývoj vědeckých poznatků v oblasti biologie HL, nových léků, technických pokroků radioterapie jistě ještě dále zlepší prognózu pacientů s HL.

Experimentálně jsou nové léky zařazovány již do první linie léčby pokročilých stadií HL. Cílem je snížit intenzitu léčby a tím i výskyt pozdních následků. Například prospektivní globální randomizovaná studie **ECHELON-1**. Srovnává léčbu 6 cykly ABVD s 6 cykly A-AVD (A = Adcetris, firemní název brentuximab vedotinu). Vzhledem k pneumotoxicitě se vynechává bleomycin. Podává se v dávce 1,2 mg/kg v intervalu dvou týdnů. Dvouletý PFS 76,6 % vs. 83,2 %,

dvouletý OS 94,2 % vs. 96,6 %. Ve srovnání s ABVD má A-AVD o 30 % nižší riziko relapsu a/nebo úmrtí na HL. Oproti klasickému ABVD má A-AVD vyšší toxicitu a především vyšší finanční náklady. Medián sledování 24,6 měsíců. Poslední hodnocení (OS 2 roky) se zdá slibné, i když se ozývají kritické hlasy [27, 38–40]. „Echelon 1 update“ přednesl na 11. ISHL J. Radford [27].

HRS buňky exprimují PD-1-L (ligand) a T lymfocyty exprimují PD-1 receptory. PD-1 inhibitory (nivolumab a pembrolizumab) jsou humánní monoklonální protilátky, které zabrání interakci PD-1-L a PD-1. Kombinace s chemoterapií může působit synergicky a být nadějí pro RR/HL [7] (viz obr. 2).

Výhodu konsolidace BV po ASCT u pacientů s rizikovým prvním relapsem potvrdila studie **AETHERA**. Za rizikový relaps je považován: lymfom refrakterní na první linii léčby, časný relaps < 12 měsíců, relaps s extranodálním postižením, B symptomy a ≥ 2 „salvage“ léčbami před ASCT [46]. Pro indikaci stačí již dva z těchto nepříznivých faktorů. V současné době je konsolidace BV po ASCT u pacientů s rizikovými prvními relapsy HL považovaná za standard. BV konsolidace po ASCT. Moskowitz CH uvedl v přednášce **AETHERA update** aktualizované výsledky pětiletého sledování PFS: 59 % vs 41 % v rameni s placebem [27].

## JAK DÁL V LÉČBĚ HL?

11. zasedání ISHL v Kolíně nad Rýnem v říjnu 2018, organizované GHSG, nastínilo rychlý vývoj především v oblasti imunoterapie. Aktuální hodnocení některých studií přispělo k vyřešení závažných otázek, ale ne všechny jsou vyřešené [27].

**Margaret Schipp (Stanford)** ve své přednášce na téma T-buňky a PD-1 inhibice u HL uvedla mnohá zajímavá fakta. Analýza HRS buněk a imunogenního mikroprostředí, které je těsně obklopuje, byla provedena v rámci studie Checkmate 205. HRS buňky exprimují PD-L1 a imunogenní T lymfocyty receptor PD-1. Pomocí vazby PD1-L a PD-1 dochází k tlumení imunitní činnosti T lymfocytů, které ztrácejí schopnost působení proti růstu a množení nádorových buněk. PD-1 inhibitory (nivolumab a pembrolizumab) tuto vazbu blokují, dochází k restituci imunitní protinádorové funkce T lymfocytů. Téměř všichni pacienti s klasickým HL (cHL) mají genetický základ pro senzitivitu na PD-1 blokádu. 97 % pacientů s cHL má chromozomální alteraci v 9p24.1 lokusu a zvýšeně exprimují PD-L1 nádoru. Pacienti RR/HL s nízkou hladinou 9p24.1 alterace a nízkou hladinou PD-L1 exprese mají horší PFS po léčbě nivolumabem. M. Schipp uvádí, že HRS buňky jsou obklopeny CD4 pozitivními lymfocyty, exprimujícími CD-1 receptor. Exprese CD4 na T buňkách je ovlivněna expresí MHC II („major histocompatibility complex“) na HRS buňkách. HRS buňky jsou chráněny hradbou tumor-asociovaných makrofágů (TAM), které exprimují PD-L1. Přesná znalost mechanismů těchto interakcí v budoucnu může zlepšit protinádorovou terapii.

**David Rossi (Švýcarsko)** se ve své přednášce „Genotypizace cHL cestou solubilní biopsie“ zabýval stanovením cirkulující „cell free DNA“ HRS buněk (cf DNA). Provádí se experimentálně v rámci studií. Hladina koreluje s velikostí tumoru a efektem terapie. V budoucnu jí bude možno použít ke stanovení minimální reziduální nemoci.

### Nové léky v první linii

**André M. Studie BREACH (Lysa, EORTC, FIL). Intermediární stadia „early unfavorable HL“.** Studie byla zahájena v roce 2015 [27]. Pacienty randomizovala do standardní větve 4 x ABVD + 30 Gy a experimentální větve 4x AVD + A + (1,2 mg/kg v intervalu dvou týdnů) + 30 Gy RT. Studie je přísně standardizovaná. PET po 2 cyklech byl centrálně hodnocen, v určených intervalech byla odebírána periferní krev za účelem stanovení solubilní cf DNA HRS buněk, organizován byl digitalizovaný panel patologů. Studie prokázala signifikantně vyšší PET2 negativitu u experimentálního ramene (A-AVD), ale s výrazně vyšší toxicitou (výskyt závažných nežádoucích účinků byl 18 % vs. 2 %). Medián sledování v době hodnocení byl 25 měsíců. PFS 97,2 % vs. 91,3 %. Je třeba výsledků s delší dobou sledování.

**Relabující/refrakterní Hodgkinův lymfom** byl zajímavým tématem 11. ISHL v Kolíně. ASCT má být provedena co nejdříve u pacientů se zvýšeným rizikem (význam PET po první linii léčby). Třetí linie (po ASCT):

**BV konsolidace nebo terapie CPI.** BV a CPI, mají dobré výsledky u netransplantovatelných pacientů starších než 60 let [27]. Účinnost kombinace nových léků s různými záchranými režimy při prvním relapsu – přehled přednesli Moskowitz CH a Advani Ranjana, která se této problematice věnovala podrobněji. BV+ bendamustin, BV-DHAP, BV+ ESHAP, BV+ nivolumab, nivolumab + ipilimumab. Tyto kombinace dosahují před ASCT odpovědi přibližně v 62 % až 79 %. Po ASCT je dvouletý PFS nejvyšší s kombinací nivolumab s BV (= 97 %).

**Postavení a význam nových cílených preparátů v léčbě HL (BV a CPI).** Výsledkem monoterapie v primární léčbě je nízké procento remisí krátkého trvání. Naopak v oblasti relapsů, i opakovaných, mají tyto léky dobrý efekt, relativně nízkou toxicitu a kvalita života pacientů je dobrá.

### Léčba CPI

**Studie Keynote 087 (RR/HL), monoterapie pembrolizumabem, CR dosáhlo 20–25 % pacientů, medián PFS byl 13,4 měsíce pro všechny pacienty (3 skupiny, kohorty). BV+ nivolumab: ORR 83 %, CR 62 %. CPI v první linii léčby: Studie Checkmate 205, kohorta D: Nivo +AVD, ORR 84 %, CR 64 %. V USA probíhá randomizovaná studie u pokročilých stadií BV +AVD vs. Nivo + AVD (North American Intergroup Trial). Připravují se studie fáze 3 pro pacienty s R/R HL (BV vs. pembrolizumab, BV vs BV + nivolumab). Další studie testují synergické působení imunoterapie a radioterapie v rámci mikroprostředí HL, využívají tzv. abskopálního efektu. **Abskopální efekt** vychází z hypotézy, že RT stimuluje aktivitu T buněk působících proti tumoru. Při progresi nádoru ale dochází ke zvýšení PD-L1. Např. fáze 2 studie s pembrolizumabem a IS RT u pacientů s lokalizovaným relapsem. (C. Moskowitz), AERN studie GHSG využívá abskopálního efektu RT a nivolumabu při relapsu po PD-1 terapii [27].**

### ZÁVĚR

Nobelova cena za fyziologii a lékařství byla v roce 2018 udělena J. P. Allisonovi z USA a T. Honzō z Japonska za objev protinádorové imunity. Indikace nových účinných léků na bázi imunoterapie (brentuximab vedotin a PD1 inhibitory nivolumab a pembrolizumab) je v našich podmínkách vzhledem k vysokým finančním nákladům přísně kontrolována. Pro naše pacienty je přesto dostupná. Udržovací léčba brentuximab vedotinem po ASCT u rizikového prvního relapsu je považována již za standard (viz AETHERA). BV je indikován u relapsu HL po ASCT a nebo u pacientů se selháním dvou linií terapie, nejsou-li schopni ASCT. Cílem léčby BV nemá být jen „přemostění“ k aloeSCT, ale kompletní remise. PD-1 inhibitor je možno podat

## MARKOVÁ J.

po selhání léčby BV a recentně lze i při relapsu po ASCT u pacienta, který neprodělal ještě léčbu BV. Významná je účast našich center v prospektivních mezinárodních studiích, které tyto léky nebo jejich kombinace testují. Zařazeným pacientům je věnovaná zvýšená péče, účinné léky jsou dodávány testující firmou. Mimo finančních úspor nemocnic a benefitu pro pacienty, získají lékaři zkušenost s novými léky, mnohdy ještě před jejich registrací v Evropě.

## LITERATURA

- Hodgkin T. On some morbid appearances of the absorbent glands and spleen. *Med Chir Trans* 1832;17(1):68-114.
- Wilks S. Cases of enlargement of the lymphatic glands and spleen (or Hodgkin's disease), with remarks. *Guy's Hosp Rep* 1865;11:56-67.
- Küppers R, Rajewsky K, Zhao M, et al. Hodgkin disease: Hodgkin and Reed-Sternberg cells picked from histological sections show clonal immunoglobulin gene rearrangements and appear to be derived from B cells at various stages of development. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994;91(23):10962-10966.
- Mociková H. Epidemiologie a rizikové faktory spojené s Hodgkinovým lymfomem. *Transfuzie Hematol dnes* 2014;20(3):81-86.
- Stein H, Diehl V. First Hodgkin cell line L428 and the CD30 antigen: their role for diagnostic and treatment of CD30-positive neoplasms. *Hematol Oncol Clin North Am* 2014;28(1):1-11.
- Younes A, Gopal AK, Smith SE, et al. Results of a pivotal phase II study of brentuximab vedotin for patients with relapsed or refractory Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol* 2012;30: 2183-2189.
- Armand P, Engert A, Younes A, et al. Nivolumab for relapsed/refractory classic Hodgkin Lymphoma after failure autologous hematopoietic cell transplantation: Extended follow-up of the multicohort single-arm phase II Checkmate 205 trial. *J Clin Oncol* 2018;36:1-12.
- Aleman BM, van den Belt-Dusebout AW, Klokmann WJ, et al. Long-term cause-specific mortality of patients treated for Hodgkin's disease. *J Clin Oncol* 2003;21(18):3431-3439.
- Schaapveld M, Aleman BMP, van Eggermond AM, et al. Second cancer risk up to 40 years after treatment for Hodgkin's Lymphoma. *N Engl J Med* 2015;373(26):2499-2511.
- Eichenauer DA, Aleman BMP, Andre M, et al. Hodgkin lymphoma: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up on behalf of the ESMO Guidelines Committee. *Ann Oncol* 2018;29 (Sup 4):iv19-iv29.
- Sýkorová A, Móciková H. Hodgkinův lymfom u starších nemocných. *Acta Medicinæ* 2018;11:97-103.
- Engert A, Plütschow A, Eich HT, et al. Reduced treatment intensity in patients with early stage Hodgkin Lymphoma. *New Engl J Med* 2010;363:640-652.
- Von Tresckow B, Plütschow A, Fuchs M, et al. Dose-intensification in early unfavorable Hodgkin lymphoma: Final analysis of the GHSG HD14 trial. *J Clin Oncol* 2012;30(9):907-913.
- Borchmann P, Goergen H, Kobe C, et al. PET-guided treatment in patients with advanced-stage Hodgkin's lymphoma (HD18): final results of an open-label, international, randomised phase 3 trial by the German Hodgkin Study Group. *Lancet* 2018;390:2790-2802.
- Diehl V, Franklin J, Pfreundschuh M, et al. German Hodgkin's Lymphoma Study Group. Standard and increased-dose BEACOPP chemotherapy compared with COPP-ABVD for advanced Hodgkin's disease. *N Engl J Med* 2003;348(24):2386-2395.
- Behringer K, Goergen H, Hitz F, et al. German Hodgkin Study Group; Swiss Group for Clinical Cancer Research; Arbeitsgemeinschaft Medikamentöse Tumortherapie. Omission of dacarbazine or bleomycin, or both, from the ABVD regimen in treatment of early-stage favourable Hodgkin's lymphoma (GHSG HD13): an open-label, randomised, non-inferiority trial. *Lancet* 2015;385(9976):1418-1427.
- Eich HT, Diehl V, Görger H, et al. Intensified chemotherapy and dose-reduced involved field radiotherapy in patients with early unfavorable Hodgkin lymphoma: final analysis of the German Hodgkin Study Group (GHSG) HD11 trial. *J Clin Oncol* 2010;28:4199-4206.
- Voltin CA, Goergen H, Baues C, et al. Value of bone marrow biopsy in Hodgkin lymphoma patients staged by FDG PET: results from the German Hodgkin Study Group trials HD16, HD17, and HD18. *Ann Oncol* 2018;29(9):1926-1931.
- Sýkorová A, Pytlík R, Móciková H, et al. Hodnocení klinického stadia a léčebné odpovědi u maligních lymfomů – doporučení Kooperativní lymfomové skupiny na základě revidovaných kritérií z roku 2014 (Luganská klasifikace). *Klin Onkol* 2016;29(4):295-302.
- Cottreau AS, Versari A, Loft A, et al. Prognostic value of baseline metabolic tumor volume in early-stage Hodgkin lymphoma in the standard arm of the H10 trial. *Blood* 2018;131(13):1456-1463.
- Procházka V, Lukášová M, Henzlová L, et al. Můžeme upravit intenzitu úvodní léčby u Hodgkinova lymfomu podle výsledku průběžného PET? *Acta Medicinæ* 2018;11:104-107.
- Radford J, Illidge T, Counsell N, et al. Results of a trial of PET-directed therapy for early stage Hodgkin's lymphoma. *N Engl J Med* 2015;372(17):1598-1607.
- Dědečková K, Móciková H, Belada D, et al. Postavení radioterapie v léčbě maligních lymfomů – doporučení Kooperativní lymfomové skupiny. *Klin Onkol* 2013;26(2):99-109.
- Mociková H. Vyšetření pozitronovou emisní tomografií u nemocných s Hodgkinovým lymfomem. *Transfuzie Hematol dnes* 2011;17(1):20-24.
- Marková J, Kobe C, Skopalova M, et al. FDG-PET for assessment of early treatment response after 4 cycles of chemotherapy in patients with advanced-stage Hodgkin lymphoma has a high negative predictive value. *Ann Oncol* 2009;20(7):1270-1274.
- Cheson BD, Fisher RI, Barrington SF, et al. Recommendations for initial evaluation, staging, and response assessment of Hodgkin and non-Hodgkin lymphoma: the Lugano classification. *J Clin Oncol* 2014;32(27):3059-3068.
- HemaSphere 2(S3): 11. ISHL, 27, October 2018, Cologne, Germany.
- Bröcklekmann PJ, Sasse S, Engert A. Balancing risk and benefit in early stage classical Hodgkin lymphoma. *Blood* 2018;131(15):1666-1678.
- Raemakers JM, André MP, Federico M, et al. Omitting radiotherapy in early positronemission tomography-negative stage I/II Hodgkin

- lymphoma is associated with an increased risk of early relapse: clinical results of the preplanned interim analysis of the randomised EORTC/LYSA/FIL H10 trial. *J Clin Oncol* 2014;32(12):1188–1194.
30. André MPE, Girinsky T, Federico M, et al. Early positron emission tomography response-adapted treatment in stage I and II Hodgkin lymphoma: Final results of the randomized EORTC/LYSA/FIL H10 trial. *J Clin Oncol* 2017;35(16):1786–1794.
  31. Hasenclever D, Diehl V. A prognostic score for advanced Hodgkin's disease. International Prognostic Factors Project on Advanced Hodgkin's Disease. *N Engl J Med* 1998;339(21):1506–1514.
  32. Engert A, Diehl V, Franklin J, et al. Escalated-dose BEACOPP in the treatment of patients with advanced-stage Hodgkin's Lymphoma: 10 years of follow-up of the GHSG HD9 study. *J Clin Oncol* 2009;27:4548–4554.
  33. Borchmann P, Haverkamp H, Diehl V, et al. Eight cycles of of escalated-dose BEACOPP compared with four cycles of escalated-dose BEACOPP with or without radiotherapy in patients with advanced-stage Hodgkin's lymphoma: Final analysis of the HD12 trial of the German Hodgkin Study Group (GHSG). *J Clin Oncol* 2011;29(32):4234–4242.
  34. Belada D, Štěpánková P, Sýkorová A, et al. Ten years' experience with four cycles of bleomycin, etoposide, doxorubicin, cyclophosphamide, vincristine, prednisone, procarbazine (BEACOPP)-escalated followed by four cycles of baseline-dose BEACOPP in patients with advanced stage Hodgkin lymphoma: a single-center, retrospective study. *Leuk Lymphoma* 2015;56(7):2013–2018.
  35. Engert A, Haverkamp H, Kobe C, et al. German Hodgkin Study Group; Swiss Group for Clinical Cancer Research; Reduced-intensity chemotherapy and PET-guided radiotherapy in patients with advanced stage Hodgkin's lymphoma (HD15 trial): a randomised, open-label, phase 3 non-inferiority trial. *Lancet* 2012;379(9828):1791–1799.
  36. Johnson P, Federico M, Kirkwood A, et al. Adapted treatment guided by interim PET-CT scan in advanced Hodgkin's lymphoma. *N Engl J Med* 2016;374(25):2419–2429.
  37. Lim SH, Johnson PWM. Optimizing therapy in advanced-stage Hodgkin lymphoma. *Blood* 2018;131:1679–1688.
  38. Connors JM, Jurczak W, Straus DJ, et al. Brentuximab Vedotin with chemotherapy for Stage III or IV Hodgkin's Lymphoma. ECHOLON-1 Study Group. *N Engl J Med* 2018;378(9):878.
  39. Borchmann P, Fosså A, Dlugosz-Danecka M, et al. The phase 3 study ECHOLON-1 evaluating brentuximab vedotin in patients with newly diagnosed Hodgkin lymphoma leaves important questions unanswered. *HemaSphere* 2018;2(3):e52.
  40. Adams HJA, Kwee TC. Benefit of brentuximab over bleomycin in first line treatment of advanced-stage Hodgkin lymphoma has not been proven. *Blood* 2018;132:339–340.
  41. Josting A, Müller H, Borchmann P, et al. Dose intensity of chemotherapy in patients with relapsed Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol* 2010;28(34):5074–5080.
  42. Mociková H. Léčba relabovaného a refrakterního Hodgkinova lymfomu. *Transfuzie Hematol dnes* 2010;16(2):82–88.
  43. Krejčí M, Sedláček P, Jindra P, et al. Indikace k alogenním a autologním transplantacím krvetvorných buněk v ČR v roce 2016: doporučení Transplantační sekce České hematologické společnosti ČLS JEP a České onkologické společnosti ČLS JEP. *Transfuzie Hematol dnes* 2016;22(2):127–149.
  44. Chen R, Gopal AK, Smith SE, et al. Five-year survival and durability results of brentuximab vedotin in patients with relapsed or refractory Hodgkin lymphoma. *Blood* 2016;128:1562–1566.
  45. Marková J, Mociková H. Brentuximab vedotin – zkušenosti z klinické praxe. *Remedia* 2018;28:382–386.
  46. Shah NM, Bartlett NL. Management of relapsed/refractory classical Hodgkin lymphoma in transplant-ineligible patients. *Blood* 2018;131:1698–1703.
  47. Shah GL, Moskowitz CH. Transplant strategies in relapsed/refractory Hodgkin lymphoma. *Blood* 2018;131:1689–1696.
  48. Martinez C, Gayoso J, Sureda A, et al. On behalf of the Lymphoma Working Party of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. Post-transplantation cyclophosphamide-based haploidentical transplantation as alternative to matched sibling or unrelated donor transplantation for Hodgkin lymphoma. *J Clin Oncol* 2017;35:3425–3432.
  49. Bartlett NL, Chen R, Fanale MA. Retreatment with brentuximab vedotin in patients with CD30-positive hematologic malignancies. *J Hematol Oncol* 2014;7(24):1–8.
  50. Moskowitz CH, Nademanee A, Masszi T, et al. Brentuximab vedotin as consolidation therapy after autologous stem cell transplantation in patients with Hodgkin's lymphoma at risk of relapse or progression (AETHERA): a randomised, double blind, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet* 2015;385:1853–1862.

### Čestné prohlášení

Autorka práce prohlašuje, že v souvislosti s tématem, vznikem a publikací toho článku není ve střetu zájmů a vznik ani publikace článku nebyly podpořeny žádnou farmaceutickou firmou.

### Poděkování

Práce byla podpořena grantem AZV 16-29857A a výzkumným projektem Univerzity Karlovy v Praze, 3. lékařské fakulty v Praze Q28 Progres a Q40/08 Progres.

*Doručeno do redakce dne 7. 10. 2018.*

*Přijato po recenzi dne 14. 12. 2018.*

### MUDr. Jana Marková

Interní hematologická klinika  
FN Královské Vinohrady a 3. LF UK  
Šrobárova 50  
100 34 Praha 10  
e-mail: jana.markova@fnkv.cz

# Vývoj diagnostiky a léčby mnohočetného myelomu v průběhu posledních 25 let

Hájek R.<sup>1,2,3,4</sup>

<sup>1</sup>Klinika hematologie, Fakultní nemocnice Ostrava

<sup>2</sup>Lékařská fakulta, Ostravská univerzita, Ostrava

<sup>3</sup>Myelomová sekce České hematologické společnosti, Praha

<sup>4</sup>Česká myelomová skupina, Brno

*Transfuzní Hematol. dnes, 25, 2019, No. 1, p. 96-106*

## SOUHRN

Mnohočetný myelom je druhým nejčastějším krevním nádorem. V přehledném článku je posouzen vývoj v oblasti diagnostiky, prognostiky a strategie léčby během posledních 25 let. Zvláště v poslední dekádě patří mnohočetný myelom mezi nádorové onemocnění s největší dynamikou rozvoje léčebných strategií. Na základě průkazného pokroku a dlouhodobých výsledků již dnes hovoříme o vyléčitelnosti nemocných s mnohočetným myelomem. Podíl vyléčitelných nemocných bude stoupat s dostupností léčebných možností s prokázanou účinností v randomizovaných studiích.

## KLÍČOVÁ SLOVA

mnohočetný myelom – pokrok – diagnostika – léčba – vyléčení

## SUMMARY

Hájek R.

### Developments in the diagnosis and treatment of multiple myeloma over the past 25 years

Multiple myeloma is the second most frequent blood malignancy. This review examines developments in diagnostics, prognosis and treatment strategies over the past 25 years. The past decade alone has seen multiple myeloma rank among cancers with the greatest dynamics in treatment strategies. Based on clear progress and long-term results, we may now consider patients with multiple myeloma to be potentially curable. The proportion of curable patients will increase with the availability of the treatment options of proven efficacy in randomized trials.

## KEY WORDS

multiple myeloma – progress – diagnostics – treatment – cure

## ÚVOD

V úvodu mně dovoluje poblahopřát časopisu *Transfuzní a hematologie dnes* k 25. výročí od jeho založení. Blahopřání je v zastoupení členů České myelomové skupiny a také jejího nadačního fondu. Děkujeme za možnost publikovat, zvláště děkujeme za možnost publikování národních doporučení pro diagnostiku a léčbu mnohočetného myelomu ve formě zvláštních vydání. Třetí z nich bylo vydáno nedávno, a to v roce 2018 [1, 2]. Spolupráce s časopisem, respektive jeho redakčními týmy, byla vždy na výborné úrovni a těšíme se, že bude pokračovat i v dalším období [3].

Je zpravidla snadné časopis založit, těžší jej udržet při životě a nejtěžší je trvale zvyšovat kvalitu časopisu. Asi se mnou čtenáři budou obecně souhlasit, že ty první dva kroky se přes řadu obtíží povedly. Určitě bychom uvítali, kdyby časopisu byl přiznán „impact factor“ vypovídající o mezinárodní úrovni časopisu. Třeba by to mohl být cíl do dalších 25 let. Každopádně je dobré mít své národní odborné periodikum pro transfuziologii a hematologii, a tuto roli časopis dobře naplňuje.

Mnohočetný myelom (MM) patří mezi nejčastější krevní nádorové onemocnění. S ohledem na zaměření článku budou uvedena jen vybraná základní fakta

a autor se bude snažit spíše popsat dynamiku vývoje za posledních 25 let (1993–2018) u tohoto nádoru z různých úhlů pohledu tak, jak ji vnímá.

## ZÁKLADNÍ ÚDAJE O ONEMOCNĚNÍ

Mnohočetný myelom (MM) je onemocnění vyznačující se klonální nekontrolovatelnou proliferací abnormálních neoplastických elementů B-lymfocytární linie (patologických plazmocytů), které se nazývají myelomové buňky. Onemocnění je provázeno produkcí monoklonálního imunoglobulinu, prokazatelného v moči nebo v séru, s projevy orgánového poškození (anémie případně trombocytopenie, osteolytické změny skeletu, renální insuficience). Mnohočetný myelom tvoří asi 10 % všech krevních nádorových onemocnění. Jeho incidence v ČR pozvolna stoupá od 2,3 na 4,8 nových případů na 100 000 tisíc obyvatel v období 1980–2014. Ještě významnější trend lze pozorovat v prevalenci onemocnění se vzestupem z 6,3 na 18,8 žijících nemocných s MM na 100 000 tisíc obyvatel v období 1990–2014 [4]. Medián věku při stanovení diagnózy je kolem 68 let a pouze 1 % osob je v době stanovení diagnózy mladších 40 let. Etiologické souvislosti vzniku této nemoci nebyly známy ani před 25 lety a nejsou známy ani dnes. Vyšší incidence MM je v afro-karibské skupině obyvatel. Menší část případů MM vzniká transformací z monoklonální gamapatie nejasného významu (MGUS – *monoclonal gammopathy of unknown significance*). Ale i u většiny nově diagnostikovaných MM víme, že každému z nich musela předcházet různě dlouhá doba, ve které byl nemocný ve fázi MGUS [5].

## SROVNÁNÍ RŮZNÝCH ASPEKTŮ V DYNAMICE POSLEDNÍCH 25 LET

### 1 Diagnostické nástroje u MM

Mnohočetný myelom je komplexní onemocnění. Základní charakteristikou mnohočetného myelomu nadále zůstává přítomnost monoklonálního imunoglobulinu (M-Ig; dříve paraprotein, M-protein) v séru. S tím souvisí i základní diagnostická sada nástrojů, která se v průběhu 25 let v podstatě nezměnila. Cílem je prokázat monoklonální imunoglobulin (standardní imunoelktroforéza séra a moče s následným provedením imunofixace pro stanovení klonality, morfologické vyšetření plazmocytů a jejich stanovení v procentech, nalezení osteolytických ložisek pomocí standardního celotělového RTG vyšetření). Tento standardní diagnostický set byl celosvětově rozšířen již před rokem 1993 a toto platí i v roce 2018 [1]. Jsou tu další významné diagnostické nástroje, které mají uplatnění nejméně v polovině světa.

### 1. 1 Stanovení volných lehkých řetězců

U 15 % nemocných s typem MM z volných lehkých řetězců (historicky Bence Jones typ) bylo zásadním zlepšením diagnostiky zavedení metody stanovení volných lehkých řetězců (FLC – *free light chains*) v séru a moči [6]. Podobný diagnostický monitorovací význam mělo zavedení této metody pro nesekreční myelom a amyloidózu. O významnosti svědčí fakt, že tato metoda se stala součástí nových diagnostických nástrojů u MM a MGUS doporučených IMWG (International Myeloma Working Group) včetně možnosti využití této metody při monitorování dynamiky monoklonálních gamapatií [7, 8]. Oproti tomu představení nadstavbové metody pro stanovení těžkého i lehkého řetězce imunoglobulinu doposud nenašlo zásadní klinické uplatnění [9, 10]. Přestože proteomika je zajímavou oblastí ve výzkumu i u monoklonálních gamapatií a uplatnění hmotnostní spektrometrie se v poslední dekádě nepochybně rozvíjí také v klinické praxi, u mnohočetného myelomu zatím nenašla zásadní význam.

### 1. 2 Zobrazovací metody skeletu

V zobrazovacích metodách zůstala myelomová komunita v doporučení změn během posledních 25 let velmi konzervativní, místy až nevysvětlitelně. Neustále se vracelo a diskutovalo dokola téma, zda zjištění osteolytických ložisek metodou citlivější, než je prostá RTG metoda (MRI, CT, *low density* CT, PET-CT, ...), má stejný význam a je tedy indikací k léčbě. Až v roce 2014 se poprvé objevilo v doporučeních IMWG, aby malá osteolytická ložiska ( $\geq 5$  mm), dříve běžnou RTG metodou neviditelná, byla považována za „skutečně osteolytická“, a tudíž byla indikací k léčbě [11]. Skutečností je, že rentgenové vyšetření skeletu je v řadě zemí jediným dostupným vyšetřením z doporučených. Přestože *low density* CT je citlivější, rychlejší a pro nemocného pohodlnější metodou, stále je prosté RTG skeletu nejrozšířenější metodou na světě. Nejnověji využití PET-CT nabízí kombinaci zobrazení patologického ložiska se současným popisem metabolické aktivity. Přestože u MM stále schází velká validační klinická studie, metoda již našla své místo v doporučení i pro vyhodnocení MRD [12, 13].

V České republice jsou všechny metody dostupné a jen kapacitní možnosti různých metod v různých nemocnicích jsou rozhodující pro preferenci některé ze zobrazovacích metod lékaři jednotlivých center [14]. V České republice byl také velký počet nemocných vyšetřen pomocí PET-CT časně po zavedení metody, avšak pro zviditelnění výsledků s mezinárodním ohlasem jsme správný čas už propáslí.

### 1. 3 Vyšetření průtokovou cytometrií

Průtoková cytometrie byla v roce 1993 i v univerzitním prostředí vyspělých zemí velmi omezeně dostupnou technologií. Dynamika v technologickém pokroku byla mimořádná. Dnes patří průtoková cytometrie k důležitým diagnostickým nástrojům u monoklonálních gamapatií. Její největší předností je možnost stanovení podílu klonálních a normálních buněk a přesnější určení různých fenotypů včetně vyhodnocení ostatních imunokompetentních buněk ve vzorku kostní dřeně nemocného. Nově IMWG doporučila využití průtokové cytometrie k vyhodnocování zbytkového nádorového onemocnění (MRD – *minimal residual disease*) [15]. Nemocní dosahující MRD negativitu mají významně lepší prognózu nezávislou na použité léčbě [16].

Na mezinárodní i národní úrovni dlouhodobě probíhají víceméně úspěšné pokusy o standardizaci vyšetření průtokovou cytometrií, a to především v rámci Euroflow konsorcia. Přes mimořádný pokrok v této oblasti je paradoxně jeho vnitřní nevýhodou neustálý technologický pokrok, umožňující neustálé zdokonalování metody. V praxi to znamená, že ochota a flexibilita center přebírajících protokoly musí být velká. U mnohočetného myelomu dnes pracujeme například s již 4. verzí, nyní tzv. NFC (NextFlowCytometry).

V České republice je ve všech univerzitních a v řadě regionálních hematologických centrech nejméně čtyřbarevná průtoková cytometrie dostupná a dlouhodobě zavedená. V roce 2018 jsou v České republice dvě centra (Brno a Ostrava), která pracují podle Euroflow protokolů u mnohočetného myelomu, přitom brněnské centrum slouží jako referenční pro akademické klinické studie. Obě centra jsou schopna vyhodnotit MRD až se

senzitivitou  $10E(-6)$ . Všechna další univerzitní centra jsou schopna zhodnotit MRD nejméně se senzitivitou  $10E(-4)$ .

### 1. 4 Cytogenetika a genomika

V oblasti cytogenetiky a genomiky je mimořádně vidět jaké tempo má výzkum a technologický pokrok. Bohužel je také vidět střídání velkých ambicí s představením každé nové metody (FISH, jednotlivé *arrays*, genové expresní profily, sekvenování nové generace, ...) a následným vystřízlivěním. Obrovským očekáváním bylo například provázeno zavedení metody stanovení genového expresního profilu arkansaskou výzkumnou skupinou v roce 2005–2007 [17]. Nic zásadního se však nestalo, pomineme-li, že máme k dispozici další nedokonalý prognostický nástroj, bohužel zjevně celosvětově neaplikovatelný.

V reálné praxi stanovujeme vybrané chromozomální abnormality ze vzorku kostní dřeně pomocí metody FISH (*fluorescence in situ hybridization*) již nejméně 15 let. Až po analýze přínosu novějších léčebných postupů, tedy asi po deseti letech, však nakonec IMWG v roce 2014 navrhlo definovat „*high-risk*“ skupinu nemocných na základě přítomnosti cytogenetických aberací (t(4;14), t(14;16) a del(17/17p) [18, 19]. Skutečností je, že až s dostupností řady nových léků (asi od roku 2016) nabývá toto vyhodnocení na významu, neboť je jedním z rozhodujících laboratorních vyhodnocení pro výběr určitého typu léčby u nemocných typu „*high-risk*“.

V České republice je na rozdíl od většiny světa toto vyšetření dobře dostupné. Podíl nemocných s provedeným FISH vyšetřením je ve srovnání se světem relativně vysoký, třebaže dosahuje jen asi 35 %. V průběhu posledních 15 let proběhla standardizace tohoto vyšetření,

Tab. 1. Revidovaná diagnostická kritéria mnohočetného myelomu

|   |
|---|
| <p>Počet klonálních plazmatických buněk v kostní dřeni <math>\geq 10\%</math> nebo biopticky potvrzený kostní nebo extramedulární plazmocytom<sup>1</sup> a přítomnost jedné nebo více následujících skutečností s myelomem souvisejících (MDE = „myeloma defining events“):</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• známky poškození orgánů nebo tkání podmíněné proliferací plazmatických buněk, zejména</li> <li>• hyperkalcemie: koncentrace sérového Ca o <math>&gt; 0,25</math> mmol/l (1 mg/dl) vyšší než horní limit normálního rozmezí nebo <math>&gt; 2,75</math> mmol/l (11 mg/dl)</li> <li>• renální insuficience: snížení clearance kreatininu <math>&lt; 40</math> ml/min (= 0,67 ml/s) nebo koncentrace sérového kreatininu <math>&gt; 177</math> <math>\mu</math>mol/l (2 mg/dl)</li> <li>• anémie: koncentrace hemoglobinu o <math>&gt; 20</math> g/l nižší než dolní limit normálního rozmezí nebo <math>&lt; 100</math> g/l</li> <li>• kostní postižení: jedno nebo více osteolytických ložisek na RTG skeletu, CT nebo CT/PET<sup>2</sup></li> </ul> <p>• jedna nebo více z následujících známek maligního procesu:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>– zmožení klonálních plazmatických buněk v kostní dřeni <math>\geq 60\%</math><sup>1</sup></li> <li>– poměr postižených/nepostiženým volným řetězcům v séru <math>\geq 100^3</math></li> <li>– <math>&gt;1</math> ložisko při vyšetření pomocí MRI<sup>4</sup></li> </ul> |
|---|

(podle Rajkumar, 2014)

<sup>1</sup>Klonalita by měla být stanovena pomocí průkazu k/l restrikce lehkých řetězců při vyšetření pomocí průtokové cytometrie, imunohistochemie nebo imunofluorescence, počet plazmatických buněk by měl být přednostně stanoven z biopie kostní dřeně; v případě rozdílu v procentuálním zastoupení plazmatických buněk zjištěném v aspirátu a bioptickém vzorku by měla být použita vyšší hodnota.

<sup>2</sup>Pokud je počet klonálních plazmatických buněk v kostní dřeni  $< 10\%$ , pak je nutná přítomnost více než jednoho ložiska k odlišení od solitárního plazmocytomu s minimálním postižením kostní dřeně.

<sup>3</sup>Při použití stanovení pomocí metody Freelite® (The Binding Site, Birmingham, UK).

<sup>4</sup>Velikost ložiska musí být minimálně 5 mm.

na kterém se významně podílela i Česká myelomová skupina, respektive cytogenetičtí experti z České republiky na danou problematiku s námi spolupracující [20]. Lze říct, že celoplošně je v České republice tato metoda používána na vysoké úrovni s velkou výpovědní hodnotou. A v roce 2018 konečně s možností reálného praktického využití, neboť použití imunomodulačních látek není u „high-risk“ podskupiny nemocných s MM optimální a přednost mají proteasomové inhibitory a kombinované léčebné režimy složené ze tří léků [1].

## 2 Změny kritérií v průběhu 25 let

### 2.1 Diagnostická kritéria

Během posledních 25 let aktualizovala mezinárodní myelomová pracovní skupina (IMWG) několikrát kritéria pro stanovení diagnózy mnohočetného myelomu, naposledy v roce 2014 [21]. Ty jediné zaslouží zvláštní komentář, neboť předcházející aktualizace byly spíše formální. Do té doby platná kritéria od roku 2003 si vyžádala úpravy na základě průkazu přínosu nových zobrazovacích technik u MM (odstavec 1.2) a také úpravu se snahou zabránit poškození organismu v rámci asymptomatické fáze onemocnění při identifikaci nových rizikových faktorů. Nová kritéria jsou přehledně uvedena v tabulce 1 [1].

V rámci dosud platných CRAB kritérií bylo doplněno k dosavadnímu posouzení renální insuficience pomocí koncentrace sérového kreatininu ještě stanovení kreatininové clearance. V rámci sledování nemocných se „smoldering“ (asymptomatickým) MM byly nově identifikovány 3 rizikové faktory, tzv. biomarkery malignity, jejichž identifikace znamená pro nemocné riziko časně progresu do symptomatické formy onemocnění, a jejich přítomnost tak dnes opravňuje k zahájení léčby. Za nemocné s mnohočetným myelomem, indikované k léčbě, jsou proto nově považováni jedinci s infiltrací  $\geq 60\%$  klonálními plazmatickými buňkami v kostní dřeni, s poměrem postižených/nepostižených volných řetězců v séru  $\geq 100$  a více než jedním ložiskem skeletu větším než 5 mm při vyšetření pomocí MRI i přes absen-

ci kritérií CRAB [1]. Jde o minimální počet nemocných, kterých se nová kritéria časného myelomu týkají. Je pravdou, že v posledním období je tato změna kritérií vedoucí k možnosti časného zahájení léčby často kritizovaná i na mezinárodních fórech. Nicméně je tu možnost léčbu zahájit dříve, kterou lékař s nemocným může zvážit.

### 2.2 Léčebná kritéria

Před právě 20 lety vznikla EBMT kritéria, která si rychle našla název „Blade criteria“ podle profesora Bladé z Barcelony, který se stal v následných 20 letech jednou z nejcitovanějších osob v myelomové komunitě [22]. Přestože tato kritéria myelomovou komunitu nesjednotila ve 100 %, byl to zásadní počín v celosvětovém sjednocení kritérií léčebné účinnosti u MM včetně definice klíčových intervalů a kritérií progresu onemocnění. Při následné dynamice došlo k několika modifikacím již pod hlavičkou IMWG, a to nejprve v roce 2006 [23]. Tato modifikace měla své silné stránky (uplatnila se již celosvětově, pod francouzským vlivem zavedla kategorii velmi dobré parciální remise, kvantifikovala kategorie v případě použití volných lehkých řetězců a také upřesnila definici relapsu z kompletní remise). Měla také slabší stránky. S odstupem času ji nazýváme jako modifikaci ukvapenou a dílem tendenční. Jednak zmizela kategorie minimální léčebné účinnosti, která se naopak dále stále používá, neboť je klinicky důležitá. Naopak přibyla kategorie „stringent CR“ (complete remission) vyžadující stanovení volných lehkých řetězců, respektive jejich normalizaci. Ta byla zavedena bez důkladné validace a následně se ukázalo, že tato kategorie je prognosticky nepodstatná a přestala se reálně klinicky používat. I přidání kategorie molekulární CR s definicí PCR negativity při vyšetření kostní dřene lze považovat za krok sice dobrý, ale v roce 2006 bezvýznamný. Následné úpravy v letech 2011 a 2016 lze potom nazvat optimalizací. Zpět byla zavedena kategorie „minimální léčebná odpověď“, nově byla zahrnuta kategorie imunofenotypová kom-

Tab. 2. Definice minimální reziduální choroby podle IMWG 2016

|                         |  |
|-------------------------|--|
| Trvající MRD-negativita | MRD negativita při vyšetření kostní dřene (pomocí průtokové cytometrie <i>nebo</i> NGS <i>nebo</i> obojí) a při zobrazovacím vyšetření (PET/CT <i>event.</i> MR/PET/CT) trvajících minimálně 1 rok |
| „Flow“ MRD-negativita   | absence fenotypově abnormálních klonálních plazmatických buněk v aspirátu kostní dřene při použití Euroflow nebo obdobného protokolu s minimální citlivostí 1 z 10 <sup>5</sup> jaderných buněk    |
| NGS MRD - negativita    | absence klonu plazmatických buněk při vyšetření pomocí vyšetření NGS metodou LymphoSIGHT nebo ekvivalentní validovanou metodou s minimální citlivostí 1 z 10 <sup>5</sup> jaderných buněk          |
| PET/CT plus MRD-neg.    | MRD negativita stanovená pomocí průtokové cytometrie <i>nebo</i> NGS (viz výše) a dále normalizace zobrazení při PET/CT vyšetření  |

Vysvětlivky: MRD – minimální reziduální onemocnění; PET/CT – pozitronová emisní tomografie v kombinaci s počítačovou tomografií; MR – magnetická rezonance; flow MRD – MRD stanovena pomocí průtokové cytometrie; NGS – sekvenování další generace.

pletní remise s jistou limitací významu, ale zjevným směřováním k vyhodnocení MRD. Finálně v roce 2016 byla upřesněna definice molekulární remise, respektive MRD negativity s možností vyhodnocení jak průtokovou cytometrií, tak s použitím sekvenování nové generace [24, 25]. V tabulce 2 jsou uvedena platná kritéria pro MRD od roku 2016. Přes velkou kritiku některých členů je IMWG vydala s vědomím, že jejich platnost bude mít doslova jepičí život. Jak je poučeným čtenářům jasné, téměř hned po vydání byla kritéria již stará a jejich úprava bude provedena v roce 2019.

Z celosvětového pohledu lze považovat za důležité, že se základní rámec hodnocení léčebné odpovědi za posledních 25 let nezměnil. Je ohraničen na jedné straně definicí biochemické kompletní remise a na druhé straně definicí progresu. To umožňuje dobře porovnávat výsledky léčby v různých obdobích. Tato definice je celosvětově uznávaná a především aplikovatelná v 75 % zemí světa. Až zavedení nových léčebných metod dosahujících významný počet kompletních remisí si následně vynutil, podobně jako u jiných krevních nádorů, podrobnější definici kompletní remise za meze imunobiochemických metod. A to naštěstí technologický pokrok v druhé dekádě tohoto století již umožnil. Od dvoubarevné průtokové cytometrie jsme se za 25 let přesunuli ke klinicky využívanému osmibarevnému vyhodnocení průtokovou cytometrií a výzkumně jsme ještě dále.

V České republice je celoplošně kvalita stanovení léčebné odpovědi na mimořádně vysoké úrovni. O dostupnosti vyhodnocení MRD pomocí průtokové cytometrie jsou informace uvedeny v odstavci 2.3 a Česká myelomová skupina má pro potřeby interních

vyhodnocení zajištěnu možnost vyhodnocení MRD i pomocí sekvenování nové generace. Víme však, že dynamika v této oblasti bude velká, zvláště věříme ve zjednodušení a zlevnění metod. Zcela zásadní pokrok, na který čekáme, bude možnost vyhodnocení MRD jen ze vzorku periferní krve oproti stávající nutnosti vyhodnocení ze vzorku kostní dřeně. To je velkou limitací pro kvalitní a časté monitorování MRD u mnohočetného myelomu.

### 2. 3 Prognostická kritéria

Za pozoruhodné lze označit skutečnost, že systém stanovení klinického stadia podle Durieho a Salmona, který byl docela starý již před 25 lety (vznikl v roce 1975, tabulka 3) má v roce 2018 stále své uplatnění [26]. Více než ¼ světa jej stále používá při vstupním popisu onemocnění. Pana doktora Salmona jsem osobně nepoznal. Pana doktora Durieho ano. Sám si nikdy nemyslel, že něco takto empiricky vytvořeného může být používáno tak dlouho. Skutečností je, že svět se v té době ani příliš nesnažil, neboť výstupy jakékoliv léčby byly podobné. K řadě nastavených tzv. „cut-off“ hodnot v různých systémech se přistupovalo často více s klinickým citem a pocitem experta, než že by došlo k analýze robustních dat s využitím statistických nástrojů. Přinejmenším ve srovnání s dnešní dobou. Klasickým příkladem je například nastavení hranice 20 % cirkulujících plazmocytů v periferní krvi pro diagnózu plazmocelulární leukemie. Tuto hranici používáme dodnes, přestože jsme si jisti, že nikdy v minulosti neproběhla žádná věrohodná validace takového nastavení. Víme, že na začátku šlo o „pocit experta“, kde hranice má být (osobní komunikace s R. Kyle). V průběhu 25 let lze pozorovat jistý vývoj, třebaže použití všech dalších

Tab. 3. Stanovení klinického stadia mnohočetného myelomu podle Durieho a Salmona, 1975

|  |  |  |
|--|--|--|
| <b>I. stadium</b>  | Jsou splněny všechny níže uvedené podmínky:<br>koncentrace Hb > 100 g/l<br>koncentrace Ca < 3 mmol/l<br>normální kostní struktura anebo solitární kostní ložisko plazmocytomu<br>relativně nízká koncentrace M-Ig:<br>a) M-IgG < 50 g/l, b) M-IgA < 30 g/l,<br>c) exkrece lehkých řetězců v moči < 4 g/24 hodin                              | Masa nádorových buněk:<br><br>< 0,6 x 10 <sup>12</sup> /m <sup>2</sup> |
| <b>II. stadium</b>   | Nejsou splněny podmínky prvního ani třetího stadia.  | 0,6–1,2 x 10 <sup>12</sup> /m <sup>2</sup>                             |
| <b>III. stadium</b>  | Je splněna alespoň jedna z následujících podmínek:<br>koncentrace hemoglobinu < 85 g/l<br>zvýšená koncentrace Ca > 3 mmol/l<br>pokročilé poškození skeletu s mnohočetnými osteolytickými ložisky a/nebo zlomeninami<br>vysoké koncentrace M-Ig: a) M-IgG > 70 g/l, b) M-IgA > 50 g/l, c) vyloučení > 12 g lehkých řetězců moče za 24 hodiny. | > 1,2 x 10 <sup>12</sup> /m <sup>2</sup>                               |
| Subklasifikace:<br>A – kreatinin < 177 μmol/l (2 mg/ml)<br>B – renální insuficience s retencí dusíkatých látek, kreatinin > 177 μmol/l |  |  |

dostupných prognostických systémů má své limity. Mezinárodní prognostický systém (ISS – *International Staging System*) představený poprvé v roce 2005 byl po dlouhé době prvním prognostickým systémem u MM, u kterého můžeme říct, že byl skutečně robustněji validován [27]. „V jednoduchosti je krása“. Použití dvou jednoduchých biochemických parametrů (albumin a beta2 mikroglobulin) umožnilo nepochybně celosvětové využití ISS. Je nepřehlédnutelné, že z pohledu MM jde o důležité parametry. Snaha o zlepšení ISS v podobě revidovaného ISS (R-ISS), představeného v roce 2015, zůstala tak nějak na půl cesty [28]. Zatímco doplnění původního indexu o hodnotu laktátdehydrogenázu lze považovat z pohledu využitelnosti za neutrální, nutnost znalosti stavu chromozomálních abnormalit (viz odstavce 1.4) je velkou limitací indexu pro celosvětové využití. Je dokonce možné, že zůstane především stratifikačním nástrojem pro klinické studie. Za frustrující pro experty lze možná označit fakt, že dnes nemáme věrohodný prognostický model v relapsu onemocnění, třebaže původní ISS a R-ISS dílem fungují.

V této oblasti se snaží být aktivní Česká myelomová skupina. Podílí se na vývoji prognostických nástrojů u MGUS, SMM (*smouldering myeloma*; doutnající myelom) a MM [29, 30, 31]. Nejnověji byl navrhnutý prognostický systém „*Risk-Stratification Algorithm*“ (RSA) pro nemocné s relapsem MM. Systém poprvé unikátním způsobem zahrnuje data o agresivitě onemocnění, fragilitě nemocných a kombinuje je s výstupy minulé léčby. Je však komplikovaný a podle výše uvedeného lze předpokládat, že to bude i jeho největší limitace [31]. Je jisté, že prognostické nástroje by se u mnohočetného myelomu měly zlepšit. Uvidíme, zda k tomu technologický pokrok a zvyšující se dostupnost nejmodernějších metod v oblasti analýzy genomu a proteomu nějak zásadně přispějí. Zatím ne. Při stávající dostupnosti bioinformatických nástrojů a limitované praktické zkušenosti s nimi jde spíše na konci této dekády o stav „výkladového zmatku“. Aspoň tomu tak je u MM. Je potřeba zůstat pozitivní, neboť tato oblast se bouřlivě vyvíjí a je jisté, že dříve nebo později dojde ke zjednodušení výstupů a jejich vyšší použitelnosti v klinické praxi. V roce 2018 je skutečností, že nejdůležitějším prognostickým faktorem se stává léčebný výstup – dosažení MRD negativity. Bohužel se u MM za posledních 25 let nijak neposunul vývoj v oblasti prediktivních nástrojů.

### 3 Léčebné nástroje u MM

Před 25 lety byla část světa (nejvyspělejší země Evropy a USA) již 5 let plně v éře druhého klíčového pokroku v léčbě mnohočetného myelomu po zavedení alkylačních léků a glukokortikoidů do léčby MM v 70.

letech minulého století. Tím pokrokem bylo zavedení autologních transplantací do léčby mnohočetného myelomu. V České republice byla tato metoda zavedena v polovině 90. let minulého století.

Následující pokrok znamenal postupně objevení a ověření účinnosti dalších léků v první dekádě tohoto století (thalidomid, bortezomib, lenalidomid) a v druhé dekádě (pomalidomid, carfilzomib, ixazomib, elotuzumab, daratumumab, panobinostat) včetně testování nových léků či postupů v posledních 3 letech (isatuximab, melflufen, selinexor, venetoclax, CAR-T buněčná terapie, bispecifické protilátky, ...). Zajímavé je, že klíčový pokrok vždy přinesly léky, které se používají doposud, třebaže jejich použití bylo zahájeno před 40, 30 či 20 lety. Tak to platí o melfalanu a glukokortikoidech, autologní transplantaci a thalidomidu [1]. Zcela jistě to bude platit o monoklonální protilátce či protilátkách anti-CD38. Nejnověji lze v oblasti hematonekologie považovat za průlomové využití moderních protokolů buněčné imunoterapie. U významně předléčených nemocných s MM dosahuje jednorázové použití CAR-T buněk 60–100% léčebné účinnosti s významným podílem kompletních remisí (30–50 %) včetně dosažení MRD negativity [32].

Je jen obtížné krátce popsat dynamiku vývoje léčby, která byla lenivá až do představení autologních transplantací, ale skutečně mimořádnou dynamičnost nabrala až na začátku druhé dekády. U nemocných nevhodných k provedení autologní transplantace jsme v roce 1993 byli uprostřed éry použití režimu VAD (vin-kristin, doxorubicin, dexametazon), toxického, ale velmi účinného režimu vyžadujícího kanylaci centrální žíly a zpravidla 4denní hospitalizaci. Po nástupu thalidomidu a následně bortezomibu a lenalidomidu jsme byli svědky významného přesunu našich nemocných do ambulantního režimu. Dnes je tento trend dokonán a naopak se objevují nové typy imunoterapie vyžadující přinejmenším krátkodobou hospitalizaci s ohledem na bezpečnost nemocného.

V roce 2018 máme k dispozici nejméně 12 účinných léků s možností různých kombinací. Jejich přehled naleznete v příložené tabulce 4. Doba je skutečně mimořádná, odborně vzrušující. Není například neobvyklé, že v 2.–4. léčebné linii dosahujeme v roce 2018 paradoxně lepších výsledků než u nemocných s novou diagnózou, neboť nemocné s novou diagnózou nemůžeme léčit moderními trojkombinacemi.

Přehodnotili jsme hodnotu prvního léčebného cíle. Nejprve to bylo dosažení aspoň parciální remise, pod vlivem francouzských studií jsme se na začátku tohoto století posunuli k velmi dobré parciální remisi. Když počet dosažitelných remisí u nově diagnostikovaných

Tab. 4. Léčebné možnosti v roce 2018

| ND MM               | Relaps 1 | Relaps 2  | Relaps 3  | Relaps 4  |
|---------------------|----------|-----------|-----------|-----------|
| MPT                 | (DRd)    | (DRd)     | (DRd)     | Pom D     |
| VMP                 | (IRd)    | (IRd)     | (IRd)     | (VPomD)   |
| (RVd)<br>KRd<br>KRd |          |           | KRd       | Dara mono |
| VTd                 | Elo Rd   | Elo Rd    | Elo Rd    | (Dara Vd) |
| VCd                 | (RVd)    | (RVd)     | (RVd)     | VTd       |
| Rd                  | Rd       | Dara Vd   | (Dara Vd) | (RVd)     |
|                     |          | (Pano Vd) | (Pano Vd) |           |
|                     |          | (Kd)      | Kd        |           |
|                     |          | Pom D     | Pom D     |           |

Vysvětlivka: Režimy uvedené v závorce nemají k 12/2018 schválenou úhradu. ND – nová diagnóza, MM – mnohočetný myelom, M – melfalan, T – thalidomid, R – lenalidomid, V – bortezomib, Dara – daratumumab, Elo – elotuzumab, Pano – panobinostat, D/d – dexametazon, P – prednison, Pom – pomalidomid, C – cyklofosfamid, I – ixazomib, K – karfilozmib, mono – monoterapie

nemocných dosáhl asi 50 %, stalo se o deset let později prvním cílem dosažení kompletní remise. Není tedy překvapení, že dnes by mělo být cílem spíše dosažení MRD negativity a léčba do 4. linie by měla být aktivně vyměněna, pokud není dostatečně účinná. U nově diagnostikovaných MM dosáhnou dnes ty neúčinnější postupy kompletní remise v 80–90 % včetně 70–80 % MRD negativity [1].

Změnili jsme formulaci „mnohočetný myelom je nevléčitelným onemocněním“ a snažíme se formulovat nově „operational cure“ – stav, kdy nemocní zůstávají po jedné léčebné linii v hluboké kompletní remisi nejméně 10 let, nejsou dále léčeni a následně někdy zemřou z jiného důvodu. Takových nemocných je asi 10 %, pokud byli léčeni jen autologní transplantací (z dat nemocných první dekády tohoto století). Tento podíl se významně zvyšuje a bude dále zvyšovat tak, jak se významně posunují mediány celkového přežití při zavádění nových léků, v dnešní době trojkombinací, do naší komplexní léčebné strategie [1, 33].

Ve světě je díky rychlému pokroku situace významně nerovnoměrná. Je jen málo států i v ekonomicky silné části Evropy, které si mohou dovolit indikovat tu nejmodernější léčbu podobně jako v USA. Měsíční cena trojkombinací přesahuje zpravidla více než 200 tisíc Kč, často víc než 300 tisíc Kč. Osm desetin světa si takovou léčbu nemůže dovolit. Situace v České republice není zlá, třebaže dostupnost nových léků je stále limitovaná. Česká republika patří mezi nejvyspělejší země s transplantačním programem, který probíhá ve všech univerzitních centrech dlouhodobě na vysoké odborné úrovni. V roce 2018 jsou zatím z moderních trojkombinací schváleny dvě (carfilozmib-lenalidomid-dexametazon a elotuzumab-lenalidomid-

-dexametazon) a dalších 5 trojkombinací žádá o úhradu (ixazomib, daratumumab, panobinostat). V roce 1993 byla péče v České republice rovnoměrně a kvalitně rozložena a tento stav trval až do roku 2010. Poté přechodně zakolísal, ale nakonec se všechna univerzitní centra vyrovnala s ekonomickou zátěží dvou nových léků – bortezomibu a lenalidomidu. Skutečností je, že poprvé od roku 2016 hovoříme o nerovnoměrné dostupnosti péče o nemocné s MM v České republice, což samozřejmě souvisí s ekonomickou zátěží a celkovou kondicí jednotlivých univerzitních pracovišť. Pravdou je, že v celém oboru hematologické došlo v poslední dekádě k významnému zlepšení léčebných možností. Prodlužuje se přežití nemocných (u MM prevalence stoupla od roku 1990 téměř 3krát) a dochází k významné kumulaci nemocných. Všechna pracoviště pracují na hranicích nebo dokonce za hranicích svých možností. Některá univerzitní pracoviště musela redukovat svůj program a lůžkový fond.

## SPOLEČENSKÉ A ODBORNÉ AKTIVITY U MNOHOČETNÉHO MYELOMU

V roce 1993 již byla aktivní organizace International Myeloma Foundation (IMF), vedená Susie Novis, která ji vede doposud. Její aktivity byly zaměřeny směrem k nemocným s MM především v USA. Během 25 let se záběr IMF stal celosvětovým, s nejnovějšími aktivitami v oblasti Asie a rozvojem aktivit v oblasti Jižní Ameriky. Jen Afrika doposud není v zorném poli tohoto nadačního fondu. Jde o nejvýznamnější nadační fond na světě. Snaha o vznik podobného tělesa v první dekádě tohoto století v rámci EU se víceméně nezdařila. Za zmínku stojí anglický nadační fond (IFM UK), který je podle mého názoru nejlépe organizovaným fondem na

národní úrovni. „Česká myelomová skupina, nadační fond“ vznikl v listopadu 2012 a spolu s „Klubem pacientů mnohočetný myelom“, který vznikl neformálně v roce 2007 a formálně v listopadu 2014, spolupracují na řadě edukačních aktivit a vybraných charitativních akcích v České republice.

V roce 1993 reprezentoval IFM, respektive její součást IMWG, i odborné aktivity u MM. Opět především v oblasti USA a vyspělých zemí EU. Má podobný vývoj, třebaže jeho celosvětový záběr je dnes omezen konkurencí aktivitami a organizacemi. Pro IMWG jsou dnes charakteristické aktivity vydávání mezinárodních doporučení a společné analýzy dat u vybraných projektů. Odbornou záštitu, nejméně nad kongresy týkající se MM, převzala od roku 2008 International Myeloma Society (IMS), jejíž význam a role v myelomové komunitě přes obtížné začátky postupně stoupá. V rámci EU vznikla v roce 2005 European Myeloma Network (EMN) jako reakce na velkou sílu národních myelomových skupin ve Francii a Španělsku, které získávaly nejvýznamnější klinické studie. V posledních dvou letech však dochází k vyšší koordinaci a vzniku řady společných aktivit. I španělská, anglická a francouzská myelomová skupina se postupně zapojuje do vybraných aktivit EMN a stávají se její součástí.

Česká myelomová skupina (CMG) byla v roce 1996 založena nejdříve jako „dobrovolné sdružení lékařů“, aby se stala následně formálním právním tělesem nejprve s dovětkem „občanské sdružení“ a po změně legislativy „spolek“. Její zaměření je odborné. Podporuje aktivně standardizaci řady výzkumných a klinických aplikovatelných metod v oblasti monoklonálních gamapatií, pořádá odborné semináře a workshopy na národní i mezinárodní úrovni. Od roku 2007 se stala oficiálním part-

nerem IMF, od roku 2005 se podílí na aktivitách EMN, především spolupracuje na akademických klinických studiích. Zcela zásadní a celosvětově uznávanou aktivitu představuje registr RMG (Register of monoclonal gammopathy), dnes pravděpodobně největší a nejkvalitnější registr s reálnými daty u mnohočetného myelomu a dalších monoklonálních gamapatií na světě. Po 11 letech od jeho založení, právě v listopadu 2018, dosáhl registr počtu 10 000 zařazených nemocných. Všem nemocným, kteří souhlasili se vstupem do registru, všem lékařům a především všem data-manažerkám patří mimořádné a upřímné poděkování.

### Ukončené aktivity za 25 let aneb o pomíjivosti

Před 25 lety bylo arkansaské pracoviště v Little Rocku v USA vedené profesorem Barlogie v začínajícím rozkvětu. Měl jsem tu čest zde právě v tomto období dlouhodoběji být a byla to pro mě životně a odborně významná zkušenost. Jednak zde byl poprvé popsán významný účinek thalidomidu u mnohočetného myelomu. Především se však pracoviště, respektive prof. Barlogie proslavil svým agresivním přístupem k léčbě MM. Jeho vize byla léčit MM stejně agresivně jako akutní leukemie, což bylo ve své době velmi revoluční a neakceptovatelné pro většinu myelomové komunity. Různé typy protokolů *Total Therapy* známé svoji velkou intenzitou a zařazením povinné tandemové autologní transplantace se staly světoznámé. Nemocní jezdili do jím vedeného „Myeloma Institute for Research and Therapy, University of Arkansas for Medical Sciences“ z celého světa po dobu nejméně 20 let, aby dostali tu nejlepší léčbu na světě. A výsledky léčby byly na danou dobu mimořádné: 10letá doba do progresu (PFS) a dosažení kompletních remisí (CR) se postupně zvyšovaly s čísly protokolů *Total Therapy* (TT): PFS 8,8 %/CR 17,9 %



**Obr. 1.** Pravidelné roční setkání členů České myelomové skupiny v Mikulově



**Obr. 2.** Pravidelné roční setkání pacientů pořádané ve spolupráci Klubu pacientů s mnohočetným myelomem s Českou myelomovou skupinou a nadačním fondem v Lázních Bohdaneč

## HÁJEK R.

pro TT1, 25,1%/35,6 % pro TT2 rameno s thalidomidem, 32,9%/48,8 % in TT3 pro rameno s thalidomidem a bortezomibem. Bylo propočítané, že část nemocných bude vyléčená [34]. Pracoviště bylo v období 2000–2010 považováno za jedno ze tří nejlepších pracovišť na světě v oblasti MM a profesor Barlogie byl v roce 2006 vyhlášen nejlepším lékařem roku v USA. Doba se však změnila. Objevila se řada nových léků a léčebných možností, které jsou mimořádně účinné a dostupné v řadě myelomových center ve světě. Profesor Barlogie již několik let v centru nepracuje. Přestal být důvod jezdit za ním do Arkansasu. Řada dalších faktorů potom způsobila, že Myeloma Institute for Research and Therapy bude od roku 2019 zrušen. I to se může během 25 let stát.

## ZÁVĚR

Léčba mnohočetného myelomu se v průběhu posledních 25 let zásadně změnila, a to díky novým účinným léčebným možnostem. V České republice je kvalita péče o nemocné s MM na velmi dobré úrovni. K ní přispívají i společné odborné a edukační akce České myelomové skupiny a jejího nadačního fondu ve spolupráci s Klubem pacientů mnohočetný myelom uspořádané v posledních 15 letech (obr. 1 a 2). Dílem se daří rychle implementovat technologický vývoj do klinické praxe i následovat pokrok v moderní léčbě. Ekonomické nastavení v České republice je limitující, respektive nastavený systém úhrady nákladných léků nereaguje na dynamiku vývoje moderní léčby v hematologii. Univerzitní pracoviště jsou trvale pod mimořádným tlakem. Každým rokem však stoupá nemocným naděje na lepší prognózu a šanci na vyléčení. Pokud by šel pokrok takto dramaticky vpřed, zůstane nevyléčitelná za dalších 25 let jen menší část nebo dokonce velmi malá část nemocných.

## LITERATURA

- Hájek R, Krejčí M, Maisnar V, et al. Diagnostika a léčba mnohočetného myelomu. Doporučení vypracované Českou myelomovou skupinou, Myelomovou sekcí České hematologické společnosti a Slovenskou Myelomovou Spoločnosťou pro diagnostiku a léčbu mnohočetného myelomu. *Transfuzie Hematol dnes* 2018;24(Suppl 1):1–157.
- Hájek R, Adam Z, Maisnar V, et al. Diagnostika a léčba mnohočetného myelomu. Doporučení vypracované Českou myelomovou skupinou, Myelomovou sekcí České hematologické společnosti a Slovenskou Myelomovou Spoločnosťou pro diagnostiku a léčbu mnohočetného myelomu. *Transfuzie Hematol dnes* 2009;15(Suppl 2):1–80.
- Adam Z, Straub J, Študla V. Doporučení České myelomové skupiny (CMG) pro zajištění časně diagnostiky mnohočetného myelomu v podmínkách ambulantní klinické praxe. *Transfuzie Hematol dnes* 2008;14(2):93–94.
- Malušková D, Svobodová I, Kučerová M, et al. Epidemiology of multiple myeloma in the Czech Republic. *Klin Onkol* 2017;30:35–42.
- Landgren O, Kyle RA, Pfeiffer RM, et al. Monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS) consistently precedes multiple myeloma: a prospective study. *Blood* 2009;113:5412–5417.
- 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;47:673–680.
- Dispenzieri A, Kyle R, Merlini G, et al. International Myeloma Working Group guidelines for serum-free light chain analysis in multiple myeloma and related disorders. *Leukemia* 2009;23(2):215–224.
- Kyle RA, Durie BG, Rajkumar SV, et al. Monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS) and smoldering (asymptomatic) multiple myeloma: IMWG consensus perspectives risk factors for progression and guidelines for monitoring and management. *Leukemia* 2010;24:1121–1127.
- Bradwell AR, Harding SJ, Fourrier NJ, et al. Assessment of monoclonal gammopathies by nephelometric measurement of individual immunoglobulin kappa/lambda ratios. *Clin Chem* 2009;55:1646–1655.
- Študla V, Lochman P, Novák M, Píka T, Minařík J, Langová K. Analýza vztahu poměru volných lehkých řetězců (FLC-r, Freelite™), párů těžkých/lehkých řetězců imunoglobulinu (HLC-r, Hevlyte™) v séru a výsledků multiparametrické průtokové cytometrie plazmocytů k „progression free survival“ u mnohočetného myelomu. *Transfuzie Hematol dnes* 2016;22(1):14–27.
- Rajkumar SV, Dimopoulos MA, Palumbo A, et al. International Myeloma Working Group updated criteria for the diagnosis of multiple myeloma. *Lancet Oncol* 2014;15(12):e538–548.
- Cavo M, Terpos E, Nanni C, et al. Role of (18)F-FDG PET/CT in the diagnosis and management of multiple myeloma and other plasma cell disorders: a consensus statement by the International Myeloma Working Group. *Lancet Oncol* 2017;18(4):e206–e217.
- Kumar S, Paiva B, Anderson KC, et al. International Myeloma Working Group consensus criteria for response and minimal residual disease assessment in multiple myeloma. *Lancet Oncol* 2016;17(8):e328–e346.
- Minařík J, Hrbek J, Mysliveček M, et al. Racionální algoritmus zobrazovacích vyšetření u mnohočetného myelomu v podmínkách České republiky. *Transfuzie Hematol dnes* 2015;21(4):200–205.
- Kumar S, Paiva B, Anderson KC, et al. International Myeloma Working Group consensus criteria for response and minimal residual disease assessment in multiple myeloma. *Lancet Oncol* 2016;17:e328–e346.
- Munshi NC, Avet-Loiseau H, Rawstron AC, et al. Association of minimal residual disease with superior survival outcomes in patients with multiple myeloma: a meta-analysis. *JAMA Oncol* 2017;3:28–35.
- Shaughnessy JD Jr, Haessler J, van Rhee F, et al. Testing standard and genetic parameters in 220 patients with multiple myeloma with complete data sets: superiority of molecular genetics. *Br J Haematol* 2007;137(6):530–536.
- Chng WJ, Dispenzieri A, Chim CS, et al. IMWG consensus on risk stratification in multiple myeloma. *Leukemia* 2014;28:269–277.

# Pro delší přežití pacientů s nově diagnostikovaným a relabujícím mnohočetným myelomem<sup>1,2,3</sup>

First Line

Proven Foundation  
for Survival

**Revlimid®**  
(lenalidomide)

Strike, Stimulate,  
Synergize

Confident Control

## IMiD® Foundation

<sup>1</sup> San Miguel JF, et al. Clin Lymphoma Myeloma Leuk. 2010; 11: 38 - 43 <sup>2</sup> Facon T, et al. Final Analysis of Overall Survival From the FIRST Trial. ASH 2016, abstract 241

<sup>3</sup> McCarthy PL et al: Lenalidomide Maintenance After Autologous Stem-Cell Transplantation in Newly Diagnosed Multiple Myeloma: A Meta-Analysis, Journal of Clinical Oncology 35, no. 29 (October 2017) 3279-3289

### REVLIMID – základní informace o léčivém přípravku

▼ Tento léčivý přípravek podléhá dalšímu sledování. To umožní rychlé získání nových informací o bezpečnosti. Žádáme zdravotnické pracovníky, aby hlásili jakákoli podezření na nežádoucí účinky

**Před předepsáním si přečtěte úplný souhrn údajů o přípravku (SPC):**

**Název léku:** Revlimid 2,5/5/7,5/10/15/20 nebo 25 mg tvrdá tableta. **Složení:** Každá tableta obsahuje 2,5/5/7,5/10/15/20 nebo 25 mg lenalidomidu. **Indikace:** Revlimid je v monoterapii indikován k udržovací léčbě dospělých pacientů s nově diagnostikovaným mnohočetným myelomem, kteří podstoupili autologní transplantaci kmenových buněk. Revlimid je indikován k léčbě dospělých pacientů s doposud neléčeným mnohočetným myelomem, kteří nejsou vhodnými kandidáty pro transplantaci. Revlimid je v kombinaci s dexamethasonem indikován k léčbě dospělých pacientů s mnohočetným myelomem, kteří absolvovali alespoň jednu předchozí terapii. Revlimid je v monoterapii indikován k léčbě dospělých pacientů s relabujícím nebo refrakterním lymfomem z pláštěvých buněk (MCL). **Dávkování a způsob podání:** **Nově diagnostikovaný mnohočetný myelom:** Udržovací léčba lenalidomidem u pacientů, kteří podstoupili autologní transplantaci kmenových buněk (ASCT): Doporučená počáteční dávka lenalidomidu je 10 mg perorálně jednou denně průběžně (v 1. až 28. den opakovaných 28 denních cyklů) podávána až do progresse onemocnění nebo intolerance. Po 3 cyklech podávání udržovací dávky lenalidomidu může být dávka, pokud je tolerována, zvýšena na 15 mg perorálně jednou denně. V kombinaci s dexamethasonem až do progresse onemocnění u pacientů, kteří nejsou vhodnými kandidáty pro transplantaci je doporučená počáteční dávka lenalidomidu 25 mg perorálně jednou denně v 1. až 21. den opakovaných 28denních cyklů. V kombinaci s melifanem a prednisoneem s následnou udržovací monoterapií u pacientů, kteří nejsou vhodnými kandidáty na transplantaci, je doporučená počáteční dávka 10 mg/denně perorálně v 1. až 21. den opakovaných 28denních cyklů po dobu až 9 cyklů. **Mnohočetný myelom s alespoň jednou předchozí terapií:** Doporučená počáteční dávka lenalidomidu v kombinaci s lenalidomidem je 25 mg perorálně jednou denně v 1. až 21. den opakovaných 28denních cyklů. **Myelodysplastické syndromy:** 10 mg perorálně jednou denně 1. až 21. den v opakovaných 28denních cyklech. **Lymfom z pláštěvých buněk:** 25 mg perorálně jednou denně 1. až 21. den opakovaných 28denních cyklů. **Kontraindikace:** Hypersenzitivita na léčivou látku nebo na kteroukoli pomocnou látku. Těhotné ženy. Ženy, které mohou otěhotnět, pokud nejsou splněny všechny podmínky Programu prevence početí (PPP). **Upozornění:** Jsou očekávány teratogenní účinky lenalidomidu. Všechny pacientky i pacienti musí splňovat podmínky Programu prevence početí (PPP), pokud není spolehlivý důkaz o tom, že u pacientky je možnost otěhotnění vyloučena. Pacienti s rizikem vzniku infekčních komplikací by měli být pečlivě sledováni a poučeni, že v případě objevení se příznaků infekce mají okamžitě kontaktovat lékaře. U pacientů s poruchou ledvin se doporučuje sledovat funkci ledvin. Pacientům a lékařům se doporučuje sledovat možné známky a příznaky tromboembolie a měla by být zajištěna snaha o minimalizaci všech modifikovatelných rizikových faktorů (např. kouření, hypertenze, hyperlipidemie). Přípravky podporující erytropoézu či jiné přípravky, které mohou zvýšit riziko trombózy (například hormonální substituční terapie), je třeba používat se zvýšenou opatrností. Lenalidomid musí být vysazen v případě angioedému, vyrážky 4. stupně, exfoliační či bulózní reakce nebo v případě podezření na Stevens-Johnsonův syndrom (SJS) či toxickou epidermální nekrolýzu (TEN) nebo lékovou reakci s eosinofilií a systémovými příznaky (DRESS) a léčba nesmí být po ukončení z důvodu těchto reakcí obnovena. U pacientů s vysokým nádorovým zatížením před započatím léčby je riziko vzniku syndromu lýze tumoru a reakce vzplanutí tumoru. Být pozorovány závažné reakce aktivace virových onemocnění (např. herpes zoster nebo virové hepatitidy typu B (HBV)), včetně případů lymf. Léčba pacientů HBV pozitivních by měla být zahájena po konzultaci s odborníkem na léčbu HBV. Zvláštní pozornost musí být věnována pacientům s předchozí infekcí HBV, včetně pacientů anti-HBc pozitivních, ale HBsAg negativních. **Zvláštní skupiny pacientů:** Revlimid se nesmí používat u dětí a dospívajících od narození až do 18 let věku. Pacienti starší 75 let mají být před zvažováním léčby důkladně vyšetřeni z důvodu častějšího výskytu nežádoucích účinků. Pacienti s vyšší mírou poruchy funkce ledvin mohou mít větší toleranci léčby, proto je třeba při volbě dávky postupovat opatrně a doporučenou sledovat funkci ledvin. Účinky lenalidomidu u pacientů s poruchou jaterní funkce nebyly formálně sledovány a pro tuto skupinu neexistují specifické dávkovací doporučení. **Významné interakce:** Během léčby se doporučuje pečlivě sledovat hladinu Warfarinu a Dioxinu. Při podávání statinů s lenalidomidem existuje zvýšené riziko rhabdomyolýzy. **Hlavní nežádoucí účinky:** Hlavními toxicitami limitujícími dávku lenalidomidu jsou neutropenie a trombocytopenie. Byly hlášeny případy SJS/TEN a DRESS, alergických reakcí/hypersenzitivních reakcí, selhání jater, včetně fatálních případů, hypotyreózy a hypertyreózy. Být pozorován nástup dalších primárních malignit. **Podmínky uchovávání:** Tento léčivý přípravek nevyžaduje žádné zvláštní podmínky uchovávání. **Držitel rozhodnutí o registraci:** Celgene Europe BV, Winthoutlaan 6 N, 3526KV Utrecht, Nizozemsko. **Registrační čísla:** EU/1/07/391/001-009. **Poslední revize textu:** 29.6.2018 **Interní identifikace tištěného materiálu:** ZV/REV/2018/003.

**Výdej léku je vázán na lékařský předpis. Léčba je hrazena z prostředků veřejného zdravotního pojištění.**  
Adresa obchodního zastoupení: Celgene s.r.o., Novodvorská 994/138, Praha 4, 142 00.  
Kontakty pro nahlášení závažných nežádoucích účinků spojených s léčbou: [www.celgene.eu/czech\\_republic.asp](http://www.celgene.eu/czech_republic.asp)

Celgene, s.r.o.

Novodvorská 994/138

142 00 Praha 4, Česká republika

Tel.: +420 241 097 500 • Fax: +420 241 097 600 • [www.celgene.eu](http://www.celgene.eu)



## HÁJEK R.

19. Sonneveld P, Avet-Loiseau H, Lonial S, et al. Treatment of multiple myeloma with high-risk cytogenetics: a consensus of the International Myeloma Working Group. *Blood* 2016;127:2955–2962.
20. Ross FM, Avet-Loiseau H, Amedy G, et al. European Myeloma Network. Report from the European Myeloma Network on interphase FISH in multiple myeloma and related disorders. *Haematologica* 2012;97(8):1272–1277.
21. Rajkumar SV, Dimopoulos MA, Palumbo A, et al. International Myeloma Working Group updated criteria for the diagnosis of multiple myeloma. *Lancet Oncol* 2014;15:e538–e548.
22. Bladé J, Samson D, Reece D, et al. Criteria for evaluating disease response and progression in patients with multiple myeloma treated by high-dose therapy and haemopoietic stem cell transplantation. Myeloma Subcommittee of the EBMT. European Group for Blood and Marrow Transplant. *Br J Haematol* 1998;102(5):1115–1123.
23. Durie BG, Harousseau JL, Miguel JS, et al. International Myeloma Working Group. International uniform response criteria for multiple myeloma. *Leukemia* 2006;20(9):1467–1473.
24. Kumar S, Paiva B, Anderson KC, et al. International Myeloma Working Group consensus criteria for response and minimal residual disease assessment in multiple myeloma. *Lancet Oncol* 2016;17:e328–e346.
25. Rajkumar SV, Harousseau J-L, Durie B, et al. Consensus recommendations for the uniform reporting of clinical trials: report of the International Myeloma Workshop Consensus Panel 1. *Blood* 2011;117:4691–4695.
26. Durie BGM, Salmon SE. A clinical staging system for multiple myeloma cell mass with presenting clinical features, response to treatment and survival. *Cancer* 1975;36:842–854.
27. Greipp PR, San Miguel JF, Durie BGM, et al. International staging system for multiple myeloma. *J Clin Oncol* 2005;23:3412–3420.
28. Palumbo A, Avet-Loiseau H, Oliva S, et al. Revised international staging system for multiple myeloma: a report from International Myeloma Working Group. *J Clin Oncol* 2015;33:2863–2869.
29. Sandecká V, Hájek R, Pour L, et al. Czech Myeloma Group. A first Czech analysis of 1887 cases with monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Eur J Haematol* 2017; 99(1):80–90.
30. Hájek R, Pour L, Hose D, et al. The road to identification of patients with smoldering multiple myeloma at ultra-high risk of progression to symptomatic disease (manuskript v přípravě).
31. Hájek R, Delforge M, Raab MS, et al. A novel risk-stratification algorithm for relapsed multiple myeloma (RMM): Assessment of performance and validation using real-world patient data from France, Germany and the United Kingdom. (zasláno k tisku 2018).
32. Cohen AD. CAR T cells and other cellular therapies for multiple myeloma: 2018 update. *Am Soc Clin Oncol Educ Book* 2018;38:6–15.
33. Attal M, Lauwers-Cances V, Hulin C, et al. Study IFM. Lenalidomide, bortezomib, and dexamethasone with transplantation for myeloma. *N Engl J Med* 2017;376:1311–1320.
34. Barlogie B, Mitchell A, van Rhee F, Epstein J, et al. Curing myeloma at last: defining criteria and providing the evidence. *Blood* 2014;124(20):3043–3051.

**Čestné prohlášení**

Autor práce prohlašuje, že v souvislosti s tématem, vznikem a publikací tohoto článku není ve střetu zájmů a vznik ani publikace článku nebyly podpořeny žádnou farmaceutickou firmou.

*Doručeno do redakce dne 20. 11. 2018.*

*Přijato po recenzi dne 10. 12. 2018.*

**prof. MUDr. Roman Hájek, CSc.**





Klinika hematologické  
Fakultní nemocnice Ostrava  
17. listopadu 1790/5  
708 52 Ostrava-Poruba  
e-mail: roman.hajek@fno.cz

Inzercce A191000634 ▼

# Prodloužená doba přežití a snížená potřeba transfuzí\*



## Přípravek Vidaza je indikován k léčbě dospělých pacientů, kteří nejsou způsobilí pro transplantaci hematopoetických kmenových buněk:

-  s MDS\*\* intermediárního rizika 2. stupně a vysokého rizika podle Mezinárodního prognostického skórovacího systému (IPSS)
-  s CMML\*\*\*\* s 10-29 % blastů v kostní dřeni bez myeloproliferativního onemocnění
-  s AML\*\*\* s 20-30 % blastů a dysplazií ve více buněčných liniích, podle klasifikace Světové zdravotnické organizace (WHO)
-  s AML\*\*\* s > 30 % blastů v kostní dřeni podle klasifikace WHO, kteří nejsou vhodní k HSCT\*\*\*\*\* ve věku 65 let nebo starších

\* VIDAZA Souhrn údajů o přípravku, www.sukl.cz \*\* MDS - myelodysplastický syndrom \*\*\* AML - akutní myeloidní leukémie \*\*\*\* CMLL - chronická myelomonocytoová leukémie \*\*\*\*\* HSCT - transplantace hematopoetických buněk

### VIDAZA – základní informace o léčivém přípravku

Před předepsáním si přečtěte úplný souhrn údajů o přípravku (SPC).

**Název:** Vidaza **Složení:** Jedna injekční lahvička obsahuje 100 mg azacitidinu **Indikace:** léčba dospělých pacientů, kteří nejsou způsobilí pro transplantaci hematopoetických kmenových buněk (HSCT) s myelodysplastickými syndromy (MDS) rizika 2. stupně a vysokého rizika (IPSS), s chronickou myelomonocytoovou leukémií s 10-29 % blastů v kostní dřeni bez myeloproliferativního onemocnění, s akutní myeloidní leukémií (AML) s 20-30 % blastů a dysplazií ve více buněčných liniích, (dle WHO), léčba dospělých pacientů s AML s > 30 % blastů v kostní dřeni (dle WHO), kteří nejsou vhodní k HSCT. **Dávkování:** Pacienti musí být předlčení antiemetiky. Doporučená počáteční dávka pro první léčebný cyklus je 75 mg/m<sup>2</sup> povrchu těla, denně subkutánní injekcí, po dobu 7 dnů, po kterých následuje období 21 dnů bez podávání přípravku (28denní léčebný cyklus). Doporučuje se minimálně 6 cyklů. Léčba by měla trvat dokud je přínosem pro pacienta, nebo do progresivního onemocnění. **Kontraindikace:** Hypersenzitivita na léčivou látku nebo na kteroukoli pomocnou látku tohoto přípravku. Pokročilé maligní nádory jater. Kojení. **Hlavní nežádoucí účinky:** anémie, neutropenie a trombocytopenie, zejména během prvních 2 cyklů, gastrointestinální příznaky zahrnující nauzeu, zvracení, reakce v místě vpichu injekce. Nejzávažnější hlášené nežádoucí účinky jsou febrilní neutropenie, pneumonie (včetně fatálních případů) a krvácení (včetně intrakraniálního nebo gastrointestinálního krvácení). **Zvláštní skupiny pacientů:** **Dětská populace (0–17 let):** Nejsou dostupné žádné údaje. **Starší pacienti:** Pro starší pacienty není doporučena úprava dávky. Je vhodné sledovat funkci ledvin. **Upozornění:** Pacienti musí být upozorněni, aby okamžitě hlásili výskyt horečky. Pacientům i lékařům se doporučuje, aby si všimli jakýchkoli známek a příznaků krvácení. U pacientů s vysokou nádorovou zátěží z důvodu metastatického onemocnění bylo během léčby azacitidinem hlášeno progresivní hepatické kóma i smrt. Byly hlášeny renální abnormality počínaje zvýšenou hladinou sérového kreatininu až po selhání ledvin a smrt. Pacienti mají být poučeni, že je nezbytné neprodleně nahlásit vznik oligurie a anurie ošetřujícímu lékaři. U pacientů léčených přípravkem Vidaza byla hlášena nekrotizující fasciitida včetně případů s fatálním průběhem. U pacientů s vysokým nádorovým zatížením před započatím léčby je riziko vzniku syndromu nádorového rozpadu. **Těhotenství:** Muži a ženy ve fertilním věku musí používat během léčby a ještě 3 měsíce po ukončení terapie účinnou antikoncepci. **Podmínky uchovávání:** Tento léčivý přípravek nevyžaduje žádné zvláštní podmínky uchovávání. **Držitel rozhodnutí o registraci:** Celgene Europe BV, Winthontlaan 6 N, 3526KV Utrecht, Nizozemsko. **Registrační číslo:** EU/1/08/488/001 **Datum poslední revize:** 26. 9. 2018 **Interní identifikace tištěného materiálu:** ZI/VID/2018/0032. **Hrazeno z prostředků veřejného zdravotního pojištění. Výdej léčivého přípravku vázán na lékařský předpis. Adresa obchodního zastoupení:** Celgene s.r.o., Novodvorská 994/138, Praha 4, 142 00.

Kontakty pro nahlášení závažných nežádoucích účinků spojených s léčbou: [www.celgene.eu/czech\\_republic.aspx](http://www.celgene.eu/czech_republic.aspx)



### Kontakt

Celgene, s.r.o.  
Novodvorská 994/138  
142 00 Praha 4, Česká republika  
Tel.: +420 241 097 500  
Fax: +420 241 097 600  
[www.celgene.eu](http://www.celgene.eu)

# Posledních 25 let v diagnostice a léčbě myelodysplastického syndromu

Čermák J.

Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

*Transfuzní Hematol. dnes, 25, 2019, No. 1, p. 108-117*

## SOUHRN

Přehledné sdělení o vývoji diagnostiky a léčby myelodysplastického syndromu během posledních 25 let se shrnutím nových prognostických faktorů a terapeutických možností.

## KLÍČOVÁ SLOVA

myelodysplastický syndrom – diagnostika – prognóza – léčba

## SUMMARY

Čermák J.

### Last 25 years in the diagnosis and treatment of myelodysplastic syndrome

A review on the development of diagnostic and treatment procedures in patients with myelodysplastic syndromes in the course of last 25 years including new prognostic factors and treatment approaches.

## KEY WORDS

myelodysplastic syndromes – diagnosis – prognosis – treatment

## ÚVOD

Již v padesátých letech minulého století byly publikovány články ukazující, že část akutních leukemií vzniká až po různě dlouhém předchorobí, jež je charakterizováno cytopenií, která je do různé míry vyjádřena v jednotlivých krevních řadách, a dále postupným nárůstem nezralých myeloidních buněk v kostní dřeni a v periferní krvi [1]. Klinické příznaky těchto stavů

jsou odvislé od stupně postižení jednotlivých řad a zahrnují únavu, dušnost, opakované infekce a krvácení. Tyto stavy byly v minulosti nazývány preleukemií či doutnající leukemií [2]. V roce 1982 dostaly tyto choroby společný název myelodysplastické syndromy (MDS) a byla vytvořena jejich první mezinárodní klasifikace (tzv. FAB klasifikace) [3]. Základní podskupiny vytvořené FAB klasifikací jsou uvedeny v tabulce 1. FAB klasifikace

Tab 1. FAB klasifikace myelodysplastického syndromu [3]

| FAB subtyp  | Procento blastů ve dřeni | Procento prstenčitých sideroblastů | Další kritéria   |
|---|--------------------------|------------------------------------|--|
| <b>RA</b><br>(refrakterní anémie)   | < 5                      | < 15                               | < 1 % blastů v periferní krvi  |
| <b>RAS</b><br>(refrakterní anémie se zmnožením prstenčitých sideroblastů) | < 5                      | >15                                | < 1 % blastů v periferní krvi  |
| <b>RAEB</b><br>(refrakterní anémie s nadbytkem blastů)                    | 5–20                     | různé                              | < 5 % blastů v periferní krvi  |
| <b>CMML</b><br>(chronická myelomonocytární leukemie)                      | 1–20                     | různé                              | monocyty v periferní krvi<br>> 1x10 <sup>9</sup> / zvýšené % monocyty ve dřeni |
| <b>RAEB-T</b><br>(refrakterní anémie s nadbytkem blastů v transformaci)   | 21–30                    | různé                              | > 5 % blastů v periferní krvi<br>a < 30% blastů ve dřeni                       |

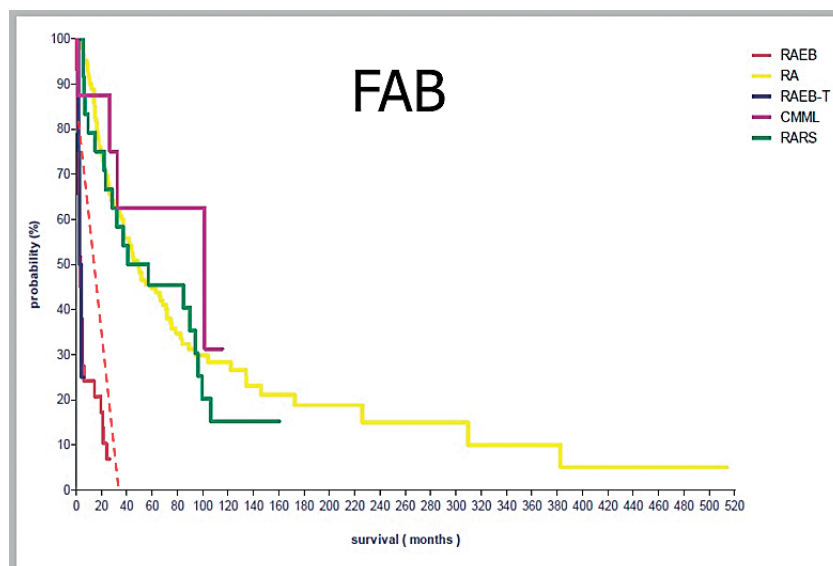
[podle Bennetta et al. Br J Haematol, 51, s. 189, 1982]

Tab. 2. Délka přežití neléčených nemocných v jednotlivých podskupinách podle FAB klasifikace

| Podskupina | Medián přežití (měsíce) | Přežití 1 rok [%] | Přežití 3 roky [%] | Přežití 5 let [%] | Přežití 10 let [%] |
|------------|-------------------------|-------------------|--------------------|-------------------|--------------------|
| RA         | 43,5                    | 89,7              | 60,3               | 46,0              | 27,8               |
| RARS       | 48,3                    | 79,2              | 58,3               | 50,0              | 16,7               |
| RAEB       | 3,5                     | 24,1              | 0                  | 0                 | 0                  |
| RAEB-T     | 3,3                     | 0                 | 0                  | 0                 | 0                  |
| CMML       | 34,3                    | 75,0              | 62,5               | 37,5              | 25,0               |
| RCC        | 93,0                    | 100,0             | 100,0              | 100,0             | 66,6               |

RCC – dětská refrakterní cytopenie

[data ÚHKT]

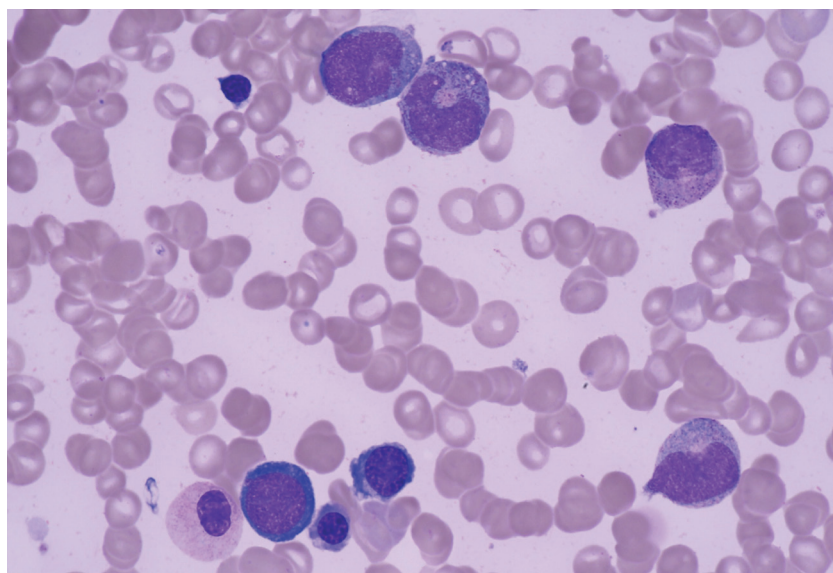


Obr. 1. Délka přežití neléčených nemocných s různými podtypy MDS podle FAB klasifikace [data ÚHKT]

jako první oddělila formy bez nadbytku blastů v kostní dřeni (RA, RARS), jež jsou spojeny s příznivější prognózou od prognosticky nepříznivých forem s nadbytkem blastů (RAEB, RAEB-T) a vytvořila základní prognostické parametry a podklady pro léčbu nemocných. V tabulce 2 a na obrázku 1 je uvedena délka přežití neléčených nemocných z registru ÚHKT rozdělených podle FAB klasifikace.

Počátkem osmdesátých let minulého století vznikla pod vedením doc. Neuwirtové skupina zabývající se MDS v Československu a začal vznikat registr nemocných s tímto onemocněním, který spolupracoval i se slovenskou MDS školou v rámci Československa (prof. Dieška, prof. Hrubíško, dr. Šteruská, dr. Mociková).

V této době byly k dispozici poměrně omezené diagnostické možnosti. Zásadní roli hrálo morfologické a cytochemické vyšetření aspirátu kostní dřene a morfologické vyšetření trepanobiopsického vzorku kostní dřene (obr. 2). K vyšetření změn karyotypu sloužilo vyšetření mitotických chromozomů barvených tzv. G-pruhováním podle Wrighta. Vyšetření pomocí průtokové cytometrie nebylo standardním vyšetřením a molekulárně genetická analýza byla teprve v počátcích. Poměrně omezené byly i léčebné možnosti. I když FAB klasifikace provedla základní rozdělení podtypů MDS na prognosticky příznivé a nepříznivé, chybělo jednotné schéma prognostických para-



Obr. 2. Dysplastické změny v erytropoéze a granulopoéze u nemocného s MDS

**Tab. 3.** Délka přežití nemocných s pokročilými stadii MDS před zavedením SCT a HMA do léčby pacientů s 10–29 % blastů ve dřeni

| RAEB-II a RAEB-T (10–29% blastů ve dřeni) |                 |                         |                   |                    |                   |                    |                     |
|---|-----------------|-------------------------|-------------------|--------------------|-------------------|--------------------|---------------------|
| Léčba                                     | Počet nemocných | Medián přežití [měsíce] | Přežití 1 rok [%] | Přežití 3 roky [%] | Přežití 5 let [%] | Přežití 10 let [%] | Progrese/relaps [%] |
| Podpůrná                                  | 16              | 2,5                     | 0                 | 0                  | 0                 | 0                  | 31,3                |
| Chemoterapie                              | 11              | 4,0                     | 0                 | 0                  | 0                 | 0                  | 36,7                |
| Id ARA-C                                  | 17              | 12,0                    | 52,9              | 29,4               | 11,7              | 0                  | 33,3                |
| Kombinovaná terapie                       | 46              | 9,0                     | 41,3              | 6,5                | 2,2               | 0                  | 50,0                |

Id ARA-C – níže dávkovaný cytosin arabinosid

[data UHKT]

metrů, i když bylo vytvořeno několik systémů v různých zemích (Velká Británie – Bournemouth, SRN – Düsseldorf, Francie – Lille, Španělsko – Valencia). V léčbě MDS se v 80. letech minulého století významně uplatňovala podpůrná léčba – podávání transfuzí červených krvinek a krevních destiček, i když příprava koncentrátů na separátorech krevních buněk nebyla ještě standardním postupem. Recidivující infekce byly léčeny podáváním širokospektrých antibiotik a později i antimykotik. Velmi rozšířené bylo podávání kortikosteroidů za účelem zvýšení vyplavení krevních elementů do periferní krve. Dávky byly často vysoké a efekt nebyl úměrný vyvolané imunosupresi. Podrobnější analýza naší skupiny ukázala, že efekt kortikosteroidů a jejich kombinace s dalšími imunosupresivy (např. cyklosporinem A) může být přítomen zejména tam, kde se na obraze cytopenie podílí tzv. imunitně podmíněné selhání kostní dřene [4]. Léčba

nemocných s pokročilými stadii MDS měla špatné výsledky (tab. 3). Kombinovaná chemoterapie sice byla schopna navodit remisi u části nemocných, ale bez další léčby došlo u všech nemocných k relapsu. Překvapivě dlouhodobý efekt mělo cca u 10–15 % nemocných podání nízkých dávek (10–40 mg s. c. denně) cytosin arabinosidu (viz tab. 3).

Během devadesátých let minulého století se ukázalo, že pro prognózu nemocných a pro zvolení optimální léčby mají význam i další faktory, nikoli pouze orientační rozdělení na nemocné s příznivou a nepříznivou prognózou podle FAB klasifikace. V roce 1997 byl publikován tzv. Mezinárodní prognostický skórovací systém (IPSS) vycházející z analýzy 816 neléčených nemocných s primárním MDS [5]. Tento systém stanovil jako základní prognostické parametry počet blastů v kostní dřeni, počet cytopenií v periferní krvi a počet a typ změn karyotypu (obr. 3). Toto rozdělení se ukázalo významné jak pro délku přežití, tak pro riziko leukemické transformace choroby (obr. 4). Retrospektivní analýza dat nemocných s MDS [6] ale současně ukázala, že ani skupina nemocných s časnou formou MDS není prognosticky jednotná. Nález naší skupiny [7] a dalších týmů sdružených v tzv. MDS Foundation byly podnětem pro revizi klasifikace MDS vydanou WHO v roce 2001 [8] (tab. 4). Hlavním přínosem této klasifikace bylo vyčlenění prognosticky méně příznivé skupiny MDS s dysplazií ve více řadách za skupiny refrakterních anémii na jedné straně a nemocných s izolovanou del(5q) s relativně lepší prognózou na straně druhé. Nemocní s > 19 % blastů ve dřeni byli zařazeni již do skupiny akutních myeloidních leukemií s multilineární dysplazií a nemocní

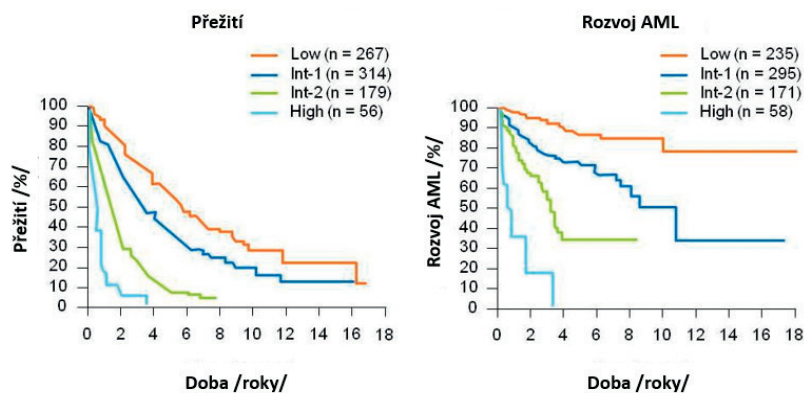
| I P S S                     |   | Hodnota skóre                     |      |     |       |       |
|-----------------------------|---|-----------------------------------|------|-----|-------|-------|
| PROGNOSTICKÝ FAKTOR         |   | 0                                 | 0.5  | 1   | 1.5   | 2     |
| Počet blastů ve dřeni / % / |   | <5                                | 5-10 | --- | 11-20 | 21-30 |
| Počet cytopenií             |   | 0-1                               | 2-3  |     |       |       |
| <u>Karyotyp</u>             |   | příznivý intermediární nepříznivý |      |     |       |       |
| /příznivý                   | = normální, -Y, del 5(q), del 20(q)   |                                   |      |     |       |       |
| nepříznivý                  | = komplexní změny (≥2 abnormality), abnormality 7. chromosomu               |                                   |      |     |       |       |
| intermediární               | = ostatní změny /   |                                   |      |     |       |       |
| <u>Cytopenie</u>            | Hb < 100 g/l, NS < 1.8 x 10 <sup>9</sup> /l, PLT < 100 x 10 <sup>9</sup> /l |                                   |      |     |       |       |
| <b>RIZIKO</b>               |   | <b>skóre</b>                      |      |     |       |       |
| Nizké                       |   | 0                                 |      |     |       |       |
| Intermediární - 1           |   | 0.5 - 1.0                         |      |     |       |       |
| Intermediární - 2           |   | 1.5 - 2.0                         |      |     |       |       |
| Vysoké                      |   | > 2.5                             |      |     |       |       |

Mezinárodní prognostický skórovací systém pro nemocné s myelodysplastickým syndromem (dle Greenberga et al., 1997).

**Obr. 3.** IPSS – Mezinárodní prognostický skórovací systém [5]

Tab. 4. WHO klasifikace MDS z roku 2001 [8]

| Podtyp   | Nález v periferní krvi   | Nález v kostní dřeni   |
|--|--|--|
| Refrakterní anémie (RA)  | Anémie (žádné či ojedinělé blasty)   | Izolovaná erytroidní dysplazie, < 5% blastů < 15% prstěncitých sideroblastů  |
| Refrakterní anémie s prstěncitými sideroblasty (RARS)                                  | Anémie   | Izolovaná erytroidní dysplazie, < 5% blastů ≥ 15% prstěncitých sideroblastů  |
| Refrakterní cytopenie s dysplazií ve více řadách (RCMD)                                | Cytopenie (bicytopenie či pancytopenie)<br>Žádné či ojedinělé blasty<br>Žádné Auerovy tyče<br>< 1 x10 <sup>9</sup> /l monocytů | Dysplazie ve ≥ 10% buněk ve 2 či 3 liniích, < 5% blastů, žádné Auerovy tyče, < 15% prstěncitých sideroblastů             |
| Refrakterní cytopenie s dysplazií ve více řadách a prstěncitými sideroblasty (RCMD-RS) | Cytopenie (bicytopenie či pancytopenie)<br>Žádné či ojedinělé blasty<br>Žádné Auerovy tyče<br>< 1 x10 <sup>9</sup> /l monocytů | Dysplazie ve ≥ 10% buněk ve 2 či 3 liniích, < 5% blastů, žádné Auerovy tyče, ≥ 15% prstěncitých sideroblastů             |
| Refrakterní anémie s excesem blastů-1 (RAEB-1)   | Cytopenie (bicytopenie či pancytopenie)<br>< 5% blastů<br>Žádné Auerovy tyče<br>< 1 x10 <sup>9</sup> /l monocytů               | Dysplazie v 1 či více liniích<br>5-9 % blastů ve dřeni<br>Žádné Auerovy tyče   |
| Refrakterní anémie s excesem blastů-2 (RAEB-2)   | Cytopenie<br>5-19% blastů<br>Auerovy tyče +/-<br>< 1 x10 <sup>9</sup> /l monocytů  | Dysplazie v 1 či více liniích<br>10-19 % blastů ve dřeni<br>Auerovy tyče +/-   |
| Myelodysplastický syndrom neklasifikovatelný (MDS-U)                                   | Cytopenie (bicytopenie či pancytopenie)<br>Žádné či ojedinělé blasty<br>Žádné Auerovy tyče                                     | Unilaterální dysplazie v granulocytární či megakaryocytární řadě,<br>< 5% blastů, žádné Auerovy tyče                     |
| MDS spojený s izolovanou del(5q)   | Anémie<br>< 5% blastů<br>Normální či zvýšený počet trombocytů  | Normální či zvýšený počet megakaryocytů s unilobulárním jádrem,<br>< 5 % blastů, žádné Auerovy tyče<br>Izolovaná del(5q) |



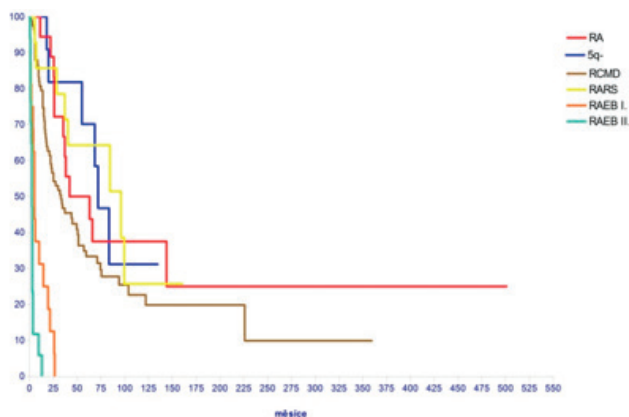
Obr. 4. Délka přežití a riziko leukemické transformace u nemocných v jednotlivých rizikových skupinách podle IPSS [5]

s chronickou myelomonocytární leukémií (CMML) byli přeřazeni do skupiny smíšených myelodysplasticko-myeloproliferativních syndromů. Na obrázku 5 je ukázána délka přežití neléčených nemocných z registru ÚHKT, která potvrzuje oprávněnost WHO klasifikace z roku 2001. Aktivita České MDS skupiny

byla oceněna i přidělením organizace 5. světového symposia o myelodysplastickém syndromu, jež se konalo v Praze v dubnu roku 1999. WPSS je prognostický systém kombinující WHO klasifikaci rizikové cytogenetické podskupiny podle IPSS a závislost na transfuzích [9, 10] (obr. 6).

Na přelomu minulého a současného století byly představeny nové diagnostické metody. Fluorescenční hybridizace *in situ* (FISH) umožnila diagnostiku chromozomálních změn na interfázních jádrech [11] (obr. 7), nicméně předpokládaný přínos této metody pro zpřesnění klasifikace nemocných podle IPSS se neukázal jako zásadní, i když

upřesnil detekci některých prognosticky významných aberací karyotypu (zejména na 5. a 7. chromozomu) [12]. Vyšetření karyotypu pomocí FISH je na místě tam, kde se nedaří získat mitózy pro vyšetření karyotypu pomocí G-pruhování. Další metodou



**Obr. 5.** Délka přežití neléčených nemocných s různými podtypy MDS podle WHO klasifikace z roku 2001

[data ÚHKT]

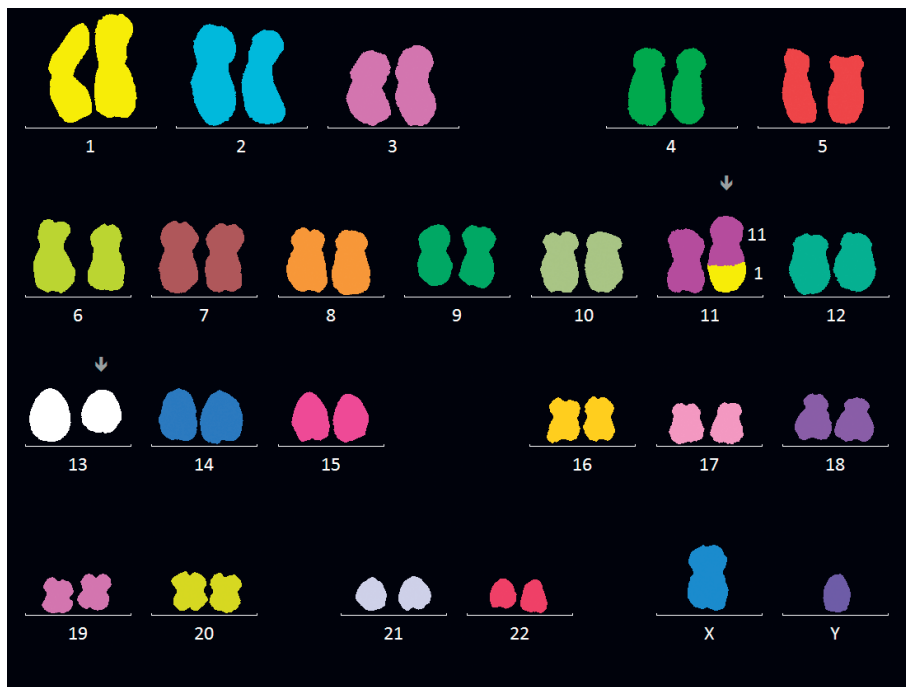
| Skóre                    | 0             | 1             | 2          | 3      |
|--------------------------|---------------|---------------|------------|--------|
| WHO kategorie            | RA, RARS, 5q- | RCMD, RCMD-RS | RAEB-1     | RAEB-2 |
| Karyotyp                 | příznivý      | intermediární | nepříznivý | -      |
| Závislost na transfuzích | ne            | ano           | -          | -      |

**Obr. 6.** WPSS – prognostický skórovací systém na bázi WHO klasifikace a závislosti na transfuzích erytrocytů

umožňující zpřesnění detekce změn karyotypu je vyšetření polymorfismu jednotlivých nukleotidů užitím vyšetření polymorfismu jednotlivých nukleotidů tzv. SNP (*single nucleotide polymorphism assay*), tuto metodu lze výhodně kombinovat s vyšetřením buněk v metafázi [13]. Vyšetření abnormalit exprese povrchových antigenů pomocí průtokové cytometrie prokázalo určité změny charakteristické pro diagnostiku nemocných s MDS [14] a v poslední době i pro jejich prognózu, nicméně, průtoková cytometrie

je stále pokládána jen za fakultativní metodu pro diagnostiku MDS.

Zavedení transplantace krvetvorných buněk (SCT) do léčby MDS vedlo k zásadní změně prognózy nemocných. Tato metoda je dodnes jediným kurativním přístupem k nemocným s MDS. Na obrázku 8 je porovnávající tříleté přežití u transplantovaných a netransplantovaných nemocných podle jednotlivých rizikových skupin podle IPSS [5, 15]. Z výsledků vyplývá, že nemocní s nízkým a středním-1 rizikem jsou indikováni spíše ke konzervativní léčbě, kdežto u nemocných se středním-2 a vysokým rizikem je transplantace metodou volby, pokud to dovoluje stav nemocného. Názor na podání kombinované chemoterapie před SCT u nemocných s nadbytkem blastů není zcela jednotný. Naše studie opakovaně potvrdily příznivý efekt redukce počtu blastů pod 10 % před SCT na incidenci relapsů i přežití [16]. U nemocných s časnými formami MDS (refrakterní anémie a refrakterní cytopenie s dysplazií ve více řádcích podle WHO 2001 klasifikace) je transplantace indikována u nemocných se středním-2 rizikem, tj. s hlubokou pancytopenií a nepříznivými změnami karyotypu. Nicméně příznivý efekt na dlouhodobé přežití se u nemocných s časnými formami choroby projevuje ve srovnání s pouhou podpůrnou léčbou až



**Obr. 7.** Vyšetření karyotypu nemocného s MDS pomocí mnohobarevné fluorescenční hybridizace *in situ* (mFISH)

| IPSS<br>riziko | SCT    |     |       | nonSCT |
|----------------|--------|-----|-------|--------|
|                | relaps | TRM | 3rDFS | 3rDFS  |
| LW             | 0      | 20  | 80    | 73     |
| IM-1           | 6      | 30  | 64    | 54     |
| IM-2           | 29     | 31  | 40    | 21     |
| H              | 42     | 29  | 29    | 6      |

Degg et al., 2002, Greenberg et al., 1998

Nemocní s časnými fázemi MDS (RA,RCMD) – k SCT indikování nemocní s IM-2 rizikem (tj. těžká cytopenie a nepříznivé změny karyotypu).

**Obr. 8.** Srovnání přežití transplantovaných a netransplantovaných nemocných v jednotlivých rizikových skupinách podle IPSS. TRM – mortalita spojená s transplantací, 3rDFS – tříleté přežití bez známek choroby [5, 15].

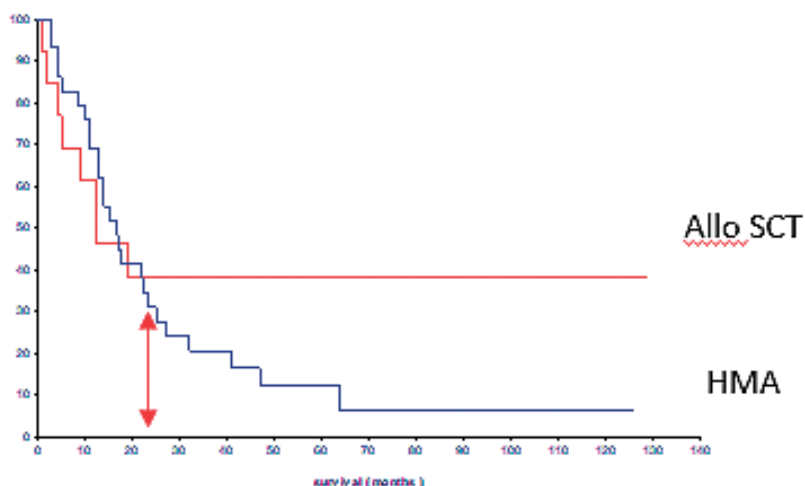
po více než 4 letech [16], příčinou je stále relativně vysoké procento komplikací v časně době po transplantaci na jedné straně a pozdní mortalita (často na onemocnění nesouvisající přímo s MDS) u netransplantovaných nemocných. Tento fakt byl také důvodem pro hledání nových léčebných přístupů, jež by zlepšily dlouhodobé přežití nemocných s časnými formami MDS, kteří nejsou indikováni k transplantaci.

Kombinovaná imunosuprese podle identických schémat užívaných u aplastické anémie je podávána zejména u nemocných s hypoplastickou formou MDS [17]. Efekt byl popsán u třetiny nemocných, nicméně do 5 let po podání antithymocytárního globulinu (ATG) došlo k relapsu či k progresi směrem k AML u poloviny nemocných [16, 17]. Z růstových faktorů jsou podávány zejména erytropoezu stimulující látky (ESA), nejčastěji erythropoetin alfa (EPO) či darbopetin alfa. Efekt těchto látek je závislý na přítomnosti alespoň určitého procenta funkční erytropoezy a absolutního či relativního deficitu endogenního erythropoetinu. Tyto faktory odráží i schéma predikce odpovědi na ESA [18], u nemocných s hladinou endogenního EPO v séru < 500 IU/l a závislostí na  $\leq 2$  TU erytrocytů měsíčně je pozorována odpověď u cca 70 % nemocných, u nemocných s hladinou EPO v séru < 100 IU/l pak dokonce u více než 80 % nemocných. Celkově lze říci, že efekt erytropoezu stimulujících látek je přítomen cca u třetiny nemocných s časnými stadii MDS. Přínos podávání agonistů trombopoetického receptoru u časných forem MDS zatím nebyl definitivně zhodnocen vzhledem k jejich možnému stimulačnímu účinku na produkci časných myeloidních prekursorů patologického klonu, jenž byl pozorován u některých nemocných.

Přetížení železem vzniká u nemocných s MDS jednak díky opakovanému přívodu transfuzemi, jednak díky jeho zvýšenému vstřebávání v důsledku přítomné anémie s hypoxií, která tlumí tvorbu hepcidinu. Důsledkem může být orgánové přetížení železem, jež je závažné zejména při postižení srdce a jater. Na přelomu tisíciletí byly do léčby přetížení železem zavedeny perorální chelátory, jež jsou užívány zejména u nemocných s časným MDS s dysplazií vyjádřenou především v erytropoeze, která vede k opakovanému podávání transfuzí [10, 19]. Z perorálních látek je užíván především deferasirox, deferiprone je méně výhodný jednak pro horší snášenlivost, jednak pro riziko vzniku agranulocytózy a je vyhrazen pro nemocné, kde nelze použít deferasirox (renální selhání, intolerance deferasiroxu) [20].

První dvě desetiletí nového tisíciletí jsou spojena jednak s rozvojem molekulárně genetických metod v diagnostice MDS a v hledání významu mutací některých genů pro prognózu nemocných, jednak s dalším rozvojem transplantačních metod a s rozšířením léčebných možností díky novým lékům. Metoda transplantace krvetvorných buněk s užitím redukovaného přípravného režimu sice umožnila provést transplantaci i u starších nemocných díky snížení peritransplantační mortality, na druhé straně se díky použití nemyeloablativních přípravných režimů zvýšilo procento po-transplantačních relapsů, takže rozdíl v dlouhodobém přežití nemocných nebyl při srovnání se standardně provedenou transplantací významný [21]. Význam SCT od haploidentického dárce u MDS zatím čeká na zhodnocení na rozsáhlejší skupině nemocných. Z řady metodik snažících se snížit riziko po-transplantačních relapsů včetně některých nových léků zatím žádná nevedla k zásadnímu přínosu pro nemocné.

Dvěma klíčovými skupinami léků, jež během posledních 15 let ovlivnily prognózu nemocných s MDS, jsou lenalidomid a hypometylační látky (HMA). Lenalidomid působí na několika úrovních, indukuje selektivní degradaci buněk s delecí 5q indukci jejich apoptózy, stimuluje erytropoezu ovlivněním aktivity p53 genu a má i imunomodulační účinek. Efekt lenalidomidu je tudíž nejprůkaznější u nemocných s izolovanou del(5q) [22]. Analýza našich nemocných léčených lenalidomidem ukázala dosažení nezávislosti na transfuzích po léčbě u více než 90 % nemocných s vymizením cytogenetické aberace u více než poloviny pacientů [23]. Zavedení HMA do léčby MDS významně zlepšilo prognózu zejména starších nemocných s pokročilými formami MDS, kteří nemohou být transplantováni. HMA (azacytidin, decitabin) jsou schopny ovlivněním stupně metylace genů uplatňu-



**Obr. 9.** Srovnání dlouhodobého přežití nemocných s pokročilými stadii MDS (RAEB-2, RAEB-T) léčených hypometylačními látkami (HMA) a alogenní transplantací krvetvorných buněk (alloSCT)

nemocných léčených jiným typem léčby [25]. Nicméně, naše retrospektivní analýza ukázala, že 3 roky přežívá jen 26 % a 5 let 3,8 % nemocných léčených azacytidinem oproti 49 % transplantovaných nemocných [16] – obrázek 9). Podávání HMA tedy výrazně zlepšilo krátkodobou prognózu nemocných s pokročilým MDS, kteří nemohou být transplantováni, ale výrazněji neovlivnilo jejich dlouhodobé přežití. V současné době jsou studovány další možnosti využití HMA, jednak jako alternativy kombinované chemoterapie za účelem redukce počtu blastů před SCT, jednak jako udržovací léčby po SCT či po kombinované chemoterapii za účelem prevence relapsu. Z léčiv studovaných v posledních dobách se jako nadějný přípravek jeví luspatercept, jenž ovlivňuje

stavební se v diferenciaci časných prekursorů obnovit jejich funkci, a navodit tak vyhasínající diferenciaci mladých buněk. Výsledkem je snížení počtu blastů ve dřeni a stabilizace krevního obrazu [24]. Léčba 162 nemocných léčených azacytidinem v rámci České MDS skupiny byla efektivní u více než 53 % nemocných s průměrnou dobou přežití ukázala průměrnou dobu přežití léčených nemocných 16,9 měsíce ve srovnání se 7,5 měsíců u nemocných léčených kombinovanou chemoterapií či podpůrnou léčbou, jeden rok přežívalo 60,6 % nemocných léčených azacytidinem vs. 29,9 %

stupeň inefektivní erytropoézy u časných forem MDS a tím zvyšuje hladinu hemoglobinu a snižuje závislost na transfuzích [26]. Rigosertib, efektivní blokátor proteinů produkovaných RAS genem, je schopen navodit efekt u části nemocných, u nichž selhala hypometylační léčba.

V letech 2009–2011 proběhla nová retrospektivní analýza neléčených nemocných s MDS za účelem revize IPSS [27]. Bylo hodnoceno 7 012 nemocných z 11 zemí, včetně nemocných z České republiky. Analýza však pouze potvrdila prognostický význam počtu blas-

**Tab. 5.** IPSS-R – revidovaný prognostický skórovací systém pro nemocné s MDS [27]

| Parametr   | Skórovací systém |                |            |            |                  |
|--|------------------|----------------|------------|------------|------------------|
|  | velmi dobrý      | dobry          | střední    | nepříznivý | velmi nepříznivý |
| Karyotyp   | 0                | 1              | 2          | 3          | 4                |
| % blastů ve dřeni                                | ≤ 2%<br>0        | >2 ≤ 5%<br>1   | 5-10%<br>2 | >10%<br>3  |                  |
| Hemoglobin (g/l)                                 | ≥ 10<br>0        | 8-<10<br>1     | <8<br>1.5  |            |                  |
| Absolutní počet neutrofilů (x10 <sup>9</sup> /l) | ≥ 0.8<br>0       | <0.8<br>0.5    |            |            |                  |
| Trombocyty (x10 <sup>9</sup> /l)                 | ≥100<br>0        | 50-<100<br>0.5 | < 50<br>1  |            |                  |

| Prognostické skupiny - riziko | Skóre     |
|-------------------------------|-----------|
| Velmi nízké                   | ≤ 1.5     |
| Nízké                         | > 1.5 - 3 |
| Střední                       | > 3 - 4.5 |
| Vysoké                        | > 4.5 - 6 |
| Velmi vysoké                  | > 6       |

tů ve dřeni, počtu a hloubky cytopenií v periferní krvi a změn karyotypu a provedla podrobnější prognostické rozdělení změn karyotypu a hloubky cytopenie v periferní krvi. Revidovaný Mezinárodní prognostický systém (IPSS-R) je uveden v tabulce 5. IPSS-R potvrdil, že nemocní s velmi nízkým a nízkým rizikem jsou indikováni ke konzervativní léčbě, zatímco nemocní

Tab. 6. WHO klasifikace MDS z roku 2016 [33]

| Název  | Počet dysplastických řad | Počet cytopenií | % prsténčitých sideroblastů ve dřeni | % blastů ve dřeni a periferní krvi       | Aberace karyotypu   |
|--|--------------------------|-----------------|--------------------------------------|--|---|
| MDS s dysplazií v jedné řadě (MDS-SLD)           | 1                        | 1-2             | < 15 % či < 5 %<br>+ mutace SF3B1    | BM < 5 %, PB < 1 %<br>bez Auerových tyčí | jakékoli<br>(krom kritérií pro MDS del(5q))               |
| MDS s dysplazií ve více řadách (MDS-MLD)         | 2-3                      | 1-3             | < 15 % či < 5 %<br>+ mutace SF3B1    | BM < 5 %, PB < 1 %<br>bez Auerových tyčí | jakékoli<br>(krom kritérií pro MDS del(5q))               |
| <b>MDS s prsténčitými sideroblasty (MDS-RS)</b>  |                          |                 |                                      |  |   |
| MDS-RS s dysplazií v jedné řadě (MDS-SR-SLD)     | 1                        | 1-2             | ≥ 15 % či ≥ 5 %<br>+ mutace SF3B1    | BM < 5 %, PB < 1 %<br>bez Auerových tyčí | jakékoli<br>(krom kritérií pro MDS del(5q))               |
| MDS-RS s dysplazií ve více řadách (MDS-RS-MLD)   | 2-3                      | 1-3             | ≥ 15 % či ≥ 5 %<br>+ mutace SF3B1    | BM < 5 %, PB < 1 %<br>bez Auerových tyčí | jakékoli<br>(krom kritérií pro MDS del(5q))               |
| MDS s izolovanou del(5q)                         | 1-3                      | 1-2             | +/-                                  | BM < 5 %, PB < 1 %<br>bez Auerových tyčí | del(5q) izolovaná či s 1 další aberací krom -7 či del(7q) |
| <b>MDS s nadbytkem blastů (MDS-EB)</b>           |                          |                 |                                      |  |   |
| MDS-EB-1   | 0-3                      | 1-3             | +/-                                  | BM 5-9 %, PB 2-4 %<br>bez Auerových tyčí | jakékoli  |
| MDS-EB-2   | 0-3                      | 1-3             | +/-                                  | BM 10-19 %, PB 5-19 %<br>či Auerovy tyče | jakékoli  |
| <b>MDS neklasifikovatelný</b>                    |                          |                 |                                      |  |   |
| s 1 % blastů v periferní krvi                    | 1-3                      | 1-3             | +/-                                  | BM < 5 %, PB = 1 %<br>bez Auerových tyčí | jakékoli  |
| s dysplazií v 1 řadě a pancytopenií              | 1                        | 3               | +/-                                  | BM < 5 %, PB < 1 %<br>bez Auerových tyčí | jakékoli  |
| založený na definované cytogenetické abnormalitě | 0                        | 1-3             | < 15 %                               | BM < 5 %, PB < 1 %<br>bez Auerových tyčí | abnormalita definující MDS                                |
| Refrakterní dětská cytopenie                     | 1-3                      | 1-3             | žádné                                | BM < 5 %, PB < 2 %                       | jakékoli  |

BM – kostní dřeň; PB – periferní krev.

s vysokým a velmi vysokým rizikem jsou indikováni k transplantaci. Stále není jednotný názor na léčbu nemocných se středním rizikem, mladší nemocní by měli být indikováni k transplantaci, u ostatních se očekává možný prognostický přínos nových, zejména molekulárně genetických faktorů. V roce 2013 byly Evropskou pracovní skupinou pro MDS vydány Doporučené diagnostické a léčebné postupy pro nemocné s MDS [28], tato pravidla se stala i základem pro Doporučené postupy u MDS vydané Českou pracovní skupinou pro MDS [29].

Molekulárně genetické studie se naplno rozvinuly během posledních 10 let díky zavedení nových technik sekvenování nové generace a celogenomového

sekvenování. Analýza ukázala prognostický význam přítomnosti a počtu tzv. „driver“ mutací, tj. mutací genů hrajících důležitou roli v regulaci buněčné proliferace a diferenciaci, a to jak u časných stadií MDS (EZH2, nRAS, ASXL1, RUNX1, TP53) [30], tak u všech skupin nemocných (ASXL1, RUNX1, TP53 a EZH2) [31]. Přítomnost určitých mutací typických pro MDS stoupá s věkem [32] a může mít i diagnostický význam při jinak nevysvětlitelné cytopenii zejména u starších nemocných. V roce 2016 byla publikována zatím poslední revize WHO klasifikace MDS [33] (tab. 6), ve které je již jedním z diagnostických kritérií pro MDS s prsténčitými sideroblasty **přítomnost mutace** sestřihového genu SF3B1. V současné době probíhá

rozsáhlá analýza molekulárně genetických dat nemocných hodnocených při tvorbě IPSS-R, jež by měla přispět k zařazení některých mutací do prognostických schémat. Obecná shoda zatím panuje o prognosticky nepříznivém významu přítomnosti mutace TP53 genu [34].

V současné době je pro další rozvoj léčby nemocných s MDS očekáváno zhodnocení přínosu vyšetření mutací genů hrajících zásadní úlohu v kontrole růstu a diferenciaci buňky a také změn jejich exprese. Tyto faktory by měly přispět ke zpřesnění charakteristiky mladších nemocných indikovaných k časně SCT i bez nálezu zmnožení blastů v kostní dřeni a blíže identifikovat i prognosticky nepříznivou podskupinu nemocných se středním rizikem podle IPSS-R, kteří by měli být rovněž transplantováni. V léčebných přístupech k nemocným s MDS zůstává několik nedořešených otázek. Zejména se jedná o přístup k nemocným s pokročilými stadii MDS s nadbytkem blastů, komplexními změnami karyotypu a přítomností mutace TP53 genu, kde i po SCT přežívá 3 roky méně než 10 % nemocných [15]. Další otázkou je jakými potransplantačními přístupy snížit incidenci relapsů po SCT a zvýšit efektivitu jejich léčby. Rovněž nevyřešenou otázkou zůstává efektivní léčba nemocných, u nichž selhává léčba hypometylačními látkami. I přes tyto problémy je ale nutno konstatovat, že za posledních 25 let došlo díky zavedení nových léčebných přístupů k zásadní změně prognózy nemocných s MDS, jak dokumentuje obrázek 10.

| Přežití nemocných (měsíce) : |      | Přežití nemocných (měsíce) : |       |
|------------------------------|------|------------------------------|-------|
| RA                           | 62,2 | RA                           | 106,8 |
| RARS                         | 68,5 | RARS                         | 112,2 |
| RAEB                         | 8,9  | RAEB                         | 19,8  |
| RAEB-T                       | 3,5  | RAEB-T                       | 14,3  |
| CMML                         | 12,1 | CMML                         | 15,6  |
| <b>1980 - 1990</b>           |      | <b>2010 - 2015</b>           |       |

**Obr. 10.** Srovnání přežití jednotlivých podskupin nemocných s MDS podle FAB klasifikace léčených v ÚHKT v letech 1980–1990 a 2010–2015

## ZKRATKY

- CMML – chronická myelomonocytární leukemie
- EPO – erytropoetin alfa
- ESA – erytropoézu stimulující agens
- FAB – francouzsko-americko-britská
- FISH – fluorescenční *in situ* hybridizace
- HMA – hypometylační látky
- IPSS – mezinárodní prognostický skórovací systém
- IPSS-R – revidovaný mezinárodní prognostický skórovací systém
- MDS – myelodysplastický syndrom
- RA – refrakterní anémie
- RAEB – refrakterní anémie s nadbytkem blastů
- RAEB-T – refrakterní anémie s nadbytkem blastů v transformaci
- RARS – refrakterní anémie se zmnožením prstěncitých sideroblastů
- SCT – transplantace krvetvorných buněk
- WHO – Světová zdravotnická organizace
- WPSS – Prognostický skórovací systém na bázi WHO klasifikace

## LITERATURA

1. Block M, Jacobson LO. Preleukemic acute leukemia. JAMA 1953;152:1018–1029.
2. Rheingold JJ, Kaufman R, Adelson E, Lear A. Smoldering acute leukemia N Engl J Med 1963;268:812–815.
3. Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT, et al. Proposals for the classification of the myelodysplastic syndromes. Br J Haematol 1982;51:189–199.
4. Jonasova A, Neuwirtova R, Cermak J, et al. Cyclosporin A therapy in hypoplastic MDS patients and certain refractory anaemias without hypoplastic bone marrow. Br J Haematol 1998;100:304–309.
5. Greenberg P, Cox C, LeBeau MM, et al. International scoring system for evaluating prognosis in myelodysplastic syndromes. Blood 1997;89:2079–2088.
6. Germing U, Gattermann N, Strupp C, et al. Validation of the WHO proposals for a new classification of primary myelodysplastic syndromes: a retrospective analysis of 1600 patients. Leuk Res 2000;24:983–992.
7. Čermák J, Michalova K, Brezinova J, Zemanova Z. A prognostic impact of separation of refractory cytopenia with multilineage dysplasia and 5q- syndrome from refractory anemia in primary myelodysplastic syndrome. Leuk Res 2003;27:221–229.
8. Vardiman JW, Harris NL, Brunning RD. The World Health Organization (WHO) classification of the myeloid neoplasms. Blood 2002;100:2292–2302.
9. Malcovati L, Della Porta MG, Strupp C, et al. Impact of the degree of anemia on the outcome of patients with myelodysplastic syndrome and its integration into the WHO classification-based Prognostic Scoring System (WPSS). Haematologica 2011;96:1433–1440.
10. Čermák J, Kacirkova P, Mikulenková D, Michalova K. Impact of transfusion dependency on survival in patients with early myelodysplastic syn-

- drome without excess of blasts. *Leuk Res* 2009;33:1469–1474.
11. Ransdorfová Š, Březinová J, Šárová I, et al. Využití interfázni fluorescenční in situ hybridizace pro analýzu CD34+ buněk v periferní krvi u nemocných s myelodysplastickými syndromy. *Transfuzie Hematol* dnes 2016;21:90–96.
  12. Rigolin GM, Bigoni R, Milani R, et al. Clinical importance of interphase cytogenetics detecting occult chromosome lesions in myelodysplastic syndromes with normal karyotype. *Leukemia* 2001;15:1841–1847.
  13. Tiu RV, Gondek LP, O'Keefe CL, et al. Prognostic impact of SNP array karyotyping in myelodysplastic syndromes and related myeloid malignancies. *Blood* 2011;117:4552–4560.
  14. Westers TM, Ireland R, Kern W, et al. Standardization of flow cytometry in myelodysplastic syndromes: a report from an international consortium and the European LeukemiaNet Working Group. *Leukemia* 2012;26:1730–1741.
  15. Degg HJ, Guardiola P. Allogeneic hemopoietic stem cell transplantation in patient with myelodysplastic syndrome or myelofibrosis. *Int J Hematol* 2002;76(suppl.2):29–34.
  16. Cermak J, Vitek A, Mikulenková D, et al. An analysis of real life data obtained from 30 years follow-up of primary myelodysplastic syndromes (MDS) patients confirms a leading role of stem cell transplantation (SCT) for achievement of prolonged survival. *Blood* 2018;132:4372.
  17. Mollndrem JJ, Caples M, Mavroudis D, et al. Antithymocyte globulin for patients with myelodysplastic syndrome. *Br J Haematol* 1997;99:699–705.
  18. Hellström-Lindberg E, Gulbrandsen N, Lindberg G, et al. Scandinavian MDS Group. A validated decision model for treating the anaemia of myelodysplastic syndromes with erythropoietin+granulocyte colony-stimulating factor: significant effects on quality of life. *Br J Haematol* 2003;120(6):1037–1046.
  19. List AF, Baer MR, Steensma DP, et al. Deferasirox reduces serum ferritin and labile plasma iron in RBC transfusion-dependent patients with myelodysplastic syndrome. *J Clin Oncol* 2012;30:2134–2139.
  20. Cermak J, Jonasova A, Vondrakova J, et al. A comparative study of deferasirox and deferiprone in the treatment of iron overload in patients with myelodysplastic syndromes. *Leuk Res* 2013;37:1612–1615.
  21. Martino R, Iacobelli S, Brand R, et al. Myelodysplastic Syndrome subcommittee of the Chronic Leukemia Working Party of the European Blood and Marrow Transplantation Group. Retrospective comparison of reduced-intensity high-dose conditioning for allogeneic hematopoietic stem cell transplantation using HLA-identical sibling donors in myelodysplastic syndromes. *Blood* 2006;108:836–846.
  22. Fenaux P, Giagounidis A, Selleslag D, et al. MDS-004 Lenalidomide del5q Study Group. A randomized phase 3 study of lenalidomide versus placebo in RBC transfusion-dependent patients with Low-/Intermediate-1-risk myelodysplastic syndromes with del5q. *Blood* 2011;118:3765–3776.
  23. Neuwirtová R, Jonášová A, Čermák J, et al. Analýza nemocných s myelodysplastickým syndromem (MDS) s delecí dlouhého ramene 5. chromozomu (del5q), sledovaných Českou MDS pracovní skupinou: význam pro diagnostické zařazení a určení prognózy. *Transfuzie Hematol* dnes 2009;15:204–209.
  24. Fenaux P, Mufti GJ, Hellstrom-Lindberg E, et al. International Vidaza High-Risk MDS Survival Study Group. Efficacy of azacitidine compared with that of conventional care regimens in the treatment of higher-risk myelodysplastic syndromes: a randomised, open-label, phase III study. *Lancet Oncol* 2009;10:223–232.
  25. Jonášová A, Čermák J, Červínek L, et al. První zkušenosti České MDS skupiny s terapií 5-azacytidinem u nemocných s myelodysplastickým syndromem s vyšším rizikem (IPSS střední 2 a vysoké riziko), akutní myeloidní leukémií do 30 % myeloblastů a chronickou myelomonocytární leukémií II. *Transfuzie Hematol* dnes 2013;19:125–133.
  26. Platzbecker U, Germing U, Götze KS, et al. Luspatercept for the treatment of anaemia in patients with lower-risk myelodysplastic syndromes (PACE-MDS): a multicentre, open-label phase 2 dose-finding study with long-term extension study. *Lancet Oncol* 2017;10:1338–1347.
  27. Greenberg PL, Tuechler H, Schanz J, et al. Revised international prognostic scoring system for myelodysplastic syndromes. *Blood* 2012;120:2454–2465.
  28. Malcovati L, Hellström-Lindberg E, Bowen D, et al. Diagnosis and treatment of primary myelodysplastic syndromes in adults: recommendations from the European LeukemiaNet. *Blood* 2013;122:2943–2964.
  29. Čermák J, Jonášová A. Myelodysplastický syndrom. *Transfuzie Hematol* dnes 2010;16:42–46.
  30. Bejar R, Stevenson KE, Caughey BA, et al. Validation of a prognostic model and the impact of mutations in patients with lower-risk myelodysplastic syndromes. *J Clin Oncol* 2012;30:3376–3382.
  31. Bejar R, Levin R, Ebert BE. Unraveling the molecular pathophysiology of myelodysplastic syndromes. *J Clin Oncol* 2011;29:504–515.
  32. Malcovati L, Galli A, Travaglio E, et al. Clinical significance of somatic mutation in unexplained blood cytopenia. *Blood* 2017;129:3371–3378.
  33. Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, et al. The 2016 revision of the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood* 2016;127:2391–2405.
  34. Bejar R. Implications of molecular genetic diversity in myelodysplastic syndromes. *Curr Opin Hematol* 2017;24:73–78.

### Čestné prohlášení

Autor práce prohlašuje, že v souvislosti s tématem, vznikem a publikací tohoto článku není ve střetu zájmů a vznik ani publikace článku nebyly podpořeny žádnou farmaceutickou firmou.

*Doručeno do redakce dne 11. 11. 2018.*

*Přijato po recenzi dne 28. 11. 2018.*

**prof. MUDr. Jaroslav Čermák, CSc.**

Ústav hematologie a krevní transfuze  
U Nemocnice 1  
128 00 Praha 2  
e-mail: cermak@uhkt.cz

# Vývoj léčby chronické myeloidní leukemie v posledních 25 letech

**Faber E., Indrák K.**

Hemato-onkologická klinika FN a LF UP v Olomouci

*Transfuzní Hematol. dnes, 25, 2019, No. 1, p. 118-124*

## SOUHRN

Léčba chronické myeloidní leukemie (CML) během posledního čtvrtstoletí prodělala díky zavedení inhibitorů tyrosinové kinázy revoluční přeměnu, jejíž úspěch zásadně ovlivnil globální strategie terapie v onkologii. Ze smrtící malignity se z CML stalo chronické onemocnění, u něhož je dnes častější příčinou úmrtí jiná choroba a délka přežití nemocných se srovnává s délkou přežití běžné populace. S účinností léčby roste důležitost prevence a zvládnání nežádoucích účinků léčby, pro které se jako logická varianta u optimálně reagujících pacientů zkouší přerušení terapie za současného udržení molekulární remise bez pokračování léčby. Na druhé straně malá frakce vysoce rizikových nemocných stále profituje z provedení transplantace a výhledově pro ně bude přínosem také zavedení nových inhibitorů působících na leukemický protein mimo ABL kinázovou doménu. Dlouhodobým cílem se stává vyléčení CML pomocí cílené konzervativní terapie. V článku je diskutován vývoj léčby CML za posledních 25 let s důrazem na český přínos.

## KLÍČOVÁ SLOVA

chronická myeloidní leukemie – inhibitory tyrosinové kinázy – interferon alfa

## SUMMARY

**Faber E., Indrák K.**

### Development of chronic myeloid leukaemia treatment over the past 25 years

Introduction of tyrosine kinase inhibitors into the treatment of chronic myeloid leukaemia (CML) over the past 25 years has resulted in a revolutionary change and has had a crucial impact on global treatment strategies in oncology. CML has been transformed from a deadly malignancy into a chronic disorder with patients today dying more frequently from other illnesses and patient overall survival equalling that of the general population. As treatment efficacy rises, prevention and management of side effects is of growing importance. The logical next step is an attempt to stop treatment in optimally responding patients with the aim of maintaining treatment-free remission. On the other hand, a small fraction of high-risk patients can still profit from bone marrow transplantation and these patients may profit prospectively from the introduction of new classes of inhibitors acting outside the ABL kinase domain. Cure of CML with targeted conservative treatment has become the long-term aim. This review discusses the developments in CML treatment over the past 25 years with emphasis on the Czech contribution.

## KEY WORDS

chronic myeloid leukaemia – tyrosine kinase inhibitors – interferon alpha

Před 25 lety bylo v praxi možné pacienta s chronickou myeloidní leukemií (CML) buď transplantovat (v případě, že byl mladší – ideálně pod 40 let – a měl k dispozici HLA kompatibilního dárce krvetvorných buněk), nebo léčit konzervativně interferonem alfa, který začal být u nás dostupný po roce 1990. U většiny nemocných muselo být podávání vysokých dávek interferonu (5 MU/m<sup>2</sup>/den) ukončeno pro neúčinnost, nesnášenlivost nebo toxicitu. Pouze asi třetina nemocných dosáhla kompletní cytogenetické odpovědi

a pouze necelá třetina z těchto pacientů dosáhla odpovědi molekulární, v tu dobu ověřitelnou pouze pomocí klasické kvalitativní RT-PCR (o vývoji kvantitativní PCR se dočtete v článku kolegyně Machové Polákové na s. 34-42 tohoto čísla). Klinické studie druhé poloviny 90. let se převážně zaměřovaly na ověřování účinku kombinace interferonu a cytostatik (hydroxyurey anebo cytarabinu). Velkou pozornost vzbudila publikace Angela Carelly, který potvrdil možnost mobilizace Ph negativních krvetvorných buněk po stimulaci che-

moterapií mini-ICE v kombinaci s G-CSF časně po stanovení diagnózy [1]. Úvahy, že provedení autologní transplantace takto sklizeného štěpu po myeloablativní přípravě by mohlo výrazně zlepšit výsledky následné terapie interferonem alfa, vedla například k organizaci prospektivní studie v rámci Evropské společnosti pro transplantaci krve a kostní dřeně (European Society for Blood and Marrow Transplantation; EBMT). Některé farmaceutické firmy doufaly ve zlepšení účinnosti a zmírnění toxicity interferonu pomocí jeho pegylace a s takto upravenou molekulou připravovaly rozsáhlé klinické studie.

Většina zmíněných aktivit však byla koncem 90. let ukončena díky revolučnímu výzkumu Briana Drukera a jeho spolupracovníků, kteří (opírajíc se o experimenty dokládající klíčovou roli fúzního genu a proteinu Bcr-Abl a objevy o mechanismech fungování tyrosinových kináz, provedené koncem 80. a počátkem 90. let minulého století) po rozsáhlém testování řady látek ze skupiny 2-fenylaminopyrimidinů a tyrfostinů identifikovali látku CGP57148B (později přejmenovanou na STI571 a nakonec známou jako imatinib). Tato látka byla schopná nejen blokovat aktivitu proteinu Bcr-Abl, ale navíc ve tkáňové kultuře úměrně dávkou inhibovat růst BCR-ABL pozitivních leukemických buněk, přičemž se její účinek na normální progenitory jevil jako nevýznamný [2]. Prezentace výsledků *in vitro* studií a prvních experimentů na zvířatech nezbudila na výročním sjezdu Americké hematologické společnosti (ASH) v roce 1995 příliš velkou pozornost [3]. Druker ještě nějakou dobu musel bojovat se skeptiky, kteří nevěřili, že takto cílený lék bude mít dostatečný antileukemický účinek a obávali se závažných nežádoucích účinků malé molekuly, která mohla teoreticky interagovat s dalšími buněčnými strukturami. Bylo nezbytné přesvědčit i vedení firmy Novartis (která se stala vlastníkem práv na molekulu po fúzi firem Sandoz a Ciba-Geigy), které pochybovalo, že klinické testování imatinibu u poměrně vzácného onemocnění, jakým je CML, se finančně

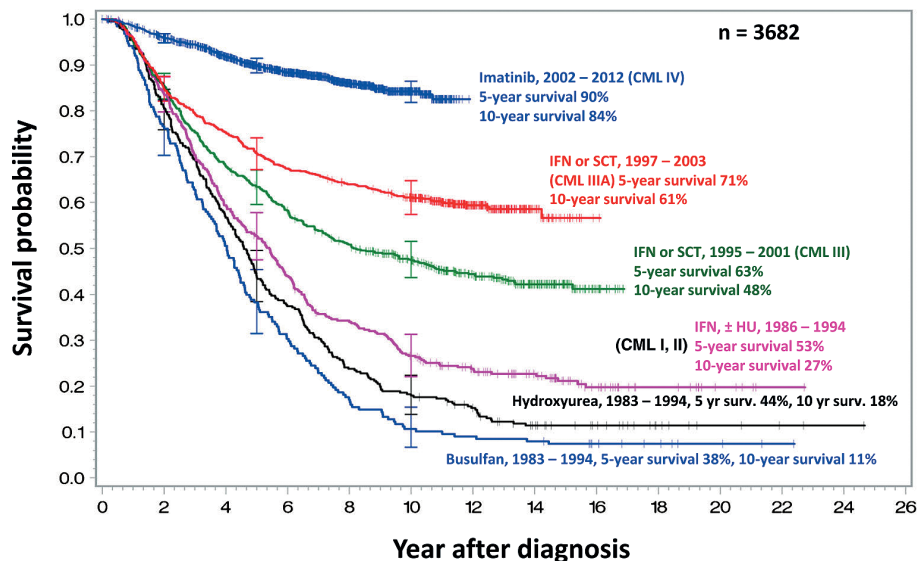
vyplatí [3]. Klinická studie fáze I s imatinibem byla zahájena v červnu 1998 a prezentace jejích výsledků, které předčily všechna očekávání, byla na konferenci ASH v roce 1999 zařazena na plenární zasedání [3]. Imatinib podávaný od 25 do 1000 mg nevyvolal u zařazených pacientů toxicitu, která by omezovala dávkování (maximálně tolerovatelnou dávkou se nepodařilo stanovit), 98 % pacientů s CML v chronické fázi rezistentních na interferon dosáhlo kompletní hematologické odpovědi a pouze jeden z 53 nemocných relaboval po roce léčby [4]. Podobně impresivních výsledků bylo dosaženo také u pacientů v blastickém zvratu. Imatinib tak zahájil revoluční cestu inhibitorů tyrosinových kináz napříč celou onkologií a kromě jiného se dostal v roce 2001 na titulní stránku časopisu Time, jako „munice“ pro léčbu rakoviny v příštím století.

Dalším významným milníkem byla randomizovaná klinická studie fáze III IRIS, jejíž výsledky přesvědčily i poslední skeptiky [5]. Úřad pro potraviny a léky (Food and Drug Administration - FDA), která nejdříve v USA schválila imatinib v roce 1999 pro léčbu nemocných s CML rezistentních na interferon, schválila v roce 2001, na základě časných výsledků studie IRIS, jeho použití v první linii léčby (tab. 1). Mezitím v laboratorích zavládla horečná snaha identifikovat další vhodné inhibitory, které by byly schopné překonat rezistenci k imatinibu, jejíž mechanismy se dařilo postupně alespoň částečně identifikovat [6, 7]. Výsledkem byly inhibitory druhé generace, z nichž byl na jedné straně design nilotinibu veden snahou zlepšit vazebné kapacity k vazebnému místu pro ATP ve srovnání s imatinibem, na druhé straně inhibiční vlastnosti dasatinibu byly zjištěny při vývoji léku původně určeného k jinému účelu. Oba inhibitory naplnily očekávání plynoucí z jejich několikanásobně vyšší *in vitro* účinnosti ve srovnání s imatinibem a vedly si velmi dobře v klinických studiích zahájených během prvního desetiletí 21. století (ENESTnd, ENESTst, série START a DASISION) [8-14]. S malým opožděním je následoval poslední inhibitor

Tabulka 1. Data schválení inhibitorů tyrosinové kinázy k léčbě CML\*

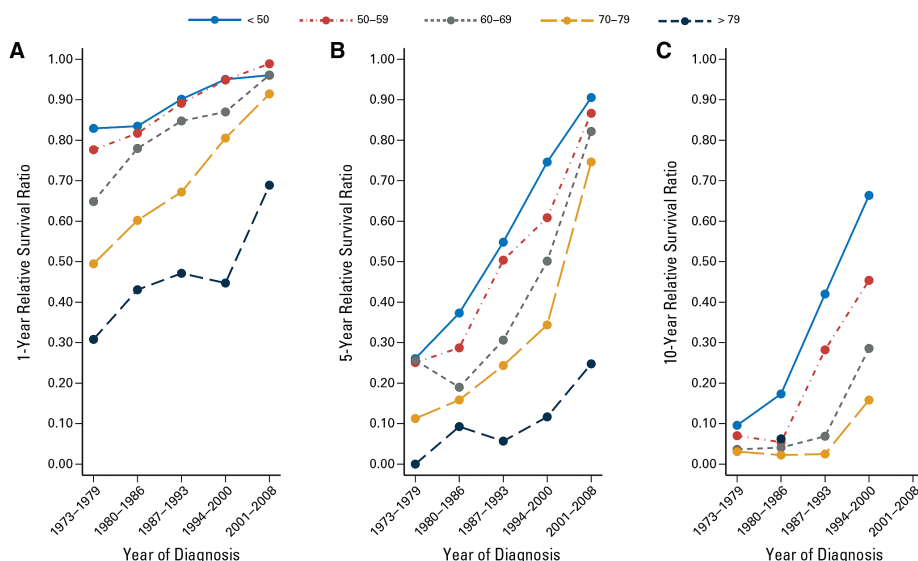
| Inhibitor | Schválení FDA |          | Schválení EMA |          | Úhrada léčby na SÚKL |
|-----------|---------------|----------|---------------|----------|----------------------|
|           | 1. linie      | 2. linie | 1. linie      | 2. linie | 1. linie             |
| imatinib  | 05/2001       | 05/2001  | 11/2001       | 11/2001  | 06/2002              |
| dasatinib | 06/2013       | 06/2006  | 12/2010       | 11/2006  | 04/2007*             |
| nilotinib | 06/2010       | 09/2007  | 12/2010       | 11/2007  | 07/2012              |
| bosutinib | 12/2017       | 09/2012  | 02/2018       | 03/2013  | NA                   |
| ponatinib | NA            | 02/2014  | NA            | 03/2013  | 09/2018**            |

\*v první linii v USA (Food and Drug Administration; FDA), v Evropě (European Medical Agency; EMA) a data schválení jejich úhrady v České republice ve Státním ústavu pro kontrolu léčiv (SÚKL). \*\*úhrada dasatinibu schválena pouze pro 2. linii léčby, ponatinibu ve 3. linii nebo v případě přítomnosti mutace T315I.



**Obr. 1.** Přežití nemocných léčených v rámci různých studií Německé kooperativní skupiny pro léčbu CML

Upraveno podle [18].



**Obr. 2.** Efekt dostupnosti imatinibu a dalších inhibitorů tyrosinové kinázy na zlepšení pravděpodobnosti přežití nemocných různých věkových skupin ve švédském národním registru

Upraveno podle [20].

kardiovaskulárních nežádoucích účinků (viz také níže a tabulka 1).

Výsledky dlouhodobé úspěšné léčby imatinibem, ale i dalšími inhibitory tyrosinové kinázy se postupně projevily ve výsledcích nezávislých klinických studií (obr. 1), v poklesu transplantační aktivity u CML dokumentované opakovaně v EBMT, ale i v USA a ve zlepšení celkového přežití pacientů v národních registrech (obr. 2) [18–20]. Díky vynikajícím léčebným výsledkům a dlouhodobému přežívání nemocných logicky vyvstala potřeba řešení dvou významných oblastí problémů – nežádoucích účinků inhibitorů a komorbidit. S nimi úzce souvisí možnost udržení remise bez potřeby pokračování léčby (*treatment-free remission*), která je ověřována řadou prospektivních klinických studií [21–24]. Po vypršení patentu na imatinib mohou sice lékaři předepisovat generické přípravky, které jsou významně levnější, nicméně kromě otázek srovnatelnosti účinnosti a bezpečnosti léčby těmito preparáty se v některých státech jeví jako důležitý problém také časté střídání těchto přípravků v léčbě jednotlivých nemocných v důsledku „pružné“ reakce nemocnic na aktuální změny v nabídce na trhu. Tento ale i další aspekty zajišťování moderní léčby v hematologii (edukace nemocných s cílem zlepšit spo-

luprací na léčbě, jednání poskytovatelů péče, plátců a dalších orgánů, ochrana práv nemocných) zvýrazňují roli patientských sdružení. Je důležité, že v České republice mají pacienti možnost podílet se na činnosti velmi aktivního zájmového spolku Diagnóza leukemie (v letech 2006–2014 občanského sdružení Diagnóza CML), které má díky své předsedkyni také mezinárodní aktivity.

luprací na léčbě, jednání poskytovatelů péče, plátců a dalších orgánů, ochrana práv nemocných) zvýrazňují roli patientských sdružení. Je důležité, že v České republice mají pacienti možnost podílet se na činnosti velmi aktivního zájmového spolku Diagnóza leukemie (v letech 2006–2014 občanského sdružení Diagnóza CML), které má díky své předsedkyni také mezinárodní aktivity.

Problematika CML se stala jedním ze základních kamenů nové celoevropské spolupráce na poli hematologie – organizaci Evropské leukemické sítě (European LeukemiaNet, ELN), projektu profesora Hehlmanna podpořeného od ledna 2004 grantem Evropské unie. Projekt vedl v oblasti výzkumu CML k řadě významných úspěchů včetně publikace široce akceptovaných doporučení, harmonizaci molekulárního monitorování léčby CML a projektům EUTOS for CML ve spolupráci s firmou Novartis [9, 22, 23, 25–29]. Na všech aktivitách ELN se významně podílela jako centra excelence také všechna univerzitní a výzkumná česká hematologická pracoviště, nicméně český příspěvek v oblasti experimentálního a klinického výzkumu přesáhl mantinely ELN. Kromě účasti na naprosté většině firemních klinických studií včetně studií rozšířené dostupnosti (kromě IRIS) to bylo především založení registrů pacientů s CML CAMELIA (Chronic Myeloid Leukaemia, založen v roce 2004) ČHS ČLS JEP a INFINITY (Imatinib In First Line CML Treatment) skupiny CELL (Česká leukemická skupina – pro život, The CzEch Leukemia Study Group – for Life; založena v roce 2006), které se při svém vzniku mohly opřít o experty a vybavení Institutu biostatistiky a analýz Masarykovy univerzity. Centralizace péče o nemocné s CML v ČR a analýza výsledků všech nemocných s CML ve zmíněných registrech umožnily získat populační data, která nám záviděla celá Evropa včetně Německa a byla i důležitým argumentem pro jednání s plátcí zdravotní péče. Ze spolupráce center na registrech vzešla řada publikací věnovaných zejména problematice léčby CML v reálné praxi, ale i dalším problémům [30–42]. Pojem přežití bez potřeby změny inhibitoru (*alternative treatment-free survival*) byl zaveden právě skupinou CELL, zatímco možnost intermitentního podávání imatinibu byla poprvé zkoumána v Olomouci, stejně jako první popis případu účinnosti dasatinibu u mutace F317L nebo možnosti redukce dávky imatinibu ke zmírnění nežádoucích účinků za současného udržení hluboké hematologické odpovědi, zatímco důležitý výzkum metabolických nežádoucích účinků nilotinibu iniciovalo brněnské centrum [30, 32, 33, 37, 39]. Další oblasti výzkumu zahrnovaly popis výskytu sekundárních malignit během léčby inhibitory tyrosinové kinázy, výzkum významu stanovení hladin imatinibu v běžné praxi pro praktické vedení léčby, účast na registru gravidních pacientek s CML, účast na doposud největší prospektivní studii EURO-SKI ověřující možnost bezpečného přerušování léčby v hluboké molekulární remisi, participaci na přípravě sdíleného stanoviska expertů a patientských advokátů k přerušování léčby TKI nebo farmakogenetický výzkum, který snad přinese možnost identifikace pacientů vhodných k léčbě imatinibem ještě před zahájením terapie [35, 39–44].

Výsledky dalších retrospektivních analýz a jiných studií nebo přehledné články zaměřené na problematiku CML byly publikovány i na stránkách Transfuze a hematologie dnes. Šlo například o výsledky studie rozšířené dostupnosti u pacientů v akcelerované fázi CML, srovnání ekonomické náročnosti léčby imatinibem a transplantací kostní dřeně, zkušenosti s léčbou imatinibem ve druhé linii po selhání interferonu nebo významu molekulárního monitorování [43–56]. Úplný výčet příspěvků českých autorů na poli CML přesahuje rozsah a cíle této publikace.

## ZÁVĚR

Vývoj léčby CML svědčí o významu akumulace poznatků o patofyziologii onemocnění, započatých identifikací chromozomu Philadelphia v roce 1960, pro design cílené léčby. Po úspěchu u CML byly inhibitory tyrosinových kináz úspěšně použity u řady dalších maligních onemocnění. Z malignity, která při cytostatické léčbě vedla k úmrtí téměř všech pacientů do pěti let od stanovení diagnózy, se po zavedení inhibitorů tyrosinových kináz stalo z CML chronické onemocnění, u něhož se v současné době staly častější příčinou úmrtí další choroby nemocných, a jejich celkové přežití se srovnává s běžnou populací. Úspěšnost léčby u CML vedla ke zvýšení prevalence nemoci, což mělo za následek růst celkových nákladů na terapii a sledování nemocných. U nejlépe odpovídajících nemocných se otevírá možnost přerušování terapie při dosažení remise bez potřeby obnovení léčby, zatímco vysoce rizikovní nemocní mohou stále profitovat z alogenní transplantace krvetvorných buněk a výhledově z možnosti podání nových inhibitorů působících mimo ABL kinázovou doménu. Pokud další výzkum objeví způsob, jak účinněji působit přímo na leukemické kmenové buňky, budeme schopni CML vyléčit konzervativní terapií.

## LITERATURA

1. Carella AM, Lerma E, Celesti L, et al. Effective mobilization of Philadelphia-chromosome-negative cells in chronic myelogenous leukaemia patients using a less intensive regimen. *Br J Haematol* 1998;100:445–448.
2. Druker BJ, Tamura S, Buchdunger E, et al. Effects of a selective inhibitor of the Abl tyrosine kinase on the growth of Bcr-Abl positive cells. *Nat Med* 1996;2:561–566.
3. Druker BJ. Translation of the Philadelphia chromosome into therapy for CML. *Blood* 2008;112(13):309–318.
4. Druker BJ, Talpaz M, Resta DJ, et al. Efficacy and safety of a specific inhibitor of the BCR-ABL tyrosine kinase in chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med* 2001;344:1031–1037.
5. O'Brien SG, Guilhot F, Larson RA, et al. Imatinib compared with interferon and low-dose cytarabine for newly diagnosed chronic-phase chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med* 2003;348:994–1004.
6. Gorre ME, Mohammed M, Ellwood K, et al. Clinical resistance to STI-

FABER E. et al.

- 571 cancer therapy caused by BCRABL gene mutation or amplification. Science 2001;293:876-880.
7. Naušová J, Priwitzerová M, Jarošová M, et al. Chronická myeloidní leukémie - rezistence na imatinib mesylát (Glivecá) (Přehled literatury a vlastní zkušenosti). Čas Lék Čes 2006;145:377-382.
  8. Saglio G, Kim DW, Issaragrisil S, et al. Nilotinib versus imatinib for newly diagnosed chronic myeloid leukemia. N Engl J Med. 2010;362:2251-2259.
  9. Hochhaus A, Mahon FX, le Coutre P et al. Nilotinib first-line therapy in patients with Philadelphia chromosome-negative/BCR-ABL-positive chronic myeloid leukemia in chronic phase: ENEST1st sub-analysis. J Cancer Res Clin Oncol 2017;143:1225-1233.
  10. Guilhot F, Apperley J, Kim DW, et al. Dasatinib induces significant hematologic and cytogenetic responses in patients with imatinib-resistant or intolerant chronic myeloid leukemia in accelerated phase. Blood 2007;109:4143-4150.
  11. Cortes J, Rousselot P, Kim DW, et al. Dasatinib induces complete hematologic and cytogenetic responses in patients with imatinib-resistant or intolerant chronic myeloid leukemia in blast crisis. Blood 2007;109:3207-3213.
  12. Hochhaus A, Kantarjian HM, Baccarani M, et al. Dasatinib induces notable hematologic and cytogenetic responses in chronic phase chronic myeloid leukemia after failure of imatinib therapy. Blood 2007;109(6):2303-2309.
  13. Kantarjian H, Pasquini R, Hamerschlak N, et al. Dasatinib or high-dose imatinib for chronic phase chronic myeloid leukemia after failure of first-line imatinib: a randomized phase-II trial. Blood 2007;109:5143-5150.
  14. Kantarjian H, Shah NP, Hochhaus A, et al. Dasatinib versus imatinib in newly diagnosed chronic-phase chronic myeloid leukemia. N Engl J Med 2010;362:2260-2270.
  15. Cortes J, Kim DW, Kantarjian HM, et al. Bosutinib versus imatinib in newly diagnosed chronic-phase chronic myeloid leukemia: results from the BELA trial. J Clin Oncol 2012;30(28):3486-3492.
  16. Cortes JE, Kim D-W, Pinilla-Ibarz J, et al. A phase 2 trial of ponatinib in Philadelphia chromosome-positive leukemias. N Engl J Med 2013;369:1783-1796.
  17. Lipton JH, Chuah C, Guerci-Bresler A, et al. Ponatinib versus imatinib for newly diagnosed chronic myeloid leukaemia: an international, randomised, open-label, phase 3 trial. Lancet Oncol 2016;17:612-621.
  18. Hehlmann R. Ann Hematol 2015;94(Suppl 2):S103-S105.

Inzerce A191002443



## PŘÍSTROJOVÉ VYBAVENÍ PRO TRANSFUZNÍ PRACOVNÍSTĚ

[www.trigonplus.cz](http://www.trigonplus.cz)

### MRAZICÍ A CHLADICÍ TECHNIKA

Šokové zmrazovače plazmy

Mrazicí boxy pro skladování krevní plazmy

Krevní banky

Transportní boxy chladicí - mrazicí - s přihřevem

Hlubokomrazicí boxy

Monitorování teploty a dalších parametrů

### CENTRIFUGY

#### HERAEUS CRYOFUGE 16



Unikátní velkoobjemová chlazená centrifuga s rozšířenou kapacitou až **16 vakových setů** pro in-line filtraci

**Motorické otevírání/ zavírání víka centrifugy společně s krytem rotoru**

Uživatelsky vstřícné ovládání **v českém jazyce**

Nízká spotřeba energie

prodej  
poradenství

projektová řešení

autorizovaný  
servis

validace

akreditovaná  
kalibrační a zkušební laboratoř

19. Gratwohl A, Baldomero H, Horisberger B, et al. Current trends in hematopoietic stem cell transplantation in Europe. *Blood* 2002;100:2374-2386.
20. Björkholm M, Ohm L, Eloranta S, et al. Success story of targeted therapy in chronic myeloid leukemia: a population-based study of patients diagnosed in Sweden from 1973 to 2008. *J Clin Oncol.* 2011; 29:2514-2520.
21. Saussele S, Krauss MP, Hehlmann R et al. Impact of comorbidities on overall survival in patients with chronic myeloid leukemia: results of the randomized CML study IV. *Blood.* 2015 Jul 2;126(1):42-49.
22. Steegmann JL, Bacarani M, Breccia M et al. European LeukemiaNet recommendations for the management and avoidance of adverse events of treatment in chronic myeloid leukaemia. *Leukemia* 2016;30:1648-1671.
23. Saussele S, Richter J, Guilhot J, et al. Discontinuation of tyrosine kinase inhibitor therapy in chronic myeloid leukemia (EURO-SKI): a prespecified interim analysis of a prospective, multicentre, non-randomised, trial. *Lancet Oncol* 2018;19:747-757.
24. Šrámek J, Karas M, Lysák D, Jindra P. Možnost ukončení terapie tyrosin kinázovými inhibitory u nemocných s chronickou myeloidní leukémií a koncept „treatment-free remission“. *Transfuzie Hematol dnes* 2017;23(4):192-198.
25. Bacarani M, Saglio G, Goldman J, et al. Evolving concepts in the management of chronic myeloid leukemia. Recommendations from an expert panel on behalf of The European LeukemiaNet. *Blood* 2006;108:1809-1820.
26. Bacarani M, Deininger MW, Rosti G, et al. European LeukemiaNet recommendations for the management of chronic myeloid leukemia: 2013. *Blood* 2013;122:872-884.
27. Hoffmann VS, Bacarani M, Hasford J, et al. Treatment and outcome of 2904 CML patients from the EUTOS population-based registry. *Leukemia* 2017;31:593-601.
28. Soverini S, Hochhaus A, Nicolini FE et al. BCR-ABL kinase domain mutation analysis in chronic myeloid leukemia patients treated with tyrosine kinase inhibitors: recommendations from an expert panel on behalf of European LeukemiaNet. *Blood* 2011;118:1208-1215.
29. Cross NC, White HE, Ernst T, et al. Development and evaluation of a secondary reference panel for BCR-ABL1 quantification on the International Scale. *Leukemia* 2016;30(9):1844-1852.
30. Faber E, Naušová J, Jarošová M, et al. Intermittent dosage of imatinib mesylate in CML patients with history of significant hematologic toxicity after standard dosing. *Leuk Lymphoma* 2006;47:1082-1090.
31. Klamova H, Faber E, Zackova D, et al. Dasatinib in imatinib-resistant or -intolerant CML patients: data from the clinical practice of 6 hematological centers in the Czech Republic. *Neoplasma* 2010;57:355-359.
32. Faber E, Mojzíkova R, Plachy R, et al. Major molecular response achieved with dasatinib in a CML patient with F317L BCR-ABL1 kinase domain mutation. *Leuk Res* 2010;34:91-93.
33. Zackova D, Klamova H, Dusek L, et al. Imatinib as the first-line treatment of patients with chronic myeloid leukemia diagnosed in the chronic phase: Can we compare real life data to the results from clinical trials? *Amer J Hematol.* 2011;86:318-321.
34. Faber E, Mužík J, Koza V, et al. Treatment of consecutive patients with chronic myeloid leukaemia in the cooperative centres from the Czech Republic and the whole of Slovakia after 2000 - a report from the population-based CAMELIA Registry. *Eur J Haematol* 2011;87:157-168.
35. Voglová J, Mužík J, Faber E, et al. Incidence of second malignancies during treatment of chronic myeloid leukemia with tyrosine kinase inhibitors in the Czech Republic and Slovakia. *Neoplasma* 2011;58:256-262.
36. Zackova D, Klamova H, Muzik J, et al. Efficacy and tolerance of dasatinib after imatinib failure or intolerance for patients with chronic myeloid leukemia treated in three different hospitals compare well with results achievable in formal clinical trials. *Leuk Lymphoma* 2013;54(10):2310-2313.
37. Racil Z, Razga F, Drapalova J, et al. Mechanism of impaired glucose metabolism during nilotinib therapy in patients with chronic myelogenous leukemia. *Haematologica* 2013;98(10):e124-126.
38. Pavlik T, Janousova E, Mayer J, et al. Current survival measures reliably reflect modern sequential treatment in CML: correlation with prognostic stratifications. *Am J Hematol* 2013;88(9):790-797.
39. Faber E, Divoká M, Skoumalová I, et al. Lower dosage of imatinib is sufficient to maintain undetectable disease in patients with chronic myeloid leukemia with long-term low-grade toxicity of the treatment. *Leuk Lymphoma* 2016;57(2):370-375.
40. Faber E, Friedecký D, Mičová K, et al. Imatinib trough plasma levels do not correlate with the response to therapy in patients with chronic myeloid leukemia in routine clinical setting. *Ann Hematol* 2012;91:923-929.
41. Racil Z, Razga F, Klamova H, et al. No clinical evidence for performing trough plasma and intracellular imatinib concentrations monitoring in patients with chronic myelogenous leukaemia. *Hematol Oncol* 2013;32(2):331-334.
42. Jaruskova M, Curik N, Hercog R, et al. Genotypes of SLC22A4 and SLC22A5 regulatory loci are predictive of the response of chronic myeloid leukemia patients to imatinib treatment. *J Exp Clin Cancer Res* 2017;36(1):55.
43. Saussele S, Richter J, Guilhot J, et al. Discontinuation of tyrosine kinase inhibitor therapy in chronic myeloid leukaemia (EURO-SKI): a prespecified interim analysis of a prospective, multicentre, non-randomised, trial. *Lancet Oncol* 2018;19(6):747-757.
44. Saglio G, Sharf G, Almeida A, et al. Considerations for treatment-free remission in patients with chronic myeloid leukemia: a joint patient-physician perspective. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk* 2018;18(6):375-379.
45. Faber E, Hluší A, Indrák K, et al. Imatinib (Glivec) v léčbě nemocných s akcelerovanou fází chronické myeloidní leukémie a Ph pozitivní akutní lymfoblastické leukémie. *Transfuzie Hematol dnes* 2003;9:159-165.
46. Voglová J, Poznarová A, Chrobák L, et al. Imatinib mesylát (Glivec) v léčbě chronické fáze chronické myeloidní leukémie. *Vnitř Lék* 2004;50:21-29.
47. Klamova H, Voglova J. Chronická myeloidní leukemie. *Transfuzie Hematol dnes* 2010;16:17-20.
48. Mayer J, Brychtová Y, Doubek M, Krejčí M, Vorlíček J. Srovnání reálné ceny léčby chronické myeloidní leukemie nemyeloablativní transplantací krvetvorných buněk s hypotetickou terapií imatinibem (Glivec).

- Zamyšlení nad velmi drahými medicínskými postupy. *Transfuze Hematol dnes* 2006;12(1):6-13.
49. Mayer J, Klamová H, Žáčková D, et al. Rezistence na imatinib a možnosti využití vyššího dávkování léku u pacientů s chronickou myeloidní leukémií. *Transfuze a Hematol dnes* 2007;13(3):133-141.
50. Rohoň P, Faber E, Naušová J, et al. Od monitorování hladiny fúzného genu Bcr/Abl u pacienta s chronickou myeloidnou leukémiou k odhalování příčiny rezistence k imatinibu – kazuistika. *Transfuze Hematol dnes* 2007;13(1):27-31.
51. Mayer J, Klamová H, Žáčková D, et al. Imatinib v první linii léčby nemocných s nově diagnostikovanou chronickou myeloidní leukémií v chronické fázi. *Transfuze Hematol dnes* 2008;14(4):150-158.
52. Rohoň P, Rožmanová Š, Zapletalová J, et al. Výsledky léčby pacientů v chronické fázi chronické myelocytové leukémie na HOK v Olomouci v letech 2000-2009: prognostický význam Sokalovho indexu a ELN kritérií. *Transfuze a hematol dnes* 2010;16(4):202-209.
53. Šťastný M, Machová Poláková K, Klamová H, et al. Analýza mutací BCR-ABL u CML pacientů rezistentních k imatinibu umožňuje poskytnout „terapii šitou na míru“. *Transfuze Hematol dnes* 2010;16(1):47-54.
54. Rožmanová Š, Rohoň P, Divoká M, et al. Hodnocení časné molekulární odpovědi po 3 měsících léčby imatinibem může u nemocných s chronickou myeloidní leukémií přispět k upřesnění odhadu prognózy – zkušenosti jednoho centra. *Transfuze Hematol dnes* 2012;18(2):66-71.
55. Martišová M, Sninská Z, Hatalová A, Demečková E, Mistrík M. Dasatinib v 2. linii léčby chronické myelocytové leukémie u pacientů s rezistencí nebo intolerancí imatinibu na Klinice hematologie a transfuziologie Bratislava v letech 2007-2011. *Transfuze Hematol dnes* 2012;18(3):105-111.
56. Zemanová K, Žižková H, Jurček T, et al. Chronická myeloidní leukémie – standardizace molekulárního monitorování hladiny transkriptů BCR-ABL1 v České republice. *Transfuze Hematol dnes* 2016; 22(1):56-64.

### Podíl autorů na přípravě rukopisu

EF – příprava první verze rukopisu, finalizace rukopisu  
 KI – připomínkování, korektura první verze rukopisu, schválení finální verze

### Čestné prohlášení

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

### Autoři deklarují tento možný střet zájmů

EF – Angelini, Bristol-Squibb Meyer, Novartis – podpora klinických studií, účasti na konferencích, honoráře za přednášky  
 KI – bez střetu zájmů

### Poděkování

Tato práce byla podpořena grantovým projektem IGA\_LF\_2018\_004. Autoři děkují MUDr. Kláře Vrablíkové a Mgr. Vendule Hájkové z firmy Novartis, Ing. Petře Jasně z firmy Bristol-Myers Squibb a Mgr. Heleně Hedejové z firmy Angelini za zprostředkování údajů uvedených v tabulce 1.

Doručeno do redakce dne 23. 10. 2018.

Přijato po recenzi 17. 12. 2018.

### prof. MUDr. Edgar Faber, CSc.

Hemato-onkologická klinika  
 Fakultní nemocnice Olomouc  
 Lékařská fakulta Univerzity Palackého v Olomouci  
 I. P. Pavlova 6  
 775 20 Olomouc  
 e-mail: edgar.faber@fnol.cz