

## MALIGNÍ LYMFOMY/CHRONICKÁ LYMFOCYTÁRNÍ LEUKEMIE

### **P31/2992. DLOUHODOBÉ VÝSLEDKY APLIKACE SEKVENČNÍHO PROTOKOLU (IMUNO)CHEMOTERAPIE V PRVNÍ LINII LÉČBY DIFUZNÍHO B VELKOBUNĚČNÉHO LYMFOMU**

**Kubová Z., Procházka V., Fürst T., Papajík T.**  
(Hemato-onkologická klinika FN a LF UP, Olomouc)

Úvod: Difuzní velkobuněčný B lymfom (DLBCL) je nejčastějším typem maligního lymfomu v ČR. Celosvětovým standardem léčby je podání imunochemoterapie R-CHOP, který však u nemocných středního a vyššího rizika dle IPI nedosahuje uspokojivých výsledků. Optimální režim intenzivní indukční terapie v této populaci je předmětem studií. Cíl: Analýza dlouhodobých výsledků riziku uzpůsobené léčby DLBCL Sekvenčním protokolem (SQ). Metoda: Vyhodnotili jsme data 163 konsekutivně zařazených nemocných, kteří byli na základě stanovení rizika lymfomu indikováni pro léčbu SQ protokolem s / bez konsolidace vysokodávkovanou chemoterapií (BEAM200) a autologní transplantací (ASCT). Nemocní byli indikováni pro intenzivní terapii s/bez ASCT na základě IPI a přídatných rizikových faktorů (B symptomy, mimouzlinové postižení u primárně nodálního lymfomu, velká nádorová masa, vyšší hladina beta-2-mikroglobulinu, sérové tymidinkinázy, Ca125, nižší hladiny hemoglobinu pod 120 g/l, přítomnost 17p-, komplexních cytogenetických změn, Ki67 nad 50%, exprese bcl2 proteinu a přechod Folikulárního lymfomu v DLBCL). Celkem bylo analyzován soubor 90 mužů a 73 žen, věku 18-65 let (medián 48 let), kteří byli léčeni v letech 2000-2015. Celkem 119 případů (73,0 %) bylo pokročilého stadia (III/IV dle Ann Arbor), systémové symptomy byly přítomny v 94 případech (57,7 %). U 111 (68,1 %) pacientů bylo zaznamenáno mimouzlinové postižení a u 29 (17,8 %) postižení kostní dřeně. Největší masa nádoru dosahovala v průměru 9,6 cm (medián 9,2 cm). Distribuce dle IPI skóre: L (48, 29,4 %), IL (49, 30,1 %), HI (47, 28,8 %), H (19, 11,2 %). Chemoterapie byla zakončena ASCT u 98 (60,1 %) pacientů, konsolidační radioterapie byla využita ve 14 (8,6 %) případech. Rituximab byl do léčby zařazen od roku 2003, celkem byl aplikován u 125 (76,7 %) nemocných. Výsledky: Po indukční léčbě bylo dosaženo 85,9 % CR/uCR, 6,7 % PR, 1,8 % SD a 4,9 % nemocných na léčbě progredovalo, u 1 pacienta nebyla odpověď hodnocena. Během sledování (medián

88,1 měsíců) došlo k progresi/relapsu lymfomu u 42 (25,8 %) a k úmrtí u 36 (22,1 %) nemocných. Interval do progresu (PFS) v 5 - ti letech dosáhl 74,8 % (95% CI 68,0-81,2) a celkové přežití (OS) pak 81,8 % (95% CI 75,8-87,8). Aplikace rituximabu významně prodloužila 5 - ti leté PFS (50,0 % vs. 80,6%,  $p < 0,001$ ) i OS (60,5 % vs. 86,7%,  $p < 0,001$ ). Provedení ASCT v rámci konsolidace vedlo k menšímu počtu relapsů/progresí (5 -leté PFS 66,5 % vs. 77,9 %,  $p = 0,033$ ), což se promítlo do lepšího celkového přežití (5 - leté OS 73,6 % vs. 85,2 %,  $p = 0,032$ ). Závěr: Sekvenční protokol chemoimunoterapie aplikovaný v rámci filozofie riziku uzpůsobené léčby vede k vysokému procentu kompletních remisí a dlouhodobé kontrole DLBCL. Prezentace na konferenci bude doplněna intention-to-treat analýzou a popisem toxicity režimu. Dedikace: Podpořeno grantem IGA\_LF\_2016\_001

### **P32/2989. IMUNOCHEMOTERAPIE PODLE SEKVENČNÍHO PROTOKOLU JAKO VHDNÁ ALTERNATIVA INTENZIVNÍ LÉČBY MCL**

**Obr A., Procházka V., Jirkuvová A., Papajík T.**  
(Hemato-onkologická klinika FN, Olomouc; LF UP, Olomouc)

Lymfom z buněk pláštové zóny (MCL) je obvykle agresivní lymfoproliferativní onemocnění se značnou biologickou i klinickou variabilitou. Mladší nemocní s pokročilou chorobou a bez významné komorbiditity by měli v první linii léčby podstoupit vysocedávkovanou imunochemoterapii s následnou autologní transplantací periferních kmenových buněk (ASCT). Ideální složení indukční imunochemoterapie zůstává předmětem diskuse. V naší unicentrické retrospektivní analýze jsme hodnotili výsledky intenzivní terapie podle sekvenčního protokolu (SQ) u nemocných s MCL. Vyhodnotili jsme data 34 nemocných (25 mužů, 9 žen) léčených SQ protokolem (3 x PACEBO, 1 x IVAM a 1 x HAM) v letech 2000 - 2015. Medián věku v době diagnózy byl 57,5 let (38,4 - 63,5). Pokročilé stádium choroby podle Ann Arbor (III + IV) mělo 33 (97 %) pacientů. Podle mezinárodního prognostického indexu pro MCL (MIPI) bylo 19 nemocných s vysokým (56%), 8 se středním a 7 s nízkým rizikem. Kompletní SQ protokol dokončilo 33 nemocných, 1 zprogredoval na léčbě. Rituximab byl jako součást polychemoterapie v 1. linii u 32 (94%) léčených. ASCT podstoupilo 29 nemocných. 21 nemocných (62%) dosáhlo po léčbě CR, 8 (23%) PR, 4 (12%) PD či SD a 1 (3%) zemřel během terapie pro progresi lymfomu.

Léčebná odpověď byla hodnocena u transplantovaných v den +100, u netransplantovaných s odstupem 5-6 týdnů po ukončení terapie 1. linie. Při mediánu sledování 41,4 měsíců (3,5 roku) žije 22 (65%) pacientů, z toho 20 bez známek relapsu MCL. 3-leté přežití bez progresu/relapsu (PFS) dosáhlo 74% (95% CI 0,58 - 0,89). 3-leté celkové přežití (OS) 78% (95% CI 0,62 - 0,92). Křivka PFS dosáhla plateau po 4,5 letech na úrovni 54%, křivka OS pak po 6-ti letech na úrovni 61%. Intenzivní imunochemoterapie podle sekvenčního protokolu +/- ASCT má při přijatelné toxicitě srovnatelné výsledky léčebných odpovědí a přežití s Nordickým protokolem (Geissler 2012) nebo s imunochemoterapií dle protokolu R-hyperCVAD/MA (Romaguera 2005). Indukce R-SQ protokolem se jeví u naší populace jako vhodná alternativa jiných léčebných režimů. Podpořeno granty: IGA\_LF\_2016\_001 a IGA-MZ NT/13072-4

### **P33/2982. INFEKČNÍ KOMPLIKACE PŘI LÉČBĚ INHIBITORY PŘENOSU SIGNÁLU Z B-BUNĚČNÉHO RECEPTORU U NEMOCNÝCH S RELABUJÍCÍ CHRONICKOU LYMFOCYTÁRNÍ LEUKÉMIÍ**

**Urbanová R., Turcsányi P., Ryznerová P., Kubová Z., Procházka V., Papajík T. (Hemato-onkologická klinika LF UP a FN, Olomouc)**

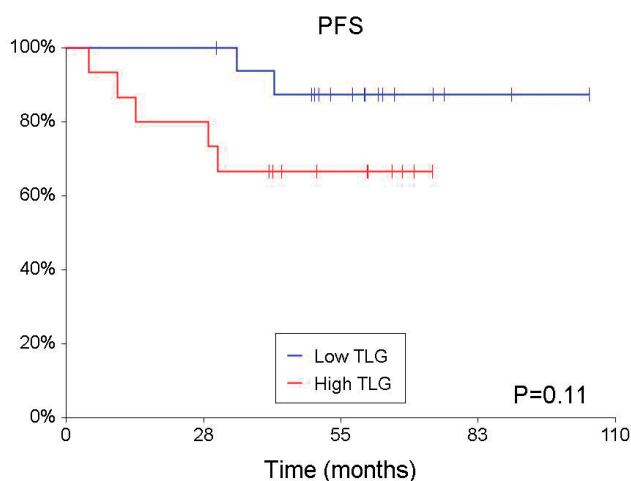
Úvod: U rizikových nemocných s chronickou lymfocytární leukémií (CLL) s časným relapsem onemocnění, u delece 17p- nebo mutace p53 v první linii léčby nebo v relapsu je indikována moderní, vysoce účinná terapie inhibitory přenosu signálu z B-buněčného receptoru (BCR), ibrutinibem (ibru) nebo idelalisibem (idel) v kombinaci s rituximabem (R). Materiál a metody: Referujeme výskyt infekčních komplikací u 18ti nemocných s relapsem CLL léčených ibru a R-idel na HOK LF UP a FN Olomouc od 12/2014, kdy jsme léky začali používat. Medián věku nemocných byl 65 let (rozmezí: 52 - 74 let), zastoupení mužů/žen 13/5. Výskyt 17p-/11q-/komplexních změn byl u 5/9/10 nemocných, nemutovaný stav IGHV mělo 16 nemocných, klonální vývoj nemoci byl zaznamenán u 7 nemocných. Medián počtu předchozích linií léčby byl 4 (rozmezí: 2 - 8), relaps/refrakterní (R/R) onemocnění mělo 12 nemocných. Medián délky léčby inhibitory BCR je 7 měsíců (rozmezí: 2,5 - 14 měsíců). Celkový počet dosažených léčebných odpovědí (ORR) byl velmi vysoký, 93 %, přestože se jednalo o rizikové, značně předléčené nemocné. Zemřelo 5 nemocných, z toho 3 na infekční komplikaci, 1 nemocný na sekundární karcinom a 1 na transformaci onemocnění do DLBCL. Medián celkového přežití (OS) od zahájení léčby ibru a R-idel byl 9,3 měsíce, pravděpo-

dobnost OS v 6ti měsících byla 84 %. Výsledky: U 9 z 10 nemocných na ibru byly pozorovány před zahájením léčby recidivující infekce (z toho u 8 nemocných stupně 3 a 4), v průběhu léčby ibru byly infekce zaznamenány u 7 z 10 nemocných (u všech 7 stupně 3 - 5). U nemocných léčených R-idel byly infekce před léčbou u všech 8 (u 4 stupně 3 a 4), během léčby R-idel se vyskytly u 5 nemocných (u 3 z nich stupně 3 a 4). Rituximab v doporučeném počtu 8 cyklů v rámci R idel pro infekce nedokončili 3 z 5 hodnocených nemocných. Letální infekční komplikace byly: sepse s komplikujícím infarktem myokardu, progresivní multifokální encefalopatie (PML) a kryptokoková infekce. Dva případy letálních infekčních komplikací budou rozebrány podrobně. Případ 52letého nemocného s časným relapsem onemocnění po 2 liniích léčby, který zemřel krátce po zahájení terapie ibru na PML ve stádiu aktivní CLL a případ 66letého nemocného, po 8 liniích předchozí léčby s R/R chorobou, s anamnézou recidivujících infekcí, který zemřel na kryptokokovou infekci na léčbě ibru ve stádiu stabilní nemoci. Závěr: Moderní léčba inhibitory přenosu signálu z BCR přinesla naději rizikovým a relabujícím nemocným s CLL. Díky dosažení velmi dobré léčebné odpovědi jsme u jednotlivých nemocných pozorovali zmírnění průběhu infekčních komplikací, přesto popisujeme závažné infekce stupně 3 a 4 často. Stejně tak zůstávají infekce ve sledovaném období častou příčinou úmrtí. První zkušenosti s léčbou v reálné klinické praxi nás nutí k zamyšlení, zda by indikace léčby inhibitory BCR u časnějších relapsů CLL nevedla ke snížení rizika závažných infekcí a zlepšení celkových výsledků této jinak vysoce účinné terapie. Podpořeno IGA LF 2016 001

### **P34/2973. STANOVENÍ KVANTITATIVNÍCH UKAZATELŮ FDG-PET U NEMOCNÝCH S HODGKINOVÝM LYMFOMEM**

**Šustková T., Procházka V., Henzlová L., Buriánková E., Ptáček J., Papajík T. (Lékařská fakulta UP, Olomouc; Hemato-onkologická klinika FN a LF UP, Olomouc; Klinika nukleární medicíny FN a LF UP, Olomouc)**

Úvod: Pozitronová emisní tomografie (PET) je standardní metodou stanovení stádia lymfomu a léčebné odpovědi u nemocných s Hodgkinovým lymfomem (HL). Využití kvantitativních dat (QT-PET) o objemu nádoru (Metabolic Tumor Volume, MTV) a jeho metabolismu (Total Lesion Glycolysis, TLG) při diagnóze představuje nový atraktivní biomarker pro odhad prognózy nemocných. Cíl: retrospektivní analýza pilotních dat QT-PET u nově diagnostikovaných nemocných s HL Metoda: Analyzovali jsme PET skeny nemocných s klasickým HL. Všechna vyšetření



byla provedena na shodném kalibrovaném přístroji (Siemens Biograph-16), analýza dat byla realizována pomocí Siemens Workstation, programu Syngo.via a software PET Compare. Standardizace vyšetření byla realizována měřením hodnot SUVmax, SUV mean a MTV pomocí fantómu NEMA IEC Body phantom. Oblasti analýzy (Regions-of-Interest, ROIs) byly definovány jako voxely s aktivitou 41 % SUVmax a vyšší. Hodnota TLG byla vypočítána jako součet součinů MTV a SUVmean ze všech PET+ lokalit. Výsledky: Celkem jsme analyzovali data 32 nemocných, 12 mužů a 20 žen s mediánem věku při dg. 34,6 let (rozmezí 18,4-58 let). Histologické subtypy HL: nodulární skleróza u 22 (69 %), smíšená buněčnost u 8 (25 %) a na lymfocyty bohatý HL u 2 (6%). Stádia dle německé skupiny pro studium HL (GHSG): časná u 3 (9%), střední u 11 (34%) a pokročilá u 18 (56 %) nemocných. Bulk byl přítomen u 18 (56 %) pacientů. Chemoterapie byla podána u 31 nemocných dle protokolu: BEACOPPesc u 22 (69 %), ABVD u 5 (16 %), Stanford V u 2 a COPP/ABV u 1 nemocného. Kompletní remise byla dosažena u 28 (88%), parciální u 2 (6 %) a 2 (6 %) nemocní na léčbě progredovali. Během sledování souboru (medián 60,4 měsíců) došlo k progresi/relapsu u 7 (22 %) pacientů a 3 nemocní zemřeli. Přežití bez progresu v 5-ti letech (PFS) dosáhlo 77,5 %, celkové přežití v 5-ti letech 89,5 %. QT-PET data: průměrná hodnota TLG dosáhla 600,79±630,7; medián 354,9. Průměrná hodnota MTV 80,3±82,2 cm<sup>3</sup>; medián 53,0 cm<sup>3</sup>. Korelace QT-PET se stádiem dle GHSG nebyla nalezena pro TLG (p=0,60), v případě MTV byl trend vyššího zastoupení pokročilých forem nemoci u vysokého MTV (p=0,18). Přítomnost bulku korelovala s vyšším MTV a TLG (p=0,036 pro obě proměnné). Kvalita léčebné odpovědi celkově nekorelovala s MTV a TLG (p=0,29 pro obě proměnné), nicméně 3 ze 4 non-CR nemocných měli vyšší MTV i TLG. Nemocní, u nichž došlo

k progresi/relapsu měli při dg častěji vyšší MTV a TLG (p=0,047). Nemocní s vyšším MTV a TLG (nad medián) měli trend s horším 5-ti letému PFS (66,7% vs 87,5 %, p=0,11). Závěr: Nemocní s HL mají při diagnóze velmi variabilní hodnoty kvalitativně měřených parametrů lymfomu, které jen volně korelují se standardně používanými parametry pro stanovení rozsahu nemoci. Pilotní soubor naznačuje možný prediktivní potenciál QT-PET. Výsledky budou dále rozvíjeny na větším souboru nemocných. Dedikace: Podpořeno programem Studentské vědecké odborné činnosti (SVOČ) LF UP a granty: IGA\_LF\_2016\_001 a Takeda IISR-2015-101289.

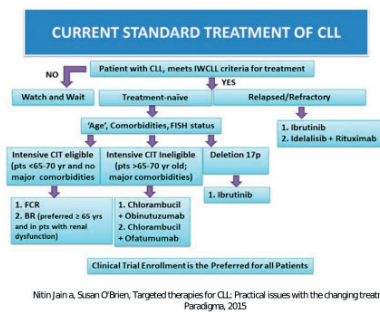
### P35/2957. LÉČBA RIZIKOVÉ CLL A POSTAVENÍ ALOGENNÍ TRANSPLANTACE V ÉRE NOVÝCH INHIBITORŮ

Fečková Mihályová J., Zuchnická J. (Klinika hematologie, Fakultní nemocnice, Ostrava)

Úvod: Pacienti s chronickou lymfocytární leukemií s vysokým cytogenetickým rizikem (del 17p a/nebo mutaci TP 53, nemutovaný IGVH, del 11q) špatně reagující na chemoimunoterapii (CIT) patří do skupiny pacientů, pro které inhibitory B buněčného receptoru (BCR) jsou vyhlídkou na zlepšení prognózy. Management terapie není jednoduchý a rozhodnout se mezi terapií inhibitory nebo alogenní transplantací je ovlivněné více faktory. Od roku 2012 byl na naší klinice ambulantně sledovaný muž (37let). V době stanovení diagnózy klinické stadium (KS) II dle Raie, B dle Bineta, Matutes 4/5, del 13q, del 17p, nemutovaný IgVH gen, status p53 funkční, CIRS1. O 30 měsíců později dosáhl indikační kritéria k léčbě (doubling time lymfocytů, progresse lymfadenopatie, B symptomy) a byl iniciovaný do studie fáze II idelalisib + rituximab. V centrální laboratoři del 17p opakovaně nebyla potvrzena a u pacienta byla zahájena terapie FCR ve standardních dávkách. Po 4 cyklech dosáhl hematologickou remisi, dle velikosti LU ale přetrvávala stable disease (SD). Navrženou alogenní transplantaci hematopoetických kmenových buněk (aloHSCT) v té době odmítl. Současně byla odeslána žádost na pojišťovnu ke schválení idelalisibu, která byla negativní. Jako 5. cyklus a následně další 2 cykly jsme aplikovali režim RCD. Po 8 cyklech (7 měsíců od zahájení léčby), byla dosažena parciální remise (PR) a pacient byl zařazený do transplantačního programu s nepříbuzenským HLA shodným dárce v dubnu 2016 (10 měsíců od zahájení léčby). Co by bylo jinak? Negativní výsledek del 17p v centrální laboratoři neumožnil v 1. linii aplikaci idelalisib+rituximab. Diskrepance mezi nálezem byla 70% pozitivních buněk s del 17p zjištěných metou FISH vs. threshold 7%. Objasnit negativitu tohoto

studie	follow up (měsíc)	počet pacientů	regimen	ORR (%)	median PFS	median OS
GS-US-312-0116 (NCT0139512)	17	220	rituximab+idelalisib	74,5 vs. 34,5	u 95% nebyl dosažen vs. 5,5 měsíců	nebyl dosažen
POC-1112-CA (NCT01578707)	16	391	ibrutinib vs. ofatumumab	90 vs. 25	u 95% nebyl dosažen vs. 8 měsíců	nebyl dosažen

výsledky studií u pacientů s R/R léčených BCR inhibitory, poslední up date 4/2015 a 11/2015 (GS-US-312-0116 a POC-1112-CA)



Studie	regimen	del 17p
DUO (NCT02004522)	duvelisib vs. ofatumumab	+
HELIOS (NCT01611096)	BR +/- ibrutinib	-
ACE-CL-006 (NCT02477696)	ACP-196 vs. ibrutinib	+ del 11q
TG Therapeutics (NCT02301156)	ibrutinib +/- ublituximab	+ del 11q/ mutation TP53
GS-US-312-0115 (NCT01569295)	BR +/- idelalisib	+
Abbvie/Roche (NCT02035471)	Ezetodaxif vs. BR	+

probíhající a plánované studie ve fázi III u pacientů s R/R CLL (18 let a více)

studie	Regimen	del 17p	vek (roky)
RESONATE-2 (NCT01722487)	ibrutinib vs. Chlorambucil	-	>65
POC-1130-CA (NCT02264574)	ibrutinib + obinutuzumab vs. chlorambucil + obinutuzumab	+	>68
ALLIANCE A01202 (NCT01888272)	ibrutinib vs. IR vs. BR	+	>65
GS-US-312-0118 (NCT01980875)	idelalisib + obinutuzumab vs. chlorambucil + obinutuzumab	+	>68
GS-US-312-0123 (NCT01980888)	BR +/- idelalisib	+	>68
ACE-CL-007 (NCT02475681)	ACP-196 vs. ACP-196+Obinutuzumab vs. Chlorambucil +Obinutuzumab	+	>68
Abbvie/Roche (NCT02429482)	venetoclax + obinutuzumab vs. Chlorambucil +obinutuzumab	+	>68

probíhající a plánované studie fáze III pro pacienty v primoléčbě

výsledku se nám nepodařilo. Odmítnutí aloHCST pacientem a neschválení idelalisibu vedlo k aplikaci dalších 3 cyklů chemoterapie a opětovnému směřování pacienta k transplantaci. Do transplantačního programu byl zařazen v době dosažení PR, 2 měsíce před plánovaným převodem transplantátu. AloHCST představuje zatím jedinou potencionálně kurativní modalitu i když její postavení v éře BCR inhibitorů a dalších nových molekul bude modifikované. Z hlediska lepší léčebné odpovědi je transplantace po CIT plánovaná v čase dosažení první remise. Dle retrospektivní studie European group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT) a prospektivní studie German CLL Study Group (GCLLSG) je OS a PFS ve 2 letech 70 a 28 % (EBMT), ve 3 letech 79 a 33% (GCLLSG). Renesanci v léčbě CLL přinesli inhibitory BCR. Idelalisib a ibrutinib již byli schváleny v terapii v terapii R/R CLL. Idelalisib v kombinaci s rituximabem i jako primoléčba pacientů s del 17p a/nebo mutaci TP53, kteří nejsou vhodní k chemoimunoterapii. Popřední místo má ale ibrutinib, je indikovány k primoléčbě pacientů s del 17p (Farooqui et al. uvádí skupinu 35 pacientů léčených v 1. linii ibrutinibem, ORR 97%, 12% CR, PFS 91% ve dvou letech). Další inhibitory BCR, které jsou předmětem více studií jsou uvedené v tabulce 1. Uplatnění v léčbě budou mít i nové monoklonální

protilátky, Bcl-2 antagonisti, imunomodulační léky a některé další (chimerický antigenní receptor (CAR) T cells). Závěr: Postavení aloHCST nestrácí svůj význam, měla být zvažovaná u pacientů s vysokým rizikem léčebných některým z nových inhibitorů a u pacientů rezistentních vůči těmto inhibitorům. Jestli transplantovat v době nejlepší léčebné odpovědi nebo vyčkat progresu není aktuálně jasné.

### P36/2946. HODNOCENÍ IMUNITNÍCH DEFEKTŮ U NEMOCNÝCH S CHRONICKOU LYMFOCYTÁRNÍ LEUKÉMIÍ: PILOTNÍ VÝSLEDKY

Vodárek P., Andrýs C., Jurenková A., Motyčková M., Řezáčová V., Souček O., Šimkovič M., Vokurková D., Belada D., Žák P., Smolej L. (IV. interní hematologická klinika, FN a LF UK, Hradec Králové; Ústav klinické imunologie a alergologie, FN a LF UK, Hradec Králové)

**ÚVOD:** Chronická lymfocytární leukémie (CLL) je spojená s významným kombinovaným imunodeficiencí. Ten je příčinou zvýšeného výskytu infekcí, které jsou nejčastější příčinou úmrtí nemocných s CLL. Řada mechanismů imunoprese u CLL však není dosud dobře prozkoumána. **CÍLE:** Komplexní zhodnocení buněčné a humorální imunity u nemocných s neléčenou CLL. **NEMOCNÍ A METODIKY:** Imunitní funkce byly prospektivně hodnoceny u neléčených nemocných s CLL sledovaných na IV. interní hematologické klinice FN a LF UK Hradec Králové. Dosud bylo vyšetřeno 41 nemocných (28 mužů, medián věku 67 let, nízké/střední/vysoké modifikované riziko dle Raie u 7/16/18 nemocných). Parametry buněčné imunity (absolutní počty Th lymfocytů (1y), Tc-1y, polyklonálních B-ly a NK buněk) byly hodnoceny průtokovou cytometrií (cytometr Navios, Beckman Coulter). Sérové koncentrace cytokinů (IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-17A, IL-17F, IL-33 a IFN-gamma) byly stanoveny metodou X-MAP (Luminex). Humorální imunita byla hodnocena měřením koncentrací jednotlivých tříd a podtříd imunoglobulinů (IgG1-4, IgM a IgA) imunonefelometricky pomocí kitů Image Immunochemistry System (Beckman Coulter), a dále testem aktivace komplementu pomocí kitů Wieslab Complement System Screen (Euro Diagnostica). Zároveň byly sbírána klinická data o prodělaných infekcích. Při statistické analýze dat humorální imunity byl využit kontrolní soubor 46 zdravých dárců krve (27 mužů, medián věku 40 let). **VÝSLEDKY:** U nemocných s CLL byla ve srovnání se zdravými kontrolami výrazně zvýšená aktivace komplementu lektinovou a alternativní cestou (p=0,005 a p=0,0028). Nemocní s CLL měli dále výrazně vyšší koncentrace IL-4,

IL-6, IL-10 a IFN-gamma ( $p < 0,0001$ ). Nemocní, kteří prodělali závažné infekce ( $n=8$ ) měli významně nižší relativní počet T-ly, Th-ly, polyklonálních B-ly a NK buněk ( $p=0,03$ ,  $p=0,017$ ,  $p=0,005$  a  $p=0,046$ ) a také nižší koncentrace celkového IgG a IgG2 ( $p=0,108$  a  $p=0,063$ ). Nemocní s progresí CLL ( $n=25$ ) měli významně nižší koncentrace IgG2 a IgM ( $p=0,011$  a  $p=0,05$ ). ZÁVĚR: Naše pilotní výsledky ukazují na vliv relativních (ne však absolutních) počtů lymfocytárních populací na vývoj infekcí. To lze vysvětlit imunosupresivním vlivem leukemického klonu, od jehož velikosti se relativní počty lymfocytů odvíjejí. Dále byla u nemocných pozorována významně zvýšená aktivace komplementu lektinovou a alternativní cestou a významné zvýšení sérových koncentrací IL-4, IL-6, IL-10 a IFN-gamma. Nižší koncentrace sérového IgG včetně podtříd byly spojeny s progresí onemocnění a vyšším rizikem závažných infekcí. Budou prezentována aktualizovaná data. Podpořeno RVO MZ ČR (FNHK, 00179906) a grantem Vnitřní soutěže Lékařské fakulty UK v Hradci Králové „Prognostický význam exprese HLA-G na buňkách chronické lymfocytární leukémie.“

### **P37/2943. NOVÁ KOMBINACE ANTIGENŮ VHODNÁ PRO SLEDOVÁNÍ MINIMÁLNÍ REZIDUÁLNÍ NEMOCI U VLASATOBUNĚČNÉ LEUKEMIE METODOU PRŮTOKOVÉ CYTOMETRIE**

**Chovancová J., Hrabčáková V., Osičková J., Borský M., Dvořáková D., Doubek M. (CEITEC, Brno)**

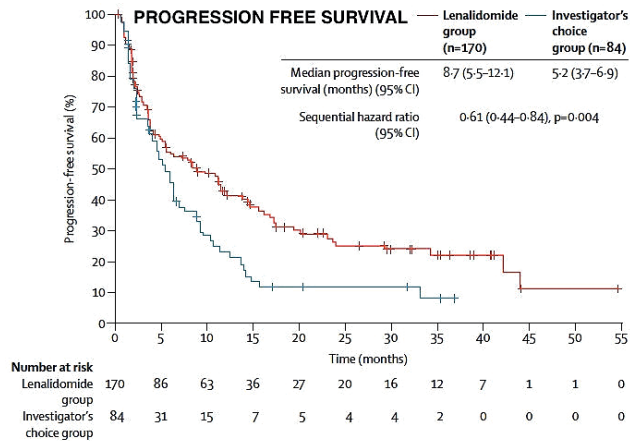
Úvod: Vlasatobuněčná (trichocelulární; hairy-cell) leukémie (HCL) je vzácné onemocnění vyskytující se převážně u starší populace obyvatel. Podle WHO klasifikace z r. 2008 se jedná o lymfoproliferativní onemocnění ze zralých B-lymfocytů. Buňky HCL vykazují typické morfologické a imunohistochemické znaky. Leukemické buňky jsou dobře detekovatelné i pomocí průtokové cytometrie za použití specifických monoklonálních protilátek proti povrchovým antigenům a imunoglobulinových řetězcům. Molekulární analýza DNA umožňuje prokázat také přeskupení genu pro imunoglobulinové řetězce a detekovat získanou mutaci protoonkogenu BRAF V600, která je prokázaným spolehlivým markerem tohoto onemocnění. Na našem pracovišti se v rámci diagnostických protokolů setkáváme s pacienty, u kterých byla dg. vlasatobuněčná leukémie prokázána molekulárně, a také pomocí specifického fenotypu. Existuje ale skupina pacientů s fenotypem, který splňuje kritéria pro tzv. wild-type HCL či jinou zralou B-lymfoproliferaci, přičemž odlišení od fenotypu „klasické“ HCL není vždy jednoznač-

né. V minulých letech se diagnostika HCL pomocí průtokové cytometrie zaměřovala hlavně na detekci exprese antigenů CD11c, CD103, CD25 včetně pan-B-lymfocytárních znaků (CD19, CD20, CD22, CD79a). Kombinace pozitivitu více antigenů současně v rámci jedné analýzy je považována u této diagnózy za vysoce specifickou metodu. V porovnání s fyziologickými B-lymfocyty jsou jednotlivé antigeny exprimovány na povrchu leukemických buněk s rozdílnou mírou exprese. Na našem pracovišti jsme se zaměřili na srovnání relevance sledování nově popsáných antigenů typických pro pacienty s HCL a výsledky molekulární analýzy mutace BRAF V600. Moderní terapeutické protokoly zvyšují nároky na monitorování minimální reziduální nemoci (MRD), a tím včasné odhalení relapsu onemocnění. V naší práci navrhuje kombinaci vhodných antigenů, které umožní vysoce citlivou detekci MRD, a tedy zlepšení predikce odpovědi na léčbu nebo pokračující remise. Metodika: Do studie bylo zatím zahrnuto 10 pacientů s nově diagnostikovanou HCL, u kterých byla zjištěna mutace genu BRAF V600, a 10 zdravých kontrol. Metodou osmibarevné průtokové cytometrie byla na vzorcích periferní krve (PK) sledována exprese povrchových antigenů CD11c, 19, 20, 25, 48, 103, 123, 160, 200 a 305. Osmibarevná analýza byla provedena na cytometru FACSCantoII. Výsledky: Signifikantně vyšší exprese na buňkách HCL v porovnání se zdravými B lymfocyty byla kromě v diferenciální diagnostice standardně využívaných antigenů (CD11c, 25 a 103) nalezena u znaků CD48, 200 a 305 ( $p < 0,01$ ). Dále byla u poloviny pacientů zjištěna pozitivní exprese antigenu CD160. Expese antigenu CD123 byla negativní u jednoho pacienta. Závěr: U diagnózy HCL se často setkáváme s variabilním imunofenotypem, který komplikuje společně s přesným stanovením diagnózy i následné monitorování MRD. Rozšíření standardně využívané kombinace sledovaných znaků o znaky CD48, 200 a 305 by mohlo umožnit vysoce senzitivní detekci MRD a zároveň pomoci při diferenciální diagnostice B lymfoproliferací.

**P38/2934. RANDOMIZOVANÁ MULTICENTRICKÁ STUDIE FÁZE II HODNOTÍCÍ LENALIDOMID VE SROVNÁNÍ S LÉKEM NEJLEPŠÍ VOLBY PODLE ZKOUŠEJÍCÍHO U RELABUJÍCÍHO/ REFRAKTERNÍHO LYMFOMU Z PLÁŠŤOVÝCH BUNĚK: VÝSLEDKY STUDIE MCL-002 (SPRINT)**

Trněný M., Klener P., Lamy T., Walewski J., Jurczak W., Belada D., Mayer J., Radford J., Alexeeva J., Osmanov D., Biyukov T., Patturajan M., Casadebaig Bravo M.-L., Arcaini L. (I.interní klinika, 1. Lékařská fakulta UK a Všeobecná fakultní nemocnice, Praha - CZ; Oddělení hematologie, Hôpital Pontchaillou, Rennes - F; Oddělení lymfoidních malignit, Onkologické centrum, Institut Marie Curie Skłodowské, Varšava - PL; Oddělení hematologie, Jagellonská univerzita, Krakow - PL; IV. interní hematologická klinika, Lékařská fakulta UK a Fakultní nemocnice, Hradec Králové - CZ; Interní hematologická a onkologická klinika Fakultní nemocnice, Brno - CZ; The University of Manchester and The Christie NHS Foundation Trust, Manchester - GB; Federální centrum lékařského výzkumu, St. Petersburg - RUS; Onkologické výzkumné centrum, Moskva - RUS; Celgene Research and Development, Sarl - CH; Celgene Corporation, Summit, NJ - USA; Oddělení hematologie a onkologie, Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo & Oddělení molekulární medicíny, Univerzita v Pavii, Pavia - I)

Úvod: Lymfom z pláštěvých buněk (MCL) je agresivní non-Hodgkinský lymfom se špatnou prognózou, a to zejména po selhání léčby první linie. Lenalidomid je imunomodulační látka s protinádorovým a antiproliferativním účinkem, u kterého byla prokázána účinnost v jednoramenné studii fáze II u pacientů s relabujícím/refrakterním (R/R) formou MCL. Prezentovaná randomizovaná studie srovnávala účinnost a bezpečnost lenalidomidu s lékem volby podle zkoušejícího (IC) u pacientů s R/R MCL. Metodika: Do evropské multicentrické randomizované fáze II MCL-002 (SPRINT) byli zařazeni pacienti, u nichž došlo k selhání léčby s maximálně 3 relapsy a kteří nebyli způsobilí k intenzifikované léčbě nebo k transplantaci kmenových buněk (NCT00875667). Perorální lenalidomid byl podáván v dávce 25 mg/den ve dnech 1 až 21 každého 28denního cyklu až do progresse onemocnění (PD) nebo nesnášenlivosti. Léčba IC sestávala z monoterapie cytarabinem, rituximabem, gemcitabinem, fludarabinem nebo chlorambucilem. Pacientům, u kterých došlo k progresi při léčbě IC, byl povolen přechod na lenalidomid. Primárním endpointem bylo přežití bez progresse (PFS). Hodnocení odpovědi bylo centrálně přehodnoceno za použití modifikova-



**Tabulka. Účinnost lenalidomidu vs. IC u R/R MCL**

Účinnost	Lenalidomid (n=170)	IC (n=84)	P
PFS (Lenalidomid vs. IC)			
Medián PFS, měsíce (95% CI)	8,7 (5,54-12,14)	5,2 (3,67-6,95)	
Sekvenční HR (95% CI)	0,61 (0,44-0,84)		
Sekvenční log-rank test, hodnota p	0,004		
ORR, n (%)	68 (40)	9 (11)	<0,001
CR/CRu, n (%)	8 (5)	0 (0)	0,043
Medián DOR, měsíce	16,1	10,4	0,421
Medián OS, měsíce	27,9	21,2	0,52

ných kritérií IWG. Výsledky: 254 pacientů s R/R MCL bylo randomizováno v poměru 2 : 1 k léčbě lenalidomidem (n = 170) nebo IC (n = 84). Medián věku činil 68,5 let, s převahou mužů (73 %) a mediánem 2 předchozích terapií. V době diagnózy bylo 91 % pacientů (pac.) ve stádiu III/IV, v době vstupu do studie mělo 74 % pac. vysoké nebo středně vysoké dle MIPI, 43 % velkou nádorovou nálož a 20 % „bulky“ onemocnění. Pacienti v rameni s lenalidomidem měli řadu horších prognostických parametrů (> 5 procentních bodů) než pac. v rameni s IC. V mediánu 2,9 měsíců bylo 39 pacientů (46 %) z ramene IC převedeno na lenalidomid v důsledku PD. S mediánem sledování 15,9 měsíců bylo pozorováno 39 % snížení rizika progresse nebo úmrtí (PFS) ve prospěch lenalidomidu (HR = 0,61 [95% CI, 0,44 až 0,84]; P = 0,004; Tabulka). Medián PFS činil 8,7 měsíců u lenalidomidu vs. 5,2 měsíců u IC. Celková míra odpovědi

(ORR) byla významně vyšší u lenalidomidu než u IC (40 % vs. 11 %; poměr CR/CRu činil 5 % oproti 0 %). Medián doby do první odpovědi činil 4,3 měsíce pro lenalidomid (u IC nebylo odpovědi dosaženo). Medián DOR (16,1 vs. 10,4 měsíců) a medián OS u kompletních údajů (27,9 vs. 21,2 měsíců) byl delší u lenalidomidu než u IC (rozdíly nebyly statisticky významné). Výsledky účinnosti byly konzistentní ve všech podskupinách. Údaje o bezpečnosti u 250 pacientů, kteří užili  $\geq 1$  dávku, prokázaly výraznější snížení dávky u pacientů léčených lenalidomidem (41 %) vs. IC (17 %), částečně v důsledku delšího mediánu trvání léčby lenalidomidem ve srovnání s IC a přísných pravidel pro modifikaci dávky lenalidomidu. Nejčastější nežádoucí účinky (AE) stupně 3/4 byly neutropenie (lenalidomid 44 % vs. IC 34 % [bez zvýšeného rizika infekce]), trombocytopenie (18 % vs. 28 %) a leukopenie (8 % vs. 11 %). „Tumor flare“ reakce se vyskytly pouze u pacientů léčených lenalidomidem (10 %, ve 2 % stupeň  $\geq 3$ ); U 1 pacienta v každém rameni došlo k syndromu nádorového rozpadu. Druhá primární malignita byla pozorována u 4 % resp. 5 % pacientů léčených lenalidomidem resp. IC. Závěr: Studie MCL-002 prokázala signifikantní a klinicky významné zlepšení PFS u lenalidomidu ve srovnání s kontrolním ramenem u pacientů s pokročilým R/R MCL. Dále došlo k numerickému zlepšení parametrů ORR a CR, TTR, DOR a OS ve prospěch lenalidomidu. Toxicita lenalidomidu byla očekávatelná a zvládnutelná.

### **P39/2933. DENZITA HRS BUNĚK A VZTAH MEZI HRS BUŇKAMI A LAM (LYMPHOMA-ASSOCIATED MACROPHAGES) VE VZTAHU K PROGNÓZE NEMOCNÝCH S HODGKINOVÝM LYMFOMEM**

Procházka V., Papajík T., Dihel M., Mikulková Z., Dýšková T., Prouzová Z., Kriegová E., (Hematologická klinika, Fakultní nemocnice, Olomouc; Ústav imunologie, Lékařská fakulta Univerzity Palackého, Olomouc; Ústav patologie a molekulární medicíny 2. LF UK a FN Motol, Praha)

Klasický Hodgkinův lymfom (cHL) je charakteristický extrémní nerovnováhou mezi zastoupením maligních HRS buněk (Hodgkinovy, Reed-Sternbergovy buňky, 0,1-10%) a buněk mikroprostředí. Nedávné práce prokázaly negativní prognostický vliv vysoké hustoty LAM (lymphoma-associated macrophages) v době diagnózy. Dosud však nebyl studován vztah mezi denzitou HRS buněk a poměrem mezi HRS buňkami a LAM na vývoj onemocnění. Studovali jsme proto vzorky z doby diagnózy získané od 38 pacientů s cHL. Hodnoceny byly řezy se základním barvením hematoxylinem a imuno-

histochemickým barvením pomocí CD30 (HRS), CD68 (LAM). Po naskenování vzorku pomocí automatické analýzy TissueFAXS (TissueGnostics, Vienna, Austria) byla manuálně odlišena (gatována) nádorová tkáň (TTS – total tumor sample) a vyloučeny oblasti fibrózní, nekrotické či znehodnocené tkáně; získaná data byla dále zpracována TissueQuest softwarem. Během doby sledování (medián 64,8 měsíců od ukončení léčby) došlo u 9 (24%) pacientů k relapsu či progresi cHL (RR kohorta) a 7 (18%) pacientů zemřelo. U 22 (58%) zařazených pacientů nebyl během doby sledování zaznamenán návrat onemocnění (skupina „relapse-free“, RF). TTS zaujímala 27,2 $\pm$ 13,5 mm<sup>2</sup>, průměrný počet buněk ve studovaných vzorcích byl 461504 $\pm$ 286491 buněk/mm<sup>2</sup>, přičemž TTS ani počet buněk/mm<sup>2</sup> se u RR a RF kohort nelišily (P>0,05). Denzita CD30+ HRS byla vyšší u pacientů RF než RR (283 vs 93 buněk na mm<sup>2</sup>, P=0,006). Poměr CD68+/CD30+ buněk (LAM/HRS) byl vyšší u RR skupiny než u RF pacientů (13,1 vs. 7,5). Vysoký poměr LAM/HRS (>7,5) byl asociován s horším 5-letým PFS (41,1% vs. 94,7%, P=0,001) a OS (62,2% vs. 100%, P=0,004). Multivariantní Cox analýza prokázala, že vysoký poměr LAM/HRS je nepříznivým prognostickým faktorem pro PFS (P=0,01, HR=13,3) nezávislým na věku, pohlaví, stádiu a subtypu lymfomu. Naše výsledky naznačují využitelnost měření denzity HRS buněk a poměru mezi HRS buňkami a LAM v prognózování pacientů s Hodgkinovým lymfomem. Ověření těchto výsledků dále probíhá na větším souboru pacientů. Grantová podpora: IGA\_LF\_2016\_001, LFUP\_2016\_011, Takeda Pharmaceuticals (IISR-2015-101289)

### **P40/2930. DA-R-EPOCH V LÉČBĚ MLADŠÍCH NEMOCNÝCH S DLBCL**

Šimkovič M., Belada D., Motyčková M., Sýkorová A., Pospíšková J., Žák P. (IV. interní hematologická klinika, Fakultní nemocnice a Lékařská fakulta UK, Hradec Králové)

Úvod: Standardní léčba režimem R-CHOP mladších nemocných (<60let) s difuzním velkobuněčným B-lymfomem (DLBCL) s vyšším aaIPI (>1) je spojena s relabujícím či primárně refrakterním onemocněním až u poloviny pacientů. Výsledky studií fáze II u této podskupiny nepředléčených nemocných s DLBCL naznačují, že by režim DA-R-EPOCH mohl vést k lepším výsledkům než při použití protokolu R-CHOP. Velmi příznivé léčebné výsledky dosahuje DA-R-EPOCH také u nemocných s primárním mediastinálním velkobuněčným B-lymfomem (PMBL). Cíle projektu: Posouzení účinnosti a bezpečnosti režimu DA-R-EPOCH v 1. linii léčby mladších nemocných s DLBCL vyššího rizika (aaIPI>1) a pacientů s PMBL. Nemocní a metody:

Retrospektivní analýza byla provedena u 22 pacientů léčených na IV. interní hematologické klinice, Fakultní nemocnice a Lékařské fakulty Univerzity Karlovy v Hradci Králové od srpna 2012 do listopadu 2015 (6 mužů [27 %], věkový medián 56 let [rozmezí 24-66]). V době zahájení léčby byli 3 nemocní (14 %) ve věku >60 let, u těchto pacientů umožňoval velmi příznivý biologický stav podání intenzivnější indukční léčby. Zastoupení jednotlivých subtypů DLBCL: PMBL 7/22 (32 %), jiný podtyp DLBCL 15/22 (68 %). Rozdělení souboru na základě imunohistochemické detekce: GC-fenotyp 11/22 (50 %), non-GC 7/22 (32 %), neurčeno 4/22 (18 %). Rozdělení do rizikových skupin podle aaIPI: skóre 1 u 4/22 (18 %; pouze PMBL), 2 u 15/22 (68 %), 3 u 3/22 (14 %). 71 % mělo pokročilé stádium onemocnění (III-IV). B příznaky byly přítomny u 6/22 (27 %), bulky choroba (>10 cm) u 10/22 (45 %), zhoršený výkonnostní stav (ECOG >1) u 6/22 (27 %), zvýšený beta-2-mikroglobulin u 6/19 (32 %) a zvýšené LDH u 22/22 (100 %). Profylaxi CNS postižení dostalo 11/22 (50 %) nemocných (i. t. profylaxe, n=7, HD-MTX, n=4). Všichni obdrželi antimikrobiální profylaxi sulfametozazolem/trimetoprimem a valaciklovirem či ekvivalenty. Výsledky: Kompletní remise (PET-CR) byla dosažena u 18/22 (82 %), parciální remise u 2/22 (9 %), stabilní choroba u 1/22 (5 %) a progresivní choroba u 1/22 (5 %). Léčba byla předčasně ukončena u 2 pacientů pro závažnou toxicitu (1x nitrobřišní sepse, 1x perforace tenkého střeva). Celkem bylo podáno 103 léčebných cyklů, medián nejvyšší dosažené dávkové hladiny byl 2 (rozmezí 1-5). Závažné infekce či febrilní neutropenie (stupeň >2 dle CTCAE) se objevily u 5/22 (23 %) a periferní neuropatie vyžadující redukci dávky vinkristinu u 4/22 (18 %) nemocných. Data týkající se PFS a OS dosud nejsou k dispozici pro krátké sledování (medián FU 9 měsíců). K progresi/relapsu došlo u 3/22 (14 %) nemocných (1x primárně progresivní PMBL, 1x tzv. double-hit lymfom s průkazem zlomu genu MYC a BCL2, 1x progresse v oblasti CNS). Závěr: Léčba mladších nemocných s DLBCL vyššího rizika a pacientů s PMBL protokolem DA-R-EPOCH vykazuje slibnou účinnost s přijatelnou toxicitou. Hodnocení dlouhodobé léčebné odpovědi bude možné až po delším sledování souboru (nejvyšší riziko relapsu je do 2 let od skončení terapie).

### **P41/2921. PROFILOVÁNÍ CHEMOKINOVÝCH RECEPTORŮ U PACIENTŮ S CHRONICKOU LYMFOCYTÁRNÍ LEUKEMIÍ**

**Manukyan G., Papajík T., Gregorová P., Fillerová R., Urbanová R., Jarošová M., Jiskrová E., Turcsányi P., Procházka V., Kriegová E. (Department of Immunology, Faculty of Medicine and Dentistry, Palacky University Olomouc; Group of Molecular and Cellular Immunology,**

**Institute of Molecular Biology, Yerevan - ARM; Department of Hemato-Oncology, Faculty of Medicine and Dentistry, Palacky University and Faculty Hospital, Olomouc - CZ)**

Tumour cell migration share many similarities with leukocyte trafficking, which is regulated by chemokines and their receptors. A growing body of evidence indicates that chemokine receptors contribute to development and progression of numerous cancers including chronic lymphocytic leukemia (CLL). CLL is a lymphoproliferative disorder characterized by accumulation of mature B lymphocytes in the peripheral blood, bone marrow, and lymphoid tissues. We aimed to analyze expression profiles of five chemokine receptors CXCR3, CXCR4, CXCR5, CCR7, and CXCR7 on normal and malignant B-cells from patients with CLL with flow cytometry. CLL cells were identified as CD5+/CD19+ cells. Cytometric analysis of chemokine receptor expression determined that the majority of neoplastic B cells were positive for CXCR4, CXCR5, and CCR7 which percentage was significantly higher than on normal B cells (P<0.05). In opposite, significant reduction in percentage of CXCR7 on neoplastic cells was found (P<0.05). In comparison with healthy individuals, in patients with CLL a significant increase in MFI of CXCR4 (P<0.001) and CCR7 (P<0.001) on CLL cells was detected. Taken together, our results have shown that CLL is associated with distinct profiles of chemokine receptor expression, suggesting their important role during CLL development. Regulation of these receptors can represent an attractive molecular target for the treatment of CLL. Further investigations are needed to establish consistency of chemokines and their receptors interacting as a complex network. Grant support: MZ ČR VES16-32339A; IGA\_LF\_2016\_001; IGA\_LF\_2016\_011.

### **P42/2913. KORELACE VYBRANÝCH PROGNOSTICKÝCH ZNAKŮ A EXPRESE PD-1 NA CD4+PD-1+ A CD8+PD-1+ T-LYMFOCYTECH U CLL**

**Novák M., Procházka V., Papajík T. (HOK FNOL, Olomouc)**

Prezentujeme analýzu korelace vybraných prognostických markerů (exprese CD38 a ZAP-70, mutační stav IGVH a přítomnost prognosticky nepříznivých cytogenetických abnormalit, delecí oblasti 17p a/nebo 11q) s expresí receptoru PD-1 (Programmed Death-1) na CD4+ a CD8+ T-lymfocytech u nemocných s CLL. Analýzou korelací získaných výpočtem Spearmanova korelačního koeficientu byly zjištěny následující skutečnosti: CD4+PD-1+ a CD38: rSp = 0,142 slabá (nepoužitelná)

závislost, CD8+PD-1+ a CD38: rSp = 0,092 slabá (nepoužitelná) závislost, CD4+PD-1+ a ZAP-70: rSp = 0,168 slabá (nepoužitelná) závislost, CD8+PD-1+ a ZAP-70: rSp = 0,175 slabá (nepoužitelná) závislost, CD4+PD-1+ a delece oblasti 17p a/nebo 11q: rSp = 0,116 slabá (nepoužitelná) závislost, CD8+PD-1+ a delece oblasti 17p a/nebo 11q: rSp = 0,183 slabá (nepoužitelná) závislost, CD4+PD-1+ a přítomností mutované formy genu pro těžké řetězce imunoglobulinů (IGVHMUT): rSp = 0,452 střední závislost, CD8+PD-1+ a přítomností mutované formy genu pro těžké řetězce imunoglobulinů (IGVHMUT): rSp = 0,584 střední závislost. Medián absolutního počtu PD-1+ buněk na CD4+ i CD8+ T-lymfocytech u nemocných s mutovanou formou IGVH genu (IGVHMUT) byl signifikantně vyšší, než u nemocných bez přítomnosti této mutace (IGVHUNMUT): CD4+PD-1+ IGVHMUT 0,628\*109/l vers. CD4+PD-1+ IGVHUNMUT 0,345\*109/l, p = 0,025 CD8+PD-1+ IGVHMUT 0,561\*109/l vers. CD8+PD-1+ IGVHUNMUT 0,238\*109/l, p = 0,037 Analýzou Spearmanova korelačního koeficientu byla prokázána středně silná závislost mezi expresí markeru PD-1 na subpopulacích CD4+ a CD8+ T-lymfocytů u nemocných s CLL a přítomností mutované formy genu pro těžké řetězce imunoglobulinů (IGVH). Medián absolutního počtu PD-1+ buněk na CD4+ i CD8+ T-lymfocytech u nemocných s mutovanou formou IGVH genu byl signifikantně vyšší, než u nemocných bez přítomnosti této mutace. Průkazná závislost mezi expresí markeru PD-1 na subpopulacích CD4+ a CD8+ T-lymfocytů u nemocných s CLL a expresí markerů CD38, ZAP-70 a delece oblasti 17p a/nebo 11q u nemocných s CLL nebyla nalezena. Biologický význam vyšší míry exprese PD-1 u nemocných s mutovanou formou IGVH genu, tedy u pacientů s příznivější prognózou, je nejasný a vyžaduje další výzkum. Podpořeno granty IGA-LF-2015-001, MZČR IGA NT 13576 a grantem Nadace pro transplantace kostní dřeně, Plzeň.

#### **P43/2904. DETEKCIA MUTÁCIE MYD88 L265P U PACIENTOV S WALDENSTRÖMOVOU MAKROGLOBULINÉMIU (WM)**

**Lukačková R. (Oddelenie klinickej genetiky, Medirex a.s., Bratislava – SK)**

Waldenströmova makroglobulinémia (WM) je lymfoproliferatívne ochorenie zaraďujúce sa podľa klasifikácie WHO do skupiny lymfómov. Tvorí 1 až 2% zo všetkých hemoblastóz. Je charakterizované infiltráciou kostnej drene klonálnymi B-lymfocytmi a prítomnosťou monoklonálneho imunoglobulínu IgM v sére. Medzi klinické prejavy tohto ochorenia patria: chronická únava, krvácanie z dutiny ústnej a nosnej, bolesti

hlavy, kožná purpura a neuropatia. V súčasnej dobe je WM stále nevyliciteľná, s mediánom prežitia 5 rokov. Z tohto dôvodu sa liečba zameriava hlavne na potlačenie príznakov s minimálnym poškodením vnútorných orgánov. MYD L265P je nová popísaná somatická mutácia vyskytujúca sa u 95% pacientov s WM, v géne dochádza k zámene leucínu za prolín v kodóne 265 (L265P). Mutácia MYD88 L265P prostredníctvom aktivovaných signálnych dráh NF-κB a Akt-mTOR zvyšuje proliferáciu a prežívanie patologických buniek. Stanovenie tejto mutácie predstavuje nový diagnostický marker pri WM. V menšom percente sa vyskytuje u iných lymfoproliferatívnych ochorení (napr. CLL, DLBCL). Naopak táto mutácia nie je prítomná pri mnohopočetnom myelóme, preto slúži ako vhodný diagnostický marker pri stanovovaní presnej diagnózy. Mutácia v MYD88 je marker odlišujúci WM od iných lymfoproliferatívnych ochorení. Cieľom príspevku je prezentovať zavedenú metodiku sekvenovania a MLPA analýzy, ktoré majú význam v diagnostike WM. Prítomnosť mutácie MYD88 má vplyv na klinické prejavy a prognózu WM a jej určenie napomáha pri výbere optimálnej liečebnej stratégie.

#### **P44/2878. KOMPLEXNÍ PŘÍSTUP V DIAGNOSTICE LYMFOMŮ V PRAKTICKÝCH PŘÍKLADECH**

**Kalinová M., Krsková L., Mrhalová M., Mandáková P., Čandová J., Prouzová Z., Soukup J., Campř V., Kodet R. (Lymfomová skupina Ústavu patologie a molekulární medicíny 2. LF UK a FN v Motole, Praha)**

Diagnostika a správná klasifikace lymfomů vyžaduje komplexní laboratorní přístup. Základem je klasické histopatologické, morfologické a cytologické vyšetření, na které navazuje imunohistochemický průkaz (IHC) exprese proteinů, vyšetření metodami fluorescenční in situ hybridizace na interfázních jádrech (I-FISH), a analýza nukleových kyselin molekulárními metodami. Je výhodné, když je možnost vyšetření tkáně pomocí průtokové cytometrie. Na příkladu několika kazuistických případů dokumentujeme účelnost komplexního laboratorního přístupu v diagnostice lymfomů. V některých případech by bez specializovaných vyšetření nebyla správná diagnostika možná, někdy mohou být naopak některé dílčí výsledky zavádějící. Proto je vhodné, aby všechny speciální laboratoře zaměřené na hematopatologickou diagnostiku byly součástí jednoho pracoviště a bylo tak možné jednotlivá vyšetření jednoduše a účelně propojit. Tímto přístupem je možné dospět k přesné diagnóze ve většině případů, a tak vyhovět nárokům kladeným na správné zařazení

lymfomů pro následnou terapii nemocných. Ilustrace na kazuistických případech jsme vybrali, aby zdůraznily nejen význam a nutnost začlenění molekulárních metod do rutinního vyšetření lymfomů, ale i z pohledu potřeby zachovat si vedle využití nových laboratorních metod také zdravý diagnostický nadhled při interpretaci komplikovaných nálezů. Bez spolupráce týmu patologů, molekulárních biologů, imunologů, hematologů by diagnostika lymfomů u části nemocných byla obtížná nebo dokonce neproveditelná. Podpořeno projektem (Ministerstva zdravotnictví) koncepčního rozvoje výzkumné organizace 00064203 (FN MOTOL) a OPK CZ.2.16/3.1.00/24022.

### **P45/2877. RITUXIMAB V LIEČBE CHRONICKEJ B-LYMFOCYTOVEJ LEUKÉMIE - SKÚSENOSTI KHAT V BRATISLAVE**

**Hrubiško M., Štefániková Z., Masárová K., Lukáš J., Mistrík M., Roziaková L., Skraková M., Sninská Z., Sopko L., Bátorová A. (Klinika hematológie a transfúziológie LF UK, SZU a UN Bratislava, Antolská 11, 851 07, Bratislava - SK)**

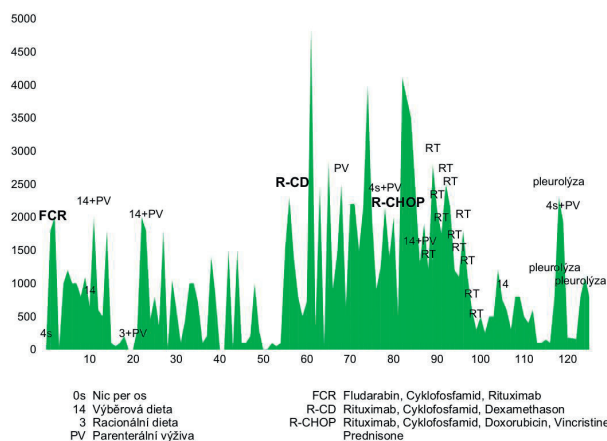
Úvod: Liečba chronickej B-lymfocytovej leukémie (CLL) sa zásadným spôsobom zmenila po pridaní monoklonálnych protilátok (MAb) do jej liečby. Zavedenie nových cytostatík (fludarabín) resp. ich kombinácií (fludarabín + cyklofosfamid - FC) výrazne zvýšilo počet pacientov s odpoveďou na liečbu, a to vrátane kompletných remisií. I keď sa pozorovalo predĺženie prežívania bez relapsu (RFS), k predĺženiu celkového prežívania (OS) nedošlo. Až pridaním monoklonálnej protilátky anti-CD20 (Rituximab - RXM) ku kombinácii FC (FCR) došlo k zmene v predĺžení OS. Výrazne stúpol počet remisií (FCR: ORR 90% oproti 44% v ramene FC) (Hallek, The Lancet 376, 2010) a podľa novších údajov, po 9,5-ročnom sledovaní, je zreteľný pozitívny vplyv aj na OS (FCR: medián prežívania nedosiahnutý vs. FC 86 mes.) (Fischer K et al. ASH 2012). Cieľ: Porovnanie efektivity režimu FCR so skupinou chorých liečených v minulosti bez použitia RXM. Materiál a metódy: Súbor tvorí 73 pacientov z rokov 2001 - 2015 liečených chemoterapiou na báze fludarabínu, či už sólo, v kombinácii s cyklofosfamidom resp. FC + RXM. Kombinácia FCR sa začala rutinne používať na KHaT od roku 2008. 10 pacientov, ktorí zrelabovali po režime F(C), dostalo ako ďalšiu liečbu kombináciu FCR. Títo chorí sú zahrnutí v oboch skupinách, preto je súčet chorých 83 (60 v skupine FCR a 23 v skupine F(C)). Priemerný vek pri diagnóze v celom súbore bol 57 rokov (medián 56 r., rozsah 28-79 rokov). V skupine FCR resp. F(C) boli tieto hodnoty (priemer - medián - rozsah) 57,2/52,3 - 56,5/50

- 28-79/28-76 mesiacov. Medián dĺžky sledovania od ukončenia liečby bol 46,5 mes. (rozsah 3-103 mes.). Režim FCR dostalo 45 pacientov v 1. línii, 12 chorých v 2. línii, 2 pacienti v 3. línii a jeden až v 5. línii liečby. Režim F(C) bol ako prvolíniový podaný 19 pacientom, traja ho dostali v druhej línii liečby a jeden až v 5. línii. Výsledky: Len u štyroch pacientov sme v skupine FCR nezaznamenali odpoveď na liečbu, 56 (93%) dosiahlo odpoveď, väčšinou kompletnú remisiu. V kontrolnej skupine F(C) malo rezistentnú chorobu 5 z 23 pacientov, počet odpovedí bol 18/23, čiže 78%. Medián prežívania bez choroby v skupine FCR bol 44 mesiacov, kým v skupine bez RXM len 23 mes. Rozdiel síce nie je štatisticky signifikantný, ale pozorujeme výrazný trend v prospech skupiny FCR. OS v skupine FCR nebol ešte dosiahnutý, v skupine F(C) je medián prežívania 83 mesiacov. Ani tu nie je rozdiel štatisticky významný, je však potrebné uviesť, že 11 chorých v skupine bez RXM bolo liečených v ďalšej línii režimom FCR príp. inými spôsobmi. Dvaja pacienti v skupine FCR žijú po alogénnej nepríbuzenskej transplantácii krvotvorných buniek. Vzhľadom na malé počty pacientov v jednotlivých podskupinách podľa cytogenického rizika sme vyhodnotenie podľa genetických markerov nerobili. Záver: Obdobie prežívania bez choroby (PFS) sa pridaním Rituximabu do liečby CLL výrazne predĺžilo, medián PFS je oproti historickej skupine temer dvojnásobný. Zaznamenali sme aj zlepšenie celkového prežívania, ktorého medián nebol ešte v skupine FCR dosiahnutý. Významne sa zlepšila kvalita života vzhľadom k tomu, že pacienti dlhé obdobie - rádovo roky - nie sú odkázaní na cytostatickú liečbu. V budúcnosti je možné predpokladať ďalšie zlepšenie výsledkov, nielen preto, že kombinácie na báze Rituximabu sa stali štandardnou súčasťou liečby CLL už v 1. línii, ale aj vzhľadom na dostupnosť ďalších nových monoklonálnych protilátok.

### **P46/2872. ZKUŠENOSTI S LÉČBOU PERZISTUJÍCÍHO CHYLOTHORAXU ASOCIOVANÉHO S LYMFOPROLIFERATIVNÍMI ONEMOCNĚNÍMI**

**Pospíšková J., Belada D., Žák P., Smolej L., Šimkovič M., Motyčková M., Štěpánková P., Sýkorová A. (IV. interní hematologická klinika, Fakultní nemocnice, Hradec Králové)**

Chylothorax u maligních lymfoproliferativních onemocnění se vyskytuje vzácně, nejčastěji u ne Hodgkinových lymfomů, klinicky ale představuje často závažný problém. Cílem práce je prezentovat výsledky konzervativní léčby 10 pacientů s perzistujícím netraumatickým maligním chylothoraxem. Jednalo se o 5 nemocných



s folikulárním lymfomem, 4 s chronickou lymfocytární leukémií a 1 s T-periferním ne Hodgkinským lymfomem blíže neurčeným. V našem souboru byly 3 ženy, medián věku nemocných v době diagnózy byl 66 let (95 % IS 57.5 až 69.7 let). Konzervativní terapie vedoucí k zastavení tvorby chylothoraxu trvala v průměru 66 dnů (SD 32.6), zahrnovala léčbu základního onemocnění a současně dlouhodobou podpurnou péči (drenáž hrudní dutiny, dietní opatření a nutriční podporu). K vymizení chylothoraxu došlo ve většině případů (80 %) až při dosažení léčebné odpovědi u hematoonkologického onemocnění, které způsobovalo poškození hrudního mízovodu. Ve dvou případech byla s velmi dobrým efektem aplikována nízkodávková radioterapie. Ozáření bylo buď přímo ductus thoracicus nebo paraaortální a mediastinální lymfatické uzliny. Konzervativní léčbu maligního chylothoraxu lze považovat za vhodnou metodu léčby, potlačení aktivity lymfoproliferativního onemocnění se z našich výsledků zdá být zásadní. Nicméně studie s větším počtem pacientů by byla potřeba ke stanovení spolehlivějších závěrů. Jednou z příčin narušení funkce hrudního mízovodu (ductus thoracicus) je infiltrace

nebo útlak nádorem. To vede k úniku a hromadění chylu v pohrudniční dutině. Jde o méně častou, ale závažnou komplikaci. Objemný výpotek může vést k respiračním obtížím, závislým na množství a rychlosti doplňované tekutiny. Chylus obsahuje velké množství tuku a v tucích rozpustných vitamínů, proteinů, elektrolytů a T lymfocytů. Porucha resorpce nebo ztráty chylu při evakuaci vedou často k závažné malnutrici, dysfunkci imunitního systému, dehydrataci a hypovitaminóze. U všech námi popisovaných pacientů se podařilo potlačit tvorbu chylothoraxu, a to s mediánem doby k jeho vymizení 73 dní (95 % IS 42.5-89.1 dní). Vznik chylothoraxu byl v 90 % spojen s aktivitou maligní lymfoproliferace s přítomností mediastinální lymfadenopatie a/nebo přítomností nádorových buněk v chylózních výpocích. Efektivní potlačení maligního onemocnění obvykle vedlo i k vymizení chylózní sekrece. Pouze u jednoho nemocného (10 %) byla druhá progresse chylothoraxu nejasná a dávána do souvislosti s proběhlou radioterapií paraaortálních a mediastinálních lymfatických uzlin. Terapie zahrnovala jak léčbu základního onemocnění příslušnými chemoterapeutickými režimy (FCR, R-dex, RCD, R-CHOP, GDP, R-GDP, obinutuzumab + bendamustin, R-ESHAP, R-mega-CHOP), tak léčbu chylothoraxu. U všech nemocných byla v úvodu nutná pleurální punkce/drenáž pro respirační obtíže. K ovlivnění chylózní sekrece byla aplikována dieta s omezením tuků v 70 % a parenterální výživa v 80 %. Pouze u dvou pacientů (20 %) byla použita radioterapie. V jednom případě byl ozářen přímo hrudní mízovod s velmi dobrým efektem a to v dávce 9 Gy v 5 frakcích. U druhého pacienta byly ozářeny paraaortální a mediastinální lymfatické uzliny v dávce 4 Gy ve 2 frakcích. Po déletrvající nízkotučné dietě došlo u 4/7 pacientů (57 %) k jejímu porušování nebo nedodržování, ve třech případech pacienti již na začátku léčby dietu odmítli.