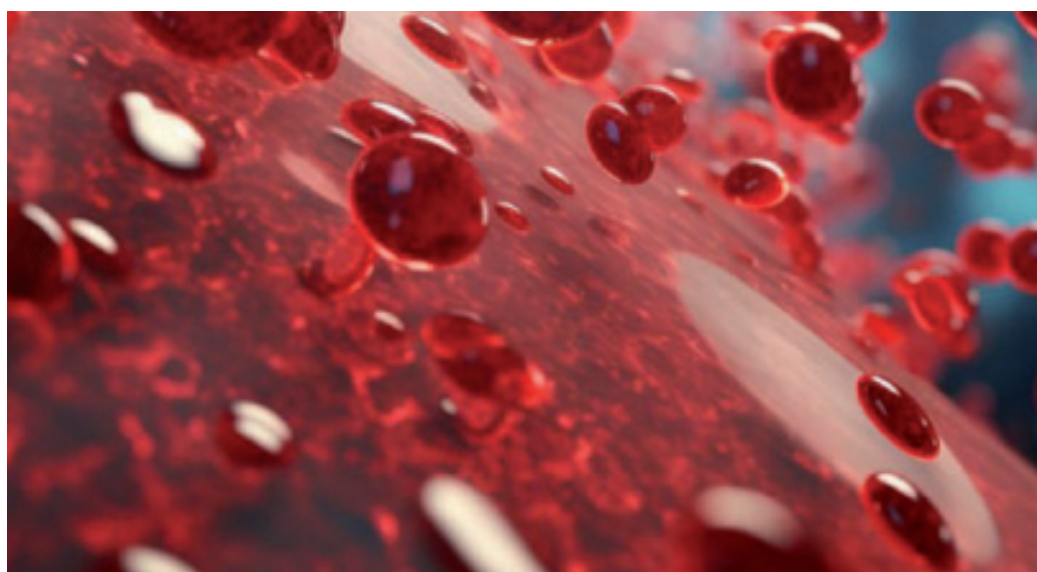


Transfuze a hematologie *časopis*

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



Časopis je indexován v EMBASE/Excerpta Medica a v EBSCO-Academic Search Complete.
Indexováno a excerpováno v databázi SCOPUS.
Excerpováno v BIBLIOGRAPHIA MEDICA ČECHOSLOVACA.

III. ČESKÝ HEMATOLOGICKÝ A TRANSFUZIOLOGICKÝ SJEZD

Sborník abstraktů



III. ČESKÝ HEMATOLOGICKÝ A TRANSFUZILOGICKÝ SJEZD

VYUŽITÍ POKROČILÝCH GENOMICKÝCH METOD PRO ANALÝZU KOMPLEXNÍHO KARYOTYPU U CHRONICKÉ LYMFOCYTÁRNÍ LEUKEMIE

Adamová S.^{1,2}, Stránská K.¹⁻³, Svatoň J.^{2,3}, Černovská K.^{1,3}, Porc J.P.^{1,3},
Ondroušková E.², Kazdová N.², Závacká K.^{2,3}, Bohúnová M.²,
Rausch T.⁴, Pál K.³, Hynšt J.³, Beneš V.⁴, Pospíšilová Š.¹⁻³, Kotašková J.¹⁻³,
Jarošová M.^{1,2}, Plevová K.¹⁻³

¹ Ústav lékařské genetiky a genomiky, LF MU, Brno

² Interní hematologická a onkologická klinika LF MU a FN Brno

³ Centrum molekulární medicíny, Středoevropský technologický institut
(CEITEC), MU Brno

⁴ Evropská laboratoř pro molekulární biologii (EMBL), Heidelberg, Německo

Úvod: Komplexní karyotyp (CK) patří mezi negativní prognostické markery u chronické lymfocytární leukemie (CLL). Moderní vysokokapacitní technologie, jako jsou sekvenování s dlouhým čtením (LRS), analýza konformace chromatinu (Hi-C) a optické mapování genomu (OGM), nabízejí detailní analýzu genomu ve vysokém rozlišení. Mohou přispět k lepší charakterizaci CK a porozumění molekulárních mechanismů vedoucích k progresi onemocnění a léčebné odpovědi/rezistenci. Naším cílem bylo zhodnotit analytický potenciál těchto metod při vyšetřování CK.

Metody: CK byl stanoven pomocí karyotypovacích metod a mFISH. Vysokomolekulární DNA byla sekvenována na platformě PromethION (Oxford Nanopore Technologies); data byla analyzována nástroji SVIM a Delly. Pro analýzu strukturních variant (SV) detekovaných OGM (Bionano Genomics) byl použit postup Rare Variant Analysis a pro detekci aberací metodou Hi-C byly aplikovány EagleC a NeoLoopFinder.

Výsledky: Rutinní diagnostické metody jsme porovnali s vysokokapacitními technikami u 10 CLL pacientů s CK. Analýza počtu kopií DNA přinesla analogické výsledky u všech zmíněných metod. Pro detekci delecí a duplikací ≤ 20 kb byly nejspolehlivější LRS a OGM. mFISH, OGM a Hi-C efektivně detekovaly reciproké translokace a jednoduché derivované chromozomy. Naopak LRS podpořené mFISH umožnilo detekci dicentrických chromozomů a derivovaných chromozomů zahrnujících ≥ 3 chromozomy. LRS a OGM opakovaně prokazovaly vyšší komplexitu aberací, než identifikovaly cytogenetické metody.

Závěr: Naše výsledky ukazují, že největší potenciál v řešení CK má kombinace pokročilé analýzy genomu se standardními metodami. Každá z metod přináší specifické výhody i nevýhody. Navíc nové technologie přispívají k lepšímu porozumění dopadů SV na fenotyp CLL.

Podpořeno MZČR AZV-NU21-08-00237 a RVO-FNBr65269705, MŠMT MUNI/A/1558/2023 a NPO-NUVR-LX22NPO5102, spolufinancováno EU – Next Generation EU.

AUTOMATIZACE V HEMATOLOGICKÉ LABORATOŘI

Bártů I., Lačný P.

Unilabs k.s. Hadovka

V laboratořích Unilabs Hadovka došlo v dubnu 2024 k výměně hematologických analyzátorů. Laboratoř denně zpracuje cca 700 krevních obrazů. Přecházelo se ze 3 standalone Advii 2120i na automatickou linku sysmex XN-9100 MW, která je složena z 6 analyzátorů (XN-10), sorteru a archivátoru (TS-10), nátěrového a barvicího automatu (SP-50) a digitální morfologie (DI-60). Do dubna se natírání a barvení mikroskopických sklíček provádělo manuálně a mikroskopický diferenciál se odečítal v mikroskopu. Také třídění zkumavek na vyšetření jako sedimentace a glykovaný hemoglobin, které se provádí ze stejné zkumavky, se muselo provádět ručně. K automatickému třídění a archivaci bude využit analyzátor TS-10. Byl také zavedený middleware E-IPU. Všechna pravidla se nastavovala nově, laboratoř žádný hematologický middleware do té doby nepoužívala. Proběhla kompletní revize nastavení a pravidel automatického uvolňování a schvalování výsledků. V LIS byla nastavena statistika monitorující počet vzorků podepsaných automatem. Od automatizace se čekalo zrychlení zpracování vzorků, zjednodušení a ulehčení práce a nárůst počtu mikroskopických diferenciálů, které ale budou prováděny automaticky a na základě vyhodnocení middleware. Po prvních dnech provozu se počet mikroskopických diferenciálů ztrojnásobil. Celkové nastavení automatizace se plánuje přezkoumat po zkušební době.

HEMATOPOIETIC STEM CELL TRANSPLANTATION IN APLASIA AFTER CLADRIBINE AND CYTARABINE BASED SEQUENTIAL CONDITIONING REGIMEN

Batta N.¹, Šťastná Marková M.², Válková V.², Vydra J.²

¹ LF UK, Praha

² Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

Introduction: Survival rates of patients with chemorefractory or high risk acute myeloid leukemia (AML) or myelodysplastic syndrome (MDS) are poor. Allogenic hematopoietic cell transplantation (HCT) is recommended as curative therapy in these patients. Survival is limited by recurrent malignancy.

Patients and methods: We report a single center retrospective analysis of therapy outcomes of 55 patients with AML or MDS refractory to or relapsing after chemotherapy or with persistent minimal residual disease or other high-risk features, who received HLA

haploidentical HCT after cladribine/cytarabine-based chemotherapy between May 2015 and March 2024.

Results: Of all patients who received Cladribine, the one-year overall survival rate was 48.5%, and the two-year overall survival rate was 40.1%. The one-year survival rate for patients with AML and MDS was 42.9% and 75.0%, respectively. The one-year relapse rate was 43.4%. The cumulative incidence of non-relapse mortality (NRM) was 19.1%.

Conclusion: Sequential therapy with HCT in aplasia after cladribine/cytarabine chemotherapy is a viable option for patients with chemorefractory and high-risk AML or MDS. Relapse of malignancy in individuals with active disease, however, continues to be a frequent barrier to improved survival rates.

MOLEKULÁRNÍ GENETIKA V DIAGNOSTICE A LÉČBĚ MDS

Beličková M.

Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

Myelodysplastické syndromy/neoplázie (MDS) jsou klonální hematopoetické novotvary, u kterých je cytogenetická abnormalita zjištěna v polovině případů a genetická aberace se nachází u více než 90 % pacientů. Většina zjištěných aberací je získaného (somatického) charakteru, zatímco jen malá část je vrozeného (germinálního) původu. Genetické abnormality jsou převážně detekovány pomocí panelového sekvenování nové generace (NGS), které zkoumá geny související s myeloidními malignitami. Tyto geny jsou často mutované i u ostatních myeloidních onemocnění. Část genetických mutací přítomných u MDS byla také identifikována i u zdravých jedinců vyššího věku. Pokud jsou tyto mutace přítomny s frekvencí variantní alely (VAF) $\geq 2\%$ a nejsou doprovázeny abnormalitami v krevním obrazu, jsou klasifikovány jako „klonální hematopoéza s neurčitým potenciálem“ (CHIP) nebo „věkem podmíněná klonální hematopoéza“ (ARCH). Naopak, pokud jsou detekovány v rámci cytopenie, ale bez morfologických známek dysplazie, splňují kritéria pro diagnózu klonální cytopenie neurčitého významu (CCUS). CHIP a CCUS byly uznány jako předstupeň myeloidního onemocnění v rámci 5. vydání klasifikace Světové zdravotnické organizace (WHO) z roku 2022. V současné době existují dva klasifikační systémy MDS: 5. vydání WHO a Mezinárodní konsenzuální klasifikace (ICC). Oba systémy zdůrazňují chromozomální a genetické aspekty MDS, avšak se liší v detailech. Oba systémy zahrnují delecí dlouhého raménka chromozomu 5 (5 del(q)), abnormalitu v genu *SF3B1* a mutační stav v genu *TP53*. ICC navíc definuje kategorii MDS/AML s genovými mutacemi souvisejícími s myelodysplazií (*ASXL1*, *BCOR*, *EZH2*, *RUNX1*, *SF3B1*, *SRSF2*, *STAG2*, *U2AF1*, *ZRSR2*) a MDS/AML s cytogenetickými abnormalitami souvisejícími s myelodysplazií. Konkrétní cytogenetické abnormality a molekulární nálezy jsou začleněny do nového

Mezinárodního prognostického skórovacího systému, který zahrnuje kromě klinických dat také molekulární údaje (IPSS-M). Tento systém využívá 5 cytogenetických kategorií, 16 hlavních genů a 15 reziduálních genů. Také některé možnosti léčby jsou založeny na znalostech genomu. Pacienti s del(5q) se léčí lenalidomidem, pacienti s mutací v genu *SF3B1* luspatereceptem a pacienti s mutacemi v genech *IDH1* a *IDH2* ivosidenibem, resp. enasidenibem. Byly také vyvinuty kandidátní léky, které jsou dosud ve studiích zaměřené na různé buněčné dráhy, jako jsou dráhy Ras, dráhy ubikvitinace, inhibice fagocytózy, proces obnovy kmenových buněk, dysfunkce proteinu *TP53* a další. V posledních letech se stále více zdůrazňuje důležitá role genomické charakterizace pacientů, nejenom pro diagnostiku a prognózu, ale také pro nové terapeutické možnosti.

Podpořeno MZ ČR – RVO (UHKT, 00023736).

POUŽITÍ JAK 1/2 INHIBITORŮ V LÉČBĚ MYELOFIBRÓZY

Bělohávková P.

IV. Interní hematologická klinika LF UK a FN Hradec Králové

Myelofibróza (MF) patří mezi chronické myeloproliferativní neoplazie, které jsou charakterizovány konstitutivní aktivací dráhy JAK/STAT a této skutečnosti bylo využito při objevu JAK 1/2 inhibitorů. Terapeutický přístup MF u mladších pacientů (< 65–70 let) s vysokým rizikem choroby je zaměřen na zlepšení přežití pomocí alogenní transplantace. U větší části pacientů však řešíme symptomy onemocnění a snažíme se oddálit progresi onemocnění. K nejčastějším symptomům patří konstituční symptomy (únava, noční pocení, svědění kůže), symptomy vyplývající ze splenomegalie či anémie. První preparát ze skupiny JAK 1/2 inhibitorů schválený do klinické praxe na základě studií COMFORT a COMFORT-II již v roce 2011 byl ruxolitinib, který je indikován u pacientů s MF a symptomatickou splenomegalií. Dávkování je individuální na základě parametrů krevního obrazu a k nejčastějším nežádoucím účinkům patří infekce a zhoršení anémie. Další JAK 1/2 inhibitor pro léčbu MF představuje fedratinib, který je účinný jak u naivních, tak i ruxolitinib – rezistentních pacientů, jak dokumentovaly studie JAKARTA a JAKARTA-II. U tohoto preparátu byly obavy z gastrointestinální toxicity, ale při správně vedené podpůrné léčbě jsou nežádoucí projevy zvládnutelné. Nejnovější inhibitor, brzy dostupný i v našich podmínkách, představuje momelotinib, jehož výhodou je v možnosti příznivého ovlivnění anémie u pacientů s MF. Zkušenosti o léčbě momelotinibem můžeme čerpat ze studií MOMENTUM a SIMPLIFY-1/2. Pro trombocytopenické pacienty s MF (plt < 50 000) je v zahraničí schválený i pacritinib. Novým trendem bude kombinovaná léčba, kdy nejdále jsou studie s kombinací ruxolitinib + navitoclax (TRANSFORM-1) nebo ruxolitinib + pelabresib (MANIFEST-2).

POROVNÁNÍ ÚČINNOSTI A BEZPEČNOSTI LÉČBY IMATINIBEM NEBO NILOTINIBEM V PRVNÍ LINII U PACIENTŮ S CHRONICKOU MYELOIDNÍ LEUKEMIÍ – ANALÝZA DAT Z REGISTRU INFINITY

Bělohávková P.¹, Žáčková D.², Klamová H.³, Faber E.⁴, Karas M.⁵, Stejskal L.⁶, Cmunt E.⁷, Černá O.⁸, Machová Poláková K.³, Ježíšková I.², Voglová J.¹, Žák P.¹, Jurková T.⁹, Chrápavá M.⁹, Mayer J.^{2,10}

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

² Interní hematologická a onkologická klinika LF MU a FN Brno

³ Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

⁴ Hematoonkologická klinika LF OU a FN Olomouc

⁵ Hematoonkologická klinika LF UK a FN Plzeň

⁶ Klinika hematoonkologie FN Ostrava

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

⁸ Interní hematologická klinika 3. LF UK a FNKV, Praha

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

¹⁰ Středoevropský technologický institut (CEITEC), MU Brno

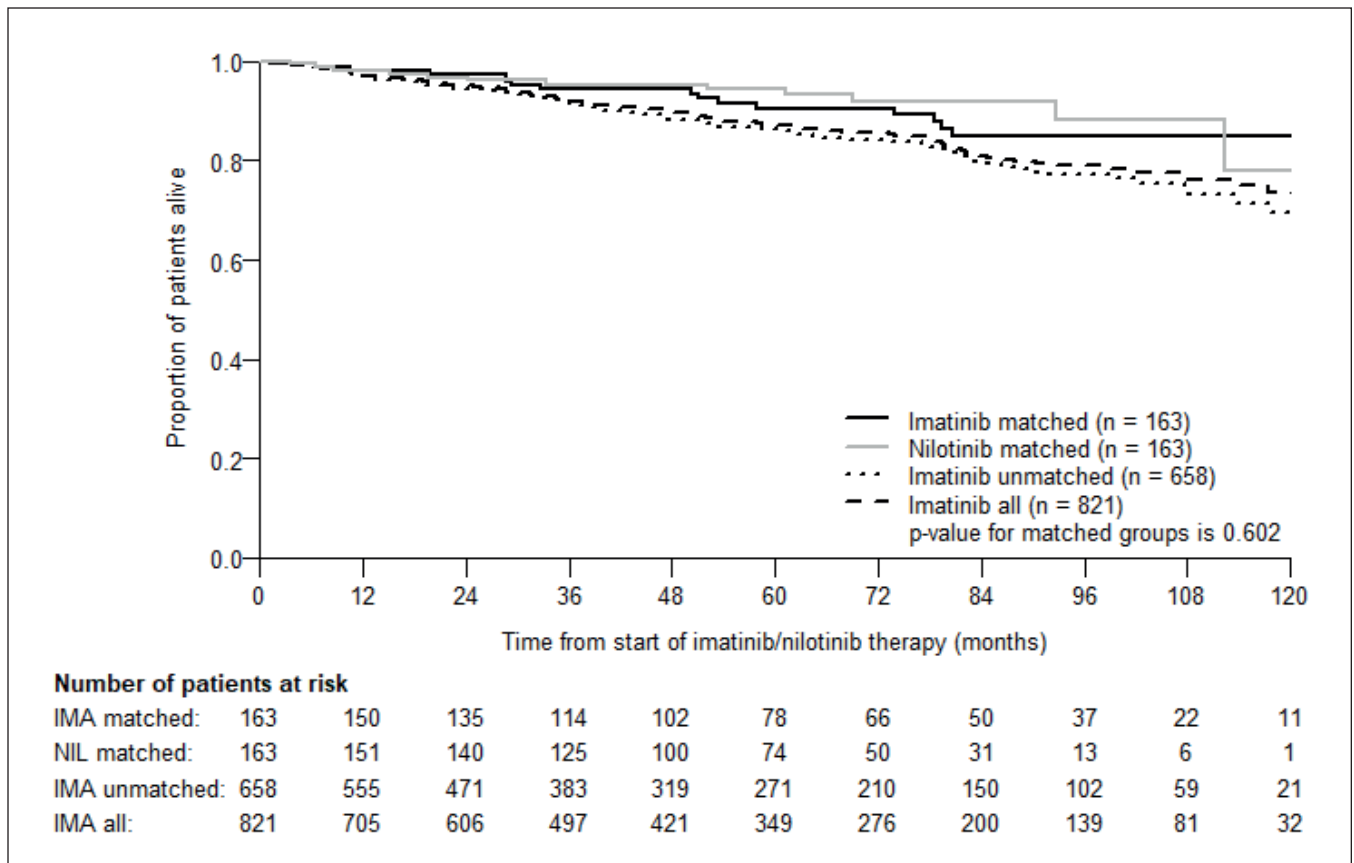
Úvod: Imatinib (IMA) a nilotinib (NILO) představují léčebnou možnost první linie pro pacienty s chronickou myeloidní leukemií v chronické fázi (CML-CP). Volba preparátu je ovlivněna rizikovými faktory onemocnění, komorbiditami a věkem nemocného, v neposlední řadě i léčebnými cíli.

Metoda: Z celostátní databáze INFINITY bylo retrospektivně hodnoceno 984 pacientů s CML-CP, kdy u 821 (83,4 %) pacientů byl lékem volby imatinib a u 163 (16,6 %) pacientů nilotinib. K odstranění nevyváženosti charakteristik obou skupin bylo použito „propensity score“ párování (pohlaví, věk, riziková skupina podle Sokala a ELTS, ECOG a přidružené choroby).

Výsledky: Pacienti léčení NILO dosáhli rychleji kompletní cytogenetickou (CCyR) a velkou molekulární odpověď (MMR) než pacienti léčení IMA ($p < 0,001$; $p < 0,001$). Léčba NILO nezlepšila 5leté celkové přežití (OS) v porovnání se skupinou IMA-párování nemocní (90,5 vs. 94,4 %; $p = 0,602$). Nejhorší 5leté OS (86,3 %) měli IMA-nepárování pacienti (viz obrázek). Léčba NILO neměla vliv na přežití bez progresu (PFS) (NILO 92,9 % vs. IMA-párování 88,0 %; $p = 0,614$), avšak u skupiny NILO bylo prokázáno lepší přežití bez selhání (FFS) a přežití bez příhody (EFS) (FFS: 71,7 vs. 54,3 %; $p = 0,040$ EFS: 71,7 vs. 53,5 %; $p = 0,025$).

Závěr: Tato retrospektivní analýza neprokázala přínos léčby NILO v první linii na dosažené OS a PFS, avšak byla potvrzena výhoda léčby NILO na FFS, EFS a současně na rychlejší dosažení CCyR a MMR. Analýza potvrdila, že IMA představuje stále preferovanou a účinnou volbu léčby CML-CP v první linii.

Práce byla podpořena projektem MZ ČR – RVO (FNHK, 00179906) DRO (UHHK, 00179906) a projektem Národního ústavu pro výzkum rakoviny (Program EXCELES, ID: LX22NPO5102) – Financováno Evropskou unií – Next Generation EU.



Obr. 1. Bělohávková P et al. Celkové přežití mezi všemi hodnocenými skupinami ($p = 0,021$).

PREDIKTIVNÍ VÝZNAM SKÓRE CAR-HEMATOTOX A VÝSKYT HEMATOTOXICITY PO CAR T TERAPII – UNICENTRICKÁ ANALÝZA

Benkó F., Janíková A., Šálek D., Michalka J., Mayer J., Folber F.

Interní hematologická a onkologická klinika LF MU a FN Brno

Úvod: CAR T terapie je rozšiřující se léčebnou modalitou různých lymfoidních malignit nereagujících na běžnou chemoterapii, s odlišnou akutní i pozdní toxicitou než po konvenční léčbě. Grading, skórování a doporučené postupy pro řešení těchto komplikací se neustále vyvíjejí. Nejčastější formou pozdní toxicity je hematotoxicita, projevující se hlavně neutropenií s nebo bez trombocytopenie či anémie.

Metody: Na základě retrospektivní analýzy jsme hodnotili výskyt časné a pozdní hematotoxicity (před a po D+30 od terapie), hodnotu CAR-HEMATOTOX skóre a na něm závislé faktory (pozdní cytopenie, výskyt infekcí a léčebná odpověď) u pacientů léčených CAR T terapií na našem pracovišti.

Výsledky: CAR T terapií bylo léčeno celkem 59 pacientů; 54 pacientů s non-hodgkinskými lymfomy, ostatních 5 tvořili pacienti s akutní lymfoblastickou leukémií (ALL). Axi-cel (Yescarta) byl podán u 41 pacientů, 11 pacientů dostalo tisa-cel (Kymriah), dva pacienti s mantle cell lymfomem brexu-cel (Tecartus). Dvěma pacientům s ALL byl podán tisa-cel a třem brexu-cel. Po terapii axi-celem byla časná hematotoxicita zaznamenána u 85 % nemocných, zejména mírné formy, grade 3 se vyskytl u 7 (18 %) pacientů. Pozdní hematotoxicitu mělo 9 (38 %) z hodnotitelných pacientů, stupeň 3 měli tři (13 %). Ve skupině pacientů s vysokým CAR-HEMATOTOX skóre častější vznik prolongované cytopenie nebyl prokázán. Léčebnou odpověď dosáhlo 92 % pacientů s nízkým CAR-HEMATOTOX skóre, zatímco pacienti s vysokým skóre pouze v 64 %. Po léčbě tisa-celem byla časná hematotoxicita zaznamenána u 91 %. Závažnou časnou formu měli 2 (18 %) pacienti, závažnou pozdní formu jeden pacient z 9 hodnotitelných. Vysoké CAR-HEMATOTOX skóre mělo 10 (91 %) pacientů, z nichž dosáhlo léčebnou odpověď jen 45 %. Všichni čtyři hodnotitelní pacienti s ALL měli jak časnou, tak i pozdní hematotoxicitu. Jedna pacientka měla závažnou časnou i pozdní formu, ostatní jen mírnou formu i přes vysoké CAR-HEMATOTOX skóre. Všichni 4 hodnotitelní pacienti s ALL dosáhli remise. V celém souboru pacientů bylo jen 6 (10 %) závažných pozdních cytopenií. Infekční komplikace jsme zaznamenali u 5 z nich: COVID-19, cytomegalovirová reaktivace, bakteriální pneumonie a febrilní neutropenie. Dva tito pacienti zemřeli, jedna pacientka v přímé souvislosti s prolongovanou těžkou cytopenií, druhá v důsledku toxicity následné alogenní transplantace.

Závěr: Časná hematotoxicita způsobená převážně podanou lymfodeplecí je častou, ale obvykle nezávažnou komplikací po CAR T terapii. Pozdní hematotoxicita je mezi dlouhodobými nežádoucími účinky nejčastější a je v případech těžkých forem spojena s rizikem infekčních komplikací, které vyžadují dlouhodobý a široký diagnosticko-terapeutický management. Vysoké CAR-HEMATOTOX

skóre, které je primárně určeno pro predikci rizika dlouhodobé cytopenie, souvisí zároveň s horším léčebným výsledkem CAR T terapie, což jsme potvrdili i v našem souboru pacientů.

ANALÝZA INCIDENCE SOS/VOD V LETECH 2013 AŽ 2023 – VÝSLEDKY JEDNOHO CENTRA

Benkó F., Kabut T., Krejčí M., Weinbergerová B., Tomáška M., Mayer J., Folber F.

Interní hematologická a onkologická klinika LF MU a FN Brno

Úvod: Sinusoidální obstrukční syndrom (SOS) je jedna z nejzávažnějších post-transplantačních komplikací, často končící letálně. I přes pokroky v problematice transplantace je včasná diagnostika stále závislá na klinických zkušenostech pracoviště a klíčová pro zahájení a výsledky léčby. Snaha o snížení rizikových faktorů, spojených s výskytem syndromu, spolu s časnou léčbou, je zásadní možností zlepšení přežití pacientů.

Metody: Provedli jsme retrospektivní analýzu všech alogenních transplantací, které proběhly na našem pracovišti za posledních 11 let, od roku 2013 do 2023 vč. Analyzovali jsme celkový výskyt a závažnost SOS, rizikové faktory ovlivnitelné a neovlivnitelné: typ přípravného režimu a dárce, preexistující hepatopatie, předchozí aplikace gemtuzumabu nebo inotuzumabu ozogamicinu, vstupní hodnoty ALT/AST a bilirubinu; dále podanou léčbu a její efekt na tuto komplikaci.

Výsledky: Od roku 2013 do roku 2023 bylo provedeno celkem 365 alogenních transplantací krvetvorných buněk. SOS jsme zaznamenali u 29 (8 %) pacientů, s převahou těžkých a velmi těžkých forem. Jedenáct pacientů s SOS (38 %) dostalo myeloablativní režim (MAC). Nejčastěji použité MAC režimy CyBu, TBI10/CY a FluBu4 jsme aplikovali u 29 (8 %), 31 (8 %) a 40 (11 %) transplantovaných pacientů. Výskyt SOS při srovnání těchto režimů byl 5 (17 %), 4 (13 %) a 1 (2 %) případů. Mezi režimy s redukovanou intenzitou (RIC) převažovala FLAMSA, která byla využita u 168 (46 %) transplantací, s 10% výskytem SOS. Další RIC režimy jsme podali 88 (24 %) pacientům, se vznikem SOS pouze u 2 %. Po zavedení změn do přípravných režimů (nahrazení perorálního busulfanu za intravenózní formu, cyklofosfamidů za fludarabin, snížení frekvence využití sekvenčního režimu FLAMSA) došlo od roku 2019 k poklesu průměrného výskytu SOS ze čtyř na 1 případ ročně. Nemodifikovatelné rizikové faktory u pacientů s komplikací SOS byly přítomné jen ojediněle. Vstupně ALT/AST nad 2,5× horní hranice normy neměl žádný pacient, bilirubin nad 26 umol/l byl zaznamenán u jednoho pacienta s prokázaným Gilbertovým syndromem, hepatopatie v anamnéze byla zaznamenána dvakrát, gemtuzumab a inotuzumab ozogamicin byly před transplantací použity každý u jednoho pacienta. V léčbě SOS, kromě symptomatických postupů, byl defibrotid použit u 93 % nemocných. Celkem k úmrtí došlo u dvaceti (69 %) pacientů, SOS byl kauzální příčinou úmrtí u 15. Všichni měli těžkou nebo velmi těžkou formu. Ostatní zemřeli kvůli infekci nebo při progresi základního onemocnění.

Závěr: Potvrdili jsme příznivý toxický profil a bezpečnost režimu FluBu4 s intravenózním busulfanem. Ve skupině s režimem RIC jsme jako nejrizikovější pozorovali sekvenční režim FLAMSA, který jsme, s výjimkou aktivního onemocnění, nahradili méně toxickými režimy. Vzhledem k vysoké úmrtnosti SOS tyto změny přispěly ke zlepšení výsledků léčby transplantovaných pacientů.

PILOTNÍ STUDIE SLEDOVÁNÍ ZMĚN SLOŽENÍ STŘEVNÍHO MIKROBIOMU U PACIENTŮ S HEMATOLOGICKOU MALIGNITOU POMOCÍ NANOPÓROVÉHO SEKVENOVÁNÍ

Bezdiček M.^{1,2}, Nykrýnová M.^{1,3}, Kabut T.^{1,2}, Weinbergerová B.^{1,2}, Reinerová Z.¹, Mayer J.^{1,2}, Lengerová M.^{1,2}

¹ Interní hematologická a onkologická klinika FN Brno

² LF MU Brno

³ Ústav biomedicínského inženýrství, Fakulta elektrotechniky a komunikačních technologií, VUT Brno

Úvod: V poslední dekádě byla publikována řada prací hodnotící úlohu změn střevního mikrobiomu v průběhu onkologické léčby. U pacientů s jeho alteracemi je vyšší riziko infekčních komplikací, rozvoje GvHD nebo zvýšení mortality. Řada těchto skutečností byla popsána na velkých souborech pacientů, plné pochopení komplexnosti těchto dějů a jejich využití v klinické praxi zatím chybí. Pilotní fáze projektu

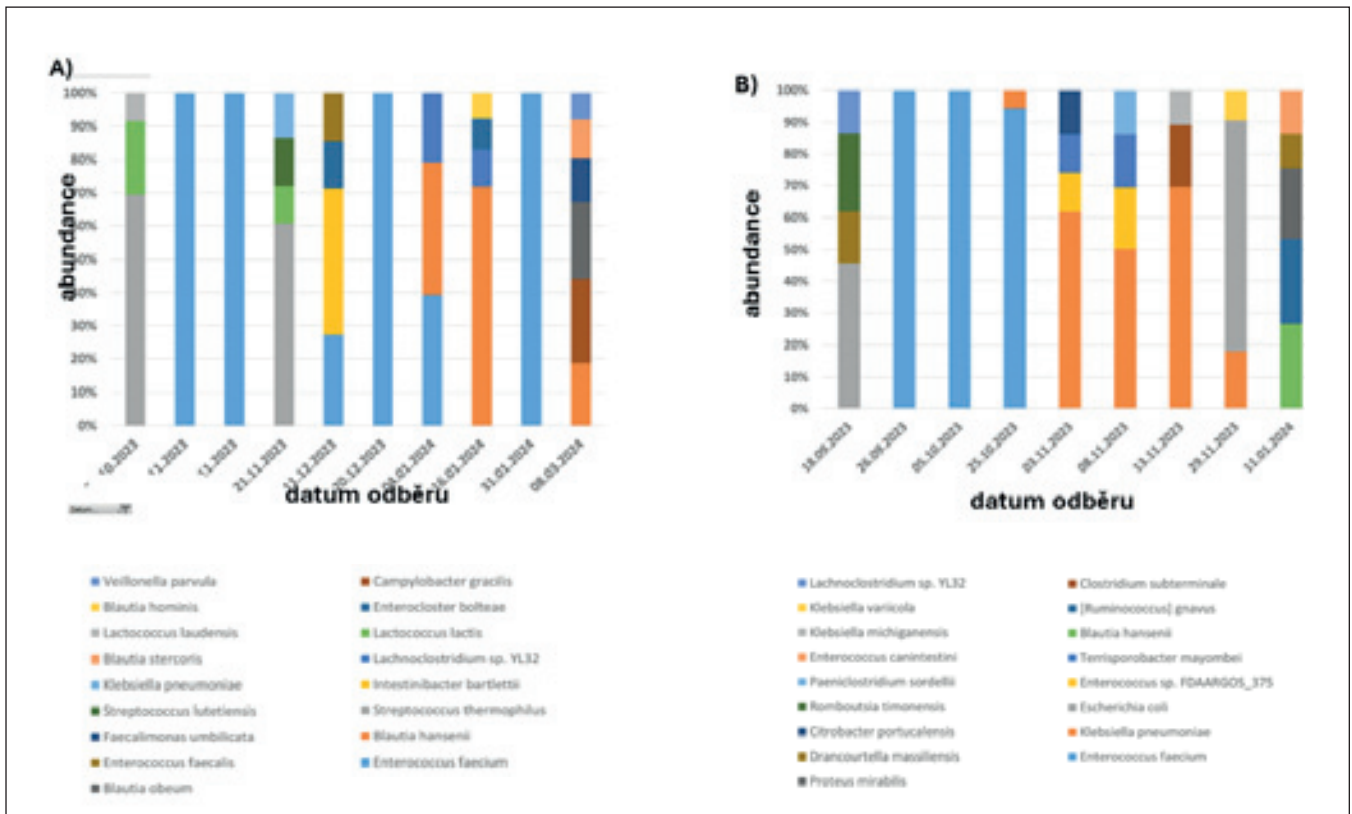
měla za cíl zavést metodiku sekvenování 16S rDNA a popsat vývoj změn střevního mikrobiomu v rámci longitudinálního sledování pacientů podstupujících léčbu AML nebo HSCT pro hematologickou malignitu.

Materiály/metody: Sběr vzorků stolice probíhal v několika časových bodech: před zahájením léčby, týdně během hospitalizace a měsíčně po ukončení hospitalizace po dobu 6 měsíců. Celkem bylo analyzováno 138 vzorků od 12 pacientů. Sekvenování kompletní 16S rDNA bylo provedeno pomocí platformy ONT-MinION a následné zpracování dat probíhalo pomocí softwarů EPI2ME a Emu. Dále byly spočítány indexy α -diverzity a β -diverzity.

Výsledky: Ze získaných výsledků byly vytvořeny reporty s četností jednotlivých bakteriálních agens s identifikací na úroveň druhu. Mezi jednotlivými pacienty byly pozorovány velké rozdíly ve spektru a četnosti bakteriálních druhů, které budou diskutovány z hlediska výskytu infekčních komplikací, antibiotické léčby a klinického stavu.

Závěr: Z našich zkušeností plyne, že nanopórové sekvenování, jakožto relativně levná a rychlá metoda se schopností diskriminace na úrovni druhu, je vhodná pro studium změn diverzity střevního mikrobiomu, vč. případného využití pro včasné intervenční kroky. Pilotní data ukazují jedinečnost každého pacienta nejenom ve smyslu kompozice a diversity střevního mikrobiomu, ale také dynamiky jeho změn.

Podpořeno projektem MZČR – koncepční rozvoj výzkumné organizace (FNBr, 65269705).



Obr. 2. Bezdiček M et al. Ukázka vývoje změn střevního mikrobiomu. Uvedeny druhy s četností nad 5 %. (A) Pacient po alogenní transplantaci. (B) Pacient podstupující léčbu AML.

TERAPEUTICKÉ HEMA FERÉZY DLE ASFA GUIDELINES – ZKUŠENOSTI KREVNÍHO CENTRA FN OSTRAVA

Blahutová Š.^{1,2}, Hrdličková R.¹, Čermáková Z.^{1,2}

¹ Krevní centrum FN Ostrava

² LF OU, Ostrava

Úvod: Aferetický úsek Ambulance Krevního centra Fakultní nemocnice Ostrava (KC FNO) poskytuje v souladu s doporučeními American Society for Apheresis (ASFA guidelines). široké spektrum terapeutických aferéz pacientům napříč medicínskými obory.

Cíl: Zhodnocení terapeutických aferéz na KC FNO v letech 2011–2023: celkem 10 509 výkonů u 1 293 pacientů, převážně u pacientů s autoimunitně podmíněnými neurologickými onemocněními.

Metodika: Výměnná léčebná plazmaferéza (TPE) je extrakorporální léčebná metoda, při které dochází k neselektivnímu odstraňování plazmy, plazma je nahrazována kombinací koloidního roztoku a krystaloidů nebo plazmou/ Octaplasem LG. Na KC FNO jsou TPE prováděny pomocí centrifugačních separátorů krevních složek COM.TEC® Fresenius Kabi nebo Spectra Optia® TERUMO BCT. Imunoadsorpce (IA) je semiselektivní výkon, při kterém jsou extrakorporálně odstraňovány imunoglobuliny po separaci plazmy s pomocí vysoce afinitivního absorbéru. IA využívá kombinace centrifugačního separátoru COM.TEC® Fresenius Kabi, přístroj ADA sorb® s IA kolony Globaffin® Fresenius Medical Care. Reoferézy kombinují separaci plazmy na přístroji COM.TEC® Fresenius Kabi s ošetřením plazmy na filtru MONET® (Membrane Filtration Optimized Novel Extracorporeal Treatment) firmy Fresenius Medical Care.

Výsledky: Vyhodnocení počtu výkonů terapeutických aferéz a spektrum indikací. Vybraná kazuistika může s diagnózou myastenia gravis, který byl kromě klasické imunopresivní léčby zpočátku léčen akutními sériemi TPE, dále byl pro nedostatečnou odpověď zařazen do chronického TPE programu a následně i do chronického IA programu s velmi dobrou odezvou.

Závěr: Terapeutické aferézy mohou výrazně pozitivně ovlivnit kvalitu života a prognózu pacientů. Vyznačují se rychlým efektem a často je lze velmi efektivně využít v situacích, kdy nelze farmakologicky zasáhnout či je farmakologický efekt nedostatečný nebo s opožděným nástupem.

CAR-T JAKO IMUNOTERAPIE

Blíhová R., Hrubá A.

Jednotka intenzivní hematologické péče, ÚHKT, Praha

Cílem mé prezentace je představit druhy imunoterapie CAR-T buňkami, seznámit s procesem výroby, kontraindikacemi podání, nežádoucími účinky a s ošetrovatelskou péčí v průběhu hospitalizace. Tato terapie se užívá k léčbě hematologických nádorových

onemocnění a k léčbě solidních tumorů. U hematologických onemocnění se jedná o diagnózy B-ALL, DLBCL, folikulární lymfom a MCL. Terapie se na ÚHKT podává od roku 2019 a za tu dobu byla na našem pracovišti léčba aplikována 92 pacientům. Léčba CAR-T buňkami je v podstatě autotransplantace, kdy se nemocnému pacientovi odeberou T-lymfocyty a ty se modifikují tak, aby následně napadaly a zničily buňky nádorové po jejich navrácení do krevního oběhu pacienta. Po aplikaci těchto modifikovaných buněk je potřeba monitorovat u pacienta vznik nežádoucích účinků od mírnějších jako je bolest hlavy, zvýšená teplota, nevolnost, průjem, až po velmi závažné, např. srdeční selhání, porucha funkce ledvin a další. Ke zmírnění nežádoucích účinků je možno podat medikaci. Toto vše je dále vysvětleno na kazuistice, která je v prezentaci představena. Výsledky účinku léčby na našem pracovišti ještě nelze zcela vyhodnotit, protože dosud nebylo nasbíráno dostatečné množství dat.

KOMPLIKACE AFERETICKÝCH VÝKONŮ

Böhmová M., Gašová Z., Boušková S., Bhuiyanová Ludvíková Z., Slouková M.

Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

Úvod: Dárcovské a terapeutické hemaferézy jsou bezpečné a dobře tolerované procedury. Mohou ale být komplikovány nejrůznějšími typy nežádoucích reakcí, buď technického nebo zdravotního rázu.

Materiál a metody: Na Aferetickém oddělení (AO) ÚHKT se v letech 2000–2023 provedlo 17 250 hemaferéz, za toto období bylo 2–5 % nezávažných komplikací a 0,01 % závažných (krvácení, anafylaxe). Výkony se prováděly na přístrojích Spectra Optia, Trima Accel, Amicus a Adasorb. Nejčastější zdravotní komplikace během aferéz jsou nedostatečná funkce periferního nebo centrálního žilního přístupu, hypotenze, bolesti hlavy, citrátová reakce nejčastěji ve formě parestzie v oblasti obličeje a prstů, horečka, hematomy, nevolnost, zvracení, křeče, kolaps (mdloba), kolaps a ruptury odběrových žil, exantém, alergické reakce, punkce arterie, iritace nervu, poranění šlachy. Technické komplikace souvisejí s použitou technikou, jde o selhání přístroje nebo chybu personálu. Sledované technické komplikace jsou problémy s antikoagulací (shluky v koncentrátu trombocytů nebo MNC), závada přístroje nebo odběrové soupravy, hemolýza uvnitř odběrové soupravy, netěsnost soupravy, nízký průtok krve, nemožnost nastavení AIM rozhraní, zpěněná krev v přístroji, problémy s centrálním žilním katetrem, nízký průtok krve během výkonu, poškrábání skříčka prstence v centrifuze.

Závěr: Personál AO ÚHKT sleduje průběh aferetických výkonů, aktivně předchází možným komplikacím. Zdravotní komplikace nejsou časté a většinou dobře řešitelné. S technickými komplikacemi se lze setkat častěji. S většinou z nich si poradí obsluha přístroje a lékař, některé musí přijet vyřešit technik. K zvládnutí všech typů komplikací je zapotřebí jejich bezodkladné řešení a erudovaný a zkušený personál.

BIOLOGICKÝ PAS A HEMATOLOGIE – KAZUISTIKA OBVINĚNÉHO SPORTOVCE S DOUTNAJÍCÍM HEMATOLOGICKÝM ONEMOCNĚNÍM

Bohoněk M.¹, Čermák J.², Kutáč D.¹

¹ Oddělení hematologie a krevní transfuze, ÚVN – VFN Praha

² Ústav hematologie krevní transfuze, Praha

Úvod: Biologický pas sportovce (athlete biological passport; ABP) je jedna z metod antidopingové kontroly, zavedená Světovou antidopingovou agenturou (WADA) v roce 2009. Jedná se o databázi informací o jednotlivci získanou z antidopingových odběrů a jejich vyšetření v akreditovaných laboratořích WADA. Sledované parametry hematologického ABP jsou hodnoty hemoglobinu a retikulocytů a jejich výkyv je podezřelý pro možné nedovolené užití erytropoetinu nebo transfuse a může být důvodem k zahájení disciplinárního řízení a potrestání sportovce.

Vlastní kazustika: Nadějný africký běžec na dlouhé tratě, držitel světového rekordu, byl na základě sledování ABP v letech 2019–2022 obviněn z porušení antidopingových pravidel, vzhledem k několika výkyvům hodnot hemoglobinu a retikulocytů v uvedeném období. Jednalo se např. o vzestup Hb na 176 g/l s následným poklesem na 150 g/l v průběhu 2 dní, běžné hodnoty Hb se u atleta pohybovaly v rozmezí 160–166 g/l. Atlet obvinění odmítl a podstoupil expertní hematologické vyšetření v ČR, které částečně proběhlo na ÚHKT a pak zejména v ÚVN Praha. Výsledkem rozsáhlého panelu vyšetření, vč. trepanobiopsie, bylo konstatování hypocelulární krvetvorby se zmnoženou lymfoidní populací, svědčící po počínající poruchu krvetvorby s řadou možných etiologických příčin ve smyslu NHL nebo hypocelulární MDS. Na druhou stranu nízká hladina sérového erytropoetinu ukázala na zvýšenou aktivitu endogenní erytropoézy a vnější podání růstových faktorů je tak velmi nepravděpodobné. Dalším nálezem byl suspektní deficit G-6-PD, nelze tedy vyloučit ani vliv hemolytických paroxysmů na výkyvy v ABP. Příčinou nestandardních výkyvů hodnot hemoglobinu v ABP je patrně nejspíše primární hematologické onemocnění, nikoli vnější zásahy a pacienta je nutné dále sledovat. Přes dodaná expertní stanoviska disciplinární řízení dále pokračuje a diskuse s World Athletics (Světová atletická federace, která proti sportovci vede disciplinární řízení) a reflexe odborných hematologických závěrů je velmi komplikovaná.

ROPEGINTERFERON V LÉČBĚ POLYCYTHAEMIA VERA V MAXIMÁLNÍ A V MINIMÁLNÍ DÁVCE – DVĚ KAZUISTIKY A DVĚ ODLIŠNÉ CESTY K ÚSPĚŠNÉ LÉČEBNÉ ODPOVĚDI

Bohoněk M.

Oddělení hematologie a krevní transfuze, ÚVN – VFN Praha

Úvod: Polycythaemia vera patří do skupiny Ph negativních myeloproliferací se zvýšenou tvorbou erytrocytů, trombocytů

a granulocytů. Hlavními diagnostickými kritérii jsou hodnoty hemoglobinu, hematokritu, objem erytrocytární masy, přítomnost mutace JAK2 V617F a nález v trepanobiopsii. Léčba závisí na věku a míře trombofilního rizika a zahrnuje protidestičkovou léčbu, cytodepleci, cytoaredukci (hydroxyura, busulfan), interferon alfa, anagrelid, ruxolinitib.

Kazustika 1: Muž, *1979, dg. 2015, JAK-2 pozitivní, vstupně Le 8,05×10⁹/l, Hb 200 g/l, Ht 0,64, Tr 279×10⁹/l. Hodnoty Hb/Ht upravovány cytodeplecí (dvojitá erythrocytaferéza), nasazena ASA, postupně se rozvíjející trombocytémie (600–700×10⁹/l) léčena anagrelidem, bez odezvy. Pro rezistenci trombocytémie na anagrelid, rozvíjející se splenomegalii a věku pacienta, 10/2020 zažádáno o schválení ropeginterferonu alfa-2b, které opakovaně zamítnuto, přes doložení stavu opakovaným histologickým vyšetření kostní dřeně. 1/2021 nasazen peginterferon alfa-2a, pro četné nežádoucí účinky záhy vysazen a zvolena hydroxyurea. Pro další rozvoj splenomegalie nasazen ruxolinitib. Po snížení hodnot trombocytů hydroxyurea nahrazena anagrelidem, při kterém ale opět vzestup trombocytů až na 1 000×10⁹/l. V roce 2022 schválen ropeginterferon a postupným navyšováním dávky až na 500 mg/2 týdny docíleno léčebné odpovědi s normalizací krevního obrazu i velikosti sleziny, která trvá od 4/2023, bez cytodeplecí a aktuálně je dávka snižována.

Kazuistika 2: Muž, *1997, dg. 12/2021, JAK-2 pozitivní, vstupně Le 7,13×10⁹/l, Hb 172 g/l, Ht 0,532, Tr 667×10⁹/l, slezina naráží. Nasazena ASA, prováděny cytodepletece venepukcí, 11/2022 dg potvrzena histologickým vyšetřením kostní dřeně. Vzhledm k věku pacienta úspěšně zažádáno o schválení úhrady ropeginterferonu alfa-2b a od 2/2023 nasazen v dávce 100 mg/2 týdny, pak 150 mg/2 týdny, aby po dobré léčebné odpovědi a normalizaci KO a ústupu splenomegalie snížen zpět na dávku 100 mg/2 týdny, která trvá dodnes.

Závěr: Popsané kazistiky jsou příkladem nutnosti individuální léčby, kde základními faktory, které ji ovlivňují, je jednak vnímavost pacienta a individuální léčebná odpověď na podanou léčbu, ale též úhradová politika a různý přístup zdravotních pojišťoven při schvalování vyhrazených léčiv.

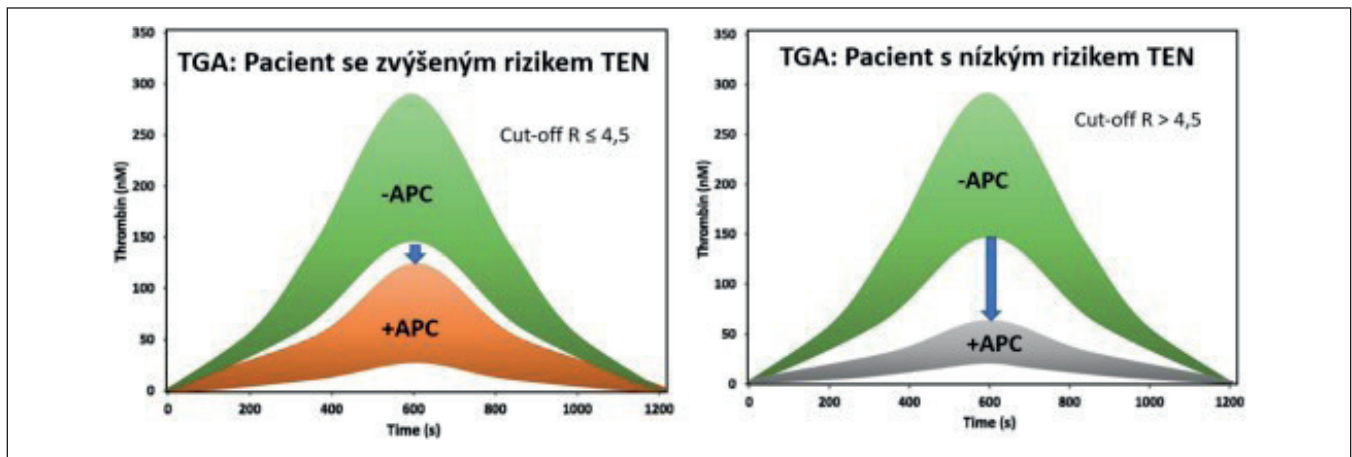
STANOVENÍ TROMBOTICKÉHO RIZIKA U PACIENTŮ S ANTIFOSFOLIPIDOVÝM SYNDROMEM A POZITIVITOU RŮZNÝCH ANTIFOSFOLIPIDOVÝCH PROTILÁTEK POMOCÍ MODIFIKOVANÉHO TROMBIN GENERAČNÍHO TESTU

Bradáčová P.¹, Slavík L.², Ullrychová J.¹, Jará E.¹

¹ Oddělení klinické hematologie, Masarykova nemocnice Ústí nad Labem

² LF UP, Olomouc

Úvod: Antifosfolipidový syndrom (APS) je hyperkoagulační stav doprovázený přítomností heterogenních antifosfolipidových protilátek (aPL), které nespecificky ovlivňují hemostázu. Ačkoli v laboratoři prodlužují fosfolipid-dependentní koagulační testy, *in vivo* jsou trombogenní. Jednou z možných teorií, která vysvětluje tento



Obr. 3. Bradáčová P et al.

paradox, je inhibiční účinek protilátek na systém inhibice hemostázy. Kdy zejména systém aktivace proteinu C (APC) vyžaduje fosfolipidové povrchy a jeho eliminace může vést ke zvýšení trombotického potenciálu a případně až ke klinické manifestaci tromboembolie.

Cíle: 1) Stanovit trombogenicitu ve skupině 175 pacientů s APS a se současnou pozitivitou různých aPL. 2) Stanovit trombogenicitu u 85 pacientů lupus antikoagulant pozitivních (LA) s/bez klinických projevů APS.

Metody: Použili jsme trombin generální test (TGA) modifikovaný přidáním APC. TGA byl měřen s přidáním +APC a bez -APC a poté jsme vyhodnotili poměr obou měření pomocí cut-off $R \leq 4,5$ (90. percentil).

Výsledky: 1) Zjištěnou trombogenicitu jsme seřadili od nejvyšší po nejnižší: triple pozitivita (LA, aCL, anti- β 2GPI); single pozitivita (LA/aCL/anti- β 2GPI/anti-annexin V/anti-PS/PT); anti-DI se současnou pozitivitou další jedné nebo více aPL (ANOVA $p < 0,05$, $< 0,01$, $< 0,001$). 2) Skupina pacientů (58) s klinickými projevy APS vykazovala vyšší trombogenitu u 56,9 % pacientů, zatímco skupina pacientů (27), u nichž se klinické projevy APS dosud neprojevily, vykazovala vyšší trombogenicitu u 25,9 % pacientů (Fisherův test $p = 0,0016$).

Závěry: Nami zjištěné údaje naznačují, že stanovení trombogenicity aPL pomocí testu TGA vede ke zvýšení predikce manifestace tromboembolické příhody. Naše zjištění se zdají být zvláště důležitá pro predikci trombotických příhod u pacientů s laboratorně vyjádřeným APS a bez klinických projevů.

Podpořeno grantem Krajské zdravotní a.s., KZ-2023-1-7.

OŠETŘOVATELSKÁ PÉČE U PACIENTA PO PODÁNÍ CAR TERAPIE (KAZUISTIKA)

Brojáčová D.

IV. interní hematologická klinika, FN Hradec Králové

Léčebná metoda s využitím unikátní technologie CAR-T nabízí nový a slibný způsob léčby, a to zejména pacientům s hematologickou malignitou. Unikátnost technologie díky genetické úpravě T-lymfocytů umožňuje imunitním buňkám pacienta lépe bojovat s nádorovým

onemocněním, a přinesla novou naději na vyléčení některým pacientům, kteří nereagují na standardní léčbu. Naše sdělení se zabývá jak teoretickým popisem metody, tak praktickou ukázkou průběhu terapie a zvládnání komplikací na vybraných pacientech formou kazuistiky.

LABORATORNÍ MANAGEMENT A STANOVENÍ ZÍSKANÉHO INHIBITORU FXIII U KRITICKY NEMOCNÉHO PACIENTA

Bultasová L.¹, Bradáčová P.², Koldušková K.¹, Dokoupilová E.¹, Korelusová I.¹, Slavík L.³, Jará E.²

¹ Ústav klinické biochemie a hematologie, FN Plzeň

² Oddělení klinické hematologie, Masarykova nemocnice v Ústí nad Labem

³ LF UP, Olomouc

Získaný deficit koagulačního FXIII je velmi vzácný stav. Z tohoto důvodu není metoda stanovení specifického inhibitoru FXIII v laboratořích běžně zavedena a prováděna.

V naší práci popisujeme případ pacienta se získaným deficitem FXIII, u kterého byla prováděna laboratorní diagnostika a následně sledování léčby ve spolupráci několika hematologických laboratoří, především na ÚKBH FN Plzeň a na OKH Masarykovy nemocnice v Ústí nad Labem. Klinicky se jednalo o velmi závažný stav s recidivujícím život ohrožujícím krvácením, který vyžadoval neprodlené provedení diagnostiky. Pacient byl hospitalizovaný ve FN Plzeň, která však v laboratoři nedisponovala přístrojovým vybavením pro kvantitativní stanovení funkční aktivity FXIII, ale pouze orientačním stanovením.

Diagnostika a následná monitorace probíhala v laboratoři OKH v Ústí nad Labem, kde byla ad hoc zavedena metodika pro stanovení inhibitoru FXIII vycházející ze známé a běžně používané metody pro stanovení specifického inhibitoru FVIII: Bethesda metoda s Nijmegen modifikací. Postupně zde bylo u daného pacienta v období 4. 11. 2023 – 14. 12. 2023 provedeno 54 vyšetření aktivity FXIII a 33 stanovení inhibitoru FXIII. Během několika dnů po získání přístrojového vybavení ve FN Plzeň a krátkém paralelním vyšetřování v obou laboratořích probíhala již kontrolní vyšetření aktivity FXIII a inhibitoru

FXIII v režii laboratoře FN Plzeň vč. následného rozpracování dalších možností vyšetřovacích postupů pro stanovení inhibitoru FXIII. Součástí naší práce je porovnání metodik pro stanovení inhibitoru FXIII – screeningu specifického inhibitoru bez i s použitím deficitní plazmy a kvantitativního stanovení inhibitoru Bethesda metodou.

NOVÉ METODY LÉČBY PACIENTŮ V ÚHKT – LÉČBA AKUTNÍCH LEUKEMIÍ POMOCÍ NEJNOVĚJŠÍCH PREPARÁTŮ – PŘEHLED PRO SESTRY

Buršová K.

Lůžkové oddělení, ÚHKT, Praha

Prezentace představuje nejnovější používaná léčiva na lůžkovém oddělení Ústavu hematologie a krevní transfuze v Praze i s ohledem na ošetrovatelská specifika péče o naše pacienty. Zahrnuje inovativní léčiva, která mohou pacientům zkvalitnit a prodloužit život. Vhodná léčiva jsou vybírána po společné konzultaci lékaře s pacientem (případně s jeho rodinou) „na míru“. Při výběru léčiva se řídíme: diagnostickým zařazením pacientovy choroby; očekávatelnou prognózou nemoci; celkovým stavem pacienta; přáním pacienta. Některá léčiva (infuzní i perorální) se přidávají k chemoterapii. Léčba probíhá za hospitalizace. Pokud je možné léčivo podávat perorálně, je to pro pacienta snazší, jelikož mu režim dovoluje trávit více času s rodinou v domácím prostředí. Na začátku intenzivní léčby je ve většině případů nutná hospitalizace, kdy se u pacienta kontroluje, jak léčbu toleruje a léčí se případné komplikace. Mezi preparáty, o kterých budu hovořit, patří Midostaurin, Xospata, Vyxeos, Venclxyto, Blincyto. Kazuistiky nasbírané za určité období nám dávají náhled na průběh, toleranci a účinnost této léčby.

ROBUST ACUTE MYELOID LEUKEMIA ENGRAFTMENT IN HUMANIZED SCAFFOLDS USING INJECTABLE BIOMATERIALS AND INTRAVENOUS XENOTRANSPLANTATION

Busa D.¹, Herudkova Z.¹, Hyl J.¹, Vlazny J.², Sokol F.², Matulova K.², Foltá A.¹, Hynst J.³, Vojtova L.⁴, Kren L.², Repko M.⁵, Racil Z.⁶, Mayer J.¹, Culen M.¹

¹ Department of Internal Medicine, Hematology and Oncology, Faculty of Medicine, Masaryk University, Brno

² Department of Pathology, University Hospital Brno, Brno

³ Central European Institute of Technology, Masaryk University

⁴ Central European Institute of Technology, Brno Institute of Technology, Brno

⁵ Orthopedic Clinic, University Hospital Brno

⁶ Department of Physiology, Faculty of Medicine, Masaryk University, Brno

Patient-derived xenografts can be improved by implantation of a humanized niche. Nevertheless, the overall complexity of the current protocols, as well as the use of specific biomaterials and procedures, limits the wider adoption of this approach. Here,

we identify the essential minimum steps required to create the humanized scaffolds and achieve successful acute myeloid leukemia (AML) engraftment. We compared 7 biomaterials, which included both published and custom-designed materials. The highest level of bone marrow niche was achieved with extracellular matrix gels and custom collagen fiber, both of which allowed for a simple non-surgical implantation. The biomaterial selection did not influence the following AML infiltration. Regarding xenotransplantation, standard intravenous administration produced the most robust engraftment, even for two out of four otherwise non-engrafting AML samples. In contrast, direct intra-scaffold xenotransplantation did not offer any advantage. In summary, we demonstrate that combination of an injectable biomaterial for scaffold creation and intravenous route for AML xenotransplantation provide the most convenient and robust approach to produce AML PDX using a humanized niche.

Project MUNI/A/1558/2023; The project National Institute for Cancer Research (Programme EXCELES, ID Project No. LX22NPO5102) – Funded by the European Union – Next Generation EU.

TRANSKRIPTOM A METYLOM LEUKEMICKÝCH BLASTŮ PREDIKUJE SENZITIVITU PACIENTŮ S AKUTNÍ MYELOIDNÍ LEUKEMIÍ K INDUKČNÍ TERAPII

Cerovská E., Kundrát D., Krejčík Z., Čechová E., Vacek L., Šálek C., Beličková M., Remešová H.

Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

Úvod: Až 40 % pacientů s AML nedosáhne po prvním cyklu indukční chemoterapie 3 + 7 kompletní hematologické remise (CR) a čelí nepříznivé prognóze. V současné době neexistují žádné markery chemorezistence, které by se zohledňovaly při stratifikaci AML pacientů do prognostických skupin nebo při volbě terapeutického přístupu. Proto jsme provedli komplexní analýzu transkriptomu a metylomu leukemických blastů s cílem identifikovat molekulární faktory predikující senzitivitu pacientů k indukční chemoterapii.

Metody: Transkriptom leukemických blastů separovaných z periferní krve pacientů při diagnóze (n = 35) a myeloblastů zdravých dárců (n = 3) byl osekvenován na přístroji NovaSeq (Illumina). Metylace DNA byla analyzována v leukemických blastech 20 pacientů při diagnóze a v myeloblastech 4 zdravých dárců pomocí Infinium-MethylationEPIC v2.0 čipů (Illumina). Analyzovali jsme diferenciální expresi a metylaci mezi pacienty dosahujícími (RES) a nedosahujícími (non-RES) CR po prvním cyklu terapie 3 + 7 a mezi pacienty a kontrolami.

Výsledky: Mezi RES (n = 19) a non-RES (n = 16) pacienty bylo identifikováno 75 diferenciálně exprimovaných genů. U RES pacientů byla vyšší exprese genů souvisejících s diferenciací T lymfocytů a remodelací chromatinu, u non-RES pacientů byla vyšší exprese genů interferonové signalizace, vývoje lymfocytů a některých protoonkogenů (např. *MN1*, *SETBP1*, *LMO2*). U RES pacientů (n = 8) byla zaznamenána vyšší míra metylace DNA oproti non-RES skupině

(n = 12). Nejsignifikantnější diferenciatně metylované dráhy byly anotovány k histonovým modifikacím, organizaci chromatinu, regulaci hemopoézy, apoptózy a imunitní odpovědi. Celková míra metylace u kontrol byla nižší než u pacientů.

Závěr: Podařilo se nám identifikovat molekulární dráhy a geny, které pravděpodobně hrají roli při vzniku chemorezistence, a mohou sloužit k odhalení pacientů s nižší senzitivitou k chemoterapii.

Podpořeno AZV CR (NU20-03-00412), MZCR (00023736, UHKT).

MŮŽEME PŘEDEJÍT CRS?

Cieslarová H., Gryczová K.

Jednotka intenzivní péče, Klinika hematologie FN Ostrava

Cílem naší práce je shrnout základní informace o cytokine release syndromu (CRS) a zamyslet se, zdali mu můžeme předejít, popřípadě ho zmírnit. CRS je systémová zánětlivá odpověď organismu, která je vyvolána vystupňovanou aktivací imunitního systému v reakci na různé faktory, nejčastěji imunoterapii, chemoterapii či těžké virové infekce. Klinické příznaky jsou obtížně odlišitelné především od sepse (Čemusová, 2022). Na Jednotce intenzivní péče Kliniky hematologie (JIP KHO) se s CRS syndromem můžeme setkat při podávání moderní cílené terapie CAR-T cells a při imunoterapii bispecifickými a protilátkami. V praktické části si na kazuistice pacientky léčené na JIP KHO přiblížíme vznik, průběh a léčbu této život ohrožující komplikace.

Klíčová slova: CRS – cytokiny – imunoterapie – CAR-T cel

KDYŽ DESTIČKY NEFUNGUJÍ – POSTUP PŘI PODEZŘENÍ NA REFRAKTERNOST K PODÁNÍ TROMBOCYTŮ VE FN BRNO

Cíchová N., Lejdarová H., Janků L.

Transfuzní a tkáňové oddělení, FN Brno

Úvod: Refrakternost k transfuzi trombocytů je charakterizována jako opakovaně neadekvátní odpověď na podané trombocyty. Jedná se o závažnou komplikaci při podávání transfuzí trombocytů, jejíž řešení vyžaduje specifický přístup.

Cíl: Postup při zajištění péče o pacienty s podezřením na refrakternost k podání trombocytů ve FN Brno.

Metody: Refrakternost k podání trombocytů je nejčastěji stanovena pomocí CCI, případně PPR indexu. Po analýze typu dosud podaných trombocytů následuje doplnění klinických informací k vyloučení neimunních příčin. Poté by měl být co nejdříve odebrán vzorek krve pro HLA vyšetření a do jeho výsledku aplikovány trombocyty maximálně stáří 72 hodin, ideálně směsných. Optimálním konečným řešením je zajištění HLA shodných trombocytů, případně alespoň trombocytů s negativním výsledkem crossmatch v případech, kdy HLA shodný dárců není dostupný.

Výsledky: Za posledních 5 let bylo v naší nemocnici evidováno 46 pacientů s podezřením na refrakternost, z toho se v 9 případech jednalo o imunní typ refrakternosti. V 7 případech se podařilo zajistit HLA shodné

trombocyty s následnou adekvátní odpovědí, u zbylých 2 pacientů byly zajištěny trombocyty s negativním výsledkem crossmatch.

Závěr: Dodržení zavedeného postupu při podezření na refrakternost k podání trombocytů přispívá k zajištění optimální a včasné transfuze těmto specifickým pacientům. Nutnou podmínkou je dobře fungující mezioborová spolupráce kliniků a transfuziologů a dostatečně robustní registr HLA otypovaných dárců krve.

IDENTIFICATION OF CHRONIC MYELOID LEUKEMIA STEM CELLS AT DIAGNOSIS AND EARLY FOLLOW-UP

Culen M.¹, Romzova M.², Smitalova D.³, Loja T.², Busa D.¹, Venglar O.¹, Herudkova Z.¹, Borsky M.³, Taus P.², Reigl T.², Plevova K.³, Smejkal J.³, Zackova D.³, Stejskal L.⁴, Racil Z.³, Mayer J.³

¹ Department of Internal Medicine, Hematology and Oncology, Faculty of Medicine, Masaryk University, Brno

² Central European Institute of Technology, Masaryk University, Brno

³ Department of Internal Medicine, Hematology and Oncology, University Hospital Brno

⁴ Department of Hematooncology, Faculty of Medicine, University of Ostrava, Ostrava

Leukemic stem cells (LSCs) sit at the top of the chronic myeloid leukemia (CML) clone and can serve as a source of CML recurrence and mutation acquisition. LSC description is crucial for prognostication and therapy targeting. Here, we analyzed the surface expression of known and prospective LSC markers – CD25, CD26, CD56, CD69, and IL-1RAP on CD34+CD38- stem cells (SCs) from bone marrow of 45 consecutive CML patients at diagnosis (N = 38), month 3 (M3, N = 33) and M6 (N = 32). At diagnosis, CD25, CD26, IL-1RAP, together with a novel marker CD69, identified the most positive cells and also showed a perfect overlap. Generally, the cells were either positive for all or no markers. At single cell level, *BCR::ABL1* RNA expression matched the LSC phenotype, confirming marker sensitivity (> 79% for CD26, CD69, and IL-1RAP). At M3 and M6, the LSC load decreased, and the cells were positive for less markers. The marker sensitivity dropped below 55%, meaning that the aberrant phenotype was present on half or less of the *BCR::ABL1* cells. Correlation with patient survival showed prognostic value of LSC detection at follow-up, but not at diagnosis. At M3 and M6, correlation with survival was demonstrated for separate markers, as well as their combination in multivariate analysis. Importantly, the LSC detection demonstrated added prognostic value to *BCR::ABL1* quantification. In summary, a combination of 2–3 markers is sufficient for reliable CML LSC detection at diagnosis. A wider panel is required for early follow-up, where the LSC percentage is predictive of patient survival.

MUNI/A/1558/2023. The project National Institute for Cancer Research (Programme EXCELES, ID Project No. LX22NPO5102) – Funded by the European Union – Next Generation EU.

MYELOYDYSPLASTICKÝ SYNDROM – VČERA, DNES A ZÍTRA

Čermák J.

Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

Loňského roku uplynulo již 70 let od prvního popisu případu tzv. preleukemické leukemie. Systematičtěji začaly tyto stavy být zkoumány až v 70. letech minulého století a v roce 1982 byly preleukemické stavy zahrnuty do skupiny tzv. myelodysplastických syndromů (MDS). V současnosti se diagnostika MDS zaměřuje na další upřesnění prognostických kritérií, které by umožnily lepší odlišení nemocných indikovaných k intenzivní léčbě vč. SCT. IPSS-M je prognostický systém zahrnující přítomnost různých somatických mutací jako parametru pro prognózu nemocných. Tzv. taxonomická molekulární klasifikace z roku 2023 ještě blíže rozděluje nemocné s MDS do 16 podskupin podle kombinace mutací a změn karyotypu. Ukazuje se, že molekulárně genetické změny mohou výrazně modifikovat prognózu nemocných v stejné skupině dle IPSS-R. Dalšími faktory, jež mohou výrazně individualizovat průběh a prognózu onemocnění, je ovlivnění genů zprostředkujících zánětlivou reakci a sekreci zánětlivých cytokinů což má zřejmě význam pro udržování zánětlivého mikroprostředí favorizujícího nádorové buňky. Rovněž mutace postihující imunitní systém mají význam pro individuální odpověď na proces rozvoje patologického klonu. Tato zjištění výrazně ovlivňují i léčebný přístup k nemocným s MDS. Jednotlivé léky jsou efektivní většinou u jasně definovaných podskupin nemocných (např. luspatercept u nemocných s MDS/RARS-T). Přítomnost individualizace parametrů a průběhu onemocnění komplikuje zavádění nových léků, u starších nemocných s pokročilou formou choroby se stále nedaří efektivně prodloužit délku přežití kombinacemi azacytidinu s dalšími látkami. Transplantace je stále jediným přístupem schopným MDS vyléčit. Její možnosti se rozšířily možností SCT od haploidického dárce a zkoumá se efektivita podávání hypometylačních látek jako udržovací léčby po SCT.

PODÁVÁNÍ INHIBITORŮ KOMPLEMENTU NEMOCNÝM S PNH – VÝSLEDKY LÉČBY V ÚHKT

Čermák J., Soukupová Maaloufová J., Mastíková L., Lauermannová M.

Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

Úvod: Zavedení inhibitorů komplementu do léčby paroxysmální noční hemoglobinurie (PNH) znamenalo zásadní obrat v možnostech ovlivnění choroby a mělo obrovský význam pro zlepšení klinického stavu, vymizení komplikací a prodloužení délky přežití nemocných.

Nemocní a metody: Celkem 21 nemocných s těžkou hemolytickou formou PNH (12 z nich s anamnézou trombózy) bylo v letech 2011–2023 léčeno podáváním inhibitoru C5 složky komplementu eculizumaben. Při dosažení nejméně dobré odpovědi (Hb > 100 g/l + nezávislost na transfuzích) byli nemocní podle možnosti převedeni na ravulizumab (depotní formu C5 inhibitoru),

nemocní, u nichž přetrvával výraznější stupeň extravaskulární hemolýzy ovlivňující efekt léčby, byli převedeni na inhibitor C3 složky pegcetacoplan.

Výsledky: Odpověď na léčbu s dosažením úplné transfuzní nezávislosti a hladinou Hb > 100 g/l byla přítomna u 17 z 21 nemocných (80,9 %) – kompletní 7x, velká 2x, dobrá 8x. Odpovědi bylo dosaženo u 14 nemocných po podání eculizumabu (66,6 %) a u 3 nemocných po podání pegcetacoplanu. U 3 ze 4 nemocných s malou či částečnou odpovědí na léčbu došlo k přechodu do MDS. Průměrná délka přežití činí v současnosti 78,2 měsíce (6,5 roku), déle než 5 let přežívá 12 nemocných (57,1 %), déle než 10 let pak 6 nemocných (28,5 %), od začátku léčby inhibitory zemřela pouze 1 nemocná. U žádného z nemocných nebyla po zahájení léčby pozorována recidiva trombotických komplikací.

Závěr: Podávání inhibitorů komplementu našim nemocným s PNH představuje zásadní obrat v léčbě PNH vedoucí ke zvýšení hodnot Hb, transfuzní nezávislosti, vymizení recidiv trombózy a významnému prodloužení délky života.

NOVÉ PŘÍPRAVKY V LÉČBĚ VZÁCNÝCH ANEMIÍ

Čermák J.

Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

Úvod: Po dlouhou dobu byla léčba vrozených korpuskulárních anemií výrazně omezena a spočívala v substituci transfuzemi erytrocytů, splenektomií a odstraňování nadbytečného železa. V posledních letech se ukazuje korekce anemie může být dosaženo i přípravky, které tlumí vysoký stupeň inefektivní erythropoézy či zvyšují energetický potenciál buňky. Ve našem sdělení prezentujeme naše zkušenosti novými léky ovlivňujícími anemii u nemocných s deficitem enzymu pyruvát kinázy a u nemocných s beta talasemií.

Nemocní, léčba a výsledky: Mitapivat stabilizuje enzym pyruvát kinázu a zvyšuje jeho aktivitu. Tím dochází k vzestupu tvorby ATP a snížení energetického deficitu erytrocytu. To vede k prodloužení délky jeho přežití. Mitapivat (Pyrukynd®) byl podáván 2 nemocným s anemií při deficitu pyruvát kinázy ve stoupajících dávkách 5–50 mg 2x denně. U nemocné s těžkým průběhem choroby došlo k poklesu počtu transfuzí erytrocytů na 50 % původního množství. U nemocného s mírnějším průběhem choroby došlo k trvalému vzestupu hodnot Hb nad 100 g/l a k dosažení transfuzní nezávislosti. Luspatercept inhibuje aberantní aktivaci Smad 2/3 signální dráhy, jež je spojena s poruchou maturace, terminální diferenciací a předčasnou apoptózou, což má efekt u nemocných s MDS a talasemií. Luspatercept (Reblozyl®) byl podáván 2 nemocným s kombinací heterozygotní mutace pro β talasemii a HbE s klinickými projevy thalasemia major ve stoupající dávce 50–75 mg 1x za 3 týdny. U první nemocné nedošlo k poklesu podaných transfuzí (5 TU vs. 4 TU) za 2 měsíce, u druhého nemocného klesl počet TU na polovinu (4 TU vs. 2 TU).

Závěr: Podávání mitapivatu či luspaterceptu představuje první efektivní léčbu modifikující průběh vzácných onemocnění červené krevní řady.

KOMPLIKOVANÝ IMUNOHEMATOLOGICKÝ NÁLEZ PACIENTKY S OBTÍŽNĚ ZAJISTITELNOU HEMOTERAPIÍ

Černá M.¹, Holusková I.²

¹ Oddělení laboratorní medicíny, Nemocnice AGEL Prostějov

² Transfuzní oddělení, FN Olomouc

Na krevní bance Nemocnice AGEL Přerov jsme dne 30. 12. 2023 měli připravit 5 TU ERD pro pacientku KS B RhD pozit. v hemoragickém šoku při akutním krvácení do GIT. Vzhledem k nálezu nepravidelných tepelných antierytrocytárních protilátek reagující v nepřímém antiglobulinovém i v enzymovém (papain) testu bylo provedeno přešetření na Transfuzním oddělení ve FN Olomouc s nálezem aloprotilátek anti-c a anti-Jk(a) a doporučením aplikovat transfuze dle fenotypu CCD.ee KK Jk(a-). Vzhledem k nedostupnosti nám „nakřízili“ 5 TU ERD dle fenotypu CCD.ee Kk Jk(a-), které byly postupně aplikovány. Na akutní gastroskopii ošetřili rozsáhlou ulcerace bulbu duodena a dne 2. 1. 2024 byl operačně proveden opích krvácející tepny. Pro přetrvávající anémii byly dovezeny a aplikovány další 4 TU ERD stejného fenotypu z Transfuzního a tkáňového oddělení FN Brno a 1 TU z Transfuzního oddělení Fakultní nemocnice Královské Vinohrady. Na ÚHKT v Praze byl potvrzen genotyp pacientky KK. Pacientka byla vyšetřována pro suspektní tumor kořene jazyka a pravé tonsily. Jeden test kompatibility z dále přivezených 2 TU ERD z FN Ostrava vyšel inkompatibilní a nově byla prokázána na Transfuzním oddělení FN Olomouc další aloprotilátka anti-Cw. Všichni jsme se velmi obávali imunizace také protilátkou anti-k. Byla snaha vyhledat vhodné dárce z registru TransReg. Autologní odběr s kryokonzervací erytrocytů v Ústřední vojenské nemocnici v Praze stále anemické pacientky nebyl možný, navíc jí byla potvrzená onkologická diagnóza.

STUDIUM ORGANIZACE CHROMATINU U CHRONICKÉ LYMFOCYTÁRNÍ LEUKEMIE

Černovská K.^{1,2}, Porc J.P.^{1,2}, Závacká K.^{1,2,3}, Adamová S.^{1,3}, Stránská K.^{1,2,3}, Ondroušková E.³, Jarošová M.^{1,3}, Plevová K.^{1,2,3}

¹ Ústav lékařské genetiky a genomiky LF MU, Brno

² Centrum molekulární medicíny, Středoevropský technologický institut (CEITEC), MU Brno

³ Interní hematologická a onkologická klinika LF MU a FN Brno

Úvod: Prostorová organizace chromatinu je důležitá pro základní buněčné procesy. Její hierarchickou strukturu tvoří kompartmenty, topologicky asociované domény a smyčky. Narušení organizace chromatinu může vést k deregulaci buněčných pochodů a podporovat nádorové bujení. Naším cílem bylo popsat dopady reorganizace chromatinu u chronické lymfocytární leukemie (CLL). Zaměřili jsme se na pacienty s komplexním karyotypem (CK), který je u CLL asociován s nepříznivým průběhem.

Metody: Deset primárních vzorků CLL s CK jsme zpracovali metodou Micro-C pro analýzu konformace chromatinu. Pomocí bioinformatických nástrojů jsme vyhodnotili interakce DNA a popsali

změny v počtu kopií (CNV) a strukturální varianty (SV). Získané výsledky jsme zhodnotili ve vztahu k výsledkům rutinních i výzkumných cytogenomických a sekvenačních metod. Dále jsme detekovali vznik nových chromatinových struktur, které jsme u vybraných vzorků korelovali se změnami genové exprese stanovené RNA sekvenováním.

Výsledky: Ve všech vzorcích jsme popsali specifické strukturální přestavby a jejich dopad na přeuspořádání chromatinu. V porovnání s ostatními metodami se Micro-C jeví jako spolehlivé pro detekci aberací ≥ 50 kb a především translokací. CNV profily získané různými metodami byly analogické. Dále jsme popsali vznik nových domén a smyček v důsledku SV u všech vzorků, které často korelovaly se změnou genové exprese.

Závěr: Nádorový genom podléhá rozsáhlé reorganizaci následkem chromozomových přestaveb a změnám v interakcích chromatinu. Náš výzkum poukazuje na význam studia konformace chromatinu, které poskytuje poznatky o fungování a expresi nádorového genomu a může objasnit příčiny biologických a klinických projevů nemoci.

Podpořeno granty MZČR AZV NU21-08-00237 a RVO FNBr65269705, MŠMT MUNI/A/1558/2023 a NPO-NÚVR LX22NPO5102, spolufinancováno EU – Next Generation EU.

POROVNÁNÍ VÝSLEDKŮ LÉČBY PONATINIBEM A ASCIMINIBEM U PACIENTŮ S CML PO PŘEDCHOZÍM PODÁNÍ ALEPŇ 2 TKI V PODMÍNKÁCH KAŽDODENNÍ KLINICKÉ PRAXE – ANALÝZA Z DATABÁZE INFINITY

Čičátková P.¹, Horňák T.¹, Kvetková A.¹, Faber E.², Klamová H.³, Bělohávková P.⁴, Stejskal L.⁵, Karas M.⁶, Cmunt E.⁷, Černá O.⁸, Chrápavá M.⁹, Semerád L.¹, Procházková J.¹, Mayer J.^{1,10}, Žáčková D.¹

¹ Interní hematologická a onkologická klinika LF MU a FN Brno

² Hemato-onkologická klinika LF UP a FN Olomouc

³ Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

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

⁵ Klinika hematoonkologie LF OU a FN Ostrava

⁶ Hematologicko-onkologické oddělení, LF UK a FN Plzeň

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

⁸ Hematologická klinika LF UK a FNKV, Praha

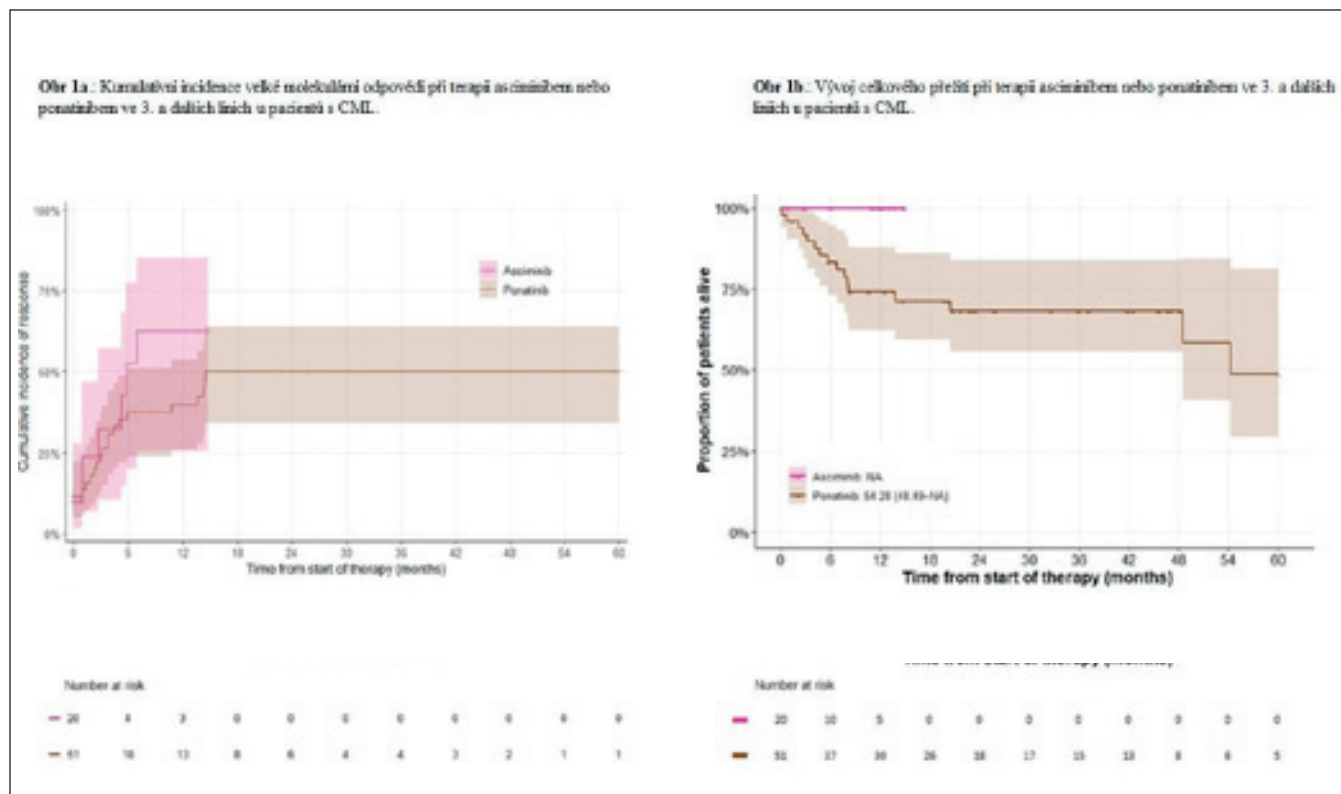
⁹ Institut biostatistiky a analýz, s.r.o., Brno

¹⁰ Středoevropský technologický institut – Masarykova univerzita, Brno

Cíl: Retrospektivně porovnat účinnost a bezpečnost ponatinibu a asciminibu v pozdějších liniích u pacientů s CML v každodenní praxi v ČR.

Metodika: Kontinuální parametry byly popsány za použití průměru a mediánu, kategoriální parametry pomocí absolutních a relativních četností. Celkové přežití (OS) bylo definováno jako čas od zahájení léčby asciminibem/ponatinibem do úmrtí.

Výsledky: V ČR bylo v období 1. 1. 2005–1. 3. 2024 51 pacientů s CML léčeno ponatinibem a 20 asciminibem, v případě obou TKI s mediánem



Obr. 4. Čičátková P et al.

ve 4. linii (asciminib u 35 %, ponatinib u 43,1 % pacientů). Nejčastějším důvodem zahájení terapie těmito TKI byly nehematologické NÚ pro asciminib (40 %) a molekulární rezistence pro ponatinib (29,4 %). Podíl pacientů, kteří dosáhli velké molekulární odpovědi po 12 měsících terapie, byl 33,3 % pro asciminib (2 z 6 pacientů) a 63,6 % u ponatinibu (14 z 22 pacientů), blíže ukazuje obrázek 1a. Medián OS při terapii ponatinibem byl 54,3 měsíců, při terapii asciminibem v době analýzy nebyl dosažen, detailněji najdete na obrázku 1b. Podávání asciminibu komplikovaly NÚ u 8 pacientů (40 %) – infekce (2 pacienti, 25 %), artralgie, konjunktivitida, zácpa, únava, muskuloskeletální bolesti a vyrážka (shodně 1, 12,5 %). Terapii ponatinibem provázely NÚ u 21 pacientů (41,2 %) – infekce (6 pacientů, 9,8 %), vyrážka (5, 8,2 %), bolest žaludku, arteriální hypertenze, muskuloskeletální bolesti (shodně 4 pacienti, 6,6 %).

Závěr: Asciminib se jevil jako slibná alternativa s velmi dobrou tolerancí, ale je důležité brát v úvahu omezený počet pacientů a krátkou dobu jejich sledování. Ponatinib potvrdil svou vysokou účinnost, avšak s vyšším výskytem nežádoucích účinků.

Předkládaná práce vznikla díky podpoře grantu MUNI/A/1558/2023 a projektem Národního ústavu pro výzkum rakoviny (Program EXCELES, ID: LX22NPO5102) – Financováno Evropskou unií – Next Generation EU.

EFEKTIVNÍ VÝSLEDKY LÉČBY PONATINIBEM A V KOMBINACI S VENETOCLAXEM V PREKLINICKÉM MODELU CHRONICKÉ MYELOIDNÍ LEUKEMIE S REZISTENCÍ K ASCIMINIBU

Čuřík N.^{1,2}, Lázníčka A.¹⁻³, Křížková J.¹, Polívková V.¹, Suchánková P.¹, Semerák P.¹, Pokorná E.², Hochhaus A.⁴ and Machová Poláková K.^{1,2}

¹ Ústav hematologie a krevní transfúze, Praha

² Ústav patologické fyziologie, 1. LF UK, Praha

³ 2. LF UK, Praha

⁴ Abteilung Hämatologie/Onkologie, Klinik für Innere Medizin II, Friedrich-Schiller Universität Jena, Německo

Asciminib významně rozšířil paletu cílené léčby pacientů s chronickou myeloidní leukémií (CML) po předchozím selhání několika linií léčby inhibitory tyrozinových kináz (TKI). V současnosti lék prochází klinickým ověřováním pro nově diagnostikované pacienty s CML. Jako určitý problém omezující terapeutický potenciál asciminibu se jeví vznik získané rezistence spojený s mutacemi *BCR::ABL1*, které jsou relativně neznámé a tedy neprobádané v souvislosti s citlivostí k TKI či novým léčivům z řad BH3 mimetik. Cílem práce bylo zjistit míru citlivosti mutací rezistentních k asciminibu a léčebné možnosti.

Experimentální léčbu klonálně heterogenní CML rezistentní k ascimibinu jsme testovali na preklinickém myším modelu. Využili jsme námi ustavené klony (n = 5) linie KCL-22 s různými mutacemi *BCR::ABL1* (D276G, K294E, A337T, A337V, E509G), které jsme ve směsi subkutánně xenotransplantovali imunodeficientním myším. Myši (n = 49) byly náhodně rozděleny do skupin podle léčby (ascimibin; ponatinib; venetoclax, a jejich vzájemné kombinace) a do kontrolní skupiny. Léčba byla zahájena v den detekce tumoru a její každodenní podávání ukončeno po jednom týdnu. Účinek léčby byl posouzen na základě srovnání doby přežití do nárustu tumoru $\geq 500 \text{ mm}^3$ (EFS) a doby celkového přežití (OS). Ponatinib byl signifikantně účinný, avšak v kombinaci s venetoclaxem ještě významněji zredukoval nádory pod hranici měřitelnosti (rozmezí dnů 4 a 24). Tato kombinace signifikantně ($p < 0,001$) prodloužila mediány přežití oproti kontrolní skupině (EFS: 37 vs. 7 dní; OS: 44 vs. 12 dní) i skupinám léčeným samostatně jednotlivými léky ($p < 0,01$). NGS analýza ukázala rozdílné zastoupení – a tedy rozdílnou citlivost k léčbě – jednotlivých klonů, které proliferovaly a utvářely tumor po zastavení léčby.

Podpořeno EUTOS 2022, MZ ČR – RVO (ÚHK, 00023736), GA UK 492222.

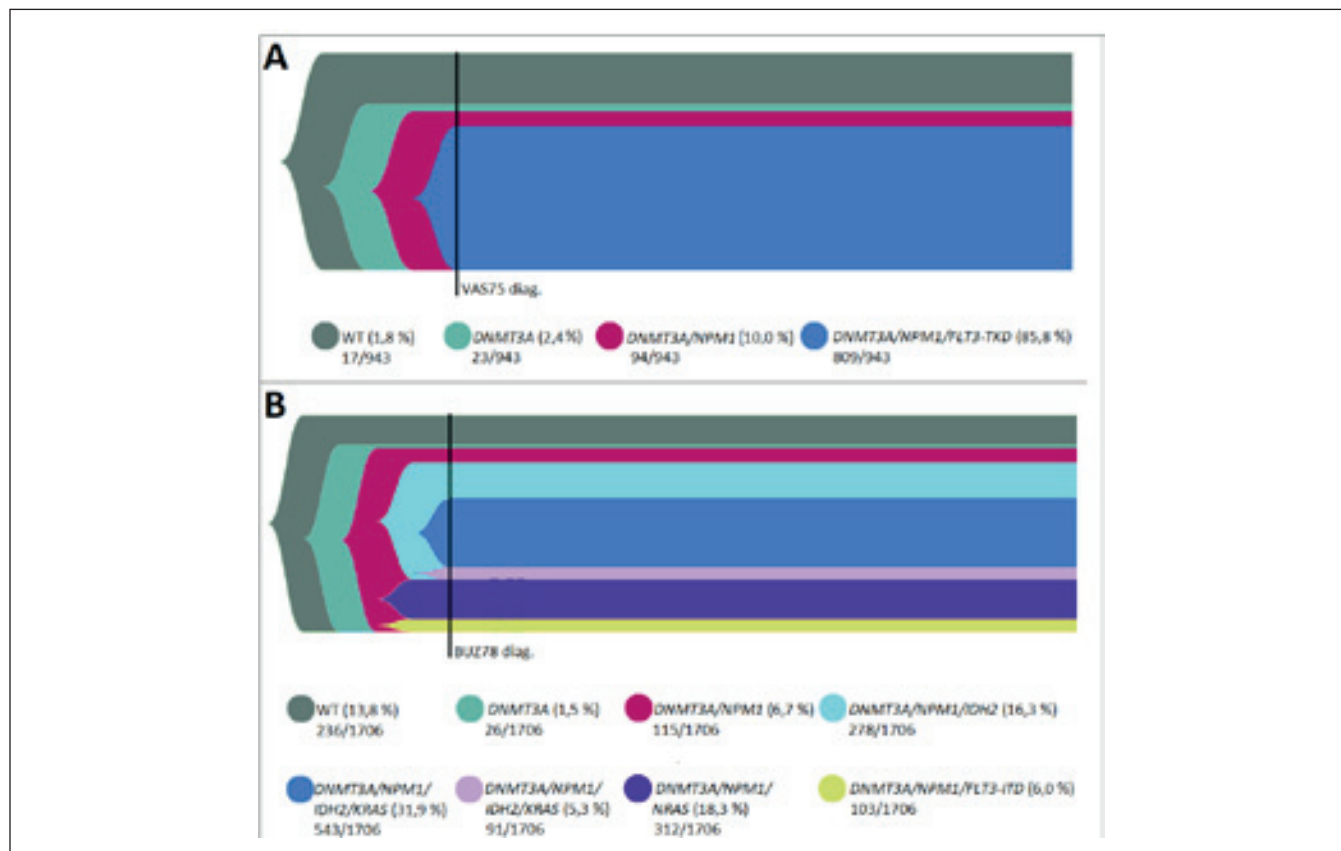
Andreas Hochhaus a Kateřina Machová Poláková obdrželi podporu od firmy Novartis prostřednictvím European Treatment and Outcome Study (EUTOS) 2022 pro CML.

SINGLE CELL ANALÝZY KLONÁLNÍ KOMPOZICE AKUTNÍ MYELOIDNÍ LEUKEMIE S VYUŽITÍM PLATFORMY TAPESTRI S MULTI-OMICKÝM PŘESAHEM

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

Interní hematologická a onkologická klinika LF MU a FN Brno

Úvod: Akutní myeloidní leukemie (AML) je onemocněním charakteristické biologickou heterogenitou a často složitou klonální kompozicí. Technologický vývoj posledních dvou dekád posunul možnosti studia heterogenity až na úroveň individualizovaných buněk. Na rozdíl od konvenčních technik NGS, které poskytují informaci za celou populaci (bulk) nádorových buněk, mohou DNA single cell přístupy (scDNAseq) identifikovat kookurenci a vylučnost variant, detekovat majoritní a minoritní klony, určit jejich velikost či popsat trajektorii vývoje v čase. scDNAseq tak představují nástroj pro přesnější prognostiku, stratifikaci AML či sledování odezvy na terapii. Jednou z nejnovějších scDNAseq technologií je platforma Tapestry (MissionBio, USA). Spojuje mikrofluidní dropletový systém s molekulárním barkódováním a NGS. Poskytuje tak informaci o genotypu několika tisíc jednotlivých buněk. Multi-omické rozšíření platformy (detekce 45 povrchových proteinů), umožňuje navíc simultánní profilování imunofenotypu.



Obr. 5. Drcová M et al. Ukázka klonální kompozice detekované pomocí scDNAseq analýz u vybraných pacientů s AML. (A) Lineární kompozice klonů u pacienta VAS75 vs. (B) komplexně kombinovaná kompozice klonů u pacienta BUZ78. Hodnoty popisují procentuální zastoupení příslušného subklonu a absolutní počet buněk subklonu z celkového počtu analyzovaných buněk.

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

Metody: U souboru 16 kurativně léčených de novo AML pacientů s vícečetnými mutacemi byly provedeny scDNAseq analýzy z vitálně kryoprezervovaných leukocytů kostní dřeně za použití platformy Tapestry (MissionBio, USA) a panelů AML a Myeloid. U vybraných pacientů multi-omické analýzy byl současně inkorporován hematologický proteinový panel TotalSeq™-D Heme Oncology Cocktail (BioLegend, USA). Připravené knihovny byly sekvenovány pomocí NextSeq (Illumina, USA) a výsledná data hodnocena pomocí softwaru Tapestry Pipeline, Tapestry Insights a Mosaic (MissionBio, USA).

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

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

Práce byla podpořena projektem MŠMT MUNI/A/1558/2023 a MZ ČR – RVO (FNBr, 65269705).

MANAGEMENT PACIENTŮ S CML BEZ OPTIMÁLNÍ ODPOVĚDÍ NA LÉČBU TKI PRVNÍ LINIE

Faber E. a Vráblová L. za Českou leukemickou skupinu CELL
Hemato-onkologická klinika LF UP a FN Olomouc

Úvod: Evropská komunita expertů věnujících se CML připravuje letos nová doporučení, která by měla reflektovat vývoj od poslední edice z roku 2020. Jedním z diskutovaných bodů je důležitost dosažení optimální odpovědi v době časných „milníků“ (ve 3. a 6. měsíci) ve srovnání s jejím pozdějším dosažením (ve 12. a 24. měsíci). Výsledky studií, svědčících pro význam dosažení časně odpovědi s důsledkem časně změny inhibitoru, byly nedávno relativizovány dvěma velkými a jednou menší studií, ukazující výrazně větší rozdíly přežití při chybění optimální odpovědi v pozdějších termínech. Obdobné výsledky byly v roce 2019 zjištěny na olomouckém pracovišti, kde se jako nejdůležitější jevílo dosažení optimální odpovědi do 2 let léčby.

Metody: Retrospektivní analýza přežití pacientů s CML z databáze INFINITY dosahujících časnou versus pozdní optimální odpověď na léčbu s akcentací významu časně změny TKI pomocí klasických statistických postupů i autonomní počítačové analýzy dat pomocí sítě, vytvořené na základě odpovědi v jednotlivých „milnících“.

Výsledky: Do probíhající analýzy bylo zařazeno celkem 580 pacientů v chronické fázi CML léčených v 1. linii imatinibem diagnostikovaných v letech 2005 až 2017, u nichž byly dostupné výsledky Q-PCR alespoň ve 3 ze 4 „milníků“. Autonomní analýza rozdělila pacienty do 5 skupin, z nichž nejhorší CML specifické přežití mělo 15 % pacientů, jejichž odpověď na léčbu se významně lišila v 6., 12. a 24. měsíci, ale nikoli ve 3. měsíci.

Závěry: V přednášce budou prezentovány výsledky dokončené analýzy, které budou dokumentovány příklady z praxe svědčící o potřebě kombinovat při managementu pacientů s CML průběžnou odpověď na léčbu s dalšími parametry.

ZÁCHYT RODINY S RARITNÍ FORMOU HEMOGLOBINOPATIE

Fátorová I.¹, Pilnáčková M.¹, Dynterová A.¹, Hak J.²

¹ IV. interní hematologická klinika FN Hradec Králové

² Dětská klinika FN Hradec Králové

V současnosti se stále častěji setkáváme se s hemolytickými anémiemi, které jsou raritní a jejich diagnostika není v některých případech zcela jednoduchá. Jedná se především o raritní vrozené stavy, které v minulosti nebyly správně zařazeny nebo dovyšetřeny (často díky absenci dostatečně specifických a senzitivních testů), nebo o případy zcela nové případně, vzhledem k významné migraci, importované. Mezi takovéto anémie patří bezesporu hemoglobinopatie. Jedná se vrozené stavy, kdy dochází bodovým změnám (mutacím) v globinových řetězcích. Zejména mutace v beta globinovém řetězci mají za následek změny v molekule hemoglobinu, které vedou k předčasné destrukci červené krvinky a následně k projevům hemolytické anémie. Některé hemoglobinopatie jsou časté a poměrně dobře známé (srpkovitá anémie, hemoglobin C, hemoglobin E aj.), některé se vyskytují vzácněji. Právě záchyt takové raritní hemoglobinopatie budeme v naší kazuistice prezentovat.

Tato práce byla podpořena programem MZ ČR – RVO (FNHK, 00179906).

VLIV PREANALYTICKÝCH FAKTORŮ NA STABILITU KOAGULAČNÍCH PROTEINŮ

Fenclová T., Mareček F., Hrachovinová I.

Laboratoř pro poruchy hemostázy, ÚHKT Praha

Úvod: Chyby v preanalytické fázi představují až 70 % všech laboratorních chyb a mnoho preanalytických aspektů může mít vliv na výsledky koagulačních vyšetření. Nesprávné podmínky odběru,

transportu, zpracování a skladování plazmy před vyšetřením mohou způsobit degradaci koagulačních proteinů, což může ovlivnit výsledky testu. Cílem této studie bylo prozkoumat změny v koagulačních parametrech v plazmě pacienta a vnitřní kontrole kvality (IQC) v různých podmínkách skladování během krátkodobého a dlouhodobého sledování.

Metody: Bezdestičková plazma byla připravena z citrátové periferní krve odebrané od skupiny zdravých dárců. Plazma byla zamrazena a skladována v různých podmínkách. Změny byly monitorovány pomocí rutinních koagulačních testů a některých speciálních vyšetření jako FVIII a Protein S (PS).

Výsledky: Plazma skladovaná v kapalném dusíku nebo v $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ vykazovala dlouhodobě stabilní hodnoty pro rutinní testy po dobu více než 12 měsíců a 6 měsíců pro FVIII. Je zajímavé, že aPTT vykazovalo dočasné významné prodloužení během prvních dvou týdnů. Plazma zmrazená a skladovaná při $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ není vhodná pro testování aPTT a FVIII, jinak ji lze použít pro ostatní parametry po dobu až 4 měsíců. PS vykazoval významný nárůst u všech zmrazených vzorků. Rychlost zmrazování má významný vliv na kvalitu plazmy a konečná skladovací teplota ovlivňuje dlouhodobou stabilitu.

Závěr: Optimálními skladovacími podmínkami jsou velmi nízké teploty (kapalný dusík nebo $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$) a nejvyšší možná rychlost zmrazování. Zmrazená plazma však není životaschopná pro IQC aPTT během období dvou týdnů po zmrazení. Tato studie je unikátní svým pojetím jako praktický průvodce pro manipulaci se zmrazenými vzorky plazmy v moderních laboratorních podmínkách.

KLINICKÝ VÝZNAM HLADINY CD19 CAR-T LYMFOCYTŮ A INTERLEUKINU-6 V PERIFERNÍ KRVI

Folber F., Hrabčáková V., Benkó F., Janíková A., Borský M., Mayer J.

Interní hematologická a onkologická klinika LF MU a FN Brno

Úvod: Měření hladiny T lymfocytů s chimerickým antigenním receptorem (CAR-T) a interleukinu 6 (IL-6) se stalo součástí běžné praxe. Klinický význam těchto měření však zatím stále není zcela jasný.

Metody: U všech pacientů stanovujeme v periferní krvi hladinu CAR-T lymfocytů pomocí průtokové cytometrie a IL-6 biochemicky. Do této retrospektivní analýzy jsme zařadili všechny pacienty léčené CD19 CAR-T lymfocyty s kostimulační doménou CD28 (axi-cel a brexu-cel). Hodnotili jsme výskyt a závažnost syndromu z uvolnění cytokinů (CRS), neurotoxicity (ICANS), míru celkové léčebné odpovědi (ORR), kompletní remise (CR) a relapsu v závislosti na hladině CAR-T lymfocytů a IL-6 v různých časových bodech.

Výsledky: Do analýzy bylo zařazeno celkem 47 pacientů; 44 s lymfomy a 3 s akutní lymfoblastickou leukémií. U pacientů s hladinou IL-6 $> 7\text{ ng/l}$ v den +1 nebo +2 (vždy před event. podáním tocilizumabu) jsme zaznamenali častější výskyt CRS stupně 2–4 (0 vs. 59 %; $p = 0,01$). Při hladině IL-6 $\geq 30\text{ ng/l}$ častější výskyt ICANS, zejména stupně 2–4 (45 vs. 10 %; $p = 0,013$). U pacientů s hladinou CAR-T $\geq 50/\mu\text{l}$

v den +7 jsme zaznamenali častěji CRS (stupeň 2–4 v 70 vs. 29 %; $p < 0,01$). Stejně tak byl v této skupině častější ICANS, a to celkově (70 vs. 25 %; $p < 0,01$) i stupně 2–4 (61 vs. 8 %; $p < 0,01$). U nemocných s hladinou CAR-T $< 10/\mu\text{l}$ v den +14 jsme pozorovali nižší ORR (58 vs. 93 %; $p = 0,01$) a CR (50 vs. 85 %; $p = 0,02$). V případech s maximální expanzí CAR-T $< 35/\mu\text{l}$ během prvního měsíce jsme zjistili nižší ORR (60 vs. 91 %; $p = 0,023$), CR (50 vs. 81 %; $p = 0,05$) a vyšší výskyt relapsu (50 vs. 16 %; $p = 0,026$).

Závěr: U pacientů léčených CD19 CAR-T preparáty s kostimulační doménou CD28 souvisí hladina CAR-T lymfocytů a IL-6 v periferní krvi s výskytem specifických nežádoucích účinků, léčebnou odpovědí a rizikem relapsu.

PROFYLAXE NEUROLOGICKÉ TOXICITY CAR-T POMOCÍ ANAKINRA – PRVNÍ ZKUŠENOSTI

Folber F.¹, Šrámek J.², Benkó F.¹, Jindra P.², Mayer J.¹

¹Interní hematologická a onkologická klinika LF MU a FN Brno

²Hematologicko-onkologické oddělení, FN Plzeň

Úvod: Syndrom neurotoxicity (ICANS) patří mezi poměrně časté a navíc klinicky nepříjemné akutní komplikace po terapii autologními T lymfocyty s chimerickým antigenním receptorem (CAR-T). V jeho léčbě se uplatňují kortikoidy, zejména dexametazon. Na základě publikovaných prací ze zahraničí jsme na našich centrech zavedli od roku 2024 paušální profylaxi pomocí anakinra, inhibitoru interleukinu 1 (IL-1).

Metody: Anakinra v rámci profylaxe byla všem pacientům aplikována podkožně ode dne podání CAR-T (den 0) v dávce 100 mg 1–2× denně (medián 1× denně). Při refrakterním nebo progredujícím (R/P) syndromu z uvolnění cytokinů (CRS) nebo ICANS byla dávka navýšena na 100 mg 4× denně. Pokud se neobjevil R/P CRS ani ICANS, byla profylaxe anakinra ukončena po 7–14 dnech. Sledovali jsme výskyt a závažnost CRS a ICANS, event. další potenciální nežádoucí účinky.

Výsledky: Do doby tvorby tohoto abstraktu (duben 2024) jsme profylaxi pomocí anakinra použili celkem u 10 pacientů; 8 s lymfomy (6× CAR-T axi-cel, 2× brexu-cel) a dvou s akutní lymfoblastickou leukémií (2× brexu-cel). CRS se vyskytl u 9 (90 %) pacientů, závažné formy (stupeň 3 a těžší) u jednoho (10 %). ICANS se vyskytl u 4 (40 %) nemocných, závažná forma pouze u jednoho z nich (10 %). Nepozorovali jsme zvýšený výskyt nežádoucích účinků (zejména infekcí), které by mohly potenciálně souviset s podáváním anakinra, byť skupina pacientů je zatím malá. V historickém srovnání s našimi pacienty léčenými preparáty CAR-T axi-cel a brexu-cel došlo po zavedení profylaxe anakinra ke snížení výskytu závažného ICANS z 23 % na 10 %.

Závěr: Blokáda IL-1 pomocí anakinra přináší atraktivní možnost profylaxe závažných neurologických nežádoucích účinků po terapii CAR-T lymfocyty, není finančně nákladná a má dobrý bezpečnostní profil. Tato profylaxe v našich centrech pokračuje i nadále.

PROFYLAXE INFEKČÍ PO TERAPII CAR-T LYMFOCYTY – PRAXE V ČR A SR

Folber F.¹, Pytlík R.², Polgárová K.³, Belada D.⁴, Mihályová J.⁵, Drgoňa L.⁶, Šrámek J.⁷, Šrámková L.⁸, Sztokowski T.⁹, Weinbergerová B.^{1,10}

¹ Interní hematologická a onkologická klinika LF MU a FN Brno

² Oddělení buněčné terapie, Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

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

⁴ IV. interní hematologická klinika FN Hradec Králové

⁵ Klinika hematoonkologie FN Ostrava

⁶ Klinika onkohematologie, Národní onkologický ústav, Bratislava

⁷ Hematologicko-onkologické oddělení, FN Plzeň

⁸ Klinika dětské hematologie a onkologie 2. LF UK a FN Motol, Praha

⁹ Hemato-onkologická klinika FN Olomouc

¹⁰ Česká leukemická skupina – pro život (CELL)

Úvod: Infekční komplikace po terapii autologními T lymfocyty s chimerickým antigenním receptorem (CAR-T) patří mezi poměrně časté nežádoucí účinky této léčby. Vyplynávají z kombinované poruchy nespecifické i specifické, buněčné i humorální imunity.

Metody: Na všech 9 certifikovaných center v České republice a na Slovensku jsme rozeslali dotazník s otázkami ohledně reálné používané antiinfekční profylaxe po léčbě CAR-T.

Výsledek: Profylaxe pneumocystové pneumonie je používána ve všech centrech, liší se pouze dávkováním. Antivirová profylaxe je podávána ve všech centrech, liší se typem použitého preparátu, dávkováním i délkou trvání. Metodika a doba monitorace cytomegalovirové reaktivity není jednotná. Antimykotická profylaxe při neutropenii zahrnuje u rizikových pacientů posakonazol, neriziková dostávají v některých centrech flukonazol, pediatričtí pacienti mikafungin. Antibakteriální profylaxe ciprofloxacinem je používána pouze v některých centrech, v rámci lokálních zvyklostí. Granulocytární růstové faktory jsou v některých centrech používány pouze při hluboké a dlouhodobé neutropenii, jinde se bere ohled na rizikovitost konkrétního pacienta podle skóre CAR-HEMATOTOX a jsou podávány i profylakticky. Vakcinace po CAR-T terapii je velmi nejednotná, liší se očkovací kalendář i typy použitých vakcín. Imunoglobuliny jsou substituovány ve všech centrech při hladině IgG pod 4 g/l a současně infekci, odlišnosti jsou v dávkování a způsobu aplikace.

Závěr: Přestože existují recentně publikované mezinárodní doporučené postupy, antiinfekční profylaxe je v reálné praxi českých a slovenských center stále poněkud heterogenní. Sdílení zkušeností

může vést k úpravě lokálních postupů, jejich sjednocení, a tak ke snížení rizika infekčních komplikací u nemocných po terapii CAR-T lymfocyty.

Tuto práci podpořila Česká leukemická skupina – pro život (CELL).

JAK SE DAŘÍ PACIENTŮM PO LÉČBĚ CAR-T LYMFOCYTY

Folber F.

Interní hematologická a onkologická klinika LF MU a FN Brno

Úvod: Buněčná terapie pomocí geneticky modifikovaných autologních T lymfocytů s chimerickým antigenním receptorem (CAR-T) je moderní metodou léčby pro pacienty s relabovanými nebo refrakterními B lymfomy, akutní B lymfoblastickou leukémií a mnohočetným myelomem. Po zvládnutí akutní toxicity a propuštění do domácí péče jsou nemocní dále ambulantně sledováni.

Dlouhodobé sledování: Pozdní cytopenie zahrnují neutropenii a trombocytopenii. Příčiny jsou nejčastěji imunální. V diferenciální diagnostice vylučujeme v prvním kroku zejména infekce, sníženou rezervu kostní dřene a hemofagocytární syndrom. Léčba spočívá v podávání růstových faktorů, transfuzí a řešení případné příčiny. Infekce souvisejí se sníženou hladinou a funkcí lymfocytů, imunoglobulinů a neutrofilů. Neutropenie predisponuje pacienty k bakteriálním a mykotickým infekcím. Narušená funkce lymfocytů souvisí s virovými infekcemi a rizikem pneumocystové pneumonie. Léčba závisí na prokázání původce, důležité je podávání antibiotik, antivirotik i antimykotik a substituce imunoglobulinů. Pozdní formy neurologických nežádoucích účinků jsou poměrně vzácné. Až do konce druhého měsíce se může objevit neurotoxicita charakteru ICANS. Po CAR-T preparátech pro mnohočetný myelom se mohou projevit i parkinsonismus, parézy periferních nervů nebo změny kognitivních funkcí. Léčba spočívá v podávání kortikoidů a podpůrné péči. Relapsem základního onemocnění jsou pacienti nejvíce ohroženi v prvních měsících po podání CAR-T, je proto nezbytné pečlivé sledování. Předpisy vyžadují také hlášení případného výskytu sekundárních malignit, a to po dobu 15 let od podání CAR-T.

Závěr: V dlouhodobém ambulantním sledování po terapii CAR-T jsou pacienti ohroženi pozdními a chronickými nežádoucími účinky, na které je třeba myslet a které je nutné sledovat.

CAR-T V ČESKÉ REPUBLICE 2019–2023: PĚT LET ZKUŠENOSTÍ A PRAXE

Folber F.¹, Pytlík R.², Polgárová K.³, Belada D.⁴, Mihályová J.⁵, Šrámek J.⁶, Šrámková L.⁷, Szotkowski T.⁸, Trněný M.^{3,9}, Mayer J.^{1,10}, Žák P.^{4,11}

¹ Interní hematologická a onkologická klinika LF MU a FN Brno

² Oddělení buněčné terapie, Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

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

⁴ IV. interní hematologická klinika FN Hradec Králové

⁵ Klinika hematookologie FN Ostrava

⁶ Hematologicko-onkologické oddělení, FN Plzeň

⁷ Klinika dětské hematologie a onkologie 2. LF UK a FN Motol, Praha

⁸ Hemato-onkologická klinika FN Olomouc

⁹ Kooperativní lymfomová skupina (KLS)

¹⁰ Česká leukemická skupina – pro život (CELL)

¹¹ Česká hematologická společnost České lékařské společnosti Jana Evangelisty Purkyně (ČHS ČLS JEP)

Úvod: Autologní T lymfocyty s chimerickým antigenním receptorem (CAR-T) se staly standardní součástí protinádorové léčby v České republice. V této analýze jsme se zaměřili na celkový přehled dosavadních zkušeností a reálné praxe za celé období 2019–2023.

CAR-T v ČR: K začátku roku 2024 je pro terapii CAR-T lymfocyty v ČR certifikováno osm center. V letech 2019–2023 jsme léčili 202 pacientů s B lymfomy (B-NHL), 28 nemocných s akutní B lymfoblastickou leukémií (B-ALL) a 10 pacientů s mnohočetným myelomem (v klinické studii). Velkobuněčné B lymfomy: Od roku 2019 jsou k dispozici preparáty tisa-cel (3. a další linie) a axi-cel (3. a další linie, od roku 2023 i ve 2. linii při časném relapsu nebo primární refrakteritě). V celém souboru 185 nemocných dosáhlo léčebné odpovědi 67 % pacientů, medián celkového přežití činil 26 měsíců. Preparát axi-cel je spojen se statisticky významně lepší léčebnou odpovědí (81 %) i přežitím (medián nedosažen), výsledky ve 2. linii jsou obdobné jako v pozdějších liniích. Lymfom z plášťových buněk: Od roku 2021 je k dispozici brexu-cel, pro nemocné po 2 a více liniích systémové léčby, které zahrnovaly inhibitor Brutonovy tyrosinkinázy. Odléčeno bylo již 10 pacientů. Folikulární lymfom: Od roku 2022 jsou k dispozici tisa-cel (3. a další linie) a axi-cel (od 4. linie). Léčili jsme zatím 7 pacientů. B-ALL: K dispozici je od roku 2019 tisa-cel (2. a další relaps, relaps po transplantaci, refrakterní onemocnění, věk do 25 let vč.) a od roku 2023 také brexu-cel (relaps nebo refrakterita, věk od 26 let). Léčili jsme celkem 13 pediatrických a 15 dospělých pacientů. Kompletní remise dosáhla většina z nich, následná alogenní transplantace byla nezbytná u méně než poloviny nemocných. Klinické studie: Probíhá nábor, léčba nebo sledování ve studiích CARTITUDE-5 (cilta-cel, mnohočetný myelom), UHKT-CAR-19 (CD19. BBz CAR, B lymfocytární malignity) a ZUMA-4 (brexu-cel u dětí s B-NHL nebo B-ALL).

STUDIUM KLONÁLNÍ HEMATOPOÉZY U PACIENTŮ S CML ZAŘAZENÝCH DO CELONÁRODNÍ STUDIE HALF

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

¹ Interní hematologická a onkologická klinika LF MU a FN Brno

² Hematookologická klinika LF UP a FN Olomouc

³ Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

⁴ Klinika hematookologie FN Ostrava

⁵ IV. Interní hematologická klinika LF UK a FN Hradec Králové

⁶ Hematookologická klinika LF UK a FN Plzeň

⁷ Interní hematologická klinika 3. LF UK a FNKV, Praha

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

⁹ Klinika hematookologie LF OU, Ostrava

¹⁰ Středoevropský technologický institut (CEITEC), MU Brno

Úvod: Klonální hematopoéza neurčitěho potenciálu (CHIP) je charakterizována expanzí krvetvorných buněk nesoucích somatické mutace v genech asociovaných s myeloidními malignitami u jinak zdravých jedinců. Detekce mutací v genech asociovaných s CHIP v době diagnózy CML pacientů je spojováno s horší prognózou a může ovlivnit výběr TKI. Informace o spektru těchto mutací u dlouhodobě negativních pacientů jsou však omezena.

Cíl: Analýza klonální hematopoézy u pacientů s CML v rámci akademické multicentrické studie fáze II – HALF ve dni vstupu do studie (D0).

Metody: DNA izolovaná ze vzorků periferní krve byla vyšetřena NGS panelem VariantPlex Core Myeloid Kit (IDT, USA). Pozitivně byly hodnoceny varianty s VAF $\geq 2,0$ %.

Výsledky: Analýza klonální hematopoézy byla dosud provedena u celkem 145 pacientů s CML. Varianty související s CHIP byly identifikovány u 28/145 (19,3 %) pacientů, přičemž u 4 pacientů byla identifikována koexistence dvou, u jednoho pacienta tři různých somatických variant. Nejfrekvencovanější mutovanými geny byly: DNMT3A (12/34, 35,3 % mutací), TET2 (10/34, 29,4 %) a ASXL1 (9/34, 26,5 %). U jednoho pacienta byla identifikována patogenní mutace v genu *TP53* – p.(Arg273Cys). Frekvence VAF variant se pohybovala od 2,0 % do 41,1 % s mediánem 5,0 %. Identifikován byl jeden pacient s pravděpodobně patogenní zárodečnou variantou v genu *DDX41*:p.(Met11le); varianta není přítomna v databázi ACGT.

Závěr: Klonální hematopoéza byla v naší kohortě pacientů identifikována u necelé pětiny nemocných. Spektrum mutovaných genů odpovídá výskytu u zdravé populace. U jednoho pacienta byla identifikována pravděpodobně patogenní zárodečná varianta v genu

DDX41. Asociace nálezu mutací k úspěšnosti vysazení TKI bude předmětem dalších analýz.

Tato práce vznikla za finanční podpory projektu AZV NU22-03-00136, projektu A-C-G-T, reg. č. CZ.02.1.01/0.0/0.0/16_026/0008448 financovaného z EFRR a grantu MZ ČR – RVO (FNBr 65269705).

EFFICACY OF IXAZOMIB, LENALIDOMIDE, DEXAMETHASONE REGIMEN IN DARATUMUMAB-EXPOSED RELAPSED/REFRACTORY MULTIPLE MYELOMA PATIENTS: A RETROSPECTIVE ANALYSIS

Fric D.¹, Stork M.¹, Boichuk I.¹, Sandecka V.¹, Adam Z.¹, Krejci M.¹, Ondrouskova E.¹, Fridrichova A.¹, Radova L.^{2,3}, Knechtova Z.¹, Jarosova M.¹, Pour L.¹

¹ Department of Internal Medicine, Hematology and Oncology, University Hospital Brno

² Central European Institute of Technology, Masaryk University, Brno

³ Department of Medical Genetics and Genomics, Faculty of Medicine, Masaryk University and University Hospital Brno

We performed retrospective analysis of relapsed/refractory multiple myeloma (RRMM) patients treated with ixazomib, lenalidomide, dexamethasone regimen that had been previously exposed to daratumumab in real clinical practice. Our aim was to evaluate efficacy of IRd in these patients and select a subset of patients that would benefit from this treatment the most. In total, we analyzed 29 daratumumab-exposed RRMM patients treated in our center. Minimal response or better was achieved by 55.2% of patients from the cohort. Median progression free survival was 4.56 months (95% CI: 2.36–9.77) and median overall survival was not reached. Next, we described two subgroups of patients: responders (at least minimal remission) and non-responders (stable disease or worse) to IRd therapy, with different PFS (responders vs. non-responders: median 9.63 vs. 1.5 months; $P < 0.001$) and OS (median not reached vs. 3.43 months; $P < 0.001$). The best survival benefit was observed in patients that were not triple-refractory or worse and had less than 3 previous lines of treatment. Overall prognosis of daratumumab refractory RRMM patients remains poor. According to our results, IRd regimen is efficient in such setting with acceptable toxicity and added benefit of fully oral administration and thus provides a valid option in management of these patients.

EXTRAKORPORÁLNÍ FOTOCHEMOTERAPIE ZA POMOCI TECHNIKY OFF LINE A ON LINE

Gašová Z., Bhuiyanová-Ludvíková Z., Böhmová M., Slouková M., Knappová K.

Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

Extrakorporální fotochemoterapie (ECP) představuje účinný postup v terapii onemocnění, na jejichž patogenезi se podílejí T lymfocyty,

např. u kožních lymfomů z T lymfocytů, u GVHD a rejekce štěpů po transplantaci srdce a plic. Na Aferetickém oddělení provádíme metodu ECP „off line“ od roku 1998. Separace a fotomodifikace mononukleárních buněk (MNC) probíhají za pomoci nezávislých zařízení (Spectra Optia, Macogenic). Ověřili jsme účinnost ECP a zavedli ji do terapie nemocných s GVHD a s Mycosis fungoides. V roce 2024 jsme rozšířili ECP o nový postup „on line“ (Amicus Blue, Phelix). Separace, fotomodifikace a aplikace MNC probíhají v jednom uzavřeném systému u lůžka pacienta. Cílem bylo porovnání separačních parametrů, obsahu MNC a frekvence komplikací u metod ECP „off line“ („1“) a „on line“ („2“). Hodnotili jsme výsledky 61 ECP (39 „1“ a 22 „2“) u 4 pacientů s Mycosis fungoides a s chronickou GVHD. Výsledky ukázaly, že u ECP „1“ se zpracují objemy krve vyšší než jeden objem krve (TBV) pacienta a tomu odpovídala i vyšší spotřeba ACD-A a ve srovnání s ECP „2“. Doba výkonu se pohybovala od 5–6 h. U ECP „2“ činila doba výkonu 3 h. V přípravných MNC se počet leukocytů pohyboval u „ECP „1“ od $5-9 \times 10^9$ a u ECP „2“ od $3-6 \times 10^9$, hodnoty hb v MNC u obou ECP vyhovovaly a byly v rozmezí 0,6–1,5 g. Obsah trombocytů činil u ECP „1“ $0,8-2,2 \times 10^{11}$ a u „2“ $0,3-0,4 \times 10^{11}$. V průběhu ECP jsme nepozorovali zvýšený výskyt infekcí ani jiné závažné komplikace.

SEPARACE MONONUKLEÁRNÍCH BUNĚK PRO PŘÍPRAVU CAR-T LYMFOCYTŮ

Gašová Z., Pytlík R., Polgárová K., Bhuiyanová-Ludvíková Z., Böhmová M., Slouková M., Marinov I.

Ústav hematologie a krevní transfuze, 1. interní klinika VFN a FVL UK, Praha

Terapie za pomoci CAR-T lymfocytů představuje moderní individualizovaný postup, při kterém dochází ke genetickému reprogramování T lymfocytů pacienta s cílem rozpoznání a eliminace nádorových buněk. Systém přípravy vychází z úzké spolupráce mezi zdravotnickým zařízením (ZZ) a zpracovatelem buněk. V ZZ se provede technikou leukocytaferézy separace mononukleárních buněk (MNC), které jsou surovinou pro zpracování na léčivý přípravek. Po „výrobě“ CAR-T v laboratoři zpracovatele se přípravek aplikuje pacientovi. V ÚHKT jsme připravovali MNC pro protinádorovou terapii pomocí DCVAC. Od roku 2019 připravujeme MNC pro CAR-T lymfocyty pro pacienty s CD 19+ hematologickými onemocněními. Celkem jsme provedli 169 separací u 161 pacientů s refrakterním nebo relabujícím onemocněním DLBCL, FL, B-ALL a MCL. Cílem práce bylo vyhodnocení separačních parametrů, složení MNC a sledování komplikací v průběhu separací v roce 2023, kdy jsme u 59 pacientů provedli 60 separací (Spectra Optia, Terumo, CMNC). Výsledky jsou uvedené v mediánech a jejich intervalech. Zpracovali jsme 2,5 (1,6–3,3) násobky celkového objemu krve pacientů, které odpovídaly 13 (7–15) l krve a spotřebě ACD-A 979 (505–1 208) ml. Doba výkonu činila 305 (198–354) min. Přípravky obsahovaly $14 (2-113) \times 10^9$ leukocytů, hodnoty htk vyhovovaly s 1,9 (0,9–4,4) % a počet CD 3 T+ lymfocytů činil $5,4 (0,4-27,9) \times 10^9$. Během výkonů jsme podávali Ca glukonicum. I při této substituci se snížila hladina iCa o 17 (5–55) %. Parametry MNC vyhovovaly. Pouze v jednom přípravku jsme detekovali nízký obsah CD

3 T+ lymfocytů. Následný sběr již byl úspěšný. V průběhu separací MNC jsme nepozorovali závažné komplikace.

DETEKCE REKURENTNÍCH SOMATICKÝCH VARIANT VE VOLNÉ CIRKULUJÍCÍ DNA JAKO NÁSTROJ PRO SLEDOVÁNÍ ONEMOCNĚNÍ U HODGKINOVA LYMFOMU

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

Hemato-onkologická klinika LF UP a FN Olomouc

Úvod: Velkou výzvou při léčbě klasického Hodgkina lymfomu (cHL) je nalezení optimální rovnováhy mezi účinností léčby a rizikem toxicity. V současné době neexistuje spolehlivý a přesný nástroj pro hodnocení léčebné odpovědi a sledování MRD vzhledem obtížné dostupnosti neoplastických buněk. Volná cirkulující DNA (cfDNA) odráží mutační profil HRS buněk a může tak přispět k diagnostice a zpřesnění sledování léčebné odpovědi.

Metody: Pro analýzu cfDNA byl navržen specifický panel NGS pokrývající kódující sekvence 13 vybraných genů (B2M, CD36, CIITA, GNA13, HIST1H1E, ITPKB, NFKBIE, PTPN1, SOCS1, SPEN, STAT6, TNFAIP3 a XPO1). Data byla analyzována pomocí softwaru SureCall (Agilent Technologies) s citlivostí 1,0 % VAF. Vybrané varianty byly dále sledovány pomocí digitální PCR (QIACUITY Digital PCR System; Qiagen) s citlivostí 0,1 % VAF.

Výsledky: Celkem byla analyzována cfDNA u 58 pacientů, z toho mutace byly detekovány u 33/58 (56,89 %). Nejčastěji mutovanými geny byly *SOCS1* (33,33 %), *STAT6* (25,86 %), *TNFAIP3* (20,68 %) a *XPO1* (13,79 %). Pro monitorování MRD pomocí dPCR byly zvoleny detekované hotspot mutace v genech *STAT6* a *XPO1*. Výsledky byly následně korelovány s klinickými údaji a údaji z PET-CT.

Závěr: Rychlá, citlivá a neinvazivní detekce mutací znamená zásadní zlepšení diagnostiky a sledování průběhu onemocnění u cHL. Přístup NGS/dPCR by zásadně zpřesnil hodnocení léčebné odpovědi. Korelace monitorování MRD s průběžným PET vyšetřením by snížila množství falešně pozitivních výsledků a umožnila by nám používat přesnější a bezpečnější deeskalaci léčby. dPCR se ukázala jako citlivá, rychlá a cenově dostupná technologie pro vyšetření MRD.

Práce je podporována granty: IGA_LF_2024_001 a MZČR – RVO (FNOL, 00098892).

PRŮBĚH GRAVIDITY U PACIENTKY S VROZENOU TROMBOTICKOU TROMBOCYTOPENICKOU PURPUROU

Hajšmanová Z., Koldušková K., Dokoupilová E.

ÚKBH FN Plzeň

Vrozená trombotická trombocytopenická purpura (TTP) známá také pod názvem Usphaw-Schulman syndrom patří do skupiny vzácných onemocnění s prevalencí 1 případ na milion obyvatel. Kongenitální

forma tvoří pouze 5 % z celkového počtu případů TTP. Klinicky se manifestuje trombocytopenií, mikroangiopatickou hemolytickou anémií s přítomností schistocytů v krevním nátěru a elevací LDH. Dědičnost je autozomálně recesivní a mutace genu (9q34) zodpovídá za chybění metaloproteinázy ADAMTS13, „stříhacího“ enzymu, který štěpí ultravelké vysoce trombogenní multimery vonWillebrandova faktoru (vWF). Na multimery se lepí krevní destičky a proces končí vznikem mikrotrombů v kapilárním řečišti a ischemií tkání za místem okluze. Choroba se může u žen poprvé manifestovat až v graviditě a to typicky kolem 20. gestačního týdne, kdy se prohlubuje nepoměr mezi fyziologicky stoupající hladinou vWF a setrvale nízkou hladinou ADAMTS13. V naší kazuistice popisujeme průběh 2. gravidity 19leté ženy ukrajinské národnosti, která skončila porodem zdravého dítěte ve 40. gestačním týdnu při pravidelné substituci vWF formou purifikované plazmy. Má prokázány 2 patogenní mutace v genu pro ADAMTS13, bazální aktivita ADAMTS13 je 2 % (norma je nad 10 %), inhibitor ADAMTS13 neprokázán. Její první gravidita v 18 letech skončila ve 24. gestačním týdnu porodem mrtvého plodu s klinickým obrazem HELLP syndromu. Teprve po porodu dítěte díky pokračující deterioraci klinického stavu, prohlubující se těžké trombocytopenii a záchytu schistocytů v krevním nátěru byla diagnostikována a geneticky potvrzena kongenitální forma TTP.

PREDIKTIVNÍ VÝZNAM INTERIM PET/CT VYŠETŘENÍ U PRIMÁRNÍHO MEDIASTINÁLNÍHO VELKOBUNĚČNÉHO B LYMFOMU

Hanáčková V.¹, Polgárová K.³, Henzlová L.², Buriánková E.², Zogala D.⁴, Papajík T.¹, Trněný M.³, Procházka V.¹

¹*Hemato-onkologická klinika LF UP a FN Olomouc*

²*Klinika nukleární medicíny LF UP a FN Olomouc*

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

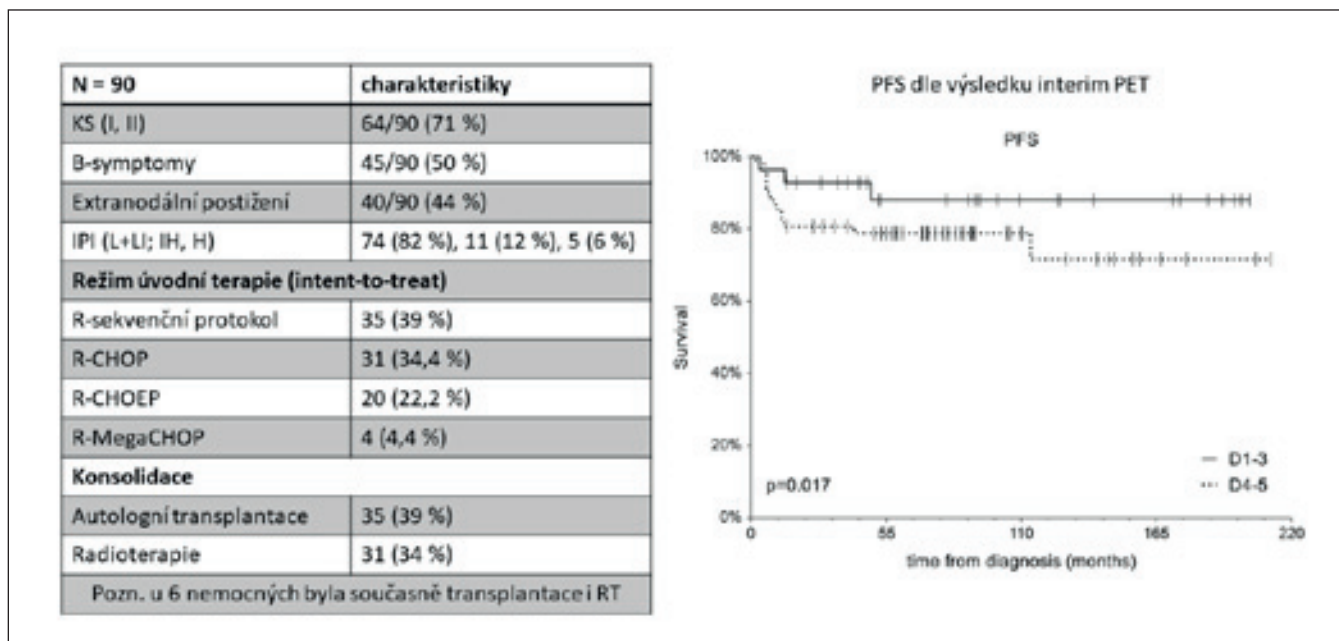
⁴*Ústav nukleární medicíny, 1. LF UK a VFN v Praze*

Úvod: Primární mediastinální velkobuněčný B-lymfom (PMBCL) je agresivní nádorové onemocnění mladšího věku charakterizované postižením lymfatické tkáně předního mediastina. Základní metodou hodnocení léčebné odpovědi je v PET/CT vyšetření, prediktivní význam PET/CT pro časnou detekci odpovědi na léčbu je nejasný.

Cíle: Posouzení prediktivní hodnoty průběžného (interim) PET/CT jako nástroje pro časnou rozpoznání chemorefrakterních PMBCL.

Metody: Bylo analyzováno 115 nemocných s PMBCL léčených imunochemoterapií od 2005–2022 ve dvou centrech (HOK FN Olomouc a VFN Praha), z nichž 90 mělo dostupný iPET po 2 anebo 3 cyklu terapie. PET skeny byly znovu nezávisle hodnoceny 2 lékaři nukleární medicíny.

Výsledky: V kohortě bylo 30 mužů a 60 žen s mediánem věku 37 let. Interim PET/CT bylo negativní (D1–3) u 28 pacientů (31,1 %) a pozitivní (D4–5) u 62 pacientů (68,9 %). U pacientů s pozitivním iPET/CT bylo významně více pacientů indikováno ke konsolidaci autologní transplantací (10 vs. 29 %; p = 0,08) a k radioterapii (4,4 vs. 30 %; p < 0,01). 3leté PFS dosáhlo ve skupině iPET D1–3 92,9 vs. 81,1 %



Obr. 6. Hanáčková V et al.

u D4–5 ($p = 0,17$), 3leté OS 96,2 % (D1–3) a 88,7 % (D4–5); $p = 0,18$. Finální PET/CT ($n = 87$): 52 pacientů (57,8 %) dosáhlo CR, 33 (36,7 %) PR a u 5 (5,6 %) došlo k progresi choroby. Negativní prediktivní hodnota iPET dosáhla 89,3 %, pozitivní 22,3 %.

Závěr: Dosažení časně metabolické remise je spojeno s vysokou pravděpodobností vyléčení, pozitivní nález je nástrojem pro efektivní intenzifikaci terapie.

Podpořeno granty: AZV NU21-03-00411, MZ ČR – RVO (FNOI, 00098892), IGA_LF_2024_001.

JACIE AKREDITACE – ZACÍLENO NA SESTRY

Hašová K.¹

Klinika hematologie FN Ostrava

Akreditace je prostředkem, který umožňuje centru prokázat, že provádí požadovanou péči na úrovni a v souladu s dohodnutými standardy komise. V podstatě umožňuje centru osvědčit, že provozuje efektivní systém řízení jakosti. Kromě toho, vzhledem k většímu využívání nepřibuzných dárců z různých zemí, jsou interakce a spolupráce mezi jednotlivými klíčovými pro úspěch transplantace kmenových buněk. Akreditace JACIE je zárukou, že s dárcem a buněčným produktem bylo zacházeno v souladu se specifickými bezpečnostními kritérii. Ačkoli původním cílem akreditace byl dobrovolný proces, v mnoha zemích systémy zdravotní péče nebo zdravotních pojišťoven a tkáňových bank stále více považují akreditaci JACIE za důležitou a požadují akreditaci proto, aby bylo možné provádět transplantace krvetvorných kmenových buněk. Akreditační proces JACIE začíná, když transplantáční centrum s podporou managementu nemocnice, která se zabývá transplantacemi, souhlasí se zahájením práce podle akreditačního řádu

JACIE. V klinickém programu pracují zdravotní sestry, které jsou formálně vyškoleny a mají zkušenosti v oblasti péče o pacienty podstupující buněčnou terapii. Ošetrovatelský personál by měl být nejen dostatečný, ale také kvalifikovaný, vyškolený a kompetentní pro výkon své funkce. JACIE může být pro sestry výzvou i příležitostí v přezkoumání stávajících postupů, zejména těch, které byly prováděny automaticky stejným způsobem, přestože byly neefektivní. Zavádějí se opatření pro řízení klinických rizik, věnuje se pozornost dlouhodobému plánování dalšího vzdělávání personálu, postupům a nástrojům pro monitorování, ověřování a při dosahování udržování kompetencí. Dochází k vývoji a zavádění interních auditů a ukazatelů kvality.

Literatura

Kenyon M, Babic A (eds.). *The European Blood and Marrow Transplantation Textbook for Nurses: Under the Auspices of EBMT*. 2nd ed. Springer 2023.

MANAGEMENT PÉČE O PACIENTA S TĚŽKÝM DEFICITEM FAKTORU XIII A PROKÁZANÝM INHIBITOREM FAKTORU XIII

Havlová E.¹, Hajšmanová Z.¹, Bultasová L.¹, Zatloukal J.², Klimovič A.², Beneš J.², Kačer J.³

¹ Ústav klinické biochemie a hematologie, FN Plzeň

² Klinika anestezie, resuscitace a intenzivní medicíny FN Plzeň

³ I. interní klinika FN Plzeň

Deficit FXIII je extrémně vzácné onemocnění, které je v případě těžké formy (FXIII pod 5 %) zatíženo rizikem život ohrožujících krvácivých komplikací. Diagnostika může být komplikovaná, protože výsledky hemokoagulačních screeningových testů jsou v normě a metody stanovení funkční aktivity FXIII a inhibitoru FXIII nejsou běžně dostupné.

V naší prezentaci popisujeme případ 25letého muže vietnamské národnosti se systémovým autoimunitním onemocněním, který byl hospitalizován pro krvácení do retroperitonea. Deficit FXIII jakožto příčina život ohrožujícího krvácení byl vstupně prokázán orientačním testem, který byl v okamžiku přijetí jedinou dostupnou metodou stanovení funkční aktivity FXIII ve FN Plzeň. Verifikace deficitu FXIII, stanovení farmakokinetiky, specifického inhibitoru FXIII a následná monitorace léčby probíhala v externích laboratořích ČR, především na OKH Ústí nad Labem. Součástí komplexní diagnostiky bylo genetické vyšetření v ÚHKT Praha. Léčba pacienta byla vedena multidisciplinárním týmem – intenzivisty, nefrologem, chirurgem a hematologem. Zahrnovala intenzivní hemoterapii a substituční léčbu pdFXIII, výměnné plazmaferézy, imunosupresivní léčbu, opakované revize dutiny břišní a léčbu septických komplikací. Recidivující krvácivé komplikace s přechodnou hemodynamickou nestabilitou trvaly 4 týdny. Stav vyžadoval intenzivní monitoraci léčby s co nejkratší dostupností výsledků. Po zapůjčení laboratorního vybavení naše laboratoř ve velmi krátkém čase zavedla potřebné metody měření funkční aktivity FXIII a inhibitoru FXIII. V současnosti je pacient v ambulantní péči hematologické ambulance ÚKBH. Regrese velikosti hematomů a stabilní klinický stav umožňují redukcii imunosupresivní i substituční terapie. Inhibitor FXIII zavedenou metodou již neprozkazujeme, ale dle výsledků farmakokinetiky FXIII máme podezření na přítomnost protilátky proti FXIII bez neutralizačního efektu. Definitivní diagnóza není v době odeslání abstraktu stanovena.

STROMAL CELLS ENGINEERED TO EXPRESS T CELL FACTORS INDUCE ROBUST CLL CELL PROLIFERATION IN VITRO AND IN PDX COTRANSPLANTATIONS ALLOWING THE IDENTIFICATION OF ANTI-PROLIFERATIVE DRUGS

Hoferkova E.^{1,2}, Filip D.^{1,2}, Ondrisova L.^{1,2}, Seda V.^{1,2}, Verner J.¹, Matulova K.¹, Skuhrova Francova H.¹, Boudny M.^{1,2}, Vecera J.^{1,2}, Kacz P.², Hlavac K.^{1,2}, Pavelkova P.^{1,2}, Kostalova L.^{1,2}, Michaelou A.², Pospisilova S.¹, Dorazilova J.¹, Doubek M.¹, Vojtova L.³, Hampl A.⁴, Kren L.¹, Mayer J.¹, Mraz M.^{1,2}

¹ FN Brno

² CEITEC MU, Brno

³ CEITEC VUT, Brno

⁴ LF MU, Brno

Several *in vitro* models have been developed to mimic CLL proliferation in immune niches; however, they typically do not induce robust proliferation. We prepared a novel model based on mimicking T-cell signals. Six supportive cell lines were prepared by engineering H55 stromal cells with stable expression of human CD40L, IL4, IL21, and their combinations. Co-culture with H55 expressing CD40L and IL4 led to mild CLL cell proliferation (median 7% at day 7), while the H55 expressing CD40L, IL4, and IL21 led to unprecedented proliferation rate of 44%, which is higher and more reproducible than in other available models. The co-cultures mimicked the gene expression

fingerprint of lymph node CLL cells (MYC, NFκB, and E2F signatures; as defined by Herishanu et al, 2011). The other induced pathways reveal novel CLL vulnerabilities in context of CLL-T cell-induced proliferation, and we tested 10 inhibitors based on these data. This revealed for the first time that RAF inhibitors and FOXO1 inhibitors block CLL proliferation. The co-culture model can be downscaled to five microliter volume for large drug screening purposes or upscaled to CLL PDXs by H55-CD40L-IL4±IL21 co-transplantation. We co-transplanted 41 NSG mice with CLL cells and H55-CD40L-IL4 or H55-CD40L-IL4-IL21 using a subcutaneous scaffold and intraperitoneal injection leading to 47% or 82% engraftment efficacy, respectively, with ~20% of PDXs being clonally related to CLL. This shows that CLL cell engraftment in NSG mice can be supported by engineered H55 cells, thus bypassing the need to use primary T cells in PDX (Bagnara et al, 2011).

Ministry of Health of the Czech Rep. grants No. NU23-08-00448, NU22-03-00117, NW24-03-00369; ERC (no.802644); NUVR (Programme EXCELES, ID Project No.X22NPOS102)-Funded by the European Union-Next Generation EU; MH CZ-DRO (FNBr,65269705); MUNI/A/1558/2023.

INTRAUTERINNÍ TRANSFUZE – ZVLÁDÁME STÁLE KŘEHČÍ VÝZVY?

Hoffmanová H.¹, Gerychová R.², Tylečková J.¹, Lejdarová H.¹

¹ Transfuzní a tkáňové oddělení, FN Brno

² Gynekologicko-porodnická klinika LF MU a FN Brno

Úvod: Intrauterinní transfuze (IUT) je málo frekventní, invazivní výkon s řadou možných komplikací, který se provádí při těžké anémii plodu. Může změnit jinak nepříznivou prognózu u úspěšné zakončení těhotenství. Předpokladem tohoto dobrého konce/začátku je včasná identifikace rizikových těhotenství, jejich následné sledování adekvátními metodami na specializovaném pracovišti a příprava vhodného transfuzního přípravku. Ve FN Brno se IUT provádí od roku 2006.

Cíl: Statisticky zhodnotit IUT provedené ve FN Brno od roku 2014 a analyzovat aktuálně zavedený management IUT na příkladu nedávné kazuistiky.

Metody: Data byla získána z informačního systému a vyhodnocena kvantitativně i kvalitativně s ohledem na imunohematologicky významné skutečnosti. Kazuistika se zaměřuje komplexně na laboratorní i klinická vyšetření a zavedenou organizaci péče o komplikovaná těhotenství vyžadující IUT.

Výsledky: Od roku 2014 bylo ve FN Brno provedeno 65 IUT u 25 těhotných. Většina plodů anemizovala následkem imunizace matky proti erytrocytům, v šesti případech byla příčina jiná. 14 plodů potřebovalo více než jednu IUT vzhledem k anemizaci v časnější fázi gestace. Kazuistická část je věnována těhotné, u které došlo k vícečetné imunizaci, částečně následkem opakovaných IUT.

Závěr: FN Brno patří k několika málo centrům v České republice provádějícím IUT. Analyzovaná data poskytují přehled o IUT provedených v poslední dekádě a spolu s kazuistikou ilustrují specifčnost tohoto léčebného výkonu a jeho aktuální možnosti.

DLOUHODOBÁ TOXICITA LÉČBY CAR-T LYMFOCYTY U PACIENTKY S MANTLE CELL LYMFOMEM – POPIS PŘÍPADU

Holečková V., Benkó F., Šálek D., Janíková A., Folber F.

Interní hematologická a onkologická klinika, LF MU a FN Brno

Úvod: CAR-T lymfocyty (Chimeric Antigen Receptor) jsou geneticky upravené buňky, u kterých modifikace T-buněčného receptoru umožňuje cílenou reakci proti nádorovým buňkám. Aktivace T-lymfocytů může ale také vést k akutním nežádoucím projevům (CRS, neurotoxicita), ale i k dosud méně zmapované dlouhodobé toxicitě charakteru protrahované cytopenie nebo hemofagocytárního syndromu (HFS).

Popis případu: Pacientka (61 let) s relabujícím mantle cell lymfomem (MCL) podstoupila v červnu 2023 léčbu CAR-T lymfocyty (Brexucel). Již od podání přípravného režimu byla přítomna pancytopenie (trc 16, Hb 99, neu 1,44), navzdory remisi MCL byly u pacientky nezbytné ambulantní substituce transfuzními přípravky 1–2× týdně. V říjnu 2023 byl v kostní dřeni zjištěn HFS, avšak překážkou v zahájení imunosupresní terapie byla opakovaná reaktivace CMV. Infekce byla залéčena (gancyklovir, foscavir), ale dále byla diagnostikována protrahovaná COVID-19 pozitivita, která vyžadovala terapii rekonvalescentní plazmou, remdesivirem a molnupiravirem. HFS byl postupně léčen kortikoidy, anakinrou a ruxolitinem. Efekt této léčby byl však nedostatečný s přetrváváním hemofagocytózy v kostní dřeni. I přes hlubokou trombocytopenii se u pacientky v prosinci 2023 rozvinul ischemický iktus v pravé přední mozkové cirkulaci projevující se zmateností, dysartrií a poklesem ústního koutku. Imunosupresivní léčba musela být přerušena a pancytopenie neumožňovala podání trombolýzy ani antiagregační terapie. Situace vedla k celé řadě komplikací, které nakonec vyústily v recidivu COVID-19 s bakteriální superinfekcí a multiorgánovým selháním, kterému pacientka podlehl v únoru 2024.

Závěr: CAR-T terapie je inovativní možnost především u rekurentních hematologických onemocnění, nicméně při indikaci CAR-T je třeba uvažovat i její dlouhodobou a patrně specifickou toxicitu.

INVARIANTNÍ NKT BUŇKY – MALÁ POPULACE S VELKÝM POTENCIÁLEM

Holubová M.

Hematologicko-onkologické oddělení, FN Plzeň

Laboratoř nádorové biologie a imunoterapie, Biomedicínské centrum, LF UK, Plzeň

Invariantní NKT buňky (iNKT) jsou diskrétní populací lymfocytů, které vykazují znaky T lymfocytů (např. reakce na antigeny) či NK buněk (např. rychlá cytotoxická reakce). Jejich unikátní vlastností je reakce na lipidové antigeny navázaná na CD1d molekule skrz invariantní TCR receptor. Význam iNKT buněk byl prokázán v mnoha patologických stavech. U autoimunitních onemocnění dochází k nesprávné funkci iNKT buněk díky patologickému vývoji B-lymfocytů, které jsou hlavními regulátory vývoje iNKT buněk. To má celkově za následek

mnohdy nezvratnou dysfunkci iNKT buněk. U nádorových pacientů dochází často ke snížení množství iNKT buněk, což bývá spojováno s horší prognózou pacientů. Proto se hledají způsoby, jak iNKT buňky navýšit a obnovit jejich funkci. Nejsnazší cestou se zdá být aplikace umělého lipidového ligandu KRN7000, což se však prokázalo jako nedostatečné. O něco lepších výsledků dosahuje kombinace *ex vivo* aktivovaných dendritických (CD1d+) buněk a KRN7000. Nicméně neúčinnější se zdá být aplikace *ex vivo* expandovaných iNKT buněk, které se dají namnožit do vysokých počtů. Navíc, tím že nezpůsobují alogenní reakce, a naopak aloreaktivitu regulují, se do popředí dostávají terapie založené na aplikaci alogenních buněk. Tyto našly již uplatnění u infekčních či onkologických pacientů, u kterých se navíc využívají také CAR-iNKT buňky. iNKT buňky jsou velmi malou populací lymfocytů, nicméně jejich multioborový potenciál a možnost alogenní aplikace z nich dělá unikátní nástroj pro budoucí imunoterapie.

Podpořeno projektem institucionálního výzkumu MZČR – FNPI, 00669806 a AZV projektem NW24-03-00079.

NOVÉ MOŽNOSTI LÉČBY AKUTNÍ LYMFOBLASTICKÉ LEUKEMIE – KAZUISTIKA

Horáček J.M.^{1,2}, Štajer M.^{1,2}, Zavřelová A.¹, Víšek B.¹, Lánská M.¹, Radocha J.¹, Kupsa T.^{1,2}, Žák P.¹

¹ *IV. interní hematologická klinika LF UK, Hradec Králové*

² *Katedra vojenského vnitřního lékařství a vojenské hygieny, Vojenská lékařská fakulta Univerzity obrany, Hradec Králové*

Cílem sdělení je na kazuistice ukázat úspěchy i nežádoucí účinky moderní léčby akutní lymfoblastické leukemie (ALL). Prezentovaný případ je v době diagnózy 33letý muž s B-ALL standardního rizika, který byl léčen chemoterapií dle protokolu GMALL, pro pozdní relaps byl alogenně transplantován. Při následujícím časném relapsu mu byla podána bispecifická monoklonální protilátka blinatumomab (antiCD19/CD3) a dárcovské lymfocyty. Pro nedostatečnou léčebnou odpověď (3. relaps) byl pacient léčen 1 cyklem chemoterapie R-HD-MTX/AraC a opakovaně podány dárcovské lymfocyty s dosažením remise na 2 roky. Při 4. pozdním relapsu již byly k dispozici nové léčebné možnosti, pacient byl léčen konjugátem protilátka-cytostatikum inotuzumab ozogamicinem (antiCD22), který byl použit jako bridge k podání autologních T-lymfocytů s chimerickým antigenním receptorem (CAR-T) a následně alogenně transplantován od jiného dárce. Mezi nežádoucí účinky léčby blinatumomabem a CAR-T lymfocyty patří syndrom z uvolnění cytokinů (CRS, cytokine release syndrome) a neurotoxicita (ICANS, immune effector cell-associated neurotoxicity syndrome), které se u pacienta vyskytly v omezeném rozsahu. Pro sekundární hypogamaglobulinemii byla přechodně nutná substituce IVIG. U pacienta se po první transplantaci projevila oční forma reakce štěpu proti hostiteli (GvHD, graft versus host disease). Po druhé transplantaci došlo k reaktivaci CMV infekce, která byla zvládnuta valganciklovirem. Jedná se o první případ podání léčivého přípravku *brexukabtagen autoleucl* (Tecartus) u pacienta s ALL v České republice

(3/2023). V odstupu 5 měsíců byla provedena 2. alogenní transplantace krvetvorných buněk. Nyní je pacient 9 měsíců po 2. transplantaci v trvajícím kompletní remisi onemocnění. Nežádoucí účinky moderní léčby ALL byly zvládnutelné.

- ² Středoevropský technologický institut – MU, Brno
- ³ Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha
- ⁴ Hemato-onkologická klinika LF UP a FN Olomouc
- ⁵ IV. interní hematologická klinika LF UK a FN Hradec Králové
- ⁶ Hematologicko-onkologické oddělení, LF UK a FN Plzeň
- ⁷ Klinika hematooonkologie FN Ostrava
- ⁸ Klinika hematooonkologie LF OU Ostrava
- ⁹ I. interní klinika – hematologie LF UK a VFN v Praze
- ¹⁰ Hematologická klinika LF UK a FNKV, Praha
- ¹¹ Institut biostatistiky a analýz, s.r.o., Brno

AKCELEROVANÁ FÁZE BY MĚLA BÝT SOUČÁSTÍ KLASIFIKACE CHRONICKÉ MYELOIDNÍ LEUKEMIE I V ĚŘE EXISTENCE INHIBITORŮ TYROZINKINÁZ

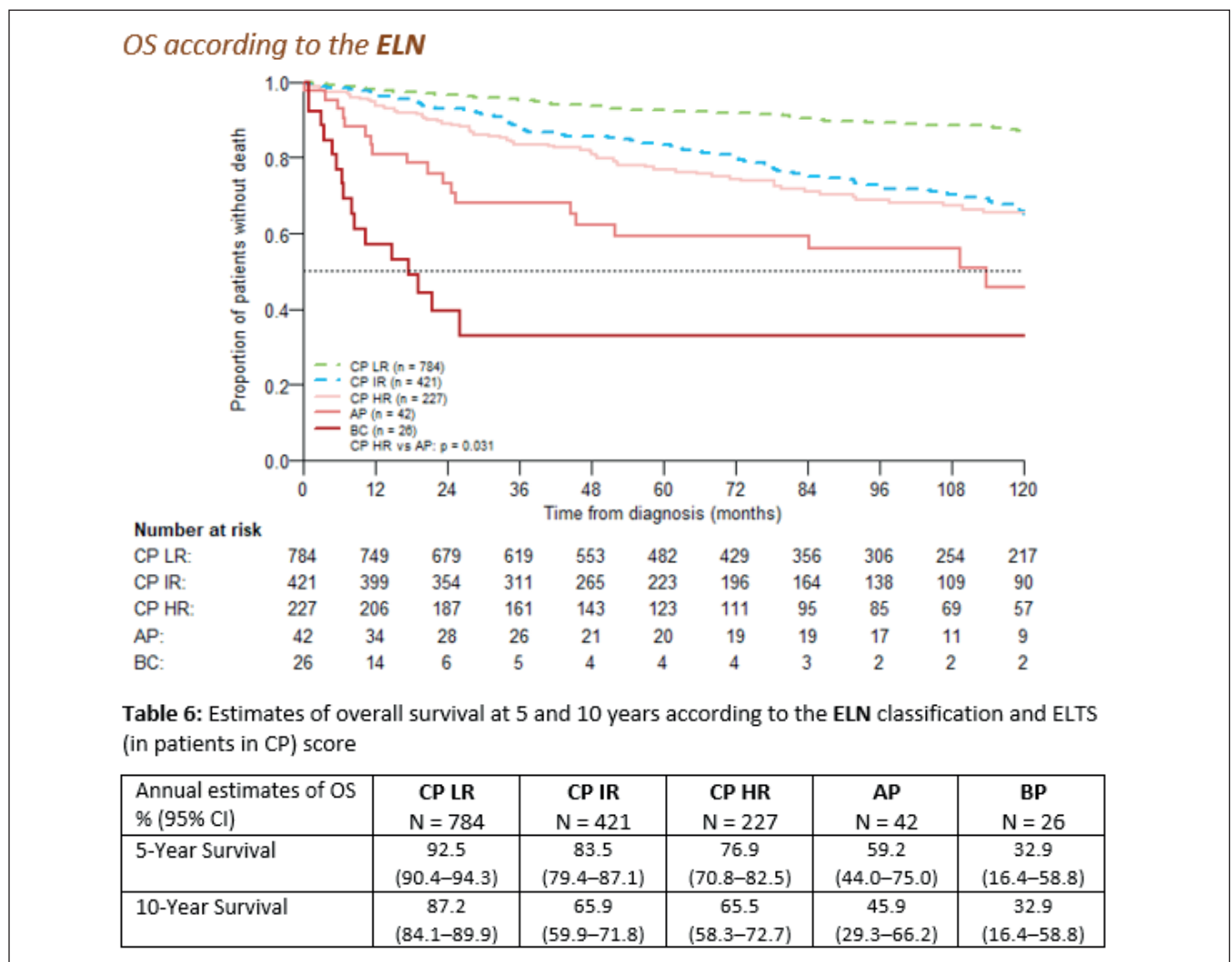
Horňák T.^{1*}, Mayer J.^{1,2*}, Čičátková P.¹, Semerád L.¹, Kvetková A.¹, Klamová H.³, Faber E.⁴, Bělohávková P.⁵, Karas M.⁶, Stejskal L.^{7,8}, Cmunt E.⁹, Černá O.¹⁰, Srbová D.³, Žižková H.³, Vráblová L.⁴, Skoumalová I.⁴, Voglová J.⁵, Jurková T.¹¹, Chrápavá M.¹¹, Jurček T.¹, Ježíšková I.¹, Jarošová M.¹, Machová Poláková K.³, Papajík T.⁴, Žák P.⁵, Jindra P.⁶, Žáčková D.¹

*oba autoři se na vzniku práce podíleli stejným dílem

¹ Interní hematologická a onkologická klinika LF MU a FN Brno

Východiska: Nová revize WHO klasifikace z roku 2022 neuvádí akcelerovanou fázi (AP) CML jako součást klasifikace tohoto onemocnění. Jiné mezinárodní klasifikace a doporučení (ELN 2020, ICC 2022) však existenci AP stále uznávají.

Metodika a cíle: Cílem retrospektivní analýzy CML pacientů diagnostikovaných v letech 2005–2022 uvedených v celonárodní databázi INFINITY bylo stanovit křivky přežití pacientů diagnostikovaných v AP



Obr. 7. Horňák T et al. Celkové přežití pacientů s CML klasifikovaných podle klasifikace ELN 2020. AP – accelerated phase; BC – blast crisis; CP – chronic phase; HR – high risk; IR – intermediate risk; LR – low risk

dle různých klasifikací (WHO 2016, ELN 2020, ICC 2022) a následně je porovnat s pacienty v chronické fázi (CP) stratifikovaných dle ELTS skóre na nízké (LR), střední (IR) a vysoké (HR) riziko.

Výsledky: V rámci klasifikace ELN 2020 byla analyzována data 1500 pacientů, z nichž 784 bylo diagnostikováno v LR CP, 421 v IR CP, 227 v HR CP, 42 v AP a 26 v blastické krizi (BC). Celkové přežití (OS) 5 a 10 let bylo: 92,5 % a 87,2 % pro LR CP, 83,5 % a 65,9 % pro IR CP, 76,9 % a 65,5 % pro HR CP, 59,2 % a 45,9 % pro AP a 32,9 % pro BC; $p=0,031$ pro HR CP vs. AP. Křivky pro další parametry přežití (PFS, DSS) i pro jiné klasifikace (WHO 2016, ICC 2022) také vykazují významné rozdíly mezi pacienty v CP a AP, i mezi pacienty v HR CP a AP.

Závěr: Vzhledem k prezentovaným výsledkům se rozhodnutí panelu WHO vyřadit AP z klasifikace CML nejeví jako vhodné. I v éře TKI mají pacienti diagnostikovaní v AP významně horší prognózu než pacienti v CP.

Tato práce vznikla za podpory grantů MUNI/A/1558/2023, Programu EXCELES, ID: LX22NPO5102 a MZ ČR č. 00023736 a 00669806.

SENSITIVITA DETEKCE MYD88 L265P MUTACE VE VOLNÉ DNA Z LIKVORU PACIENTŮ S LYMFOMEM CNS A SROVNÁNÍ SE STANDARDNÍMI METODAMI PRŮKAZU CNS POSTIŽENÍ

Hricko S.¹, Navrkalová V.¹⁻³, Marečková A.¹, Kotašková J.¹⁻³, Janíková A.¹

¹ Interní hematologická a onkologická klinika LF MU a FN Brno

² Středoevropský technologický institut (CEITEC), Centrum molekulární medicíny, MU Brno

³ Ústav lékařské genetiky a genomiky, LF MU a FN Brno

Úvod: Volná DNA (cfDNA) je fragmentovaná DNA uvolněná z buněk při jejich smrti. Volná nádorová DNA (ctDNA) je její frakce pocházející z nádoru. Analýza ctDNA je předmětem zájmu jako minimálně invazivní metoda u maligních lymfomů v obtížně bioptovatelných kompartmentech, např. centrální nervové soustavě (CNS). U CNS lymfomů se vyskytují rekurentní genetické aberace, zejména mutace genu *MYD88* (70–90 % případů).

Metody: V období 2021–2024 byl na IHOK FN Brno odebrán likvor pacientům s nově diagnostikovaným nebo relabujícím primárním CNS lymfomem (PCNSL; 14 mužů, 9 žen, medián 68 let) i sekundárním CNS lymfomem (SCNSL; 11 mužů, 10 žen, medián 65 let). Při dostatečném množství vyzolované cfDNA byla provedena NGS analýza pomocí lymfoidního panelu LYNX (20/44 pacientů), při nízké koncentraci cfDNA pouze detekce mutace *MYD88* L265P pomocí digitální PCR.

Výsledky: U diagnostikovaných PCNSL byla senzitivita detekce mutace *MYD88* L265P vyšší než senzitivita detekce nádorových buněk pomocí průtokové cytometrie (45,8 vs. 25,0 %). Nebyla prokázána signifikantní korelace mezi koncentrací cfDNA a postižením hlubokých struktur mozku. U jednoho pacienta s primárním

lymfomem sítnice byla detekována mutace *MYD88* L265P ve sklivci. U SCNSL potvrzených magnetickou rezonancí/biopsií byla senzitivita detekce genetických aberací rovněž vyšší než detekce nádorových buněk průtokovou cytometrií (71,4 vs. 33,3 %). U jedné pacientky byla CNS progrese prokázána detekcí mutace *MYD88* L265P přes negativitu magnetické rezonance a průtokové cytometrie.

Shrnutí: Detekce mutace L265P v genu *MYD88* v likvoru/sklivci je patrně dobrým nástrojem v diagnostice postižení CNS/oka lymfomem s násobně vyšší pravděpodobností záchytu než průtoková cytometrie.

Podpořeno projekty FNB_65269705, AZV_NU22-08-00227, MUNI/A/1558/2023, NPO-NUVR LX22NPO5102.

IN VITRO CULTURE OF ACUTE MYELOID LEUKEMIA: EFFECT OF MEDIA COMPONENTS, SMALL INHIBITORS, AND FEEDER CELLS

Hyl J., Buckova V., Slamenikova T., Rokytova M., Mayer J., Culen M.

Faculty of Medicine, Masaryk University, Brno

Primary acute myeloid leukemia (AML) cells often show differentiation and poor survival *in vitro*. A standardized protocol is missing, and very little is known about the phenotype changes during long-term *in vitro* AML maintenance. Here, we aimed to establish a method offering improved proliferation and primitive phenotype retention of primary AML samples *in vitro*. Among basic conditions, minor improvements were observed with IMDM as a basal medium, BSA as a serum alternative (bovine serum albumin), and ITSX as a supplement (insulin- transferin-selenium-ethanolamine). Significant phenotype retention was achieved with small molecules SR1, UM729 (aryl hydrocarbon inhibitors), and DMOG (HIF-1 activator). From the tested feeder layers: MS-5 (mice stromal cell line) slightly improves phenotype retention; MSC (mesenchymal stromal cells) support both proliferation and phenotype retention; while macrophages improve phenotype retention only. In a further set of tests, we improved macrophage differentiation by adding hydrocortisone, which in turn (AML co-culture with macrophages) improved AML proliferation and phenotype retention. In summary, we demonstrate that combinations of IMDM, BSA, ITSX, HEPES, SR1, UM729, and DMOG provide significantly improved phenotype retention and slightly improved cell proliferation. The cultivation may be further improved by co-cultivating AML cells with hydrocortisone-differentiated macrophages.

Supported by MUNI/A/1558/2023 and The project National Institute for Cancer Research (Programme EXCELES, ID Project No. LX22NPO5102) – Funded by the European Union – Next Generation EU.

LABORATORNÍ VYŠETŘENÍ PACIENTŮ REFRAKTERNÍCH K PODÁNÍ TROMBOCYTŮ A VYHLEDÁVÁNÍ VHODNÝCH DÁRCŮ

Janků L.^{1,2}, Lejdarová H.^{1,2}

¹ Transfuzní a tkáňové oddělení, FN Brno

² Katedra laboratorních metod, LF MU Brno

Úvod: Imunní typ refrakternosti k trombocytům je nejčastěji vyvolán přítomností anti-HLA protilátek, méně často přítomností anti-HPA protilátek. V případě laboratorně potvrzených anti-HLA protilátek u příjemce transfuze je žádoucí podávat HLA, AB0 shodné trombocytové transfuzní přípravky nebo transfuzní přípravky na základě negativního výsledku křížové zkoušky, tzv. crossmatch testu.

Cíl: Vyšetření protilátek u pacientů s podezřením na refrakternost k transfuzi trombocytů ve FN Brno a výběr vhodného dárce.

Metodika: Základem brněnského registru HLA otypovaných dárců jsou dárce, kteří vstoupili do některého z registrů dárců dřeně a byli již otypováni v této souvislosti. Průběžné doplňování registru probíhá u vybraných osob pomocí sérologické typizace HLA antigenů I. třídy metodou lymfocytotoxického testu na komerčně dostupných typizačních plotnách. Nejasné výsledky sérologické HLA typizace jsou ověřovány metodou PCR. V případě nenalezení vhodného dárce trombocytů v registru, se provádí křížová zkouška metodou lymfocytotoxického testu mezi vybranými dárci trombocytů a sérem příjemce.

Výsledek: V současné době má TTO FN Brno k dispozici registr 843 otypovaných dárců krve v lokusech HLA-A, -B.

Závěr: Přestože má FN Brno k dispozici největší registr HLA otypovaných dárců, nelze vzhledem k obrovskému polymorfismu HLA antigenů v populaci zajistit HLA, ABO shodné/kompatibilní trombocyty pro všechny refrakterní pacienty, a proto je nutné hledat další možnosti zajištění péče o tyto nemocné.

KOSTNÍ DENZITA U HEMOFILIKŮ

Janoušková M.¹, Hajšmanová Z.¹, Vyskočil V.²

¹ Hematologický úsek ÚKBH FN Plzeň

² Osteocentrum II. IK FN Plzeň

Tvorba kosti je velmi složitý proces. Do hry vstupují kostní buňky (osteoblasty, osteocyty, osteoklasty) společně s triádou RANK/RANKL/OPG. Dále se jedná o souhru několika endokrinních orgánů s jejich hormonální tvorbou (parathormon, vitamin D, kalcitonin, estrogeny, androgeny, hormony štítné žlázy) ovlivňující mimo jiné i homeostázu kalcia.

Osteoporóza je jedním z nejčastějších kostních metabolických onemocnění. Je charakterizována snížením kostní hmoty a deteriorací mikroarchitektury kostní tkáně, která má za následek zvýšenou fragilitu kosti a z toho plynoucí zvýšené riziko zlomeniny. Kostní minerální denzita zodpovídá za 60–80 % mechanické kostní pevnosti a je u každého jedince daná řadou faktorů zahrnujících genetiku, ale i faktory životního stylu.

Těžká forma hemofilie je vrozená krvácivá choroba, která svými komplikacemi na pohybovém aparátu přináší řadu rizikových faktorů pro rozvoj osteoporózy (redukováná fyzická aktivita, následky opakovaného krvácení do kloubu). Od roku 2016 vyšetřujeme naše dospělé pacienty s těžkou formou hemofilie v Osteocentru II. IK FN Plzeň. Taktéž monitorujeme hladinu vitaminu D s následnou substitucí. V rámci terciární profylaxe u spolupracujících hemofiliků dochází prakticky k vymizení spontánního krvácení do kloubů a tím i výraznému zlepšení celkové kvality života. Podrobný rozbor souboru našich pacientů, jejich rizikových faktorů, diagnostiky osteoporózy a efekt léčby je obsahem posterového sdělení.

FEKÁLNÍ BAKTERIOTERAPIE – FBT

Janštová Z.

Klinika infekčního lékařství FN Ostrava

Na celém světě dochází k významnému nárůstu počtu infekcí vyvolaných *Clostridioides difficile* v tlustém střevě, označované jako „*Clostridioides difficile* Infection“ (CDI). Největším problémem jsou opakované rekurence onemocnění. Ve vyspělých zemích se začala využívat FBT. Po řadě klinických studií a metaanalýz, byla FBT doporučena, jako standartní terapeutická metoda, evropskými i severoamerickými odbornými společnostmi. První FBT byla v ČR provedena v roce 2010 FN Brno. V roce 2014 byla provedena první transplantace ve FN Ostrava na Klinice infekčního lékařství. Dnes je FBT nedílnou součástí léčby CDI při 2. rekurenci, neboli při 3. atace onemocnění. Dárce transplantované stolice je nejlépe přímý příbuzný. Transplantace je prováděna jak za hospitalizace, tak i ambulantně. Budoucnost patří s velkou pravděpodobností perorální formě podání, v podobě individuálně připravovaných enterosolventních kapslí se zamraženou či lyofilizovanou stolicí dárce, nebo komerčně vyráběným fekálním derivátům. Můžeme ovšem očekávat i rozvoj institucí fungujících jako tzv. „banky stolice“. FBT – stále doprovází řada etických, medicínských a právních otázek.

ANALÝZA GENOMU NEMOCNÝCH S AKUTNÍ MYELOIDNÍ LEUKEMIÍ (AML) METODOU OPTICKÉHO MAPOVÁNÍ (OGM)

Jarošová M.¹, Kotašková J.¹, Bezděková Fillerová R.², Ondroušková E.³, Bohúnová M.³, Bryjová L.³, Čábelová K.³, Šmejkal J.³, Šmuhařová P.³, Ježíšková I.³, Ženatová M.³, Weinbergerová B.⁴, Pospíšilová Š.¹, Mayer J.⁴

¹ CMBG IHOK FN a LF MU Brno

² Institute of Applied Biotechnologies, Olomouc

³ CMBG IHOK FN Brno

⁴ IHOK FN a LF MU Brno

Cytogenomická analýza genomu nemocných s akutní myeloidní leukemií (AML) se v současnosti opírá o kombinaci tradičních metod, které zahrnují karyotypizaci, fluorescenční *in situ* hybridizaci

(FISH) a chromozomové mikročipy (arrayCGH). Každá technika má své specifické omezení, a proto jsou používány společně. Novou možností pro analýzu genomu poskytující stejné informace jako kombinace těchto metod, je metoda optického mapování genomu (OGM). OGM je založená na analýze vysokomolekulární nádorové DNA, kdy nechodí k amplifikaci, ale k přímé analýze DNA značené speciálními fluorescenčními sondami. Rozmístění sond cca 5 kbp napříč celým genomem umožňuje určit jak počty kopií, tak strukturní aberace, vč. problematických balancovaných translokací a ztráty heterozygotnosti (LOH). Cílem naší práce bylo ověřit potenciál OGM pro analýzu genomu pacientů s AML. Testovali jsme 12 vzorků a získaná data jsme porovnali s výsledky klasické cytogenetiky, FISH a arrayCGH. V souboru bylo 7 nemocných s normálním a 5 nemocných s abnormálním karyotypem. DNA pro OGM byla izolována z buněk kostní dřeně nemocných při diagnóze (3Ž/9M, medián věku 70 let). Dle očekávání OGM přineslo detailnější pohled na získané aberace. Normální nález jsme potvrdili pouze u 3 ze 7 pacientů. U čtyř nemocných OGM odhalilo další závažné změny, které konvenčními metodami nebyly pozorovány. Jednalo se o delece, zisky a LOH. U tří nemocných s komplexním karyotypem byly upřesněny typy translokací, zlomová místa vč. genů v nich lokalizovaných. Tři nemocní byli na základě výsledků OGM přeřazeni do nové, prognosticky nepříznivé kategorie. Naše práce potvrzuje, že OGM významně rozšiřuje možnosti cytogenetické analýzy a přináší další zkvalitnění prognostické stratifikace pacientů s AML.

Práce je podporována grantem MZ-CR RVO 65269705.

TROMBOCYTOPENIE – VÝZNAM PARAMETRŮ IPF A FRAGMENTOCYTŮ

Jelínková M.¹, Vytisková S.² – prezentující autorky
Bourková L.², Polícarová M.², Bulíková A.², Mazánek P.¹ – spoluautoři

¹ Oddělení dětské hematologie a biochemie, FN Brno

² Oddělení klinické hematologie, FN Brno

Diferenciální diagnostika a léčba trombocytopenie mohou být náročné. Vyšetření počtu trombocytů na hematologických analyzátoch může být u trombocytopenických vzorků zatíženo vysokou mírou nepřesnosti. Díky technologickému rozvoji hematologických analyzátorů je dnes možné mimo jiné analyzovat nadstavbový trombocytární parametr nezralé krevní destičky tzv. retikulované trombocyty neboli frakci nezralých trombocytů (IPF). IPF představuje procento nezralých krevních destiček z celkového počtu krevních destiček a lze je identifikovat podle jejich velikosti a vysoké koncentraci RNA v cytoplasmě. Parametr IPF má cenné klinické využití v diagnostice, monitorování a léčbě trombocytopenie,

jelikož počet nezralých trombocytů udává informaci o funkčnosti kostní dřeně v procesu trombopoézy. Při nedostatku krevních destiček je hodnota tohoto parametru závislá na vyvolávající příčině trombocytopenie. IPF je zvláště užitečný jako neinvazivní pomůcka v diferenciální diagnostice trombocytopenií, jelikož pomáhá rozlišovat mezi konzumpčními a aplastickými příčinami trombocytopenie. Dalším parametrem, který může hrát významnou roli nejen v diferenciální diagnostice trombocytopenií jsou fragmenty erytrocytů (fragmentocyty, FRC). Je to parametr analogický k počtu schistocytů, jejichž vyšetření má hlavní význam při diagnostice mikroangiopatických hemolytických anémií. V současnosti se počet schistocytů rutinně stanovuje mikroskopickou metodou v panopticky obarveném nátěru periferní krve. Tato metoda je ale určitým způsobem subjektivní, hůře standardizovatelná a časově náročnější, což brání jejímu rychlému, rutinnímu využití v kritických situacích, a proto se hledají nové možnosti stanovování. Přístrojové stanovení fragmentocytů oproti mikroskopickému hodnocení je rychlejší a dobře standardizovatelné, nicméně zatím nedostatečně senzitivní a specifické. Cílem naší společné prezentace bude zhodnotit přínos stanovení parametru IPF a FRC v rámci diferenciální diagnostiky trombocytopenií dětských i dospělých pacientů ve FN Brno.

NEZAPOMÍNÁME NA KONEČNÍKY?

Jenerálová M., Vránová J., Danišová Z., Kouřilová P.

Interní hematologická a onkologická klinika FN Brno

Úvod: Alogenní transplantace se stala u hematologických pacientů nedílnou součástí léčby. Po podání vysokodávkované chemoterapie dochází k období neutropenie, která s sebou nese řadu komplikací, nejčastěji zastoupeny jsou infekční. Nemalou pozornost je potřeba věnovat oblasti konečnicku. Zde dochází k podráždění již stávajících defektů nebo vzniku nových a to převážně u mužů.

Obsah: Cílem příspěvku je zvýšit povědomí o této komplikaci nejen u pacientů, ale také u ošetřujícího personálu. Zde je potřeba se zaměřit na opakovanou edukaci i důslednost osobní hygieny u pacientů. Rizikovější skupinu představují muži a to z vícero důvodů. Může to být způsobené neochotou odhalit své pozadí personálu ženského rodu, pocit ztráty intimity nebo ponížení. Až bolestivé podněty donutí pacienty svěřit se s problémem.

Závěr: S nárůstem počtu alogenních transplantací se zvýší výskyt této komplikace. Vždy je třeba dbát na důslednou anamnézu, zaměřit se na prevenci. Pacienty u příjmu dostatečně a důsledně edukovat o možné komplikaci. Zůstává otázkou, zda by krátký sledovací protokol nezachytil včasné komplikace a nezvýšil informovanost jak pacienta, tak personálu.

ASOCIAČNÍ ANALÝZA ZÁRODEČNÉ VARIANTY JAK2:p.R1063H SE SOMATICKÝMI ŘÍDÍCÍMI ONKOGENY U KOHORTY 400 PACIENTŮ S AKUTNÍ MYELOIDNÍ LEUKEMIÍ Z ČESKÉ REPUBLIKY

Ježíšková I.¹, Králová B.², Folta A.¹, Weinbergerová B.¹, Pospíšilová Š.^{1,3}, Mayer J.¹, Szotkowski T.⁴, Hlušičková Kapralová K.², Janotka L.², Kureková S.², Divoká M.⁴, Navrátilová J.⁴, Koňalková P.², Horváthová M.², Doubek M.^{1,3}, Divoký V.^{2,4}

¹ Interní hematologická a onkologická klinika LF MU a FN Brno

² Ústav biologie, LF UP, Olomouc

³ CEITEC – Středoevropský technologický institut, Brno

⁴ Hemato-onkologická klinika LF UP a FN Olomouc

Úvod: Cílem práce bylo určit frekvenci a spektrum zárodečných variant v genu *JAK2* v kohortě českých pacientů s AML, tuto srovnat s referenční databází genomových variant obecné české populace, a dále identifikovat koexistenci variant s řídicími onkogeny.

Pacienti a metody: Analyzována byla konsektivní řada 280 pacientů s AML diagnostikovaná ve FN Brno (v období 6/2013 až 6/2023) a soubor 120 pacientů s AML diagnostikovaných ve FN Olomouc (z let 2000–2021). Zárodečné varianty v genu *JAK2* byly analyzovány metodou long-range PCR s následným NGS sekvenováním, příp. PCR s alelově-specifickými primery (ARMS); koexistence aberací byla vyšetřena panelem VariantPlex Core Myeloid nebo TruSight Myeloid Sequencing.

Výsledky: Nejfrekventovanější byla detekována slabě aktivující varianta *JAK2*:p.R1063H (18/400; frekvence minoritní alely [MAF] v analyzovaném souboru byla 2,25 %). Brněnská kohorta obsahovala

ještě tři další pacienty s jinými *JAK2* germinálními variantami. MAF pro *JAK2*:p.R1063H v obecné populaci ČR (dle databáze A-C-G-T) je 1,67 %. Nejčastěji detekovaným koexistujícím onkogenem s *JAK2*:p.R1063H u 18 AML pacientů byly mutace v genech *IDH1/2* a přestavba v genu *KMT2A (MLL-r)*; v obou případech se jednalo o vyšší než očekávanou asociační frekvenci.

Závěr: Naše analýzy naznačují, že zárodečná varianta *JAK2*:p.R1063H má pouze mírně predispoziční charakter pro vznik AML. Na základě našich výsledků předpokládáme, že *JAK2*:p.R1063H spíše představuje rizikový faktor pro klinický průběh a rozvoj AML (leukemogenezi), pokud se vyskytne v kombinaci s *IDH1/2* nebo *MLL-r* somatickými mutacemi.

AZV NU21-03-00338, projekt A-C-G-T, reg. č.

CZ.02.1.01/0.0/0.0/16_026/0008448 financovaný z EFRR, IGA_

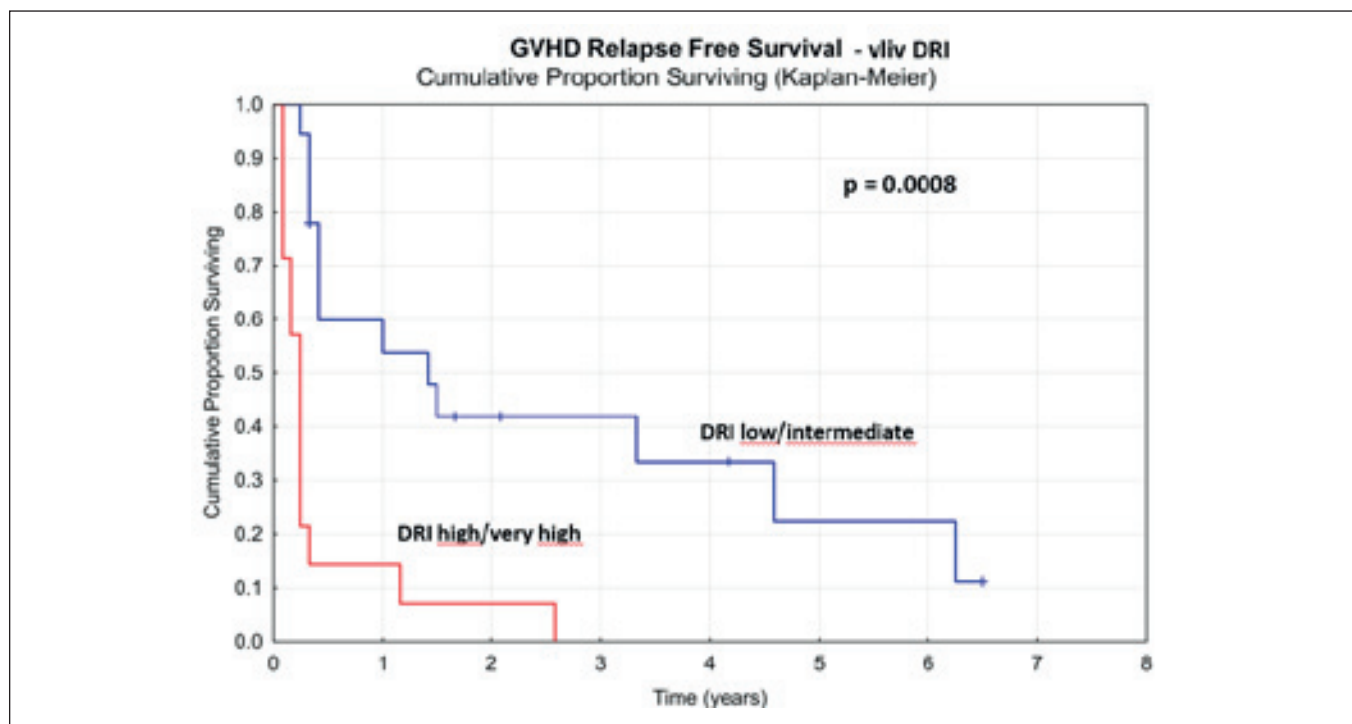
LF_2024_004 a grant MZ ČR – RVO (FNBr 65269705), projekt ERN.

ALOGENNÍ TRANSPLANTACE (ALOHCT) U PACIENTŮ ≥ 70 LET S HEMATOLOGICKOU MALIGNITOU – ANALÝZA CENTRA

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

Hematologicko-onkologické oddělení, FN Plzeň

AloHCT u starších nemocných s hematologickou malignitou je často jediným kurativním postupem. Zvláště nemocní ≥ 70 let jsou pro obavy z vysoké nerelapsové mortality (NRM) málokdy k aloHCT referováni.



Obr. 8. Jindra P et al. GVHD Relapse Free Survival.

Cíle: Analýzou alogenně transplantovaných nemocných ≥ 70 let stanovit faktory ovlivňující celkové přežití (OS), NRM, přežití bez relapsu (PFS), bez závažné GVHD (GRFS).

Metody: Retrospektivní unicentrická analýza 32 konsekutivně transplantovaných pacientů ≥ 70 let s AML ($n = 25$), MDS ($n = 4$), ALL, PMF a CLL (vždy $n = 1$) v období 02/2012–10/2023.

Výsledky: Medián věku 71 let (70–74), ženy 19 (59 %), dárce nepřibuzní (MUD = 19; 59 %) a haploidentičtí (HID = 13; 41 %). Index rizika nemoci (DRI): nízký/střední 18 (56 %) nemocných, vysoký/velmi vysoký 14 (44 %). Medián indexu komorbidity – HCT-CI byl 2 (střední riziko, rozmezí 0–8), u 6 (19 %) pacientů byl > 3 . Medián EBMT skóre byl 4 (2–6). 20 (63 %) bylo transplantováno po roce 2018. S mediánem sledování 24 měsíců (5–78) žije 6 (19 %) nemocných. Celková NRM byla 53 % (17 pacientů), z toho 7 nemocných (41 %) zemřelo bez přímé souvislosti s aloHCT. Pravděpodobnost NRM v 1 roce 39 %, ve 3 letech 65 %. 10 (31 %) nemocných zrelabovalo. Pravděpodobnost OS/GRFS v 1 roce / 3 letech byla 41/29 %, resp. 27/18 %. Univariátní analýza prokázala vysoký/velmi vysoký DRI jako jediný negativní významný faktor pro OS, DFS i GRFS, pro NRM navíc ještě EBMT skóre > 4 . V multivariátní analýze zůstalo vysoké/velmi vysoké DRI jediným významným pro OS (HR 4,4432; 95% CI 1,616–12,158; $p = 0,0038$) i GRFS (HR 4,4432; 95% CI 2,022–14,345; $p = 0,0008$).

Závěr: Téměř 20 % nemocných ≥ 70 let dosáhlo 3letého GRFS. Zásadní bylo riziko základního onemocnění, nikoliv HCT-CI či další faktory. Selektování nemocných ≥ 70 let by nemělo být z k aloHCT vylučování.

NOVINKY V TERAPII MYELOYDYSPLASTICKÉHO SYNDROMU (EDUKAČNÍ PREZENTACE)

Jonášová A.

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

V léčbě MDS nemocných se nové terapeutické modalitě zaměřují především na terapii anemie. V roce 2023 byly publikovány v časopisu Lancet výsledky 2 velmi důležitých studií, a to studie COMMANDS, která dokládá pozitivní vliv luspaterceptu v dosažení transfuzní nezávislosti (ransfusion independence – TI) u MDS nemocných nezávisle na SF3B1 stavu a přítomnosti věnečkovitých sideroblastů (RS-ring sideroblasts). Druhá studie byla studie IMerge představující nový preparát imetelstat-inhibitor telomerázy s dosažením až 38 % TI. U pacientů léčených imetelstatem oproti placebo bylo pozorováno zlepšení míry RBC-TI napříč různými rizikovými podskupinami definovanými podle rizikových profilů IPSS, IPSS-R, IPSS-R cytogenetického nebo IPSS-M. Novinkou na poli terapie anemie je roxadustat. An ASH meetingu 2023 Moshe Mittleman et al. prezentoval výsledky studie MATTERHORN, fáze III. Roxadustat je první inhibitor prolylhydroxylázy indukované hypoxií, zatím určený k léčbě anemie při chronickém onemocnění ledvin. Dalším nadějným lékem je KER-050 obdobně jako luspatercept

inhibitor TGF- β (inhibice vazby aktivinu A, B, GDF 8, 11 na jejich ligandy). Je hodnocen u onemocnění s neefektivní krvetvorbou (IH), vč. MDS a myelofibrózy. Vedle těchto preparátů v monoterapii se zdá, jak ukazují naše data (odesláno k publikaci), že tak jak je tomu u lenalidomidu i u luspaterceptu je možno posílit efekt přidáním erythropoetinu u nedostatečně odpovídajících nemocných. Co se vysoce rizikových nemocných týče výsledky studií posledních let jsou více méně zklamáním a dokládají, jak závažné je toto onemocnění ve své progresi. Azacitidin jistě zůstává základem terapie. Ale bohužel dosavadní výsledky s azacitidinem v rozličných kombinacích jsou více méně zklamáním. Vzhledem k podobnosti starších AML s MDS s vyšším rizikem netrpělivě proto očekáváme výsledky studie VERONA tj. randomizované placebo kontrolované studie fáze III hodnotící kombinaci azacitidinu a venetoclaxu (Aza + Ven). Bohužel zcela recentní studie s magrolimabem (Anti CD47), eprexatopem (aktivátorem TP53) byly ukončeny buď pro toxicitu nebo nedosažení cílů studie zvláště pak efektu na zlepšení celkového přežívání. Ještě dobíhá studie se sabatolimabem (TIM 3 inhibitor), zatím ale průběžné výsledky jsou též diskutabilní. Aktuálně běží v ČR studie kombinace azacitidinu s tamibarotemem (RARA inhibitorem) pro nemocné s vyšší expresí RARA, je tedy dalším s uvidíme, zda nadějným preparátem pro nemocné s vysokým rizikem. V prezentaci zmíním nové preparáty představené na ASH 2023. Není zde místo na představení všech dalších cest terapie u MDS, sem patří i další ovlivnění dráhy TGF-beta, zásahu do inflamasonu, inhibici specifických mutací, a to nejen na poli vysoce rizikových ale i níže rizikových nemocných jako je inhibice IDH1,2, modulátorech spliceosomu atd.

ZKUŠENOSTI V REÁLNÉ KLINICKÉ PRAXI S LÉČBOU LUSPATERCEPTEM U NEMOCNÝCH S MYELOYDYSPLASTICKÝM SYNDROMEM S NÍZKÝM RIZIKEM ZÁVISLÝCH NA TRANSFUZÍCH, POZITIVNÍ ÚČINEK KOMBINACE S ERYTROPoETINEM ALFA

Jonášová A.¹, Bělohávková P.², Sotáková S.¹, Minařík L.¹, Stopka T.³, Aghová T.⁴, Zemanová Z.⁴

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

² IV. interní klinika, hematologie LF UK a FNKV, Praha

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

⁴ Centrum onkocytogenetiky, 1. LF UK a VFN v Praze

Úvod: Prezentujeme reálné zkušenosti s léčbou luspaterceptem u níže rizikových nemocných s myelodysplastickým syndromem (MDS) s transfuzní závislostí (TD) ze 2 hematologických center v ČR (VFN a FNHK).

Metody: Do ledna 2024 bylo léčeno 54 pacientů (pts) (M/F – 33/21), mediánem věku 74 let (rozmezí 55–95 let). Medián sledování byl 17 měsíců (rozmezí 1–54). 35 (64,8 %) pts patřilo do skupiny s vysokou transfuzní zátěží (HTB) s > 4 TU/8 týdnů, 35,2 % do skupiny s LTB ($<$

4TU/8 týdnů). Erytopoetin alfa (EPO) byl použit před luspaterceptem u 45 pts. Luspatercept v první linii byl pouze u 9 pts. Třetina pts měla několik předchozích linií léčby. 33 (61 %) pts bylo souběžně léčeno EPO + luspatercept.

Výsledek: Hodnocení byli pts, kteří dostávali luspatercept ≥ 8 týdnů (51 pts). Hodnotili jsme dosažení transfuzní independence (TI) trvajících 8,12,16 a 24 týdnů během 48 týdnů. 32 (62,7 %) dosáhlo TI trvajících ≥ 8 týdnů, 31(60,7 %) ≥ 12 týdnů, 29 (56,8 %) ≥ 16 týdnů a 25 (49 %) TI trvajících ≥ 24 týdnů. Pouze hematologického zlepšení (HI) dosáhlo 6 (11,7 %) pts. HI + TI dosáhlo 38 pts (74,5 %). U 21(41 %) pts vedla souběžná léčba EPO ke zlepšení odpovědi. Medián trvání odpovědi byl 12 měsíců (rozmezí 5–26). U 14 pacientů byla léčba ukončena: 5 progresse MDS, 6 úmrtí z jiných příčin, 2 nová nehematologická malignita, 1 non-compliance. Byly rozdíly v TI podle transfuzní zátěže: u LTB 77 % vs. HTB 53 %. Ve skupině s nízkým, velmi nízkým IPSS-M odpovědělo 86 % pts. Z 39 SF3B1+ pts odpovědělo 74,3 %. Luspatercept byl velmi dobře tolerován.

Závěr: Luspatercept dosahuje výborné výsledky (TI) u neselektovaných, předléčených MDS. Domníváme se, že vysoká míra odpovědi u našich pacientů byla ovlivněna přidáním EPO.

MZCZ (NU21- 259 08-00312), Grant Agency (24-103535), MZČR conceptual development of research organization 00064165.

BMS advisory boards, Abbvie advisory boards, travel expenses, GSK advisory boards, Novartis advisory boards.

AKUTNÍ ERYTROIDNÍ LEUKEMIE – KAZUISTIKA PACIENTA S RARITNÍ DIAGNÓZOU

Juránová J.¹, Čerňan M.¹, Flodr P.², Pikalová Z.¹, Holzerová M.¹

¹ Hemato-onkologická klinika LF UP a FN Olomouc

² Ústav klinické a molekulární patologie, FN Olomouc

Kazuistika přináší případ 62letého nemocného došetřovaného v prosinci 2023 cestou spádového interního oddělení pro progredující bicytopenii – normocytární normochromní anémii a trombocytopenii. Provedená panendoskopie vyloučila krvácení do GIT a následně byla zahájena terapie kortikoidy a IVIG pro podezření na imunitní etiologii bicytopenie. Pro další progresi cytopenie a bolesti skeletu byl nemocný přeložen k došetření na naše pracoviště. Na základě morfologického a imunohistochemického vyšetření kostní dřeně byla stanovena diagnóza akutní erytroidní leukemie. V lednu 2024 nemocný podstoupil indukční terapii podle protokolu „7 + 3“ a následně v únoru 2024 pro perzistenci onemocnění re-indukci režimem kombinujícím venetoklax s azacitidinem. V průběhu terapie však opět u nemocného pozorována progresse bolestí skeletu, současně verifikována refrakterita k transfuzím trombocytů. Dne 7. 3. 2024 doplněno CT mozku pro rozvoj somnolence, prokazující

subdurální krvácení do CNS. Nemocný refrakterní ke 2 cyklům indukční terapie záhy zmirá na neřešitelné krvácivé komplikace při trombofrefrakteritě. Akutní erytroidní leukemie je vzácná a agresivní forma AML způsobená neoplastickou proliferací erytroidních buněk v kostní dřeni. Presentovaný případ dokládá význam morfologického a imunohistochemického vyšetření při diagnostice vzácných subtypů AML. Diagnostika a terapie akutní erytroidní leukemie zůstává nadále výzvou pro současnou hematologii.

Práce byla podpořena MZ ČR – RVO (FNOL, 00098892) a IGA_LF_UP_2024_001.

SLEDOVÁNÍ DYNAMIKY KLÍČOVÉ MUTACE T315I POMOCÍ DIGITÁLNÍ PCR U PACIENTŮ S CHRONICKOU MYELOIDNÍ LEUKEMIÍ

Jurček T.¹, Smitalová D.¹, Ježíšková I.¹, Čičátková P.¹, Horňák T.¹, Semerád L.¹, Kvetková A.¹, Mayer J.^{1,2}, Žáčková D.¹

¹ Interní hematologická a onkologická klinika LF MU a FN Brno

² Středoevropský technologický institut (CEITEC), MU Brno

Úvod: Přítomnost mutací v kinázové doméně (KD) fúzního genu *BCR::ABL1* je jedním z mechanismů rezistence na léčbu tyrozinkinázovými inhibitory (TKI) u pacientů s chronickou myeloidní leukemií (CML). Jejich detekce, zvláště pak detekce klíčové mutace T315I, je zcela zásadní pro včasnou terapeutickou intervenci.

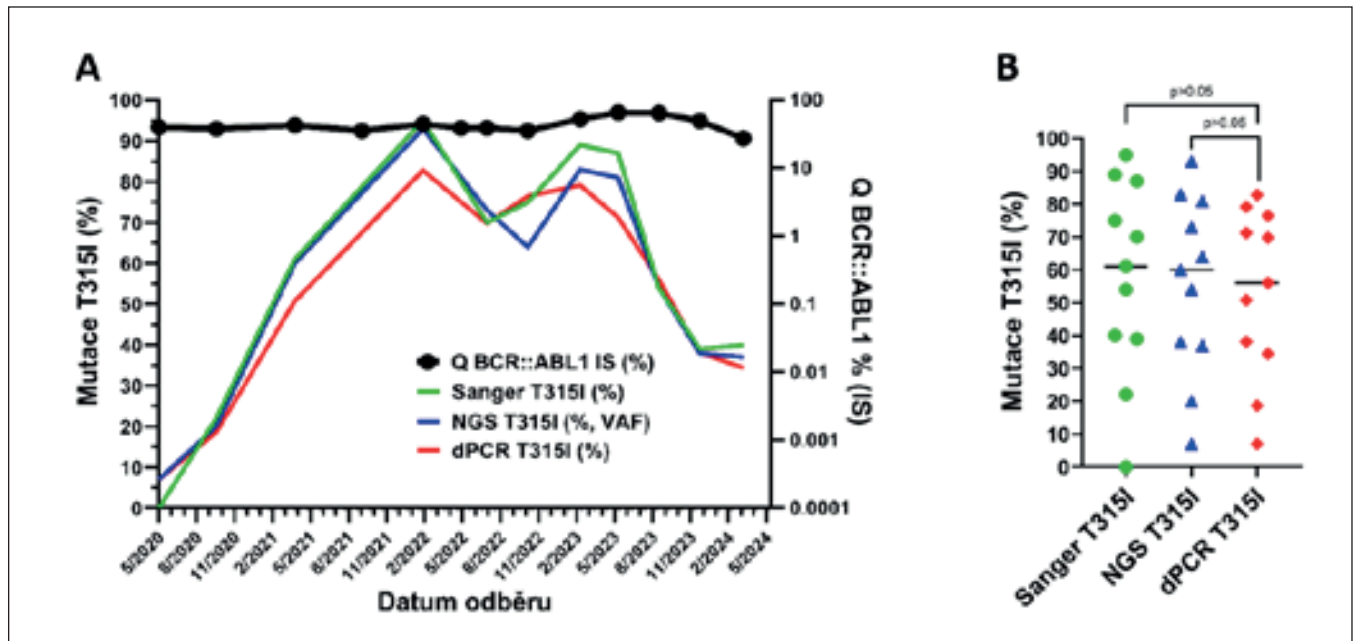
Cíl: Pomocí nové metody digitální PCR (dPCR) jsme sledovali dynamiku mutace T315I u vybrané pacientky s CML léčené pomocí TKI. Dále jsme porovnali tuto metodu s dvěma dalšími dostupnými metodami pro detekci mutací v *BCR::ABL1* KD – sekvenování dle Sanger a amplikonové NGS sekvenování.

Výsledek: Metodou dPCR jsme retrospektivně analyzovali celkem 11 odběrů (05/2020 až 03/2024) pacientky s CML s dříve detekovanou mutací T315I. Ve všech odběrech jsme byli schopni tuto mutaci detekovat ve dvou analyzovaných paralelách pro každý vzorek. Dále jsme pro porovnání provedli mutační analýzu všech vybraných odběrů pacientky pomocí dalších dvou dostupných metod. Z grafu v příloženém obrázku lze vyčíst, že průběh dynamiky mutace T315I je srovnatelný u všech tří metod. Nepozorovali jsme signifikantní rozdíl v procentuálním zastoupení mutace T315I získané pomocí dPCR v porovnání s metodou Sangerova sekvenování, resp. metodou NGS ($p^{\text{Sanger}} = 0,1016$ a $p^{\text{NGS}} = 0,1934$). Pomocí dPCR jsme byli také schopni již s předstihem detekovat T315I mutaci oproti standardní metodě, a to již v prvním analyzovaném odběru, který byl pomocí Sangerova sekvenování negativní.

Závěr: Provedení metody dPCR T315I je v porovnání s ostatními dvěma metodami rychlejší. Metoda je dostatečně sensitivní pro detekci T315I mutace s nízkým zastoupením mutovaných alel (< 5 %).

Může být tak vhodným doplňkem v diagnostice CML pro efektivní sledování dynamiky této klíčové mutace.

Podpořena grantem MZ ČR – RVO (FNBr 65269705), programem EXCELES, ID: LX22NPO5102) a projektem ERN.



Obr. 9. Juček T et al. Detekce mutace T315I pomocí digitální PCR. (A) Sledování dynamiky mutace T315I u pacientky s CML ve vybraném časovém rozmezí třemi různými metodami. (B) Srovnání hodnot mutace T315I stanovených pomocí Sangerova sekvenování, NGS a dPCR z celkem 11 odběrů. Signifikance mezi dvěma dvojicemi metod byla určena pomocí Wilcoxonova párového testu ($p^{\text{Sanger}} = 0,1016$ a $p^{\text{NGS}} = 0,1934$).

HODNOCENÍ ETIOLOGIE PLICNÍCH INFILTRÁTŮ U HEMATO-ONKOLOGICKÝCH PACIENTŮ S PROVEDENOU BRONCHOALVEOLÁRNÍ LAVÁŽÍ: ZKUŠENOSTI JEDNOHO CENTRA

Kabut T., Benkó F., Weinbergerová B., Lengerová M., Mayer J.

Interní hematologická a onkologická klinika LF MU a FN Brno

Úvod: Plicní infiltráty (PI) jsou významnou příčinou morbidity a mortality u imunokompromitovaných pacientů. Vyšetření tekutiny získané bronchoalveolární laváží (BAT/BAL) je významnou diagnostickou metodou, jejíž možnosti zejména s rozvojem molekulárně-genetických vyšetření nadále rozšiřují.

Metody: Retrospektivní analýza etiologie PI na základě komplexního hodnocení výsledků rozboru BAT a dalších doprovodných vyšetření u pacientů podstupujících BAL od 3/2021 do 3/2024 na Interní hematologické a onkologické klinice. Získaná BAT byla u všech pacientů dle standardizovaného protokolu vyšetřena cytologicky, biochemicky, flowcytometricky, kulturačně, serologicky a širokým spektrem molekulárně genetických vyšetření.

Výsledky: V sledovaném období bylo provedeno celkem 110 BAL u 86 pacientů (celkem 101 jednotlivých případů). Finální etiologie byla stanovena u 74 (73 %) případů, v 18 (18 %) případech byla etiologie stanovena jako suspektní a v 9 (9 %) případech zůstala neobjasněna. V 74 jednoznačně uzavřených případech byl výsledek rozboru BAT jednoznačný nebo rozhodující pro diagnózu v 38 (51 %) případech a v 24 (32 %) se na stanovení diagnózy spolupodílel. V 13 (18 %) uzavřených případech byla diagnóza stanovena pouze na základě jiných vyšetření. Z uzavřených případů 55 (74 %) tvořily infekční příčiny – konkrétně infekce mykotické (16; 29 %), virové (16; 29 %), bakteriální (8; 15 %), pneumocystové (4; 7 %) nebo kombinované (11; 20 %) infekce. Mykotické infekce byly klasifikovány jako prokázané (3), pravděpodobné (9) a možné (4). Neinfekční příčina byla stanovena u 14 (19 %) případů a v 5 (7 %) případech se jednalo o příčinu kombinovanou.

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

Podpořeno CELL, grantem MZČR–RVO (FNBr 65269705), programem EXCELES, ID:LX22NPO5102) a projektem ERN.

ÚSPĚŠNÁ LÉČBA KOMBINOVANOU ANTIMYKOTICKOU TERAPIÍ U PACIENTKY PO ALO-HSCT S INVAZIVNÍ PLICNÍ ASPERGILÓZOU ZPŮSOBENOU MULTIREZISTENTNÍM KMENEM ASPERGILLUS CALIDOUSTUS

Kabut T., Folber F., Weinbergerová B., Kocmanová I., Lengerová M., Mayer J.

Interní hematologická a onkologická klinika LF MU a FN Brno

Úvod: Invazivní plicní aspergilóza (IPA) je dlouhodobě nejčastějším typem invazivních infekcí způsobených vláknitými houbami u pacientů po alogenní transplantaci kmenových krvetvorných buněk (alo-HSCT). V souvislosti s rozšířením antimykotické profylaxe posakonazolem dochází k posunu spektra patogenů invazivních mykotických infekcí směrem k častějšímu výskytu infekcí způsobených vzácnými mykotickými patogeny a kryptickými druhy *Aspergillus* spp. *Aspergillus calidoustus*, dříve známý jako *Aspergillus ustus*, patří mezi vzácné původce IPA s narůstající incidencí u imunokompromitovaných pacientů a je znám v souvislosti s rezistencí k většině dostupných antimykotik s vysokou mortalitou nemocných.

Popis případu: Uvádíme případ prokázané průlomové IPA způsobené kmenem *Aspergillus calidoustus* u 60leté pacientky s AML po alo-HSCT od nepříbuzného dárce 9/10 po myeloablativní přípravě. V časném potransplantačním období byla na základě pozitivivity sérového galaktomananu (GM) a přítomnosti mnohočetných nodulárních infiltrátů s haló na CT plic stanovena diagnóza pravděpodobné IPA. Pacientka byla převedena z profylaxe posakonazolem na terapii isavukonazolem s podporou infuzemi granulocytů a G-CSF. Na terapii došlo nicméně k další progresi IPA a na základně PCR vyšetření séra byla zjištěna přítomnost kmene *Aspergillus calidoustus*, jež byl později potvrzen i z biopsie plicního ložiska. Zavedená terapie byla upravena na kombinovanou léčbu liposomálním amfotericinem B, isavukonazolem, mikafunginem a terbinafinem a podávána celkem 40 dní. Na terapii došlo k poklesu GM a regresi plicního postižení, zároveň se ale rozvinula renální insuficience. V dalším průběhu jsme proto terapii již modifikovali na udržovací léčbu mikafunginem, isavukonazolem a terbinafinem. V léčbě pacientka pokračuje po dobu dalších 5 měsíců s dosažením parciální regrese onemocnění, bez klinických známek infekce.

Závěr: Případ zdokumentoval závažnou IPA úspěšně léčenou kombinací antimykotik s podpůrnou léčbou a frekventní monitorací.

Podpořeno CELL, grantem MZČR-RVO (FNBr 65269705), programem EXCELES, ID: LX22NP05102) a projektem ERN.

HOJENÍ MALIGNÍ RÁNY U PACIENTA S ANAPLASTICKÝM VELKOBUNĚČNÝM LYMFOMEM

Kalodová Hadačová J., Večerka R.

IHO FN Brno

Úvod: Maligní rána bývá spojována s nádorovým onemocněním a pro pacienta představuje velkou fyzickou, psychickou, ale také sociální zátěž. Tento typ rány se nejčastěji vyskytuje u pacientů s pokročilým nádorovým onemocněním a u většiny z nich nelze očekávat úplné zhojení. Společným cílem zdravotníků je zlepšit kvalitu života nemocného, protože rána mnohdy silně zapáchá, secernuje a bolí. Nejčastějším způsobem ošetření je pravidelné převazování a využití moderních materiálů podporujících hojení maligní rány.

Obsah: Kazuistika popisuje non compliance pacienta s agresivním lymfomem, kterému v terénu sekundárně se hojící operační rány vznikla i lokalizovaná maligní rána. U pětáctyřicetiletého pacienta byla podána agresivní chemoterapie, která nebyla standardní pro jeho věk. Bylo nutné nastavit individuální přístup v léčbě lymfomu a zároveň šetrně a efektivně řešit hojení ran. Pacient měl množství přidružených infekčních komplikací a nevyhovující sociální zázemí vhodné pro onkologického nemocného.

Závěr: Cílem příspěvku je vyzdvihnout náročnost péče o maligní ránu a psychiku nemocného u pacienta s lymfomem. Poukazuje na nezbytnost souhry celého týmu, který se na ošetřování podílel, a také na materiál k hojení, který může být vnímán jako netradiční.

LEPTOMENINGEÁLNÍ LEUKEMICKÁ INFILTRACE A PROGRESIVNÍ MULTIFOKÁLNÍ LEUKOENCEFALOPATIE U PACIENTA S DOPOSUD NELÉČENOU CHRONICKOU LYMFOCYTÁRNÍ LEUKEMIÍ – ZKUŠENOST S KOMBINOVANOU LÉČBOU IBRUTINIBEM A HAPLOIDENTICKÝMI JCV VIRUS SPECIFICKÝMI DÁRCOVSKÝMI LYMFOCYTY

Kaščák M.¹, Kořístek Z.¹, Mihályová J.¹, Lachnit M.¹, Koutná I.², Hanzlíková P.³, Horák A.⁴, Hájek R.¹

¹ Klinika hematologie LF OU a FN Ostrava

² Centrum buněčného a tkáňového inženýrství, FN u sv. Anny v Brně

³ Ústav radiodiagnostický, LF OU a FN Ostrava

⁴ Klinika rehabilitace a tělovýchovného lékařství FN Ostrava

Úvod: Leukemická infiltrace centrálního nervového systému (CNS) a progresivní multifokální leukoencefalopatie (PML) jsou vzácné

komplikace u pacientů s chronickou lymfocytární leukémií (CLL). Reaktivace JC polyomaviru (JCv) může vést k devastujícímu a často fatálnímu demyelinizačnímu onemocnění CNS v podobě PML. Neexistuje standardní léčba pro CNSi nebo PML u pacientů s CLL. Představujeme případ pacienta s CLL s leptomeningeální infiltrací CNS a současně PML léčeného ibrutinibem a haploidentickými JCv-specifickými dárcovskými cytotoxickými lymfocyty (JCv-VSL).

Metody: V únoru 2024 byl hospitalizován 58letý pacient s doposud neléčenou CLL s postupným zhoršováním kognitivních a paměťových funkcí. Kontrastní nukleární magnetická rezonance (NMRI) hlavy zobrazila infiltraci mening a demyelinizační ložisko frontálního laloku. Analýza mozkomíšního moku potvrdila patologickou populaci CLL fenotypu (239/969 buněk) a JCv pozitivitu. Byla zahájena léčba CNSi ibrutinibem (480 mg/den). V březnu 2024 bylo podáno $1,11 \times 10^6$ CD3+IFN γ + JCv-VSL od haploidentické sestry.

Výsledky: Před podáním VSL došlo k výrazné regresi leptomeningeálního syčení, pacient zůstal ale nadále těžce encefalopatický. Navzdory podání JCv-VSL a pokračující léčbě ibrutinibem se stav pacienta progresivně zhoršoval se ztrátou mobility, hemiparézou a dysfagií. Testy JCv-VSL byly negativní 1., 2. a 3. týden po podání. NMRI 2 týdny po VSL ukázalo supra a infratentoriální progresi s edémem mozečku a prodloužené míchy. Intenzivní léčba dexamethasonem byla bez efektu a po zhoršení stavu byla terapie ukončena.

Závěr: Infiltrace CNS u lymfoproliferativních onemocnění je život ohrožující komplikace i přes cílenou terapii. Léčba PML pomocí VSL je omezena dostupností vhodného dárce. Využití registrů HLA typizovaných dárců trombocytů a opakované podání VSL by mohlo zlepšit kontrolu JCv infekce a přežití pacientů.

HEPARINEM INDUKOVANÁ TROMBOCYTOPENIE Z JINÉHO ÚHLU POHLEDU

Kavanová M.

Institut klinické a experimentální medicíny

Heparinem indukovaná trombocytopenie je v poslední době často skloňované téma. Důvodem je především lepší pochopení patofyziologie celého procesu a zlepšení diagnostiky, tedy lepší dostupnost a širší spektrum použitelných metod s velmi dobrou senzitivitou a specifitou. Díky těmto pokrokům je laboratorní diagnostika tohoto málo frekventovaného, ale o to závažnějšího stavu jednodušší a lépe dostupná. Pracoviště HTO (Hematologicko-transfuzní oddělení) IKEM testuje HIT již dlouhou dobu a mělo možnost vyzkoušet a porovnat metody jak z praktického, tak diagnostického úhlu pohledu.

U HIT je důležité se nejenom soustředit na její laboratorní testování, ale je vhodné se zamyslet nad příčinou vzniku tohoto stavu a zvážit možnost rozšíření diagnostiky i u případů, které se v současné době netestují.

DLOUHODOBÉ SLEDOVÁNÍ ÚČINNOSTI A BEZPEČNOSTI INTERMITENTNÍ LÉČBY CML

Klamová H.^{1,2}, Srbová D.¹, Šťastná Marková M.^{1,2}, Pecherková P.¹, Khaddourová K.¹, Žižková H.¹, Machová-Poláková K.^{1,2}

¹ Ústav hematologie a krevní transfúze, Praha

² Ústav klinické a experimentální hematologie 1. LF UK, Praha

Vysazování léčby inhibitory tyrozinových kináz (TKI) je již možné v běžné praxi u pacientů s chronickou myeloidní leukémií (CML). Existuje však skupina pacientů, kteří splňují kritéria pro vysazení, kterého se však obávají a zastavit léčbu odmítají. Alternativou pro tuto skupinu pacientů je přerušování léčby s cílem snížit či eliminovat nežádoucí účinky dlouhodobé léčby.

Cíl: Zhodnotit efektivitu přerušované léčby TKI ob měsíc s dopadem na udržení velké molekulární odpovědi (MMR) a ústup nežádoucích účinků.

Metody: Soubor pacientů s CML léčených TKI > 3 roky a současně > 2 roky v MR4 odpovědi (hladina transkriptu BCR-ABL1 \leq 0,01% dle IS). Intermitentní režim léčby (IR) znamená měsíční střídání užívání a neužívání TKI. Pravidelné monitorování hladiny transkriptu BCR-ABL1 v IS. Při ztrátě velké molekulární odpovědi (MMR), vzestupu BCR-ABL1 > 0,1 %, opětné zavedení kontinuálního léčebného režimu. Projevy nežádoucích účinků léčby (NÚ) hodnoceny dle CTCAEv4.03. Statistická analýza zahrnovala použití Kaplan-Meierových křivek přežití a kumulativní incidence pro vyhodnocení dat.

Výsledky: Hodnoceno 40 nemocných v mediánu věku 55 let (28–75), léčených v ÚHKT v období 10/2012–3/2024 v IR. Medián trvání kontinuální léčby TKI do zahájení IR byl 74 měsíců (40–195), medián trvání dosažené MR4 46 měsíců (25–174). Po zahájení IR zůstalo v MMR 53 % nemocných. Po ztrátě MMR a zpětném zavedení kontinuálního režimu zpět dosaženo MMR v mediánu 5,6 měsíců (1–21), konkrétně do 6M: 63 %, 12M: 84 % a 18M: 95 % nemocných. U 80 % nemocných došlo po zavedení IR k výrazné redukci NÚ léčby.

Závěr: Zhruba polovina pacientů si zachovala MMR při intermitentním vysazování léčby a dlouhodobém sledování, což je srovnatelné s daty při trvalém vysazení léčby. IR léčby pacientů s CML v dlouhodobé DMR je reálnou a bezpečnou alternativou k léčbě kontinuální. Významné bylo zlepšení kvality života, v souvislosti s minimalizací projevů NÚ léčby.

Podpořeno MZ ČR – RVO (ÚHKT – 0003767).

IN-HOUSE PANEL FOR DETECTION OF SOMATIC MUTATIONS IN FREE CIRCULATING DNA OF PATIENTS WITH DIFFUSE LARGE B-CELL LYMPHOMA USING NEXT GENERATION SEQUENCING

Klieber R.¹, Ostašov P.², Holubová M.², Macečková D.², Lysák D.¹, Jindra P.¹

¹Department of Hematology-Oncology, University Hospital Pilsen

²Biomedical Center, Faculty of Medicine Charles University in Pilsen

Background: Diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) is the most common non-Hodgkin's lymphomas in adults. Free circulating DNA (cfDNA) represents an easily available biological material for molecular genetic testing of patients in whom tumour cells are not typically released into peripheral blood and body fluids. In lymphomas and other diseases, it has been proven that detection of cfDNA and its concentration correlates with the prognosis and the cancer state.

Objective: The work focused on the creation of a multiplex panel for next-generation sequencing (NGS) for identification and monitoring of somatic mutations in cfDNA in patients with DLBCL.

Methodology: cfDNA of 14 patients with DLBCL was isolated from whole plasma of non-clotting peripheral blood within two hours from collection. cfDNA was subsequently amplified using 49 primer pairs, targeting the coding regions of 9 genes: *CDKN2A*, *BCL6*, *MYD88*, *CD79B*, *EZH2*, *BCL2*, *TP53*, *CARD11* and *MYC*. Magnetically purified multiplex PCR products were used for NGS library preparation.

Results: Multiplex PCR reactions were optimized and sequencing data demonstrated sufficient quality and coverage across all loci (except *TP53* exon 5) for subsequent analyses. Examination of the mutational profile in cfDNA revealed a several-fold decrease in variants during treatment. The median number of variants detected at the time of diagnosis was 41 (min = 25, max = 94) out of which only 9 (min = 4, max = 16) were detectable after the first treatment cycle and 6 (min = 3, max = 14) after the second cycle of treatment.

FNPI 00669806, SVV 260 561, Cooperation – research area ONCO.

DIGITÁLNÍ MORFOLOGIE – POMOCNÍK V HODNOCENÍ PERIFERNÍ KRVE A KOSTNÍ DŘENĚ

Kolářová S.¹, Šlégrová D.²

¹Ústav laboratorní medicíny LF OU a FN Ostrava

²Nemocnice Jihlava

Digitální mikroskopie se v době svého uvedení do rutinní praxe stala převratnou novinkou v oblasti automatizace morfologického hodnocení nátěrů periferní krve. Díky řadě charakteristik, např. rychlosti analýzy či možnosti skupinového zobrazení nebo uchovávání obrazové dokumentace, představuje významného pomocníka při analýze krevních nátěrů. Nastavením souboru

definovaných algoritmů přispívá také ke zvýšení efektivity práce, automatizaci a standardizaci mikroskopické analýzy obecně zatížené vysokou mírou subjektivitu a variability. Automatizované technologie nacházejí v laboratorních procesech stále více uplatnění, a to nejen v oblasti hodnocení nátěrů periferní krve, ale nově také v oblasti analýzy kostních dření. Přestože je však digitální morfologie na výrazném vzestupu a preklasifikační moduly jsou již nedílnou součástí řady hematologických linek, stále má svá určitá omezení a nemůže vždy nahradit úlohu zkušeného morfologa. V přednášce budou zhodnocena dřívější a aktuálně běžná nastavení digitální morfologie se svými výhodami a nevýhodami v porovnání s manuální mikroskopii, rozšířena především v laboratořích menší velikosti. Zároveň budou představeny novinky v této oblasti jak z hlediska nových typů analyzátorů, tak z hlediska zavádění umělé inteligence do digitální morfologie.

SEXUALITA V PALIATIVNÍ PÉČI

Koňářík M.

Klinika hematookologie FN Ostrava

Lidská sexualita a otázky s ní spojené jsou, resp. měly by být, nedílnou součástí péče o všechny pacienty. Vždyť na známé Maaslowově pyramidě hodnot patří uspokojení sexuálních potřeb mezi základní lidskou potřebu. Je zřejmé, že člověk v nemoci často hierarchii přehodnocuje, neznámá to však, že je sexualita zcela odsunuta a pro člověka nedůležitá. Na Klinice hematookologie FN Ostrava se tématem zabýváme a již vznikl sesterský pilotní projekt ke zjišťování problémů v intimních oblastech u našich pacientů. O tom, jak je toto téma pro pacienty důležité svědčí fakt, že z 50 rozdaných dotazníků se jich 48 vrátilo vyplněných. Jak dokazují četné výzkumy, sexualita je důležitá i pro paliativní, nevléčitelně nemocné. Narážíme však na dvojitá až trojitá tabu. Není jím ostych pacientů, ale domněnky, že takto nemocný „má jiné starosti.“ K tabuizované sexualitě a nevléčitelně nemocí se pak přidává třetí faktor, tím je věk a mylné přesvědčení, že senioři aktivně sexuálně nežijí. Příspěvek přibližuje nejčastější otázky sexuality v paliativní péči, problémy a výzvy. Cílem je informovat o tématu odbornou veřejnost a přispět tak k jeho detabuizaci.

ZAJÍMAVÉ POTRANSFUZNÍ HEMOLÝZY

Kořístka M.

Krevní centrum, LF OU a FN Ostrava

Úvod: Hlášení potransfuzní hemolytické reakce (HTR) vždy vzbudí zvýšenou pozornost klinických lékařů a kooperující krevní banky. Intravaskulární hemolýza je klinicky „dramatická“ a „hrozí“ mortalitou 5–10 %, naopak extravaskulární hemolýza je většinou asymptomatická.

Cíl a metodika: Připomenutí úskalí diagnostiky HTR cestou analýzy tří kazuistik potransfuzní hemolýzy.

Výsledky: Kazuistika 1: Velmi suspektní akutní potransfuzní hemolýza (elevace bilirubinu cca o 100 $\mu\text{mol/l}$, LDH nad 4,3 $\mu\text{kat/l}$, haptoglobin pod 0,06) nebyla později potvrzena – opakovaně negativní imunohematologické vyšetření a zároveň přetrvává pozitivní efekt transfuze 2 TU ERD – vzestup hemoglobinu od 19 g/l. Kazuistika 2: Suspektní pozdní potransfuzní hemolýza po 2 TU ERD (CcD.ee a ccD.Ee) pro klinické projevy 10.–12. den po transfuzi, 13. den vstupně negativní imunohematologické vyšetření, 28. den prokázána aloprotilátka anti-E. Kazuistika 3: Pro krvácení do GIT v průběhu 11 dní podáno 9 TU ERD, z toho 5 TU ERD Kk, ale 11. den, kdy podán poslední ERD Kk, z nového krevního vzorku detekována aloprotilátka anti-K. Přechodná elevace jen bilirubinu a LDH indikovala „benigní“ extravaskulární hemolýzu.

Závěr: Hlášení suspektní HTR vyžaduje komplexní analýzu klinicko-laboratorních a imunohematologických nálezů k potvrzení či vyloučení potransfuzní hemolýzy, v případě „rizikové“ hemolýzy zajištění pacienta a vždy doporučení pro kompatibilní krevní transfuzi.

VÍCESLOŽKOVÉ IMUNOMODULAČNÍ REŽIMY V TERAPII ITP

Košťál M.

IV. interní hematologická klinika LF UK a FN Hradec Králové

Terapie ITP je obvykle pojímána jako sekvence jednotlivých terapií s cílem dosažení udržitelné remise onemocnění. V praxi se ale často jednotlivé léčebné komponenty překrývají či jsou jako kombinované cíleně zahajovány. Příkladem může být např. přidání TPOmimetika k již probíhající kortikoterapii, či nedávno publikovaná práce přidávající mykofenolát mofetil ke kortikoterapii u nově diagnostikovaných pacientů. Přidání léku do kombinace obvykle zvyšuje účinnost takové terapie s časnějším dosažením a udržením léčebné odpovědi. Cenou za takovou kombinaci může být kumulace nežádoucích účinků či finanční náročnost režimu. Vhodným vytipováním pacientů na základě prediktivních faktorů (tíže trombocytopenie, chronicity, laboratorní parametry) bude nejspíše možné vybírat vhodné pacienty pro takovou terapii a dosahovat vyššího počtu bezlékových remisí s ohledem na toxicitu zvolené terapie.

Klíčová slova: ITP – kombinované režimy – prediktivní faktory

ADOPTIVNÍ BUNĚČNÁ TERAPIE VIROVĚ SPECIFICKÝMI T-LYMFOCYTY: DOSTUPNOST DÁRCE

Koutná I., Ťapuchová I., Stedánská K., Beránek J.

Ústav histologie a embryologie, LF MU a FN u sv. Anny v Brně

Podání virově specifických T-lymfocytů (VSL) je život zachraňující strategií protivirové léčby po alogenní HSCT, a to i v případě, že konvenční léčba selže. Pro vytvoření produktu VSL jsou často vybíráni dárči tzv. třetích stran. Způsobilost dárce musí být testována

v rámci přísného screeningu dárců, protože technologie izolace je zaměřena pouze na již existující VSL. Otázkou zůstává HLA shoda dárce a příjemce, která může do jisté míry ovlivnit úspěšnost léčby. Dle kritérií pro výběr dárce je nutná shoda aspoň v 1 z deseti HLA znaků. Některé zdroje doporučují shodu alespoň ve 4 HLA znacích. Dalším a neméně důležitým kritériem je počet reaktivovaných virus specifických CD3+ lymfocytů. Hlavní otázkou ve výběru vhodného dárce je, zda upřednostnit větší HLA shodu s příjemcem před počtem virus specifických lymfocytů dárce.

EXPRESI TRANSPOZIBILNÍCH ELEMENTŮ A PIWI-INTERAGUJÍCÍCH RNA V CD34+ BUŇKÁCH U MYELOYDYSPLASTICKÝCH NEOPLÁZIÍ

Krejčík Z.¹, Kundrát D.¹, Hruštincová A.¹, Trsová I.^{1,2}, Beličková M.¹, Čermák J.³, Jonášová A.⁴, Dostálová Merkerová M.¹

¹ Oddělení genomiky, ÚHKT, Praha

² Přírodovědecká fakulta, UK, Praha

³ Laboratoř anémií, ÚHKT, Praha

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

Úvod a cíle: Myelodysplastické neoplázie (MDS) jsou poruchy hematopoetických kmenových buněk (HSC) vyznačující se genomovou nestabilitou a tendencí k leukemické transformaci. Transpozibilní elementy (TE) běžně v lidském genomu mohou představovat jeden ze zdrojů této nestability; současně se předpokládá, že tyto TE jsou mimo jiné regulovány pomocí malých nekódujících Piwi-interagujících RNA (piRNA). Ačkoli dysregulace TE/piRNA již byla popsána u některých hematologických malignit, informace o jejich expresi u MDS jsou zatím ojedinělé. Cílem bylo stanovit expresní profily TE a piRNA v HSC u různých subtypů MDS.

Metody: Pomocí NGS byly osekvenovány RNA a small-RNA knihovny připravené z celkové RNA CD34+ HSC u kohorty 80 MDS pacientů a 19 zdravých kontrol. Pro identifikaci TE byl použit nástroj SalmonTE, pro sekvence piRNA databáze piRNABank.

Výsledky: Celkem bylo identifikováno 689 TE a 257 piRNA molekul. Zatímco porovnání profilů TE/piRNA mezi MDS a kontrolami identifikovalo pouze několik signifikantně deregulovaných TE/piRNA, výraznější rozdíly byly pozorovány mezi MDS s nízkým (LR) a vysokým rizikem (HR) dle IPSS-R, a to jak na úrovni jednotlivých transkriptů, tak zejména na úrovni celkové TE/piRNA exprese (snížená TE a zvýšená piRNA exprese u HR-MDS). Tato deregulace rovněž korelovala s progresí onemocnění a s přežitím, a také se supresí mnoha procesů spojených s aktivitou buněk (buněčný cyklus a dělení, reparace DNA a OXPPOS).

Závěr: Detekované zvýšení exprese piRNA u HR-MDS může být odpovědné za snížení exprese TE; toto snížení může být potenciálním mechanismem pro únik leukemických buněk před imunitní odpovědí při progresi onemocnění.

AZV ČR (NU20-03-00412) a MZ CZ-DRO (UHKT, 00023736).

VYUŽITÍ ALOGENNÍCH OFF-THE-SHELF INKT BUNĚK V PREVENCI GVHD PO ALOGENNÍ TRANSPLANTACI KRVETVORNÝCH BUNĚK – PILOTNÍ DATA PRO KLINICKÉ HODNOCENÍ FÁZE I

Kříž T.^{1,2}, Dekojová T.^{1,2}, Gumová H.¹, Klieber R.^{1,2}, Lysák D.¹, Jindra P.¹, Rotolo A.³, Holubová M.^{1,2}

¹ Hematologicko-onkologické oddělení, FN Plzeň

² Laboratoř nádorové biologie a imunoterapie, Biomedicínské centrum, LF UK, Plzeň

³ Department of Pathobiology, School of Veterinary Medicine, University of Pennsylvania, USA

Úvod: Invariantní NKT buňky (iNKT) reprezentují subpopulaci T-lymfocytů s atributy T-lymfocytů a NK buněk, s širokým spektrem působení, zejména pak se zásadním imunomodulačním potenciálem. V preklinických studiích bylo opakovaně prokázáno, že vyšší hladiny iNKT buněk po alogenní transplantaci hematopoetických buněk (aloSCT) jsou spojeny s nižší incidencí reakce štěpu proti hostiteli (GvHD) a podání štěpu bohatého na iNKT buňky koreluje s nižším výskytem GvHD.

Cíl: V této práci jsme sledovali hladiny iNKT buněk po aloSCT a tyto korelovali s incidencí GvHD a použitou imunosupresí.

Metody: Hladiny iNKT buněk v 1 měsíci po aloSCT byly flowcytometricky stanoveny u 34 pacientů. Zdrojem byly u všech pacientů periferní krvetvorné buňky, nejčastěji pocházely buňky od shodného dárce (79 %), v 15 % byl dárce neshodný a haploidentický dárce byl využit u 6 % pacientů. Potransplantační cyklofosamid (PTCy) v rámci prevence GvHD byl využit u 9 pacientů (27 %), u ostatních byl v rámci prevence GvHD aplikován anti-thymocytární globulin a methotrexát.

Výsledky: Medián(m) hladiny cirkulujících iNKT buněk byl 37 buněk/ml krve (rozptyl(r) 0–4 977). Hladiny iNKT buněk byly 1,7× nižší u pacientů s GvHD (m = 29,6, r = 0–4977) v porovnání bez (m = 51,7, r = 1,5–6507). Hladina iNKT buněk byla také významně nižší u pacientů, u kterých byl využit PTCy (m = 1, r = 0–30; jiná suprese m = 89, r = 0–6507).

Závěr: V této pilotní unicevrické studii jsme pozorovali asociaci vyšších počtů iNKT buněk po transplantaci s nižším výskytem GvHD. Dále jsme zaznamenali významně nižší hladiny těchto buněk u pacientů s PTCy. Výsledky této studie poskytují referenci a racionalizují připravované klinické hodnocení pro využití off-the-shelf iNKT buněk u pacientů po aloSCT od neshodného či haploidentického dárce.

DIFFERENTIAL FREQUENCY OF SOMATIC MUTATIONS IN CANCER-RELATED GENES BETWEEN AYA AND ELDERLY CHRONIC MYELOID LEUKEMIA PATIENTS AT DIAGNOSIS AND DURING TKI TREATMENT

Krizkova J.¹, Polivkova V.¹, Curik N.¹, Laznicka A.¹, Benesova A.¹, Suchankova P.¹, Klamova H.¹, Stastna Markova M.¹, Srbova D.¹, Zuna J.³, Zaliova M.³, Trka J.³, Semerak P.¹, Kalina T.³, Salek C.¹, Machova Polakova K.^{1,2}

¹ Institute of Hematology and Blood Transfusion, Prague

² Institute of Pathological Physiology, First Faculty of Medicine, Charles University, Prague

³ Department of Paediatric Haematology and Oncology, Second Faculty of Medicine, Charles University and Univ. hospital Motol, Prague

Studies indicate that chronic myeloid leukemia (CML) patients diagnosed aged 18-39 years (adolescent and young adults, AYAs), had a worse outcome of tyrosine kinase inhibitors (TKI) therapy compared to elderly patients. We aimed to characterize the mutation landscape of CML AYAs in chronic phase (CP) at diagnosis and follow-up in comparison to pediatric and elderly patients, and to track their clonal evolution. Ph-positive acute lymphoblastic leukemia (Ph+ ALL) patients were included for comparison. Somatic mutations were analyzed by NGS. Genomic *BCR::ABL1* (*gBCR::ABL1*) and mutations were quantified using ddPCR in FACS-sorted neutrophils, monocytes, T- and B-lymphocytes. At diagnosis, a higher frequency of somatic mutations was detected in CML AYAs (27%, 20/75) compared to elderly (20%, 18/92), and children (12%, 2/17). The similar trend was observed in Ph+ ALL patients (8/15 of AYAs, 14/36 of elderly, 7/32 of pediatric). *ASXL1* was the most frequently mutated gene in both CML AYAs and elderly. AYAs with *ASXL1* mutations at diagnosis had lower probability of progression-free survival compared to patients with no mutations. Additionally, most of them did not acquire mutations during TKI treatment, unlike elderly patients. Analysis of 12 CML patients identified 3 patterns of clonal evolution. All mutations were detected in *gBCR::ABL1* positive neutrophils and monocytes. AYAs had the highest number of mutations detected at diagnosis with different spectrum in CML-CP and Ph+ ALL. Frequently mutated *ASXL1* in CML-CP across the age groups suggests disease related event. Clonal analysis outlined that myeloid, but not lymphoid stem/progenitor cells were mutated.

MHCZ NU21-07-00225; DRO (IHBT, 00023736), BBMRI.cz no. LM2023033.

SÉROVÉ HLADINY IL-10 A SOLUBILNÍHO TNFR-RECEPTORU TYPU II SOUVISÍ S PŘEŽITÍM NEMOCNÝCH S MDS VYŠŠÍHO RIZIKA LÉČENÝCH AZACYTIDINEM – VÝSLEDKY PILOTNÍ STUDIE

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

¹ Katedra vojenského vnitřního lékařství a vojenské hygieny, Vojenská lékařská fakulta Univerzity obrany, Hradec Králové

² IV. interní hematologická klinika FN Hradec Králové

Východiska: Možnosti léčby MDS vyššího rizika jsou omezené na azacytidin, venetoclax a alogenní transplantaci krvetvorných buněk. Cílem této pilotní studie bylo popsat faktory nádorového prostředí, které souvisí s přežitím těchto nemocných.

Metody: Analyzovali jsme 46 nemocných léčených azacytidinem. Medián věku skupiny je 71,7 roku. Nemocní byli indikováni k léčbě dle IPSS a IPSS-R v maximální dávce 7× 75 mg/m² v cyklu, s redukcí dle závažnosti cytopenií a individuální tolerance. Alogenní transplantace byla provedena u 7 jedinců v tomto souboru. Séra nemocných byla odebrána před zahájením léčby, ihned zpracována, zamražena a skladována při -70 °C. Analyzovali jsme panel cytokinů a solubilních adhezních molekul s využitím Randox proteinových biočipů. Analýza zahrnovala interleukiny (IL)-1 α , 1 β , 2, 4, 6, 8, 10, EGF, VEGF, IFN- γ , TNF- α , Monocyte Chemotactic Protein-1, E-selectin, P-selectin, L-selectin, ICAM-1, VCAM-1, solubilní receptory pro IL-2, IL-6, TNF- α typ I a II (sTNFR-1, sTNFR-2) a matrix metalloproteinázu 9. Statistická analýza byla provedena v R-statistickém prostředí. Mezní hodnota pro každý faktor byla spočítána pomocí ROC analýzy. S tímto rozdělením bylo analyzováno přežití nemocných.

Výsledky: Věk koreloval nejlépe s hladinami MMP-9 (R = -0,53; p = 0,0928). Neprokázali jsme souvislost cytogenetických změn ani IPSS/IPSS-R se sledovanými faktory. P-selectin koreloval s počty trombocytů (R = 0,667; p = 0,0001). Celkové přežití souviselo s IL-10 (Kaplan-Meier p = 0,0072) a sTNFR-2 (p = 0,015).

Závěr: Nádorové mikroprostředí může mít souvislost přežitím nemocných s MDS vyššího rizika. Rádi bychom potvrdili naše nálezy na větším souboru nemocných. Vybrané faktory mikroprostředí mohou být cíleně ovlivňovány v rámci inovativních léčebných postupů.

Práce byla podpořena z DZRO-FVZ22-KLINIKA II.

REÁLNÁ PRAXE V LÉČBĚ CHRONICKÉ MYELOIDNÍ LEUKEMIE V ČESKÉ REPUBLICĚ – ANALÝZA DATABÁZE INFINITY ZA ROK 2023

Kvetková A.¹, Klamová H.², Karas M.³, Faber E.⁴, Bělohávková P.⁵, Stejskal L.⁶, Cmunt E.⁷, Černá O.⁸, Čičátková P.¹, Horňák T.¹, Semerád L.¹, Procházková J.¹, Stelzelová Š.¹, Chrápavá M.⁹, Mayer J.^{1,10}, Žáčková D.¹

¹ Interní hematologická a onkologická klinika LF MU a FN Brno

² Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

³ Hematoonkologická klinika LF UK a FN Plzeň

⁴ Hematoonkologická klinika LF UP a FN Olomouc

⁵ IV. Interní hematologická klinika LF UK a FN Hradec Králové

⁶ Klinika hematoonkologie LF OU a FN Ostrava

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

⁸ Interní hematologická klinika 3. LF UK a FNKV, Praha

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

¹⁰ Středoevropský technologický institut (CEITEC), MU Brno

Cíl: Analýza reálných dat pacientů s chronickou myeloidní leukémií (CML) v ČR v databázi INFINITY – projektu České leukemické skupiny pro život (CELL) ve spolupráci s Institutem biostatistiky a analýz, s.r.o. (IBA).

Metody: Komplexní retrospektivní analýza epidemiologie, volby terapie, nežádoucích účinků, efektivity, důvodů ke změně terapie a přežití u pacientů s diagnózou CML v reálné praxi.

Výsledky: Analyzována byla data 1991 (79,4 %) pacientů diagnostikovaných od 1. 1. 2005 z celkového počtu 2 407 pacientů v databázi. 1 807 (94,6 %) pacientů bylo diagnostikováno v chronické fázi (CP) a 101 (5,3 %) v akcelerované fázi/blastickém zvratu (AP/BP). V CP byl v rámci 1. linie terapie volen imatinib u 1434 (80,9 %) pacientů, z čehož 803 (56,1 %) léčbu ukončilo z důvodu rezistence (43,7 %), intolerance (20,4 %), úmrtí (17,8 %), cíleného vysazení (8,6 %) a jiných důvodů (9,3 %). Nežádoucí účinky (NÚ) imatinibu byly přítomny u 50,1 % pacientů, z toho grade 3 a vyšší u 17,1 %. Nilotinib byl lékem volby v I. linii u 217 (12,3 %) a dasatinib u 24 (1,4 %) pacientů. V obou případech byla léčba ukončena ve více než 50 % případů. Kumulativní incidence dosažení MMR po 2 letech terapie pro pacienty v I. linii dosahovala 59,1 %. Pacienti v AP/BP dosahují ve všech parametrech výrazně horších léčebných výsledků.

Závěr: Databáze INFINITY poskytuje robustní data o pacientech s CML z reálné klinické praxe. Poskytuje neocenitelné informace zejména díky dlouhodobému sledování efektivity a toxicity podávané terapie. Jejím základem je kvalitní centralizovaná péče o pacienty s CML v ČR.

Práce byla podpořena projektem Národního ústavu pro výzkum rakoviny (Program EXCELES, ID: LX22NPO5102) – Financováno Evropskou unií – Next Generation EU.

EXPLORING VENETOCLAX RESISTANCE MECHANISMS IN AML CELLS THROUGH GENOME-WIDE CRISPR SCREENS AND DRUG PROFILING

Ladungová A.^{1,2}, Stylianou F.^{1,3}, Peschelová H.^{1,2}, Lodhi Y.^{1,3}, Dostálová L.^{1,3}, Gottumukkala N.V.^{1,3}, Šmída M.^{1,4}

¹ Central European Institute of Technology, Masaryk University, Brno

² National Centre for Biomolecular Research, Faculty of Science, Masaryk University, Brno

³ Department of Biology, Faculty of Medicine, Masaryk University, Brno

⁴ Department of Internal Medicine – Hematology and Oncology, Medical Faculty of Masaryk University and University Hospital Brno

Recent studies show promising outcomes for venetoclax in the treatment of AML patients ineligible for intensive chemotherapy. Despite its success, up to one third of the patients do not respond to the therapy, and many experience disease relapse. One of the factors contributing to its lack of efficacy is alterations in the apoptotic pathway – mainly overexpression of *MCL1* or *BCL XL* genes. Other factors and their interactions remain unresolved. To address this problem, our study aims towards revealing and understanding the key contributors to venetoclax resistance and finding novel molecular targets to combat the lack of treatment options. In this project, we generated venetoclax-resistant (VeR) AML cells derived from the following cell lines: MOLM-13, HL-60 and MV4-11. We then used RT-PCR and RNA sequencing to reveal the alterations caused by resistance generation. VeR cells were subjected to drug screening against a library of 859 approved drugs and the top performing drugs were further examined. In parallel, we performed genome-wide CRISPR/Cas9 knockout screening using the Brunello CRISPR knockout library on both MOLM-13 wild-type and VeR cell lines. Results from the CRISPR screen revealed several genes whose loss sensitized the cells to venetoclax – *MCL1*, *MARCH5*, *UBE2J2*. We also identified genes whose deficiency may contribute to the venetoclax resistance – *BAX*, *NOXA*, *ELAVL1*, *TP53*. We further confirmed the deregulation in the apoptotic and metabolic pathway through RNAseq and identified DNA damaging agents, proteasome and HDAC inhibitors as the top candidates for all VeR cell lines via drug screening.

This project was partly supported by grants OPRDE (No. CZ.02.2.69/0.0/0.0/19_073/0016943), MUNI/A/1558/2023 and project NICR (EU program EXCELES, No. LX22NPO5102).

ÚSPĚŠNÁ LÉČBA TROMBOTICKÉ MIKROANGIOPATIE ASOCIOVANÉ S TRANSPLANTACÍ – KAZUISTIKA

Lánská M., Zavřelová A., Radocha J., Víšek B., Žák P.

IV. interní hematologická klinika LF UK a FN Hradec Králové

Trombotická mikroangiopatie asociovaná s transplantací (TA-TMA) je závažnou komplikací po alogenní transplantaci krvetvorných

buněk. Onemocnění je bohužel provázeno vysokou mortalitou. Před objasněním úlohy dysregulace komplementu v patofyziologických mechanismech vzniku TA-TMA byla lékem volby i přes nepřesvědčivé výsledky výměnná plazmaferéza. Onemocnění je způsobené mikrovaskulární endoteliální dysfunkcí a aktivací komplementu. Příčina bývá zpravidla multifaktoriální, vč. vrozené predispozice (endoteliální dysfunkce a genetické změny komplementu), dále se na vzniku podílí toxicita přípravného režimu transplantace krvetvorných buněk nebo profylaxe a léčba reakce štěpu proti hostiteli. Objasnění příčiny onemocnění vedlo i ke změně léčebné strategie. V poslední době se objevují případy úspěšné léčby eculizumabem, humanizovanou monoklonální protilátkou proti C5 složce komplementu, která blokuje terminální dráhu komplementu. V naší kazuistice bychom chtěli představit léčbu pacienta s TA-TMA. Jednalo se o 43letého muže, který pro akutní myeloidní leukemii podstoupil alogenní nepřibuzenskou transplantaci krvetvorných buněk. 90. den po transplantaci došlo ke zhoršení renálních funkcí a objevily se příznaky mikroangiopatické hemolytické anémie (MAHA) – hemoglobin 82 g/l, trombocyty $26 \times 10^9/l$, vzestup laktátdehydrogenázy na 10,08 $\mu\text{kat/l}$, schistocyty 0,068 a byl nedetekovatelný haptoglobin. Byla postupně snižována imunosuprese (tacrolimus). Příznaky MAHA progredovaly, zhoršovaly se renální funkce, proto byla zahájena série výměnných plazmaferéz, jako náhradní tekutina byla použita solvent-detergentní plazma. Celkem byly provedeny 4 plazmaferézy, bohužel bez efektu. Proto byla zahájena léčba eculizumabem ve standardním dávkování. Při této terapii došlo k normalizaci počtu trombocytů a pozvolné normalizaci renálních funkcí. Touto kazuistikou jsme chtěli představit nové léčebné možnosti v léčbě TMA asociované s transplantací.

NÍZKÁ AKTIVITA ADAMTS13 NEZNAMENÁ VŽDY TTP

Lánská M., Zavřelová A., Radocha J., Víšek B., Žák P.

IV. interní hematologická klinika LF UK a FN Hradec Králové

Kasuistika popisuje případ 42letého muže s anamnézou abuzu alkoholu, který byl přijat na interní kliniku pro hepatorenální selhání a minerálový rozvrat (bilirubin 249 $\mu\text{mol/l}$, kreatinin 2 278 $\mu\text{mol/l}$). Pátráno po etiologii jaterního selhání, postupně byly vyloučeny známé příčiny selhání vč. otrav. Dle biopsie jater byl stav uzavřen jako akutní alkoholická steatohepatitida, zahájena léčba kortikosteroidy. Stav pacienta progredoval, přidala se respirační insuficience. V laboratoři trval obraz hepatorenálního selhání a nově se objevila bicytopenie – anémie s hodnotou hemoglobinu 76 g/l, objem erytrocytů 101,8 fl a závažná trombocytopenie $8 \times 10^9/l$. Byl konzultován hematolog, doplněny odběry k vyloučení hemolýzy, provedena substituce trombocytů, která ale bez efektu. V rámci komplexní diagnostiky bicytopenie proveden odběr k vyšetření aktivity enzymu ADAMTS13, kde překvapivě byla aktivita významně snižena na 7 % (0,07 IU/ml), antigen ADAMTS13 byl 0,12 IU/ml. Později bylo doplněno vyšetření protilátky, které bylo negativní. Všechny provedené testy vyloučily

mikroangiopatickou hemolytickou anémii (schistocyty nízké 0,002, haptoglobin v normě). Výměnná plazmaferéza proto nebyla indikována. Byla hledána jiná příčina bicytopenie. Byla doplněna sternální punkce, která prokázala významnou hemofagocytózu. Kromě bicytopenie byla splněna i další diagnostická kritéria pro hemofagocytární lymfohistiocytózu – hypertriglyceridémie, zvýšená hodnota ferritinu, teploty. Byla zahájena léčba kortikoidy s rychlou úpravou hodnot trombocytů. Kontrolní vyšetření aktivity ADAMTS13 prokázalo pouze mírné snížení aktivity (0,27 IU/ml). Pokles aktivity enzymu ADAMTS13 souvisel se závažnou jaterní cirhózou. Snížení aktivity ADAMTS13 je popisováno zejména u pacientů se současnou encefalopatií, hepatorenálním syndromem a refrakterním ascitem, může být známkou aktivity onemocnění.

KDYŽ BOLEST NA HRUDI PATŘÍ DO PÉČE HEMATOLOGA

Lánská M., Skopal D., Zavřelová A., Radocha J., Víšek B., Žák P.

IV. interní hematologická klinika LF UK a FN Hradec Králové

Kazuistika popisuje případ 47leté ženy s náhle vzniklou bolestí na hrudi. EKG obraz i laboratoř odpovídaly akutnímu koronárnímu syndromu, proto byla pacientka okamžitě transportována na kardiologickou kliniku. Zde byla provedena urgentní koronarografie. Koronární tepny byly ovšem bez stenóz, ventrikulografie prokázala obraz stresové kardiomyopatie s poklesem ejekční frakce na 35–40 %. Překvapivým nálezem byla ale závažná trombocytopenie ($20 \times 10^9/l$), přitom ještě den předtím byla hodnota trombocytů normální ($237 \times 10^9/l$). Byl konzultován hematolog. V laboratorním obrazu dominovala přítomnost schistocytů, zvýšené hodnoty laktát dehydrogenázy a kreatininu s rychle nastupující anurií. Vysloveno podezření na trombotickou mikroangiopatii (TMA) a neprodleně zahájena léčba kortikosteroidy a výměnnou plazmaferézou. Renální insuficience si vyžádala zahájení intermitentní dialýzy. Ovšem hladina aktivity enzymu ADAMTS13 nesplňovala kritéria pro trombotickou trombocytopenickou purpuru ($0,33$ IU/ml). Obraz TMA, renálního selhání s anurií, nepřítomnost průjmů v anamnéze nás vedl k diagnóze komplementem mediovaneho hemolyticko uremického syndromu a již 2. den hospitalizace byla zahájena léčba eculizumabem a ukončeny výměnné plazmaferézy. Při této léčbě dochází k postupné normalizaci trombocytů (7. den léčby $168 \times 10^9/l$), renální funkce se také pozvolna reparovaly, po týdnu již baly pacientka bez nutnosti dialýzy. Nemocná léčená nadále eculizumabem v ambulantním režimu, provedeno nezbytné očkování. Následné genetické vyšetření prokázalo genetický podklad onemocnění, proto nemocná ponechána na terapii eculizumabem, po 6 měsících přechod na ravulizumab. Při této terapii nedošlo k relapsu onemocnění, renální funkce se normalizovaly, krevní obraz je normální. Touto kazuistikou bychom chtěli upozornit na nutnost rychlé diferenciální diagnostiky TMA, protože jenom včasné zahájení správné léčby může vést k záchraně pacienta.

HEMOGLOBINY S VYSOKOU AFINITOU KE KYSLÍKU – VZÁCNÁ PŘÍČINA ERYTROCYTÓZY

Lavičková A.¹, Hajšmanová Z.¹, Beličková M.²

¹Hematologický úsek ÚKBH FN Plzeň

²Oddělení genomiky ÚHKT Praha

Diferenciální diagnostika polyglobulií je běžnou součástí každodenní praxe hematologa. U většiny pacientů se podaří diagnostikovat primární příčinu, jako jsou chronická myeloproliferativní onemocnění, nebo některou ze sekundárních příčin, např. plicní onemocnění, syndrom spánkové apnoe, AV zkratky nebo tumory ledvin. Nicméně někdy může příčina zůstat neobjasněná. V takových případech by měly být vyloučeny i vzácné hemoglobinopatie, což platilo i pro několik pacientů, jejichž nálezy jsou prezentovány v naší práci. U prvního případu familiární erytrocytózy byl potvrzen Hemoglobin San Diego (HBB: c.328G>A; p.Val110Met), u druhého případu Hemoglobin Heathrow (HBB:c.312C>G; p.Phe104Leu). Jedná se o hemoglobinopatie se zvýšenou vazbou hemoglobinu ke kyslíku, což má za následek snížené uvolňování kyslíku do tkání. Hb San Diego a Hb Heathrow jsou příklady elektroforeticky tichých hemoglobinopatií, které nelze odlišit od hemoglobinu A. Diagnostiku je tak nutno provádět metodami molekulárně genetickými. Posterové sdělení upozorňuje na tyto vzácné příčiny erytrocytózy, které se projevují jako izolovaná erytrocytóza u asymptomatických jedinců. Podezření se zvyšuje při nálezů erytrocytózy u více členů jedné rodiny. Proto doporučujeme zahrnout vyšetření vzácných hemoglobinopatií do diferenciální diagnostiky polyglobulií u pacientů, kde příčina zůstává nejasná a výskyt je familiární.

DESIGN A VALIDACE HMOTNOSTNĚ-CYTOMETRICKÉHO APOPTOTICKÉHO PANELU PRO PREDIKCI SENSITIVITY BUNĚK BLASTICKÉHO ZVRATU CML K BH3-MIMETIKŮM

Lázníčka A.¹⁻³, Vávrová A.^{2,4}, Čuřík N.^{1,3}, Křížková J.¹, Polívková V.¹,

Burda P.^{1,3}, Smažík T.¹, Semerák P.^{1,4}, Kalina T.^{2,4}, Kužílková D.^{2,4},

Machová Poláková K.^{1,3}

¹Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

²LF UK, Praha

³Ústav patologické fyziologie, 1. LF UK, Praha

⁴CLIP, Klinika dětské hematologie a onkologie 2. LF UK a FN Motol, Praha

Úvod: Léčba blastického zvratu chronické myeloidní leukemie zůstává terapeutickou výzvou, zejména u pacientů, kde selhala léčba tyrosinkinázovými inhibitory (TKI) na podkladě různých genetických aberací. BH3-mimetika, inhibitory antiapoptotických proteinů rodiny BCL2, se jeví jako potenciálně účinné léky u těchto pacientů. Cílem práce je optimalizovat apoptotický panel měřený pomocí hmotnostní cytometrie, umožňující odhalení molekulárních mechanismů vedoucí k rezistenci CML blastů na BH3-mimetika.

Metody: Klony buněčné linie KCL-22 zkříženě rezistentní k imatinibu a ponatinibu (n = 8) byly ustanoveny kultivací s narůstající koncentrací TKI. Vybrané protilátky (n = 17) proti proteinům klíčových pro apoptózu a buněčnou signalizaci byly konjugovány s izotopy kovů a validovány pozitivními a negativními kontrolami. Klony byly analyzovány pomocí hmotnostní cytometrie před a po vystavení venetoclaxu.

Výsledky: NGS analýza klonů prokázala různé mutace v *BCR::ABL1* a dalších genech. Na základě hodnot IC50 pro venetoclax byly klony rozděleny na senzitivní (< 0,5 μM) a rezistentní. Nižší hodnoty IC50 byly v korelaci se zvýšenou bazální expresí BAX a poměrem BAX/MCL1, vyšší IC50 naopak s poměry MCL1/BAX a BCL-XL/BAX. Po vystavení venetoclaxu byla u venetoclax-senzitivních klonů detekována zvýšená hladina štěpené kaspázy 3, odrážející apoptózu, a snížená aktivita *BCR::ABL1*. U rezistentních klonů byla naopak pozorována zvýšená exprese antiapoptotického proteinu MCL1 a zvýšená aktivita signálních drah STAT5, AKT a ERK, přičemž aktivita *BCR::ABL1* zůstala nezměněná.

Závěr: Hmotnostně-cytometrická analýza prokázala rozdílné bazální hladiny proteinů rodiny BCL2 u venetoclax-senzitivních a rezistentních klonů a změny aktivace signálních drah po vystavení venetoclaxu. Apoptotický panel analyzovaný hmotnostním cytometrem má prediktivní potenciál odpovědi na léčbu venetoclaxem a předpokládáme i jinými BH3-mimetiky.

Podpořeno GA UK 492222, MZ ČR – RVO (ÚHK, 00023736).

PROGNOSTICKÝ VÝZNAM PATOGENNÍCH SOMATICKÝCH MUTACÍ U PACIENTŮ S BLASTICKÝM ZVRATEM CHRONICKÉ MYELOIDNÍ LEUKEMIE LÉČENÝCH NA ÚHKT V LETECH 2004–2024

Láznička A.¹⁻³, Křížková J.¹, Suchánková P.¹, Ransdorfová Š.¹, Polívková V.¹, Šálek C.^{1,2}, Srbová D.¹, Klamová H.^{1,2} a Machová Poláková K.^{1,4}

¹ Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

² Ústav klinické a experimentální hematologie 1. LF UK a ÚHKT, Praha

³ 2. LF UK, Praha

⁴ Ústav patologické fyziologie 1. LF UK, Praha

Blastický zvrát chronické myeloidní leukemie (BC-CML) je v éře tyrosinkinázových inhibitorů raritní onemocnění, avšak jeho léčba zůstává nedostačená a je nutné hledat cíle, umožňující užití kombinované terapie pro zlepšení celkového přežití. V práci jsme se zaměřili na mutační profil 47 pacientů s BC-CML léčených na ÚHKT v letech 2004–2024 a jeho dopad na léčbu. 19/47 pacientů bylo v BC-CML již v době diagnózy (dBC-CML), 28/47 zprogredovalo na léčbě z chronické fáze (pBC-CML). NGS analýza prokázala patogenní mutace u 4/15 pacientů dBC-CML a 17/23 pBC-CML. U dBC-CML byly zachyceny mutace v *ASXL1* (3/4) a *RUNX1* (1/4), nejčastěji mutovanými geny v pBC-CML byly *BCR::ABL1* (10/23), *ASXL1* (5/23) a *RUNX1* (4/23). Celkové přežití nebylo ovlivněno přítomností mutací či high-

risk přídatnými cytogenetickými aberacemi, nicméně u pacientů s mutací *ASXL1* byl medián doby do úmrtí 6,6 měsíce (0,9–31,9) vs. 14,9 (0,3–181,5) bez mutace. Celkové přežití ovlivňovala intenzita léčby (p < 0,001) a věk, kdy pacienti nad 65 let měli pravděpodobnost přežití signifikantně nižší oproti dalším věkovým skupinám (p = 0,003). Rozdíl byl mezi pBC-CML pacienty s mutací a bez v době do progresu, medián 25,1 (4,5–134,3) vs. 34,0 (4,7–105,2) měsíců. U 6/10 pacientů byla již v době chronické fáze detekována mutace *BCR::ABL1*. Z 16/27 pacientů, kteří v průběhu léčby měli trvale vysokou hladinu *BCR::ABL1* (> 1 % IS), byla *BCR::ABL1* mutace před BC detekována jen u 4/16. V souboru 47 BC-CML pacientů neměla přítomnost mutací vliv na celkové přežití pacientů. Molekulárně-genetickým indikátorem rozvoje BC byly trvale vysoké hladiny *BCR::ABL1* > 1 % IS, tedy nedosažení kompletní cytogenetické odpovědi.

Podpořeno MZ ČR NU21-07-00225, MZ ČR – RVO (ÚHK, 00023736).

MOLECULAR EVENTS CONTRIBUTING TO THE IMMUNE-MEDIATED BONE MARROW FAILURE IN IDIOPATHIC APLASTIC ANEMIA

Lenertova Z.^{1,2}, Votavova H.¹, Kaisrlíkova M.¹, Kundrat D.¹, Vesela J.¹, Vostry M.¹, Trsova I.^{1,3}, Ransdorfova S.¹, Prochazka T.⁴, Lysak D.⁴, Jonasova A.⁵, Cermak J.¹, Belickova M.^{1,6}

¹ Institute of Hematology and Blood Transfusion, Prague

² First Faculty of Medicine, Charles University, Prague

³ Faculty of Science, Charles University, Prague

⁴ Department of Hematology and Oncology, University Hospital Pilsen

⁵ First Department of Medicine, First Faculty of Medicine, Charles University and General University Hospital, Prague

⁶ Institute of Clinical and Experimental Hematology, First Faculty of Medicine, Charles University, Prague

Idiopathic aplastic anemia (iAA) is a bone marrow failure (BMF) disorder caused by T cell destruction of early hematopoietic cells. The molecular events driving the complex pathogenesis of iAA are still unclear. Our study thus aimed to uncover novel gene variants and cellular pathways contributing to BMF in iAA. Whole exome sequencing was performed on bone marrow (BM) and matched buccal swab (BS) samples from 25 iAA patients. RNA-Seq was done on peripheral blood CD3+ cells from 10 patients and 6 controls. A total of 49 pathogenic/likely pathogenic (P/LP; 9/40) somatic variants were identified in BM samples of 19 patients (76%) at variant allele frequency (VAF) of ≥ 0.10 . Recurrently mutated genes were *PIGA*, and *HMCN1*. At VAF of ≥ 0.35 , 177 P/LP (49/128) heterozygous germline variants were found in all BM and BS samples. Recurrent germline variants were observed in *ABCA1*, *C2*, *DLD*, *TGM1*, *PCDHGA1*, and *WDR75* genes. A significant proportion of the mutated genes (25%) was functionally associated with BMF relevant biological processes such as T cell response, and DNA repair. T cell transcriptome comparison between iAA patients and controls determined 202 differentially expressed genes ($|\log_{2}FC| > 1$, FDR < 0.05) that were significantly enriched in

processes such as inflammatory and interferon-gamma response. Our study demonstrates that iAA patients harbor multiple germline variants implicated in adaptive immunity, possibly contributing to increased susceptibility to immune-mediated BMF. Similarly, acquired variants accumulate into T cell-mediated cytotoxicity processes. Transcriptome analysis of patient T cells highlights key dysregulated immune processes and metabolic reprogramming necessary for T cell activation.

Podpořeno AZV (NU21-03-00565), MH CZ-DRO (UHKT, 00023736).

JAK MŮŽE DOPADNOUT CAR-T? – KAZUISTIKA

Lindušková D., Danišová Z., Vránová J., Kouřilová P.

Interní hematologická a onkologická klinika FN Brno

Úvod: Imunoterapie pomocí T lymfocytů s chimérickým antigenním receptorem (CAR-T lymfocyty) si postupně buduje své místo v léčbě hematoonkologických onemocnění. V oblasti řešení časných nežádoucích účinků byly získány cenné zkušenosti, což vedlo ke změně aktuálních doporučení European Society for Blood and Marrow Transplantation (EBMT) a American Society for Transplantation and Cellular Therapy (ASTCT). Neurotoxická nízkého stupně se vyskytuje často, avšak méně se setkáváme se stupni grade 3–4. Nevyřešenou otázkou zatím nadále zůstává pozdní toxicita.

Obsah: V kazuistice jsou zde popsány ošetrovatelské problémy spojené s touto léčbou, zaměřeny na monitorování 54leté pacientky s diagnózou HG-BCL, v čase po podání léčebného přípravku CAR-T, u které se vyskytla neurotoxická vyššího stupně grade 4. Což i po dosažení kompletní remise nemoci následně výrazně komplikuje návrat do běžného života. Proto dále pacientka zůstává v nemocniční péči.

Závěr: S léčbou CAR-T lymfocyty se pravděpodobně dostane do většího kontaktu větší množství pacientů a tím i ošetrovatelského personálu. Na zvažování zůstává následná kvalita života pacientů a jejich návrat ke každodenním činnostem.

POROVNÁNÍ METOD NA VYŠETŘENÍ AKTIVITY METALOPROTEINÁZY ADAMTS13

Líšková R., Zemanová M., Svobodová L., Rychetská P., Szeligová H., Fenclová T., Hrachovinová I.

Laboratoř pro poruchy hemostázy, Ústav hematologie a krevní transfúze, Praha

Úvod: Stanovení ADAMTS13 aktivity je základní vyšetření pro stanovení diagnózy trombotické trombocytopenické purpury (TTP). Existuje velké množství metod, kterými se aktivita ADAMTS13 měří. Při stanovení diagnózy je kromě přesnosti důležitá i rychlost stanovení. Do nedávné doby byla nejrychlejší metoda HemosILAcuStar, chemiluminiscenční imunometoda. Byly zaznamenány závažné

rozdíly mezi AcuStar metodou a zlatým standardem měření ADAMTS13, metodou FRET5-VWF73. Obsahem našeho projektu bylo porovnat výsledky třech metod stanovení ADAMTS13.

Metody a výsledky: Metodou FRET5-VWF73 TECHNOZYM ADAMTS13 aktivity ELISA (FAE) a CEVERON TECHNOFLUOR ADAMTS13 Activity (FAC), obě *Technoclone* a metodou HemosIL AcuStar ADAMTS13 Activity- *Instrumentation Laboratory* (HAL), jsme prospektivně i retrospektivně vyšetřili 76 vzorků. K vyšetření metodou HAL je nutný přístroj BioFlash, metodou FAC koagulační automat Ceveron a metodou FAE elisa reader s fluorescenční detekcí. Provedli jsme korelace výsledků metod FAE vs HAL a FAE vs FAC. Výsledky velmi dobře korelovaly (Pearson $r = 0,923$ a $r = 0,969$). Neprokázali jsme popisované nižší hodnoty u metody HAL. Pouze u 4 vzorků jednoho pacienta se výrazně lišily výsledky FAE od obou ostatních metod. Pacient měl v době odebrání vzorků pozitivní protilátky proti ADAMTS13. Doba vyšetření metodami FAC a HAL je do 2 h, metodou FAE je do 3 h.

Závěr: Prokázali jsme, že se výsledky ADAMTS13 při porovnání tří metod na stanovení aktivity ADAMTS13 signifikantně neliší. Pro výběr metody stanovení aktivity ADAMTS13 je tedy nutné zvážit i další požadavky, a to na rychlost stanovení, které splňují všechny metody, ale také cenu vyšetření na jednoho pacienta. Velmi pozitivní je, že je možné ADAMTS13 aktivitu vyšetřit do 24 h.

DIAGNOSTIKA VROZENÝCH TROMBOCYTOPATIÍ NA ÚHKT

Loužil J.

Přednosta transfuziologického úseku ÚHKT a lékař Centra pro trombózu a hemostázu ÚHKT

Cílem mé práce bylo revidovat přístup k vyšetřování vrozených trombocytopenií (porucha funkce krevních destiček) v ÚHKT. Zabýval jsem se výzkumem skupiny 120 pacientů s podezřením na vrozenou trombocytopenii a s krvácivými příznaky. Tito pacienti jsou doposud vedeni pod diagnózou porucha primární hemostázy. Toto označení je ale pouze syndromologický popis skupiny patologií a cílem práce bylo odhalit patofyziologii a genetický podklad u každého pacienta. Stanovení přesné diagnózy je významné nejen pro následné vyšetření členů rodiny, ale taktéž pro správné zacílení léčby na základě známé patofyziologie. V práci jsem použil dostupné vyšetřovací metody, u kterých jsem sledoval jejich přínos a zároveň i jejich limity. V práci jsem využil klasickou morfologii (optický mikroskop, transmisní elektronovou mikroskopii (TEM)), světelnou transmisní agregometrii (LTA), průtokovou cytometrii, analyzátor destičkových funkcí (PFA) a genetické vyšetření – sekvenování další generace (NGS). Jako klíčovou metodu jsem zvolil NGS. Výsledkem práce bylo vytvoření našeho vlastního vyšetřovacího algoritmu, díky čemuž došlo k přiřazení správné diagnózy podstatné části sledovaných pacientů. U některých pacientů jsme se díky NGS správné diagnóze alespoň přiblížili. Byly zjištěny mutace v genech *ANKRD26*, *ITGA2B* a *F8*; dále suspektní mutace v genech *NBEAL2*, *F2*, *BLOC1S6*, *AP3D1*, *GP1BB*, *ANO6*,

CD36 a ITGB3; a v neposlední řadě nové suspektní mutace v genech *GFI1B*, *FGA*, *GP1BA*, a *ITGA2B*. Významnost použití NGS u pacientů s krvácivými obtížemi roste, což se promítá i do nových doporučení a diagnostických algoritmů. Největší nevýhodou NGS, vyjma její ceny, je výskyt mutací nejasného klinického významu. Současně byly lépe definovány role jednotlivých vyšetření v diagnostice, a u některých z nich jsme provedli modifikaci, např. u průtokové cytometrie.

POUŽITÍ OCTAPLASU U PACIENTŮ LÉČENÝCH VÝMĚNOU PLAZMAFERÉZOU SE ZÍSKANOU TTP NA ÚHKT

Loužil J. a kolektiv pracovníků Centra pro trombózu a hemostázu ÚHKT pod vedením MUDr. Salaje

Aferetické oddělení Transfuziologického úseku ÚHKT v čele

s doc. MUDr. Zdeňkou Gašovou, Ph.D. a kolektivem jejích pracovníků

Octaplas je kvalitnější a bezpečnější, SD ošetřený přípravek s minimálními nežádoucími účinky a standardizovaným složením v porovnání s čerstvě zmrazenou plazmou. V naší práci jsme porovnávali účinnost a bezpečnost přípravku Octaplas (firmy Octapharma) v porovnání s FFP u našich pacientů se získanou formou TTP léčených pomocí výměnné plazmaferézy mezi lety 2011–2023 na našem pracovišti. Standardně jsme prováděli sérii výměnných plazmaferéz na přístroji Cobe Spectra (do roku 2016) a Spectra Optia, obojí firmy Terumo, minimálně s výměnou 1 objemu plazmy. V daném období jsme provedli celkem 1 515 výkonů u 50 pacientů. Z toho jsme pouze pomocí Octaplasu léčili 14 pacientů (354 výkonů), kombinací FFP a Octaplasu jsme léčili 8 pacientů a pomocí FFP zbylé pacienty. Nejzávažnější reakcí po podání FFP je TRALI a alergická reakce. Popisujeme jednotlivé důvody k přechodu ze substituce FFP na Octaplas u našich pacientů. Z mé prezentace také vyplývá určitá změna v léčbě našich pacientů v souvislosti se zařazením nových léčebných postupů. Zhodnotili jsme naše výsledky, bylo provedeno celkem 354 výkonů plně hrazených přípravkem Octaplas. Během toho jsme nepozorovali žádné závažné nežádoucí reakce a i proto naše pracoviště v současné době provádí substituci již pouze přípravkem Octaplas.

CAR-T TERAPIE U CHRONICKÉ LYMFOCYTÁRNÍ LEUKEMIE

Lysák D.

Hematologicko-onkologické oddělení, FN Plzeň

Nové léky jako BTK nebo BCL2 inhibitory a anti-CD20 protilátky výrazně zlepšily výsledky terapie u chronické lymfocytární leukemie (CLL). Pacienti, u kterých tyto terapie selhávají, mají špatnou prognózu a hledají se pro ně další léčebné postupy. Problematickou populací je zejména dvojitě refrakterní relabující CLL případně vysoce riziková CLL s nepříznivými genetickými vlastnostmi jako *TP53* mutace nebo

komplexní karyotyp. Buněčná imunoterapie pomocí CART buněk může být u části těchto nemocných potenciálně kurativní. Efektivita CART byla u CLL historicky nižší v porovnání s ostatními B-lymfomy. Postupně se však upřesnily důvody suboptimální funkce CART u CLL a objevily se metody pro zlepšení efektivity CART lymfocytů (např. kombinací s BTKi). Aktuální studie s CART produkty liso-cel a brexucel nabízejí slibné výsledky. Medián PFS pro liso-cel dosáhl ve studii Transcend-CLL-004 12 měsíců u dvojitě refrakterních pacientů a data této studie umožnila v roce 2024 FDA schválení prvního CART produktu k léčbě CLL po dvou liniích terapie (Breyanzi). Nejlepší dlouhodobou odpověď po CART mají pacienti v kompletní nebo dokonce uMRD remisi, u kterých také bývá patrná delší persistence modifikovaných lymfocytů. Důležitou cílovou skupinou pro CART terapii jsou také nemocní s Richterovou transformací, kde lze dosáhnout téměř 50 % CR s mediánem trvání 28 měsíců. Nové imunoterapeutické přístupy v léčbě CLL, jako jsou CART nebo bispecifické protilátky, rozšiřují léčebný arzenál pro relabující/refrakterní chronickou lymfocytární leukemii. Vzhledem k odlišným mechanismům účinku jsou zároveň zkoumány kombinace imunoterapií a cílených terapií, a rovněž čekáme na dlouhodobá data probíhajících CART studií.

Podpořeno projektem institucionálního výzkumu MZČR – FNPI, 00669806.

VEXAS SYNDROM – ZKUŠENOSTI Z KLINICKÉ PRAXE ÚHKT

Maaloufová Soukupová J., Beličková M., Šálek C.

ÚHKT, Praha

VEXAS syndrom (vakuoly, E1 aktivující enzym, X-vázaný, auto-inflamatorní, somatický) je klinicky závažné onemocnění postihující starší dospělá způsobené somatickými mutacemi v genu *UBA1* (ubiquitin-like modifier activating enzyme 1) v hematopoetických progenitorových buňkách. Poprvé bylo popsáno v roce 2020. Klinické projevy u starších pacientů zahrnují systémový zánět s různými projevy na kůži, očích, chrupkách a hematologické symptomy jako je makrocytární anémie, trombocytopenie a vakuoly v myeloidních a erytroidních prekurzorech, které mohou vést k vývoji maligního hematologického onemocnění. Pacienti mohou splňovat diagnostická kritéria pro různá revmatologická nebo hematologická onemocnění. Tato klinická heterogenita stěžuje diagnostiku a vyžaduje vysoký stupeň klinického podezření. Syndrom VEXAS je spojen s vysokou morbiditou a mortalitou. Cílená léčba dosud neexistuje. U mnoha pacientů dochází k částečné odpovědi na imunosupresivní léčbu, při současně splněných diagnostických kritériích pro MDS také na azacytidin, uplatnit se může i protizánětlivý účinek ruxolitinibu.

Budou prezentovány 3 klinické kazuistiky dokumentující různé klinické projevy, léčebné přístupy i terapeutické odpovědi pacientů s diagnostikovaným VEXAS syndromem a dominantním postižením krvetvorby.

PRVNÍ LABORATORNÍ ZKUŠENOSTI S INHIBITOREM FAKTORU XI

Malíková I., Husáková M., Teplá E., Kvasnička T.

ÚLBDL Centrální hematologické laboratoře a Trombotické centrum VFN v Praze

Úvod: Antikoagulační léčba hraje velmi důležitou úlohu v procesu krevního srážení. Při vyvíjení nových antikoagulačních preparátů je dlouhodobě směřováno k „ideálnímu antitrombotiku“, a tedy k účinné a bezpečné antitrombotické léčbě. Každé nové antitrombotikum by mělo doprovázet doporučení pro klinickou praxi, vč. možnosti laboratorního hodnocení a řešení urgentních situací.

Cíl práce: Upozornit na Abelacimab (MAA868), lidskou monoklonální protilátku, která se aplikuje s.c. v dávce 150 mg 1× měsíčně, a má dlouhodobý účinek 30 a více dnů. Dále ukázat, jakou měrou by tato léčba mohla ovlivnit koagulační vyšetření.

Princip účinku: Protilátka se váže na katalytickou doménu faktoru XI a blokuje ji v konformaci zymogenu, čímž brání její aktivaci faktorem XIII nebo trombinem.

Výsledky: S uvedeným typem léčby jsme se setkali u tří pacientů. Aplikované léky významně prodlužují aktivovaný parciální tromboplastinový test po celou dobu účinku ($R = 2,64 \pm 0,85$), ale neovlivňují protrombinový test ($R = 0,96 \pm 0,12$). Užívání uvedených preparátů způsobí stejné prodloužení koagulačních testů jako při deficitu faktorů (hladina faktoru XI = $2,8 \pm 0,6$ %).

Závěr: Léčba Abelacimabem cílí na koagulační faktor XI, který je součástí vnitřní cesty, a může nabídnout potenciál pro účinnou antikoagulaci, která neinhibuje hlavní enzymy hemostázy, a tak přináší nižší riziko krvácení. Pro laboratorní vyšetření je velmi důležité, aby léčba byla uvedena, protože by mohlo docházet k chybným závěrům při hodnocení hemostázy.

Studie byla podpořena RVO-VFN64165.

LABORATORNÍ SLEDOVÁNÍ ÚČINNOSTI TERAPIE INHIBITORY KOMPLEMENTU U PACIENTŮ S PAROXYSMÁLNÍ NOČNÍ HEMOGLOBINURIÍ POMOCI PRŮTOKOVÉ CYTOMETRIE

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

ÚHK, Praha

Průtoková cytometrie je metodou volby pro diagnostiku paroxysmální noční hemoglobinurie (PNH) a sledování PNH fenotypů u pacientů s vrozeným či získaným syndromem selhání kostní dřeně. Kromě intravaskulární hemolýzy (IVH) kvůli alterované farmakokinetice a farmakodynamice hraje extravaskulární hemolýza (EVH) roli při částečné (Hgb 80–100 g/l) nebo slabé (Hgb < 80 g/l) odpovědi na terapii inhibitory C5 složky komplementu. Přidáním anti-C3d-APC do doporučeného panelu pro stanovení PNH erytrocytů dle ICCS/ESCCA

guidelines jsme zavedli metodu na detekci a sledování C3b opsonizace PNH erytrocytů jako biomarkeru pro EVH. U PNH pacientů bez terapie inhibitory C5 složky komplementu C3d depozice na PNH erytrocytech nepřesahuje 12 %, zatímco u pacientů na terapii inhibitory C5 složky komplementu anémie a retikulocytóza korelují s opsonizací PNH erytrocytů v rozsahu 25–65 %. Pacienti na terapii inhibitory C3 složky komplementu nevykazují známky EVH a opsonizace PNH erytrocytů (0 %). Výsledky validace metody v souladu s požadavky normy ISO 15189 na klinickou specifitu, senzitivitu, pozitivní a negativní predikční hodnotu, analytickou a funkční senzitivitu, preciznost a nejistotu měření potvrzují vhodnost metody pro monitorování léčby PNH pacientů inhibitory komplementu nové generace.

HEMATOLOGIE V IMUNOHEMATOLOGII

Masopust J.

KZ, a.s., Masarykova nemocnice v Ústí nad Labem, o.z.

Hematologická onemocnění či jejich léčba mohou ovlivnit výsledky imunohematologických metod.

ABO: zeslabení antigenu A/B u AML, HL, falešná pozitivita antigenu u chladových autoprotilátek (m. Waldenström, MM), získaná KS A u MDS, chybění anti-A/-B u hypogamaglobulinemie (MM, lymfomy, CLL), falešně pozitivní reakce anti-A/-B po IVIG, změna původní krevní skupiny po HSCT.

Další antigeny: mozaiky dvou populací Rh fenotypů u myeloproliferativních onemocnění, oslabení Jka u myelofibrózy, Yta, Ytb u PNH či LWa u leukemií či lymfomů.

Vyšetření protilátek: mohou komplikovat autoprotilátky, podání IVIG, ALG, transfuze lymfocytů.

Přímý antiglobulinový test (PAT): má význam pro diagnostiku AIHA. Diagnostickou komplikací je AIHA s negativním PAT (fenomén prozóny, autoprotilátky třídy IgA a/nebo IgM, autoprotilátky s nízkou afinitou). Falešně pozitivní PAT nalézáme u antifosfolipidového syndromu, po IVIG, fludarabinu, interferonu, u hypergamaglobulinemie. Zásadním problémem při nálezu autoprotilátek je zajištění hemoterapie erytrocyty. Obvyklé jsou pozitivní reakce se všemi dárcovskými erytrocyty. Fenotypování je omezeno na použití diagnostických sér třídy IgM, případně na odstranění autoprotilátek elucí. Genotypování provádí jen malý počet laboratoří. Výběr erytrocytů bez klinicky významného antigenu je někdy složitý, např. u fenotypu ccEE či CCEE. Další možností je vysycení plazmy. Nebezpečím může být současně vysycení klinicky významné aloprotilátky.

Léky: léčba monoklonálními protilátkami může komplikovat předtransfuzní vyšetření, např. u anti-CD38 a anti-CD47 s typickou pozitivitou se všemi diagnostickými i dárcovskými erytrocyty. Existují postupy k odstranění těchto falešných pozitivit a k odhalení případné skryté aloprotilátky.

Důležitá je úzká mezioborová spolupráce, především dostatečné anamnestické údaje a trpělivost hematologa.

KLINICKÝ A PROGNOSTICKÝ VÝZNAM PŘÍDATNÝCH CHROMOZOMÁLNÍCH ABNORMALIT (ACAS) V DOBĚ DIAGNÓZY CHRONICKÉ FÁZE CHRONICKÉ MYELOIDNÍ LEUKEMIE (CML): PODROBNÁ DATA Z ČESKÉ REPUBLIKY S DLOUHODOBÝM SLEDOVÁNÍM

Mayer J.¹, Čičátková P.¹, Pavlík T.^{2,3}, Kováčková L.³, Jarošová M.¹, Karas M.⁴, Jindra P.⁴, Klamová H.⁵, Machová Poláková K.⁵, Černá O.⁶, Cmunt E.⁷, Bělohávková P.⁸, Žák P.⁸, Faber E.⁹, Papajík T.⁹, Stejskal L.¹⁰, Ježíšková I.¹, Weinbergerová B.¹, Jurček T.¹, Horňák T.¹, Ransdorfová Š.⁵, Holzerová M.⁹, Žáčková D.¹

¹ Interní hematologická a onkologická klinika FN Brno

² Institut biostatistiky a analýz, LF MU Brno

³ Ústav zdravotnických informací a statistiky ČR

⁴ Hematologicko-onkologické oddělení, FN Plzeň

⁵ Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

⁶ Hematologická klinika FNKV, Praha

⁷ I. interní klinika – klinika hematologie VFN v Praze

⁸ IV. interní hematologická klinika FN Hradec Králové

⁹ Hemato-onkologická klinika FN Olomouc

¹⁰ Klinika hematoonkologie FN Ostrava

Úvod: Někteří pacienti s CML přes moderní terapii nedosahují dobrých léčebných odpovědí a choroba u nich následně progreduje. Identifikace takových pacientů na začátku terapie je velmi významná. Jedním z negativních prognostických faktorů mohou být přídatné cytogenetické abnormality. Publikované práce na toto téma jsou však poměrně heterogenní a někdy s konfliktními výsledky. Navíc v podstatě neexistují tzv. real-life data.

Pacienti a metoda studie: Do studie byli zahrnuti všichni pacienti z České republiky, kteří zahájili terapii imatinibem nebo nilotinibem mezi roky 2005–2019. Data byla získána z registru Infinity pracovní skupiny CELL. Sledování pacientů bylo cenzorováno v době záměrného vysazení terapie a jako kontrolní skupina byla vzata kohorta pacientů se standardní translokací t(9;22). Pro analýzu cytogenetických změn byla použita vlastní exaktní klasifikace, ale testovali jsme také klasifikační schémata řady jiných autorů publikovaných dříve.

Výsledky: Celkem jsme analyzovali 1 085 pacientů: 939 mělo standardní translokaci (86,5 %), 44 pacientů mělo samostatnou variantní translokaci (4 %), 102 pacientů (9,5 %) mělo nějaké ACAs. Jako signifikantní z hlediska všech nebo většiny sledovaných parametrů (OS, PFS, DSS, ATFS) se ukázala přítomnost variantní translokace nebo major route ACAs. Ztráta chromozomu Y (-Y) byla v signifikantní negativní korelaci s PFS a ATFS. Naproti tomu komplexní karyotyp, nebo ACAs jiné než major route a -Y nebyly v signifikantní korelaci s prognózou pacientů.

Závěr: Jedná se o největší světový soubor real-life dat o významu ACAs u nově diagnostikovaných CML pacientů. Kromě naprosto detailní epidemiologie ACAs díky čisté statistické metodologii a velmi dlouhému sledování pacientů přináší práce jasný obraz o tom, které ACAs jsou prognosticky významné v době diagnózy CML.

Podpořeno Ministerstvem zdravotnictví ČR – Program rozvoje výzkumných organizací (FNBr, 65269705). Národní ústav pro výzkum rakoviny (Programme EXCELES, ID Project No. LX22NPO5102) – Funded by the European Union – Next Generation EU.

TERAPIE VENETOCLAX + AZACYTIDIN U PACIENTŮ S AKUTNÍ MYELOIDNÍ LEUKEMIÍ (AML) VEDE JEN ZŘÍDKA K ELIMINACI LEUKEMICKÉHO KLONU, I KDYŽ JE PŘÍTOMNA MORFOLOGICKÁ REMISE

Mayer J., Ježíšková I., Semerád L., Klemešová I., Vašíková A., Foltá A., Drncová M., Podstavková N., Kabut T., Mrkvová Z., Voldřich J., Diatková J., Holečková V., Kvetková A., Procházková J., Borský M., Weinbergerová B.

LF MU a FN Brno

Úvod: Terapie venetoclax + azacytidin je po desetiletích první terapií, která určitým způsobem mění prognózu pacientů s AML neschopných podstoupit intenzivní chemoterapii. Nicméně dosud dostupná data ukazují, že tato terapie pravděpodobně nepovede k trvalému vyléčení, velkým problémem zůstávají relapsy onemocnění a informace o minimální residuální nemoci (MRN) téměř chybí.

Pacienti a metoda studie: Do studie bylo zařazeno 54 pacientů (medián věku 70,8 roku), kteří dosáhli po terapii venetoclax + azacytidin morfoloické remise. Minimální doba sledování byla 6 měsíců, vyjma pacientů, kteří zemřeli dříve nebo podstoupili transplantaci krvetvorných buněk a současně měli měřitelný molekulární marker (doba sledování min. 3,4, max. 25 měsíců; medián 8,8 měsíce). Pacienti měli vstupně vyšetření cytogenetické, průtokovou cytometrii s cílem najít marker pro sledování MRN a NGS vyšetření (VariantPlex Core Myeloid panel; 37 genů). V případě vhodného standardního molekulárního markeru byl tento marker využit (translokace, *NPM1*), v případě pozitivit NGS byly mutované geny sledovány dále pomocí amplikonového sekvenování se sensitivitou kolem 0,05 % (52/54 pacientů, 96,3 %). Sledování probíhalo po dosažení morfoloické remise a poté zhruba ve 3měsíčních intervalech.

Výsledky: U 5 pacientů (9,3 %) bylo dosaženo přechodné molekulární negativit, ale přesto došlo k relapsu onemocnění, a u 38 pacientů (70,4 %) byla i v případě morfoloické kompletní remise jednoznačná molekulární pozitivita onemocnění. Pouze u 11 nemocných (20,3 %) došlo k eliminaci leukemického klonu. MRN pomocí průtokové cytometrie byla falešně pozitivní v 3/72 (4,2 %) případech měření a falešně negativní v 12/72 (16,7 %) případech. Růstové faktory byly aplikovány bez ohledu na molekulární nálezy podle klinického stavu a v 26/41 případech (63,4 %) byly aplikovány za situace molekulární pozitivit v kostní dřeni. V případě suprese leukemického klonu dochází také k reaktivní expanzi původního klonu klonální hematopoézy. Celoxomová sekvenace a vyšetření pomocí single cell analýz u některých pacientů v době přípravy abstraktu ještě nebyly k dispozici.

Závěr: Venetoclax + azacytidin u velké většiny pacientů nevede k eliminaci leukemického klonu, ale pouze k jeho částečnému potlačení. To je nepochybně příčinou velkého procenta relapsů po této terapii a globálně, bohužel, ne zcela uspokojivých léčebných výsledků. Klinický význam aplikace růstových faktorů do molekulární pozitivitu leukemie v kostní dřeni není znám, ale intuitivně se lze domnívat, že je negativní. Práce ukazuje extrémní molekulární komplexitu leukemického klonu a klonální hematopoézy.

Práce byla podpořena grantem MZ ČR – RVO (FNBr 65269705), programem EXCELES, ID: LX22NPO5102) a projektem ERN.

NEŽÁDOUCÍ ÚČINKY PŘED VYSAZOVÁNÍM A V PRŮBĚHU VYSAZOVÁNÍ LÉČBY TYROSINKINÁZOVÝMI INHIBITORY (TKI) U PACIENTŮ S CHRONICKOU MYELOIDNÍ LEUKEMIÍ (CML)

Mayer J.¹, Svobodník A.², Štěpánová R.², Procházková J.¹, Karas M.³, Jindra P.³, Klamová H.⁴, Cmunt E.⁵, Černá O.⁶, Žák P.⁷, Bělohávková P.⁷, Papajík T.⁸, Faber E.⁸, Stejskal L.⁹, Weinbergerová B.¹, Semerád L.¹, Čičátková P.¹, Horňák T.¹, Žáčková D.¹, Kvetková A.¹

¹ FN Brno

² LF MU, Brno

³ FN Plzeň

⁴ Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

⁵ VFN v Praze

⁶ FN Královské Vinohrady, Praha

⁷ FN Hradec Králové

⁸ FN Olomouc

⁹ FN Ostrava

Úvod: Jedním z možných cílů úvodní terapie CML je dnes snaha navodit déletrvající hlubokou molekulární odpověď a následně terapii vysadit. Hlavní motivací je eliminovat nežádoucí účinky (NÚ) dlouhodobé terapie TKI. Nicméně skutečně exaktní, detailní a kvalifikovaná data o kinetice NÚ po vysazení TKI nejsou.

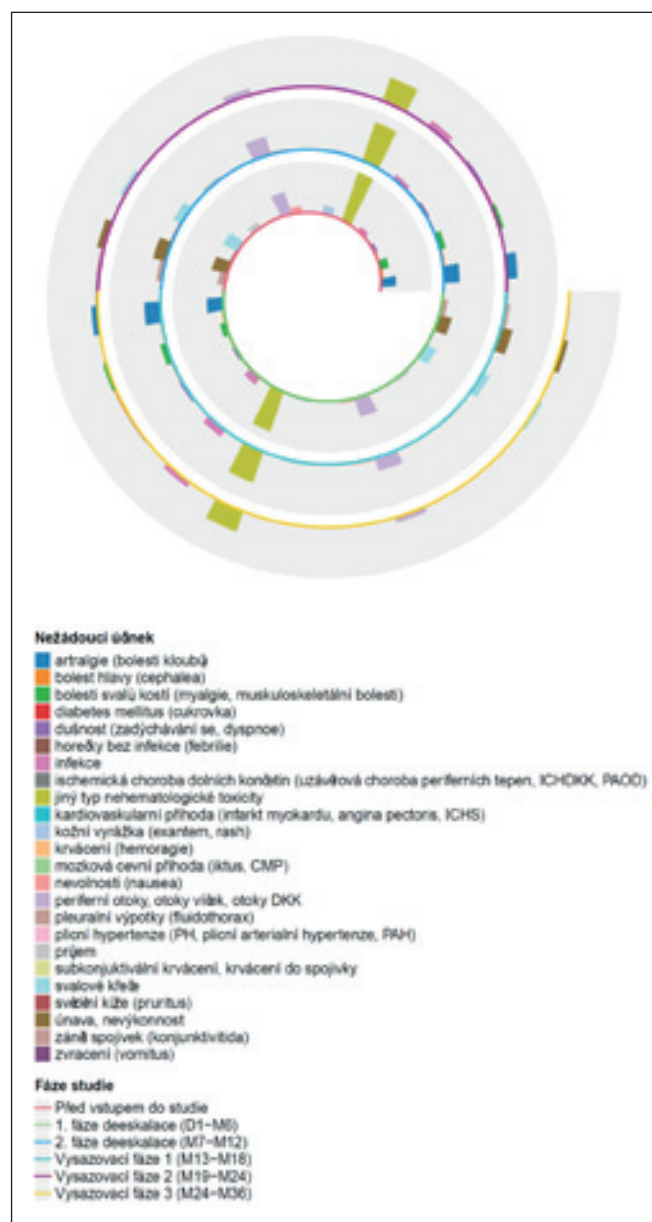
Pacienti a metody: Součástí národní vysazovací studie HALF je monitorace NÚ před vstupem do studie a během ní. Analyzují se nejen NÚ bezprostředně před vstupem do studie, ale i kdykoliv od diagnózy CML s cílem vztáhnout NÚ v minulosti k ev. syndromu z vysazení. Studie má originální design, kdy v prvním půlroce pacienti užívají polovinu standardní dávky TKI a ve druhém půlroce tuto dávku užívají ob den. Teprve potom je terapie vysazena za bedlivé monitorace BCR::ABL a při sledování řady dalších laboratorních (krevní obraz, adiponektin, bilirubin, ALT, AST, GMT, ALP, Ca, P, amyláza, lipáza, lipidy, glukóza) a klinických parametrů.

Výsledky: V současné době probíhá analýza NÚ a kinetiky laboratorních hodnot u 207 nemocných. Celkem 160 (77,3 %) udávalo alespoň jeden NÚ (ne laboratorní abnormalita nebo subjektivní stesk), jejichž celkový počet byl ale 664. NÚ byly kategorizovány do 24 kategorií (např. artralgie, průjem, krvácení, ischemická

choroba dolních končetin...). Heterogenitu těchto NÚ dokresluje to, že nejčastější byla kategorie „jiný typ nehematologické toxicity“ u celkem 46 % nemocných a tato kategorie musí být ještě dále rozčleněna. V průběhu vysazování se také nové příznaky objevovaly, které by mohly souviset se syndromem z vysazení, např. artralgie, bolesti hlavy, bolesti svalů a kostí, horečky a další. Kinetiku některých NÚ v průběhu studie vyjadřuje elementárně obrázek. Do symposia předpokládáme dokončení detailní a extenzivní analýzy.

Závěr: NÚ při terapii TKI jsou velmi frekventní a pleomorfní. Zdá se, že jejich ubývá v průběhu vysazování, některé se ale i objevují nově. Také laboratorní hodnoty vykazují pohyb. Podrobná finální data budou prezentována, analýzy zatím pokračují.

Podpořeno MUNI/A/1558/2023, Programu EXCELES, ID: LX22NPO5102, MZ ČR č. 00023736 a 00669806, MZ ČR NU22-03-00136.



Obr. 10. Mayer J et al.

JAKÝ JE REÁLNÝ OSUD „UNFIT“ PACIENTŮ S AKUTNÍ MYELOIDNÍ LEUKEMIÍ (AML) V ĚŘE VENETOCLAXU?

Mayer J.¹, Podstavková N.¹, Weinbergerová B.¹, Diatková J.¹, Kvetková A.¹, Mrkvová Z.¹, Semerád L.¹, Voldřich J.¹, Holečková V.¹, Svobodník A.², Štěpánová R.², Procházková J.¹, Ježíšková I.¹, Folta A.¹, Jarošová M.¹

¹ Interní hematologická a onkologická klinika FN Brno

² LF MU Brno

Úvod: Venetoclax (V) nepochybně dramaticky zasáhl do jinak málo účinných terapeutických postupů u tzv. unfit AML pacientů, zvl. starších, u kterých se nedá využít intenzivní, tzv. kurativní chemoterapie. Nicméně neexistují data, jaký je vlastně osud globálně všech unfit AML pacientů, neboť ani V nakonec není z mnoha medicínských důvodů podán všem.

Pacienti a metody: Jde o soubor všech konsekutivních AML pacientů diagnostikovaných v období od 9/21 do 12/23. Pacienti byli léčeni kombinací V+azacytidin (A), nebo dostali jen symptomatickou či paliativní terapii. Rozhodnutí podat či nepodat V bylo provedeno po pečlivém zvážení celkového stavu nemocných a také na základě sofistikovaného geriatrického skóre (to je analyzováno v samostatném abstraktu).

Výsledky: Jednalo se o 161 nemocných, pro finální analýzu bylo zařazeno 158 pacientů (neúplná data/jiné důvody u 3). 91 pacientů dostalo terapii V+A (57,6 %, medián celkového přežití, OS, 23,6 měsíce) a 67 pacientů dostalo nakonec jen symptomatickou/paliativní terapii (42,4 %, medián OS 1,08 měsíce), rozdíl v OS: $p < 0,0001$. 14 pacientů léčených V+A nakonec podstoupilo alogenní transplantaci krvetvorných buněk a medián OS u nich zatím nebyl dosažen, kdežto u V+A léčených pacientů bez transplantace byl 20,1 měsíce ($p = 0,0554$).

Závěr: Extrémně krátká doba celkového přežití u nemocných léčených pouze paliativně/symptomaticky ukazuje na správnost medicínského rozhodování o způsobu terapie na podkladě celkového stavu nemocných. Na druhou stranu, těchto nemocných je přes 40 %, umírají nakonec více s AML než na ni, a úspěchy v terapii AML mohou stěžít ovlivnit jejich osud. Prognóza nemocných léčených V+A je relativně uspokojivá a to zvl. u těch, kteří nakonec mohou podstoupit alogenní transplantaci krvetvorných buněk. Nicméně, těch je jen velmi málo.

Podpořeno MUNI/A/1558/2023, Program EXCELES, ID: LX22NPO5102 a MZ ČR č. 00023736 a 00669806.

PRAKTICKÉ ASPEKTY PRŮTOKOVÉ CYTOMETRIE V DIAGNOSTICE A MONITORACI HEMATOLOGICKÝCH ONEMOCNĚNÍ

Mejstříková E.

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

Průtoková cytometrie se stala esenciální metodikou v diagnostice a monitoraci v hematologii a imunologii. Sledujeme jednotlivé buňky a expresi antigenů pomocí monoklonálních protilátek s navázanými

fluorescenčními značkami. Můžeme sledovat složení subpopulací, případně vývoj a fenotyp. Technologický rozvoj postupně umožnil postupné navyšování počtu parametrů, které hodnotíme současně na jedné buňce. Obecně je potřeba vyšetřovat suspenzi a nejčastějším typem materiálu je periferní krev a kostní dřeň. Méně často se vyšetřuje mozkomíšni mok a případně tkáň, kterou je třeba převést do suspenze. Vyšetření u periferní krve, resp. kostní dřeni je obvykle vhodné provést do 24 h, maximálně 48 h. U nativního mozkomíšního moku je potřeba vyšetření provést do dvou hodin od odběru. Případně lze likvor odebrat do zkumavek s fixačním činidlem a vyšetření lze provést do 48 h, nicméně je třeba vzít do úvahy, že některé antigeny nemusí vázat správně monoklonální protilátku a je zpravidla potřeba validace postupu pro fixovaný materiál. Klíčovým prvkem je standardizace cytometrie, jak diagnostiky, tak detekce minimální reziduální nemoci. V roce 2006 vzniklo konsorcium Euroflow, jehož cílem je standardizovat diagnostiku a monitoraci hematologických malignit a vývoj inovativních softwarových přístupů v kontextu databáze referenčních vzorků. Výzvou v současné době je cílená léčba pomocí monoklonálních protilátek, která ovlivňuje, jak fenotyp vlastních nádorových buněk, tak i kompozici nemaligních populací. Cytometrie je stále rozvíjející metodikou s rozsáhlými možnostmi v diagnostice hematologických a imunologických onemocnění.

Podpořeno NU23-05-00353.

DE NOVO AML A LÉČBA AZA/VEN V ÚHKT – VÝSLEDKY

Mertová J., Pecherková P., Válka J., Šálek C., Soukupová J., Lauermannová M., Mastíková L., Vydra J.

ÚHKT, Praha

Cíl: Od října 2020 jsme začali používat v léčbě AML u pacientů neindikovaných k intenzivní terapii dvojkombinací léků Azacitidin/Venetoclax. Sledovali jsme dosažení remise (CR + CRi), celkové přežití (OS) a event free survival (EFS) u všech pacientů a u jednotlivých prognostických skupin dle ELN 2022. Výsledky OS a EFS jsme porovnali se studií Viale-A.

Metody: Analýza dat od 10/2020 do 2/2024. Většina pacientů byla sledovaná 24 měsíců, follow-up (doba sledování) pro sledování vývoje byl tedy stanoven na 24 měsíců. Kombinaci AZA/VEN jsme podali 55 pacientům. Mužů bylo 31, žen 24, věk. medián 70,0 let. Rozdělení do rizikových skupin dle ELN 2022: příznivá 13 (23,6 %), střední 15 (27,3 %), nepříznivá 27 (49,1 %).

Výsledky: CR vč. CRi dosáhlo 39 (70,9 %) pacientů, dle ELN 2022: příznivá 13 (100 %), střední 10 (66,7 %), nepříznivá 16 (59,3 %) pacientů. 2letý OS je pro celou kohortu 54 % (medián je 24,5 měsíce), pro jednotlivé prognostické skupiny dle ELN 2022: příznivá 82 %, střední 92 % a nepříznivá 24 % (medián OS je 11,7 měsíce). U skupiny s příznivou a střední prognózou při sledování 24 měsíců nebylo dosaženo mediánu. 2letý EFS, kde event je relaps nebo úmrtí, je 45 % (medián 17 měsíců). Pro jednotlivé prognostické skupiny dle

ELN 2022: příznivá 70 %, střední 83 % a nepříznivá 15 % (medián OS je 8,7 měsíce). U skupiny s příznivou a střední prognózou při sledování 24 měsíců nebylo dosaženo mediánu.

Závěr: Výsledky pacientů léčených v ÚHKT jsou mírně lepší oproti publikovaným výsledkům studie Viale. Medián OS v ÚHKT je 24,5 měsíce, medián OS studie Viale A je 14,7 měsíce, v ÚHKT je cca o 10 měsíců delší, medián EFS v ÚHKT je 17 měsíců, medián studie Viale A je 9,8 měsíce, v ÚHKT je o cca 7 měsíců delší. Tento rozdíl může být dán selekcí pacientů, individuálním přístupem ke každému pacientovi (redukce dávek, prodloužení intervalů, podpurná péče). Oproti Viale-A je náš soubor menší a doba sledování je kratší. AZA/VEN představuje nový standard léčby AML u starších a komorbidních pacientů. Tato léčba dosahuje výsledků srovnatelných s intenzivní chemoterapií při výrazně nižší toxicitě a pro skupiny příznivého a středního rizika dle ELN 2022 dosahuje statisticky významného prodloužení života oproti dříve používaným léčbám.

AML S DYSPLASTICKÝMI RYSY V NOVÉ WHO KLASIFIKACI

Mikulenková D.

Morfologicko-cytochemická laboratoř, ÚHKT, Praha

V poslední WHO klasifikaci hematolymfoidních tumorů z roku 2022 je akutní myeloidní leukemie (AML) s dysplastickými rysy nově pojmenována na AML související s dysplazií (AML-MR) a je řazena do AML s genetickou abnormitou na úrovni cytogenetiky a somatických mutací. Dále u této diagnózy nemusí již být splněna podmínka přítomnosti více než 20 % blastů v nátěru periferní krve či aspirátu kostní dřeně; některé AML-MR proto mohou být chybně zařazeny do MDS do té doby, než jsou k dispozici genetické výsledky. Pacienti ale přijdou k lékaři se stejnými obtížemi a se stejnými změnami v hodnotách krevního obrazu. Morfologický vyšetřovací proces je bez změny. Zahrnuje vyšetření nátěru krve, aspirátu kostní dřeně a nátěrů barvených cytochemicky. A stejně tak pozice morfolgie v diagnostice AML-MR je beze změny, výsledky z morfologického vyšetření vždy upozorní na možnou přítomnost tohoto onemocnění.

SOUČASNÁ ÚLOHA MORFOLOGIE V DIAGNOSTICE MDS

Mikulenková D.

Morfologicko-cytochemická laboratoř, ÚHKT, Praha

Myelodysplastická neoplazie (MDS) je z pohledu věku pacientů a tíži jejich stonání heterogenní skupina onemocnění. Z pohledu patofyziologie se jedná o několikastupňový na sebe navazující proces, který ve svém výsledku vede k poškození kmenové buňky. Příčina onemocnění je u většiny onemocnění neznámá, i když stejně jako u akutní leukemie jedním z důvodů vzniku MDS může být předchozí cytotoxická či radiační terapie. Onemocnění je v hodnotách krevního obrazu charakterizováno různě intenzivně vyjádřenou cypopenií, která

vzniká neefektivní hematopoézou a přítomností dysplastických změn v jedné či více myeloidních liniích (v nátěru periferní krve a aspirátu kostní dřeně). V poslední WHO klasifikaci hematolymfoidních tumorů z roku 2022 došlo k podstatným změnám v hodnotách krevního obrazu, při kterém by měl lékař pomýšlet na MDS. Dále došlo k úpravě názvu na myelodysplastickou neoplazii, ale se zachováním typické zkratky MDS. Zásadní změnou je ale postavení morfolgie v diagnostice, kdy je váha na stanovení správné diagnózy na genetickém vyšetření mutační analýzy známých myeloidních genů. Onemocnění je nyní rozděleno na skupinu se známým genetickým základem, na MDS definovanou morfolgicky a na dětské formy MDS. Vstupní data z hodnot krevního obrazu a z morfologického hodnocení nátěru periferní krve a aspirátu kostní dřeně vč. údajů ze základních cytochemických metod (vyšetření myeloperoxidázy a vyšetření železa v kostní dřeni) nás nyní nově jen nasměrují k možné diagnóze MDS. I přesto je nutné morfologickou diagnostiku ponechat ve stejném rozsahu, aby nedocházelo k neindikovaným genetickým vyšetřením.

SROVNÁNÍ KOMBINOVANÉ LÉČBY S LENALIDOMIDEM U RELABOVANÉHO A REFRAKTERNÍHO MNOHOČETNÉHO MYELOMU POMOCÍ MATCHING-ADJUSTED INDIRECT COMPARISON – DATA Z ČESKÉ MYELOMOVÉ SKUPINY

Minařík J.¹, Pour L.², Jelínek T.³, Špička I.⁴, Jungová A.⁵, Radocha J.⁶, Pavlíček P.⁷, Pika T.¹, Štork M.², Straub J.⁴, Maisnar V.⁶, Krhovská P.¹, Látal V.¹, Hájek R.³

¹Hemato-onkologická klinika LF UP a FN Olomouc

²Interní hematologická a onkologická klinika FN Brno

³Klinika hematologie FN Ostrava

⁴I. interní klinika – klinika hematologie VFN v Praze

⁵Hematologicko-onkologické oddělení, FN Plzeň

⁶IV. Interní hematologická klinika FN Hradec Králové

⁷Interní hematologická klinika FNKV, Praha

Cíl: Cílem práce bylo srovnání tripletů s lenalidomidem (LEN) v 1.–3. relapsu mnohočetného myelomu (MM) v reálné klinické praxi (RWE) s ohledem na celkovou odezvu (ORR), \geq velmi dobrou parciální remisi (VGPR) a dobu bez progresu (PFS).

Pacienti a metody: Hodnoceni byli nemocni léčení režimy daratumumab, lenalidomid, dexametazon (DRD, n = 224), karfilzomib, lenalidomid, dexametazon (KRD, n = 143) a ixazomib, lenalidomid, dexametazon (IRD, n = 171). Pacienti léčení ixazomibem byli rozděleni na 104 nemocných (časná IRD, E-IRD) léčených v rámci „Named Patient Program“ bez kompetitivních režimů; a 67 nemocných léčených později, v konkurenci jiných režimů (pozdní IRD, L-IRD). Pro signifikantní rozdíly mezi jednotlivými kohortami byla doplněna analýza pomocí Matching-Adjusted Indirect Comparison (MAIC), s cílem minimalizovat dopad rozdílných faktorů.

Výsledky: ORR byla následující: DRD 91,4 %, KRD 89,6 %, E-IRD 79,6 %, L-IRD 70,8 % (p < 0,001). VGPR byla: DRD 67,3 %, KRD 62,3 %, E-IRD 40,8 %, L-IRD 40,8 %

L-IRD 25 %. Mediány PFS byly: DRD 23,64 měsíce, KRd 16,52 měsíce, E-IRD 19,97 měsíce a L-IRD 11,57 měsíce ($p < 0,001$). Při vyvážení souboru pomocí MAIC na věk, linii léčby, ISS, předlěčenost LEN a IMiDy zůstaly obdobné mediány PFS preferující režim DRD; vyvážení navíc na vysoké cytogenetické riziko však snížilo mPFS u všech režimů: DRD 11,9 měsíce, KRd 17,5 měsíce, E-IRD 13,4 měsíce, L-IRD 9,6 měsíce ($p = 0,055$).

Závěr: Terapie relapsu MM pomocí tripletů s LEN má významný účinek, přesto výsledky z RWE nedosahují nálezů z klinických hodnocení – důvodem je podstatné zastoupení nemocných nesplňujících vstupní kritéria. V našem souboru se jako nejúčinnější režim jeví DRD, nikoli však u nemocných s vysokým cytogenetickým rizikem.

Za podpory IGA_LF_2024_001 a MZ ČR-RVO(FNOI,00098892).

PŘÍPRAVNÝ REŽIM S TREOSULFANEM PŘED ALOGENNÍ TRANSPLANTACÍ KRVETVORBY U PACIENTŮ S AKUTNÍ MYELOIDNÍ LEUKEMIÍ – ZKUŠENOSTI DVOU TRANSPLANTAČNÍCH CENTER

Mrkvová Z.¹, Zavřelová A.², Folber F.¹, Radocha J.², Weinbergerová B.¹, Žák P.², Mayer J.¹

¹ Interní hematologická a onkologická klinika FN Brno

² IV. interní hematologická klinika FN Hradec Králové

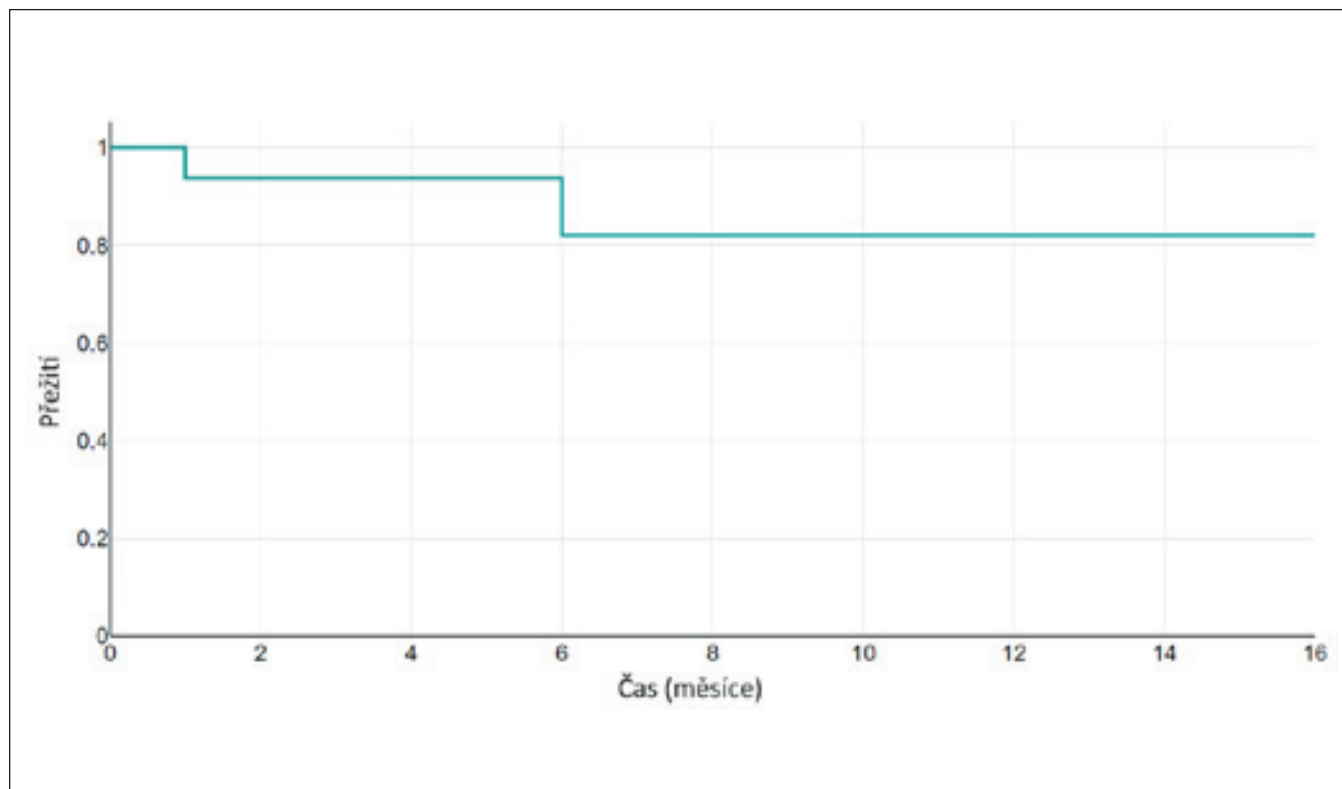
Úvod: Jedinou definitivní kurativní terapií akutní myeloidní leukemie (AML) přetrvává alogenní transplantace krvetvorby

(alloHSCT). Terapeutické možnosti jsou ovšem často omezené věkem, komorbiditami a celkovým výkonnostním stavem.

Metody: Tato práce retrospektivně shrnuje zkušenosti s režimem s redukovanou intenzitou (RIC) treosulfan ($3 \times 10-12 \text{ g/m}^2$) + fludarabin ($5 \times 30 \text{ mg/m}^2$) dvou transplantačních center. Sledována je charakteristika pacientů, toxicita, odpověď, komplikace a následná léčba.

Výsledky: Do analýzy bylo zařazeno 16 pacientů průměrného věku 64 let a HCTCI skóre 2 s AML převážně vysokého rizika (50 %), kteří byli sledováni po dobu 1 až 16 měsíců po alloHSCT. Většina (75 %) byla předlěčena neintenzivními režimy (69 % kombinací azacitidine + venetoclax), 4 (25 %) intenzivní terapií. Průběh alloHSCT byl komplikován infekcemi (10 pacientů; 63 %), nejčastěji febrilní neutropenií, mukosítidou (9; 56 %), sinusoidální obstrukční syndrom nenastal. Hospitalizace skončila průměrně 22. den po alloHSCT. Potransplantační období bylo komplikováno akutní GvHD (2; 13 %), CMV reaktivací (3; 19 %), EBV reaktivací (1; 6 %). V kompletní remisi (CR) vstupovalo do alloHSCT 14 pacientů (88 %), z nichž 9 (90 %) setrvává v CR, u 1 (10 %) došlo k relapsu po 3 měsících, 4 nyní nelze hodnotit. Se stabilním onemocněním vstupoval jeden pacient, zrelaboval po 5 měsících, s extramedulárním relapsem také jeden pacient, dosáhl CR. Udržovací terapie byla zahájena již u 7 pacientů (44 %).

Závěr: Treosulfanový RIC představuje šetrnou cestu k provedení alloHSCT u pacientů s AML neschopných podstoupit intenzivní terapii. Dle našich dosavadních zkušeností vede k dobré léčebné odpovědi a nebyvá zatížen závažnými peritransplantačními komplikacemi.



Obr. 11. Mrkvová Z et al. Křivka celkového přežití.

LINEAR DNA PLATFORM ENABLING POINT-OF-CARE NON-VIRAL PRODUCTION OF CD123-SPECIFIC CAR-T CELLS FOR THE THERAPY OF AML

Mucha M.¹, Kaštánková I.¹, Šroller V.¹, Štach M.¹, Minařík L.², Stopka T.², Lesný P.¹, Otáhal P.¹

¹Institute of Hematology and Blood Transfusion, Prague

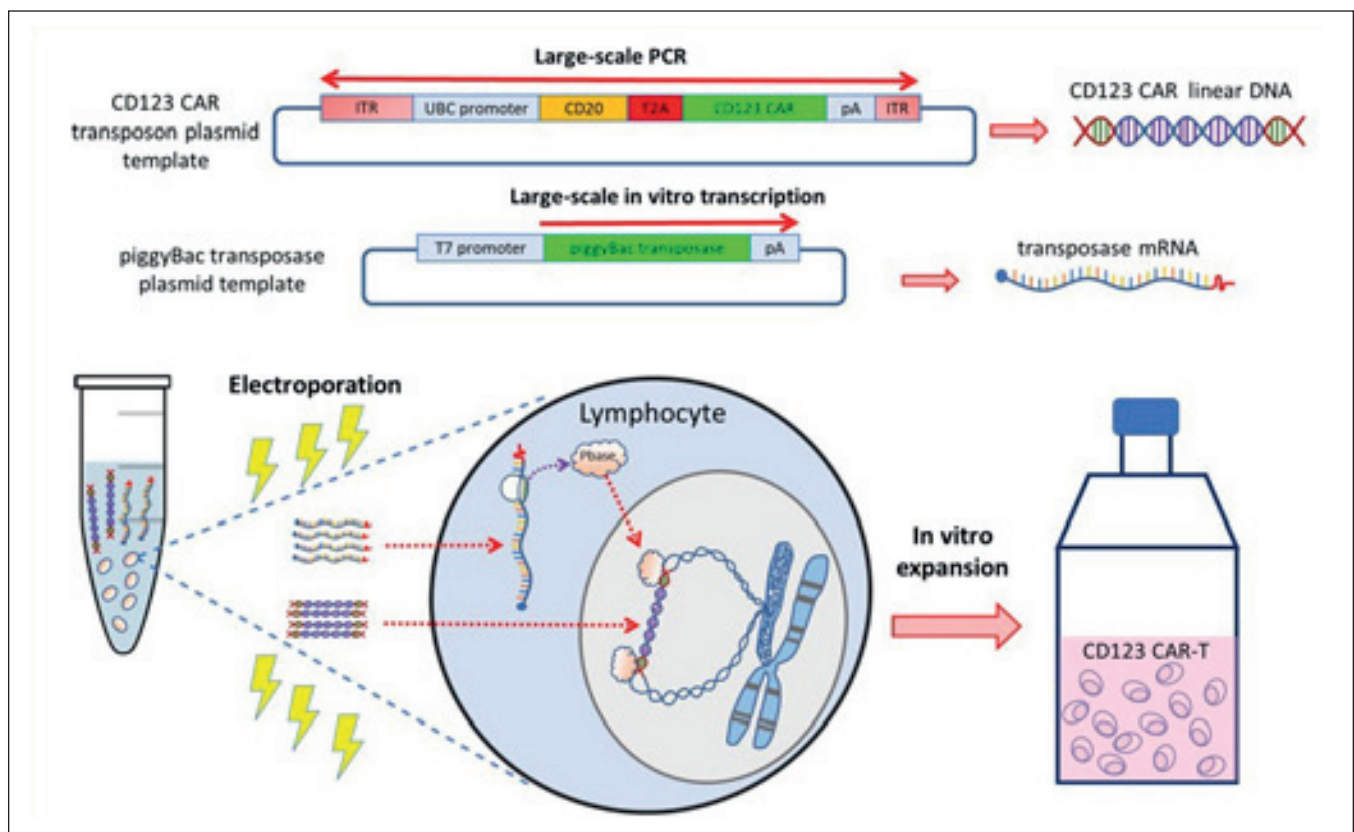
²BIOCEV, First Faculty of Medicine, Charles University, Prague

Background: Chimeric antigen receptor-modified T cells are highly efficient therapeutic products based on gene-engineered T cells. Despite the clinical success obtained with this novel therapy in patients with refractory hematological malignancies, a major limitation to its further development and global availability is its high cost resulting mainly from the manufacturing process utilizing lentiviral or retroviral vectors.

Aims: Our main objective here was to develop using piggyBac transposon a fully synthetic pipeline for rapid and cost-effective production of clinical-grade CAR-T at an unparallel level compared to currently available solutions. This process utilizes polymerase-chain-reaction (PCR) produced linear transposon DNA and *in vitro* transcribed (IVT) transposase mRNA. To fully validate this process, we decided to produce CD123-specific Chimeric Antigen Receptor-T Cells (CAR123) and initiate their clinical testing in patients with refractory AML.

Methods: The use of plasmid DNA as a transposon delivery vehicle creates several issues, such as the presence of bacterial DNA in the

plasmid backbone or the complicated process of GMP production and certification of plasmids produced in *E. Coli*. To overcome these caveats, a large-scale PCR using high-fidelity polymerase was used to produce the linear transposon DNA of approx. 5kb length. The template for PCR amplification was a piggyBac transposon plasmid containing a ubiquitin promoter-regulated CD123 CAR (with 4-1BB-zeta intracellular signaling domain) joined via T2A self-cleaving motif with CD20 protein. The PCR product was processed by HPLC, yielding 100% pure DNA, sequencing revealed no mutations. The transposase mRNA was synthesized from a plasmid template using T7 RNA polymerase followed by DNase treatment and by precipitation with LiCl. To produce CAR123 T cells, PBMCs obtained from the blood of healthy donors or patients undergoing chemotherapy were electroporated with linear DNA and mRNA. The transfected T cells were then polyclonally activated with anti-CD3/CD28 antibodies and expanded in the presence of IL-4, IL-7, and IL-21 to preserve their stem-cell memory phenotype. Additionally, to improve the efficiency of the manufacture, we evaluated the effects of the addition of irradiated mixed allogeneic PBMCs (a "feeder") during the expansion of CAR-T. Produced CAR123 T cells were thoroughly analyzed by i) multiparametric flow cytometry to determine their immunophenotype and identify cellular subsets in the product, ii) digital PCR (ddPCR) to determine the vector copy number, iii) *in vitro* cytotoxic test against cell lines and primary AML cells to determine their biological activity, iv) in NSG mice transplanted with AML cells to further prove



Obr. 12. Mucha M et al.

their *in vivo* antileukemic potency and to demonstrate a basic safety.

Results: First, linear DNA and mRNA production were feasible, and no issues regarding identity and purity were noticed. Next, the production of CAR123 T cells was highly effective as 1 µg of linear DNA yielded approx. 100–150 million CAR-T cells per one electroporation of 10 million of PBMCs from healthy donors (N = 5). The median percentage of CAR+ cells was 31% (range, 23–36%), median CD4/CD8 ratio was 0.72 (range, 0.64–0.82). Median 68% (range, 54–83%) of CAR+ had central memory phenotype (CD62L+CD45RA+) and the vector copy number was within 2–5 range. Produced CAR123 displayed efficient cytotoxicity *in vitro* against target cell lines THP-1 and SKM-1. Furthermore, CAR123 T cells were effective in NSG mice transplanted with AML cell line SKM-1. Next, we tested the manufacture using PBMCs isolated from AML patients undergoing intensive chemotherapy – they were at least 3 weeks after therapy and had at least 100 CD3+ T cells per microliter of blood. Although the expansion of CAR123 was reduced, the addition of the feeder significantly improved the yield (approximately a 6-fold increase), and it was possible to produce a dose of 1 million CAR123 T cells per kg in five out of eight cases.

Summary/conclusions: The linear DNA transposon platform enables a straightforward GMP certification and is especially suitable for the rapid and cost-effective production of novel experimental gene-engineered T-cell therapeutics. The described CAR123 product is currently being developed and is planned to be tested in a clinical trial in patients with refractory acute myeloid leukemia.

KLASIFIKAČNÍ MODEL PRO ROZLIŠENÍ ABC A GCB PODTYPŮ DLBCL NA ZÁKLADĚ PROFILOVÁNÍ GENOVÉ EXPRESE A JEHO VYUŽITELNOST V RUTINNÍ PRAXI

Navrkalová V.¹⁻³, Marečková A.¹, Radová L.², Čínátlová K.¹, Janíková A.¹, Kotašková J.¹⁻³

¹ Interní hematologická a onkologická klinika LF MU a FN Brno

² Středoevropský technologický institut (CEITEC), Centrum molekulární medicíny, MU Brno

³ Ústav lékařské genetiky a genomiky, LF MU a FN Brno

Pacienti s DLBCL jsou rozdělováni do prognosticky významných skupin ABC a GCB na základě standardního imunohistochemického (IHC) vyšetření, které ale vykazuje určité limity. Další možností je profilování genové exprese (GEP), které prozatím není díky své náročnosti na provedení a analýzu rutinně využíváno. Naším cílem bylo zavést jednoduchý a rychlý GEP test spolu s automatickým vyhodnocením a statistickým klasifikátorem, který bude poskytovat spolehlivé výsledky. Pomocí qPCR jsme analyzovali 29 pečlivě vybraných genů odlišně exprimovaných u ABC/GCB skupin. Na základě výsledků trénovací skupiny vzorků (n = 45) se známým zařazením do podskupiny dle IHC jsme navrhli tři statistické

klasifikační modely s různými referenčními geny (*GAPDH*, *B2M*, *HPRT1*). Validace modelů na nezávislé skupině vzorků (n = 20) ukázala největší přesnost (75 %) pro model s *HPRT1* genem. Data plánujeme zpracovat ještě pomocí jiných statistických postupů a zároveň otestovat i model vytvořený bez ohledu na skupinu dle IHC pro dosažení vyšší spolehlivosti klasifikace. Pomocí nejlepšího modelu bude následně otestována experimentální kohorta vzorků (n ~15) s neznámým subtypem DLBCL. Celý proces zpracování zdrojových dat z qPCR přístroje vč. určení ABC/GCB skupiny plánujeme automatizovat, aby bylo dosaženo rychlé odezvy laboratoře od přijetí vzorku do vydání výsledku. Přínos našeho přístupu spočívá ve stratifikaci DLBCL pacientů na základě kvantitativních dat s možností určit i případy, které jsou neklasifikovatelné dle IHC, zároveň v čase přijatelném pro rutinní laboratorní použití. Jednoznačné odlišení prognosticky nepříznivé skupiny ABC má klinický význam s potenciální možností cílené terapie.

Podpořeno projekty FNB_65269705, AZV_NU22-08-00227,

MUNI/A/1558/2023, NPO-NUVR LX22NPO5102.

VÝBĚR NEJVHODNĚJŠÍHO NEPŘÍBUZNÉHO DÁRCE PODLE PRELIMINARY SEARCH

Nazarová S., Macnerová R., Waldmannová K., Vraná M.

ÚHKT, Praha

Alogenní transplantace hematopoetických kmenových buněk (alo-HSCT) je jedním ze způsobů léčby hematologických malignit. Pro úspěšnost alo-HSCT je zásadní shoda v HLA systému (Human Leukocyte Antigens). Pokud je u pacienta nutné provést alogenní HSCT, je dobré začít s výběrem vhodného dárce co nejdříve. Nemá-li pacient HLA identického sourozence, zahajuje se vyhledávání nepřibuzného dárce ve všech registrech. Z registru je zaslán preliminary search, ve kterém je uvedena předchozí typizace nepřibuzného dárce. Ne vždy je však typizace provedena na úrovni HR (high resolution). U některých dárců je typizace provedena pouze na úrovni LR (low resolution) nebo jen serologicky. Někdy tyto typizace neodpovídají uvedenému shodě 10/10 nebo 9/10. Přesnost předchozích typizací z registru usnadňuje vyhledávání nepřibuzných dárců. V roce 2023 bylo v ÚHKT provedeno celkem 73 transplantací, z toho 55 od nepřibuzných dárců. Z celkového počtu provedených transplantací od nepřibuzných dárců bylo v loňském roce 9 shodných 12/12, 33 shodných 10/10 a 13 shodných 9/10. V případě, že byla shoda mezi pacientem a dárce pouze 9/10 hledali se dárce s co nejvíce přesnou HLA typizací na úrovni HR. U pacientů nebyly detekovány HLA protilátky. Vzhledem k vysokému polymorfismu HLA a nekompletní typizaci nepřibuzných dárců z registru není vždy snadné najít shodného dárce. V loňském roce nebyl k transplantaci vybrán dárce s horší shodou než 9/10 a všem pacientům indikovaným k HSCT od nepřibuzného dárce byl vhodný dárce nalezen.

Supported by MH CZ – DRO (00023736, ÚHKT).

MOLECULAR MECHANISM OF NON-GENETIC ADAPTATION TO BTK INHIBITOR THERAPY IN CLL

Ondrisova L.^{1,2}, Seda V.^{1,2}, Hlavac K.^{1,2}, Hoferkova E.^{1,2}, Pavelkova P.^{1,2}, Kostalova L.^{1,2}, Filip D.^{1,2}, Faria Zeni P.², Panovska A.¹, Plevova K.¹, Pospisilova S.¹, Simkovic M.³, Vrbacky F.³, Lysak D.⁴, Davids M.S.⁵, Martin-Subero J.I.⁶, Brown J. R.⁵, Doubek M.¹, Forconi F.⁷, Mayer J.¹, Mraz M.^{1,2}

¹ FN Brno, ČR

² CEITEC MU, ČR

³ FN Hradec Králové, ČR

⁴ FN Plzeň, ČR

⁵ Dana-Farber Cancer Institute, Boston, USA

⁶ University of Barcelona, Spain

⁷ University of Southampton, UK

Genetic mechanisms of resistance to BTK inhibitors in CLL have been described. However, it remains unknown whether non-genetic adaptation to BTK inhibitors might exist. We focused on the possible role of the Akt pathway since, in mouse models, PI3K-Akt activation rescues the apoptosis induced by BCR deletion in mature B cells (Srinivasan et al. Cell, 2009). We show that in ~70% of CLL cases, ibrutinib increases Akt activity (pAkt^{S473}) above pre-therapy levels (31 patients with 87 samples; $P < 0.005$). pAkt was also restored in ibrutinib treated MEC1 cells ($P < 0.05$). Importantly, CLL cells obtained during ibrutinib therapy *in vivo* were highly sensitive (90% apoptosis) to Akt inhibitor MK2206. RNA profiling of paired CLL samples obtained before and during ibrutinib (N = 22) or single-agent idelalisib therapy (N = 18) identified 16 differentially expressed mRNAs (with both drugs) involved in the PI3K-Akt pathway. Rictor induction was particularly notable since it is an essential assembly protein for mTORC2, which is known to phosphorylate Akt directly on S473 (Sarbasov et al. 2005). Analysis of samples obtained during therapy and genome-editing experiments in MEC1 cells revealed that transcription factor FoxO1 is directly responsible for Rictor/pAkt activation during ibrutinib treatment, and FOXO1 is required for adaptation to BTK inhibitors. FoxO1 inhibitor (AS1842856) decreased pAkt levels, induced apoptosis alone (~40% CLL cell killing) or more potently in combination with ibrutinib (~60% apoptosis; N = 7). In summary we describe the first non-genetic adaptation to targeted therapy with BCR inhibitors in CLL.

Ministry of Health of the Czech Rep. grants No. NU23-08-00448, NU22-03-00117, NW24-03-00369; ERC (no.802644); NUVR (Programme EXCELES, ID Project No.X22NPO5102)-Funded by the European Union-Next Generation EU; MH CZ-DRO (FNBr,65269705); MUNI/A/1558/2023.

POINT-OF-CARE NON-VIRAL PRODUCTION OF CD19 CHIMERIC ANTIGEN RECEPTOR-T CELLS WITH ENHANCED TSCM IMMUNOPHENOTYPE FOR THERAPY OF REFRACTORY B-CELL MALIGNANCIES – PRELIMINARY RESULTS OF PHASE I CLINICAL TRIAL

Otáhal P., Vydra J., Štách M., Šťastná Marková M., Válková V., Šálek C., Petráčková M., Rychlá J., Kaštančková I., Pytlík R., Lesný P., Cetkovský P.
Institute of Hematology and Blood Transfusion, Prague

Background: The efficacy of CAR-T therapy is partially influenced by immunophenotype of the manufactured CAR-T cells. Products containing higher percentage of less-differentiated, T stem-cell memory subsets provide longer persisting therapeutic effect. We developed an alternative production method of non-viral gene transfer by electroporating non-activated T cells with piggyBac transposon DNA, followed by expansion in the presence of IL-21 cytokine to increase the prevalence of CAR-T cells with stem-cell memory phenotype. The product, designated UHKT CAR19, expresses a CAR containing a unique CD19-specific scFv and, 4-1BB-zeta intracellular signaling domain.

Aims: To develop the point-of-care production pipeline of CAR-T manufacturing and initiate a clinical trial with CD19-specific CAR-T in patients with B-ALL/B-NHL.

Methods: A phase I study (NCT05054257) was initiated to evaluate the safety and efficacy of autologous UHKT CAR19 in adult patients with relapsed or refractory B-ALL or B-NHL who were not eligible for approved commercial CAR-T therapy. This phase I trial uses a dose-escalating scheme, where all patients receive 25 mg/m²/d of fludarabine for 5 days and 500 mg/m²/d of cyclophosphamide for 2 days followed by a single infusion of UHKT CAR19. A group of patients (N = 15) treated with tisa-cel as a standard-of-care was used to compare the properties of the manufactured product, such as the immunophenotype, expansion after administration to patients, and preliminary clinical response in the ongoing clinical trial.

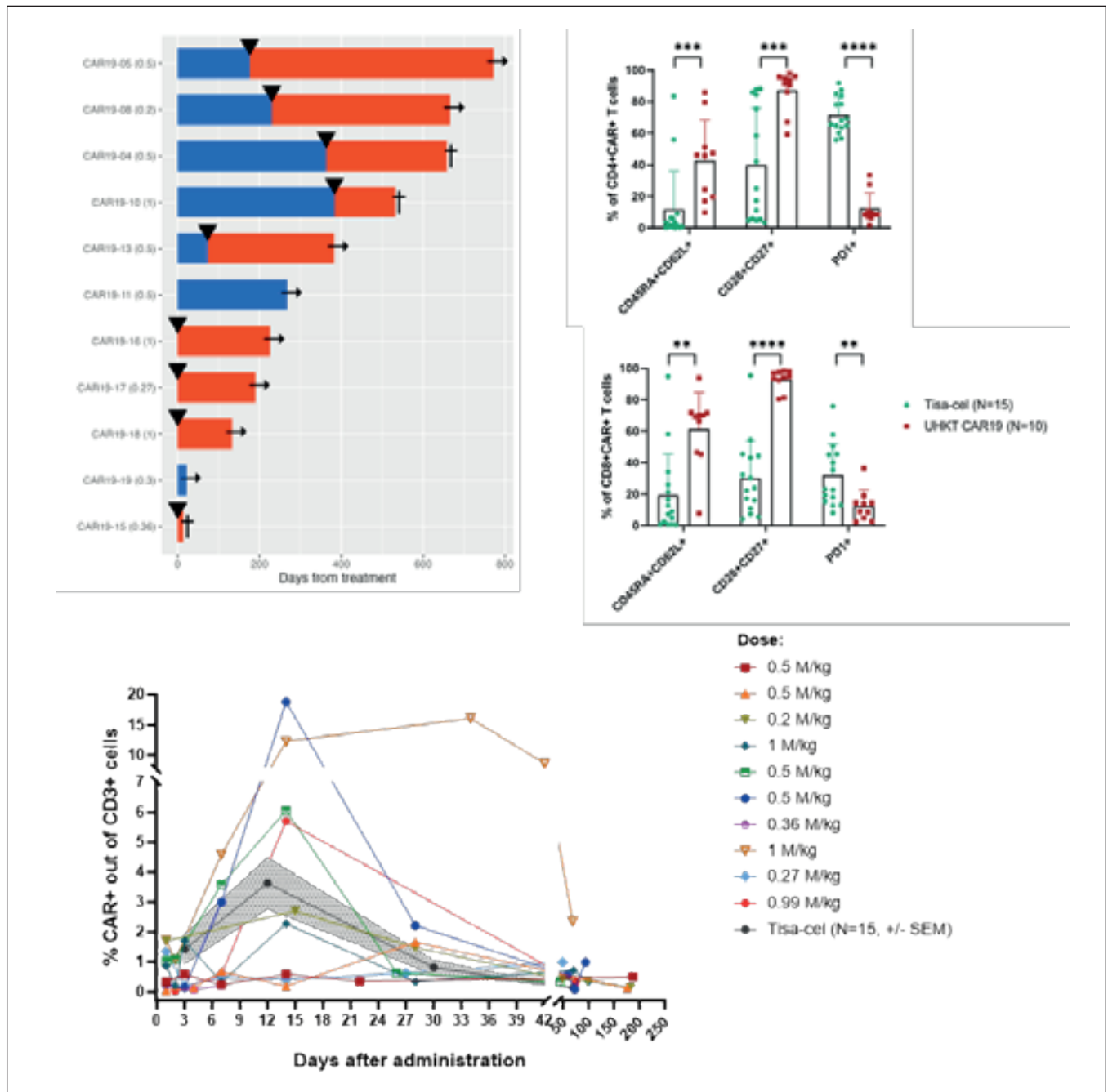
Results: In the pre-clinical studies, the UHKT CAR19 T cells showed cytotoxic effect *ex vivo* on CD19 positive tumor cell lines, and efficiently inhibited tumor growth and demonstrated safe toxicity profile in NSG mouse models. CAR gene integration sites were determined by targeted locus amplification method showing equal distribution throughout the genome without preference for specific sites. The UHKT CAR19 displayed a higher percentage of stem-cell memory CAR-T cells compared to with tisa-cel, in both CD4+ and CD8+ CAR+ T cells. The UHKT CAR19 had elevated percentage of CD45RA+CD62L+ (43 vs. 12%; $P = 0.0007$; 61 vs. 19%; $P = 0.0012$),

CD27+CD28+ (86 vs. 40%; $P = 0.0002$; 93 vs. 30%; $P < 0.0001$), and lower amount of PD-1+ (11 vs. 71%; $P < 0.0001$; 14 vs. 32%; $P = 0.0044$) CAR T cells (UHKT CAR19, $N = 11$ vs. tisa-cel, $N = 15$, CD4+; CD8+ CAR T cells respectively). So far, 11 patients were treated with a CAR-T dose up to 1×10^6 /kg. We have observed a detectable expansion of UHKT CAR19 T cells *in vivo* following the treatment in 10 out of 11 patients, even at the lowest administered dose of 0.1×10^6 CAR-T per kg, and the kinetics of the expansion reached similar levels as was observed in patients treated with tisa-cel. There was no occurrence of non-hematological adverse events above grade 3, CRS was observed in two patients (grade 1–2). One patient previously treated

with multiple lines of chemotherapy (tisa-cel and two alloHSCTs) developed a prolonged grade 4 cytopenia due to a secondary graft failure. Objective response was seen in seven out of eleven patients.

Summary/Conclusions: Infusion of UHKT CAR19 was safe and we observed clinical anti-tumor effects in seven out of eleven patients so far included in the trial. The manufacturing method enables efficient point-of-care production of CAR-T cells with stem-cell memory phenotype. We are enrolling patients in the high-dose group for the clinical trial.

Supported by grant AZV NU22-05-00374.



Obr. 13. Otáhal P et al.

VÝROBA A POUŽITÍ SMĚSNÝCH, OZÁŘENÝCH GRANULOCYTŮ Z BUFFY COATU VE FN BRNO

Pacasová R., Poloková N., Vaňušániková R., Lejdarová H.

Transfuzní a tkáňové oddělení, FN Brno

Úvod: Granulocytové transfuzní přípravky jsou indikovány u pacientů s febrilní neutropenií bez adekvátní reakce na standardní léčbu. Ve FN Brno se využívá i jejich profylaktické podání u pacientů s dříve prodělanou závažnou bakteriální nebo plísňovou infekcí nebo u pacientů s požadavkem na další cyklus chemoterapie nebo s plánovanou transplantací krvetvorných kmenových buněk.

Cíl: Autoři představují zkušenosti s výrobou a použitím ozářených směsných granulocytových přípravků z buffy coatu (GO) ve FN Brno.

Metodika: GO jsou ve FN Brno připravované dle modifikovaného postupu Bashir et al. (BJH: 140, 2008) bezprostředně po objednání nebo nejpozději následující den dopoledne. Po smísení 5 buffy coatů (BC), ve stáří do 18 h od odběru, s náhradním roztokem pro trombocyty a centrifugací je provedena separace erytrocytů, supernatantu a vrstvy bohaté na granulocyty tzv. super BC, který po naředění náhradním roztokem pro trombocyty představuje výsledný trombocytový přípravek.

Výsledek: V období od srpna 2022 do dubna 2024 bylo ve FN Brno připraveno celkem 276 ozářených směsných granulocytových přípravků z 5 BC, které byly aplikovány 19 pacientům IHOK FN Brno v celkem 69 T.D. Z celkového počtu vyrobených GO bylo 147 přípravků kontrolováno (53 %) s průměrnými výsledky pro terapeutickou dávku (přípravky z 20 BC): obsah granulocytů $15,78 \times 10^9$ a objem 418 ml a obsah erytrocytů $< 1,2 \times 10^{12}$.

Závěr: Vysoká dostupnost (výroba pondělí až sobota), rychlost dodání (akutně do 4–6 h od objednání) a příprava bez nutnosti stimulace alogenních dárců, jsou výhody, které vedou ve FN Brno k častým aplikacím v indikovaných klinických případech.

LÉČIVÉ PŘÍPRAVKY PRO MODERNÍ TERAPII VE FN BRNO – 8 LET ZKUŠENOSTÍ TTO

Pacasová R.¹, Michlíčková S.¹, Poloková N.¹, Hoffmanová H.¹,

Lejdarová H.¹, Semerád L.²

¹ *Transfuzní a tkáňové oddělení, FN Brno*

² *Interní hematologická a onkologická klinika FN Brno*

Úvod: FN Brno sestává z 56 klinik a oddělení, z nichž se na přípravě léčivých přípravků moderní terapie (LPMT) v uplynulých 8 letech podílelo 8 z nich (14 %). Transfuzní a tkáňové oddělení (TTO) po celé sledované období zajišťovalo odběry v režimu činnosti ZTS a podílelo se i na organizaci odběrů lidských tkání a buněk v režimu tkáňového zařízení (TZ). V posledních 5 letech se TTO zapojilo i do přípravy buněčných CAR-T přípravků v úzké spolupráci s IHOK FN Brno.

Cíl: Autoři představují zkušenosti s realizací odběrů pro výrobu LPMT ve FN Brno za období 2015–2024.

Metodika: Mezi odběry určené pro výrobu LPMT jsou ve FN Brno zařazeny odběry leukaferetických produktů na Separačním středisku

IHOK a Ambulanci TTO a odběry chrupavkové, nádorové, tukové, svalové a oční tkáně a tkáně pupečníku v rámci výkonů na operačních a porodních sálech.

Výsledek: V období 2014–2023 bylo ve FN Brno zahájeno 8 studií s cílem přípravy LPMT, u většiny (7) se jednalo o přípravky autologní. Probíhaly i odběry pro čtyři registrované, autologní přípravky moderní terapie. Celkem bylo realizováno 137 odběrů (autologních nebo alogenních) v režimu ZTS a více než 260 odběrů lidských tkání a buněk pro výrobu LPMT v režimu TZ. Zahraněním výrobcům LPMT bylo předáno 68 autologních odběrů buněk pro přípravu buněčných CAR-T terapií a 24 autologních odběrů lidských tkání.

Závěr: Léčivé přípravky moderní terapie jsou velkým příslibem pro rozvoj léčebných postupů nejen u hematologických pacientů a jejich využití v klinické praxi je postaveno na úzké a dobře fungující mezioborové spolupráci.

SOUČASNÉ MOŽNOSTI LÉČBY PACIENTŮ S CHRONICKOU LYMFOCYTÁRNÍ LEUKEMIÍ A ABERACÍ GENU TP53

Papajík T.¹, Kubová Z.¹, Kriegová E.^{1,2}

¹ *Hemato-onkologická klinika LF UP a FN Olomouc*

² *Ústav imunologie, LF UP a FN Olomouc*

Aberace genu *TP53* způsobená delecí krátkých ramen chromozomu 17, jeho mutací nebo kombinací obojího je patrně nejvýznamnějším a nejsilnějším prediktivním a prognostickým markerem u nemocných s chronickou lymfocytární leukemií (CLL). Aberace *TP53* se vyskytuje zhruba u 10 % neléčených jedinců, u 30–40 % pacientů v době relapsu či progresu a až u 50–60 % nemocných v terminální fázi onemocnění či Richterově transformaci. V éře imunochemoterapie byla přítomnost aberace spojena s výrazně horší prognózou a až čtyřnásobně zvýšeným rizikem úmrtí oproti ostatním prognostickým skupinám. Ve studii CLL8 (FCR) byl pacientů s aberací *TP53* medián PFS a OS pouhých 15, resp. 42 měsíců. U relabovaných a refrakterních (R/R) nemocných se léčebné výsledky úměrně zhoršovaly. Teprve s příchodem inhibitorů buněčných drah se prognóza nemocných s aberací *TP53* znatelně zlepšila. Zejména použití BTK inhibitorů u dříve neléčených pacientů umožnilo dosáhnout dlouhodobou kontrolu nemoci srovnatelnou s pacienty bez této aberace (4leté PFS 79 %, OS 88 % při léčbě ibrutinibem, 4leté PFS 77 %, OS 89 % při léčbě akalabrutinibem, 18měsíční PFS 89 % a OS 95 % při léčbě zanubrutinibem). Nadějně výsledky přináší také časově omezené podávání kombinace BTK inhibitoru s venetoklaxem. I když léčba R/R nemocných CLL s aberací *TP53* cílenými inhibitory zlepšila PFS a OS, výsledky jsou však většinou horší než u pacientů bez aberace. Zdá se, že klonální vývoj, přítomnost dalších změn genomu a typ předchozí léčby hrají zásadní vliv. Nové cílené léky a léčebné kombinace, bispecifické protilátky či buněčná terapie by mohly zlepšit prognózu R/R nemocných s CLL a přítomností aberace *TP53*.

Podpořeno IGA LF UP 2024 001 a MZ ČR – RVO (FNOL, 00098892).

MYCOSIS FUNGOIDES – KOMPLIKOVANÉ HOJENÍ

Pěgřímková J.

Klinika hematooonkologie FN Ostrava

Onemocnění Mycosis fungoides vychází z T-lymfocytů a představuje nejběžnější formu kožních lymfomů. Symptomy se v typickém případě vyvíjí i několik let. Prvním příznakem bývá vznik makulární léze, poté onemocnění progreduje do stádia vyvýšených erymatózních plošek, tzv. plaků, a do mykotického stádia s tvorbou kožních tumorů. V pokročilých stádiích postihuje celou kůži, lymfatické uzliny a nádorové buňky lze nalézt i v periferní krvi. Ve stádiích limitovaných na kůži se uplatňuje léčba pomocí UV záření (PUVA – psoralen a UVA záření) a radioterapie. V pokročilých stádiích se používá systémová léčba pomocí retinoidů, chemoterapie a cílená léčba. Kazuistika představuje péči o kožní defekty 69letého pacienta s dominujícím rozsáhlým tumorózním ložiskem spodní čelisti. Průběh léčby byl komplikován rozvojem superinfekce v místě ložiska a vznikem píštěle v oblasti dolního rtu. Během následujících 6 měsíců léčby bylo nutné zajistit pacientovi vhodný per os příjem pomocí PEG, byla zahájena radioterapie, chemoterapie a lokální terapie tumorózního ložiska. Během této doby došlo k výraznému zlepšení lokálního nálezu a zlepšení psychiky a celkové kvality života pacienta.

NOVÝ GENETICKÝ PODKLAD FENOTYPU O – ROZSÁHLÁ DELECE V ABO GENU

Písačka M.¹, Králová J.¹, Králová M.¹, Hosseini-Maaf B.², Hult A. K.², Hellberg A.², Olsson M.L.²

¹ ÚHKT Praha, ČR

² Division of Hematology and Transfusion Medicine, Lund University, Sweden

Úvod: ABO je transfuziologicky nejvýznamnější systém krevních skupin, serologicky poměrně jednoduchý, avšak velice komplexní po stránce genetické. Byly dosud popsány stovky různých alel. V této práci popisujeme další, dosud nepopsaný mechanismus vzniku fenotypu O.

Materiál a metody: Krevní vzorky těhotné pacientky a tří členů rodiny /nepříbuzné s pacientkou/ byly testovány standardními serologickými technikami a dále technikami průtokové cytometrie s monoklonálními anti-A, -B a -H. ABO lokus byl analyzován PCR-ASP/PCR-RFLP genotypováním a přímým DNA sekvenováním všech sedmi exonů a částí intronů.

Výsledky: Erytrocyty vyšetřovaných jedinců vykazovaly negativní reakci s anti-A diagnostiky. U pacientky a dvou členů rodiny byla v plasmě přítomná nepravidelná protilátka anti-A1. Průtoková cytometrie detekovala většinou shodu s kontrolou skupiny O a pouze stopově /méně než 0,1 %/ velice nízkou hladinu A antigenu.

V původním genotypovacím vyšetření byl nalezen heterozygocie pro ABO*A1, v kombinaci s ABO*O.01.01 nebo O.01.02, což bylo v diskrepanci se serologickým nálezem. V sekvenčním vyšetření však byla odhalena rozsáhlá delece velikosti 2 242 bp, od c.29-177

v intronu 1 do c.156-241 v intronu 3 – tedy zahrnující část intronu 1, celý exon 2, intron 2, exon 2 a téměř celý intron 3.

Závěr: Byla identifikována nová O alela u těhotné pacientky a tří členů s pacientkou nepříbuzné rodiny. Rozsáhlá delece v ABO genu pravděpodobně způsobovala velkou strukturální změnu A1 glykosyltransferázy s kompletní absencí její transmembranózní domény aa 17-37/, což výrazně snížilo až zcela zamezilo enzymatickou aktivitu. Podobná rozsáhlá delece 2 169 bp byla popsána v roce 2016 /Matzold et al., Transfusion/ v rodině se skupinou O s absencí anti-A v plasmě. Předmětem diskuse může být, zda se jedná skutečně o O alelu s chyběním anti-A v plasmě, nebo o A alelu s extrémním zeslabením exprese A antigenu.

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

Podstavková N.¹, Weinbergerová B.¹, Bělohávková P.², Ulmanová L.³, Černá O.⁴, Stejskal L.^{5,6}, Brejcha M.⁷, Kutáč D.⁸, Fenclová Z.⁹, Kissová J.¹⁰, Černý F.¹¹, Ullrychova J.¹¹, Vaculová J.¹², Čaniga M.¹³, Buffa D.⁶, Lakomá L.¹⁴, Lhotanová T.¹⁵, Hluší A.¹⁶, Doubek M.¹, Mayer J.^{1,17}

¹ Interní hematologická a onkologická klinika LF MU a FN Brno

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

³ Hematologicko-transfuzní oddělení, Oblastní nemocnice Mladá Boleslav

⁴ Hematologická klinika FNKV, Praha

⁵ Hematologicko-transfuzní oddělení, Slezská nemocnice v Opavě

⁶ Klinika hematooonkologie LF OU a FN Ostrava

⁷ Hematologická ambulance Nemocnice Nový Jičín

⁸ Oddělení hematologie a krevní transfuze, ÚVN, Praha

⁹ Hematologicko-transfuzní oddělení, Litomyšlská nemocnice, Litomyšl

¹⁰ Oddělení klinické hematologie, LF MU a FN Brno

¹¹ Oddělení klinické hematologie, Masarykova nemocnice Ústí nad Labem

¹² Oddělení klinické hematologie a hematooonkologie, Nemocnice Havířov

¹³ Hematologická ambulance, Synlab, Praha

¹⁴ Hematologická ambulance, Nemocnice Havlíčkův Brod

¹⁵ Interhema, Ostrava

¹⁶ Hemato-onkologická klinika LF UP a FN Olomouc

¹⁷ Centrum molekulární biologie a genetiky, Interní hematologická a onkologická klinika, LF MU a FN Brno

Úvod: Ropeginterferon alfa-2b (RopeglIFN) prokázal v randomizovaných studiích potenciál dosáhnout u Ph-negativních myeloproliferací (Ph-MPN) nejen hematologickou, ale i molekulární odpověď, důležitou z hlediska zpomalení přirozené progresy onemocnění.

Metody a cíle: Retrospektivní analýza klinických dat pacientů s Ph-MPN léčených RopeglIFN na 16 českých hematologických pracovištích v období 1/2020-3/2024. Zdrojové údaje byly čerpány z databáze České leukemické skupiny pro život (CELL) pro Ph-MPN (Myeloproliferative Neoplasia Database – MIND).

Výsledky: Ve sledovaném období bylo RopeglIFN léčeno 66 pacientů, z toho 85 % s PV, 3 % s esenciální trombocytémií, 9 % s myelofibrózou

a 3 % s myeloproliferativním onemocněním blíže neurčeným. Medián věku sledovaných byl 55 let. RopegIFN byl nejčastěji podáván v rámci 3. nebo vyšší linie terapie (n = 40; 61 %). Až u 41 % pacientů (n = 27) byla důvodem zahájení toxicita předchozí léčby pegylovaným interferonem alfa-2a (PegIFN). Medián délky terapie byl 670 dní. Hodnota alelické nálože mutace JAK2^{V617F} byla monitorována u 41 % sledovaných (n = 27). Celková hematologická nebo parciální remise byla dosažena u 61 % pacientů (n = 40). Medián celkové dávky RopegIFN podávané jednou za 14 dní byl 125 µg. Nežádoucí účinky byly dokumentovány u 30 pacientů (46 %), v 96 % se jednalo o nižší stupeň závažnosti 1 a 2. Terapie byla ukončena u 6 pacientů (9 %).

Závěr: Naše práce prokázala, na základě dat z reálné klinické praxe, vysokou efektivitu terapie RopegIFN ve smyslu dosažení hematologické remise i poklesu alelické nálože mutace JAK2V617F při výborné toleranci a to i ve skupině pacientů, u kterých byla předchozí léčba PegIFN spojená s výraznou intolerancí.

Práce byla podpořena Českou leukemickou skupinou pro život (CELL), grantem MZ ČR – RVO (FNBr 65269705) a projektem Národního ústavu pro výzkum rakoviny (Program EXCELES, ID: LX22NPO5102) – Financováno Evropskou unií – Next Generation EU.

PH-NEGATIVNÍ MYELOPROLIFERACE NA ČESKÝCH HEMATOLOGICKÝCH CENTRECH – REÁLNÁ DATA Z MIND (MYELOPROLIFERATIVE NEOPLASIA DATABASE)

Podstavková N.¹, Weinbergerová B.¹, Kissová J.², Bělohávková P.³, Žák P.³, Buffa D.⁴, Stejskal L.^{4,5}, Palová M.⁶, Hluší A.⁶, Vajdákova M.⁷, Břejcha M.⁸, Ulmanová L.⁹, Černá O.¹⁰, Lakomá L.¹¹, Kučerová M.¹², Kutáč D.¹³, Fenclová Z.¹⁴, Kutějová J.¹⁵, Lhoťanová T.¹⁶, Černý F.¹⁷, Ullrychova J.¹⁷, Poul H.¹⁸, Vaculová J.¹⁹, Čaniga M.²⁰, Doubek M.¹, Mayer J.^{1,21}

¹ Interní hematologická a onkologická klinika LF MU a FN Brno

² Oddělení klinické hematologie, LF MU a FN Brno

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

⁴ Klinika hematoonkologie LF OU a FN Ostrava

⁵ Hematologicko-transfuzní oddělení, Slezská nemocnice v Opavě

⁶ Hemato-onkologická klinika LFUP a FN Olomouc

⁷ Hematologická ambulance, Zlínská poliklinika, Zlín

⁸ Hematologická ambulance Nemocnice Nový Jičín

⁹ Hematologicko-transfuzní oddělení, Oblastní nemocnice Mladá Boleslav

¹⁰ Hematologická klinika FNKV, Praha

¹¹ Hematologická ambulance, Nemocnice Havlíčkův Brod

¹² Hematologicko-transfuzní oddělení, Nemocnice Znojmo

¹³ Oddělení hematologie a krevní transfuze, ÚVN, Praha

¹⁴ Hematologicko-transfuzní oddělení, Litomyšlská nemocnice, Litomyšl

¹⁵ Hematologické a transfuzní oddělení, Vsetínská nemocnice, Vsetín

¹⁶ Interhema, Ostrava

¹⁷ Oddělení klinické hematologie, Masarykova nemocnice Ústí nad Labem, Ústí nad Labem

¹⁸ Oddělení hematologie a transfúziologie, Nemocnice Pelhřimov, Pelhřimov

¹⁹ Oddělení klinické hematologie a hematoonkologie, Nemocnice Havířov, Havířov

²⁰ Hematologická ambulance, Synlab, Praha

²¹ CEITEC – Central European Institute of Technology, Masaryk University Brno, Brno

Cíle: Cílem této práce byla analýza reálných dat pacientů s Ph-negativními myeloproliferacemi (Ph-MPN) zařazených do projektu České leukemické skupiny pro život (CELL)- databáze MIND (Myeloproliferative Neoplasia Database).

Metody: Retrospektivní analýza epidemiologie, diagnostiky, léčby a přežívání případů Ph-MPN na 20 českých hematologických pracovištích zadaných v letech 2013–2023 do databáze MIND.

Výsledky: Celkem bylo analyzováno 1242 případů, nejvíce byla zastoupena pravá polycytémie, PV (39 %), primární myelofibróza, PMF (26 %) a esenciální trombocytémie, ET (21 %). Medián věku pacientů v době diagnózy byl 58 let. Z doprovodných symptomů se při stanovení diagnózy nejčastěji vyskytovala únava (51 %), noční pocení (30 %) a snížená aktivita (27 %). Nejčastější komplikace v době diagnózy představovaly trombotické (24 %) a krvácivé příhody (9 %), bez signifikantního rozdílu četnosti mezi typy Ph-MPN (p > 0,05). Výskyt krvácivých i trombotických příhod se během sledování snižoval ve všech podskupinách Ph-MPN. V 1. linii terapie byla u PV a MF nejčastěji podávána hydroxyurea (44 a 58 %), u ET anagrelid. Osmnáct pacientů (2 %) s MF podstoupilo alogenní transplantaci krevetvorné tkáně. Zemřelo celkem 15 % případů, nejvíce PMF (46 %). Medián celkového přežití nebyl dosažen u ET, nejkratší medián byl u sekundární MF (7,7 roku).

Závěr: Tato analýza dat z klinické praxe potvrzuje, že Ph-MPN jsou nemoci starších pacientů provázané vysokou četností symptomů zhoršujících kvalitu života. Trombotické a krvácivé události v době diagnózy provázely PV, ET i PMF bez signifikantního rozdílu v četnosti. Nejdelší přežívání bylo zaznamenáno u pacientů s ET na rozdíl od sledovaných s MF s nejkratší křivkou přežívání.

Práce byla podpořena Českou leukemickou skupinou pro život (CELL), grantem MZ ČR – RVO (FNBr 65269705) a projektem Národního ústavu pro výzkum rakoviny (Program EXCELES, ID: LX22NPO5102) – Financováno Evropskou unií – Next Generation EU.

RUXOLITINIB V TERAPII AKUTNÍ STEROIDREZISTENTNÍ NEMOCI ŠTĚPU PROTI HOSTITELI

Podstavková N.¹, Folber F.¹, Weinbergerová B.¹, Krejčí M.¹, Mayer J.^{1,2}

¹ Interní hematologická a onkologická klinika LF MU a FN Brno

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

Úvod: Ruxolitinib představuje v dnešní době lék volby steroidrezistentní akutní nemoci štěpu proti hostiteli (aGvHD), potransplantační komplikace s vysoce nepříznivou prognózou.

Cíle a metody: Cílem retrospektivní analýzy bylo zhodnocení dat pacientů po alogenní transplantaci krvetvorby (alo-HSCT) se steroidrezistentní aGvHD léčených ruxolitinem v období 1/2019–3/2024 na našem pracovišti.

Výsledky: Ve sledovaném období se na našem pracovišti vyskytla aGvHD u celkem 81 pacientů (50 % ze všech alo-HSCT). O steroidrezistentní formu se jednalo ve 21 % (n = 17), konkrétně, v 59 % gastrointestinální, ve 23 % kožní a v 18 % kombinovaná kožní i gastrointestinální forma. U 10 pacientů se jednalo o závažnost stupně 2 a u 7 nemocných o stupeň 3 nebo 4. Medián věku v souboru byl 45 let. Převažovala nepříbuzenská transplantace (59 % dárce se shodou 10/10 a 23 % se shodou 9/10). Medián vzniku steroidrezistentní akutní GvHD v souboru byl 37 dní po alo-HSCT. Po měsíci terapie ruxolitinem byla zaznamenána u 59 % pacientů kompletní odpověď a u 29 % částečná odpověď. U 3 pacientů byl ruxolitib při trvání celkové odpovědi ukončen, přičemž nedošlo k relapsu GvHD. Nežádoucí účinky byly zaznamenány u 5 pacientů (29 %), neutropenie a trombocytopenie nejvýše 3. stupně závažnosti, u 1 pacienta vedla toxicita k ukončení léčby. Infekční komplikace se vyskytly u 71 % nemocných, dominantně se jednalo o respirační infekce s nezávažným klinickým průběhem.

Závěr: Naše práce zdůraznila na základě dat z reálné klinické praxe vysokou efektivitu a dobrou toleranci ruxolitinu jako léku volby v léčbě steroidrezistentní aGvHD, problémem nicméně zůstává zvýšený výskyt infekcí.

ROZŠÍŘENÁ MOLEKULÁRNÍ DIAGNOSTIKA DOSPĚLÝCH PACIENTŮ S ALL V ČR

Polívková V.¹, Křížková J.¹, Suchánková P.¹, Vrzalová Z.², Lázníčka A.¹, Štika J.³, Halamová H.², Hrabovský Š.², Marinov I.¹, Ransdorfová Š.¹, Horáček J.M.^{4,5}, Kořístek Z.⁶, Doubek M.², Machová Poláková K.¹ a Šálek C.¹

¹ Ústav hematologie a krevní transfúze, Praha

² Interní hematologická a onkologická klinika FN Brno

³ Středoevropský technologický institut, Brno

⁴ IV. interní hematologická klinika FN Hradec Králové

⁵ Katedra vojenského vnitřního lékařství a vojenské hygieny, Vojenská lékařská fakulta Univerzity obrany Hradec Králové

⁶ Klinika hematologie LF OU a FN Ostrava

Akutní lymfoblastová leukemie (ALL) představuje 20 % akutních leukemií u dospělých. S vyšším věkem narůstá podíl prognosticky nepříznivých subtypů jako je *BCR::ABL1* pozitivní a *BCR::ABL1*-like ALL. 5leté celkové přežití je výrazně nižší u dospělých ALL pacientů (50 %) než u dětských (90 %). V roce 2023 jsme v rámci České leukemické skupiny pro život zahájili multicentrickou činnost v oblasti rozšířené molekulární diagnostiky ALL. Moderní genomické metody založené na masivně paralelním sekvenování umožňují spolehlivě stanovit subtyp B-nebo T-ALL. Transkriptomové sekvenování poskytuje data o genomovém expresním profilu, přítomných genových fúzí a somatických variantách. Panelové sekvenování spolu

s celoxomovým sekvenováním doplňuje informace o výskytu somatických variant asociovaných s jednotlivými subtypy ALL. Další používanou metodou je MLPA/digitální MLPA, která detekuje změny v počtu kopií DNA segmentů tzn. delece a amplifikace genů nebo jejich částí s možností určit i přítomnost profilu *IKZF1^{plus}*. Součástí rozšířené diagnostiky je i ex vivo testování citlivosti primárních buněk pacientů s T-ALL k venetoclaxu a dasatinibu. Výstupy těchto metod spolu se standardní laboratorní diagnostikou (cytogenetické analýzy, flowcytometrie, myelogram) zpřesňují určení subtypu ALL a stanovení stratifikačního rizika. Dosud bylo vyšetřeno 26 pacientů v době diagnózy (16 B-ALL; 4 MPAL; 6 T-ALL), kdy se podařilo u všech B-ALL určit molekulární subtyp (3× *ZNF384r*; 3× *KMT2Ar*; 2× *BCR::ABL1*-like a další). U všech T-ALL a 3/4 MPAL pacientů byly detekovány patogenní somatické mutace. Možnost zařazení pacientů do jednotlivých subtypů ALL podle aktuálních klasifikací WHO 2022 a ICC 2022 umožňuje intenzifikovat léčebný přístup u pacientů s vysokým rizikem, a tím zvýšit úspěšnost léčby.

Podpořeno NU22-03-00210; NÚVR (Program EXCELES, ID: LX22NPO5102); BBMRI.cz no. LM2023033.

KRYOKONZEROVANÉ TROMBOCYTY – VÝDEJ A POUŽITÍ – ZKUŠENOSTI VE FN BRNO

Poloková N., Pacasová R., Lejdarová H., Vaňušániková R.
Transfuzní a tkáňové oddělení, FN Brno

Úvod: Kryokonzervované trombocyty jsou připravovány zmrazením při teplotě $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ za použití kryoprotektivních látek, které brání poškození buněk. K rekonstrukci lze použít plazmu i náhradní roztok. Doba skladování je 2 roky. Ve FN Brno je k rekonstrukci využíván náhradní roztok. Přípravky jsou určeny pro akutní podání u masivně krvácejících pacientů a také slouží jako pohotovostní záloha pro krizovou krevní politiku.

Cíl: Autoři představují zkušenosti s výrobou, výdejem a použitím kryokonzervovaných trombocytů ve FN Brno.

Metodika: Ke kryokonzervaci jsou ve FN Brno používány směsně deleukotizované trombocyty (TBSDR) i aferetické trombocyty (TADR), kryoprotektivní látka 30 % DMSO s výslednou koncentrací v přípravku 5 %. Prováděná kontrola kvality umožňuje stanovení ztráty trombocytů (maximálně 50 %, limit Guide 21st edition). Rutinní výroba kryokonzervovaných trombocytů ve FN Brno probíhá od roku 2020, výdej a distribuce (prodej) od roku 2021.

Výsledky: V období od ledna 2020 do dubna 2024 bylo ve FN Brno vyrobeno > 600 T.D. kryokonzervovaných trombocytů, z tohoto počtu bylo rekonstituováno > 500 T.D. Průměrný obsah trombocytů po rekonstrukci byl $203 \times 10^9/\text{T.D.}$, ztráta trombocytů < 30 % (n = 215). V dubnu 2024 byla zahájena distribuce trombocytů kryokonzervovaných, zmrazených externím ZTS.

Závěr: Výhodou kryokonzervovaných trombocytů v náhradním roztoku je dlouhá doba použitelnosti, rychlá rekonstrukce a dostupnost (do 7–10 min) a vyšší prokoagulační aktivita ve srovnání

s nativními přípravky. Při použití náhradního roztoku k rekonstituci lze kryokonzervované trombocyty považovat za promyté s ohledem na zanedbatelný obsah zbytkové plazmy.

POMĚR NEZRALÝCH NEUTROFILŮ K CELKOVÉMU POČTU NEUTROFILŮ (I/T POMĚR) JAKO ČASNÝ INDIKÁTOR NOVOROZENECKÉ SEPSE

Pospíšilová Š.¹, Šípková L.², Vytisková S.^{1,3}, Bourková L.¹, Buliková A.¹

¹ Oddělení klinické hematologie, FN Brno

² LF MU Brno

³ Oddělení klinických laboratoří, Vojenská nemocnice Brno

Novorozenecká seps (NS) je jednou z nejzávažnějších komplikací novorozeneckého období s vysokou mortalitou a závažnou dlouhodobou morbiditou. V roce 2010 pediatrický výbor Evropské agentury pro léčivé přípravky publikoval diagnostická kritéria sepsy pro novorozence, kde je mezi laboratorními parametry NS uveden i poměr nezralých neutrofilů (promyelocytů, myelocytů, metamyelocytů a tyčů) k celkovému počtu neutrofilů tzv. I/T poměr, přičemž jeho hodnota > 0,2 je známkou přítomnosti bakteriální infekce a je považována za významný diagnostický laboratorní marker NS. Cílem této práce bylo stanovit I/T poměr u vybrané skupiny novorozenců s suspektní NS a vyhodnotit jeho diagnostickou výpovědní hodnotu v rámci diagnostiky NS ve Fakultní nemocnici Brno. K výpočtu I/T poměru a ke statistickému zpracování dat byly využity údaje z morfologického hodnocení nátěrů periferní krve novorozenců s podezřením na NS. I/T poměr byl stanoven u celkového počtu 152 vzorků 104 novorozenců, z nichž 15 (9,9 %) pocházelo od pacientů s prokázanou NS a 137 (90,1 %) od jedinců bez prokázané sepsy. Pomocí ROC analýzy byla zjištěna dobrá diagnostická kvalita I/T poměru (plocha pod křivkou AUC 0,849; senzitivita 93,3 %, specifická 67,9 %, cut-off hodnota > 0,078) a velmi vysoká negativní prediktivní hodnota testu 98 %. Ve shodě s předchozími studiemi bylo prokázáno, že I/T poměr vykazuje v porovnání s ostatními laboratorními vyšetřeními používanými pro diagnostiku NS dobrou schopnost odhalit i vyloučit přítomnost onemocnění. Značnou výhodou tohoto parametru je požadavek pouze malého množství vzorku pro vlastní analýzu, dále finanční, časová i přístrojová nenáročnost vyšetření, což z I/T poměru činí vhodný marker pro rutinní laboratorní diagnostiku NS.

MOLEKULÁRNÍ GENETIKA VZÁCNÝCH PORUCH HEMOSTÁZY

Provazníková D., Radovská A., Šimoníková M., Češpivová D., Lišková R., Szeligová H., Svobodová L., Rychetská P., Fenclová T., Hrachovinová I.
Laboratoř pro poruchy hemostázy, Ústav hematologie a krevní transfúze, Praha

Úvod: Vzácná koagulační onemocnění zahrnují deficit faktorů II, V, VII, X, XI, XII a kombinovaný deficit těchto faktorů. Jde o monogenní

onemocnění způsobená kauzálními variantami v genech kódující uvedené koagulační faktory děděná zpravidla autozomálně recesivně. Vzhledem k novým diagnostickým možnostem molekulární genetiky a úzké vazbě na speciální vyšetření koagulačních faktorů došetřujeme genetickou příčinu těchto vzácných vrozených poruch.

Metoda a výsledky: Metodou sekvenování nové generace (NGS) jsme vyšetřili 316 pacientů s poruchou hemostázy. U 31 pacientů byla identifikována kauzální varianta v genech *F5*, *F7*, *F11*, *F12*, *LMAN1*. U 17 pacientů z 12 nepříbuzných rodin s deficitem FVII bylo nalezeno 10 různých variant, z nichž tři nebyly doposud popsány v mezinárodní databázi. U některých pacientů se deficit FVII vyskytl společně s deficitem FV spojeným s variantou, která rovněž nebyla doposud popsána. U 11 pacientů z 10 nepříbuzných rodin s deficitem FXI bylo nalezeno 8 různých variant, z nichž všechny byly již uvedeny v databázi. U 6 pacientů s deficitem FXII byly identifikovány 3 různé varianty. Potvrdili jsme klinický význam varianty v promotorové oblasti *F12*, která je vedena v databázi se sporným patogenním výsledkem. U 4 pacientů ze 2 nepříbuzných rodin s kombinovaným deficitem FV+FVIII byly v genu *LMAN1* nalezeny 3 různé varianty, z nichž jedna nebyla popsána v žádné databázi. Nové varianty byly analýzou *in silico* a vyšetřením fenotypu určeny jako patogenní.

Závěr: Prokázali jsme, že genetická analýza je důležitá pro potvrzení nebo vyloučení dědičných příčin deficitu vzácných koagulačních faktorů, protože deficit faktorů je zpravidla pouze mírný nebo hraniční a neumožňuje jednoznačnou diagnózu.

VYUŽITÍ PARAMETRU DISTRIBUČNÍ ŠÍŘE MONOCYTŮ (MDW) PŘI DIAGNOSTICE ZÁVAŽNOSTI SEPSE

Pulcer M.^{1,2}, Štveráková V.³, Sadílek P.^{3,4}, Kolářová S.¹, Máca J.^{5,6}, Straková H.⁵, Pulcerová S.⁷, Komárková H.⁸, Buffa D.⁹, Stejskal D.^{2,10}

¹ Oddělení klinické hematologie, Ústav laboratorní medicíny, FN Ostrava

² Ústav laboratorní medicíny, LF OU, Ostrava

³ Farmaceutická fakulta, UK Praha

⁴ IV. interní hematologická klinika FN Hradec Králové

⁵ Klinika anesteziologie, resuscitace a intenzivní medicíny, Ústav laboratorní medicíny, FN Ostrava

⁶ Klinika anesteziologie, resuscitace a intenzivní medicíny, LF OU, Ostrava

⁷ Katedra matematických metod v ekonomice, Ekonomická fakulta, VŠB – TU Ostrava

⁸ Klinická hematologie, Městská nemocnice Ostrava

⁹ Klinika hematologie FN Ostrava

¹⁰ Ústav laboratorní medicíny, FN Ostrava

Úvod: Seps je život ohrožující orgánová dysfunkce způsobená dysregulovanou odpovědí hostitele na infekci. Celosvětově je stále jednou z hlavních příčin úmrtí na jednotkách intenzivní péče. Vedle standardně používaných biochemických parametrů (CRP, IL-6, Presepsin, Prokalcitonin) se v poslední době vyšetřují při diagnostice sepsy i hematologické parametry. Mezi ty patří např. poměr neutrofilů a lymfocytů (NLR), dále ICIS skóre a distribuční šíře monocytů (MDW).

Cíle práce: Porovnat vybrané laboratorní markery pro časný záchyt sepse a vyhodnotit jejich kinetiku v závislosti na klinickém stavu pacientů.

Metodika: Parametr MDW byl měřen na analyzátoru Beckman Coulter DxH 900 a ostatní hematologické parametry na analyzátoru Sysmex XN-9000 (S-Monovette® 2,6 mL K₃EDTA). Biochemické markery CRP, PCT a IL-6 byly vyšetřeny na biochemické lince Atellica CH 930 a IM 1300 (S-Monovette® 2,7 mL Z-Gel). Biomarker presepsin byl analyzován na přístroji Pathfast (S-Monovette® 4,9 mL LH-Gel+). Celkem bylo vyhodnoceno 36 septických pacientů a 48 zdravých dárců.

Výsledky: Výsledky byly hodnoceny pomocí ROC analýzy. Jako nejvíce přesný se ukázal parametr MDW (AUC = 0,976) v porovnání s ICIS (AUC = 0,975) a NLR (AUC = 0,950). Vypočtená cut-off hodnota 21,01 se nacházela blízko cut-off 21,5 doporučené výrobcem. Na vybrané kazuistice byla ukázána kinetika jednotlivých parametrů sepse v závislosti na klinickém stavu pacienta.

Závěr: Nový hematologický parametr MDW se v naší studii osvědčil jako velmi senzitivní a specifický marker při záchytu sepse. Získá se změřením KO+DIFF na analyzátoru Beckman Coulter DxH 900 a je schválený FDA pro diagnostiku sepse. Kombinace MDW s dalšími markery má velký potenciál pro časnou diagnostiku a predikci prognózy sepse.

Klíčová slova: sepse – MDW – zánětlivé markery – Beckman Coulter DxH 900 – Sysmex XN-9000

MYELODYSPLASTICKÉ NEOPLÁZIE (MDS) S IZOLOVANOU DELECÍ 5Q

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

Hemato-onkologická klinika LF UP a FN Olomouc

Pacienti s izolovanou del(5q) – vč. 1 přidatné aberace v jmachromozomu 7 (dále 5q-) vykazují dobrou prognózu dle cytogenetického skórovacího systému (Schanz et al., 2012). Rozsah del(5q) je variabilní a podle literatury mají pacienti s aberací telomerické oblasti 5q agresivnější průběh nemoci. Chování onemocnění může být ovlivněno i dalšími faktory (mutace TP53 nebo SF3B1). Cílem této studie bylo analyzovat soubor MDS pacientů s 5q-. Určit přidatné chromozomové aberace, zmapovat rozsah del(5q) a vyšetřit varianty v kandidátních genech. Vzorky kostní dřeně byly vyšetřeny G-pruhováním, FISH (MetaSystems) a arrayCGH (Agilent), pro detekci variant ve 45 kandidátních genech použita technologie MPS (Illumina). Celkem bylo během 21 let (2002–2023) diagnostikováno 328 MDS pacientů. Aberace chromozomu 5 detekována u 111 pacientů (34 %). U 44 pacientů prokázán 5q- (13 %), telomerická del(5q) nalezena u jediné pacientky. ArrayCGH byla provedena u 44 pacientů, nebalancované aberace 5q byly nalezeny u 42 pacientů. Metoda umožnila určení CDR o velikosti 1,8 Mb v oblasti 5q32.1 (obsahuje 39 genů). Největší deletovaná oblast zaujímalá 86,13 Mb. Nálezy dalších přidatných aberací vedly k vyřazení 2 pacientů ze souboru 5q-. Pomocí MPS bylo vyšetřeno 42 pacientů,

z toho 29 pacientů mělo alespoň jednu mutaci ve sledovaných genech. Nejčastěji se vyskytovala mutace SF3B1 (14 pacientů), zejména varianta K700E. U jednoho pacienta byla nalezena varianta DDX41 s nejistým významem, u 5 pacientů mutován TP53. U 13 pacientů došlo k progresi do sAML, ale nepodařilo se identifikovat žádné jasné prediktory. Kombinace cytogenomických a molekulárně-biologických metod je přínosná pro přesnou diagnostiku a stratifikaci pacientů s MDS.

Podpořeno IGA_LF_2024_001.

ZÍSKANÁ HEMOFILIE A VE FAKULTNÍ NEMOCNICI OSTRAVA

Recová L.¹, Zeisbergerová J.², Pulcer M.¹

¹ Oddělení klinické hematologie, Ústav laboratorní medicíny, FN Ostrava

² LF OU Ostrava

Úvod: Získaná hemofilie A (AHA) je vzácné hemoragické autoimunitní onemocnění vyvolané produkcí neutralizačních autoprotilátek proti endogennímu koagulačnímu faktoru VIII (FVIII). Tyto protilátky inhibují aktivitu FVIII, což vede ke klinickému obrazu podobnému vrozené hemofilii A. Krvácení je často spontánní a závažné až život ohrožující. Léčba AHA spočívá v rychlé diagnostice, zvládnutí krvácení a eradikaci inhibitoru pomocí imunosuprese.

Cíle práce: Zaznamenat počet případů získané hemofilie A diagnostikované ve Fakultní nemocnici Ostrava na Oddělení klinické hematologie Ústavu laboratorní medicíny od roku 2012 do konce roku 2023. Data pacientů vyhodnotit se zaměřením na vývoj hodnot aktivity FVIII a titru získaného inhibitoru FVIII (IFVIII) v průběhu léčby AHA. Stanovit dobu eradikace IFVIII jednotlivých pacientů a průměrnou dobu souboru pacientů a popsat vybrané kazuistiky pacientů s AHA.

Metodika: Diagnostika získané hemofilie A u pacienta bez předchozí osobní nebo rodinné anamnézy krvácení je založena na počáteční detekci izolovaného prodloužení aktivovaného parciálního trombotoplastinového času (APTT), které nelze korigovat směsnými testy a následná identifikace snížené aktivity FVIII s průkazem inhibitoru FVIII. Měření probíhalo na koagulačních analyzátoch Sysmex CN-6000 a Sysmex CS-5100. Celkem bylo zaznamenáno 21 pacientů s AHA za dané období. Kazuisticky byly popsány a graficky vyhodnoceny výsledky aktivity FVIII a titru IFVIII u dvou pacientů.

Výsledky: Na základě získaných dat byla stanovena přibližná doba eradikace IFVIII každého pacienta s AHA. Průměrný počet dnů eradikace IFVIII v souboru byl 110. Na vybraných kazuistikách pacientů s AHA byla prokázána závislost aktivity FVIII na titru inhibitoru FVIII.

Závěr: Laboratorní diagnostika získané hemofilie A je založena na vyšetření APTT, směsných testů, stanovení aktivity FVIII a titru IFVIII. Včasná diagnostika AHA je velmi důležitá a neměla by být podceňována. U některých pacientů s AHA v době stanovení prognózy nemusí být přítomny krvácivé projevy.

Klíčová slova: získaná hemofilie A – aktivovaný parciální trombotoplastinový čas – směsné testy – faktor VIII – inhibitor faktoru VIII

CYTOGENOMICKÁ ANALÝZA ABERACÍ CHROMOZOMU 7 U MYELOIDNÍCH MALIGNIT

Rochlová K.¹, Valeriánová M.¹, Mendlíková I.¹, Lizcová L.², Pavlišťová L.², Čermák J.¹, Válka J.¹, Jonášová A.³, Zemanová Z.² a Ransdorfová Š.¹

¹ Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

² Centrum nádorové cytogenomiky, Ústav lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky, 1. LF UK a VFN v Praze

³ 1. interní klinika-klinika hematologie 1. LF UK a VFN v Praze

Aberace chromozomu 7 patří mezi rekurentní chromozomové změny u myeloidních malignit, jako jsou myelodysplastické syndromy (MDS) a akutní myeloidní leukemie (AML). Jejich studium přispívá k rozšíření znalostí o etiologii a progresi nádorových onemocnění.

Cílem studie bylo mapování zlomových míst a aberací chromozomu 7 pomocí cytogenomických a molekulárně cytogenetických metod. V letech 2017–2024 jsme vyšetřili celkem 177 vzorků kostní dřeně nově diagnostikovaných dospělých nemocných s MDS/AML, u kterých jsme našli aberaci chromozomu 7. U 24 pacientů (14 %) jsme detekovali izolovanou monozomii chromozomu 7. Samostatnou delecí dlouhých ramen chromozomu 7 jsme prokázali u 6 nemocných (3 %). Alteraci chromozomu 7 v kombinaci s další změnou mělo 29 nemocných (16 %). 118 pacientů (67 %) mělo aberace chromozomu 7 jako součást komplexního karyotypu. U 92 nemocných jsme prokázali delecí 7q, z toho u 44 pacientů došlo ke ztrátě tumor supresorového genu *EZH2* (7q36.1). Změny na krátkých ramenech jsme nejčastěji lokalizovali v oblasti 7p12, kde se nachází gen *IKZF1*, jehož delecí jsme potvrdili u 21 pacientů. U 13 nemocných jsme zaznamenali delecí všech námi vyšetřovaných oblastí 7q22, 7q31 i 7q36. Alterace chromozomu 7 se nejčastěji objevovala jako součást komplexních přestaveb. Současně jsme potvrdili značnou heterogenitu zlomových míst, a to jak na krátkých, tak dlouhých ramenech. Všechny tyto změny jsou spojeny se špatnou prognózou a rychlou progresí onemocnění. Jejich včasná detekce je proto zásadní pro správné vyhodnocení prognostického rizika nemocných a výběr odpovídající terapie.

Podpořeno projekty MZČR00023736 a RVO-VFN64165.

SROVNÁNÍ EFEKTU LÉČBY SHL A EHL U DOSPĚLÝCH PACIENTŮ S HEMOFILIÍ A B PO DOBU 12 MĚSÍCŮ: ZKUŠENOSTI Z FN BRNO

Romanová G.¹, Smejkal P.¹, Prudková M.^{1,2}, Zavřelová J.¹, Penka M.¹, Buliková A.^{1,2}

¹ Oddělení klinické hematologie FN Brno

² Interní hematologická a onkologická klinika LF MU a FN Brno

Úvod: Preparáty s prodlouženým poločasem (EHL) představují významný pokrok faktorové léčby u pacientů s hemofilií A a B.

Cíl: Porovnat spotřebu a počty krvácení celkových (ABR) a kloubních (AjBR) a snížení intravenózních aplikací u pacientů s HA a HB při léčbě standardními preparáty (SHL) a poté po převedení na EHL.

Metodika: Soubor zahrnoval 24 dospělých pacientů s HA a 5 pacientů s HB (FVIII/FIX < 2 %) léčených 12 měsíců jedním z SHL preparátů a poté převedených po stejnou dobu na EHL preparáty. Při monitoraci byla pro všechny SHL FVIII/FIX použita jednofázová koagulační metoda, pro EHL FVIII/FIX byla použita jak jednofázová (OSA), tak chromogenní metoda (CSA).

Výsledky: Průměrný ABR pro SHL FVIII byl $1,46 \pm 1,02$, po přechodu na EHL FVIII se snížil na $0,67 \pm 0,96$, AjBR SHL FVIII byl $1,176 \pm 1,09$, po přechodu na EHL FVIII klesl na $0,50 \pm 0,66$. Počet intravenózních aplikací se snížil z $2,76 \pm 0,70$ na $1,88 \pm 0,48$ týdně. Spotřeba EHL FVIII se zvýšila o 11 %. Průměrný ABR pro SHL FIX byl $2,60 \pm 3,21$ (AjBR $2,20 \pm 3,50$), při EHL FIX klesl na $1,40 \pm 1,52$ (AjBR $0,40 \pm 0,89$). Počet intravenózních aplikací se při léčbě EHL FIX snížil z $1,8 \pm 1,04$ na $0,58 \pm 0,33$. Spotřeba EHL FIX se snížila o 29 %.

Závěr: U pacientů s HA se při EHL ABR snížil 2,1x (AjBR 2,4x), u pacientů s HB se snížil ABR 2x (AjBR 3x). Spotřeba EHL týdně u HA vzrostla pouze o 11 % se snížením počtu týdenních intravenózních aplikací (1,5x), u HB se snížila spotřeba dokonce o 29 % s trojnásobným snížením počtu intravenózních aplikací.

Podporováno Ministerstvem zdravotnictví, Česká republika-DRO (FNBr, 65269705).

IMUNOSUPRIMOVANÝ PACIENTŮ S ANAMNÉZOU NEZÁVAŽNÉ POLÉKOVÉ REAKCE NA KOTRIMOXAZOL: MOŽNOSTI PERORÁLNÍ INDUKCE LÉKOVÉ TOLERANCE

Rozsivalová P.^{1,2}, Vedrová J.³, Mikešová M.¹, Šrotová A.⁴, Malý J.², Radocha J.⁵

¹ Oddělení klinické farmacie, Nemocniční lékárna, FN Hradec Králové

² Katedra sociální a klinické farmacie, Farmaceutická fakulta UK v Hradci Králové

³ Oddělení klinické farmacie, Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

⁴ Ústav klinické imunologie a alergologie, FN Hradec Králové

⁵ IV. interní hematologická klinika LF UK a FN Hradec Králové

Úvod: Kotrimoxazol (sulfamethoxazol/trimethoprim) je lékem volby určený k profylaxi i terapii infekce vyvolané ubikvitárním houbovým patogenem *Pneumocystis jirovecii*, který způsobuje tzv. pneumocystovou pneumonii (PCP). Při anamnéze nezávažné hypersenzitivní reakce na kotrimoxazol může být pro pacienta řešením perorální indukce lékové tolerance dle jednodenního nebo vícedenního protokolu.

Cíl: Definovat možnosti navození lékové tolerance ke kotrimoxazolu u imunosuprimovaných pacientů s anamnézou nezávažné polékové reakce.

Metodika: Rešerší publikované literatury a faktografických databází a diskuzí s alergologem a klinickým imunologem byla získána informace k hypersenzitivním reakcím ke kotrimoxazolu a jejich managementu. Dále byla ve spolupráci s alergologem definována možnost navození lékové tolerance ke kotrimoxazolu.

Výsledky: Jednodenní protokol perorální indukce je vhodný pro pacienty s anamnézou nezávažné polékové reakce, kdy se nejčastěji jedná o izolovaný makulopapulózní exantém. Úspěšně byl použit u dvou pacientů. Opatrnější vícedenní protokol je volen v případě reakce závažnější, časné, suspektně IgE-mediované, charakteru anafylaxe. Desenzitizace byla úspěšně realizována u tří pacientů. Perorální indukce je kontraindikována v případě hypersenzitivní reakce pozdního typu – tzv. SCAR (Severe Cutaneous Adverse reactions), mezi které patří léková reakce s eozinofilii a systémovými příznaky (DRESS, Drug Reaction with Eosinophilia and Systemic Symptoms), Stevens-Johnsonův syndrom/toxická epidermální nekrolýza či akutní generalizovaná exantematózní pustulóza (AGEP). V těchto případech je vhodné zvolit alternativu – pentamidin, dapson, atovaquon.

Závěr: Validita informace o prodělané hypersenzitivní/alergické reakci v anamnéze nemocného je často nejistá. Prevalence polékových reakcí na kotrimoxazol je reálně v populaci nižší, než je uváděno. Multioborová spolupráce alergologa s lékařem a farmaceutem je pro pacienty v managementu perorální indukce lékové tolerance z hlediska racionální léčby a účinné profylaxe PCP infekcí nezbytná.

Tato práce byla podpořena grantem Univerzity Karlovy SVV 260665.

CIRCULATING PLASMA CELLS IN MULTIPLE MYELOMA

Ruzickova T.¹, Vlachova M.¹, Kotaskova J.², Almasi M.³, Rihova L.³, Stork M.⁴, Pour L.⁴, Sevcikova S.¹

¹Babak Myeloma Group, Department of Pathophysiology, Faculty of Medicine, Masaryk University, Brno

²Central European Institute of Technology, Masaryk University, Brno

³Department of Clinical Hematology, University Hospital Brno

⁴Department of Internal Medicine, Hematology and Oncology, University Hospital Brno

Multiple myeloma (MM) is a hemato-oncological disease characterized by abnormal plasma cell (PCs) proliferation. In MM, these PCs proliferate within the bone marrow, leading to bone destruction, bone marrow failure, and the secretion of abnormal proteins into the bloodstream. However, in some cases of MM, these PCs can escape from the bone marrow microenvironment and enter the bloodstream. The presence of circulating PCs (cPCs) in peripheral blood is considered a sign of advanced or aggressive disease. It may also indicate disease progression or relapse in patients who have previously undergone treatment.

We investigated differences in microRNA (miRNA) expression between bone marrow plasma cells (BMPCs) and cPCs of MM patients. Samples of BMPCs (N = 33) and cPCs (N = 13) were subjected to next generation sequencing, enabling comprehensive profiling of miRNA expression patterns. Our analysis revealed four significantly (P < 0.000000001) differentially expressed miRNAs between BMPCs and cPCs. These findings suggest distinct molecular profiles between BMPCs and cPCs, indicating potential differences in the regulatory mechanisms

underlying MM progression at different anatomical sites. Further exploration of these miRNAs may unveil their roles in MM pathogenesis and offer new potential therapeutic targets or biomarkers.

This work was funded by the grant of the Ministry of Health AZV NU21-03-00076, by Conceptual development of a research organization (FNBr 65269705), by Program EXCELLES, ID Project No. LX22NPO5102.

KLONALITA VYBRANÝCH LYMFOCYTÁRNÍCH SUBPOPULACÍ – TECHNICKÉ ASPEKTY STANOVENÍ POMOCÍ PRŮTOKOVÉ CYTOMETRIE

Říhová L., Bezděková R., Všianská P., Machů M., Suská R., Almáši M., Kamelander J., Vytisková S., Buliková A.

OKH, FN Brno

Úvod: Stanovení klonality lymfocytů je nepostradatelným vyšetřením v diagnostice vybraných hematologických malignit. Nejčastější analýzou je povrchová detekce lehkých imunoglobulinových řetezců kappa a lambda (sk/λ) u B lymfocytů (Bly) příp. jejich cytoplazmatická detekce (ck/λ) u plazmocytů (PC). Dostupnost MoAb proti TCR (TRBC1 a TRBC2) nově umožňuje také identifikaci klonálních T lymfocytů (Tly). Optimalizace nastavení vč. výběru protilátek (Ab) je pro správnou flowcytometrickou analýzu nezbytná.

Cíl: Detekce a jednoznačné stanovení klonality Tly a Bly vč. jejich diferencovaných forem.

Pacienti a metody: U 27 pacientů byla stanovena klonalita v periferní krvi či kostní dřeni za použití vybraných kombinací Ab: CD4+CD20/CD45/CD8+sk/CD56+sλ/CD5+CD34/CD19+TCRλδ/CD3/CD38 příp. CD38/CD45/sk/CD27/CD20/CD19/sIgM/sλ nb CD 138/CD45/CD38/CD56/CD27/CD19/ck/cλ nb CD4/CD45/CD3/CD 56/CD5/TCRλδ/TRBC1/CD8.

Výsledky: V rámci Bly, při podezření na lymfoproliferaci, byla v 6/10 případech patologie zjevná (CD5⁺, CD20^{het}, CD19^{het} apod.) s průkazem klonality. U 2/10 případů se jednalo o subpopulaci klonálních Bly, která by běžnou analýzou nebyla odhalena, u 2/10 pacientů nebyly identifikovány klonální Bly. Různé typy k a l spolu korelovaly.

Klonální PC byly identifikovány u 5/8 pacientů, u jednoho pacienta atypicky v rámci CD19⁺ PC. Proběhlo porovnání fluorochromů u Ab λ (APC-Fire750 vs. APC-H7).

Klonální Tly byly identifikovány u 7/9 pacientů, a to zejména v rámci CD56⁺ NKT (LGL) populace, často bylo přítomno několik klonů. Heterogenita v expresi CD8 se nepojila vždy s přítomností klonu Tly. Vždy se uplatnil specifický SW Infinicyt umožňující detailní reanalýzu získaných dat.

Závěr: Správné nastavení analytických postupů vedoucích k identifikaci klonální populace lymfocytů je nezbytné nejen v diagnostice hematologických malignit, ale také pro monitorování stavu onemocnění a detekci minimální reziduální nemoci (MRD).

Podpořeno MZ ČR, RVO (FNBr, 65269705).

RACIONÁLNÍ ALGORITMUS PODÁNÍ PLNÉ KRVY U PACIENTŮ V KRITICKÉM STAVU

Sedláková G., Krhová P.

Oddělení urgentního příjmu, FN Olomouc

Úvod: Plná krev de leukotizovaná je komponent připravený z odebrané plné krve odstraněním většiny leukocytů filtrací přes leukocytární filtr. Plná krev pro transfuzi je 0 RhD negativní. Přínosem plné krve je její komplexita, slouží jako náhrada objemu, transport kyslíku a významná je i její prokoagulační a koagulační aktivita.

Cíle: Stanovení algoritmu podání plné krve s vytipováním nemocných, kteří budou z tohoto užití profitovat ve srovnání s nemocnými u nichž byla použita jen erymasa.

Metodika: Bylo analyzováno celkem 76 pacientů. Z toho 38 nemocných dostalo plnou krev, 38 pouze erymasu. Věkový průměr byl 62,8 (57,2 PK, 68,4 ERY) poměr mužů : ženy 1,8 : 1. Průměrný systolický tlak u skupiny přijímající plnou krev je 109 mmHg, po podání 119 mmHg. Hodnoty diastolického tlaku před podáním 65 mmHg, po podání 68 mmHg. U skupiny přijímající erymasu je průměrný systolický tlak před podáním 106 mmHg, po podání 119 mmHg. Průměrný diastolický tlak se změnil ze 60 mmHg na 71 mmHg. Nejčastější diagnózou bylo krvácení do gastrointestinálního ústrojí s rozvíjejícím se hemoragickým šokem, v obou skupinách.

Výsledky: Průměrný vzestup hemoglobinu po podání plné krve byl 16,8 g/l, po podání erymasy byl 9,15 g/l. Nejvyšší vzestup hemoglobinu po podání plné krve byl 74 g/l, po podání erymasy 58 g/l.

Závěr: Podání plné krve pacientům v kritickém stavu má za následek větší zvýšení hodnot hemoglobinu (g/l) než u pacientů přijímající pouze erymasu. To však neplatí o hodnotách systolického i diastolického tlaku krve, který se více zvýšil u skupiny přijímající erymasu než u pacientů přijímajících plnou krev.

VÝSLEDKY LÉČBY DOSPĚLÝCH NEMOCNÝCH S AKUTNÍ MYELOIDNÍ LEUKEMIÍ – ANALÝZA DAT Z ČESKÉ NÁRODNÍ DATABÁZE DATOOL-AML

Semerád L.¹, Weinbergerová B.¹, Válka J.², Szotkowski T.³, Jindra P.⁴, Žák P.⁵, Novák J.⁶, Kořístek Z.^{7,8}, Mayer J.¹

¹ Interní hematologická a onkologická klinika LF MU a FN Brno

² Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

³ Hemato-onkologická klinika FN Olomouc

⁴ Hemato-onkologické oddělení, FN Plzeň

⁵ IV. interní hematologická klinika FN Hradec Králové

⁶ Interní hematologická klinika FNKV, Praha

⁷ Klinika hematoonkologie LF OU, Ostrava

⁸ Klinika hematoonkologie FN Ostrava

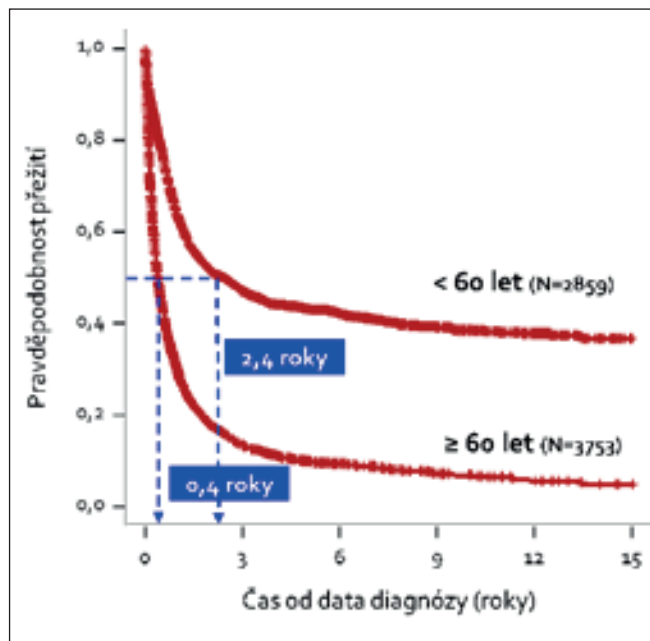
Cíle: Analýza reálných klinických dat nemocných s AML diagnostikovaných v českých centrech spolupracujících v rámci České leukemické skupiny pro život (CELL).

Metody: Komplexní retrospektivní analýza dat DATOOL-AML.

Výsledky: Do databáze DATOOL-AML bylo v letech 2007–2013 zařazeno celkem 7021 nemocných s nově diagnostikovanou AML (vč. AML M3). Medián věku je 62 let, 51,9 % mužů, 17,0 % sekundárních AML. ELN riziko (n = 3 648) bylo: 22,2 % nízké; 43,7 % střední a 34,2 % vysoké. Pro analýzu výsledků léčby bylo vyřazeno 301 AML M3. 62,6 % pacientů bylo léčeno s kurativním záměrem, z nichž 27,8 % intenzivní chemoterapií s následnou alogenní HSCT (aloHSCT); 71,1 % intenzivní chemoterapií bez aloHSCT a 1,1 % venetoclax+azacytidin s následnou aloHSCT. Kurativní přístup vedl ke kompletní remisi u 65,5 % nemocných s 3,6 % rizikem časného úmrtí ≤ 30 dní od zahájení kurativní léčby. Medián celkového přežití (OS) u kurativně léčených pacientů ≥ 60 a < 60 let byl 28,8 a 12,0 měsíců. Kombinací venetoclax+azacytidin bez aloHSCT bylo léčeno 11,6 % nemocných; 48,3 % nízkodávkovaným cytarabinem nebo azacytidinem, 37,7 % symptomaticky. Venetoclax+azacytidin v 1. linii léčby AML vedl ke kompletní remisi u 200 (63,5 %) nemocných s mediánem OS u všech takto léčených nemocných 15,4 měsíců. Léčba relapsu po prvoliniové léčbě u pacientů < 60 let (n = 745) byla u 86 % kurativní s povšechnou léčebnou odpovědí (RR) 64,6 %. RR a EFS u relapsu < 1 roku, 1–3 roky, > 3 roky po prvoliniové léčbě byly: RR – 64,2%/80,9%/100 % a EFS – 0,5/1,8/3,7 roku. OS všech AML ukazuje obrázek.

Závěr: Kvalita péče o nemocné s AML v České republice dosahuje úrovně srovnatelné v mezinárodním měřítku, čemuž odpovídají dosahované výsledky léčby.

Podpořeno CELL, grantem MZČR–RVO (FNBr 65269705), programem EXCELES, ID:LX22NPOS102) a projektem ERN.



Obr. 14. Semerád L et al. Celkové přežívání všech pacientů s AML zařazených v DATOOL-AML podle věku v době diagnózy.

Modré přerušované čáry a rámečky ukazují mediány celkového přežívání pacientů.

OPTIMALIZACE EX VIVO TESTOVÁNÍ CITLIVOSTI PRIMÁRNÍCH BUNĚK PACIENTŮ S NOVĚ DIAGNOSTIKOVANOU AKUTNÍ T-LYMFLOBLASTOVOU LEUKEMIÍ K VENETOCLAXU A DASATINIBU

Smažík T.^{1,2}, Čuřík N.^{1,3}, Šálek C.^{1,4}, Soukup P.¹, Válka J.^{1,4}, Machová Poláková K.^{1,3}, Láznička A.^{1,3,4}

¹ Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

² 1. LF UK, Praha

³ Ústav patologické fyziologie, 1. LF UK, Praha

⁴ Ústav klinické a experimentální hematologie 1. LF UK a ÚHKT, Praha

Úvod: T-akutní lymfoblastová leukemie (T-ALL) dospělých je obtížné léčitelné onemocnění, jehož prognózu negativně ovlivňuje absence dostupných imunoterapeutických modalit. Celkové přežití v ČR dosahuje 56,8 % (Šálek 2023). V případě refraktivity či relapsu (R/R) nebývá záchraná léčba účinná. Recentní práce prokázaly efektivitu venetoclaxu (inhibitor BCL2) a dasatinibu (inhibitor LCK) jako potenciálních léčebných modalit u těchto pacientů.

Cíl: Optimalizovat *ex vivo* testování citlivosti primárních buněk k venetoclaxu a dasatinibu v rámci rozšířené molekulární diagnostiky ALL jako podklad cílené léčby u R/R T-ALL.

Metody: Optimalizace proběhla na liniích KCL-22 a CML-T1 a linii odvozené od pacienta s T-ALL. Testování primárních buněk bylo provedeno u 4 pacientů s T-ALL a 2 s akutní leukemií se smíšeným imunofenotypem (MPAL). Buňky byly kultivovány s venetoclaxem a dasatinibem. Na základě změn apoptózy byla stanovena LC_{50} .

Výsledky: Stanovili jsme výchozí počet buněk pro testování (1×10^5 /jamku), koncentrace léčiv (venetoclax 0,001–10 μ M; dasatinib 0,1–10 000 nM) a dobu kultivace (72 h). Testování primárních buněk prokázalo *ex vivo* senzitivitu k venetoclaxu u 4/6 pacientů (LC_{50} 0,002–0,086 μ M) a k dasatinibu u 1 pacienta (LC_{50} 0,09 nM). Klinicky byl venetoclax nasazen 2 pacientkám. U pacientky s MPAL došlo v kombinaci s azacitidinem po 2. cyklu k dosažení hematologické remise, odpověď pacientky s R/R T-ALL zatím nelze hodnotit.

Závěr: Optimalizované *ex vivo* testování primárních buněk pacientů s T-ALL a MPAL prokázalo jejich rozdílnou citlivost k venetoclaxu a dasatinibu. V současnosti rozšiřujeme panel testovaných léčiv a předpokládáme jeho využití jako podklad individualizované terapie pacientů s R/R T-ALL.

Podpořeno MZ ČR – RVO (ÚHKT, 00023736).

K HETEROGENITĚ MYELOBLASTŮ V ROZTĚROVÝCH PREPARÁTECH KOSTNÍ DŘENĚ LEUKEMICKÝCH NEMOCNÝCH A KOMERČNĚ DOSTUPNÝCH KULTURÁCH LEUKEMICKÝCH BLASTŮ (RETROSPEKTIVNÍ CYTOMETRICKÁ A DENZITOMETRICKÁ STUDIE)

Smetana K.¹, Mikulenková D.¹, Šimečková R.¹, Karban F.², Trněný M.²

¹ ÚHKT, Praha

² 1. interní klinika VFN v Praze

Jádro-plasmový poměr je jedním z márků stupně diferenciace buněk kdy ubývá velikost jádra (R. Hertwig, 1903). V hematologické cytologii se však ukázalo, že toto pravidlo má omezenou platnost (kupř. lymfocyty). Na druhé straně odhad velikosti jádra v buněčném prostoru ukázal heterogenitu leukemických myeloblastů vč. stavu kondenzace heterochromatinových teritorií.

Pro možnost získání nových poznatků byla sledována velikost buněčného prostoru s jádrem a stav kondenzace heterochromatinu v „blastech“ leukemických nemocných i dostupných buněčných kulturách leukemických myeloblastů. Největší podíl jádra v buněčném prostoru byl zachycen u myeloblastů akutních myeloblastických leukemií s minimální diferenciací a bez maturace (M0 a M1 AML). V komerčně dostupných leukemických kulturách (*Kasumi 1*, *HL-60*, *K562*) jaderný podíl v buněčném prostoru myeloblastů byl signifikantně nižší. Jaderný podíl v buněčném prostoru blastů byl rovněž nízký v myeloblastech a proerythroblastech CML, monoblastech M4 a M5 AML, lymfoblastech CLL. Histogramy pak ukázaly, že myeloblasty s jádrem zaujímajícím více než 90 % buněčného prostoru (typ 1 bez azurofilních granul) jsou dominantním typem u AML M0 a M1. U M2 AML, či RAEB jsou méně časté. U ostatních typů AML a CML se také vyskytují, jejich výskyt je však velmi nízký až vzácný. Kondenzace heterochromatinu, u těchto myeloblastů je prakticky shodná v centrálních i periferních heterochromatinových teritoriích na rozdíl od dalších diferenciačních stadií. Nadto elektronogramy ukázaly, že úzký lem kolem jádra těchto myeloblastů neobsahuje žádné struktury charakteristické pro další diferenciační stadia. Je tedy zřejmé, že nejméně diferencovanými buňkami jsou myeloblasty s jádrem vyplňujícím více než 90 % buněčného prostoru bez charakteristických diferenciačních komponent v cytoplasmě.

Podpořeno MZD DRO IHBT 00023736.

VROZENÉ TROMBOCYTOPENIE – ZKUŠENOSTI KLINIKY DĚTSKÉ HEMATOLOGIE A ONKOLOGIE FN MOTOL

Smíšek P.¹, Slámová L.^{1,2}, Zdráhalová K.¹

¹ KDHO FN Motol, Praha

² GENNET, Praha

Vrozené trombocytopenie jsou vzácná geneticky podmíněná onemocnění. V současné době je popsáno několik desítek genů, jejichž mutace má kauzální souvislost s trombocytopenií. Mutace některých genů mohou být spojeny s dalšími symptomy (poruchy sluchu, katarakta, nefropatie), nebo se zvýšeným rizikem nádorových onemocnění (mutace ANKRD26, RUNX, ETV6). Na Klinice dětské hematologie a onkologie FN Motol jsme diagnostikovali vrozenou trombocytopenii u 21 pacientů (14 chlapců, 7 dívek). Molekulárně genetickým vyšetřením jsme prokázali mutace v deseti různých genech asociovaných s vrozenou trombocytopenií. Nejčastějším nálezem byla MYH9 mutace diagnostikovaná u 5 pacientů (23,8 %), mutaci ANKRD26 jsme prokázali u 4 pacientů, mutaci WAS ve třech případech. Počet trombocytů u většiny pacientů neklesal pod $50 \times 10^9/l$, hodnoty pod $30 \times 10^9/l$ mělo pouze 6 dětí (28,6 %). Významné hemorhagické komplikace jsme zaznamenali ve třech případech (14,3 %) – 1× poúrazové krvácení do CNS a 2× krvácení do gastrointestinálního traktu. Ostatní pacienti měli jen mírné krvácivé projevy – kožní hemorhagickou diatézu nebo epistaxi. Terapeutické možnosti u pacientů s vrozenou trombocytopenií jsou limitované. Ve čtyřech případech byla nutná substituce separovanými trombocyty, třikrát pro závažné krvácení a jednou v rámci přípravy před operačním zákrokem. Léčbu agonisty trombopoetinového receptoru jsme indikovali u třech dětí. Transplantaci kmenových buněk krvetvorby jsme neprovedli u žádného pacienta. Všichni pacienti zůstávají ve sledování hematologické ambulance, u pacientů s rizikovými mutacemi je doporučován pravidelný screening onkologických onemocnění. Stanovení diagnózy vrozené trombocytopenie je nezbytné pro určení adekvátního terapeutického postupu, zároveň může zamezit neindikované léčbě imunosupresiv, případně splenektomií. Dispenzarizace je nutná především u pacientů s vyšším rizikem malignit.

AKUTNÍ PROMYELOCYTÁRNÍ LEUKEMIE: SOUČASNÁ LÉČBA A RECENTNÍ VÝSLEDKY V ÚHKT

Sobotková M., Schwarz J., Šálek C., Soukup P., Válka J., Pecherková P., Vydra J.

Ústav hematologie a krevní transfúze, Praha

Úvod: Akutní promyelocytární leukemie (APL) – onemocnění s relativně dobrou prognózou, nicméně urgentní stav v době diagnózy, s vysokou mírou předčasného úmrtí často v důsledku krvácení při charakteristické koagulopatii. Včasné zahájení léčby pomocí all-trans retinové kyseliny (ATRA) + chemoterapie a možnost zařadit

do léčby také oxid arsenitý (ATO), zvyšuje podíl pacientů, kteří se ze svého onemocnění vyléčí.

Cíl: Zhodnocení současných postupů léčby APL v ÚHKT a aktuální výsledky uvedené léčby.

Metody: Soubor hodnocených pacientů stratifikován do tří prognostických skupin s nízkým, středním a vysokým rizikem. Léčba v režimu ATRA + chemoterapie a ATRA + ATO. Hodnoceno dosažení kompletní hematologické a molekulární remise (CR a CRm), celkové přežití (OS), přežití po dosažení CR, přežití bez události (EFS). Byla provedena statistická analýza přežití vč. porovnání metod pomocí log-rank testu.

Výsledky: V období 1/2018–12/2023 bylo v ÚHKT diagnostikováno a léčeno celkem 39 pacientů s APL, (z toho mužů 59 %), medián věku 45 let (18–85). CR dosaženo v mediánu 39 dnů, CRm v mediánu 72 dnů. 4,5 roku od stanovení diagnózy přežívá 87 %, od dosažení CR 97 % pacientů. EFS (smrt, relaps) po 4,5 letech od stanovení diagnózy je 67 %. Diferenční syndrom byl zaznamenán u 19 pacientů v mediánu 12 dnů (10–19) při léčbě ATO+ATRA a v mediánu 4 dnů (2–19) při terapii ATRA+chemoterapie. Zemřelo 6 pacientů, z toho 4 v průběhu indukce, do 15. dne od jejího zahájení.

Závěr: Vysoké hodnoty CR, CRm, dlouhodobé OS a EFS jsou srovnatelné s výsledky velkých, mezinárodních studií a bylo jich dosaženo díky použité moderní terapii a správné volbě léčebného protokolu vč. možnosti podávat ATO. K dobrým výsledkům přispívají také pokročilé možnosti terapie při řešení komplikací léčby.

KOMPLIKACE MODERNÍ IMUNOTERAPIE (CAR-T A BSAB) U PACIENTŮ FNHK

Sokolová, T., Zavřelová A., Belada D., Žák P., Radocha J.

IV. interní hematologická klinika LF UK a FN Hradec Králové

Úvod: Imunoterapie představuje revoluční terapeutický přístup současné éry léčby maligních onemocnění. Nicméně i tato léčba má svá úskalí, mezi které patří imunitní komplikace – CRS a ICANS, imunosuprese a následné infekce.

Metodiky: Retrospektivní analýza pacientů IV. interní kliniky FN Hradec Králové (01/2021–12/2023), léčených moderní imunoterapií.

Výsledky: Ve sledovaném období bylo moderní imunoterapií léčeno 81 pacientů. 18 léčeno CAR-T ((14/18) 77,8 % s dg. non-Hodgkinova lymfomu (NHL), (4/18) 22,2 % s dg. mnohočetného myelomu (MM)) a 63 pacientů léčeno BsAb ((38/63) 60,3 % s dg. NHL, (25/63) 39,7 % MM). Celková incidence CRS dosáhla 63 %, s maximální závažností grade 2 u 21 % pacientů, s nevyraznějším zastoupením u CAR-T, z 94,5 %. Výskyt ICANS byl zjištěn u 38,9 % pacientů, výhradně při CAR-T terapii B-NHL. Infekční komplikace byly pozorovány u 74,1 % pacientů, s mediánem výskytu 79 dní od terapie. Nejčastější typ infekce byl COVID-19 (44 %). U obou skupin BsAb (antiBCMA/GPRC5D a antiCD20) byl pozorován výskyt infekce nejvyššího stupně s celkovou porcí infekčních komplikací (88 vs. 81,6 %) a obdobným zastoupením jednotlivých gradů (gr. 3–5: 32 vs. 31,6 %). Medián koncentrace IgG ve 3 měsících po léčbě byl detekován pod hodnotou doporučenou pro substituci u antiBCMA/GPRC5D BsAb a CAR-T.

Závěr: Infekční komplikace zůstávají signifikantním zdrojem morbiditu a mortality u pacientů léčených moderní imunoterapií. Pacienti léčení různými skupinami BsAb vykazovali odlišnou hladinu IgG, nicméně pozorovaná incidence infekčních komplikací byla obdobná.

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

THE EFFECT OF BCMA AND GPRC5D TARGETED BISPECIFIC ANTIBODIES ON B CELL MATURATION IN MULTIPLE MYELOMA PATIENTS

Souček O.^{1*}, Venglář O.^{2*}, Radová E.², Muroňová L.², Popková T.², Mihályová J.², Plonková H.², Broskevičová L.², Hájek R.², Radocha J.³ a Jelínek T.²

*These two authors contributed equally to this work

¹ Ústav klinické imunologie a alergologie, LF UK a FN Hradec Králové

² Klinika hematologie FN Ostrava

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

Objective: Treatment of multiple myeloma (MM) using bispecific monoclonal antibodies (bsAbs) is a modern therapy with promising results. Infections represent an important toxicity associated with the use of bsAbs. There are several underlying causes: i) exhaustion of T lymphocytes, ii) humoral deficit due to depletion of B lymphocytes and plasma cells and iii) concomitant neutropenia. However, the incidence as well as the severity of infections depends on the type of target molecule to which the therapy is directed. The aim of the study was to compare the state of the B lymphocyte population after treatment using bsAbs targeting BCMA and GPRC5D molecules.

Methods: 14 MM patients treated with anti-BCMA bsAbs (teclistamab or elranatamab) and 8 patients treated with anti-GPRC5D (talquetamab) therapy were included in the study. Using multicolor flow cytometry, B cell maturation was monitored through the detection of individual developmental stages, using antibodies against TdT, IgM, CD10, CD19, CD20, CD22, CD34, CD38 and CD45.

Results: Treatment of MM with bsAbs targeting the BCMA molecule is accompanied by a higher proportion of the least mature Pre-B-I lymphocytes ($P < 0.0001$) and very immature Pre-B-I/Pre-B-II lymphocytes ($P = 0.016$) within the B lymphocyte population. B lymphocytes in this cohort represent only immature cells ($P = 0.0002$). In patients treated with anti-GPRC5D bsAbs, all developmental stages of B cells were detected, including mature B cells, which were not present in patients on anti-BCMA treatment ($P < 0.0001$). In the group of patients with anti-GPRC5D therapy were

also detected low levels of IgM whereas in patients treated with anti-BCMA bsAbs IgM levels were below the limit of detection ($P = 0.0005$).

Conclusion: The use of bsAbs against different molecular targets has a different effect on B cell compartment despite the same mechanism of action due to the different immunobiological properties of the given molecule. Thus, anti-GPRC5D treatment, which has been shown to have a lower incidence of infections, is accompanied with full B-cell maturation and detectable levels of IgM in serum, while treatment targeting the BCMA molecule is associated with blocking B-cell maturation before the cell enters the fully mature phase and there is also a visible accumulation of the most immature subsets. Thus, a sensitive perception of the biological nature of the target molecule can reveal more about the effect of the given treatment on the state of the immune system and the risk of infection.

KOINCIDENCE CML A PH-NEGATIVNÍHO MYELOPROLIFERATIVNÍHO ONEMOCNĚNÍ

Srbová D., Schwarz J., Žížková H., Machová-Poláková K., Ransdorfová Š., Šimečková R., Campr V., Klamová H.

Ústav hematologie a krevní transfúze, Praha

Úvod: Současný výskyt (přítomnost) dvou klonálních myeloproliferativních onemocnění (MPO) u jednoho pacienta není situací častou, nicméně možnou. Ne vždy je však tato koincidence odhalena, obě onemocnění včas a správně diagnostikována a pacient dobře léčen.

Cíl: Upozornit na možnost současné přítomnosti dvou MPO u pacienta jak z pohledu diagnostiky, tak také optimální, efektivní léčby.

Metody: Popis 3 konkrétních případů – průběhů onemocnění z pohledu diagnostiky a léčby vždy CML + současně probíhajícího dalšího MPO, kterým byla polycytemie vera (PV), esenciální trombocytémie (ET) a primární myelofibróza (PMF).

Výsledky: Pacient 1: 2014 ET, 6/2023 post-ET myelofibróza. Terapie thromboreductin + ASA. 8/2023 CML Ph+ terapie imatinib, pro neoptimální odpověď nyní dasatinib. Pacient 2: 7/2010 PV, terapie hydroxyurea, poté interferon-alfa (IFN), následně ruxolitinib. 9/2021 + CML léčba imatinibem, následně dasatinib. Docíleno MMR. Pacient 3: diagnostikována CML Ph+ v chronické fázi. Po cytoredukci zahájena terapie imatinibem. Dle histologického vyšetření KD současně zjištěna primární myelofibróza (PMF-1). Léčba rozšířena o IFN-alfa. Dosaženo optimální léčebné odpovědi i dobré tolerance léčby.

Závěr: Potvrdili jsme jak souběh vždy dvou MPO u jednoho pacienta, tak také možnosti léčby, která byla účinná a dobře tolerovaná, vyžaduje však dostatečnou zkušenost a individuální přístup lékaře.

MORPHOGO: ZAPOJENÍ UMĚLÉ INTELIGENCE JAKO REVOLUCE V CYTOMORFOLOGII KOSTNÍ DŘENĚ

Starostka D.¹, Doležilek R.², Kvasnicka H. M.³, Kudělka M.⁴, Wu Q.⁵, Miczková P.¹, Juráňová J.⁶, Kolářová S.⁷, Chasáková K.¹, Anlauf T.⁴, Šotkovská B.¹, Paprota M.⁸, Buffa D.⁹, Kováč P.²

¹ Laboratoř hematookologie a klinické biochemie, Nemocnice Havířov

² Oddělení patologie, Nemocnice Havířov

³ Ústav patologie a molekulární patologie, Univerzitní klinika Wuppertal, Německo

⁴ Katedra informatiky, Fakulta elektrotechniky a informatiky, Technická univerzita Ostrava

⁵ Hangzhou ZhiWei Information Technology Co., Ltd, Čína

⁶ Hemato-onkologická klinika LF UP a FN Olomouc

⁷ Oddělení klinické hematologie LF OU a FN Ostrava

⁸ Oddělení klinické hematologie a hematookologie, Nemocnice Havířov

⁹ Klinika hematookologie LF OU a FN Ostrava

Úvod: Cytomorfologie kostní dřeně (KD) zůstává základem diagnostické hematookologie. MORPHOGO je unikátní automatický přístroj s certifikací CE-IVDR, který je vybaven skenovacím hardwarem a softwarem řízeným umělou inteligencí, který dokáže lokalizovat, zaznamenat a předběžně klasifikovat jaderné buňky KD a kompletovat tak myelogram (automatická digitální morfologie, ADM).

Metody: Retrospektivní soubor zahrnoval 350 rutinních nátěrů KD (medián věku 71 let, převaha mužů): reaktivní krvetvorba (30 %), hemato-lymfoidní novotvary (60 %), jiné poruchy (10 %). ADM byla provedena přístrojem MORPHOGO ve Wuppertalu v Německu a porovnána s konvenční metodou. Stanovení klasifikační konzistence bylo založeno na expertním posouzení a konzistenční analýze. Celulární konzistence byla určena z konfuzní matrix; pro každý buněčný typ byl vypočten Matthewsův korelační koeficient (MCC). Klinická konzistence byla vypočtena z klasifikační konzistence jednotlivých případů s přihlédnutím k irelevantním misklasifikacím. Případy s relevantní klinickou konzistencí < 90 % (fatální misklasifikace < 80 %) byly podrobně analyzovány. Pro kvantifikaci numerických rozdílů mezi konvenčním a automatickým myelogramem byly použity sofistikované modely využívající multivariační similaritní síť.

Výsledky: Kvalita obrazu byla vynikající a mezi laboratořemi srovnatelná. Relevantní relativní četnost správné klasifikace buněk: 95 %; vynikající průměrná hodnota MCC 0,73276, silná shoda > 0,7 u 72,0 % výsledků vč. > 0,9 u 40,0 %, neuspokojivá shoda < 0,4 u 12,0 % výsledků (lymfoblast, prolymfocyt, promonocyt). Relevantní klinická konzistence: 97 % (medián), relevantní klinická konzistence pod 90 % u 9,7 %. 5,7 % fatálních misklasifikací (11× B-lymfocytární neoplázie, 5× mnohočetný myelom, 5× AML vč. 2× APL, 1× T-ALL); nejčastějšími klasifikačními chybami byly záměny atypického lymfocytu/blastu, plazmocytu/blastu, myeloblastu/lymfocytu a lymfoblastu/lymfocytu. Multivariační similaritní síť identifikovaly 3 klinicky významné clusterly numerické inkonzistence

konvenčního a ADM myelogramu korespondující s diagnózami AL/CMML (klíčový atribut: myeloblast), B-lymfocytárních neoplázií (klíčový atribut: lymfocyt) a mnohočetného myelomu (klíčový atribut: plazmocyt). Numerická inkonzistence byla diagnosticky neutrální, excelentní diagnostická konkordance numerického ADM myelogramu: 92,9. Nejčastější diagnostická diskordance numerického myelogramu (5,7 %) se vyskytla u mnohočetného myelomu.

Závěry: ADM s použitím MORPHOGO má obrovský potenciál pro inovativní diagnostickou transformaci minimalizující subjektivitu a variabilitu hodnocení. Metoda, která představuje zásadní změnu diagnostického paradigmatu, je připravena k rutinnímu použití s přihlédnutím k definovaným limitacím. Další trénink AI zaměřený na cílové typy buněk zlepší klasifikační konzistenci. Metoda poskytuje netradiční a inovativní komplementární pohled na cytomorfologii KD zvyšující kvalitu tohoto vyšetření.

Interní grant Nemocnice Havířov 2023.

Dr. Qian Wu je zaměstnancem výrobce přístroje Hangzhou ZhiWei

Information Technology Co., Ltd, Čína. Ostatní autoři nemají střet zájmů ve vztahu k publikaci.

IMATINIB V KOMBINACI S CHEMOTERAPIÍ V LÉČBĚ DĚTÍ S AKUTNÍ LYMFOLASTICKOU LEUKEMIÍ S FILADELFSKÝM CHROMOZOMEM V ČESKÉ REPUBLICE 2003–2022

Starý J.¹, Domanský J.², Novák Z.³, Zemanová Z.⁴, Zdráhalová K.¹, Janotová I.¹, Hrušák O.¹, Froňková E.¹, Trka J.¹, Šrámková L.¹, Sedláček P.¹, Zuna J.¹

¹ Klinika dětské hematologie a onkologie 2. LF UK a FN Motol, Praha

² Klinika dětské onkologie MU a FN Brno

³ Dětská klinika UP a FN Olomouc

⁴ Centrum nádorové cytogenomiky, Ústav lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky 1. LF UK a VFN v Praze

Akutní lymfoblastická leukemie s Filadelfským chromozomem (Ph+ALL) je u dětí vzácnou formou leukemie s nepříznivou prognózou. Fúzní protein BCR::ABL, produkt translokace t(9;22) má konstituční tyrosin kinázovou aktivitu, kterou lze blokovat přidáním tyrosin kinázových inhibitorů k chemoterapii. Počínaje rokem 2003 jsme se zúčastnili tří mezinárodních studií léčby Ph+ALL s intermitentním podáním imatinibu zahájeným po skončení indukce či jeho kontinuálním podáním zahájeným již v jejím průběhu. Zpočátku byly všechny děti indikovány k transplantaci krvetvorných buněk (HSCT) v první remisi (CR1). Po vyhodnocení významu časné odpovědi na léčbu hodnocené výší minimální residuální nemoci (MRN) detekcí přestaveb imunoreceptorových genů byla indikace HSCT omezena pouze na pacienty s MRN $\geq 5 \times 10^{-4}$ 3 měsíce od diagnózy. Do analýzy bylo zařazeno 37 diagnostikovaných pacientů do 18 let věku léčených ve třech pracovištích (Praha, Brno, Olomouc) v období 2003–2022. Jedno

dítě mělo T lymfoblastický lymfom, ostatní leukemii. Všechny 37 dětí dosáhlo kompletní remisi. 12 dětí (32 %) podstoupilo HSCT v CR1. 12 dětí absolvovalo indukční léčbu bez imatinibu, 4 z nich nedosáhly remise D+33, což nepostihlo žádné z 25 dětí léčených imatinibem od D+8-D+15. Vysokou MRN $\geq 5 \times 10^{-4}$ po skončení konzolidace mělo 5 dětí (všechny bez imatinibu v indukci). Kumulativní incidence relapsu byla 36,9 %, kumulativní incidence toxických smrtí 8,4 %. Šestiletý EFS/OS činil 54,7/68,1 %. Imatinib v kombinaci s chemoterapií zlepšil výsledky léčby dětí s Ph+ALL. Nadále se ale pro zvýšený výskyt relapsů a toxicitu léčby jedná o onemocnění se závažnou prognózou. Kontinuální léčba imatinibem zahájeným již v indukci významně zlepšila iniciační léčebnou odpověď a omezila indikaci k HSCT v první remisi.

DEL(1P32) IS AN EARLY AND HIGH-RISK EVENT IN RELAPSED MULTIPLE MYELOMA PATIENTS WITH EXTRAOSSEOUS PLASMACYTOMAS

Stork M.^{1*}, Ondrouskova E.^{1*}, Bohunova M.¹, Boichuk I.¹, Fric D.¹, Adam Z.¹, Krejci M.¹, Sandecka V.¹, Knechtova Z.¹, Radova L.^{2,3}, Jelinkova Z.⁴, Adlerova T.⁴, Krticka M.⁵, Nekuda V.⁵, Borsky M.¹, Kotaskova J.¹⁻³, Sevcikova S.⁷, Jarosova M.¹⁻³, Pour L.¹

*Contributed equally to this work and are joint first authors.

¹ Department of Internal Medicine, Hematology and Oncology, University Hospital Brno and Faculty of Medicine, Masaryk University, Brno

² Central European Institute of Technology, Masaryk University, Brno

³ Department of Medical Genetics and Genomics, Faculty of Medicine, Masaryk University and University Hospital Brno, Brno

⁵ Department of Burns and Plastic Surgery, Faculty of Medicine, Masaryk University Brno

⁶ Trauma Surgery Department, University Hospital Brno, Brno

⁷ Babak Myeloma Group, Department of Pathophysiology, Faculty of Medicine, Masaryk University, Brno

In multiple myeloma (MM), the accumulation of high-risk cytogenetic aberrations is recognized as one of the key hallmarks related to disease spread beyond the bone marrow, resulting in extraosseous plasmacytomas (EMM). We analyzed paired samples of separated bone marrow plasma cells (BMPCs) and plasmacytoma tissue plasma cells (TPCs) from 22 EMM patients using interphase fluorescence *in situ* hybridization (I-FISH), assessing IGH, t(4;14), t(11;14), t(14;16), hyperdiploidy, del17p, 13q14, and 1p32/1q21. Moreover, we retrospectively analyzed I-FISH data from 111 newly diagnosed EMM patients, 56 relapsed EMM patients, and 243 MM patients without a history of EMM. All patients were treated at University Hospital Brno between 2015 and 2024. The 1p32/1q21 aberrations were present in 90.9% (20/22) of the EMM patients' paired samples. The incidence of 1p32/1q21 aberrations was higher in TPCs than in BMPCs (81.8% (18/22) vs. 68.2% (15/22)). Del(1p32) was found exclusively in relapsed EMM patients (in 27.3% (6/22)), with 83.3% (5/6) of cases shared between BMPCs and TPCs. In the population study of EMM patients, we found the highest incidence of del(1p32) in

relapsed EMM patients compared to newly diagnosed EMM patients or MM patients without EMM (28.6% (16/56) vs. 20.7% (23/111) vs. 11.1% (27/243); P = 0.002). There was negative impact of del(1p32) on overall survival in relapsed EMM patients (HR: 3.27 [95% CI: 1.60–6.67]; P = 0.001). The 1p32/1q21 aberrations are frequent findings in EMM patients. Del(1p32) is a common and high-risk aberration in relapsed EMM patients. Del(1p32) may play an important role during the initial stages of EMM development.

Key words: multiple myeloma – extramedullary plasmacytomas – cytogenetics

NU21-03–00076, Conceptual development of research organization (FNBr 65269705), Program EXCELLES, ID Project No. LX22NPO5102; LM2023067 funded by MEYS CR).

CIRCULATING TUMOR CELLS HAVE HIGH PROGNOSTIC SIGNIFICANCE IN NEWLY DIAGNOSED MULTIPLE MYELOMA PATIENTS WITH PARASKELETAL OR EXTRAMEDULLARY PLASMACYTOMAS

Stork M.^{1*}, Kotaskova J.^{1-3*}, Borsky M.¹, Fidrichova A.¹, Ondrouskova E.¹, Mareckova A.¹, Hrabcakova V.¹, Rihova L.⁴, Boichuk I.¹, Adam Z.¹, Krejci M.¹, Sandecka V.¹, Jelinek T.⁵, Popkova T.⁵, Knechtova Z.¹, Radova L.^{2,3}, Polcerova L.⁶, Jarosova M.^{1,2,3}, Sevcikova S.⁷, Hajek R.⁵, Pour L.¹

*contributed equally to this work and are joint first authors

¹ Department of Internal Medicine, Hematology and Oncology, University Hospital Brno and Faculty of Medicine, Masaryk University, Brno

² Central European Institute of Technology, Masaryk University, Brno

³ Department of Medical Genetics and Genomics, Faculty of Medicine, Masaryk University and University Hospital Brno

⁴ Department of Clinical Hematology, University Hospital Brno

⁵ Department of Hematooncology, University Hospital Ostrava and Faculty of Medicine University of Ostrava

⁶ Institute of Biostatistics and Analyses, Ltd., Brno

⁷ Babak Myeloma Group, Department of Pathophysiology, Faculty of Medicine, Masaryk University, Brno

In multiple myeloma (MM), circulating tumor cells (CTCs) can be detected by flow cytometry in peripheral blood. MM cells can grow outside of bone marrow forming bone-related paraskeletal (PS) or soft-tissue extramedullary (EMD) plasmacytomas. We assessed the prognostic impact of CTCs in 107 newly diagnosed MM (NDMM) patients with PS (93) or EMD (14) plasmacytomas treated between 2018 and 2023 at University Hospital Brno and University Hospital Ostrava. We evaluated a subset (N = 45) of patients with Next Generation Sequencing combined with Interphase Fluorescence In Situ Hybridization. Elevated CTCs counts were associated with inferior survival in PS (PFS: HR 1.51 (95% CI: 1.03–2.20); P = 0.033; OS: HR 1.71 (95% CI: 1.12 –2.62); P = 0.013) and EMD PFS: HR 1.81 (95% CI: 0.90–3.67); OS: HR 1.81 (95% CI: 0.90–3.66); both P = 0.098)

plasmacytomas. In subgroup of PS patients with higher levels of CTCs (> 0.01%), median PFS was significantly shorter median PFS (10.5 months (95% CI: 4.5–18.3) vs. 22.3 months (95% CI: 13.8–NA); P = 0.029). Additionally, higher CTCs levels correlated with significant chromosomal and gene alterations. CTCs serve as strong prognostic markers in NDMM patients with PS or EMD plasmacytomas. Elevated CTCs levels were associated with significant genomic changes, related to an aggressive disease course.

NU21-03-00076; FNBr 65269705; OP JAK SALVAGE, reg.
č CZ.02.01.01/00/22_008/0004644

VYUŽITÍ VYSOKOKAPACITNÍCH SEKVENAČNÍCH METOD PRO CHARAKTERIZACI GENOMICKÉ KOMPOZICE VÍCEKLONÁLNÍCH CHRONICKÝCH LYMFOCYTÁRNÍCH LEUKEMIÍ

Stránská K.¹⁻³, Štrignerová J.², Závacká K.¹⁻³, Bruknerová J.^{2,3}, Skuhrová Francová H.¹, Porc J.P.^{2,3}, Reigl T.^{2,3}, Brychtová Y.¹, Panovská A.¹, Doubek M.¹⁻³, Navrkalová V.¹⁻³, Pospíšilová Š.¹⁻³, Plevová K.¹⁻³

¹ Interní hematologická a onkologická klinika, LF MU a FN Brno

² Ústav lékařské genetiky a genomiky, LF MU, Brno

³ Středoevropský technologický institut (CEITEC), MU, Brno

U části pacientů s chronickou lymfocytární leukemií (CLL) transformuje souběžně několik klonů B lymfocytů s odlišnými B-buněčnými receptory. Každý z klonů může nést odlišné genomické aberace, což představuje riziko nepříznivého klonálního vývoje. V naší předchozí práci jsme pozorovali, že se poměr klonů může v průběhu onemocnění měnit a může dojít i k převládnutí původně minoritní populace. Diagnostickým vyšetřením mutačního statusu klonálních přestaveb genů pro těžký řetězec imunoglobulinu (IGH) jsme v kohortě 3051 CLL pacientů zachytili 234 případů s více klonálními přestavbami. Tyto případy zahrnovaly 209 biklonálních, 23 triklonálních a 2 tetraklonální CLL; ve 160 případech byly koexistující klony konkordantně mutované (105) či nemutované (55), v 74 případech měly diskordantní mutační status IGH. U 97 pacientů bylo vyšetření provedeno opakovaně v čase (medián času mezi prvním a posledním vyšetřením: 3,6 let). U 51 pacientů došlo v pozdějších odběrech k vymizení jednoho či více klonů, u 21 pacientů se objevil nový klon. Ve 4 případech došlo k nahrazení dominantního klonu jiným. Abychom získali hlubší vhled do genomické kompozice víceklonálních CLL, analyzovali jsme nádorovou DNA reprezentativní skupiny víceklonálních případů NGS panelem LYNX pro stanovení markerů nejčastějších lymfoidních neoplázií, který umožňuje zachytit imunoglobulinové přestavby, chromozomové aberace a mutace vybraných genů. Klonální proporce jednotlivých klonů jsme paralelně porovnali s výsledky amplikonového NGS pro IGH. Získané výsledky

poskytly ucelenou charakterizaci testovaných víceklonálních CLL a jejich klonálního vývoje.

Podpořeno projekty MZ ČR AZV NW24-03-00052 a RVO FNBr65269705; MŠMT NÚVR LX22NPO5102, spolufinancováno Evropskou unií – Next Generation EU.

ANALYSIS OF ALTERNATIVE THERAPEUTIC OPTIONS FOR ACUTE MYELOID LEUKEMIA PATIENTS RESISTANT TO VENETOCLAX BASED ON DRUG SCREENING AND EXPRESSION PROFILING

Stylianou F.¹, Ladungová A.¹, Hýl J.², Buša D.², Čulen M.², Weinbergerová B.², Mayer J.² and Šmída M.^{1,2}

¹ Central European Institute of Technology (CEITEC), Masaryk University, Brno

² Department of Internal Medicine – Hematology and Oncology, Medical Faculty of Masaryk University and University Hospital Brno

Acute myeloid leukemia (AML) is a poor-prognosis hematological cancer with heterogeneous genetic aberrations. Although they are commonly used for disease stratification, they lack the ability to predict responses to therapy. BCL-2 inhibitor, Venetoclax (Ven), in combination with the hypomethylating agent, Azacitidine, is recently used as a standard care for AML patients unfit for chemotherapy. As most of the patients develop recurrent disease, there is a significant need for exploring alternative therapies, identifying predictive response biomarkers and understanding the mechanisms leading to resistance. To explore the alternative therapies for Ven/Aza resistant patients, we assembled a large drug library covering 300 clinically relevant oncology-targeted FDA-approved drugs, including 23 drugs in combination with Ven. These drugs were screened on a collection of AML primary samples that failed on Ven/Aza therapy. The top effective compounds that affected the cell viability of these resistant samples were targeting proteasome, histone deacetylases and protein translation. In addition, we utilized quantitative real-time PCR to compare the expression profile of candidate genes at the time of diagnosis, refractoriness and relapse. This revealed a deregulation of multiple pro/anti-apoptotic genes in the resistant cells like *BCL2*, *MCL1*, *BCL2A1* or *BIM*. Also, bulk RNA-sequencing was utilized to study the general gene expression profiles and dysregulation of individual gene sets in Ven-resistant samples. Finally, we are performing single-cell RNAseq to reveal the outgrowth of resistant clones in relapsed samples compared to prior therapy. Dysregulated genes conferring resistance will be validated on Ven-resistant samples and the top compounds from the drug screening will be tested on patient-derived AML xenograft mouse models.

Key words: AML – Venetoclax – resistance – refractory – drug screening – drug libraries

This project was partly supported by grants MUNI/A/1558/2023 and project NICR (EU program EXCELES, No. LX22NPO5102).

IMPACT OF AML THERAPY ON NK CELL CYTOTOXICITY

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

¹ Department of Modern Immunotherapy, Institute of Hematology and Blood Transfusion, Prague

² Charles University in Prague, Faculty of Science, Prague

³ Cellular and Molecular Immunoregulation Group, International Clinical Research Center of St. Anne's University Hospital Brno

Due to potent anti-cancer activity, NK cells have been tested in clinical trials treating AML patients at various disease stages. Clinical trial using adoptively transferred NK cells predominantly administered to patients who either don't respond to standard treatments or experiencing relapse. In order to investigate the best timing of future NK cells therapy, here we selected six compounds used for AML treatment and assessed their impact on *in vitro* expanded NK cells. We tested viability and cytotoxicity of NK cells after exposing them to therapy regimens and evaluated how these treatments influence sensitivity of targeted leukemic cells. The goal is to identify the optimal strategy for timing of clinical NK cell applications aligned with specific conventional therapy.

Materials & Methods: NK cells were expanded over 14 days in the presence of irradiated K562 feeder cells and cytokines. The target THP-1 cell line and expanded NK cells underwent a 24-hour treatment with Cytarabine, Idarubicine, Azacitidine, Venetoclax (consistent with a patient's treatment strategy) and Maritoclax, Navitoclax. We evaluated the effects of treatments using the flow cytometry.

Results and conclusions: We observed that while Azacitidine and Maritoclax weakened the cytotoxic killing ability of NK cells, while Venetoclax, Navitoclax, Cytarabine and Idarubicine did not show significant changes in NK cells cytotoxicity. Our findings defined potential synergies between therapeutic agents and cellular immunotherapies and suggests to postpone the supportive NK cell treatment after Azacitidine and Maritoclax treatments, while treatment with Cytarabine, Idarubicine, Navitoclax and Venetoclax combined with NK adoptive NK cells transfer could be beneficial.

Supported by Ministry of Health of the Czech Republic – grant nr. NU22-08-00287 and conceptual development of research organization (Institute of Hematology and Blood Transfusion – IHBT, 00023736).

NETYPICKÝ PRŮBĚH ONEMOCNĚNÍ U PACIENTA S PH+ CHRONICKOU MYELODNÍ LEUKEMIÍ (CML) S ATYPICKÝM TRANSKRIPTEM E6A2 LÉČENÉHO STAMP INHIBITOREM ASCIMINIBEM

Szeligová L.¹, Stejskal L.^{1,2}, Buffa D.¹, Demel I.^{1,3}, Hájek R.^{1,3}

¹ Klinika hematonekologie FN Ostrava

² Hematologicko-transfuzní oddělení, Slezská nemocnice v Opavě

³ Klinika hematonekologie LF OU, Ostrava

Úvod: CML je charakterizována přítomností translokace t(9;22)(q34;q11) a vzniklým onkogenem BCR/ABL1. U většiny nemocných je přítomen transkript b2a2 resp. b3a2 (major), méně častý je transkript e1a2 (minor) či e19a2 (micro). Atypické transkripty tvoří < 1 %. Jeden z nich, e6a2, je extrémně vzácný a je asociován se špatnou prognózou i na léčbě inhibitory tyrozinkináz. Asciminib je první zástupce STAMP inhibitorů inhibujících kinázovou aktivitu BCR/ABL1 zacílením na myristoylovou kapsu.

Popis případu: 62letý muž s leukocytózou s bazofilii a mírnou anémií, kterému byla v 7/2022 diagnostikována Ph+ CML v akcelerované fázi s přítomností 2 typů fúzních transkriptů – minor e1a2 a atypický e6a2. Léčba byla zahájena imatinibem, po záchytu transkriptu e6a2 časné změněna na TKI 2. generace dasatinib. Pro nežádoucí účinky (pleurální výpotek, dušnost) byla nutná ve 3. měsíci změna léčby. Pacient byl pro komorbidity kontraindikován k provedení alogenní transplantace krvetvorby. Ve 3. linii byla zahájena léčba asciminibem v rámci Specifického léčebného programu. Došlo k poklesu transkriptu a bylo dosaženo hluboké molekulární remise na úrovni MR 4.0. Nicméně po 10 měsících došlo k rozvoji trombocytopenie gr. 3 a asciminib byl přerušeno. Vyšetření kostní dřeně potvrdilo sekundární myelodysplastický syndrom. Po 3 měsících přerušeno došlo k mírnému nárůstu trombocytů a byla znovuzahájena léčba v redukované dávce. Po dalších 2 měsících dochází ke ztrátě MMR a byla zachycena mutace M244I, klinicky je nemocný stabilní. Další osud nemocného bude prezentován.

Závěr: Případ našeho nemocného s CML s atypickým transkripem e6a2 potvrzuje literárně popisovaný agresivní průběh onemocnění i na léčbě asciminibem. Podle našich informací dosud nebylo publikováno použití asciminibu u CML s transkripem e6a2.

MANAGEMENT NEMOCNÉHO S AKUTNÍ PROMYELOCYTÁRNÍ LEUKEMIÍ, HYPERLEUKOCYTÓZOU A INTRACEREBRÁLNÍM KRVÁCENÍM – POPIS PŘÍPADU

Szotkowski T., Čeňan M., Skoumalová I., Kredátusová A., Papajik T.

Hemato-onkologická klinika LF UP a FN Olomouc

Úvod: Akutní promyelocytární leukemie (APL) je prognosticky nejpříznivějším subtypem akutní leukemie u dospělých. Současně je jedním z urgentních stavů v hematologii, v důsledku obligátně přítomné koagulopatie a s ní spojeným rizikem život ohrožujícího krvácení. K nejrizikovější skupině patří pacienti s iniciální leukocytózou. Obava z krvácení se promítá do platných doporučení pro léčbu: neměly by být prováděny žádné invazivní výkony, vč. léčebné leukaferézy při hyperleukocytóze. Cílem prezentace je seznámit zájemce s podrobnostmi protinádorové a zejména podpůrné péče o konkrétního pacienta.

Popis případu: 22letý muž byl v březnu 2023 vyšetřován pro febrilie a krvácivé projevy, s nálezem hyperleukocytózy $154 \times 10^9/l$ se 74 % leukemických promyelocytů, anémií a trombocytopenií. Ihned byl přijat na naši kliniku, byla zahájena terapie ATRA v kombinaci s cytoredukční léčbou, razantní korekce trombopenie a koagulopatie. Během nočních hodin prvního dne hospitalizace došlo k rozvoji kvantitativní poruchy vědomí, dysartrie a poruchy hybnosti pravostranných končetin. Laboratorně byl zaznamenán další nárůst leukocytózy. Stav jsme vyhodnotili jako podezření na leukostázu a intracerebrální krvácení a indikovali provedení léčebné leukaferézy. Tato byla realizována ve dvou procedurách (2. a 3. den), bez komplikací. Již během první leukaferézy došlo ke zlepšení stavu vědomí. Následně provedená počítačová tomografie mozku prokázala intracerebrální hemoragii v oblasti pravé mozečkové hemisféry, pediklu a vermí. Další průběh indukční léčby nebyl závažně komplikován, pacient dosáhl molekulární remise onemocnění (mCR). Aktuálně podstupuje udržovací terapii, v trvajícím mCR, s minimálním neurologickým deficitem.

Závěr: Současná terapie umožňuje vyléčit naprostou většinu nemocných s APL. Případy, kdy je onemocnění diagnostikováno v pokročilé fázi, jsou nadále rizikovou situací, vyžadující specifickou péči.

Podpořeno IGA_LF_UP_2024_001 a MZ ČR – RVO (FNOL, 00098892).

JEDEN CYKLUS BLINATUMOMABU NÁSLEDOVANÝ VYSOKODÁVKOVANOU CHEMOTERAPIÍ V INDUKČNÍ LÉČBĚ PH-NEGATIVNÍ AKUTNÍ LYMFOLASTOVÉ LEUKEMIE DOSPĚLÝCH – VÝSLEDKY STUDIE BLINA-CELL

Šálek C.^{1,2}, Folber F.³, Hrabovský Š.³, Kořístek Z.⁴, Horáček J.M.^{5,6},

Froňková E.⁷, Cetkovský P.^{1,2}, Trka J.⁷, Doubek M.³

¹ Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

² Ústav klinické a experimentální hematologie 1. LF UK a ÚHKT, Praha

³ Interní hematologická a onkologická klinika LF MU a FN Brno

⁴ Klinika hematooonkologie LF OU a FN Ostrava

⁵ IV. interní hematologická klinika FN Hradec Králové

⁶ Katedra vojenského vnitřního lékařství a vojenské hygieny, Vojenská lékařská fakulta Univerzity obrany, Hradec Králové

⁷ CLIP, Klinika dětské hematologie a onkologie 2. LF UK a FN Motol, Praha

Blinatumomab je bispecifická monoklonální protilátka anti-CD19/anti-CD3 indikovaná v léčbě relabované nebo refrakterní B-ALL a Ph-negativní B-ALL v kompletní remisi (CR) s přetrvávající minimální reziduální nemocí (MRN). Studie Blina-CELL zkoumá účinek blinatumomabu v první linii léčby dospělých pacientů s Ph-negativní ALL. Po osmidenní run-in fázi byla od 12. dne léčby podána 28denní infuze blinatumomabu v monoterapii. Následovala chemoterapie dle protokolů pediatrického typu. Primárním cílem studie bylo dosažení kompletní molekulární odpovědi v 11. týdnu. Blinatumomab byl podán 28 pacientům s mediánem věku 41 let (19–65), z nich bylo 19 mužů a 9 žen, medián počtu leukocytů při diagnóze byl $6,2 \times 10^9/l$ (0,6–67,7). Jeden pacient nebyl hodnotitelný pro primární cíl z důvodu absence cíle pro sledování molekulární odpovědi. Na konci prvního indukčního cyklu, tedy po skončení infuze blinatumomabu, dosáhlo 26/28 (93 %) pacientů CR. Primární cíl studie byl hodnocen po skončení 2. indukčního cyklu: kompletní molekulární remise dosáhlo 20 z 27 hodnotitelných pacientů, MRN byla detekována u 5 pacientů (z toho u 3 pod kvantifikačním prahem metody $< 10^{-4}$). Medián sledování je 37 měsíců. Celkové přežití ve 2 letech čítá 86 %, přežití bez události ve 2 letech je 75 %. Z událostí bylo zaznamenáno primárně refrakterní onemocnění 2× (v obou případech prokázán fenotyp BCR::ABL1-like), hematologický relaps 1×, molekulární relaps 3×, relaps v CNS 1×, sekundární myelodysplastický syndrom 2×. Zemřelo 6 pacientů, z toho jeden v CR na infekci COVID-19. K transplantaci bylo indikováno 7 nemocných. Podání blinatumomabu v indukci Ph-negativní B-ALL je bezpečné a navozuje vysoké procento molekulárních remisí.

EXPRESSION PROFILING OF MICRORNAS ENRICHED IN SMALL EXTRACELLULAR VESICLES ISOLATED FROM PLASMA OF BONE MARROW OF MULTIPLE MYELOMA AND EXTRAMEDULLARY DISEASE

Sevcikova S.¹, Vlachova M.¹, Ruzickova T.¹, Kotaskova J.², Almasi M.³, Rihova L.³, Stork M.⁴, Pour L.⁴

¹Babak Myeloma Group, Department of Pathophysiology, Faculty of Medicine, Masaryk University, Brno

²Central European Institute of Technology, Masaryk University, Brno

³Department of Clinical Hematology, University Hospital Brno

⁴Department of Internal Medicine, Hematology and Oncology, University Hospital Brno, Brno

Multiple myeloma is the second most common hematological malignancy of the elderly. It is characterized by bone marrow infiltration by malignant plasma cells. These cells are heavily dependent on the bone marrow microenvironment. In certain cases, these cells lose this dependence and migrate out of the bone marrow – so-called extramedullary disease (EMD). There is primary EMD (found at the time of MM diagnosis) and secondary EMD (at the time of MM relapse). Also, EMD may be divided into paraskelatal (partial dependence on the bone marrow) and extraskelatal EMD (independence on the bone marrow). We used next-generation sequencing to profile microRNA, short non-coding RNA, found in exosomes of the bone marrow microenvironment in MM vs EMD patients. We found several microRNAs that are dysregulated in these two groups of patients and performed correlation with clinical data.

This work was funded by the grant of the Ministry of Health AZV NU21-03-00076, by Conceptual development of a research organization (FNBr 65269705), by Program EXCELLES, ID Project No. LX22NPO5102.

FEKÁLNÍ MIKROBIÁLNÍ TERAPIE U PACIENTA PO ALOGENNÍ TRANSPLANTACI KMENOVÝCH BUNĚK

Šlehofer P., Kabátová Maxová K., Karas M.

HOO ALO JIP

Fekální mikrobiální terapie, fekální bakterioterapie, někdy také transplantace stolice. To vše jsou výrazy pro podání dárcovské střevní mikrobioty od zdravého a podrobně vyšetřeného jedince do trávicího traktu pacienta s dysbiózou. Indikací k FMT je v České republice prozatím recidivující infekce způsobené *Clostridioides difficile*, způsobující těžké průjemy a rozsáhlé poškození trávicího traktu. V současné době probíhá intenzivní výzkum využití FMT u pacientů podstupujících alogenní transplantaci kostní dřeně. Součástí naší práce je prezentace kazuistik některých našich pacientů podstupujících alogenní transplantaci kostní dřeně, u nichž z důvodů komplikací či rizika rozvoje komplikací transplantační léčby byla

provedena FMT. Součástí prezentace je podrobný popis komplexního postupu provedení FMT, který začíná vyšetřením dárce, přípravou produktu a pokračuje samotnou aplikací. Dále se zaměřujeme na samotnou toleranci, průběh a efekt provedené FMT. Naše zkušenosti též porovnáváme s výsledky dosud publikovaných prací zabývajících se FMT na poli alogenních transplantací. Na základě publikovaných dat a našich zkušeností se FMT může stát významnou léčebnou modalitou, která může být využita u některých komplikací alogenních transplantací krvetvorných buněk.

MYELOPROLIFERACE V NOVOROZENECKÉM VĚKU

Šrámková L.¹, Smíšek P.¹, Suková M.¹, Hrušák O.¹, Nováková M.¹, Žaliová M.¹, Trka J.¹, Janotová I.¹, Domanský J.², Novák Z.³, Timr P.⁴, Kuhn T.⁵, Votava T.⁶, Mourková H.⁷, Hak J.⁸, Starý J.¹

¹Klinika dětské hematologie a onkologie 2. LF UK a FN Motol, Praha

²Klinika dětské onkologie FN Brno

³Dětská klinika FN Olomouc

⁴Dětská oddělení, Nemocnice České Budějovice

⁵Klinika dětského lékařství FN Ostrava

⁶Dětská klinika FN Plzeň

⁷Dětské oddělení, Masarykova nemocnice, Ústí nad Labem

⁸Dětská klinika FN Hradec Králové

Myeloproliferace v novorozeneckém věku může být spojena s nehematologickými příčinami (infekce, hypoxie), transientní abnormální myelopoezou (TAM) u Downova syndromu (DS) avšak i s některými vzácnými jednotkami jako je transientní myeloproliferativní onemocnění (TMD) u dětí bez DS, transientní juvenilní myelomonocytární leukemie (JMML-like) asociovaná s RASopatiemi nebo kongenitální akutní myeloidní leukemie (AML).

Hodnotili jsme období 6/2010–12/2023, kdy jsme v České republice diagnostikovali celkem 32 dětí s myeloproliferací v novorozeneckém období. TAM jsme potvrdili u 22 dětí, JMML-like u 2, TMD u non DS pacientů u 4, myelosarkom (kůže) se spontánní remisí u 1 dítěte, a kongenitální AML u 3 pacientů. Všichni pacienti s TAM měli blasty morfoloicky a cytometricky typu M6/M7, 18 z 22 mělo GATA1 mutaci. Léčení byli 3 pacienti, zemřeli 2 pacienti po obrazem multiorgánového selhání. Následnou AML vyvinulo 7 pacientů, všichni AML M7 v typickém věku do 3 let. TMD u non DS bylo zjištěno u 4 pacientů, všichni měli normální karyotyp, u 2 byla prokázána GATA1 mutace (1x s trisomií 21 v myeloidních prekurzorech), u 1 dosud nepopsaná a pravděpodobně kauzální *PLAGL2::GATA1* fúze, u 1 jsme molekulární podstatu zatím neobjasnili. Všichni pacienti žijí bez potřeby léčby, nikdo nevyvinul AML. Kongenitální AML jsme diagnostikovali u 3 pacientů ve věku 3-17 dní, morfoloicky M4/M5, všichni měli popsanou rekurentní fúzi (*KAT6::LEUTX*, *MLL::ABI1*, *MLL::AF9*). Všichni byli léčeni intenzivní chemoterapií. Novorozeneček s *KAT6::LEUTX* fúzí zemřel krátce po zahájení léčby pod obrazem kardiálního selhání při masivní infiltraci myokardu, obě děti s *MLL* fúzí žijí v CR1, jedno

po provedené alogenní transplantaci kostní dřeně. Strategie diagnostického algoritmu u novorozence s myeloproliferací začíná vždy morfologií a průtokovou cytometrií periferní krve, urgentním stanovením karyotypu a vyšetřením GATA1 mutace i u fenotypicky nenápadných novorozenců a pokračuje při negativním výsledku stanovením celého panelu genů asociovaných s AML a RNAseq event. genetickým vyšetřením zaměřeným na RASopatie. Terapie je přísně individuální se zohledněním klinických a laboratorních nálezů. U pacientů s TAM/TMD a orgánovou dysfuncí je indikován nízkodávkový cytosinarabinosid, u pacientů s AML intenzivní chemoterapie, avšak v jejím časování je nutné zohlednit možné spontánní remisi u některých AML.

Podpořeno MZ ČR – RVO, FN v Motole 00064203.

ZHODNOCENÍ VÝSLEDKŮ ALOGENNÍCH TRANSPLANTACÍ OD HAPLOIDENTICKÝCH DÁRCŮ U PACIENTŮ S MYELOYDYSPLASTICKÝM SYNDROMEM

Šťastná Marková M., Nováková L., Koubová M., Čemusová B., Válková V., Vítek A., Čermák J., Cetkovský P., Mertová J., Vydra J.
ÚHKT, Praha

U myelodysplastického syndromu je alogenní transplantace stále jedinou léčbou s kurativním potenciálem. Zavedení potransplantačního cyklofosfamidů jako profylaxe GVHD umožnilo užití haploidentických dárců a dále zpřístupnilo transplantaci. Přesto je její úspěšnost limitována peritransplantačními komplikacemi a především potransplantačními relapsy. Vystává otázka, zda některý typ dárců není lepší při prevenci těchto komplikací. Zhodnotili jsme výsledky transplantací u MDS pacientů mezi lety 2014–2023. Hodnoceno 117 pacientů, 12 shodným sourozencem (MSD), 77 nepříbuzným shodným dárcem (MUD) a 28 dárcem haploidentickým (HID). Byly použity identické přípravné režimy. Myeloablativní: busulfan, fludarabin, redukováné: fludarabin, cyklofosfamid, melfalan či fludarabin, treosulfan. Pacienti v redukováných režimech tvořili ve všech skupinách přibližně polovinu. Jako GVHD profylaxe byl použit potransplantační cyklofosfamid (PtCy) u všech HID a u 31 z MUD transplantací. U zbylých MUD bylo použito ATG. U MSD pouze kalcineurinový inhibitor s MMF. Celkové přežití v jednom roce u MSD, MUD a HID bylo 82 %, 83 % a 93 %, a ve 3 letech 71 %, 72 %, and 73 %, bez významného rozdílu. High-grade MDS (EB1, EB2), OS v 1 roce 66 % (MSD), 80 % (MUD) a 81 % (HID), ve 3 letech 44 %, 71 % a 69 % s trendem ke statistické významnosti ($p = 0,08$). U vysoce rizikových pacientů podle IPSS-R bylo pozorováno lepší celkové přežití u HID v 1 roce 94 vs. 69 % MSD+MUD a 80 vs. 61 % ve 3 letech ($p = 0,05$). Mezi skupinami nebyl pozorován žádný rozdíl v incidenci GVHD ani relapsu. U MDS pacientů vede HID transplantace k podobným výsledkům jako MSD a MUD. HID transplantace by mohly mít výhodu u vysoce rizikových pacientů podle IPSS-R.

REDUKOVANÝ PŘÍPRAVNÝ REŽIM S TREOSULFANEM PŘED PRVNÍ ALOGENNÍ TRANSPLANTACÍ U PACIENTŮ S MYELOYDYSPLASTICKÝM SYNDROMEM (ZKUŠENOSTI CENTRA)

Števková J.¹, Zavřelová A.¹, Radocha J.¹, Víšek B.¹, Lánská M.¹, Žibřidová K.¹, Bělohávková P.¹, Kupsa T.¹, Horáček J.M.¹, Čermáková E.², Žák P.¹

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

²Ústav lékařské biofyziky, LF UK, Hradec Králové

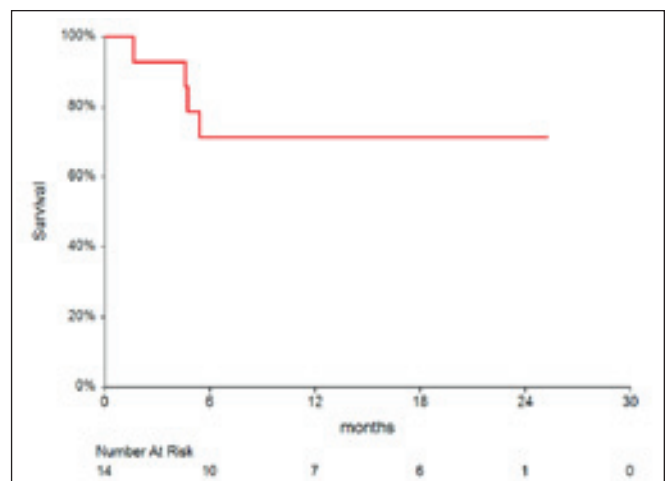
Úvod: Provedení alogenní transplantace periferních kmenových buněk (aloTPKB) je zatíženo peritransplantační mortalitou, kterou ovlivňuje i toxicita přípravného režimu. Proto volíme v indikovaných případech režimy s redukovanou toxicitou (RTC). V naší skupině byl aplikován RTC s treosulfanem (Treo). Cílem bylo zhodnocení jeho účinku a toxicity.

Metodika: Jde o retrospektivní analýzu všech pacientů s myelodysplastickým syndromem (MDS) u kterých byla provedena aloTPKB v letech 2018 až 2023 s RTC s Treo na našem pracovišti.

Výsledky: V daném souboru bylo 14 nemocných s MDS (8 s MDS/AML, z toho 1 s therapy-related, 3 s MDS EB 1, 1 s MDS/MPU, 2 s MDS, MLD). Medián věku byl 58 let (40–68 let), v souboru bylo 11 žen a 3 muži. U 4/14 pacientů (29%) byl dárcem příbuzný, u 10/14 pacientů (71%) byl dárcem nepříbuzný. HLA shoda byla u 1/14 pacientů (7 %) 8/10 u 3/14 pacientů (22 %) 9/10 a u 10/14 pacientů (71 %) 10/10. Před podáním RIC bylo 8/14 pacientů (57 %) v remisi a remise nedosáhlo 6/14 pacientů (43 %). 13 pacientům (93 %) byl podán RIC ve složení treosulfan, fludarabin, thymoglobulin, pouze 1 pacientovi (7 %) byl podán PTCY z důvodu HLA shody 8/10. Medián doby sledování byl 18,6 měsíce (1,6–25,3 měsíce). Relaps byl prokázán u 1/14 pacientů (7 %). Na transplantační komplikace zemřeli 3/14 pacientů (21 %) (aGVHD s infekčními komplikacemi). Medián celkového přežití nebyl dosažen, 1leté přežití je 71 %.

Závěr: RTC s Treo je bezpečným a efektivním režimem před aloTPKB u pacientů s MDS.

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



Obr. 15. Števková J et al.

VYŠETŘENÍ MYD88 L265P A IL-10 V MOZKOMÍŠNÍM MOKU U DIFUZNÍHO VELKOBUNĚČNÉHO B-LYMFOMU V CENTRÁLNÍ NERVOVÉ SOUSTAVĚ

Šúri A.^{1,2}, Kozák T.^{1,2}, Kalinová M.²⁻⁴, Mociková H.^{1,2}

¹ Hematologická klinika FNKV, Praha

² 3. LF UK, Praha

³ Laboratoř genomické medicíny, Centrální laboratoře FNKV, Praha

⁴ Ústav patologie FNKV, Praha

Standardem diagnostiky lymfomového postižení centrální nervové soustavy (CNS) je magnetická rezonance (MR) mozku, biopsie mozku a vyšetření mozkomíšního moku pomocí průtokové cytometrie a cytologie. V případech, kdy je přítomna neurologická symptomatologie, ale biopsii mozku nelze provést a průtoková cytometrie a cytologie mozkomíšního moku nejsou výtečné, k průkazu infiltrace CNS difuzním velkobuněčným B-lymfomem je vhodné použít kombinaci biologických markerů jako je přítomnost mutace p.(L265P) MYD88 (myeloid differentiation primary response 88) a zvýšené hladiny IL-10 (interleukin-10) v mozkomíšním moku. Kombinovaná analýza mutace MYD88 p.(L265P) a IL-10 v mozkomíšním moku má senzitivitu 94 % a specifitu 98 % v iniciální diagnostice primárního CNS lymfomu (PCNSL) a podobnou senzitivitu a specifitu v relapsu (Ferreri A, et al. Br J Haematol 2021). Význam vyšetření kombinace výše uvedených markerů v klinické praxi potvrzuje případ 74leté pacientky s syndromem pontocerebelárního koutu, vestibulopatií, paleocerebelárním syndromem, dysartrií, dysfagií, poruchou motoriky a kognitivní poruchou. Infiltrace hlavových nervů I, III, V., ganglion Gasseri oboustranně, VIII oboustranně, tvrdé pleny, křídla kosti klínové vpravo, hypotalamu a tureckého sedla podle MR mozku neumožňovala provedení biopsie. Cytologie a průtoková cytometrie mozkomíšního moku byly neprůkazné z hlediska lymfomové infiltrace. V opakovaném odběru mozkomíšního moku byla i přes použití kortikoterapie prokázána mutace MYD88 p.(L265P) metodou alelově/mutačně specifické PCR a zvýšená hladina IL-10 (388 pg/ml) metodou CLIA. Tyto nálezy potvrdily lymfomovou infiltraci CNS a pacientka zahájila kombinovanou imunochemoterapii rituximabem, metotrexátem a prokarbazinem.

Závěr: Vyšetření mutace MYD88 p.(L265P) a IL-10 v mozkomíšním moku je dostupná, rychlá a spolehlivá metoda k průkazu PCNSL v úvodní diagnostice a v relapsu.

IMMUNOMODULATORY ENVIRONMENT OF BONE MARROW NICHE IN ACUTE MYELOID LEUKEMIA

Švubová V.^{1,2}, Jedlička M.^{1,2}, Szabová J.^{1,2}, Feglarová T.^{1,2}, Janstová L.^{1,2}, Mašíňová E.^{1,2}, Trsová I.^{1,2}, Kundrát D.¹, Dostálová-Merklová M.¹, Frič J.¹⁻³

¹ Institute of Hematology and Blood Transfusion, Prague

² Faculty of Science, Charles University, Prague

³ International Clinical Research Center, St. Anne's University Hospital Brno

Introduction: Cellular immunotherapy of acute myeloid leukemia is a promising future treatment strategy. Specifically, adoptive

transfer of *in vitro* expanded NK cells is among the investigated strategies. This project is focused on some limitations of NK cells efficiency, addressing the immunomodulatory microenvironment of acute myeloid leukemia. The microenvironment has potential impact on therapeutically administered effector immune cells. We are addressing the general effect of the leukemic BM environment and the influence of transforming growth factor β (TGF- β) on effector immune cells entering the BM niche. The aim of this study is to develop a realistic *in vitro* model of leukemic niche using available cell lines in order to describe the cytokine profile and general conditions resembling the situation *in vivo*.

Materials and methods: Leukemic cells as well as MSCs were pre-cultivated (IMDM/RPMI) before effector NK cells were introduced. Experiments were performed after a 14-day *in vitro* expansion of NK cells (X-VIVO media, FBS) acquired via magnetic separation (AutoMacs) from healthy donors. Cytotoxicity was measured via flow cytometry (Aurora Cytek). RNA sequencing was conducted on NovaSeq 6000 instrument (Illumina). Human recombinant TGF- β (RnD) was used.

Results and conclusions: Exposure of NK cells TGF- β significantly affects NK cell expression of genes responsible for cytotoxicity, proliferation and migration in a time-dependent manner. Leukemic cells in a co-culture induce increase in TGF- β production in MSCs. Leukemic cells are effectively protected by BM niche against NK cell-mediated cytotoxic elimination. 2D *in vitro* model cultures of the leukemic BM niche are suitable for testing immunotherapeutic products.

Supported by Ministry of Health of the Czech Republic – grant nr. NU22-08-00287 and conceptual development of research organization (Institute of Hematology and Blood Transfusion – IHBT, 00023736).

POTRANSFUZNÍ REAKCE HLÁŠENÉ NA TO FN PLZEŇ V OBDOBÍ 2014–2023

Ticháčková J., Šlechtová P., Pechmanová A., Hereinová P.

Transfuzní oddělení, FN Plzeň

Úvod: Potransfuzní reakce (PTR) jsou neočekávané nežádoucí účinky související s podáním transfuzních přípravků (TP). Lékař klinického pracoviště provádějící transfuzi zaznamenává a hlásí PTR ZTS/KB vč. stupně jejich klinické závažnosti. Cílem práce bylo sledovat výskyt všech nežádoucích reakcí u příjemců TP během 10 let a posoudit, zda změny ve výrobě vedly k jejich poklesu.

Metodika: Statistické zpracování počtu hlášených PTR na TO FN Plzeň v letech 2014–2023, výskyt reakcí v závislosti na počtu podaných TP dle typu (erytrocyty, trombocyty, plazma). Analýza jednotlivých typů nežádoucích účinků transfuze a zastoupení závažných reakcí.

Výsledky: Výskyt PR v závislosti na počtu podaných erytrocytárních TP v období 2014–2019 kolísala kolem 0,10–0,14 %, od roku 2020 po zavedení 100% deleukotizace erytrocytů došlo k poklesu PTR na cca 0,07%. Po zavedení 100% deleukotizace a náhradních roztoků (roku 2019) je rovněž evidentní nízký počet PTR u trombocytů (0–0,09 %). Četnost PTR po plazmě se příliš neměnila. Nejčastějším typem PTR

byly reakce alergické. V období 2013–2022 bylo hlášeno 23 závažných PTR (cca 7 %), 1× byla hlášena záměna pacienta na oddělení a podání ABO inkompatibilních erytrocytů (roku 2022). Nebyl zaznamenán žádný případ přenosu infekčních chorob.

Závěr: Ve sledovaném období došlo k postupnému poklesu počtu hlášených PTR po podání erytrocytárních i trombocytárních přípravků především v důsledku postupné deleukotizace, u trombocytů i v důsledku jejich resuspenze v náhradních roztocích. Počty nežádoucích reakcí po plazmě se příliš neměnily.

DŮLEŽITOST POHYBOVÉ AKTIVITY BĚHEM HOSPITALIZACE NA HEMATOONKOLOGII

Toman D.

Klinika hematonekologie FN Ostrava

Léčba pacientů s hematonekologickým onemocněním představuje řadu dní hospitalizace. Obvykle během léčby dochází ke snížení fyzické aktivity, nečinnosti a závislosti na pomoci druhých. Fyzická aktivita a cvičení mají solidní teoretický základ a existuje silný důkaz o jejich vlivu na snížení zátěže symptomů a zlepšení fyzické funkce u onkologických pacientů, což vede ke zlepšení kvality života související se zdravím. Zahraniční články dokazují, že fyzická aktivita hraje důležitou úlohu při léčebném procesu. American College of Sports Medicine (ACSM) přímo uvádí doporučení, že by tito pacienti měli cvičit 150 min mírného cvičení nebo 75 min intenzivního cvičení každý týden. Na Klinice hematonekologie FNO bereme cvičení jako nástroj pro volný čas klientů během hospitalizace. Při příjmu dostávají klienti edukační materiál, jehož součástí je záznam fyzické aktivity. Podrobné cvičební návody má každý pacient k dispozici na pokoji. Cvičební pomůcky jsou individuální, krom recumbentu. Zaškolený personál motivuje klienty k pohybové aktivitě a pravidelně za klienty dochází. Klienti jsou seznámeni s výhodami, které fyzická aktivita během terapie představuje. Sdílení rad mezi fyzioterapeuty a ošetrovatelským personálem může pomoci vybudovat kvalitní odbornost, aby pacienti měli k dispozici individuální plán, důvěru a jistotu, a tím se více podíleli na svém uzdravení.

Klíčová slova: fyzická aktivita – pohyb – rakovina

VYŠETŘENÍ PREDISPOZICE K MYELOIDNÍM MALIGNITÁM POMOCÍ METOD GERMINÁLNÍHO I SOMATICKÉHO SEKVENOVÁNÍ NOVÉ GENERACE

Trizuljak J.^{1,2}, Mrkvová Z.¹, Kvetková A.¹, Semerád L.¹, Vrzalová Z.², Ježíšková I.¹, Folta A.¹, Weinbergerová B.¹, Doubek M.^{1,2}, Mayer J.¹

¹ Interní, hematologická a onkologická klinika FN Brno

² Středoevropský technologický institut

Úvod: Myeloidní malignity s germinální predispozicí se v roce 2016 staly součástí WHO klasifikace myeloidních neoplázií a jejich významu je od té doby věnována zvýšená pozornost. Projevují se

často již před rozvojem nádorového onemocnění cytopeniemi, selháním kostní dřeně, nebo dysmorfickými rysy. Vrozené myeloidní malignity zachycujeme cíleným genetickým vyšetřením zárodečné linie, ale s rozvojem rutinního NGS somatického častokrát i jako sporadické případy.

Pacienti a metody: V letech 2018–2023 jsme metodou celoxomového sekvenování (WES) vyšetřili 22 pacientů z 21 rodin s podezřením na familiární MDS/AML. V tomto souboru jsme ve 3 případech odhalili kauzální mutaci asociovanou se zvýšeným rizikem MDS/AML. Obdobné mutace jsme odhalili v dalších 5 rodinách, i když primární indikace byla jiná (familiární neutropenie, trombocytopenie aj.). Dále jsme v rozsáhlém souboru pacientů, kteří byli vstupně vyšetřeni somatickým NGS panelem, identifikovali 15 pacientů s variantami s vysokou alelovou frekvencí v genech predisponujících k MDS/AML, které se v remisních vzorcích prokázaly jako germinální.

Diskuze: Nejčastěji mutovaným genem v našem souboru byl *DDX41*, který způsobuje familiární MDS/AML s pozdním nástupem a predilekcí mužského pohlaví. V dalších případech jsme detekovali mutace spojené s familiárním onemocněním trombocytů a myeloidními malignitami, vrozenou neutropenií či vrozenou plicní fibrózou se zvýšeným rizikem hematologických malignit, a další syndromy. Detekce kauzálních variant v genech pro vrozené myeloidní malignity vede ke sledování rodinných příslušníků a změnám managementu pacientů, zejména v případě výběru dárců krvetvorných buněk pro alogenní transplantaci krvetvorby.

Projekt byl podpořen MZ ČR grantem DRO (FNBr, 65269705), MU grantem MUNI/A/1558/2023, grantovým projektem A-C-G-T z EFRR (CZ.02.1.01/0.0/0.0/16_026/0008448) a projektem ERN.

MUTAČNÍ VARIANTY V GENU SF3B1 U PACIENTŮ S MDS MAJÍ SPECIFICKÝ TRANSKRIPTOMICKÝ PROFIL

Trsová I.^{1,2}, Hruštinová A.¹, Beličková M.¹, Kaisrlíková M.^{1,3}, Lenertová Z.^{1,3}, Kundrát D.¹, Krejčík Z.¹, Veselá J.¹, Čermák J.¹, Jonášová A.⁴, Dostálová Merkerová M.¹

¹ Ústav hematologie a krevní transfúze, Praha

² Přírodovědecká fakulta, UK Praha

³ 1. LF UK Praha

⁴ První interní klinika, VFN v Praze

Myelodysplastické neoplázie (MDS) je onemocnění hematopoetických kmenových buněk s vysokým rizikem transformace do AML. Mutace v sestřihovém aparátu najdeme zhruba u 50 % pacientů s MDS, z nichž 30 % má mutaci v genu *SF3B1*. Tato studie se zabývá klinickými a molekulárními charakteristikami MDS s odlišnými variantami mutace v genu *SF3B1*. V rámci studie byl analyzován transkriptom 146 MDS pacientů (CD34+ buňky kostní dřeně) a čtyř isogenních vzorků linie NALM6 s odlišnými variantami mutace v genu *SF3B1* (wildtype, K700E, K666N a H662Q; upravené CRISPR/Cas9).

Výsledky ukázaly, že MDS pacienti s variantou K700E přežívají déle bez progresu než pacienti s jinými variantami mutace. Analýza sestřihu vypovídá o tom, že varianta K700E má podobný profil jako wildtype, na rozdíl od mutací K666N a H662Q, které sdílí podobné sestřihové charakteristiky. Nejvýznamnější změny v sestřihových událostech byly nalezeny v kategorii zadržených intronů, které byly častěji nacházeny zejména u K666N/E v porovnání s K700E, a to jak u NALM6 linií, tak u pacientů. Významné rozdíly mezi jednotlivými variantami byly pozorovány také u genové exprese. U varianty K700E oproti ostatním bylo zjištěno naboacení genů pro mitochondriální elektronový transport, buněčný cyklus, proliferaci nebo diferenciaci hematopoetických kmenových buněk. Dále byla u linie NALM6 s K700E variantou změněna exprese mnoha mitochondriálních genů. Naše data podporují hypotézu, že na pozitivní prognózu MDS pacientů s mutací v *SF3B1* má vliv pouze varianta K700E, zatímco ostatní varianty mohou mít negativní dopad. Prognostický význam různých variant mutací v genu *SF3B1* u MDS by měl být podrobněji studován.

Podpořeno MH CZ-DRO (00023736).

SOUČASNÉ LABORATORNÍ MOŽNOSTI STANOVENÍ ADAMTS13

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

Hemato-onkologická klinika LF UP a FN Olomouc

Úvod: Doba, kdy byla TTP diagnostikována hlavně na základě klinické manifestace choroby skončila implementací stanovení ADAMTS13 aktivity. Hladina ADAMTS13 pod 10 % je v současné době jasným diagnostickým kritériem pro diagnostiku TTP.

V současné době máme spolehlivé ELISA metodiky jak pro ADAMTS13 aktivitu, tak pro ADAMTS13 inhibitor, v poslední době máme také nové chemiluminiscenční metodiky (CLIA) a stanovení aktivity ADAMTS13 aktivity pomocí analyzátoru ceveron alpha 100S.

Cíl práce: Cílem naší práce bylo posoudit použitelnost metod v reálné praxi a to jak z pohledu časové náročnosti, tak kvality výsledků.

Metody a soubor pacientů: 50 vzorků od pacientů s podezřením na TTP bylo v rámci diagnostického procesu vyšetřeno ELISA / CLIA a fluorescenční metodikou. Metody ELISA jsme použili jako zlatého standardu ke stanovení ADAMTS13 aktivity a ADAMTS13 inhibitoru pro srovnání s CLIA a stanovením na analyzátoru ceveron alpha 100S

Výsledek: Z hlediska stanovení diagnózy bylo hodnoceno 50 výsledků. Porovnali jsme u nás dostupné tři metody na stanovení ADAMTS13 aktivity. Z hodnocení celkového souboru je zřejmé, že rozdíly kvantitativních metod jsou minimální a klinicky nevýznamné. Prezentace bude doplněna o dva kazuistické případy.

Závěr: Diagnostika TTP pomocí testu aktivity a inhibitoru ADAMTS13 zůstává náročným laboratorním problémem a vyžaduje

značné zkušenosti na pracovišti a zaškolení personálu. Nové technologie však otevírají možnost diagnostikovat TTP na širokém spektru pracovišť. Postupy by však měly být podrobně validovány a diagnostický postup pečlivě vyhodnocen. Stejně tak je velice důležitá zkušenost laboratorního personálu.

Podporováno grantem LF-2024-001.

VLIV NADBYTKU ŽELEZA NA BUŇKY PACIENTŮ S MYELOYDYSPLASTICKÝM SYNDROMEM

Urbanová Z.^{1,2}, Kaisrlíková M.¹, Kundrát D.¹, Trsová I.^{1,3}, Dostálová Merkelová M.¹, Jonášová A.⁴, Čermák J.¹, Belíčková M.¹

¹ Ústav hematologie a krevní transfúze, Praha

² 1. LF UK Praha

³ Přírodovědecká fakulta, UK Praha

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

Úvod a cíle: Z důvodu inefektivní erytropoézy a transfuzní dependence jsou pacienti s nízkou rizikovým myelodysplastickým syndromem (LR-MDS) ohroženi negativními důsledky přetížení železem. Podle současných doporučení se chelatační terapie zahajuje při hladině feritinu nad 1 000 µg/l. Cílem této práce bylo zhodnotit prognostický význam různých hladin feritinu při diagnóze a posoudit molekulární změny při nadbytku železa v kostní dřeni.

Metodika: Pro soubor 152 pacientů s LR-MDS se známou hodnotou feritinu v době diagnózy byla provedena univariantská a multivariantská analýza pro odhad křivek přežití pomocí Kaplan-Meierovy analýzy a Coxova modelu proporcionálních rizik (software MedCalc). 58 vzorků CD34+ buněk kostní dřene bylo RNA sekvenováno a následně analyzováno pomocí Gene Set Enrichment Analysis a databáze DAVID.

Výsledek: Pomocí univariantské a multivariantské statistické analýzy bylo zjištěno kratší celkové přežívání (OS) a doba do progresu (PFS) u pacientů s hladinou feritinu nad 500 µg/l ($p = 0,009$). Tato hladina byla asociována se sníženou expresí genů účastnících se buněčného dělení, což může odpovídat vyšší míře inefektivní hematopoézy u těchto pacientů. Dále byla signifikantně zvýšena exprese genů pro eferocytózu a ferroptózu.

Závěr: Zvýšená hladina feritinu má pravděpodobně prognostický význam pro OS a PFS. Podkladem inefektivní erytropoézy u pacientů s feritinem nad 500 µg/l by mohla být buněčná smrt spojená s peroxidací fosfolipidů na podkladě zvýšené hladiny železa s následnou fagocytózou apoptotických buněk. Z toho důvodu by pacienti mohli profitovat z chelatační terapie zahájené již při nižších hodnotách feritinu, než je v současnosti doporučováno.

Podpořeno MZ ČR – RVO (UHKT, 00023736).

VARIANTNÍ TRANSLOKACE U CHRONICKÉ MYELOIDNÍ LEUKEMIE – CYTOGENOMICKÁ ANALÝZA A HODNOCENÍ CYTOGENETICKÉ ODPOVĚDI NA LÉČBU TYROZINKINÁZOVÝMI INHIBITORY

Valeriánová M.¹, Rochlová K.¹, Mendlíková I.¹, Zemanová Z.²,
Láznička A.¹, Klamová H.¹, Ransdorfová Š.¹

¹ Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

² Centrum nádorové cytogenomiky, Ústav lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky, 1. LF UK a VFN v Praze

Variantní Philadelphské (Ph) translokace zahrnující chromozomy 9, 22 a jeden nebo více dalších chromozomů se vyskytují u 5–10 % nově diagnostikovaných případů chronické myeloidní leukemie (CML). Někteří předchozí studie naznačují, že pacienti s variantní Ph translokací mohou mít horší prognózu onemocnění ve srovnání s klasickou CML. Prognostický dopad partnerských chromozomových lokusů však zůstává nejasný kvůli nedostatečnému množství údajů. Analyzovali jsme variantní Ph translokace pomocí cytogenomických metod s cílem určit jejich molekulární mechanismy a zhodnotit odpověď na léčbu. Z 307 pacientů s CML vyšetřených v letech 2013–2023 jsme zjistili variantní Ph translokaci u 21 pacientů v chronické fázi a u dvou pacientů v blastickém zvratu (tj. 7,5 %). FISH odhalila jedноступňový mechanismus translokace v 13/23 případech a dvoustupňový nebo vícestupňový mechanismus v 10/23 případech. Cytogenetickou odpověď na léčbu tyrozinkinázovými inhibitory (TKI) jsme vyhodnotili u 18/23 nemocných. U 13 pacientů vedla léčba ke kompletní cytogenetické remisi. U čtyř nemocných jsme zjistili vysoce rizikové přídatné cytogenetické abnormality (high-risk ACAs) při diagnóze (3×) nebo při sledování vývoje onemocnění (1×). Tito pacienti nedosáhli kompletní cytogenetické remise a selhali při léčbě TKI 1. linie. U jednoho nemocného s klonálním vývojem a mutací v tyrozinkinázové doméně *BCR::ABL1* (TKD) jsme zaznamenali nulovou cytogenetickou odpověď na léčbu. Naše studie naznačuje, že partnerské chromozomy a translokační mechanismy pravděpodobně přímo neovlivňují léčebnou odpověď u CML s variantní Ph translokací. Selhání léčebné odpovědi je spíše způsobeno dalšími aberacemi nebo mutacemi v TKD než typem variantní Ph translokace. Hlášení nových případů variantních translokací je nezbytné pro další objasnění jejich prognostického významu.

Podpořeno projekty: MH-CZ-DRO IHBTO0023736 a MH CZ-DRO-0064165.

AKUTNÍ MYELOIDNÍ LEUKEMIE S KOMPLEXNÍMI ZMĚNAMI KARYOTYPU JAKO PROGNOSTICKY NEPŘÍZIVÝ PODTYP AML – ZKUŠENOSTI ÚHKT

Válka J., Ransdorfová Š., Beličková M., Soukup P.

Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

Akutní myeloidní leukemie s komplexními změnami karyotypu (CK-AML) platí dlouhodobě za jednu z prognosticky nejhorších variant

AML. Komplexní karyotyp nacházíme u cca 10–14 % nemocných s AML (Klever et al. 2023). S CK-AML se častěji setkáváme u nemocných staršího věku, při progresi jiné hematologické malignity a po předchozí protinádorové léčbě.

Na ÚHKT jsme od roku 2016 intenzivně léčili 30 nemocných s CK-AML (10 % z celého souboru 301 intenzivně léčených). Jednalo se převážně o starší nemocné s mediánem věku 59 let (28–65). Polovina nemocných měla předchozí hematologickou malignitu a dalších 17 % bylo dříve léčeno pro nehematologickou malignitu. U 67 % nemocných jsme prokázali přítomnost mutace v genu *TP53*, která je s CK-AML často spojena. Tato mutace se většinou vyskytovala zcela izolovaně, a mutace typické pro *de novo* AML (*NPM1*, *FLT3*) nebyly vůbec zaznamenány. Jako první indukční léčba byl v 80 % případů zvolen cyklus 3+7, v posledních letech (13 % pacientů) nahrazovaný někdy liposomální formou (CPX-351). Pouze v 1/3 případů se podařilo první indukci dosáhnout kompletní remise (CR), 60 % ze všech nemocných muselo podstoupit druhý indukční cyklus, nejčastěji FLA-IDA. Celkově dosáhlo CR 73 % nemocných. Z celého souboru 53 % nemocných podstoupilo alogenní transplantaci (HSCT), avšak incidence relapsů po HSCT činila 75 % s mediánem 4,34 měsíce. Medián celkového přežití činil 10,55 měsíce; medián přežití bez relapsu pak 8,84 měsíce. Naše data potvrzují velmi nepříznivou prognózu CK-AML, jen obtížně ovlivnitelnou intenzivní chemoterapií vč. HSCT. To ukazuje na nutnost hledání nových terapeutických přístupů pro tuto skupinu nemocných.

Podpořeno projektem MZČR00023736.

AKUTNÍ MYELOIDNÍ LEUKEMIE SE VZÁCNÝMI FÚZNÍMI GENY V PĚČI ÚHKT

Válka J.^{1,2}, Ransdorfová Š.¹, Marková J.¹, Soukup P.¹

¹ Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

² Ústav experimentální hematologie 1. LF UK a ÚHKT, Praha

Retrospektivní analýzou intenzivně léčených pacientů od roku 2017 na ÚHKT (273 pacientů) jsme pátrali po osudu nemocných s AML se vzácnými přestavbami.

Identifikovali jsme 17 nemocných s přestavbou genu *KMT2A*, což představuje 6,23 % ze všech. Dle morfologie byl významně častěji zastoupen monoblastický či monocytární subtyp AML (53 %). Podle očekávání byla nejčastěji (53 % pacientů) zachycena fúze *KMT2A::MLL2*. Kompletní hematologické remise (CR) dosáhlo 76 % nemocných, v polovině případů bylo nutno k dosažení CR podat dva indukční cykly. Tři nemocní (18 %) zemřeli velmi časně, na počátku indukce nebo ještě před jejím zahájením. Transplantováno (HSCT) bylo v první CR 10 nemocných, v druhé CR pak další 2 nemocní. Medián celkového přežití (OS) činí 17,9 měsíce (0,1–64,1); medián přežití bez relapsu (RFS) 10,3 měsíce (0,1–56,5). Dále jsme intenzivně léčili 8 nemocných s přestavbou genu *NUP98* (3 % ze souboru). Zdaleka nejčastější (75 %) identifikovanou fúzí byla *NUP98::NSD1* a současně u všech nemocných s touto fúzí byla přítomna *FLT3-ITD*. 75 %

nemocných zrelabovalo buď před HSCT nebo do jednoho roku po transplantaci. Medián OS aktuálně činí 12,2 měsíce (2,4–81,2) a medián RFS 5,3 měsíce (2,4–18,0).

Nemocných s přestavbou genu *MECOM* jsme intenzivně léčili 13 (4,76 %). Nejčastěji s fúzí *MECOM::RPN1*. Alespoň krátké CR dosáhlo pouze 62 % nemocných z toho pouze jeden pacient nepotřeboval dva cykly indukce. Po HSCT zrelabovalo 7 z 9 (78 %) pacientů, všichni do 12 měsíců. Medián OS činí pouze 8,8 měsíců (1,8 - 31,4) a medián RFS 6,1 měsíců (1,8-13,0).

Podpořeno projektem MZČR00023736.

Astellas – přednášková činnost, konzultace; Pfizer – přednášková činnost; SvixxBioPharma – přednášková činnost, konzultace.

ROLE GEMTUZUMAB OZOGAMICINU V LÉČBĚ PROGNOSTICKY PŘÍZNIVÝCH AML – ZKUŠENOSTI Z ÚHKT

Válka J., Soukup P.

Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

Na ÚHKT využíváme gemtuzumab ozogamicin (GO) od roku 2020 k terapii nemocných s prognosticky příznivými leukemiemi dle ELN klasifikace. Zároveň podáváme GO pouze v první indukci, nikoli v konsolidacích. Retrospektivně jsme analyzovali 21 nemocných s mutací NPM1 a 7 nemocných s CBF leukemiemi léčených GO, kontrolní skupinu tvořili nemocní bez léčby GO od roku 2017, 26 nemocných s NPM1 a 16 s CBF. Ve skupině s NPM1 mutací dosáhlo po první indukci stanoveného cut-off MRD (< 10 kopií) 14 nemocných léčených GO proti 2 nemocným léčeným standardní chemoterapií ($p < 0,001$). Ve skupině CBF leukemií dosáhli stanoveného cut-off MRD (< 10^{-3}) 4 nemocní v kohortě s GO a 2 nemocní v kohortě bez GO ($p = 0,0249$). Dosažení MRD negativity (NPM1 0 kopií a CBF fúze < 10^{-5}) po druhém cyklu chemoterapie bylo u obou podtypů AML častější v kohortách léčených GO ($p < 0,001$), stejně jako po ukončení intenzivní terapie po III. konsolidaci nebo před HSCT ($p = 0,0026$ pro NPM1 a $p = 0,0015$ pro CBF). Nemocné s NPM1 mutací léčené GO bylo nutno méně často indikovat k transplantaci v 1. nebo 2. kompletní remisi ($p = 0,059$) a dosažení MRD negativity po terapii zde představovalo statisticky významný faktor pro přežití bez relapsu nebo nutnosti transplantace v 1. remisi (HR = 0,23; $p = 0,0004$). Křivky OS, RFS a EFS ukázaly trend delšího přežití u nemocných léčených GO. U CBF leukemií 100% celkové přežití a u NPM1 mutovaných 85% přežití při mediánu sledování 20 měsíců.

Naše analýza potvrzuje benefit přidání GO k chemoterapii u obou podskupin AML, a to již při podání pouze v první indukci.

Astellas – přednášková činnost, konzultace; Pfizer – přednášková činnost; SvixxBioPharma – přednášková činnost, konzultace.

ALOGENNÍ TRANSPLANTACE U CHRONICKÉ LYMFATICKÉ LEUKEMIE V ĚŘE NOVÝCH LÉKŮ – ZLEPŠENÍ VÝSLEDKŮ V POSLEDNÍCH 10 LETECH

Válková V., Vítek A., Štátná Marková M., Nováková L., Koubová M., Čemusová B., Cetkovský P., Vydra J.

Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

Hlavní překážkou širšího využití kurativního potenciálu alo-SCT u CLL je vysoká ne-relapsová mortalita. Náš soubor představuje retrospektivní analýzu výsledků alo-SCT u CLL v letech 2000–2024. Celkem se jednalo o 63 pacientů (83 % mužů), věkový medián 55 let (33–66), u 37 % s vysoce rizikovou cytogenetikou. V době alo-SCT mělo 76 % pacientů chemosenzitivní onemocnění, u 52 % byl použit myeloablativní přípravný režim, složení dárců: shodní sourozenci (27 %), shodní nepříbuzní (37 %), nepříbuzní s 1–2 neshodami (30 %) a haploidentičtí (6 %). Medián sledování byl 65 měsíců (2–276). Akutní GVHD mělo celkem 59 % pacientů (4× gr 1, 31× gr 2, 1× gr 3). Chronickou GVHD mělo 56 % pacientů (15× mírná, 16× středně/těžká). V 5 letech bylo: OS a PFS 56 % a 44 %, RI 29 % a NRM 34 %. K významnému zlepšení OS došlo v poslední dekádě (2014–2024) v porovnání s tou předchozí (5leté OS 75 vs. 48 %; $p = 0,01$), především v důsledku snížení NRM (41 vs. 15 %; $p = 0,01$), incidence relapsů se signifikantně nelišila (27 vs. 34 %), stejně tak jako GRFS (36 vs. 34 %). U pacientů, kteří byli v relapsu po alo-SCT léčení novými léky, došlo k významnému zlepšení celkového přežití (5leté OS 100 vs. 27 %; $p = 0,006$).

Závěry: Použití moderních přístupů v profylaxi GVHD, podpurné péče, přípravných režimů a výběru dárců vedlo zejména v posledním desetiletí k významnému zlepšení bezpečnosti této metody. Nové léky rovněž vedly k významnému zlepšení přežití i u pacientů s relapsem po alo-SCT. Alo-SCT u CLL je nutno stále považovat za významnou, potenciálně kurativní metodu, bude zapotřebí nalézt její optimální místo v léčebném algoritmu.

ALOGENNÍ TRANSPLANTACE KRVETVORNÝCH BUNĚK U AKUTNÍ LYMFBLASTICKÉ LEUKEMIE DOSPĚLÝCH – 25 LET ZKUŠENOSTÍ JEDNOHO CENTRA

Válková V., Šálek C., Vítek A., Štátná Marková M., Nováková L., Koubová M., Čemusová B., Cetkovský P., Vydra J.

Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

Cílem bylo porovnat výsledky alo-SCT u ALL v letech 1989–2023 a určit parametry, které tyto výsledky ovlivňují. Celkem se jednalo o 183 pacientů, věkový medián 38 let (18–65), 63 % mužů, B-ALL-Ph pos 37 %, T-ALL 17 %, dárci byli shodní sourozenci (26 %), shodní nepříbuzní (42 %), nepříbuzní s 1–2 neshodami (23 %) a haploidentičtí (8 %). Myeloablativní režim dostalo 86 % pacientů. Při alo-SCT bylo

77 % pacientů v CR1, 17 % v CR2, 6 % s aktivním onemocněním. Z hlediska MRD bylo před alo-SCT 60 pacientů negativních a 59 pozitivních. V mediánu sledování 6,5 roku bylo 5leté: OS 56 % a EFS 49 %, RI a NRM 30 %, resp. 27 %. Akutní GVHD gr 2–4 se vyskytla u 23 %, středně těžká/těžká chronická GVHD u 11 %. GRFS v 5 letech bylo 42 %. OS po relapsu bylo 22 % v 5 letech (26 vs. 19 % v posledním desetiletí vs. dříve; $p = ns$). V univariální analýze byly signifikantně lepší výsledky přežití pozorovány v poslední dekádě (5leté OS 68 %), optimální přípravný režim se zdá být Vep/TBI, horší výsledky byly pozorovány u pacientů starších 55 let. OS bylo významně lepší u pacientů, kteří před alo-SCT dosáhli MRD neg CR oproti MRD pos (nebyl rozdíl mezi MRD neg CR1 nebo CR2). Multivariální analýza potvrdila lepší OS pro pacienty, kteří dosáhli MRD negativity před alo-SCT ($p = 0,047$), a pro transplantace od shodných dárců oproti ostatním dárcům.

Závěr: Výsledky alo-SCT u ALL se v posledním desetiletí výrazně zlepšily, především díky snížení NRM. Potvrzují rovněž zásadní roli sledování MRD během léčby a zejména dosažení MRD negativity před alo-SCT.

URČENÍ PROFILU GENOVÉ EXPRESE S VYUŽITÍM PLATFORMY NCOUNTER®SPRINT (NANOSTRING) U PACIENTŮ S DIFUZNÍM VELKOBUNĚČNÝM B-LYMFOMEM – ZKUŠENOSTI JEDNOHO CENTRA

Vatolíková M.¹, Flodr P.², Procházka V.¹, Navrátilova J.¹, Hanáčková V.¹, Urbánková H.¹, Papajík T.¹

¹ Hemato-onkologická klinika LF UP a FN Olomouc

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

Úvod: Difuzní velkobuněčný B-lymfom (DLBCL) představuje heterogenní skupinu lymfomů, kterou lze podle jejich buněčného původu a genové exprese rozdělit do dvou podskupin – GCB (Germinal Center B-cell) a ABC (Activated B-cell), navzájem se lišících molekulární patogenezi, klinickou prezentací i prognózou. Přesná identifikace obou subtypů nabývá na významu především s vývojem nových terapií, které mají selektivní biologickou aktivitu v jednotlivých podskupinách.

Cíl: Retrospektivně provést u pacientů s DLBCL genové expresní profilování, analyzovat získaná data, posoudit a zavést tuto techniku do rutinní diagnostické praxe.

Materiál a metody: RNA byla extrahována z archivních biopsií (formalinem fixované tkáně zalité do parafínu) 42 pacientů s DLBCL (39 de novo, 2 relaps) diagnostikovaných a léčených antracyklinovými režimy v letech 2016–2024. Profilování genové exprese vybraných 20 genů zapojených do patogeneze DLBCL bylo provedeno s využitím přístroje nCounter® Sprint (nanoString). Data byla analyzována pomocí softwaru nSolver a molekulární subtypy byly určeny testem Lymph2Cx (Scott et al, 2014).

Výsledky: U všech 42 vzorků jsme úspěšně určili profil genové exprese a rozdělili jsme pacienty do následujících podskupin: 11 případů ABC, 24 CGB a 7 neklasifikovaných DLBCL. Data jsme korelovali s klinickým průběhem onemocnění. ABC podskupina měla signifikantně horší přežití bez progresu i celkové přežití ve srovnání s GCB (3leté PFS 20 vs. 65 %; $p = 0,01$, 3leté OS 50 vs. 74 %; $p = 0,03$).

Závěr: Naše pilotní data potvrzují rutinní použitelnost platformy nanoString a algoritmu Lymph2Cx pro analýzu molekulárních subtypů DLBCL. Data mohou být využita pro včasnou identifikaci pacientů vhodných pro moderní léčebné modalit.

Práce je podporována granty IGA_LF_2024_001 a MZ ČR DRO (FNOI_00098892).

TMAPS: NOVEL SURFACE MARKERS EVALUATION FOR MINIMAL RESIDUAL DISEASE MONITORING OF PEDIATRIC T CELL ACUTE LYMPHOBLASTIC LEUKEMIA CELLS

Vávrová A.^{1,2}, Kužílková D.¹⁻³, Reiterová M.¹⁻³, Kalina T.¹⁻³

¹ CLIP (Childhood Leukaemia Investigation Prague), Prague

² Department of Paediatric Haematology and Oncology, Second Faculty of Medicine, Charles University, Prague

³ University Hospital Motol, Prague

T-cell acute lymphoblastic leukemia (T-ALL) is an aggressive malignant disease arising from T-lymphoblasts. While the prognosis at diagnosis is comparable to other ALL subtypes, around 30% of patients experience relapse with a dismal prognosis. The minimal residual disease (MRD) level remains a key prognostic marker, however its precise evaluation is still challenging. Therefore, development of new approaches leading to discovery of potentially targetable molecules represents a hope for more precise flow cytometry-based MRD monitoring. Using conventional flow and full-spectrum cytometry, we mapped surface markers ($N = 307$) on pediatric ($N = 28$) diagnostic T-ALL samples and compared their expression to healthy donors' ($N = 12$) T-cells. In an individual analysis we identified from 13 to 39 aberrantly expressed markers for each patient. A set of markers was shared among patients: CD44, CD226, CD52, CD48, CD6, CD147, CD38, CD82 and CD26 were aberrantly expressed in at least 75% of investigated samples. Next, we compared the expression levels in T-ALL cells to various developmental stages of T-cells in the thymus ($N = 2$). Expression levels in patient samples reflect the most immature population from the thymus (CD82, CD147) or single-positive stages (CD6, CD44, and CD48). CD226 was absent in T-ALL samples and all developmental stages in the thymus. In contrast, we found no physiological subpopulation in the thymus that would reflect the expression levels of CD26, CD38 and CD52 in T-ALL samples. In conclusion, we identified nine potential markers for MRD monitoring feasible for at least 75% of pediatric

T-ALL patients, with three markers truly aberrant on pediatric T-ALL samples.

This work was supported by Ministry of Health of the Czech Republic, grant nr NU23J-03-00026, Charles University Research Centre program No. UNCE/24/MED/003 and European Union – Next Generation EU – program No. LX22NPO5102. The PE-conjugated antibodies were kindly provided by Exbio (Vestec, Czech Republic) and Biolegend (San Diego, California, USA).

ANALÝZA TELEFONICKÝCH DOTAZŮ KLINICKÉMU FARMACEUTOVI NA HEMATOONKOLOGICKÝCH PRACOVÍŠTÍCH ANEB PROČ NÁM VOLÁTE?

Vedrová J.¹, Rozsivalová P.^{2,3}, Malý J.²

¹ Oddělení klinické farmacie, Ústav hematologie a krevní transfuze Praha

² Katedra sociální a klinické farmacie, Farmaceutická fakulta UK v Hradci Králové

³ Oddělení klinické farmacie, Nemocniční lékárna, FN Hradec Králové

Úvod: Telefonické konzultace s klinickými farmaceuty jsou klíčové pro řešení urgentních i neurgentních lékových dotazů v rámci zdravotnických zařízení. Publikované práce ukázaly, že efektivní klinickofarmaceutická podpora v hematologii může výrazně přispět ke zlepšení léčebných výsledků a bezpečnosti pacientů a v neposlední řadě i ke snížení finanční toxicity.

Cíl: Cílem této studie bylo analyzovat telefonické lékové dotazy řešené klinickými farmaceuty v rámci dvou pracovišť a identifikovat nejčastější problémy, se kterými se zdravotníci aktivně obrací v oblasti farmakoterapie v kontextu hematologických pacientů.

Metodika: Prospektivní sběr telefonických dotazů z klinických pracovišť ÚHKT v Praze a IV. interní kliniky FN Hradec Králové za období březen až srpen 2024. Byla provedena deskriptivní analýza z hlediska tazatele, pracoviště, typu dotazu, kontextu pacienta, dotazovaného léčiva, urgentnosti, počtu informačních zdrojů a délky trvání konzultací.

Výsledek: Interim výsledky za období 2 měsíců ukazují, že bylo evidováno celkem 80 dotazů, 42 dotazů (52,5 %) na ÚHKT, nejčastěji se na klinického farmaceuta obrací lékař se specializovanou způsobilostí (62,5 %) kvůli předepisování a lékovým interakcím. Urgentní dotazy tvořily 62,5 % z celkového počtu. Průměrná doba trvání řešení dotazu byla 18 min a u více než třetiny dotazů bylo nutné použít dva a více informačních zdrojů.

Závěr: Výsledky ukazují, že kliničtí farmaceuti mohou přispět k racionální a bezpečné farmakoterapii zejména při předepisování a řešení lékových interakcí. Multidisciplinární spolupráce může významně přispět k optimalizaci terapie a bezpečnosti pacientů.

Literatura

Oliveira CS, Silva MP, Miranda ÍKSPB et al. Impact of clinical pharmacy in oncology and hematology centers: a systematic review. *J Oncol Pharm Pract.* 2021;27(3):679–692. doi: 10.1177/1078155220976801.

Tato práce byla podpořena grantem Univerzity Karlovy SVV 260665.

MONITORING OF ANTI-BCMA CAR-T CELLS AND NON-CAR-T IMMUNE SUBSETS IN MULTIPLE MYELOMA PATIENTS

Venglář O.^{1,2}, Hrabčáková V.³, Souček O.⁴, Kutějová K.⁵, Mihályová J.^{1,2}, Muroňová L.^{1,2}, Popková T.^{1,2}, Broskevičová L.^{1,2}, Hájek R.^{1,2}, Folber F.³, Radocha J.⁶, Jelínek T.^{1,2}

¹ Department of Hematooncology, Faculty of Medicine, University of Ostrava

² Department of Hematooncology, University Hospital Ostrava

³ Department of Internal Medicine, Hematology and Oncology, University Hospital Brno

⁴ Department of Clinical Immunology and Allergology, Faculty of Medicine, Charles University and University Hospital in Hradec Králové

⁵ Department of Flow Cytometry, Spadia Lab PLC., Ostrava

⁶ 4th Department of Internal Medicine – Hematology, Faculty of Medicine, Charles University and University Hospital in Hradec Králové

Background: Chimeric antigen receptor (CAR) T cells targeting B-cell maturation antigen (BCMA) represent a groundbreaking therapeutic option for multiple myeloma (MM). Monitoring CAR-T cell expansion might play a role in the prediction of treatment efficacy and the severity of side effects (1–3).

Aims/methods: Peripheral blood (PB) samples (N = 73) from 12 MM patients in total were assessed at various timepoints starting at day 0 (D0)/day of infusion or D2, with resampling at D7, D10, D14, D21, D28 and M1–M6 each month. An 8-color flow cytometry panel (CD3, CD4, CD8, CD19, CD20, CD45, CD16+CD56, BCMA CAR) using dried reagent tubes was utilized to assess levels of BCMA CAR-T cells and other immune subsets.

Results: Median number of assessed CD45+ leukocytes was 164×10^3 with median limit of detection 0.0122%. The presence of CAR-T cells was first detectable at D7 (median count/ μ l PB, min–max: 9, 0.55–2,152) with maximum expansion at D10 (966, 222–11,924). From D14 (937, 219–2,800), the CAR-T cell counts gradually dropped to detectable levels in 3/5 patients at M1–2 and 1/4 patients at M2–3. The CD4/CD8 ratio significantly decreased over time from D7 to D28 in the CAR-T cell compartment (median percentage in CAR-T fraction: CD4+, D7 = 74.20% vs. D28 = 54.08%; P = 0.0079; CD8+, D7 = 17.50% vs. D28 = 44.89%; P = 0.0016). A similar shift in the CD4/CD8 ratio was also observed in non CAR T cells between D0 and M5–6. B cells were completely depleted from D7 to D28 with their first considerable reappearance in circulation at M1–2 in 3/5 patients. The monocyte percentage in the leukocyte fraction significantly increased from D2 to D7 (median: D2 = 2.15% vs. D7 = 25.60%; P = 0.0028). NK cell levels in the lymphocyte fraction were not significantly affected by the therapy in any of the timepoints. The data obtained from this multicentric collaboration describe the dynamics of CAR-T cell expansion as well as of non-CAR-T immune subsets

Key words: chimeric antigen receptor – CAR-T cells – B cell maturation antigen – BCMA – flow cytometry

References

1. Fischer L, Grieb N, Born P, Weiss R, Seiffert S, Boldt A, et al. Cellular dynamics following CAR T cell therapy are associated with response and toxicity in relapsed/refractory myeloma. *Leukemia.* 2024 Feb;38(2):372–82.

2. Berdeja JG, Madduri D, Usmani SZ, Jakubowiak A, Agha M, Cohen AD, et al. *Ciltacabtagene autoleucel, a B-cell maturation antigen-directed chimeric antigen receptor T-cell therapy in patients with relapsed or refractory multiple myeloma (CARTITUDE-1): a phase 1b/2 open-label study. Lancet Lond Engl. 2021 Jul 24;398(10297):314–24.*

3. Munshi NC, Anderson LD, Shah N, Madduri D, Berdeja J, Lonial S, et al. *Idecabtagene vicleucel in Relapsed and Refractory Multiple Myeloma. N Engl J Med. 2021 Feb 25;384(8):705–16.*

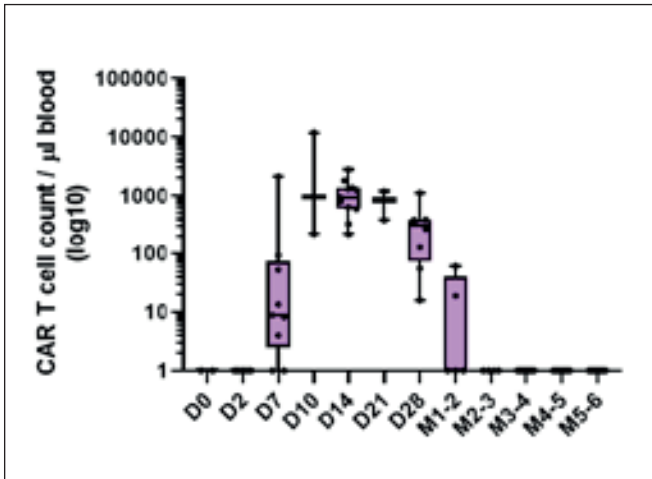


Fig. 16. Venglář O et al.

VÝSLEDKY LÉČBY PACIENTŮ S AKUTNÍ MYELOIDNÍ LEUKEMIÍ S MUTACÍ FLT3 PODSTUPUJÍCÍCH ALOGENNÍ TRANSPLANTACI – ZKUŠENOSTI CENTRA

Víšek B.¹, Zavřelová A.¹, Radocha J.¹, Lánská M.¹, Števková J.¹, Žibřidová K.¹, Horáček J. M.¹, Čermáková E.², Žák P.¹

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

² Ústav lékařské biofyziky, LF UK v Hradci Králové

Úvod: Součástí léčby pacientů s akutní myeloidní leukémií s FLT3-mutací (AML-FLT3) jsou kinázové inhibitory (FLT3i) a alogenní transplantace (aloT). Optimální léčebný přístup je nejasný.

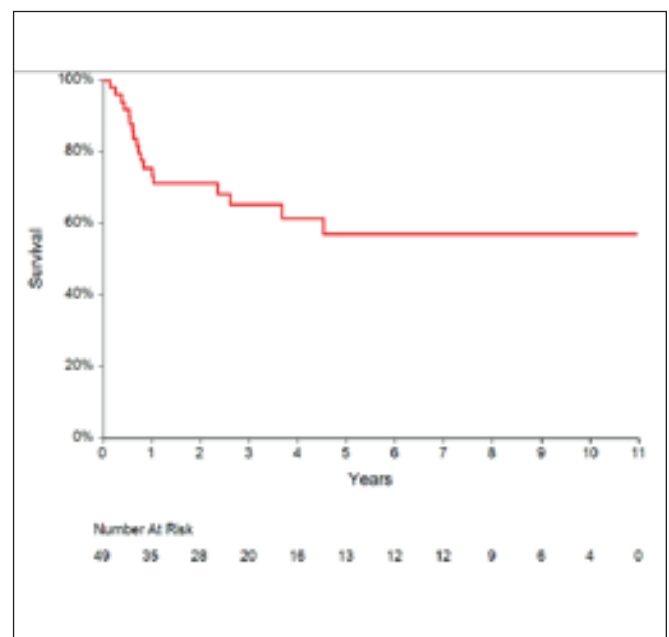
Cíl: Zhodnocení významu FLT3i a intenzity léčby u pacientů s AML-FLT3 po aloT.

Výsledek: Retrospektivně bylo analyzováno 49 pacientů (31 žen, 18 mužů) a mediánem věku při diagnóze 56,5 let (22–72). Zastoupení typů mutací bylo: 45 (92 %), 3 (6 %), resp. 1 (2 %) pro FLT3-ITD, FLT3-TKD,

resp. delecí FLT3. Léčbu FLT3i (midostaurin) v rámci indukční terapie obdrželo 21 pacientů (43 %), udržovací terapii sorafenibem po aloT užívali 4 pacienti (8 %). Konsolidační léčbu absolvovalo 26 pacientů (53 %). Kompletní remise (CR) před aloT bylo dosaženo u 40 pacientů (82 %). Sekvenční přípravný režim před aloT byl použit u 25 pacientů (51 %). Medián celkového přežití (OS) celé skupiny nebyl dosažen. Signifikantní rozdíl v OS vykazovala kohorta užívající midostaurin v rámci indukční terapie proti kohortě bez midostaurinu (medián nedosažen vs. 3,7 roku; $p = 0,039$). Ve skupině s midostaurinem byl prokázán rozdíl v době do relapsu (LFS) mezi pacienty, kteří dosáhli vs. nedosáhli CR před aloT (medián nedosažen vs. 0,3 měsíce, $p = 0,017$). Nebyl prokázán rozdíl v OS, resp. LFS mezi pacienty s nebo bez konsolidační terapie ($p = 0,386$, resp. $p = 0,219$) ani porovnáním LFS kohort podstupujících sekvenční vs. nesequenční přípravný režim ($p = 0,49$).

Závěr: Data prokazují benefit midostaurinu v léčbě AML-FLT3 a význam dosažení CR před aloT. Nebyl prokázán přínos konsolidační terapie ani negativní dopad sekvenční přípravy před aloT.

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



Obr. 17. Víšek B. Celkové přežití (celý soubor).

MACHINE LEARNING COUPLED WITH MASS SPECTROMETRY IN THE ANALYSIS OF PERIPHERAL BLOOD FROM MULTIPLE MYELOMA AND EXTRAMEDULLARY DISEASE PATIENTS

Vlachová M.¹, Pečinka L.², Moráň L.², Růžičková T.¹, Štork M.³, Havel J.⁴, Vaňhara P.^{1,5}, Ševčíková S.^{1,6}

¹Babak Myeloma Group, Department of Pathophysiology, Faculty of Medicine, Masaryk University, Brno

²Research Centre for Applied Molecular Oncology (RECAMO), Masaryk Memorial Cancer Institute, Brno

³Department of Internal Medicine, Hematology and Oncology, University Hospital Brno

⁴Department of Chemistry, Faculty of Science, Masaryk University, Brno

⁵Department of Histology and Embryology, Faculty of Science, Masaryk University, Brno

⁶Department of Clinical Hematology, University Hospital Brno

Multiple myeloma (MM) is characterized by clonal proliferation of malignant plasma cells in the bone marrow. In case of extra- or paraspinal involvement, the condition is referred to as extramedullary disease (EMD). We sought to develop a method combining MALDI-TOF MS (Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry) and machine learning algorithms to distinguish between peripheral blood samples obtained from MM and EMD patients. Utilizing a two-step protocol for protein and peptide extraction, we achieved up to 50-fold increase in intensity over the m/z range compared to direct measurement of peripheral blood. Mass spectra were recorded using a MALDI-7090 TOF-TOF instrument (Shimadzu Kratos Analytical) equipped with a solid-state UV laser (Nd-YAG: 355 nm) in the linear positive ion mode and the mass range of 2-20 kDa. Data were subsequently analyzed in RStudio using principal component analysis (PCA), partial least squares-discriminant analysis (PLS-DA), k-nearest neighbor (k-NN), random forest (RF), decision tree (DT), and artificial neural networks (ANN), with PLS-DA emerging as the best performing model. The presented method is able to identify EMD with fairly high sensitivity while being cost-effective, rapid and minimally invasive.

AZV NU21-03-00076; Programme EXCELES, ID Project No. LX22NPO5102.

PROJEKT HODNOCENÍ GERIATRICKÝCH SYNDROMŮ U STARŠÍCH PACIENTŮ S AML – PRVNÍ VÝSLEDKY Z KLINICKÉ PRAXE

Voldřich J.¹, Weinbergerová B.¹, Podstavková N.¹, Semerád L.¹, Kvetková A.¹, Štěpánová R.^{1,2}, Jadrná J.¹, Procházková J.¹, Mayer J.¹

¹Interní hematologická a onkologická klinika LF MU a FN Brno

²Centrum excellence CREATIC, LF MU Brno

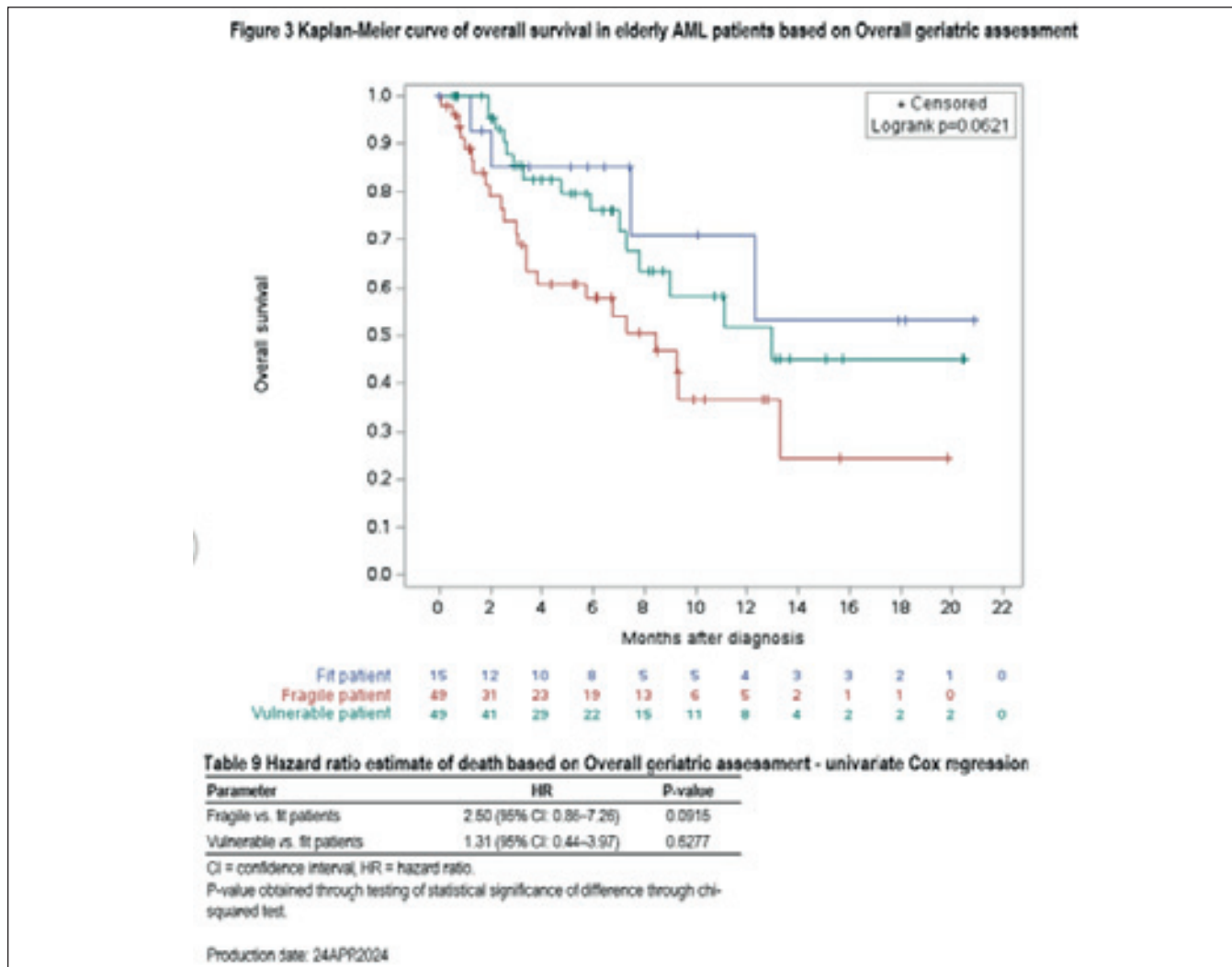
Úvod: Pacienti s AML starší 60 let představují nejpočetnější a pro volbu léčby nejnáročnější skupinu vzhledem k biologické povaze onemocnění a biologickému stavu pacientů.

Cíl: Cílem práce bylo optimálně komplexně zhodnotit vstupní tělesný a duševní stav pacientů při diagnóze, sledovat jejich vývoj a vliv jednotlivých faktorů na celkové přežití (OS) pacientů.

Metody: V souboru bylo zahrnuto celkem 113 pacientů (52 % mužů) s nově diagnostikovanou AML (> 60 let), kterým byly při zahájení terapie, 1. a 6. měsíc léčby měřeny tyto sledované parametry: CIRS-G, MoCA, ADL, iADL, TUG test, malnutrice, polyfarmacie a sociální zázemí. Model rozřadil pacienty na základě nejhoršího parametru do skupin: fit – vulnerabilní – křehká. Signifikantní parametry ovlivňující přežití byly určeny pomocí multivariálního Coxova regresního modelu.

Výsledky: Medián věku hodnocených pacientů byl 72,8 roku. Pacienti byli léčeni: venetoclax+azacytidin (75,2 %), LD-ARA-C (7,1 %), symptomaticky (9,7 %), ostatní (9 %). Medián OS byl v celé skupině 11,1 měsíců, z toho nejlepší OS byl ve skupině „fit“ a po allogenní transplantaci (mediány nedosaženy), u pacientů s normálním ADL, iADL, TUG testem a sociálním zázemím (12,3; 13,0; 12,3 a 12,3 měsíce). Pomocí multiparametrické analýzy bylo zjištěno největší ovlivnění OS výsledkem iADL, TUG, závažnými komorbiditami dle CIRS-G a nepřítomným sociálním zázemím (HR 3,92; 3,48; 3,08 a 2,25).

Závěr: Model prokázal funkčnost komplexního hodnocení stavu starších pacientů s AML a mohl by tak po validaci na větším vzorku případů pomoci v reálné klinické praxi při volbě optimální terapie. Největším prediktorem OS byly faktory hodnotící funkční výkonnost pacientů.



Obr. 18. Voldřich J et al.

INTENSIVE CARE INFECTION SCORE (SYSMEX) – VČASNÝ UKAZATEL BAKTERIÁLNÉ SEPSÉ U NEMOCNÝCH NA JEDNOTKÁCH INTENZIVNÍ PÉČE

Vrbáč F.¹, Fátorová I.¹, Blažek M.², Šimová K.³, Pešková E.¹, Žák P.¹

¹ IV. Interní hematologická klinika FN Hradec Králové

² Plicní klinika FN Hradec Králové

³ Katedra biologických a lékařských věd, Farmaceutické fakulta UK v Hradci Králové

Přes veškeré úsilí a rozvoj poznání zůstává sepsé jednou z významných příčin morbidit a mortality nemocných na jednotkách intenzivní péče. Je tedy velmi důležité zahájit včas léčbu. U části nemocných je však vzniklý zánět neinfekční povahy a tyto nemocné nemá cenu zatěžovat léčbou antibiotiky, jejichž nadužívání je navíc spojeno se vznikem rezistencí. Z tohoto důvodu je důležité nalézt odpovídající laboratorní znaky, které by umožnily včasné odlišení neinfekčních zánětů od bakteriálních infekcí. Jedním z takových ukazatelů by mohlo být i ICIS (Intensive Care Infection Score) měřitelné pomocí

analýzátoru firmy Sysmex řady XN a XR. Do studie bylo zahrnuto 102 nemocných, kteří byli přijati na jednotky intenzivní péče ve Fakultní nemocnici Hradec Králové. U všech z nich bylo v době přijetí stanoveno ICIS a relevantní biochemické ukazatele (procalcitonin, C-reaktivní protein a Interleukin-6), které lze použít pro diagnostiku bakteriální sepsé. Bakteriální sepsé byla následně diagnostikována u 39 nemocných. ICIS skóre předpovědělo sepsi s největší plochou pod křivkou (AUC = 0,958) ze všech sledovaných znaků. Nejvhodnější hraniční hodnota byla určena pomocí tzv. Youdenova indexu na hodnotu 3,5. Při této hodnotě byla specifita testu 84,2 %, senzitivita 93,3 %, prediktivní hodnota negativního testu 96,8 % a prediktivní hodnota pozitivního testu 71,8 %. Skóre ICIS je dle našich výsledků rychlý, levný a snadno interpretovatelný včasný ukazatel bakteriální sepsé u nemocných přijatých na jednotku intenzivní péče. Při námi zvolené hraniční hodnotě 3,5 detekoval bakteriální sepsi s vysokou senzitivitou, specifitou i negativní prediktivní hodnotou.

Práce byla podpořena programem Cooperatio, vědní oblast ONCO a MZ ČR – RVO (FNHK, 00179906).

DESET LET ZKUŠENOSTÍ S PROFYLAXÍ GVHD VYSOKODÁVKOVANÝM CYKLOFOSFAMIDEM NA ÚHKT

Vydra J., Válková V., Vítek A., Nováková L., Šťastná Marková M., Koubová M., Čemusová B., Cetkovský P.

ÚHKT, Praha

Úvod: Profylaxe reakce štěpu proti hostiteli (GvHD) je zásadní podmínkou úspěšného provedení alogenní transplantace krvetvorby a je obvykle založena na kombinaci inhibitoru kalcineurinu, antimetabolitu a ATG nebo vysokodávkovaného potransplantačního cyklofosfamidu (ptCy). ptCy je na ÚHKT používán v profylaxi GvHD od 2014, zprvu pro transplantace od haploidentických dárců (HAPLO), později u nepříbuzných s neshodou (MMUD) a od roku 2019 u transplantací od HLA shodných nepříbuzných dárců (MUD). Pacienti s MUD a MMUD dárci byli před zavedením ptCy transplantováni s ATG; MSD pouze s TAC+MMF. Tato práce shrnuje výsledky 770 transplantací krvetvorby s použitím ptCy a bez něj mezi roky 2014 a 2024 na ÚHKT.

Výsledky: Celkem bylo provedeno mezi 2014 a 2024 423 transplantací s použitím ptCy: 180 HAPLO, 161 MUD, 82 MMUD. Ve stejném období bylo provedeno bez použití ptCy 347 transplantací: 121 od MSD, 201 MUD a 25 MMUD. OS po 5 letech bylo 63 % (60–67 %). V případě HLA shodných dárců (MUD, MRD) byl OS ve 3 letech (OS-3r) 70 % po ptCy (62–79 %) a 74% bez ptCy (70–79 %); $p = 0,35$. V případě HLA neshodných dárců byl OS-3r 61% (55–67 %) po ptCy. Výsledky byly potvrzeny multivariační analýzou. Ve skupině ptCy byla NRM-3r 11 % a REL 34 %; bez ptCy 11 a 30%. Incidence a GvHD byla 17–20 % u MRD a MSD a 32–35 % po MMUD/HAPLO. Incidence cGVHD byla 45 % a nelišila se významně mezi skupinami.

Závěr: PtCy umožňuje provedení alogenní transplantace od všech typů dárců. Výsledky u HLA shodných nepříbuzných jsou při použití ptCY srovnatelné s ATG.

VYUŽITÍ PARAMETRU ICIS (INTENSIVE CARE INFECTION SCORE) PRO DIAGNOSTIKU SEPSE

Vytisková Š.^{1,2}, Lacková M.³, Klinerová J.¹, Pospíšilová Š.¹, Bourková L.¹, Beňovská M.⁴, Buliková A.¹

¹ Oddělení klinické hematologie, FN Brno

⁴ Oddělení klinických laboratoří, Vojenská nemocnice Brno

² Přírodovědecká fakulta, MU Brno

³ Ústav laboratorní medicíny, FN Brno

Sepse je závažný, život ohrožující stav, jehož včasná a přesná diagnostika je klíčová pro zahájení účinné terapie a snížení rizika mortality. ICIS je nový parametr hematologického analyzátoru Sysmex XN a je prozatím vedený v režimu „pro vědecké účely“. Je považován za časný marker sepse, který dokáže rychle a spolehlivě odlišit sepsi a neinfekční systémovou zánětlivou reakci organismu (SIRS) v prvních kritických 48 h. ICIS skóre je vypočteno kombinací

následujících pěti parametrů: počet neutrofilních segmentů (sN#), intenzita fluorescence neutrofilů (sNFI), počet nezralých granulocytů (IG), počet plazmatických buněk (ASL), rozdíl hemoglobinu v retikulocytech a erytrocytech (Δ Hgb). ICIS může nabývat hodnot 0–20, přičemž hodnoty větší než 4 jsou spojeny s vyšším rizikem rozvoje sepse. Klinické využití tohoto parametru se jeví velmi užitečné zejména při vyhodnocení rizika počínající sepse, jelikož ICIS dokáže reflektovat zvýšené nároky imunitního systému na kostní dřeň při zánětlivém procesu. Cílem této práce bylo vyhodnotit korelaci mezi vysokým ICIS a rizikem vývoje sepse a mortality pacientů. Parametr ICIS byl v průběhu roku 2022 opakovaně vyšetřen u 284 pacientů na analyzátoru Sysmex XN na Oddělení klinické hematologie FN Brno. Z 284 pacientů byla hodnota ICIS nad 4 potvrzena u 86 pacientů. U 84 % z nich byla potvrzena infekce, u 40 % pacientů byla prokázána sepse, mortalita v tomto souboru dosáhla 34 %. ICIS je možné použít v rámci diagnostiky sepse jako další laboratorní marker již na počátku klinické rozvahy. Dokáže odhalit infekční sepsi a napomáhá tak k včasnému zahájení terapie. Navíc toto vyšetření je velmi rychlé a finančně nenákladné.

PROGNÓZA PACIENTŮ S AML NA LÉČBĚ VENETOCLAX+AZACYTIDIN PODLE VÝSKYTU PŘÍZNAKŮ ONEMOCNĚNÍ V DOBĚ DIAGNÓZY

Weinbergerová B.¹, Mertová J.², Kořístek Z.^{3,4}, Novák J.⁵, Šrámek J.⁶, Čerňan M.⁷, Víšek B.⁸, Jonášová A.⁹, Válka J.², Szotkowski T.⁷, Jindra P.⁶, Žák P.⁸, Nekvindová L.¹⁰, Štěpánová R.¹¹, Svobodník A.¹¹, Mayer J.¹

¹ Interní hematologická a onkologická klinika LF MU a FN Brno

² Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

³ Klinika hematooonkologie LF OU, Ostrava

⁴ Klinika hematooonkologie FN Ostrava

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

⁶ Hematologicko-onkologické oddělení LF UK a FN Plzeň

⁷ Hemato-onkologická klinika LF UP a FN Olomouc

⁸ IV. interní hematologická klinika LF UK a FN Hradec Králové

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

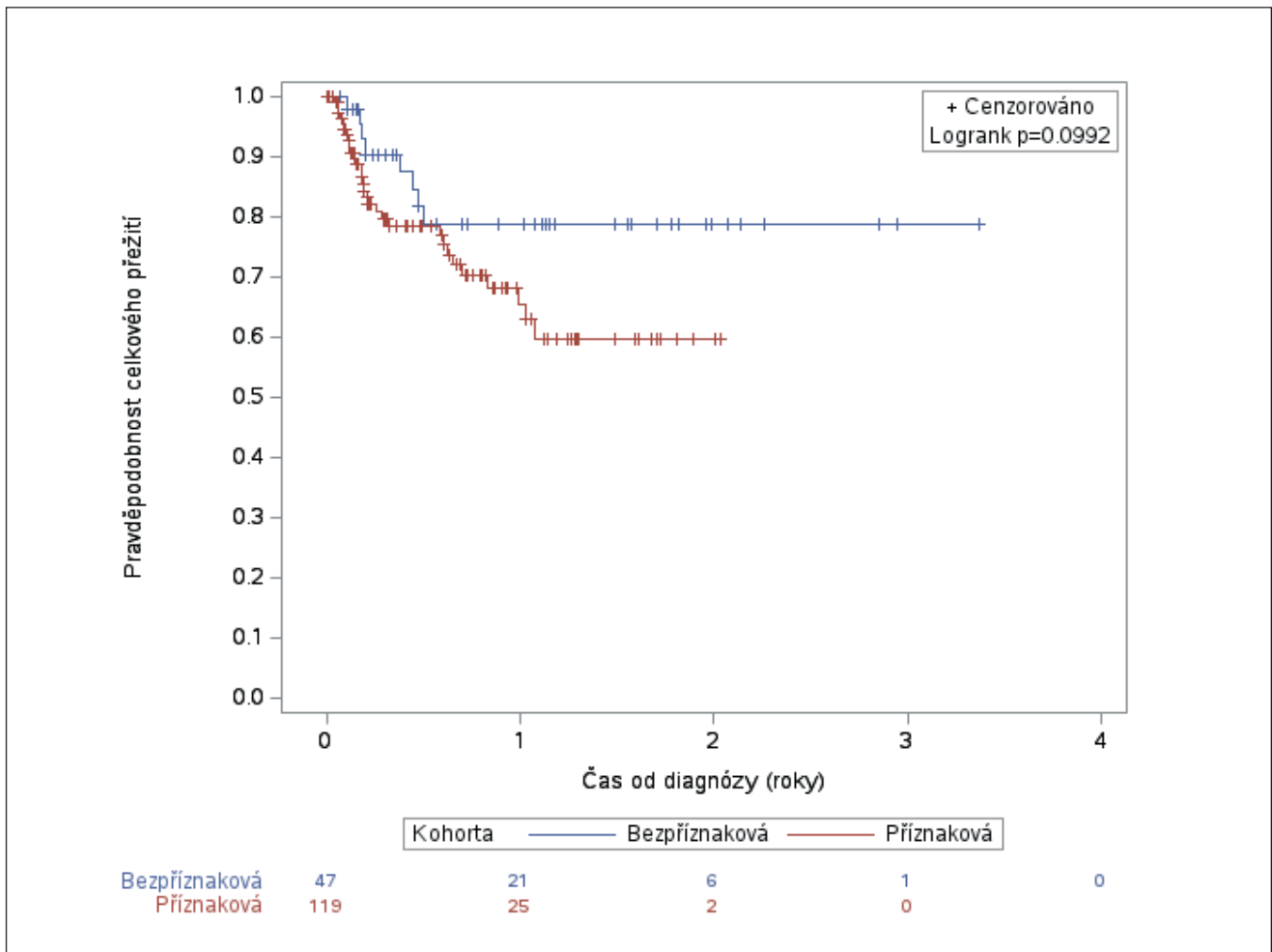
¹⁰ ANOVA CRO, s.r.o., Brno

¹¹ Centrum excellence CREATIC, LF MU Brno

Úvod: Akutní myeloidní leukemie (AML) může být až u čtvrtiny pacientů diagnostikována náhodně, bez příznaků onemocnění. Doposud však nebyla publikována práce hodnotící prognózu této skupiny nemocných.

Cíle: Srovnání prognózy pacientů s bezpříznakovou a příznakovou AML.

Metody: Retrospektivní analýza DATOOL-AML týkající se pacientů s nově diagnostikovanou primární AML s porovnáním kohorty bez příznaků (bepříznaková, $n = 47$; 28 %) a s příznaky (příznaková, $n = 119$; 72 %) onemocnění v době diagnózy léčených v 1. linii na českých centrech venetoclaxem + azacytidinem (VEN+AZA) během 2020–2024.



Obr. 19. Weinbergerová B et al. Kaplan-Meierovy křivky celkového přežívání v příznakové a bezpříznakové kohortě.

Výsledek: Celkem bylo analyzováno 166 případů (58 % mužů; medián věku 71 let). ELN riziko 2022 bylo ve 12 % nízké, 16 % střední, 53 % vysoké a 20 % nehodnotitelné. Obě kohorty byly bez rozdílu v zastoupení podle pohlaví, věku, ELN rizika, doby od diagnózy do zahájení VEN+AZA a alogenní transplantace. Bezpříznaková kohorta měla signifikantně nižší ECOG a vyšší medián počtu podaných cyklů VEN+AZA oproti příznakové kohortě (4 vs. 1).

Kompletní remise dosáhlo 53 a 30 pacientů v příznakové vs. bezpříznakové kohortě (65 vs. 83 %; $p = 0,041$). Zemřelo celkem 30 a 8 pacientů v příznakové a bezpříznakové kohortě (25 vs. 17 %; $p = 0,258$). Odhad poměru rizika úmrtí v příznakové vs. bezpříznakové kohortě byl 1,91 (95% CI: 0,87–4,18). Zastoupení úmrtí na progresi AML bylo v obou kohortách bez rozdílu. Celkové přežívání bylo kratší v příznakové oproti bezpříznakové kohortě ($p = 0,099$) (Obrázek) napříč ELN rizikovými skupinami. Medián sledování do zahájení jiné léčby/posledního kontaktu byl kratší v příznakové oproti bezpříznakové kohortě (22 vs. 37 týdnů; $p = 0,005$).

Závěr: Naše analýza prokázala lepší prognózu pacientů bez příznaků AML v době diagnózy. Bezpříznakovost může odpovídat časnému záchytu nemoci a lepší toleranci léčby, přičemž pravidelný

screening parametrů krevního obrazu starších pacientů by mohl přispět.

Podpořeno CELL, grantem MZČR–RVO (FNBr 65269705), programem EXCELES, ID:LX22NPO5102) a ERN.

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

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

¹ Interní hematologická a onkologická klinika LF MU a FN Brno

² Hemato-onkologická klinika LF UP a FN Olomouc

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

Cíle: Zhodnocení současného použití GO a MIDO se standardní IC u pacientů s nově diagnostikovanou AML.

Metody: Retrospektivní analýza rozšířeného souboru dat z DATOOL-AML hodnotící prognózu pacientů s novou FLT3+/CD33+ AML v nízkém/středním cytogenetickém riziku léčených na 2 českých centrech kombinací GO+MIDO+IC během 07/2020–03/2024.

Výsledky: Celkem bylo analyzováno 20 případů (60 % mužů; medián věku 45 let). Medián sledování od diagnózy byl 50 týdnů. Zastoupeno bylo 65 % AML s rekurentní genetickou abnormalitou (*NPM1*-55 %; *RUNX1::RUNX1T1*-10%); 20 % AML s mutacemi spojenými s myelodysplázií; 15 % AML NOS. 10 % bylo AML „therapy related“. FLT3-ITD+ byla u 50 % pacientů, 35 % FLT3-TKD+, 10 % FLT3-ITD+/FLT3-TKD+. Cytogenetika byla u 90 % střední riziko. Všichni pacienti zahájili indukci 3(daunorubicin 60 mg/m²)+7+GO+MIDO, z toho 85% dosáhlo CR/CRi; 20 % MRD negativity z *NPM1*-AML. 10 % mělo RD s efektem FLAG+/-IDA/VEVE a aloSCT. 1 pacient neměl zatím hodnocenou odpověď. Celkem 65 % pacientů pokračovalo 1–2 konsolidacemi+GO+MIDO a 40 % mělo provedenou aloSCT. 6/17 pacientů (35 %) nedostalo GO v 1. nebo 2. konsolidaci pro nežádoucí účinky (6 % VOD, 18 % infekce a 12 % hematologická). Zemřelo 25 % pacientů (1x progresse AML, 4x úmrtí v aplázii po aloSCT). 73 % žijících pacientů je v CR; z toho všech 7 *NPM1*-AML je MRD negativních. 2 žijící pacienti zrelabovali. 60denní mortalita činila 0 %.

Závěr: Naše data zdůraznila vysokou míru efektivity a dobrou snášenlivost bez významného navýšení toxicity při použití kombinace GO+MIDO+IC u nově diagnostikované FLT3+/CD33+ AML.

Podpořeno CELL, grantem MZČR–RVO (FNBr 65269705), programem EXCELES, ID:LX22NPO5102) a projektem ERN.

VENETOCLAX S AZACYTIDINEM V LÉČBĚ MOLEKULÁRNÍHO RELAPSU AKUTNÍ MYELOIDNÍ LEUKEMIE

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

Interní hematologická a onkologická klinika LF MU a FN Brno

Úvod: Venetoclax s azacytidinem (VEN+AZA) prokázal efektivitu a dobrou toleranci u pacientů s akutní myeloidní leukémií (AML).

Cíle: Zhodnocení léčby molekulárního relapsu AML pomocí VEN+AZA.

Metody: Retrospektivní analýza hodnotila efektivitu a bezpečnost VEN+AZA u molekulárního relapsu AML léčených na našem pracovišti během 07/2022–04/2024.

Výsledky: Celkem jsme léčili 9 pacientů pro 7x molekulární relaps *NPM1*, 1x *CBFβ::MYH11*, 1x *MLL-PTD* (44% mužů; medián věku 50 let). Dva pacienti byli po transplantaci krvetvorby (SCT). Medián doby do relapsu od poslední léčby byl 6 měsíců (3–62). Medián počtu podaných cyklů VEN+AZA byl 3 (1–9). U 5 ze 7 pacientů se vstupně plným dávkováním VEN+AZA byla následně nutná redukce dávek

pro hematologickou toxicitu a infekční komplikace. Jeden pacient po SCT dostával současně gilteritinib a DLI. Šest pacientů podstoupilo po VEN+AZA následně SCT (4x MUD a 2x haploidní). Léčebný efekt VEN+AZA byl: 4x kompletní a 2x parciální molekulární remise, 1x molekulární progresse, 1x progresse do hematologického relapsu, 1x molekulární pozitivita (nelze kvantifikovat). U 6 pacientů byla následně provedena SCT (4x MUD, 2x haploidní). Medián doby sledování v souboru byl od zahájení VEN+AZA 34 týdnů (6–84). Žije 6 pacientů v molekulární remisi a 1 pacient s molekulární pozitivitou. Zemřeli 2 pacienti (1x progresse a 1x komplikace po SCT v molekulární remisi).

Závěr: Naše výsledky potvrdily účinnost a bezpečnost kombinované léčby VEN+AZA molekulárního relapsu AML.

Práce byla podpořena grantem MZ ČR – RVO (FNBr 65269705), programem EXCELES, ID:LX22NPO5102) a projektem ERN.

ZMĚNA SPEKTRA A PROGNÓZY INVAZIVNÍCH MYKOTICKÝCH INFEKČÍ NA ČESKÝCH, SLOVENSKÝCH A CHORVATSKÝCH HEMATOLOGICKÝCH CENTRECH V LETECH 2000–2023 – ANALÝZA FIND

Weinbergerová B.¹, Kabut T.¹, Kocmanová I.², Lengerová M.¹, Drgoňa L.³, Čemusová B.⁴, Čerňan M.⁵, Szotkowski T.⁵, Řivnáčková V.⁶, Haber J.⁷, Žiaková B.⁸, Zavřelová A.⁹, Karas M.¹⁰, Chrenková V.¹¹, Sedláček P.¹¹, Dušek V.¹², Múdry P.¹², Mallátová N.¹³, Navrátil M.¹⁴, Žák P.⁹, Mayer J.¹

¹ Interní hematologická a onkologická klinika LF MU a FN Brno

² Ústav laboratorní medicíny, FN Brno

³ Klinika onkohematologie, NOÚ a LF UK, Bratislava, SR

⁴ Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

⁵ Hemato-onkologická klinika LF UP a FN Olomouc

⁶ Oddělení klinické hematologie 3. LF UK a FNKV, Praha

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

⁸ Klinika hematologie a transfuziologie UNB, Bratislava, SR

⁹ IV. interní hematologická klinika LF UK a FN Hradec Králové

¹⁰ Hematologicko-onkologické oddělení, LF UK a FN Plzeň

¹¹ Klinika dětské hematologie a onkologie 2. LF UK a FN Motol, Praha

¹² Klinika dětské onkologie LF MU a FN Brno

¹³ Pracoviště parazitologie a mykologie, Nemocnice České Budějovice

¹⁴ Klinika hematoonkologie LF OU a FN Ostrava

Cíle: Zmapovat vývoj spektra a prognózy invazivních mykotických infekcí (IMI) diagnostikovaných na českých, slovenských a chorvatských hematoonkologických centrech a zadaných do databáze FIND.

Metody: Retrospektivní zhodnocení incidence, diagnostiky a léčby invazivních aspergilóz (IA), kandidóz (IK) a vzácných IMI diagnostikovaných 2000–2023.

Výsledky: Celkem bylo zdokumentováno 794 pravděpodobných a prokázaných IA, 293 IK (84 % kandidemií) a 138 vzácných mykóz

(62 % invazivních mukormykóz – IM). Se zavedením profylaxe posakonazolem (POSA) u vysokorizikových AML klesalo v letech zastoupení IA a rostl relativní počet vzácných mykóz u průlomových infekcí na profylaxi vorikonazolem (VORI)/POSA. Průlomové infekce vedly k více úmrtím souvisejícím s IMI (43 vs. 28 %; $p < 0,001$). Galaktomanan z bronchoalveolární laváže si zachovává vysokou pozitivitu záchytů (86 %), avšak podíl pozitivních záchytů v séru poklesl v souvislosti s profylaxí POSA (74%...50%; $p < 0,001$). U IK se diagnostika více opřela o 1,3-beta-D-glukan, u vzácných IMI o PCR. Efektivita antimykotik v 1. linii léčby IA byla 57 % u VORI+/-echinokandin. Léčebná odpověď se zvýšila u IM (29 %...65 %; $p = 0,002$). Celková úmrtnost v souvislosti s IMI byla u IA – 37 %, IK – 17 % a IM – 59 % s klesajícím trendem u IK a IM.

Závěr: Potvrdili jsme změnu spektra kauzálních patogenů ve prospěch vzácných IMI v souvislosti s profylaxí POSA a špatnou prognózu průlomových IMI. Galaktomanan, převážně z lavážní tekutiny, zůstává zlatým standardem v diagnostice IA. U IM a IK došlo ke zlepšení výsledků léčby dominantně s optimalizací diagnostiky a léčby. Úprava neutropenie hraje klíčovou roli v prognóze.

Práce byla podpořena CELL, grantem MZ ČR – RVO (FNBr 65269705), programem EXCELES, ID: LX22NPO5102) a ERN.

VÝSKYT MYKOTICKÝCH INFEKČÍ U AML LÉČENÝCH VENETOCLAXEM V PRVNÍ LINII S OHLEDEM NA POUŽITÍ ANTIMYKOTICKÉ PROFYLAXE – PROJEKT CELL

Weinbergerová B.¹, Kabut T.¹, Sperr W.R.^{2,3}, Štefková J.⁴, Jonášová A.⁵, Čerňan M.⁶, Herndlhofer S.², Oravcová I.⁷, Srámek J.⁸, Novák J.⁹, Sztokowski T.⁶, Drgoňa L.⁷, Valent P.^{2,3}, Žák P.⁴, Mayer J.^{1*}

¹ Interní hematologická a onkologická klinika LF MU a FN Brno

² Department of Internal Medicine I, Division of Hematology & Hemostaseology, Medical University of Vienna, Vienna, Austria

³ Ludwig Boltzmann Institute for Hematology and Oncology, Medical University of Vienna, Vienna, Austria

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

⁵ I. interní klinika – klinika hematologie VFN v Praze

⁶ Hemato-onkologická klinika LF UP a FN Olomouc

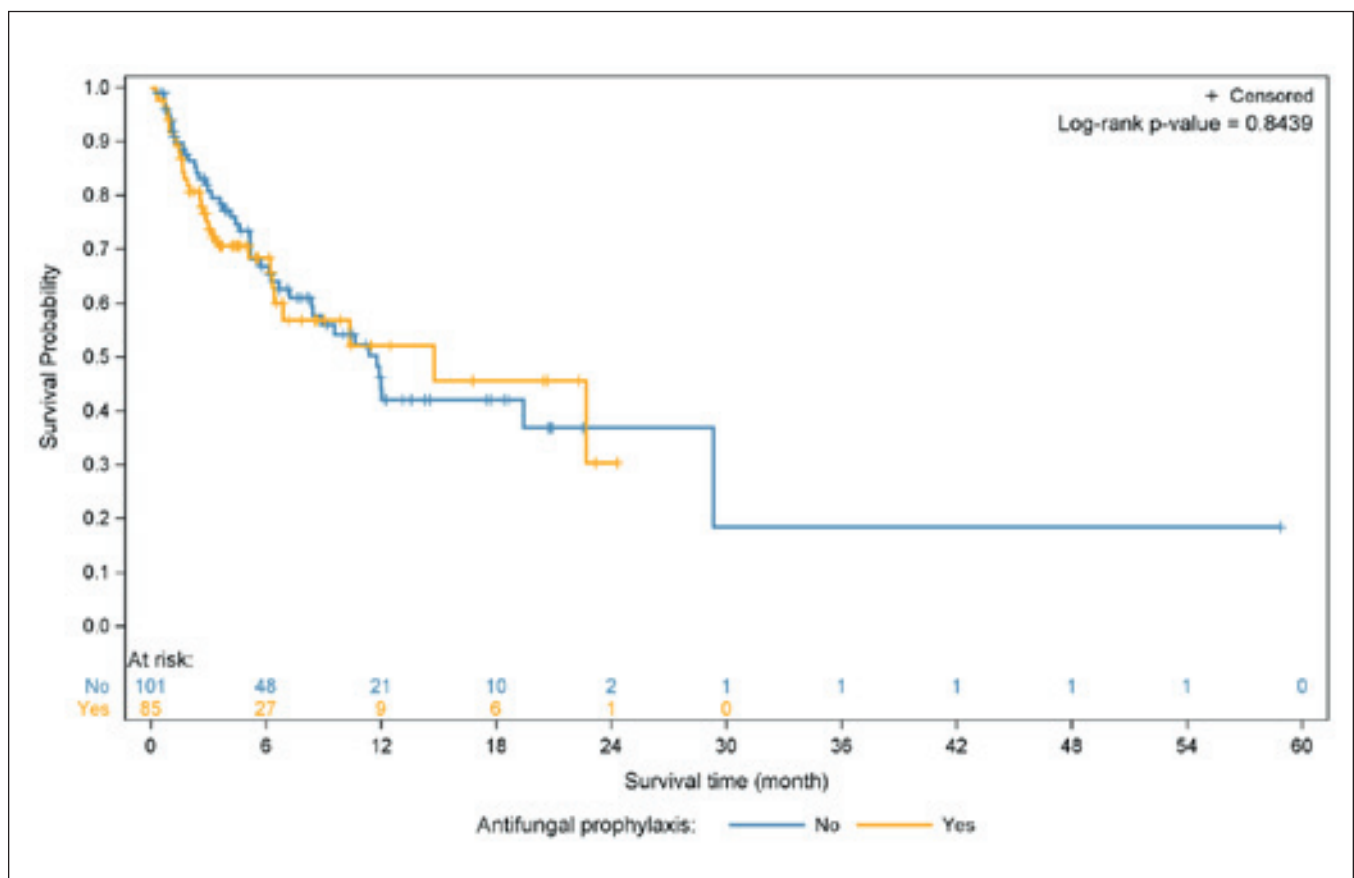
⁷ Klinika onkohematologie LF UK a NOÚ, Bratislava, SR

⁸ Hematologicko-onkologické oddělení, LF UK a FN Plzeň

⁹ Oddělení klinické hematologie, 3. LF UK a FNKV, Praha

Úvod: Venetoclax + azacitidin (VEN+AZA) prodlužuje přežití pacientů s AML nevhodných k intenzivní chemoterapii s nižší toxicitou.

Cíl: Zhodnocení výskytu mykotických infekcí u těchto pacientů a potřeby antimykotické profylaxe (AMP).



Obr. 20. Weinbergerová B et al.. Celkové přežívání pacientů s nově diagnostikovanou AML léčených venetoclaxem a azacitidinem podle současného použití antimykotické profylaxe.

Metody: Mezinárodní retrospektivní studie analyzovala význam AMP u nově diagnostikovaných (ND) AML léčených v 1. linii VEN+AZA s ohledem na výskyt mykóz diagnostikovaných na českých, slovenských a rakouských centrech v letech 2018–2023.

Výsledky: Zahrnuto bylo 186 pacientů s AML, z nich 46% dostalo AMP a 54% nemělo AMP. Mykózy se vyskytly u 6 (3%) pacientů (1 invazivní – 0,5% a 5 neinvazivních – 2,5%). Medián doby do mykózy od startu VEN+AZA byl 18 dní (5–20). Jedna invazivní mykotická infekce (IMI) plic a spojivek byla způsobena *Malassezia sympodialis*. Neinvazivní mykózy představovaly 3× soor a 2× kandidózu jícnu. Mykóza se vyvinula u 1/85 (1%) pacientů s profylaxí a 5/101 (5%) pacientů bez profylaxe ($p = 0,222$). IMI se vyskytla u 0/85 (0%) pacientů s profylaxí a 1/101 (1%) pacientů bez profylaxe ($p = 0,064$). Medián doby sledování od zahájení VEN+AZA byl 140 dní. Zemřelo 76 pacientů (41%), z nichž 41% s AMP a 59% bez AMP ($p = 0,296$). Neprokázali jsme signifikantní rozdíl v četnosti úmrtí ($p = 0,296$) a celkovém přežívání ($p = 0,844$) mezi kohortou s a bez AMP.

Závěr: Prokázali jsme nízký výskyt většinou nezávažných mykóz vždy v průběhu prvního cyklu u ND AML léčené v 1. linii VEN+AZA bez rozdílu s ohledem na použití ATM a bez vlivu na celkové přežívání pacientů.

Podpořeno Českou leukemickou skupinou pro život, grantem MZ ČR–RVO (FNBr 65269705), programem EXCELES, ID:LX22NPO5102) a ERN.

VÝSLEDKY LÉČBY (ÚČINNOST A BEZPEČNOST) EMICIZUMABEM V ČESKÉ REPUBLICE

Zápotočká E.^{1,2}, Smejkal P.^{3,4}, Ovesná P.⁵, Blatný J.^{1,6}

¹ LF MU Brno

² Klinika dětské hematologie a onkologie FN Motol Praha

³ Oddělení klinické hematologie, FN Brno

⁴ Katedra laboratorních metod, LF MU, Brno

⁵ Institut biostatistiky a analýz s.r.o., Brno

⁶ Oddělení dětské hematologie a biochemie, FN Brno

Úvod: Emicizumab, představitel nefaktorové léčby hemofilie A, se od roku 2018 stal důležitou součástí léčby v ČR. Je indikován pro profylaktickou léčbu pacientů s hemofilií A (HA) s i bez inhibitoru FVIII. V naší analýze hodnotíme data týkající se léčby emicizumabem v reálné klinické praxi v ČR.

Metody: Jedná se o retrospektivní analýzu dat z registru Českého národního hemofilického programu (ČNHP) a to jak u dětí, tak také dospělých pacientů s hemofilií A. Hodnotili jsme kontrolu krvácení, frekvenci podávání a případný výskyt závažných nežádoucích příhod.

Výsledky: Zahrnuto bylo 73 pacientů s těžkou hemofilií A (HA) s mediánem věku 4 roky (min-max, 0–79), kteří byli do konce roku 2023 léčení emicizumabem minimálně po dobu 6 měsíců. Pro další stratifikaci byly použity dvě věkové skupiny: 0–11 ($n = 45$, přičemž 40 z nich bylo mladších 4 let) a 12+ ($n = 28$) let. U 27 (37%) pacientů byl v době zahájení podávání emicizumabu přítomný inhibitor FVIII. Mezi

pacienty bez inhibitoru byly 4 děti, u kterých byl emicizumab zahájen bez předchozí faktorové léčby (PUP, previously untreated patients) a u 9 se jednalo o minimálně léčené pacienty (do 5 expozičních dnů koncentrátu FVIII).

Pro celou skupinu jsme pozorovali po přechodu na emicizumab celkově statisticky významný pokles roční míry krvácení (ABR) z průměrné 3,44 na 0,46 ($p < 0,001$), u kloubního krvácení (AjBR) z 0,7 na 0,27 ($p = 0,004$) a u spontánního krvácení (AsBR) z 1,18 na 0,19 ($p = 0,002$). Podíl pacientů s nulovým krvácením stoupl z 26,0% na 60,3% ($p < 0,001$), u kloubního krvácení z 64,4% na 82,2% ($p = 0,045$). Další subanalýzy ukázaly, že výraznější efekt profylaxe emicizumabem oproti období před touto léčbou byl sledován u osob s inhibitorem. U osob bez inhibitoru pak především u mladších pacientů. U žádného pacienta bez inhibitoru na počátku léčby emicizumabem nedošlo k jeho rozvoji nebo relapsu. Sledování nežádoucích účinků není povinně v registru ČNHP zaznamenáváno, ale žádný závažný nežádoucí účinek na SUKL nebyl hlášen, ani nevyplnul ze zdrojových dat pracovišť zadávajících do registru.

Závěr: Data z ČNHP registru podporují zjištění, že emicizumab má potenciál snižovat krvácivé stavy u osob s těžkou hemofilií A a u velké části z nich nabízí možnost dosáhnout bezpečné stavu bez krvácení. Emicizumab se stal standardem léčby u pacientů s inhibitorem. U pacientů bez inhibitoru podíl takto léčených nemocných narůstá, velký podíl představují dětské pacienty do 4 let, což je dáno zejména jednoduchým způsobem subkutánního podání, které umožní zahájit profylaxi bez dříve často přítomných problémů.

KLONÁLNÍ KOMPETICE A ALTERACE MOLEKULÁRNÍCH DRAH U CHRONICKÉ LYMFOCYTÁRNÍ LEUKEMIE

Závacká K.^{1,2}, Porc J.P.^{2,3}, Tauš P.², Pál K.², Pavlová Š.¹⁻³, Malčíková J.¹⁻³, Stránská K.¹⁻³, Ženatová M.¹, Tichý B.², Panovska A.¹, Doubek M.¹⁻³, Pospíšilová Š.¹⁻³, Plevová K.¹⁻³

¹ Interní hematologická a onkologická klinika LF MU a FN Brno

² Centrum molekulární medicíny, Středoevropský technologický institut, MU Brno

³ Ústav lékařské genetiky a genomiky, LF MU a FN Brno

Úvod: Variabilní klinický průběh chronické lymfocytární leukemie (CLL) souvisí se značnou klonální dynamikou leukemické buněčné populace v čase. Expanze subklonů nesoucích různé somatické genové varianty, z nichž mnoho není rekurentních, ovlivňuje vývoj onemocnění a odpověď na léčbu. Naší snahou bylo popsat principy klonální evoluce CLL s ohledem na konkrétní léčebné režimy a odlišná stadia onemocnění. Zaměřili jsme se zejména na faktory ovlivňující vývoj subklonů s mutacemi v genu *TP53*, jehož defekty vedou u pacientů k chemorezistenci.

Metody: Pomocí celoexomového sekvenování jsme vyšetřili dva až šest odběrů z různých stadií CLL u 62 pacientů. Měli jsme k dispozici podrobné informace o klinickém průběhu onemocnění a vývoji *TP53* mutací. Zrekonstruovali jsme klonální vývoj onemocnění vč.

nárůstu a ztrát jednotlivých nádorových subklonů v po sobě jdoucích odběrech. Následně jsme u definovaných skupin pacientů porovnali abnormální molekulární dráhy a mutační signatury a sledovali jsme jejich změny v čase.

Výsledky: Mezi koexistujícími CLL subklony jsme pozorovali významnou kompetici. Zaznamenali jsme odlišný vývoj konkrétních genových mutací, z nichž některé mají tendence k současnému výskytu, jiné naopak k vzájemné vylučnosti. Identifikovali jsme narušené molekulární dráhy a odlišné mutační signatury v souvislosti s odlišnými stádii onemocnění, odpovědí na léčbu a stavem TP53 mutací.

Závěr: Naše práce přináší nové informace o molekulárních aspektech podmiňujících klonální evoluci u CLL. Výsledky napomáhají lépe pochopit chování nemoci a naznačují, kam by v budoucnu mohla potenciálně cílit personalizovaná léčba CLL.

Podpořeno projekty MZČR AZV NW24-03-00114 a RVO FNBr65269705, MŠMT MUNI/A/1558/2023 a NPO-NÚVR LX22NPO5102, spolufinancováno Evropskou unií – Next Generation EU.

AFERETICKÉ ODBĚRY U DĚTÍ VE FN MOTOL

Závadová Ž.¹, Linhartová E.¹, Švojr K.², Jeřábková V.², Sedláček P.², Šrámková L.², Keslová P.²

¹ Oddělení krevní banky FN Motol, Praha

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

Oddělení krevní banky v Motole zahájilo v roce 2012 aferetické odběry v rámci klinické studie pro firmu SOTIO (SCTbio) ve spolupráci s Ústavem klinické imunologie 2. LF UK a FN Motol u dospělých pacientů odběrem mononukleárních buněk. V roce 2016 rozšířilo ve spolupráci s KDHO UK 2. LF a FN Motol spektrum své činnosti o odběry dětských pacientů separacemi periferních kmenových buněk krvetvorby (PBSC) jako metodu získání CD34+ buněk před transplantací nebo submyeloablativními bloky chemoterapie u dětí se solidními nádory léčených na Klinice dětské hematologie a onkologie. V roce 2019 jsme zahájili v rámci spolupráce KDHO a dalšími klinikami FN Motol (Pediatrická klinika, III. chirurgická klinika, Pneumologická klinika) odběry mononukleárních buněk pro extrakorporální fotochemoterapii (ECP) u dospělých a dětských pacientů. Od roku 2020 provádíme u dětí odběr mononukleárních buněk pro přípravu individuálního léčivého přípravku pro moderní terapii založeného na autologních buňkách (CAR-T lymfocyty) pro firmu Novartis. Celkem jsme provedli do května 2024 u dětí 115 odběrů PBPC, 22 odběrů PBMC (CAR-T cells) a opakované cykly ECP u 3 dětských pacientů pro GVHD reakci po transplantaci kostní dřeně a dva bloky cyklů separací u 1 pacientky po transplantaci plic a retransplantaci. V naší přednášce bychom chtěli shrnout naše zkušenosti, úspěchy i komplikace při těchto odběrech, podtrhnout důležitost spolupráce v rámci přípravy před separací s klinickými pracovišti a uvést kazuistiku některých pacientů.

VÝZNAM DRUHÉ ALOGENNÍ TRANSPLANTACE S TREOSULFANEM V LÉČBĚ RELAPSU U PACIENTŮ S HEMATOLOGICKÝMI MALIGNITAMI – ZKUŠENOSTI CENTRA

Zavřelová A.¹, Radocha J.¹, Víšek B.¹, Lánská M.¹, Števková J.¹, Žibřidová K.¹, Horáček J. M.¹, Čermáková E.², Žák P.¹

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

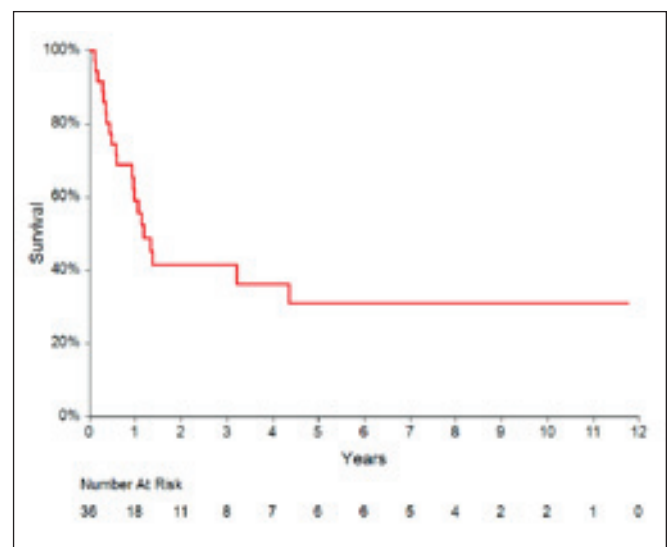
² Ústav lékařské biofyziky LF UK v Hradci Králové

Úvod: Přínos 2. transplantace v relapsu základní malignity není jednoznačný. Zde ukazujeme výsledky nemocných, kteří ji podstoupili.

Pacienti a metoda: Jde o retrospektivní analýzu všech nemocných po 2. alogenní transplantaci provedené na IV. Interní hematologické klinice v letech 2012–2023.

Výsledky: Bylo identifikováno 36 nemocných (25 AML, 7 ALL, 1 myelofibróza, 1 aCML a 1 CLL) s potvrzeným relapsem po 1. ATKB (alogenní transplantaci kmenových buněk), kteří podstoupili 2. ATKB. Medián věku byl 47,5 roku (20–67 let), 27 mužů a 9 žen. Nemocní byli transplantováni od alternativního nepříbuzného dárce (shoda 10/10 u 29 (81 %), shoda 9/10 u 7 (19 %)). 19/36 pacientů (53 %) bylo v remisi před 2. ATKB. 16/36 pacientů (44 %) bylo transplantováno sekvenčně. Přípravný režim byl u všech nemocných uniformní: treosulfan 3× 12 g/m², fludarabin 4× 40 mg/m² a Thymoglobulin Genzyme 6 mg/kg. Medián doby mezi první a druhou transplantací byl 460 dnů (120–4 951 dnů) a medián doby sledování od 2. transplantace byl 2 334 dnů (102–4 307 dnů). V tomto období byl prokázán relaps u 18/36 pacientů (50 %). Na transplantační komplikace zemřelo 9 nemocných (25 %) (3× EBV PTLD, 2× GVHD, 1× HHV6 encefalitida, 3× sepse). Medián celkového přežití byl 1,2 roku (95% CI: 0,9–3,2), 2leté přežití je 41 % (AML 41 %) a 5leté přežití 31 % (AML 28 %).

Závěr: Druhá ATKB je možnou léčebnou alternativou pro terapii relapsu hematologických malignit s uspokojivými dlouhodobými výsledky.



Obr. 21. Zavřelová A et al. Celkové přežití v souboru.

CYTOGENOMIKA V DIAGNOSTICE MDS – VÝZNAM A AKTUÁLNÍ TRENDY

Zemanová Z.

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

Analýza karyotypu hraje klíčovou roli v diagnostice myelodysplastických neoplasií (MDS). Přináší informace důležité pro určení diagnózy a prognózy, výběr vhodné terapie a pro sledování léčebné odpovědi či progresu onemocnění. Klonální chromozomové aberace jsou popisovány u asi 50 % primárních a 70–90 % sekundárních MDS. Nejčastěji se jedná o změny spojené se ztrátou genetického materiálu (delece, monosomie). U přibližně 20 % MDS detekujeme komplexní aberace. Naopak trisomie (kromě +8) a balancované translokace jsou méně časté. Chromozomové aberace u MDS úzce korelují s prognózou. Obecně platí, že pacienti s del(5q) jako samostatnou změnou v karyotypu mají dobrou prognózu, zatímco nemocní s aberacemi chromozomu 7 nebo komplexními karyotypy mají prognózu špatnou.

Zlatým standardem v detekci chromozomových aberací je konvenční cytogenetická analýza. V posledních desetiletích došlo k významnému rozvoji moderních genetických metod (různé modifikace FISH, MLPA, mikročipové technologie, sekvenční metody), které umožňují detekci kryptických aberací a genových mutací. Přesto má cytogenetické vyšetření v diagnostice MDS stále nezastupitelný význam, protože umožňuje detekci širokého spektra chromozomových aberací vč. strukturních přestaveb a přináší rovněž informace o klonální heterogenitě a subklonálních změnách. V současnosti je proto kladen důraz na komplexní přístup a cílenou kombinaci cytogenomických a molekulárně genetických technik. V budoucnosti budou pravděpodobně vyvinuty nové cytogenomické přístupy, které umožní detekci chromozomových abnormalit s vyšší citlivostí, rozlišením a efektivitou. Slibně se jeví např. optické mapování genomu (OGM), které umožňuje detekovat současně všechny strukturní i početní varianty a cnLOH v celém genomu. Tyto pokročilé techniky představují slibnou perspektivu v diagnostice MDS a pomohou nám lépe porozumět biologii onemocnění a přizpůsobit léčbu individuálním potřebám pacientů.

Podpořeno RVO-VFN64165.

NÁDOR Z BLASTICKÝCH PLAZMOCYTOIDNÍCH DENDRITICKÝCH BUNĚK /BPDCN/ ASOCIOVANÝ S MYELODYSPLASTICKÝM SYNDROMEM – KAZUISTIKA

Zuchnická J., Ďuraš J., Kaščák M.

Klinika hematookologie LF OU a FN Ostrava

Nádor z blastických plazmocytoidních dendritických buněk je vzácné agresivní hematookologické onemocnění. Postihuje

kůži, kostní dřeň, lymfatické uzliny, játra, slezinu, častá je infiltrace CNS. Dle WHO klasifikace je řazen k akutním leukemiím. Jedná se o nádor z myeloidního prekursoru s diferenciací v plazmocytoidní dendritickou buňku. V normálním stavu hrají plazmocytoidní dendritické buňky úlohu v obraně organismu proti virovým infekcím. Exprimují receptory pro nukleové kyseliny, TLR-7 a TLR-9. Stimulací těchto receptorů virovou nukleovou kyselinou se spustí produkce IFN- α . Zvýšená produkce IFN- α způsobí aktivaci NK buněk. V našem sdělení prezentujeme případ staršího nemocného s významnými přidruženými onemocněními, kterému byl v květnu 2022 diagnostikován níže rizikový myelodysplastický syndrom (MDS). Pacient byl bez potíží, s ohledem na nízké riziko onemocnění a věk byl sledován bez indikace kléčbě. Více než rok po stanovení diagnózy MDS došlo ke zhoršení stavu, objevily se B-symptomy, kožní eflorescence, v laboratoři se rozvinula pancytopenie. Z histologického vyšetření kožního postižení bylo vysloveno podezření na nádor z blastických plazmocytoidních dendritických buněk (BPDCN). Vyšetření kostní dřeně diagnózu potvrdilo, blastické buňky se shodným imunofenotypem byly prokázány i v liquoru. S ohledem na celkový stav, věk a přidružená onemocnění je nemocný léčen chemoterapií COP (cyklofosamid, vincristin, prednison) s intratekálním podáním methotrexatu. V době našeho sdělení dosáhl parciální remise onemocnění. V plánu je udržovací terapie venetoclaxem.

JAK ÚČINNÉ JE VYSAZENÍ TKI PO PŘEDCHOZÍ DVOUSTUPŇOVÉ REDUKCI JEJICH DÁVKY? ANALÝZA DOSAVADNÍCH VÝSLEDKŮ CELNÁRODNÍ STUDIE HALF U PACIENTŮ S CHRONICKOU MYELOIDNÍ LEUKEMIÍ

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

¹ Interní hematologická a onkologická klinika LF MU a FN Brno

² Hematoonkologická klinika LF UP a FN Olomouc

³ Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

⁴ Klinika hematookologie LF OU a FN Ostrava

⁵ IV. Interní hematologická klinika LF UK a FN Hradec Králové

⁶ Hematoonkologická klinika LF UK a FN Plzeň

⁷ Interní hematologická klinika 3. LF UK a FNKV, Praha

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

⁹ Farmakologický ústav, LF MU Brno

¹⁰ Oddělení klinické biochemie, FN Brno

¹¹ Středoevropský technologický institut (CEITEC), MU Brno

Cíl: Ověřit úspěšnost a bezpečnost vysazení TKI po předchozí dvoustupňové redukci jejich dávky v rámci celonárodní studie HALF.

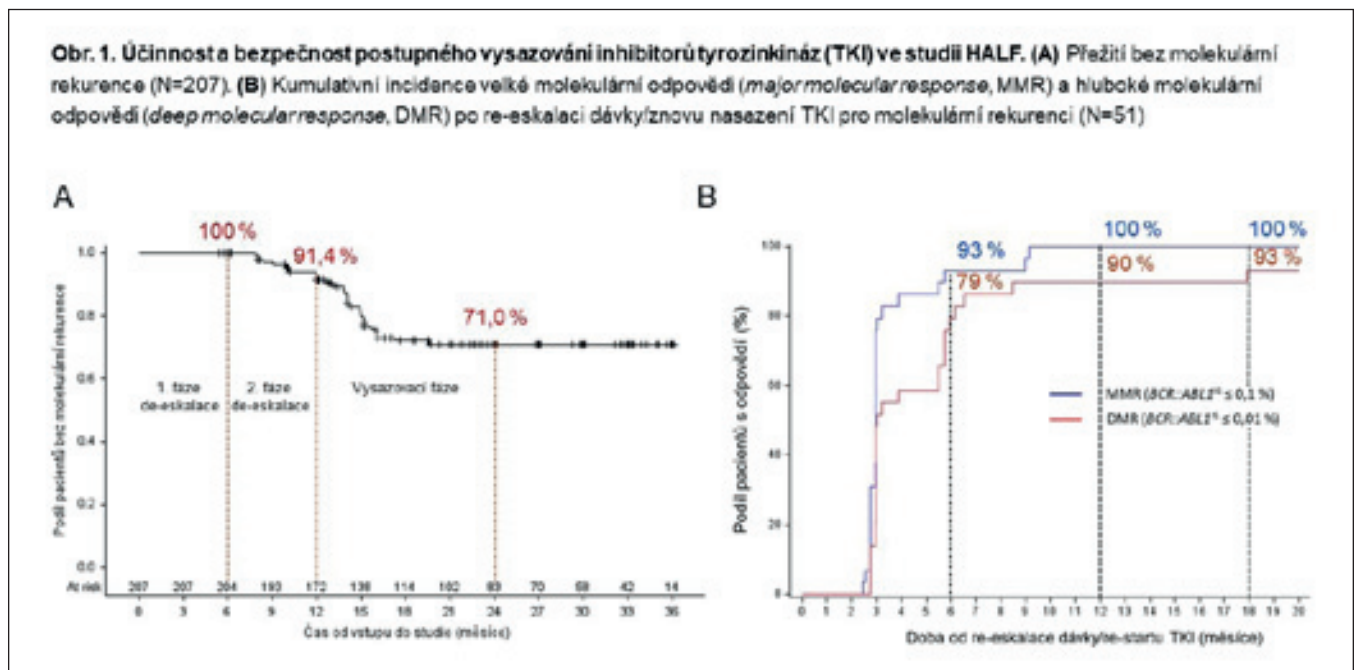
Metody: Přežití bez molekulární rekurence (MRFS) hodnoceno pomocí Kaplan-Meier analýzy na celém souboru a u podskupin dle dávky a typu TKI, předchozí léčby IFN, vstupní rizikové kategorie a hloubky molekulární odpovědi v době vysazení TKI. Podskupiny byly porovnány pomocí log-rank testu.

Výsledky: V období 1/6/2020–29/2/2024 bylo do studie zařazeno 207 pacientů, převážně mužů (54 %), mediánu věku 61,6 let. Vstupně bylo 72 % pacientů léčeno imatinibem, 17 % nilotinibem a 9 % dasatinibem a 36 % pacientů mělo redukovanou dávku. V době analýzy postoupilo 169 pacientů do vysazovací fáze. Konfirmovaná molekulární rekurence byla zaznamenána u 51 (24,6 %) pacientů. Pravděpodobnost MRFS v 6, 12 a 24 měsících (M) od vstupu do studie byla 100 %, 91,4 % a 71,0 %. MRFS ve 12M od vysazení se významně lišilo dle hloubky léčebné odpovědi při vysazení (MMR 5,2 %, MR4.0 71,2 %

a MR4.5 92,0 %; $p < 0,001$); u dalších hodnocených podskupin (viz výše) neukázalo statisticky významný rozdíl. Kumulativní incidence MMR a DMR v 6, 12, resp. 18M po re-startu TKI v původní dávce byla 93 a 79 %, 100 a 90 %, resp. 100 a 93 %.

Závěr: Předběžné výsledky studie naznačují vyšší pravděpodobnost dosažení TFR než při náhlém vysazení. Úspěšnost TFR statisticky významně koreluje s hloubkou léčebné odpovědi při vysazení. Bezpečnost zvoleného postupu potvrzuje i rychlá obnova MMR u všech a DMR u většiny pacientů s molekulární rekurencí.

Podpořeno grantem MZČR č. NU22-03-00136, grantem č. MUNI/A/1558/2023, prostřednictvím projektu CZECRIN (LM2023049) a projektem Národního ústavu pro výzkum rakoviny (Program EXCELES, ID: LX22NPO5102) – Financováno Evropskou unií – Next Generation EU.



Obr. 22. Žáčková D et al.

Transfuze a hematologie *dnes*

VEDOUcí REDAKTOR

prof. MUDr. Edgar Faber, CSc.

Hemato-onkologická klinika FN Olomouc
edgar.faber@fnol.cz

REDAKCE

ZA SPOLEČNOST PRO TRANFUZNÍ LÉKAŘSTVÍ

MUDr. Renata Procházková, Ph.D.

Transfuzní oddělení, Krajská nemocnice, Liberec

MUDr. Jiří Masopust

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

ZA ČESKOU HEMATOLOGICKOU SPOLEČNOST

doc. MUDr. Ľuboš Drgoňa, CSc.

Klinika onkohematologie, Národní onkologický ústav, Bratislava

prof. MUDr. Marta Krejčí, Ph.D.

Interní hematologická a onkologická klinika FN Brno

doc. MUDr. Daniel Lysák, Ph.D.

Hematoonkologické oddělení, FN Plzeň

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

Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

prof. MUDr. Vít Procházka, Ph.D.

Hemato-onkologická klinika FN Olomouc

doc. MUDr. Peter Rohoň, Ph.D.

Ústav lékařské genetiky a genomiky, FN Brno

Ústav biologie LF UP v Olomouci

MUDr. Martin Šimkovič, Ph.D.

IV. interní hematologická klinika FN Hradec Králové

ZA ČESKOU SPOLEČNOST PRO TROMBÓZU A HEMOSTÁZU

doc. MUDr. Petr Dulíček, Ph.D.

IV. interní hematologická klinika
FN Hradec Králové

MUDr. Jaromír Gumulec

Klinika hematoonkologie FN Ostrava

REDAKČNÍ RADA

ZA SPOLEČNOST PRO TRANFUZNÍ LÉKAŘSTVÍ

plk. gšt. MUDr. Miloš Bohoněk, Ph.D.

Oddělení hematologie a krevní transfuze,
ÚVN – VFN Praha

MUDr. Dana Galuszková, Ph.D., MBA

Transfuzní oddělení, FN Olomouc

doc. MUDr. Zdenka Gašová, Ph.D.

Ústav hematologie a krevní transfuze,
Praha

MUDr. Hana Lejdarová

Transfuzní a tkáňové oddělení,
FN Brno

MUDr. Martin Písačka

Ústav hematologie a krevní transfuze,
Praha

MUDr. Vít Řeháček

Transfuzní oddělení, FN Hradec Králové

MUDr. Petr Turek, CSc.

Transfuzní oddělení, Thomayerova
nemocnice, Praha

ZA ČESKOU HEMATOLOGICKOU SPOLEČNOST

prof. MUDr. Angelika Bátorová, CSc.

Klinika hematologie a transfúziologie,
Univerzitní nemocnice Bratislava

doc. MUDr. Jan Blatný, Ph.D.

Oddělení dětské hematologie, FN Brno

prof. MUDr. Jaroslav Čermák, CSc.

Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

prof. MUDr. Tomáš Kozák, Ph.D., MBA

Interní hematologická klinika
FN Královské Vinohrady, Praha

prof. MUDr. Jiří Mayer, CSc.

Interní hematologická a onkologická klinika FN Brno

prof. MUDr. Tomáš Papajík, CSc.

Hemato-onkologická klinika FN Olomouc

prof. MUDr. Jan Starý, CSc.

Klinika dětské hematologie a onkologie
FN Motol, Praha

prof. MUDr. Marek Trněný, CSc.

I. interní klinika – klinika hematologie VFN v Praze

prof. MUDr. Pavel Žák, Ph.D.

IV. interní hematologická klinika FN Hradec Králové

ZA SPOLEČNOST PRO TROMBÓZU A HEMOSTÁZU

doc. MUDr. Tomáš Kvasnička, CSc.

Ústav lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky,
VFN v Praze

prof. MUDr. Miroslav Penka, CSc.

Oddělení klinické hematologie, FN Brno

© Česká lékařská společnost J. E. Purkyně, Praha 2024

Transfuze a hematologie dnes

Vydavatel: Česká lékařská společnost

Jana Evangelisty Purkyně, z. s., Sokolská 31,
120 26 Praha 2

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

Vedoucí redaktor:

prof. MUDr. Edgar Faber, CSc.

Odpovědný redaktor:

Mgr. Lucie Simonidesová

Grafická úprava: Karel Zlevor

Jazyková korektura:

Mgr. Eliška Škorpíková

Vychází 4x ročně.

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

Objednávka předplatného ČR i SK na adrese:
předplatne@carecomm.cz

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

Informace o podmínkách inzerce poskytují a objednávky přijímá:

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

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

Vydavatel získá otištěním příspěvku výlučné
nakladatelské právo k jeho užití.

Otištěné příspěvky autorů nejsou honorovány,
autoři obdrží bezplatně jeden výtisk časopisu.
Vydavatel a redakční rada upozorňují, že
za obsah a jazykové zpracování inzerátů
a reklam odpovídá výhradně inzerent. Žádná
část tohoto časopisu nesmí být kopírována
a rozmnožována za účelem dalšího rozšiřování
v jakékoli formě či jakýmkoli způsobem, ať již
mechanickým nebo elektronickým, včetně
pořizování fotokopíí, nahrávek, informačních
databází na magnetických nosičích bez
písemného souhlasu vlastníka autorských práv
a vydavatelského oprávnění.
Registrační značka MK ČR E 7391.

Toto číslo vychází 5. 11. 2024

