



XXXIII. Olomoucké hematologické dny

XXIII. Konference ošetřovatelství a zdravotních laborantů
12th Symposium on Advances in Molecular Hematology

Sborník abstrakt

Hlavní téma

**Přesná diagnostika a cílená
léčba chorob krve tvorby**

26. – 28. 5. 2019

NH Collection Olomouc Congress

www.olhemdny.cz

Haimaom
instituce na podporu transportace krevních článků



Lékařská
fakulta
Univerzity Palackého
v Olomouci



Hemato-onkologická
klinika
Přírodní nemocnice
Olomouc

POŘÁDÁJÍ

HAIMAOM, nadace na podporu transplantace kostní dřeně
ve spolupráci s
Lékařskou fakultou UP v Olomouci a
Hemato-onkologickou klinikou FNOL a LF UP

POD ZÁŠTITOU

České hematologické společnosti ČLS JEP
prof. MUDr. Milana Koláře, Ph.D., děkana LF UP v Olomouci
prof. MUDr. Romana Havlíka, Ph.D., ředitele FN Olomouc
Sekce onkologie České asociace sester

OBSAH

PREZIDENTSKÉ SYMPOSIUM	2
POSTGRADUÁLNÍ SEKCE 1.....	4
WIEDERMANNOVA PŘEDNÁŠKA	5
POSTGRADUÁLNÍ SEKCE 2.....	5
ADVANCES IN MOLECULAR HEMATOLOGY I	6
KONFERENCE OŠETŘOVATELSTVÍ 1	9
ADVANCES IN MOLECULAR HEMATOLOGY II	11
KONFERENCE OŠETŘOVATELSTVÍ 2.....	13
KONFERENCE ZDRAVOTNÍCH LABORANTŮ 1	15
SPOLUPRÁCE A KOMUNIKACE V TÝMECH – WORKSHOP	18
MYELOIDNÍ NEOPLÁZIE A ALL	18
MALIGNÍ LYMFOMY	20
KONFERENCE ZDRAVOTNÍCH LABORANTŮ 2	24
OPORTUNNÍ INFEKCE	26
MNOHOČETNÝ MYELOM	28
CHRONICKÁ LYMFOCYTÁRNÍ LEUKÉMIE	30
MORFOLOGIE	34
MONOKLONÁLNÍ GAMAPATIE	35
LABORATORNÍ HEMATOLOGIE	39
RICHTEROVA TRANSFORMACE CLL	43
JMENNÝ REJSTŘÍK	70

Haimaom
Nadace na podporu transplantace kostní dřeně



Lékařská
fakulta
Univerzita Palackého
v Olomouci

HOX Hemato-onkologická
klinika
Fakultní nemocnice
Olomouc


Česká hematologická
společnost ČLS JEP




FAKULTNÍ NEMOCNICE
OLOMOUC

Sborník abstrakt vydala
Univerzita Palackého v Olomouci
Křížkovského 8
771 47 Olomouc
ISBN 987-80-244-5520-4
Olomouc, 2019
Neprodejná publikace
1. vydání

Odpovědný redaktor:
Lucie Loutocká

Editoři:
Edgar Faber, Václav Kajaba

1.

Vybrané trombocytopenie dětského věku a klinické konsekvence v dospělosti*Pospíšilová D. (Dětská klinika, FN, Olomouc)*

Trombocytopenie definovaná jako pokles trombocytů pod 150 000 000 000/l se v dětském věku vyskytují méně často než u dospělých. Většinu z nich tvoří trombocytopenie získané, jejichž příčiny mohou být pestré. Nejčastěji vznikají na imunitním podkladě. Doprovázejí infekce (EBV, CMV, Parvovirus B19, varicela aj.), onemocnění pojiva, stavy se zvýšenou konzumpcí trombocytů (hemolyticko-uremický syndrom, trombotická trombocytopenická purpura, syndrom diseminované intravaskulární koagulace, Kassabach-Merrittové syndrom). Méně často jsou u dětí vyvolány působením léků, aplazií kostní dřeně nebo její infiltrací maligními buňkami, vzácně vychytáváním trombocytů při splenomegalii. Výskyt jednotlivých typů získaných trombocytopenií se liší v různých věkových obdobích. U novorozenců se nejčastěji setkáváme s trombocytopenií vznikající v souvislosti s onemocnění matky (pre-eklampsie, hypertenze, systémový lupus erythematoses, imunitní trombocytopenická purpura, vliv léků podávaných matce) nebo při supresi produkce trombocytů v kostní dřeni při infekci. Specifickou jednotkou pro novorozenecký věk je neonatální aloimunitní trombocytopenie při inkompatibilitě v HPA systému. U batolat, předškolních a školním věku je nejčastějším typem trombocytopenie imunitní trombocytopenická purpura (ITP) a trombocytopenie doprovázející infekce. Poznatky v oblasti patofyziologie i léčby ITP se v posledních letech dynamicky mění. Především byla blíže specifikována a prokázána role trombocytárních protilátek, blíže specifikována variabilita role změn subpopulací B a T lymfocytů a odhaleny nové způsoby destrukce trombocytů u ITP jako je desialylace trombocytů. Rozšířilo se spektrum léků 2.líne, bylo lépe specifikováno postavení agonistů trombopoetinu a některých moderních imunosupresiv v léčbě ITP u dětí i dospělých. Vrozené trombocytopenie tvoří heterogenní skupinu onemocnění narůstajícího významu. Jsou poměrně vzácné, řada z nich se však může manifestovat již v časném dětském věku závažnými krváčovými projevy. I v dnešní době jsme občas svědky záměny vrozené trombocytopenie za ITP, což vede ke špatně zvolené, zbytečné a navíc neúčinné léčbě. Rychlý rozvoj genomických metod v posledních letech vedl doslova k explozi nových poznatků jednak o molekulární podstatě a regulaci megakaryopoézy, ale i struktury a funkce trombocytů. V posledních 5 letech bylo popsáno 71 genů, jejichž mutace způsobí trombocytopenii. Byly prokázány mutace genů kódujících strukturální i funkční složky trombocytů, růstové a transkripční faktory.

2.

Moderní metody laboratorní diagnostiky u pacientů s trombocytopenií*Slavík L. (Hemato-onkologická klinika, FN a LF UP, Olomouc)*

Moderní laboratorní metody pro diagnostiku trombocytopenie vychází z klasického stanovení počtu trombocytů, které je na počátku stanovení diagnózy trombocytopenie. Diferenciální diagnostika se zaměřuje na rozlišení snížené tvorby a imunitní formy trombocytopenie. Imunitní trombocytopenie jsou způsobeny výskytem protilátek proti krevním destičkám a urychlením procesu destrukce krevních destiček senzibilizovaných těmito protilátkami. Trombocytopenie ze snížené tvorby jsou charakterizovány sníženou tvorbou krevních destiček v kostní dřeni. Hlavními směry laboratorní diagnostiky příčin trombocytopenie jsou analýza auto- a aloprotilátek a hodnocení tvorby a obratu krevních destiček. Pro diagnostiku protilátek používáme: měření imunoglobulinů proti povrchovým antigenům destiček; stanovení cirkulujících protilátek reagujících s destičkami; stanovení protilátek metodami specifickými pro antigen - jejich reaktivitou s izolovanými antigeny krevních destiček (glykoproteiny). Efektivita tvorby krevních destiček může být stanovena měřením množství „mladých“ (retikulovaných) krevních destiček v krvi. Další metodou pro hodnocení produkce destiček, stejně jako rychlost obratu krevních destiček je měření trombopoetinu nebo plazmaticky rozpustného glykocalicinu, fragmentu glykoproteinu Ib, zbařeného povrchu destiček po jejich destrukci ve slezině a játrech. Imunitní trombocytopenie jsou hodnoceny ve všech případech, kdy procento retikulovaných krevních destiček je významně zvýšeno a množství trombopoetinu nebo plazmatického glykocalicinu je v normálním rozmezí nebo zvýšené. U pacientů s hypoproduktivní trombocytopenií nejsou autoprotilátky detekovány nebo jsou detekovány na nízké úrovni, procento

retikulovaných krevních destiček je v normálním rozmezí nebo je mírně zvýšeno a množství glykocalicinu v plazmě je sníženo. Diagnostika hapténových forem imunitních trombocytopenií (heparinem indukovaná trombocytopenie a další) a aloimunitních trombocytopenií (zejména neonatální aloimunitní trombocytopenie) jsou zvažovány samostatně s ohledem na pravděpodobnost jejich výskytu u daného pacienta.

3.

Imunitní trombocytopenie – nové poznatky, aktuální i budoucí léčebné přístupy*Červinek L. (IHOK, FN, Brno – Bohunice)*

V oblasti imunitní trombocytopenie je pozornost výzkumníků zaměřena na několik oblastí. V kategorii agonistů trombopoetinových receptorů jsou k dispozici dlouhodobá data stran účinnosti a bezpečnosti preparátů u dospělých a nově i u dětských pacientů. Nově byly definovány postupy vysazení TPO agonistů při dosažení setrvalé remise ITP. Byly publikovány klinické studie s podáním dalšího agonisty trombopoetinového receptoru, avatrombopagu v indikaci chronická ITP. Jako nadějně se ukazují postupy modulace funkce makrofágů. V této oblasti se do popředí dostávají inhibitory Fc receptoru a inhibitory splenické (SYK) tyrozinkinázy. Inhibitory Fc receptoru představují zcela novou léčebnou modalitu pro léčbu pacientů s ITP. Pokud podáváme parenterálně IgG1 částici, jež se váže na Fc receptor (FcRn) dochází k inhibici funkce FcRn receptoru a následně výrazné degradaci endogenních protilátek. Tento mechanismus je přirovnáván k „endogenní plasmferéze“. Funkčně rozpoznáváme inhibiční a aktivační Fc receptory, které přenášejí signál cestou tyrozín-kinázového receptoru. Jako hlavní receptory jsou označovány FcRgamma IIa a FcR gamma IIIa, jež jsou zodpovědné za vychytávání opsonizovaných trombocytů. Aktivace FcRgamma IIa. Areceptoru na povrchu makrofágu cestou trombocytu s navázanou protilátkou spouští intracelulární signalizační dráhu zabezpečenou Syk tyrozín-kinázovým receptorem. Další léčebnou skupinou je použití Inhibitoru splenické (SYK) kinázy v léčbě ITP Druhou novinkou v oblasti ITP představují výsledky klinické studie s fostamatinibem. Fostamatinib, orální inhibitor slezinné tyrosin kinázy (SYK), dosáhl primárního léčebného cíle v rámci v randomizované dvojitě zaslepené klinické studii fáze 3 pro dospělé pacienty s chronickou imunitní trombocytopenie. Preparát získal registraci FDA pro léčbu chronické ITP, ale zatím není komerčně dostupný v rámci České republiky. Shrnutí: Na rozdíl od jiných terapií, které modulují imunitní systém (imunosupresiva, rituximab, kortikoidy) nebo stimulují tvorbu trombocytů (TPO agonisté), působí inhibitory FcRn receptoru přes inhibiční funkce makrofágů a nabízí další racionální možnost léčby pacientů s ITP.

4.

Nové možnosti v terapii TTP*Hlušá A., Palová M., Procházková J., Slavík L. (Hemato-onkologická klinika, FN a LF UP, Olomouc)*

Úvod: prognóza pacientů s TTP se po zavedení výměnné plazmaferézy (PEX) do léčby dramaticky zlepšila, přesto se stále riziko mortality při každé další epizodě pohybuje kolem 10%. Moderní léčebné strategie založené na přibývajících poznatcích v patogenezi onemocnění dále zlepšují osud pacientů, zvláště u získané formy onemocnění. Vyžívají se imunosupresivní přístupy a látky používané u jiných onemocnění, do praxe přicházejí i zcela nové léčebné modality. Rituximab: monoklonální protilátka anti-CD20 působí depleci cirkulujících B-lymfocytů a supresi produkce anti-ADAMTS13 protilátek. Rituximab je u TTP používán v rámci tří klinických situací. Nejčastější indikací je primárně refrakterní nebo relabující TTP po standardní PEX (10-15% případů). Optimální dávkování není dosud stanoveno. Nejčastěji se užívá dávka 375 mg/m² 1-2x/t, 4-8 cyklů. Zkušenosti jsou i s nižšími dávkováním. Kompletní remise je dosahováno u 80-100% případů. Druhou indikací je použití rituximabu v iniciální léčbě první epizody TTP, kdy jeho zařazení v první linii spolu se standardní terapií naznačuje významné snížení rizika relapsu nebo jeho oddálení. Evidence není ale dosud dostatečně silná. Třetí situací, kde podání rituximabu může být přínosné, je preventivní použití při laboratorním poklesu aktivity ADAMTS13 a nárůstu inhibitoru. Anti-CD20 terapie zde má potenciál zabránit klinickému relapsu choroby. Doporučení pro preemivní použití rituximabu nejsou dosud jednoznačná. Bortezomib: proteazomový inhibitor vyvinutý pro léčbu mnohočetného myelomu prokázal účinnost i u refrakterní TTP. Dostupná data od vysoce předléčených nemocných nejsou ale zatím spolehlivě interpretovatelná. Kaplacizumab: bivalentní humanizovaná „nanolátka“, která se váže na A1 doménu vWF, inhibuje

interakci mezi vWF a destičkovými receptory; vede tak inhibici agregace trombocytů a potlačení mikrovasculární trombózy. Výsledky randomizovaných studií (TITAN, HERKULES) prokázaly kratší čas do normalizace trombocytů a nižší výskyt exacerbace TTP při použití kaplacizumabu v kombinaci s PEX a imunosupresí ve srovnání se skupinou léčenou stejnou kombinací a placebem. Byl též zaznamenán pokles závažných trombotických příhod TTP. Kaplacizumab má protektivní efekt zvláště v akutní fázi onemocnění, nicméně nevede k modifikaci imunitního patofyziologického mechanismu získané TTP a musí být podáván spolu s imunosupresivní terapií. Jde o první lék, který byl registrován pro diagnózu TTP. N-acetylcystein (NAC): látka používaná jako mukolytikum působí in vitro modifikaci ultravelkých multimerů vWF; vede k jejich zmenšení a poklesu schopnosti vWF aglutinovat trombocyty. Tento efekt vedl k použití látky v klinické praxi. Kazuistické zkušenosti popisují dobrou odpověď po přidání NAC u onemocnění, která dříve nereagovala na standardní léčbu PEX a kortikoidy. Širší zkušenosti z prospektivních hodnocení jsou očekávány v budoucnu. Vzhledem k mechanismu účinku bude nutná obezřetnost u pacientů s aktivním krvácením. Rekombinantní ADAMTS13: nahrazení deficitu ADAMTS13 u TTP rekombinantním přípravkem je zkoumáno jak u vrozené TTP, tak u získané formy. Výsledky z časných fází hodnocení naznačují možnou využitelnost rADAMTS13 u obou forem. U formy získané se zkouší též varianty s alterovanou antigenní strukturou i potencovanou enzymatickou aktivitou. Závěr: Nové terapeutické možnosti mohou vést k dalšímu zlepšení léčebných výsledků u pacientů s TTP, ať již k rychlejšímu dosažení odpovědi, snížení rizika přidružených komplikací či k dosažení remise onemocnění u refrakterních/ relabujících forem. Multifaktoriální přístup zahrnující náhradu deficitního enzymu, imunosupresivní postupy vedoucí k redukci tvorby inhibitoru a potlačení aglutinace trombocytů se jeví jako dosud nejefektivnější léčebná strategie.

POSTGRADUÁLNÍ SEKCE 1

5. Sekvenování nové generace (NGS) a perspektivy jejího využití v diagnostice a prognózování hematologických malignit

Kriegová E., Papajík T. (Ústav imunologie, FN, Olomouc; Hemato-onkologická klinika, FN a LF UP, Olomouc)

Genetická vyšetření se stala v posledních desetiletích nedílnou součástí diagnostických schémat v hematologii. Kromě standardních cytogenetických vyšetření, FISH (Fluorescence In Situ Hybridizace), arrayCGH (Comparativní Genomická Hybridizace) a sekvenování dle Sanger, se stále častěji využívá sekvenování nové generace (NGS). Velkou výhodou NGS je její vysoká citlivost, díky níž je možno detekovat i malé subklony (< 10 %) nesoucí genetickou změnu, a možnost současné detekce změn v desítkách až stovkách genů, ale i celém genomu nebo exomu. Oblasti zájmu v hematologii jsou především genetické aberace ovlivňující i) prognózu (prognostické), ii) volbu léčby (prediktivní) a iii) vedoucí k rezistenci na danou léčbu. Budou prezentovány příklady klinicky relevantních mutací a jejich dopad na průběh onemocnění. I přes nesporné výhody má NGS své limity, proto se testují nové metody např. optické mapování, které jsou schopny detekovat změny typu velkých delecí/inzercí, inverzí, změn počtu kopií genů (CNV) a translokací, které jsou těžko detekovatelné pomocí NGS. Očekává se, že spektrum klinicky relevantních genetických změn u hematologických malignit se bude stále rozšiřovat a mnohé z nich se stanou součástí nových diagnostických schémat v éře medicíny přesnosti. Grant: MZ ČR VES16-32339A

6. Diagnostika a cílená léčba u mnohočetného myelomu

Radocha J. (IV. interní hematologická klinika, FN, Hradec Králové)

Mnohočetný myelom se může na poli hematologických malignit pyšnit několika nej. Z hlediska diagnostiky jde o chorobu s nejstarším známým biomarkerem, který medicína zná. Od dob objevu paraproteinu se stala diagnostika myelomu poměrně snadnou a na tomto poli dochází v rámci této diagnózy k posunům jen zřídka. To druhé nej, z dnešního pohledu jistě zásadnější, je jistě největší množství nových léků, které byly pro léčbu myelomu vyvinuty. Ačkoli dramatický vývoj na poli nových léků přinesl zásadní zlepšení prognózy nemocných, na skutečně cílenou terapii myelom

teprve čeká. Zásadním důvodem, proč je obtížné vyvinout lék cílený pouze na myelomovou buňku, je značná genetická variabilita onemocnění. Prognózu je možné počítat od několika málo měsíců až po několik desetiletí. Přítomnost více subklonů již v úvodu onemocnění byla prokázána Keatsem v roce 2012. Tyto klony se mohou v průběhu onemocnění prosazovat různou měrou, což přispívá k nepredikovatelnému biologickému chování. Genetika MM do značné míry určuje jeho biologické chování. Chromozom 14 a změny v oblasti IgH genů jsou pro rozvoj MM zásadní. Zhruba 3 hlavní skupiny genů kódujících cyklin D, MAF geny a geny MMSET/FGFR3 se nejčastěji účastní na regulaci buněčného cyklu a genezi nádorového bujení MM. Translokace kódující cyklin obvykle samy o sobě spouští dysregulaci v expresi cyklinu a tím deregulují kontrolu buněčného cyklu, MAF geny deregulují transkripční faktory kontrolující CCND2 (cyklin D2) a expresi celé řady dalších faktorů, např. adhezivních molekul plazmatických buněk k mikroprostředí kostní dřeně. Úloha aktivace MMSET genů zůstává zatím kontroverzní. Jednou z dobře prozkoumaných podskupin těchto genů je translokace t(4;14), která aktivuje FGFR3 a tím spouští onkogenní kaskádu. Změny na chromozomu 14 jsou také obvykle zásadní pro prognózu onemocnění. Ani inhibitory proteasomu, ani imunomodulační léky, nejsou cílenou terapií, neboť jejich účinky jsou mnohotné. Z modernějších preparátů nejvíce naplňují parametry cílené terapie monoklonální protilátky. První takovou látkou byl elotuzumab, protilátka cílená na epitop SLAMF7, jehož klinický účinek je však v monoterapii prakticky nulový a projevuje se až v kombinacích. Převratnou molekulou je pak první antiCD38 protilátka daratumumab. Tento lék dramaticky zlepšuje dobu do progresu onemocnění a přežití nemocných a jednou z nejslibnějších molekul. Moderní cílená terapie založená na inhibici BCL-2 je nyní intenzivně zkoumána na poli myelomu s translokací t(11;14). Venetoclax a jemu podobné molekuly vykazují velice slibné výsledky v léčbě. Ačkoli myelom si na svou skutečně cílenou terapii jistě ještě dlouho počká, posun v metodice léčby je díky novým molekulám patrný již nyní.

7. Difúzní B-velkobuněčný lymfom: léčba relabovaných a refrakterních nemocných

Trněný M. (1. interní klinika – klinika hematologie, VFN, Praha)

abstrakt nedodán

WIEDERMANNHOVA PŘEDNÁŠKA

8. Leukémie u dětí v genomické éře

Starý J. (Klinika dětské hematologie a onkologie, 2. LF UK a FN Motol, Praha)

abstrakt nedodán

POSTGRADUÁLNÍ SEKCE 2

9. Long-term experience with precision medicine in the treatment of CML

Hehlmann R. (III. Medizinische Klinik, Medizinische Fakultät Mannheim, Universität Heidelberg, Mannheim – Germany)

abstrakt nedodán

10. AML v éře molekulární biologie: od prognózy k cílené terapii

Ráčil Z. (Interní hematologická a onkologická klinika, LF MU a FN, Brno – Bohunice)

Rozvoj pokročilých molekulárně biologických technik, zejména masivního paralelního sekvenování (sekvenování nové generace - NGS), umožnilo identifikovat celou řadu molekulárních abnormalit u nemocných s akutní myeloidní leukémií (AML), které zcela změnili náš pohled na genetickou

pestrout této choroby. Tyto techniky umožnili: 1. preciznější charakterizaci širšího spektra nemocných s AML; 2. predikci prognózy, zejména pak ve skupině AML s normálním karyotypem; 3. Sledovat vývoj leukemického klonu, včetně preleukemických změn; 4. Sledovat minimální zbytkovou chorobu. Všechny tyto poznatky pak začínají sloužit k více individualizovanému přístupu při léčbě tak heterogenní choroby jakou představuje AML.

11. Chronická lymfocytární leukémie: 33 let cesty k přesné diagnostice a cílené léčbě
Papajík T. (Hemato-onkologická klinika, FN a LF UP, Olomouc)

Chronická lymfocytární leukémie (CLL) představuje nejfrekventovanější z leukémií, se kterou se hematolog ve své praxi setkává. Na onemocnění, historicky obecně považované za indolentní, bylo v minulosti nezdědko pohlíženo jako na biologicky a klinicky nepříliš zajímavou jednotku. Před 33 lety jsme měli jen kusé informace o biologickém původu nádorových buněk, jejich molekulárních a genetických změnách, stejně tak jako o povrchových antigenech, které by patologický lymfocyt spolehlivě odlišovaly od ostatních lymfoproliferativních nádorových chorob. Také limitované možnosti veskrze paliativní léčby, která dokázala jen minimálně ovlivnit průběh onemocnění v pokročilých stádiích a v terminálních fázích aktivního onemocnění, vedly lékaře k defenzivnímu přístupu k pacientům a roli spíše mlčenlivého pozorovatele vývoje choroby. Teprve obrovský nárůst poznatků o buněčné povaze (odvození původu nádorového lymfocyty, popis antigenů na jeho povrchu), patofyziologii (mutační stav genů pro těžké řetězce imunoglobulinů, role apoptózy a nádorového mikroprostředí) a genetických změnách (zhodnocení prognostické role genetických změn detekovaných pomocí nových technik) spolu s inovativními možnostmi terapie purinovými analogy a monoklonálními protilátkami na přelomu století (fludarabin, rituximab) vedly k výraznému nárůstu zájmu o tuto chorobnou jednotku jak v oblasti základního a preklinického výzkumu, tak i na poli klinické hemato-onkologie. Tento dynamický vývoj dále akceleroval v posledních desítkách let, kdy díky moderním metodám výzkumu byla detailněji pochopena patogeneze onemocnění a biologické děje v leukemických buňkách a jejich interakce s mikroprostředím krvetvorné a lymfatické tkáně (signalizace z B-buněčného receptoru, význam dráhy NF- κ B, role migrace a adheze buněk, význam pro- a anti-apoptotických proteinů). Dosažené poznatky pak vedly k expanzi ve vývoji nových cílených léků (ibrutinib, idelalisib, venetoklax), které se dnes spolu s monoklonálními protilátkami (rituximab, obinutuzumab) stávají páteří cílené a biologické léčby CLL a zásadním způsobem budou měnit její terapeutické algoritmy v budoucích několika příštích letech. Personalizovaný přístup k diagnostice, zhodnocení individuální prognózy a biologické kondice nemocného spolu s výběrem nejvhodnějšího léčebného postupu povedou k zásadnímu prodloužení přežití a u řady podtypů CLL i k vyléčení nemocného. Podpořeno grantem MZ ČR VES16-32339A

ADVANCES IN MOLECULAR HEMATOLOGY I

12. The surprising role of microRNAs in the DNA damage and B cell receptor signalling in malignant B cells

Cerna K., Musilova K., Pavlasova G., Seda V., Oppelt J., Filip D., Sandova V., Vojackova E., Sonali S., Zeni P., Mayer J., Mraz M. (CEITEC MU a IHOK, FN, Brno – Bohunice)

Presenting author B Cell Receptor (BCR) signalling is fundamental for the maturation, survival, and proliferation of B cells, and B cell malignancies frequently harbor mutations in this pathway and/or complex deregulation of interconnected signalling. This is underscored by the remarkable clinical effect of inhibitors targeting BCR-associated kinases, especially in chronic lymphocytic leukemia (CLL); however, in CLL the BCR pathway deregulation is not driven by a mutational mechanism. The differences in BCR signalling propensity contribute to variable prognosis in CLL and other "mature" B cell malignancies. Interestingly, it is plausible that a normal (or malignant) B cell has to concurrently resolve a situation where its DNA is damaged, leading to p53 stabilization, while a strong pro-proliferative/pro-survival signal is "coming" from its BCR at the same time,

due to antigen binding. This should be precisely regulated since a B cell possesses the physiological potential for clonal proliferation, and any unrepaired genetic aberration would greatly increase the risk of a malignancy. Indeed, we have observed that when CLL B cells experience DNA damage, their responsiveness to BCR signalling becomes limited, and a similar phenotype can be observed upon forced p53 stabilization by a small molecule Nutlin-3a. We have further described that p53 accumulation induces the microRNA miR-34a, which acts as a very potent repressor of a transcription factor FOXP1. FOXP1 is a known positive BCR signalling regulator. We have shown that in mature B cells, FOXP1 acts as a transcriptional repressor of a cell-membrane molecule CD22, which contains immunoreceptor tyrosine inhibitory motifs and serves as a docking site for phosphatases. The down-modulation of FOXP1 during DNA damage response (DDR) leads to CD22 upregulation, and we suggest that this allows phosphatases such as SHIP1/SHP1 to dock more efficiently to the cell membrane and BCR-signalosome, and thus limit BCR signalling relatively "upstream". We have also shown that clinically used DNA damaging drugs such as fludarabine (or doxorubicin) partially function by inhibiting BCR signalling. The p53 aberrations affect this regulatory mechanism, and the low miR-34a levels can serve as an independent predictor of the patient response to chemo-immunotherapy in CLL. The miR-34a levels are low in B cells without DDR induction, and thus this miRNA probably only contributes to FOXP1/CD22 regulation when wild-type p53 is accumulated in the cell. Altogether, this shows for the first time that DDR leads to repression of signalling from the surface BCR via a miR-34a-mediated FOXP1 down-modulation. Funding: This work was supported by the Ministry of Health of the Czech Republic, grant no. NV18-03-00054 and no.16-29622A. All rights reserved. Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic under the project CEITEC 2020 (LQ1601); MH CZ - DRO (FNBr, 65269705), MUNI/H/0865/2016, MUNI/A/1105/2018. Contact: marek.mraz@email.cz; ceitec.cz/mrazlab

13. Complex structural variants and formation of de novo fusion genes in chronic lymphocytic leukemia

Plevova K., Rausch T., Hynst J., Jarosova M., Zavacka K., Ondrouskova E., Radova L., Pavlova S., Malcikova J., Panovska A., Brychtova Y., Doubek M., Benes V., Pospisilova S. (Dept of Internal Medicine – Hematology and Oncology, University Hospital & MU, Brno – CZE; Center of Molecular Medicine, CEITEC, MU, Brno – CZE; Genomics Core Facility, European Molecular Biology Laboratory, Heidelberg – Germany)

Complex structural variants (cSVs) represented by chromothripsis have recently been identified in various tumor types, including chronic lymphocytic leukemia (CLL). They lead to extensive chromosomal rearrangements due to chromosome shattering and consequent random re-joining of scattered fragments. Substantial parts of DNA are typically lost, and other chromosomal parts potentially containing oncogenes are amplified. Importantly, albeit not common in CLL, de novo fusion gene variants with novel functions can be formed. Overall, it is associated with unfavorable prognosis, which can be in part attributed to the frequent co-occurrence with TP53 gene defects. In our study we aimed to perform a detailed analysis of cSVs in CLL and to identify putative de novo fusion genes and their possible functions. Using SNP arrays, we screened for cSVs among 93 CLL cases with various types of TP53 gene abnormalities and identified a subset of 20 patients bearing chromothripsis. In parallel, conventional cytogenetics, mFISH, iFISH and chromosome painting methods were used to supplement the array findings. We predominantly observed clustered deletions but in a third of cases, deletions and also amplifications were present in localized regions. Several chromosomes were affected recurrently with the most frequent being chr6 and chr13. The number of breakpoints ranged from 30 to 154 per case (median 54); a third of breakpoints was located in coding genes. In selected cases we performed whole genome sequencing and studied character of genomic breakpoints in detail, taking into account origins of replication, transposon localization and other factors potentially affecting DNA fragility. We identified recurrent genomic loci containing breakpoints and also genes mutated recurrently. Furthermore, we carried out transcriptome analysis of 10 cSV samples, which revealed gene expression profiles associated with certain genomic changes. In-house bioinformatic pipeline was applied to detect putative de novo fusion genes. Although a high number of genomic breakpoints was found in the tested cases, they mostly

did not lead to formation of expressed fusion genes. For a set of 10 PCR validated fusion transcripts we studied whether they could be translated in proteins and found out that only 4 of them encoded abnormal proteins containing domains with predicted functions. In conclusion, using our comprehensive approach we showed that chromothripsis mostly leads to inactivation of genes present in genomic breakpoints. De novo fusion transcripts supposedly encoding abnormal proteins are expressed only to a limited extent. Supported by MZCR-RVO 65269705, CEITEC2020 LQ1601, MUNI/A/1105/2018, MZCR-AZV 15-31834A, GACR 19-11299S, and Bone marrow transplant foundation.

14.

A journey into the epigenetic landscape of chronic lymphocytic leukaemia

Kulis M. (Biomedical Epigenomics Group, UB/IDIBAPS, Barcelona – Spain)

Beyond changes in the DNA sequence, lymphoid tumors are associated with widespread alterations in their epigenetic makeup. Understanding the epigenome and its multiple marks, including DNA methylation, histone modifications, chromatin accessibility and the 3D genome structure within the nucleus, is allowing us to obtain new insights into the cellular origin, pathogenetic mechanisms and clinical behavior of lymphoid neoplasms. For that reason, in the previous years, we focused our efforts on deciphering the epigenome of chronic lymphocytic leukaemia (CLL), one of the most frequent B-cell neoplasm in the western world. In particular, we identified that epigenetic imprints of normal B-cell differentiation are useful to determine the cellular origin and overall clinical behavior of CLL, stratifying the patients into three subtypes, with distinct clinico-biological features. Beyond alterations in promoter elements, it seems that enhancers of key cancer-related genes are epigenetically deregulated in neoplastic B cells. The majority of these epigenetically activated regulatory regions in CLL was either already primed in normal B cells or originate from inactive regions in the normal counterparts, upon neoplastic transformation. It seems that these alterations in CLL are mediated by the aberrant activity of specific families of transcription factors, such as NFAT, FOX or TCF/LEF. Importantly, several of these TFs were already known for their therapeutic potential in CLL or particular role in B cell biology, hence confirming their potential driver role in CLL pathogenesis. Furthermore, many of the epigenetic changes associated with activation of regulatory regions are accumulated in poor prognosis patients, suggesting a direct relationship between epigenetic remodeling and clinical outcome. Finally, current efforts of our lab are being focused on the characterization of the 3D genome structure of CLL as compared to normal B cells, which is allowing us to identify a complex network of physical interactions between regulatory regions. During this presentation, the speaker will summarize both published and unpublished data in the field of CLL epigenetics.

15.

Evaluation of global distribution of SNPs modulating the development of malignant blood disorders and response to chemotherapy

Arakelyan A., Hakobyan Y., Nikoghosyan M., Loeffler-Wirth H., Binder H. (Institute of Molecular Biology NAS RA, Yerevan – Armenia; Hematology Center after Prof. R. Yeolyan MH RA, Yerevan – Armenia; Interdisciplinary Centre for Bioinformatics, Leipzig University, Leipzig – Germany)

During the last decades, a number of genome-wide association studies (GWAS) have identified numerous single nucleotide polymorphisms (SNPs) associated with the development of malignant blood disorders and response to chemotherapy. However, associations reported in one population are often conflicting and did not replicate when studied in other populations. We have investigated the global distribution of so far discovered disease- or treatment-associated SNPs across worldwide distributed populations of different ancestry and geographical regions with a special focus on the understudied population of Armenians. We have used genotyping data from the Human Genome Diversity Project and of Armenian population and combined them with the disease- or chemotherapy-associated SNP data taken from public repositories (GWASdb, GWAS catalog, ClinVar and PharmGKB). Their frequency distribution across 1039 individuals from 53 populations was analyzed. We found that populations from Africa, Oceania, and America show specific patterns of minor allele frequencies of disease- or chemotherapy-associated SNPs, while populations from

Europe, Middle East, Central South Asia, and Armenia mostly share similar patterns. However, Armenians were characterized by a set of SNPs that are distinct from other populations from the neighboring geographical regions. Our results demonstrated that genetic associations associated with the development of blood malignancies as well as treatment response considerably vary across populations which stress the importance of population-level genotyping initiatives in so far understudied population.

KONFERENCE OŠETŘOVATELSTVÍ 1

16.

Speciální vyšetřovací metody v hematologii a jejich aplikace v klinické praxi

Hanáčková V., Procházková V., Urbánková H., Papajík T., Slávik L., Juráňová J. (Hemato-onkologická klinika, FN a LF UP, Olomouc)

Hematologie a její onkologická část je úzce specializovaným oborem, který je specifický především snoubením klinické medicíny a laboratorní analýzy v jeden celek. Tento obor v posledních deseti letech prožlétl významný vývoj a nadále se prudce rozvíjí. Nové poznatky o patogenezi hematologických onemocnění, zasahující až na molekulární úroveň, přinesly velké množství nových léčebných možností. Právě molekulární aspekty hematologických chorob se v současnosti dostávají do popředí a jsou významné nejen pro výzkum, ale také pro aplikaci v klinické medicíně. Například využití léčebných možností monoklonálních protilátek (rituximab) či inhibitorů tyrosinkinázy (imatinib) je založeno na verifikaci cílové struktury, event. její patologie a pro tyto účely bylo nutné zavést metody cytogenetické, flowcytometrické i molekulárně biologické do každodenní klinické praxe. Využití již dlouho zavedených, nových i experimentálních metod má také praktické aspekty. Každá laboratorní metoda vyžaduje specifické podmínky při odběru, často je nutno použít individuální odběrové sady a dodržet pravidla pro transport do laboratoře tak, aby nedošlo k potenciálnímu znehodnocení vzorku (např. vzorek mozkomíšního moku). Vzhledem k náročnosti některých odběrů a nárokům kladeným na pacienta často nelze odběr opakovat a zachování vitality vzorku je zásadní. Nedílnou součástí celého procesu diagnostiky je tedy komplexní spolupráce lékaře, nelékařského zdravotnického personálu, laboratoří a zajištění transportu za dodržení určených podmínek. Edukační přednáška bude věnována přehledu laboratorních i zobrazovacích metod používaných v každodenní klinické praxi v hematologii, specificky poté i metodám, které jsou předmětem výzkumu na Hemato-onkologické klinice Fakultní nemocnice Olomouc. S podporou IGA_LF_2019_001 a SUG 87-25.

17.

Problematika biosimilárních léčivých přípravků

Strojil J. (Ústav farmakologie, LF UP, Olomouc)

Sdělení přinese přehled aktuální problematiky zavádění biosimilárních přípravků a převodu pacientů z originálních na biosimilární přípravky. Zdůrazní rozdíl mezi biosimilárními přípravky a generiky, nastíní základní rozdíly v regulaci a vývoji těchto přípravků. Stručně vysvětlí základní principy klinického hodnocení, extrapolaci indikací, opět v kontrastu s generickými přípravky. Hlavní část přednášky se bude týkat problematiky převodu pacienta z originálního na biosimilární přípravek či přechodu mezi dvěma biosimilárními přípravky z pohledu zdravotní sestry. Zmíni problematiku bezpečnosti, farmakovigilance, compliance a nákladů.

18.

Nové léčivé přípravky v klinickém zkoušení – pohled koordinátora

Kajaba V., Sedláčková R., Hanáková M. (Hemato-onkologická klinika, FN a LF UP, Olomouc; Oddělení vědy a výzkumu, FN, Olomouc; MOÚ, Brno)

abstrakt nedodán

Blinatumomab – naše první zkušenosti, kazuistiky

Látalová J., Petulová K., Labudíková M., Papajík T., Szotkowski T. (Hemato-onkologická klinika, FN a LF UP, Olomouc)

Blinatumomab je specificky upravená protilátka, určená pro léčbu relabované nebo refrakterní B - prekurzorové ALL s negativním Philadelphia chromozomem (Ph-), po podání nejméně dvou předchozích cyklů terapie nebo po předchozí alogenní transplantaci hematopoetických kmenových buněk. Je indikovaná jako monoterapie u dospělých i pediatrických pacientů. Protilátka rozpoznává 2 bílkoviny CD 19 a CD 3 a váže se na ně. Spojí T a B buňky a spustí cytotoxickou imunitní reakci a zničí CD 19 pozitivní buňky. BLINCYTO je léčebný prostředek ve formě prášku, který se ředí do 240 ml FR. Přípravu roztoku zajišťuje Lékárna FNOL. Aplikuje se kontinuální intravenózní infuzí konstantní rychlostí po dobu až 96 hod pomocí speciální infuzní pumpy do zvoleného lumen CŽK přes infuzní set, obsahující nepyrogné in-line filtr 0,2 um. Infuzní linky vedoucí k pacientovi se kvůli neúmyslnému podání bonusu nesmí proplachovat. Délka aplikace terapie je 28 dní, následuje dvoutýdenní pauza. Při dosažení celkové remise (CR) se pokračuje podáním 2. cyklu a alogenní transplantaci kostní dřeně. Aplikace je spojena s řadou nežádoucích účinků. Proto se doporučuje hodinu před zahájením každého cyklu aplikace dexamethasonu i.v., ke snížení pyrexie v prvních 48 hodinách každého cyklu je doporučeno podání antipyretika. Mezi nejčastější nežádoucí účinky řadíme: pyrexie /69,2%/, reakce související s infúzí /43,4%/, infekce /42,1%/, bolest hlavy /32,9%/ a další. Může dojít i k závažným reakcím neurologickým (epileptické záchvaty, poruchy řeči, vědomí, zmatenost). Další závažná reakce je cytokinový syndrom, syndrom nádorového rozpadu, febrilní neutropenie. Pacienti nesmí řídit a ovládat stroje. Prezentace podrobně představí skupinu pacientek, u kterých jsme blinatumomab aplikovali na HOK FNOL. První kazuistika je u mladé pacientky s nepřilíš příznivou diagnózou ALL. U pacientky zahájena konsolidační chemoterapie a plánována alogenní transplantace. Z důvodu relapsu po konsolidaci se nabídla možnost první zkušenosti v podání Blincyta na našem oddělení. Blincyto se u pacientky podávalo celý cyklus. Podávání bylo provázeno nežádoucími účinky ovšem ne závažnými. Pro časnou progresi nebyl již další cyklus Blincyta indikován. Další zkušenosti s podáním tohoto přípravku bude zmíněno v další kazuistice u pacientky s difúzním velkobuněčným lymfomem.

Inovativní léčba mnohočetného myelomu

Krhovská P. (Hemato-onkologická klinika, FN a LF UP, Olomouc)

Léčba mnohočetného myelomu (MM) prošla v posledních letech výraznými změnami. Zatímco před zavedením alkylační léčby byl v 60. letech medián přežití 1 rok, při použití nejnovějších léků s následnou autologní transplantací krvinek (ASCT) přežívá 5 let více než 70% pacientů. Jejím cílem je jak dosažení molekulární remise, tak udržení a prodloužení doby jejího trvání. I nadále je mnohočetný myelom považován za nevyléčitelné onemocnění. Se zavedením vysokodávkové terapie s podporou autologní transplantace periferních kmenových buněk (HDT-ASCT) a také nových léků s „biologickým mechanismem účinku“ se nicméně významně zlepšila prognóza. Všeobecně můžeme léčbu rozdělit do několika skupin. Jako první je terapie nově diagnostikovaného mnohočetného myelomu, kdy pacienti následují dvě cesty. Buď jsou indikováni k indukci s následnou ASCT či podstoupí vstupní léčbu bez autologní transplantace. U druhé skupiny se vžil název léčba dlouhodobá. K tomuto léčebnému režimu ještě náleží léčba udržovací a podpůrná. Náplní tohoto sdělení je stručný přehled nových léků s inovativním mechanismem účinku s důrazem na jejich praktické využití a zařazení do léčebného algoritmu. Za podpory grantu IGA_LF_2019_001

ADVANCES IN MOLECULAR HEMATOLOGY II**Structural variation revealed by whole genome optical mapping in multiple myeloma**

Fillerová R., Petráčková A., Minařík J., Míkulková Z., Balcárková J., Krhovská P., Píka T., Gajdoš P., Běhálek M., Bačovský J., Papajík T., Kriegová E. (Ústav imunologie, FN, Olomouc; Hemato-onkologická klinika, FN a LF UP, Olomouc; Katedra informatiky, Fakulta elektrotechniky a informatiky, VŠB-TUO, Ostrava)

Background Genetic heterogeneity in multiple myeloma (MM) affects not only the disease development but also therapeutic response and prognosis. Nowadays, karyotype and FISH have been standard diagnostic tools for detection of genetic aberrations in MM, however comprehensive analysis of genome architecture, particularly structural variations (SVs), still remain a challenge. Aims To study the genomic architecture of MM cells using a novel nanochannel technology based on optical mapping of high molecular weight DNA (Saphyr BioNano Genomics) in order to refine genomic variability in human MM. Patients and Methods We analysed five samples of bone marrow aspirates from patients with newly diagnosed MM. High-molecular weight DNA was isolated from sorted MM cells, labelled by DLS chemistry and visualised by Saphyr optical system. After filtering of structural variants against database of healthy controls, only rare de novo variants were analysed. Karyotype, FISH, and arrayCGH results were available for the enrolled patients and were compared to the results of optical mapping. Results For all MM samples, the optical genome maps (480 Gbp) were assembled with an average effective coverage of 124X and aligned to a human reference genome (GRCh38). In our cohort, numerous copy number variations and large somatic SVs, including deletions, insertions, inversions, duplications and translocations, were identified with majority of SVs being deletions (~60%). All genetic variants detected by arrayCGH were confirmed by mapping. Additional SVs, not detected by FISH/arrayCGH, were found in all patients. Regarding novel translocations, majority were intra-chromosomal (64%) within chromosomes 3, 4, 6, 14, 16, 17, and 18. Newly found inter-chromosomal translocations (36%) involved unusual chromosomes in MM: t(2;8), t(3;6), t(3;12), t(6;8), t(6;17), t(8;9), and t(8;22). All samples carried novel SVs on chromosome 17, including two intra- and one inter-chromosomal translocations, insertions in four and deletions in two patients. Although no IGH locus rearrangements were detected by standard methods, monosomy on chromosome 14 within IGH locus was observed in four samples by mapping. The analyses of associations of SVs and affected genes with clinical characteristics are ongoing. Conclusion A large spectrum of novel genomic rearrangements was detected in MM using next-generation mapping technology, showing a high potential of optical maps for refinement of genomic variability in human MM. Support: research grant Celgene, MZ ČR VES16-32339A, NV18-03-00500, MZ ČR – RVO (FNOI, 00098892)

BH3 mimetics, a promising targeted therapy to reprogramming cell death in multiple myeloma

Gomez-Bougie P., Maiga S., Tessoulin B., Bourcier J., Bonnet A., Le Gouill S., Touzeau C., Moreau P., Pellat-Deceunynck C., Amiot M. (CRCINA, INSERM, CNRS, Université d'Angers, Université de Nantes & Service d'Hématologie Clinique, Unité d'Investigation Clinique, Nantes – France; CRCINA, INSERM, CNRS, Université d'Angers, Université de Nantes, Nantes – France)

Impairment of the apoptotic pathway by the aberrant expression of the pro-survival members (BCL2, BCLXL and MCL1) of the BCL2 family is a feature of cancer cells. We have demonstrated that Multiple Myeloma (MM) cells express high levels of these pro-survival members. Particularly, the different MM subgroups are heterogeneous for the expression of these pro-survival molecules and the combined profile of BCL2, MCL1 and BCLXL discriminates the different MM molecular groups. Medicinal chemistry led to the development of small-molecule drugs that target these BCL2 pro-survival proteins to kill cancer cells. These novel therapeutics, called BH3 mimetics, are promising drugs particularly for hematologic malignancies; they trigger cell death by promoting the release of pro-apoptotic BCL2 family members from the pro-survival relatives. Yet, 30 years on, only six BH3-mimetic drugs have reached the clinic with only the BCL-2 inhibitor, Venetoclax/ABT-199, currently approved. Based on our pre-clinical studies, Venetoclax clinical trials have been set up in MM. They demonstrated that

t(11;14) myelomas are most responsive to venetoclax and this seems associated with a signature of high BCL2 and low BCLXL mRNA expression. The recent availability of BH3 mimetics targeting MCL-1 now entering clinical trials rises an urgent need to establish the pre-clinical response to patient-derived MM cells to these novel agents in order to better define their therapeutic use. To this aim, we used a BH3 mimetic toolkit to study the dependency on BCL2, BCLXL or MCL1 in plasma cells from 60 MM patients. BCL2 dependency was mostly found in the CCND1 subgroup of patients (83%) in the whole cohort. Of note, MCL1 dependence significantly increased from 33% at diagnosis to 69% at relapse, suggesting a plasticity of the cellular dependency favoring MCL1 dependencies at relapse. In addition, 35% of overall patient samples showed co-dependencies on either BCL2/MCL1 or BCLXL/MCL1. Finally, we identified a group of patients not targeted by any of the BH3 mimetics, predominantly in the group of patients at diagnosis. In conclusion, our study opens the way to rationally use venetoclax and/or MCL1 BH3 mimetics for clinical evaluation in MM both at diagnosis and relapse.

23.

New “old” drugs for the proteasome inhibitor resistant multiple myeloma

Besse A., Besse L., Stolze S. C., Kraus M., Sobh A., Vulpe C., Overkleeft H. S., Driessen C. (Lab of Experimental Oncology, Dept of Oncology and Haematology, Cantonal Hospital St. Gallen, St. Gallen – Switzerland; Gorlaeus Laboratories, Leiden Institute of Chemistry and Netherlands Proteomics Centre, Leiden – The Netherlands; Department of Physiological Sciences, University of Florida, Gainesville, FL – USA)

The majority of multiple myeloma (MM) patients initially respond to proteasome inhibitor (PI)-based therapy, later develop PI resistance and ultimately dies from PI-refractory MM. The mechanism of this decreased in sensitivity to PI is currently poorly understood. Using proteomics and metabolomics screens we identified specific vulnerabilities of these PI-resistant cells and functional confirmed their relevance in the overcoming of PI-resistance. Sensitivity of MM cells to PI correlates with the status of unfolded protein response (UPR) and its major axis IRE1/XBP1 and likewise PI-refractory MM cells downregulate IRE1/XBP1. The anti-HIV drug nelfinavir induces IRE1/XBP1 and overcomes PI-resistance in vitro. Moreover, nelfinavir showed clinical activity in PI-refractory MM with overall response rate of 65%. The molecular target of nelfinavir and mechanism of action in MM cells are unknown. We have performed pull-down analysis to identify nelfinavir-interacting proteins in AMO-1 MM model and identified two sets of proteins that were endoplasmic reticulum (ER) resident, involved in protein quality control, and mitochondria resident, building mitochondria transition pore (mPTP). The previously shown formation of reactive oxygen species (ROS), inhibition of ABCB1 and inhibition of pAKT known for nelfinavir can be functionally linked to mPTP modulation. Using RUSH (retention using selective hooks) system we functionally validated that nelfinavir affects protein transport from the ER to Golgi apparatus. Next, using specific ratiometric probes we validated that nelfinavir affects mitochondria ATP production. To identify genes related to nelfinavir sensitivity/resistance we performed genome wide CRISPR-Cas9 screening and identified gene candidates involved in lipid metabolism and trafficking that are important for nelfinavir sensitivity/resistance. In conclusion, nelfinavir blocks export of proteins from the ER in a unique way, which represents a novel mechanism of action to sensitize MM cells for proteasome inhibitor treatment.

24.

Mutation acquisition conferring resistance of CML cells to TKI via distinct leukemic pathways is a random process allowed by impaired mechanism of DNA reparation

Curik N., Polivkova V., Koblihova J., Kalina T., Burda P., Rejlva K., Kuzilkova D., Kanderova V., Kacerova L., Vlcanova K., Venclikova S., Blagojevska K., Ransdorfova S., Brezinova J., Machova Polakova K. (Institute of Hematology and Blood Transfusion, Prague; Department of Paediatric Haematology and Oncology, Univ. hospital Motol, Prague)

Introduction: Mutations in the BCR-ABL1 kinase domain are known to be associated with resistance of chronic myeloid leukemia (CML) to tyrosine kinase inhibitors (TKI) and with disease progression to fatal blast crisis (BC). Despite its clinical relevance, the origin of mutations conferring resistance of leukemic cells to TKI is not well established. We aimed to reveal molecular mechanisms required for BCR-ABL1 kinase domain mutagenesis of CML cells during imatinib treatment using in vitro model

system. Methods: Model of CML blast crisis is represented by KCL-22 cell line characterized by 2 Ph chromosomes and by ability to develop resistance early after the exposure to imatinib. Imatinib-resistant KCL-22 clones were prepared by single cell FACS sorting to 0.004 μM imatinib. Imatinib concentration was increased to 0.4 μM after one month and subsequently to 4 μM after next 30 days of growing. The acquisition of mutations and the dynamic of mutated subclones were studied on mRNA and DNA level using amplicon deep next generation sequencing (NGS) and allele-specific ddPCR assays, respectively. Results: We isolated 4 clones of KCL-22 cells resistant to 4 μM imatinib. No BCR-ABL1 kinase domain mutations were detected in 1/4 imatinib-resistant clone. However, the NGS myeloid panel analysis uncovered acquired KRAS mutation (G12D) in this clone bearing also pre-existing RUNX1 mutation (G74R). The protein expression analysis by mass cytometry (CyTOF) revealed increased levels of phospho-Erk1/Erk2 proteins in KRAS mutated clone in comparison to other 3 clones with BCR-ABL1 mutations: 1) T315I; 2) E255K and 3) Y253H. The same BCR-ABL1 mutations were confirmed in these clones on DNA level. Based on genomic quantification we found, that additional un-mutated BCR-ABL1 fusion was present in Y253H clone (confirmed by mFISH), which gave a proliferation advantage over other clones in the mixture of clones growing without presence of imatinib. No BCR-ABL1 KD mutations were retrospectively detected by NGS in these clones until the day 60 post sorting. The experiment was repeated by the exposition of the single-sorted cells (growing 20 days in 0.004 μM) to gradually increasing concentration of imatinib, exactly as described above. We detected a different spectrum of mutations in the clones resistant to 4 μM imatinib. Based on these data, we assumed that the acquisition of mutations during imatinib treatment was the result of interplay between stochastic processes and impaired cellular mechanisms of DNA damage signaling and repair. Using RT2 Profiler PCR Arrays we found significant downregulation of XRCC6/Ku70 expression during the establishment of imatinib resistance. Resistant clones were also characterized by decreased expression of DNA Ligase IV and increased expression of DNA Ligase I in comparison to their imatinib sensitive (control) counterparts. These data suggest activation of error-prone alt-NHEJ pathway of DNA repair in resistant clones leading to genome instability. This is in line with observed significant overexpression of other genes associated with genome instability (PARP1, FEN1, EXO1) in imatinib resistant clones, while KRAS mutation detected by myeloid-panel NGS is itself implicated in promotion of alt-NHEJ pathway. Conclusion: Detection of pre-existing resistant mutations in patients at the time of diagnosis is extremely rare event in accelerated or blast CML and nearly absent in chronic CML. Our data strongly support these observations by findings that resistant mutations activating different leukemic pathways are randomly acquired during TKI treatment, which is allowed by impaired DNA reparation mechanisms. Supported by: MZCR 00023736 and GACR 18-18407S

KONFERENCE OŠETŘOVATELSTVÍ 2

25.

Bezpečnost zdravotníků při práci s cytostatiky

Vaculová G. (Lékárna, FN, Olomouc)

Sdělení je určené všem pracovníkům přicházejícím do styku s cytostatiky ať na úrovni příjmu, výroby, kontroly kvality, dále zejména sestřičkám při podání pacientovi na oddělení či v ambulanci. Přináší informace o bezpečnosti při manipulaci s těmito specifickými léčivy a seznámí Vás se zásadami, které vedou k minimalizaci toxicity těchto léčiv.

26.

Zvyšujeme ochranu personálu i pacientů bezpečnou aplikací cytotoxických léků

Brenner D., Uhlířová K., Horáková M., Charouzková J., Vránová J., Kouřilová P. (IHOK, FN, Brno – Bohunice)

Zvyšujeme ochranu personálu i pacientů bezpečnou aplikací cytotoxických léků David Brenner, DiS., Klára Uhlířová, DiS., Marie Horáková, Jana Charouzková, Bc. Jana Vránová, Mgr. Petra Kouřilová Interní hematologická a onkologická klinika, Fakultní nemocnice Brno Úvod: Častou otázkou nově nastupujících sester je, jaká bezpečnostní opatření jsou nastavena na našem pracovišti při práci s cytostatiky. Česká legislativa nemá ukotvena v legislativě jasná pravidla pro bezpečnou aplikaci cytostatik,

pouze pro přípravu v lékárně, a likvidaci cytostatik. Všeobecné sestry mají k dispozici předepsané rukavice a ústenky. Způsob stále uzavřeného systému je novinkou v ošetrovatelské praxi v České republice a pozitivně mění zásady bezpečnostních opatření mezi zdravotním personálem a pacienty. Metody: Naše sdělení seznámí posluchače se speciálním druhem setů pro aplikaci cytostatik, které nově používáme na našem pracovišti pro bezpečnou práci personálu, snížení kontaminace prostředí a vyšší bezpečí pacientů při samotném podání léčiv. Sety jsme začlenili mezi stálé prvky při aplikaci cytostatik v únoru roku 2018. S tím souviselo, doplnění SOP, zaškolení personálu, nastavení vykazování pro pojišťovnu a seznámení s dalším příslušenstvím. Závěr: Po roce používání můžeme sdělit, že jsme zaznamenali nižší výskyt komplikací při aplikaci cytotoxických přípravků.

27.

I PICC může onemocnět

Šebelová H., Kouřilová P., Kalodová Hadačová J., Špačková J., Fínová L., Brázdilová L., Geržová Z. (IHOK, FN, Brno – Bohunice)

Problematika PICC katétrů je v posledních pěti letech široce diskutované téma. Většina zdravotnického personálu se tak s „hadičkou v paži“, jak bývá mnohdy PICC označován, již setkala. PICC je periferií implantovaný žilní katétr, který se zavádí pod ultrazvukovou kontrolou. V zajištění žilního přístupu ho můžeme zařadit do oblasti střednědobého vstupu, který zajišťuje komfort při léčbě nejen onkologicky nemocným pacientům. Na našem pracovišti zavádíme PICC katetry od ledna roku 2015 a celkem jsme do února 2019 zavedli 720 PICC katétrů. V průběhu tohoto období se vyskytly komplikace, které vyžadovaly odpovídající řešení. Nejčastěji jsme se setkávali s komplikacemi v podobě malpozic, obstrukcí, povytažení PICC katétru, trombózu a dermatitidou. V našem příspěvku prezentujeme pohled na řešení jednotlivých komplikací. Největší pozornost věnujeme problematice dermatitid, která je doplněna o edukativní kazuistiku. Naším cílem je zlepšit kvalitu péče o PICC katetry a předcházet komplikacím, které se mohou u pacienta se zavedeným PICC katétre vyskytnout. Dále navrhnout takový způsob řešení komplikací, aby byl vstup co nejdéle zachován, neboť komplikace nemusí znamenat explantaci PICC katétru.

28.

Porovnání výsledků sběrů PBSC na souboru zdravých příbuzných a nepříbuzných dárců za 5-ti leté období

Vodíčková P., Bergerová V., Frančová Z., Steinerová K., Lysák D., Kolomazníková D. (Hematoonkologické oddělení, FN, Plzeň)

Alogenní transplantace hematopoetických kmenových buněk je standardní léčebnou metodou řady hemato-onkologických i jiných nádorových onemocnění. Transplantované buňky mají nahradit pacientův hemopoetický systém a poskytnout protinádorovou imunitní odpověď. Zdrojem hematopoetických kmenových buněk může být kostní dřeň, periferní kmenové krvetvorné buňky (PBSC) nebo pupečnicková krev. PBSC jsou v současné době preferovaným typem transplantátu. Získávají se metodou velkoobjemové aferézy z periferní krve po mobilizaci růstovým faktorem granulopoézy (G-CSF, filgrastim). Dárci jsou stimulováni filgrastimem v dávce 10 μ g/kg/den aplikovaným podkožně v jedné denní dávce po dobu 5ti výjimečně 6ti dnů. Hodnocen byl soubor zdravých příbuzných a nepříbuzných dárců, kteří byli mobilizováni v období 1/2014 až 12/2018. Soubor byl tvořen 197 dárci (144 mužů a 53 žen). Odběry byly provedeny na kontinuálních separátorech krevních elementů (COBE Spectra, Spectra Optia). Jako žilní přístup bylo preferenčně využíváno periferní žilní řečiště, při insuficienci periferních žil byl zaváděn centrální žilní katétr. Aferézy byly zahájeny v den +5 a extendovány maximálně do dne +6. Cílová dávka CD34+ buněk byla $\geq 5 \times 10^6$ /kg hmotnosti příjemce. Porovnávali jsme dvě podskupiny dárců rozdělené podle pohlaví a věku. Dárci muži měli vyšší hmotnost (88 vs. 64 kg, <0,0001). Statisticky signifikantní rozdíl byl zaznamenán v odpovědi na G-CSF (CD34+ den+5: 73 vs. 43 bb./ul, p<0,0001). Díky zpracování většího objemu krve (14 vs. 11 litrů, <0,0001) bylo u dárců dosaženo většího celkového výtěžku CD34+ buněk z první aferézy (538 vs. 274 $\times 10^6$, <0,0001). Cílový požadavek (5 $\times 10^6$ /kg) byl splněn u 90 % dárců a 60 % dárek. Celkové množství CD34+ z obou aferéz bylo 7,5 (muži) vs. 5,3 (ženy) $\times 10^6$ /kg příjemce (<0,0001). Porovnáním 68 mladších (do 30 let, medián 26) se 129 staršími (nad 31 let, medián 39) dárci nebyly zjištěny rozdíly v hodnotách WBC či CD34+ bb. v den +5 (58 vs. 64/ul, ns). Množství CD34+ buněk odebraných první aferézou

bylo podobné (480 vs. 464 $\times 10^6$, ns), a nelišil se ani celkový výtěžek z celé aferetické série: 5,9 vs. 5,5 CD34+ $\times 10^6$ /kg hmotnosti příjemce (ns). Dvě aferézy bylo nutné provést pouze u 47 dárců (15 % mužů a 49 % žen). Centrální žilní katétr bylo nutné zavést pouze ve 31 případech (12 % mužů a 26 % žen). Odběry PBSC umožňují u více než 80 % dárců získat optimální transplantát s obsahem 5 $\times 10^6$ CD34+ /kg příjemce. Mobilizovatelnost není závislá na věku (v relativně mladé populaci dárců). Množství odebraných CD34+ buněk je větší u mužů, a to díky jejich vyšší hmotnosti, která umožňuje zpracovávat větší objemy krve. Dárci také méně často vyžadují zavedení centrálního žilního katétru a provedení dvou aferéz a celá procedura darování je pro ně z tohoto hlediska méně zatěžující.

29.

Canisterapie ve FNOL

Stejskalová P., Drobilčová A., Kolková A., Danielová L., Chochořková D. (Oddor hlavní sestry, FN, Olomouc; II. IK – gastroenterologická a geriatrická, FN, Olomouc; KARIM, FN, Olomouc)

Cílem zavedení canisterapie ve Fakultní nemocnici Olomouc bylo pozitivní ovlivnění zdravotního stavu pacientů. Přítomnost zvířete přispívá ke zlepšení adaptace na nové prostředí, zbarvení pocitu osamělosti a zmírnění stresu. Má přímý vliv na zlepšení kognitivních funkcí, zlepšení hrubé a jemné motoriky. Tato služba byla našim pacientům poprvé představena na Oddělení geriatry v únoru 2018. Od března 2019 se služba rozšířila na nově vzniklé oddělení NIP/DIOP. Předmětem přednášky je představení procesu zavedení canisterapie ve Fakultní nemocnici Olomouc včetně legislativních náležitostí, zavedení dokumentace aj. Ve sdělení se zaměřujeme i na zhodnocení přínosu této služby jak ze strany pacientů, tak zaměstnanců.

KONFERENCE ZDRAVOTNÍCH LABORANTŮ 1

30.

Cytopenie – ukazuje krevní obraz pravdu?

Jirkuvová A., Obr A. (Hemato-onkologická klinika, FN a LF UP, Olomouc)

Základním laboratorním vyšetřením pro většinu lékařských oborů, hematologii především, je vyšetření krevního obrazu. Rutinně se počet krevních částic stanovuje na automatických analyzátoch (impedanční nebo optickou metodou) po odběru do zkumavky s protisrážlivým činidlem (soli EDTA). Při nejasném výsledku, při poklesu pod tzv. kritické hodnoty při prvzáchytu, nutno doplnit manuální odečet krevního obrazu. Při hodnocení krevního obrazu nelze izolovaně hodnotit jednotlivé krevní řady a je nutné vždy zvážit možnost preanalytické chyby, případně odběr zopakovat. Cytopenie obecně vyjadřují snížení počtu dané krevní řady pod normu. Mohou se vyskytovat rovněž v kombinacích jako bicytopenie, případně pancytopenie. Leukopenie je absolutní množství leukocytů pod 4,0 $\times 10^9$ /l. Klinicky se spíše zaměřujeme na jednotlivé populace bílých krvinek, z nichž nejvýznamnější je neutropenie a lymfopenie. Neutropenie je definována jako absolutní počet neutrofilů menší než 1,5 $\times 10^9$ /l. Její příčiny lze rozdělit na získané (postinfekční, polékové, ze snížené tvorby, imunitní) a vrozené. Lymfopenie je definována jako absolutní množství lymfocytů menší než 1,0 $\times 10^9$ /l. Při hodnocení a pátrání po příčinách je možné doplnit, o které subpopulace lymfocytů se jedná. Trombocytopenie je absolutní množství krevních destiček pod 150 $\times 10^9$ /l, dělí se dle závažnosti na lehkou, středně těžkou a těžkou. Až jedna pětina všech trombocytopenií jsou v konečném důsledku pseudotrombocytopenie (agregace trombocytů, satellitismus, nafeděný odběr, sražený odběr). Trombocytopenie vznikají z důvodu snížené tvorby trombocytů (infiltrace kostní dřeně při hematologických malignitách případně solidních metastázách, vřzácné vrozené syndromy), při zvýšené destrukci trombocytů (imunitní a konsumpční příčiny, polékové) a při sekvestraci trombocytů (hypersplenismus). Pancytopenie je pokles krevních elementů ve všech třech krevních řadách. Jde o stav, který by měl být došetřen, v některých případech včetně odběru kostní dřeně. Vzniká buď v důsledku dřeňového útlumu (aplastická anémie) nebo v důsledku infiltrace kostní dřeně. Pokud se nenajde primární příčina hematologická, je nutné pomýšlet na sekundární příčiny (virové infekce, autoimunitní choroby, polékové reakce, postradiační změny). Edukační přednáška bude věnována izolovaným leukopeniím či trombocytopeniím a pancytopeniím, jejich hodnocení, příčinám a klinickému dopadu těchto stavů s prezentací vybraných krevních obrazů.

Pancytopenie v obvodové krvi – morfologicky zajímavé kazuistiky

Dynterová A., Fátorová I. (IV. interní hematologická klinika - laboratoř, FN, Hradec Králové)

Pancytopenie je stav, kdy dochází k poklesu počtu všech typů krevních buněk v obvodové krvi pod dolní hranici normálních hodnot, závažné stavy může provázet pokles koncentrace hemoglobinu pod 60 g/l, pokles počtu neutrofilů pod $1,5 \times 10^9/l$ a počtu trombocytů pod $50 \times 10^9/l$. Pancytopenie vzniká jako důsledek porušené tvorby krvinek v kostní dřeni, je to tedy souhrnný název pro anémii, leukopenii (především neutropenii) a trombocytopenii. Klinické projevy závisí na tom, jak rychle k pancytopenii dochází. Dominují hemoragické diatézy, snížená odolnost vůči infekcím a anemický syndrom (únava, dušnost, bolesti hlavy, tachykardie, bledost sliznic a kůže). Jako další krok u pacienta s první zjištěnou pancytopenií v obvodové krvi následuje vyšetření kostní dřene (sternální punkce či trepanobiopsie). Dle mechanismu vzniku dělíme pancytopenie na stavy se sníženou buněčností kostní dřene (aplastická anémie, dřevňový útlum) a na stavy s normální či zvýšenou dřevňovou celularitou (myelodysplastický syndrom), kdy krvinky jsou defektní a podléhají časnému zániku již v kostní dřeni. V diferenciální diagnostice je dále zapotřebí průtokové cytometrie, cytogenetiky a molekulárně genetických metod, díky nimž se postupně stanoví konečná diagnóza daného onemocnění. Při zjištění pancytopenie v obvodové krvi se vždy jedná o závažný problém. Nutno je zejména pomýšlet na možnost diagnózy akutní promyelocytární leukémie, která je ve svém prvopočátku pro nemocného až život ohrožující diagnóza pro přidruženou koagulopatii. Další závažné diagnózy, které se mohou projevit pancytopenií v obvodové krvi, patří ostatní typy akutních leukémií, myelodysplastický syndrom, vlasatobuněčná leukemie, ale např. i těžká forma megaloblastové anémie. Na třech krátkých kazuistikách budeme prezentovat morfologicky zajímavé pacienty s pancytopenií v obvodové krvi. Tato práce byla podpořena programem PROGRES Q40/O 8 a MZ ČR – RVO (FNHK, 00179906).

Infekční mononukleóza v hematologické laboratoři

Konečná V., Raidová A., Zdráhalová H., Kadlecová J. (Hemato-onkologická klinika, FN a LF UP, Olomouc)

Infekční mononukleóza v hematologické laboratoři Konečná Věra, Raidová Andrea, Zdráhalová Hana, Kadlecová Jana Infekční mononukleóza je často náhodně zachycená diagnóza při vyšetření krevního obrazu a manuálního diferenciálního rozpočtu. Je to syndrom spojený s primární infekcí virem Epstein - Barrové zejména u adolescentů. Nejvyšší výskyt je v pubertě, u mladistvých a mladých dospělých mezi 15-24 lety. Virus byl objeven v roce 1964 v buněčných kulturách tkáně Bürkítova lymfomu. Až v roce 1968 byl identifikován jako původce infekční mononukleózy. Zdrojem nákazy je nemocný člověk nebo zdravý nosič viru, virus je vylučován slinami. EBV přetrvává v organismu celý život v latentním stavu a může dojít k jeho reaktivaci např. při stresu, těhotenství nebo jiných závažných onemocněních. Inkubační doba se obvykle udává mezi 30-50 dny, ale může být i kratší. EBV se přenáší slinami při úzkém kontaktu např. líbání („kissing disease“), společné jídlo, kartáček na zuby apod. Vzdálenější kontakt obvykle k onemocnění nevede. Virus infikuje epitel faryngu, odtud vstupuje do B-lymfocytů a způsobí jejich polyklonální aktivaci, takže B-lymfocyty začnou produkovat protilátky. Následně virus pomocí B-lymfocytů putuje do všech orgánů, což způsobí aktivaci buněčné imunity (cytotoxických T-lymfocytů a NK buněk) a tím se potlačí infekce. Pokud k aktivaci nedojde, může pokračovat nekontrolovatelná lymfoproliferace se závažným až smrtelným průběhem. Akutní fázi onemocnění ukončují aktivované supresorové T-buňky, které se v periferní krvi jeví jako atypické lymfocyty. Onemocnění zanechává dlouhodobou imunitu. Klinické příznaky se podobají chřipce nebo streptokokové angíně, ale na rozdíl od angíny neodpovídají na antibiotickou léčbu. Nejčastějšími subjektivními potížemi jsou bolesti v krku, zvětšené uzliny, únava, slabost, bolesti svalů a hlavy. Onemocnění ustupuje do 2-4 týdnů, ale únava, slabost, nechutenství může přetrvávat i několik měsíců. V diagnostice infekční mononukleózy se provádí vyšetření krevního obrazu s diferenciálem, jaterní testy a sérologické metody. V krevním obraze dominuje leukocytóza s lymfocytózou a monocytózou, častá je lehká trombocytopenie. V nátěru periferní krve nacházíme velké atypické lymfocyty, což jsou vlastně reaktivní T-lymfocyty působící cytotoxicky na

infikované B-lymfocyty. Při pozdním rozpoznání onemocnění, slabém imunitním systému a nedodržování léčby se mohou dostavit jaterní, plicní a neurologické komplikace, které jsou často velmi vážné. Léčba je symptomatická, doporučuje se klidový režim, jaterní dieta, antipyretika, vitamíny, obklad na krk, kloktadlo. Součástí sdělení je několik zajímavých kazuistik, se kterými jsme se setkali v naší hematologické laboratoři.

NK leukémie – morfologická kazuistika

Kolařík L., Hochová I., Houdková A. (OKH, FN Motol, Praha)

Agresivní NK buněčnou leukémií (ANKL) řadíme mezi vzácné hemato-onkologické onemocnění. Při ANKL dochází k systémové proliferaci NK buněk. Charakteristické pro toto onemocnění je rychlý průběh a nepříznivá prognóza i přes včasné zahájení léčby. ANKL se vyskytuje nejčastěji v Asii, dále ve Střední a Jižní Americe. Příčina onemocnění není zcela objasněna. Onemocnění je asociováno s infekcí virem Epstein-Barrové, jen přibližně 10 % je EBV negativní. ANKL může vzniknout „de novo“ či z NK/T lymfoproliferativního onemocnění spojeného s chronickou infekcí virem Epstein-Barrové. Pacienti často prodělali EBV virózu s následným rozvojem sekundární hemofagocytózy. Leukemické NK buňky jsou větší nežli LGL lymfocyty, mají bazofilnější cytoplazmu. Jádru obsahuje jádérka, může mít atypický tvar a jaderný chromatin bývá jemnější. Autoři popisují případ NK leukémie u pacienta z FN Motol s bohatou ilustrací morfologických nálezů.

Diagnostika vybraných vzácných vrozených anémií

Orviská M., Lapčíková A., Pospíšilová D., Fabryová V., Indrák K., Divoká M. (Hemato-onkologická klinika, FN a LF UP, Olomouc – CZE; Dětská klinika, FN a LF UP, Olomouc – CZE; Oddělení klinické biochemie a hematologie, Nemocnice svatého Michala, Bratislava – Slovensko)

Molekulárně-genetické laboratoře Hemato-onkologické kliniky FN a LF UP v Olomouci jsou součástí Centra vzácných chorob a v rámci tohoto zařazení zde provádíme diagnostiku vrozených poruch erytrocytů. Podrobněji se soustředíme na diagnostiku talasemií a endemických hemoglobinových variant, které byly selektovány v průběhu evoluce jako důsledek genetického tlaku v malarických oblastech, kde heterozygotům přináší výhodu v obraně proti malarickému parazitu. Talasemie i hemoglobinové varianty, které se řadí do skupiny hemoglobinopatií, se ovšem mohou vyskytovat v každém etniku díky historické i současné migraci a díky historické existenci malarických ložisek i v dnes již nemalarických oblastech. V České republice a na Slovensku jsou talasemie nejčastější příčinou vrozené nesideropenické mikrocytární anemie. Při podezření na vrozenou hemoglobinopatii vyšetřujeme po vyloučení sideropenie resp. s ohledem na osobní a rodinnou anamnézu základní parametry krevního obrazu a počet retikulocytů a tato přístrojová vyšetření doplňujeme mikroskopickým vyhodnocením morfologie červené krevní řady. Následně provádíme bioanalytické testy k určení hemoglobinového spektra a stability molekuly hemoglobinu. Genetická analýza na úrovni DNA umožňuje zjistit příčinnou mutaci způsobující vrozenou anemii. K detekci bodových mutací v genech pro globiny (HBB; HBA2) využíváme Sangerovo sekvenování. Pro určení typu delece v globinových lokusech (HBA; HBB) provádíme metodu MLPA (Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification). Kasuistický popis zajímavých případů hemoglobinopatií diagnostikovaných v České republice a na Slovensku ukáže pestrost genetických příčin a klinických projevů těchto vrozených anémií: A. Pacient s klinickým obrazem alfa-talasemie minor s mírnou erytrocytózou je složený heterozygot – byly u něj detekovány dvě delece v lokusu HBA; B. Jiným příkladem je pacient s abnormální hemoglobinovou variantou v důsledku mutace v HBA2 genu. C. Z genetického hlediska je zajímavý příklad pacientů s posunovou mutací v genu HBB vedoucí k beta-talasemii minor. V české a slovenské populaci jsou hemoglobinopatie vzácné, ale je třeba na ně pomýšlet především v případech vrozené hypochromní, popř. nejasné hemolytické anemie či u vrozených erytrocytóz. Včasná a správná diagnostika je nezbytná pro správné léčebné rozhodování, kde by chybná diagnóza mohla vést např. k přetížení nemocného železem a svůj význam má také v prenatalní diagnostice.

35.

Zásady efektivní spolupráce a komunikace ve zdravotnických týmech*Mertin T., Hamplová A. (Centrum dohody, Praha)*

abstrakt nedodán

MYELOIDNÍ NEOPLÁZIE A ALL

36.

Musí všichni pacienti s CML užívat stejnou standardní dávku léků?*Mayer J., Žáčková D., Ráčil Z. (IHOK, FN, Brno – Bohunice)*

Příchod tyrosinkinázových inhibitorů nepochybně znamenal revoluci v léčbě CML, ale otevřel i cestu k plejádě dalších podobně působících léků k užití nejenom v hematologii. Zdálo se, že necytopstatická léčba bude výborně tolerovaná a bude ideální ji dávkovat podle farmakokinetických parametrů. V průběhu následujících let se ale ukázalo, že to nebude zase tak jednoduché. Například dasatinib má poměrně krátký poločas v plazmě a původně byl dávkován 2x denně. Následně se ale ukázalo, že jednorázové pulzní podání má přesto na leukemické buňky poměrně dlouhodobý efekt a rozsáhlá randomizovaná studie nakonec ukázala, že dávkování 1x denně je stejně účinné jako 2x denně, ale má méně vedlejších účinků. Studie fáze I. s dasatinibem u pacientů se solidními tumory také ukázaly, že maximální tolerovaná dávka není prakticky o moc vyšší, než nejvyšší dávka podávaná v hematologické indikaci. Zvyšování dávek imatinibu zase vedlo ke zvyšování toxicity, takže ani tady studie neprokázaly jednoznačný benefit. U nilotinibu již navýšení dávky z 2 x 300 mg denně na 2 x 400 mg denně prokazatelně zvyšuje toxicitu zvláště kardiovaskulární a podobně to bylo i s bosutinibem a ponatinibem, kde původní dávkování vykazovalo značnou toxicitu a vynutilo si nové klinické zkoumání účinnosti a toxicity nižších dávek. Cena tyrosinkinázových inhibitorů a potenciální, nebo reálné vedlejší účinky těchto léků vedly ke snahám u pacientů s dlouhodobou hlubokou molekulární odpovědí tyto léky zcela vysadit. Takových studií již bylo publikováno 25 a zjednodušeně se dá říci, že všechny dospěly ke stejným výsledkům. U zhruba poloviny pacientů se choroba vrací v časovém intervalu do 6 - 12 měsíců. Někde mezi trvalým podáváním standardních dávek a vysazováním figurují práce s cílem optimalizovat terapii, buďto podle koncentrací léků v krvi, nebo podle tolerance, anebo se jedná o podávání léků, který je třeba na víkend vysazen. Vzhledem k tomu, že další experimentální data potvrdila akumulaci tyrosinkinázových inhibitorů v buňkách, pracuje nyní Česká leukemická skupina – CELL na celonárodním protokolu, který by měl testovat dvoufázové snížení dávek léků u pacientů v hluboké molekulární odpovědi (6 měsíců na polovinu a dalších 6 měsíců na další polovinu), s tím, že u pacientů, kteří udrží hlubokou molekulární odpověď, by teprve byla léčba potom vysazena. Podrobnější informace o protokolu budou prezentovány.

37.

Současné možnosti diagnostiky a léčby myelodysplastického syndromu*Bělohávková P. (IV. interní hematologická klinika, FN, Hradec Králové)*

Myelodysplastický syndrom (MDS) představuje heterogenní skupinu myeloidních neoplazií, která je charakterizována inefektivní hematopoézou, abnormální morfologií kostní dřeně i periferie, častými cytopeniemi a vysokým rizikem progresu do akutní myeloidní leukemie. Při podezření na MDS je základem hodnocení periferních nátěrů (na 200 buněk) a nátěrů kostní dřeně s hodnocením 500 buněk. Minimální kritérium pro MDS představuje nálezy dysplastických změn u 10% buněk příslušné řady (erytrocytární, granulocytyární a megakaryocytyární) nebo zmožení blastů (5 - 19% v kostní dřeni, 2 - 19% v periférii). Součástí vyšetření dřeně je rovněž hodnocení nátěrů barvením na železo (Perlsova reakce) se zhodnocením přítomnosti prstenčitých sideroblastů. Provedení histologie dřeně je v současné době doporučeno u všech pacientů, i když u starších nemocných s jasnou cytologickou diagnózou MDS je její přínos kontroverzní. Cytogenetické vyšetření dřeně je

indikováno u všech pacientů a výsledek má důležitý prognostický význam. Toto vyšetření je prováděno konvenčním barvením a mělo by být hodnoceno 20 mitóz. Při nedostatečném počtu mitóz se provádí metoda FISH (fluorescenční in situ hybridizace) se zaměřením na časté abnormality u MDS (např. změny 5. či 7. chromozomu). Pouze k doporučeným vyšetřením patří provedení imunofenotypizačního vyšetření dřeně či periferie. V poslední době se do popředí stále více dostává stanovení molekulární změn, avšak dosud není určen žádný panel mutací, které by se měl rutinně u MDS vyšetřovat. Podle WHO klasifikace by mělo být provedeno stanovení SF3B1 mutace při nálezu prstenčitých sideroblastů při hodnotě $\geq 5\%$ a $\leq 15\%$. Za prognosticky velmi cenné vyšetření je považováno stanovení přítomnosti mutace p53. Na základě určení WHO podtypu a výpočtu mezinárodního prognostického rizika (IPSS) či jeho revidované formy (IPSS-R) můžeme pacienty rozdělit na skupinu nižšího a vysokého rizika, kdy máme zcela odlišné léčebné cíle. U nemocných nižšího rizika se snažíme především o zlepšení cytopenie a kvality života, naopak u pacientů vysokého rizika naši léčebnou snahou je oddálení progresu do AML a prodloužení přežití. U anemických pacientů nízkého rizika léčebnou možností představují erythropoezu-stimulující látky a u pacientů s průkazem delece 5. chromozomu je to lenalidomid. Avšak část pacientů zůstává nadále transfúzně-dependentních, kdy v rámci podpůrné léčby je na zvažení zahájení chelatační léčby. U mladších pacientů (<65 - 70 let) vysokého rizika bez přítomnosti závažnějších komorbidity by měla být vždy zvažena alogenní transplantace, která představuje u MDS jedinou kurativní léčebnou metodu. U ostatních pacientů je indikováno zahájení léčby hypometylačními látkami. Ačkoliv v poslední době byl zaznamenán značný pokrok v oblasti výzkumu molekulárních změn u MDS s lepším pochopením patogeneze vzniku choroby, nebylo toto zatím zcela implementováno do léčby MDS. V současné době probíhá velké množství studií jak u skupiny nízkého rizika (luspaterecept, imetelstat) i vysokého rizika (guedecitabin, pevonedistat, rigosertib). Avšak výsledky studií teprve ukáží, které léky rozšíří současnou skupinu pěti dosud schválených preparátů.

38.

Diagnostika a cílená léčba nově diagnostikované akutní lymfoblastové leukémie dospělých*Šálek C. (Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha)*

Období poslední dekády se stalo svědkem závratného pokroku jak na experimentálním, tak klinickém poli akutní lymfoblastové leukémie (ALL). Poznání genetického pozadí otevřelo cestu výzkumu nových léků, schopných modifikovat patofyziologické pozadí konkrétních subtypů ALL na principu cílené terapie. Diagnostika Základní diagnostickou metodou je cytologické vyšetření aspirátu kostní dřeně. Hranice počtu lymfoblastů v kostní dřeni nezbytná pro stanovení diagnózy ALL je 20%. Standardní diagnostickou metodu pro ALL představuje imunofenotypizační vyšetření, které určí líniovou příslušnost ALL a stupeň diferenciací prekurzoru, na kterém došlo k leukemické transformaci. Konkrétní fenotyp má v historických kohortách prognostický význam. Imunofenotypem je taktéž definována časná prekurzorová T-ALL (ETP-ALL), pro niž je charakteristická koexprese kmenových a myeloidních znaků. Nezastupitelné místo v diagnostice patří cytogenetickému vyšetření. Ztráty nebo nadpočetné chromosomy jsou u hypo- i hyperdiploidní ALL nenáhodné a jejich identifikace je pro správnou diagnostiku určující. Klasická cytogenetická analýza obohacená o možnost fluorescenční in situ hybridizace (FISH) je nezbytná pro detekci přidatných chromosomálních změn, které mohou být prognosticky relevantní, jak bylo prokázáno u Ph+ ALL. Možnosti metod molekulární genetiky jsou hnacím motorem studia patofyziologických mechanismů ALL. Součástí rutinní diagnostiky ALL by měl být screening fúzních transkriptů definujících jednotlivé podskupiny B-ALL dle WHO klasifikace. V případě Ph+ ALL jsou molekulárně genetické metody nezastupitelné v detekci atypických transkriptů BCR-ABL1. DNA z diagnostického odběru kostní dřeně je vstupním materiálem pro detekci specifických přestavbě Ig/TCR užívaných pro měření minimální reziduální nemoci (MRN). Experimentální metody umožňují definovat další prognosticky relevantní podskupiny (např. Ph-like ALL). Cílená léčba Standardem léčby ALL dospělých je dle doporučení většiny evropských studijních skupin terapie inspirovaná pediatrickými protokoly. Starší pacienti profitují z přístupů s redukovánými dávkami chemoterapie v kombinaci s novými cílenými léky, které však nejsou standardně hrazené v první linii léčby a jsou dostupné zatím jen v rámci klinických studií. Poté, co byla odhalena bezprecedentní účinnost nových imunoterapeutik inotuzumabu ozogamicinu (IO) a blinatumomabu u refrakterních leukémií a v relapsu, byly zahájeny studie s těmito protilátkami v první linii léčby. Kombinace IO s redukováným režimem mini-HyperCVAD u pacientů

s B-ALL starších 60 let vedla k 97 % remisí a přežití bez relapsu ve 3 letech 64 %. Stejný redukovaný režim byl v téže indikaci kombinován s blinatumomabem s obdobně slibnými výsledky: počet remisí 100 %, negativita MRN dosáhlo 95 % pacientů, přežití bez relapsu v 1 roce 75 %. Specifickou indikací je cílená léčba při nedostatečné molekulární odpovědi nebo molekulárního relapsu. Studie s blinatumomabem v uvedené indikaci prokázala medián přežití 36,5 měsíce. Medián nebyl dosažen u osob, které dosáhly negativity MRN po 1. cyklu, a u pacientů, kteří byli po dosažení molekulární odpovědi transplantováni. Standardem indukční léčby Ph+ ALL je kombinace TKI s redukcovanou chemoterapií. Nově se ukazuje, že alo-HSCT nemusí být podmínkou kurativního přístupu k Ph+ ALL. Pro pacienty, kteří v časných fázích léčby dosáhnou kompletní molekulární odpovědi, nepředstavuje alo-HSCT benefit stran přežití ve srovnání s konsolidací založené na chemoterapii plus TKI nebo autologní transplantaci plus TKI. Trendem v léčbě starších nemocných s Ph+ ALL je minimalizace časných úmrtí v indukci tím, že je indukční léčba výrazně redukována. Následována je konsolidací, jejíž intenzita je uzpůsobena celkovému stavu pacienta.

MALIGNÍ LYMFOMY

39.

Resistance mechanisms to cellular therapy in malignant lymphoma

Bachanová V. (Division of Hematology, Oncology and Transplantation, University of Minnesota, Minneapolis, MN – USA)

Both diagnostic and treatment landscape for malignant lymphoma is rapidly changing and immune-based treatments are being developed in the accelerating trajectory. I will review how the immunotherapy not only supplement the chemotherapy but also challenge our traditional way we practice oncology. Genetically reprogrammed chimeric antigen receptor (CAR) cellular therapies are the first cellular therapy approved for aggressive B-cell lymphoma and offer the alternative curative option for patients who have experienced a second or later relapse or are chemotherapy refractory. CAR-T cell are autologous T cells reprogrammed to express an antiCD19 CAR that when re-introduced to the patient, recognize and kill CD19 + B cell. Because of the novelty of CAR T-cell therapy and the complexity of this patient population, identification of ideal candidates is still being defined. We will discuss two patient cases, focusing on the important aspects of patient selection for CAR T-cell therapy and prognostic factors. I will describe the clinical course and review possible mechanism of resistance as it related to patient selection, disease characteristics, host immune system, lymphodepleting chemotherapy, polyclonal CAR-T cell expansion and antigen loss. In discussing each case, we will review the updated results on real-world experience using CAR19 T cells and novel research on strategies how to overcome the resistance. The advances on cell therapeutics for lymphoma thus include bispecific CAR-T cell targeting two antigens, CD16 expressing CAR-T and NK cells therapies including off the shelf inducible pluripotent cell derived and reprogramed NK cells products.

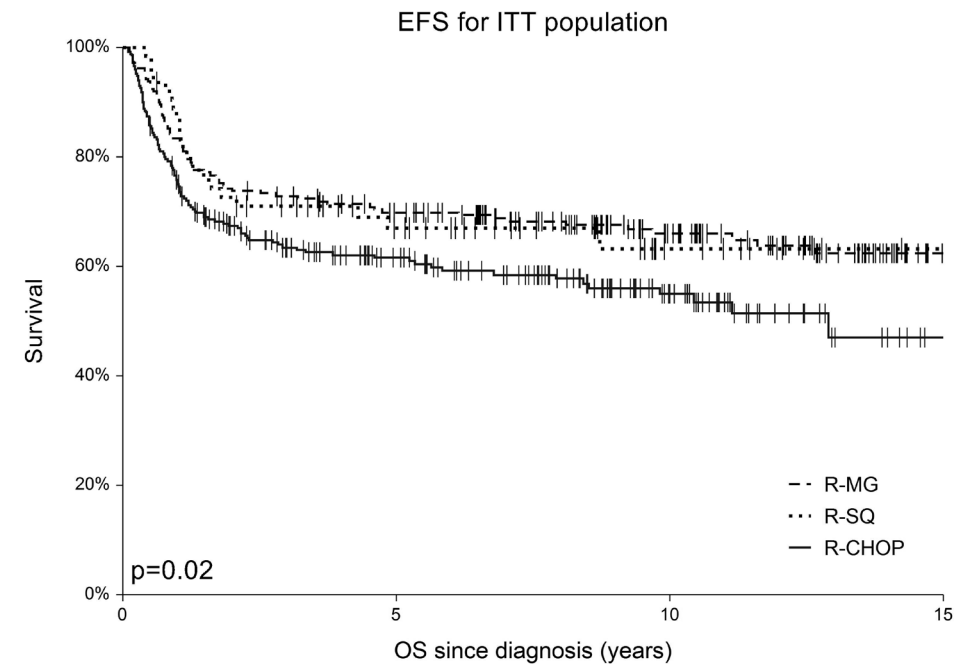
40.

Role intenzivní úvodní terapie u mladších, rizikových nemocných s difuzním velkobuněčným B-lymfomem

Procházka V., Pytlík R., Janíková A., Belada D., Móciková H., Kopečková K., Pírnos J., Ďuraš J., Campr V., Papajik T., Benešová K., Michalka J., Sýkorová A., Fürst T., Hamouzová J., Trněný M. (Hemato-onkologická klinika, FN a LF UP, Olomouc; VFN, Praha; FN, Brno; FN, Hradec Králové; FN Královské Vinohrady, Praha; FN Motol, Praha; Nemocnice, České Budějovice; FN, Ostrava; UP, Olomouc; Datacentrum KLS, VFN, Praha)

Úvod: Imuno-chemoterapie R-CHOP je zlatým standardem v léčbě difuzního velkobuněčného B-lymfomu (DLBCL) v první linii bez ohledu na riziko lymfomu. Údaje porovnávající intenzivnější přístupy s R-CHOP u mladších rizikových pacientů naznačují potenciální přínos vyšší intenzity terapie (Blood 2018 132: 2955). Porovnávali jsme dva intenzivní indukční protokoly s pacienty léčenými R-CHOP párovány dle věku a pohlaví a vybranými z registru KLS. Metody: Byli analyzováni nemocní s DLBCL (aaiPI 2-3) ve věku ≤60 let, ECOG 0-3, bez postižení CNS, léčeni dvěma

intenzivními režimy dříve testovanými v prospektivních klinických studiích: [1] protokolem obsahujícím intenzifikovaný CHOP / platinový režim R-MegaCHOP-ESHAP-BEAM (R-MG; NCT00558220) a sekvenčním protokolem R-PACEBO-IVAM-HAM-BEAM (R-SQ, EudraCT 2007- 004564-43). Na principu intention-to-treat bylo analyzováno 546 pacientů - 273 pacientů léčených intenzivní chemoterapií (210 R-MG, 63 R-SQ) a 273 párovanych R-CHOP kontrol. Výsledky: Základní klinické charakteristiky ve skupinách R-MG, R-SQ a R-CHOP byly následovné: průměrný (medián) věk 46 (42), 49 (45) a 46 (44) let; mužské pohlaví bylo zastoupeno v 52%, 56% a 53%; Ann Arbor stupeň IV v 64%, 75% a 60%; ECOG ≥2 u 51%, 46% a 48%; vysoký aaiPI (3) u 40 %, 30 % a 32 % nemocných. Mezi jednotlivými léčebnými skupinami nebyly v klinických charakteristikách statisticky významné rozdíly. U 36 pacientů s R-CHOP (13 %) byla léčba eskalována z důvodu nedostatečné odpovědi. V intenzivní skupině byl protokol změněn u 48 nemocných (18 %), deeskalován na R-CHOP (34) nebo R-COP (1) u 12 pacientů změněn na platinový režim (8) nebo HD methotrexát / cytarabin (4). Remise byla konsolidována autologní transplantací kmenových buněk (ASCT) u 133 (63 %) v R-MG, 43 (68 %) v R-SQ a u 26 (10 %) nemocných ve skupině R-CHOP. Při mediánu sledování 10,1, 6,8 a 6,2 let u skupin R-MG, R-SQ a R-CHOP došlo k progresi / relapsu 151 nemocných (28 %) a 130 (14 %) pacientů zemřelo. Údaje o přežití jsou uvedeny v tabulce. Při analýze přínosu ASCT bylo vyloučeno 39 nemocných (37 z R-CHOP, 2 z intenzivního ramene), kteří časně relabovali nebo zprogredovali (do 192 dnů od diagnózy = střední doba do ASCT), aby se předešlo nadhodnocení výsledku ASCT. Konsolidace ASCT byla spojena se lepším tříletým PFS (74,0 % vs 79,5 %, p = 0,02), ale ne OS 85,5 % vs 86,3 %, p = 0,08). Závěry: Neprokázali jsme vyšší efektivitu intenzivní indukce ve srovnání s R-CHOP u mladších rizikových pacientů. Výsledky by mohly být zkráceny přesunem části neuspokojivě odpovídajících nemocných z ramene R-CHOP do skupiny intenzivní terapie. ASCT poskytuje mírně lepší dlouhodobou kontrolu onemocnění u chemosenzitivních pacientů. Dedikace: granty IGA_LF_2019_001 a AZV 16-31092A.

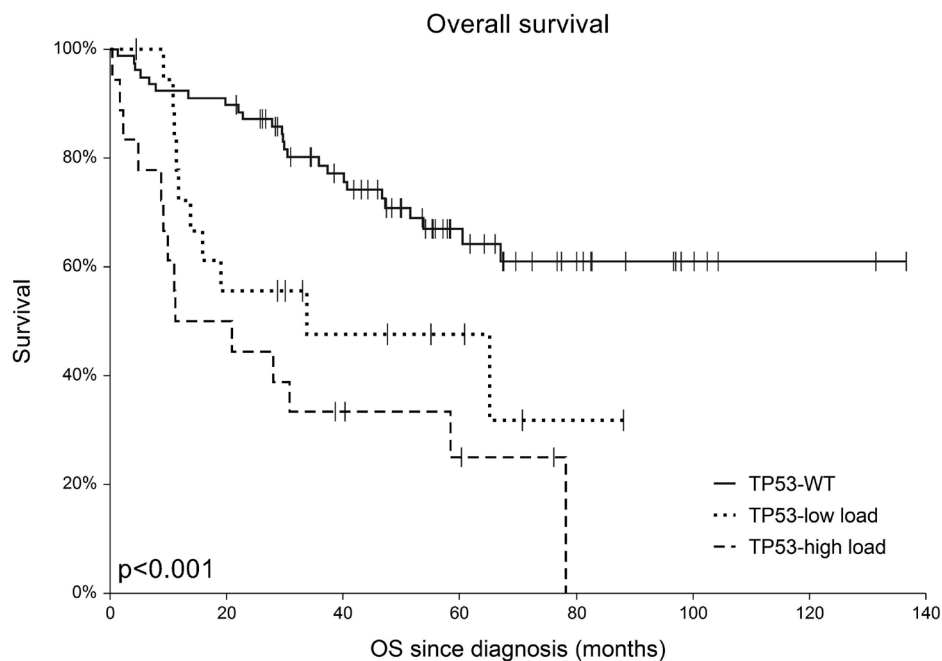


41.

High TP53 mutation load predicts primary refractory mantle cell lymphoma

Obr A., Klener P. jr., Procházka V., Kriegová E., Zemanová Z., Urbánková H., Jirkuvová A., Petráčková A., Čudová B., Sedlaříková L., Papajík T., Trněný M. (Hemato-onkologická klinika, FN a LF UP, Olomouc; I. interní klinika – klinika hematologie, VFN, Praha; Ústav imunologie, LF UP a FN, Olomouc; Ústav lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky, VFN, Praha)

Key words: mantle cell lymphoma, next generation sequencing, cytogenetics Introduction: Mantle cell lymphoma (MCL) is rare B-cell lymphoma subtype with usually aggressive behavior. Mutations of TP53 gene and complex karyotype (CK) were described to be poor prognostic factors (Obr A et al, 2018), but their impact on primary resistance to induction has not been investigated. Methods: We analyzed 115 MCL patients (pts) treated in two Czech university centers from 4/2006 to 10/2016. Both classical cytogenetics and next generation sequencing (NGS, Mi-Seq, Illumina) for TP53 mutation detection were performed on tumoral tissue (peripheral blood, bone marrow) in all patients. Cut-off for TP53 mutation was 1% variant allele frequency (VAF). CK was defined as 3 and more cytogenetic aberrations in one cell population. Pts with stable or progressive disease (SD/PD) during induction or with relapse within 6 months after induction completion were considered as primary refractory (PrR). Variables were compared by chi-squared test. T-test was used to compare the difference between means of TP53 mutation load in PrR+ and PrR- subgroup. Cut-off for TP53 mutation load (27%) was established as median VAF. Overall and progression free survival (OS, PFS) were calculated from the date of diagnosis. Results: The median age at diagnosis was 66 (40-87) years. Ninety-six percent of pts had advanced disease (III and IV). MIPI score was low, intermediate and high in 19.1%, 27.8% and 53.0% pts, respectively. Induction regimens used were as follows: R-CHOP/R-CHOP-like in 47.8%, intensive R-HDAC-containing in 38.3% and non-anthracycline regimen in 9.6% pts. Complete and partial response was achieved in 53.0% and 27.0% pts, resp. SD/PD was observed in 11.3% pts. Overall, 27 (23.5%) pts were considered as primary refractory. TP53 mutation and CK were present in 37 (32.3%) and 15 (13.0%) pts, respectively. Age, disease stage, ECOG score, MIPI, HDAC therapy and CK did not correlate with PrR status. Significantly higher TP53 mutation load was observed in the PrR+ (42%), compared to PrR- subgroup (25%, $p=0.03$). After median follow-up



of 4.6 years, 3-year overall survival (3-y OS) and 3-year progression free survival (3-y PFS) in all pts was 65.8% and 50.9%, resp. Median OS in PrR+ and PrR- pts was 9.2 months, and 4.5 years, resp. Survival analysis stratified according to the TP53 mutation status/mutation load showed 3-y OS and 3-y PFS for wild type (TP53-WT), low mutation load (TP53-low load), high mutation load (TP53-high load) 74.2%, 47.6%, 33.3% and 56.0%, 37.0%, 27.8%, respectively ($p=0.001$ both). Conclusions: High TP53 mutation load (>27% VAF), but not CK, has significantly correlated with refractory disease in MCL pts. Pts with high mutation load of TP53 gene should be considered to an innovative treatment. Acknowledgement: Supported by IGA_LF_2019_001, MH CZ – DRO (FNOL, 00098892), AZV16-32339A and AZV16-31092A grants

42.

Anaplastický velkobuněčný lymfom ALK pozitivní: molekulární diagnostika a sledování minimální reziduální nemoci

Kalinová M., Hliská I., Prouzová Z., Mrhalová M., Kabíčková E., Říha P., Kodet R. (Ústav patologie a molekulární medicíny, 2. LF UK a FN Motol, Praha; Klinika dětské hematologie a onkologie, 2. LF UK a FN Motol, Praha)

Anaplastický velkobuněčný lymfom (ALCL) patří do skupiny T lymfomů. V případě ALK pozitivního ALCL dochází k patologické aktivaci onkogenu ALK ležícím na 2p23 (gen anaplastic lymphoma kinase). Aktivace je způsobena chromozomálními translokacemi, při kterých vznikají fúzní geny s různými translokačními partnery. Nejčastěji (75 %) nacházíme translokaci t(2;5)(p23;q35), kdy dochází k fúzi s genem NPM1 (gen nukleofosmin). Molekulární diagnostika zahrnuje: 1) detekci nejčastějšího fúzního genu NPM1/ALK 2) u pacientů bez prokázání fúze NPM1/ALK probíhá hledání translokačního partnera genu ALK pomocí metody 5' RACE a/nebo NGS Fusion-Plex Lymphoma Kitu 3) u všech ALK protein pozitivních ALCL vyšetřujeme kvantitativní expresi translokované části genu ALK, kterou využíváme jak k diagnostice ALK pozitivních ALCL, tak ke sledování minimální reziduální nemoci (MRN). Výsledky genové analýzy jsme porovnávali s imunohistochemickým průkazem (IHC) exprese proteinu ALK a jeho lokalizací v buňce a dále s výsledky fluorescenční in situ hybridizace na interfázických jádrech (I-FISH). Hladiny MRN jsme porovnávali s klinickým průběhem onemocnění. Celkem jsme vyšetřili 79 pacientů s ALCL (2-80 let; medián 16 let) s IHC prokázanou expresí proteinu ALK. U 74 pacientů jsme vyšetřili zlom chromozomu 2, v oblasti 2p23 a ve všech případech byl zlom detekován. V 61 případech jsme detekovali fúzní gen NPM1/ALK, v 7 případech ATIC/ALK, ve dvou případech CLTC/ALK, 2x jsme detekovali MYH9/ALK, 2x fúzi ALO17/ALK a 1x TPM4/ALK resp. TPM3/ALK. U 3 pacientů NPM1/ALK negativních, ALK protein pozitivních jsme neměli dostatek materiálu (RNA) pro následné vyšetření metodou 5' RACE a/nebo NGS. U všech vyšetřených pacientů (76) jsme detekovali vysokou hladinu exprese translokované části genu ALK s mediánem 69462 kopií, kterou jsme u 33 pacientů využili ke sledování MRN bez ohledu na přítomný fúzní gen v době diagnózy. Celkem jsme vyšetřili 438 reziduálních vzorků (153x kostní dřeň, 273x periferní krev, 12x mozkomíšni mok) s mediánem doby sledování 840 dnů. Hladina MRN korelovala s klinickým průběhem onemocnění. Dětské pacienty byli léčeni dle ALCL99 protokolu, relabující pacienti podstoupili léčbu vinblastinem. U pacienta s druhým relapsem onemocnění po alogení transplantaci kostní dřeně byla využita cílená léčba ALK inhibitorem (Crizotinib). Molekulární diagnostika umožňuje detekovat translokační partnery genu ALK u ALK pozitivního ALCL. Kvantitativní detekce exprese translokované části genu ALK slouží jak k diagnostice ALK pozitivních ALCL, tak ke sledování MRN. Podpořeno projektem Ministerstva zdravotnictví koncepčního rozvoje výzkumné organizace 00064203 FN MOTOL.

Symptomatic osteonecrosis as a treatment complication in Hodgkin lymphoma patients: An analysis of the German Hodgkin Study Group (GHSg)

Marková J., Borchmann S., Móciková H., Gahérová L., Král Z., Šmardová L., Kozák T. (Interní hematologická klinika, FN Královské Vinohrady, Praha – CZE; First Department for Internal Medicine, University Hospital of Cologne, Cologne – Germany; IHOK, FN, Brno – Bohunice – CZE)

PURPOSE: The majority of patients with Hodgkin Lymphoma (HL) can be cured with stage and risk adapted first-line treatment today. Therefore, the current research focuses on reducing long-term sequelae of treatment. Osteonecrosis (ON) is a severe long-term complication of HL treatment which has so far not been systematically evaluated. Hence, we investigated incidence, risk factors and timing of ON in patients treated within the German Hodgkin Study Group (GHSg) trials. **PATIENTS AND METHODS:** We included all HL patients of the randomized GHSg trials HD10-15 and HD18, recruited between 05/1998 and 07/2014 and aged from 16 to 60 years. Incidence and timing of ON was analyzed with descriptive methods and the influence of age, sex, total cumulative corticosteroid dose and other potential risk factors estimated with logistic regression. **RESULTS:** Among 11,565 patients, 66 developed ON after first-line treatment, 83.3% (55/66 patients) within three years. The incidence of ON was 0.2% in early-stage HL (11/5,846 patients) and 1.0% in advanced-stage HL (55/5,719 patients). Out of total number of 66 patients with ON, there are 25 cases from the Czech Republic (38%). 6 are early-stage and 19 advanced-stage HL. Logistic regression revealed the total cumulative corticosteroid dose to be a strong risk factor ($P < 0.0001$) interacting with younger age ($P = 0.0223$). Male sex additionally increased the risk of ON ($P = 0.0313$). Other tested potential risk factors including obesity, IPS and radiotherapy did not improve the prognosis. **CONCLUSION:** The incidence of ON in HL critically depends on the applied cumulative dose of corticosteroids during treatment. Male sex and younger age additionally increase the risk of ON. Further development of current treatment protocols should aim to reduce the cumulative corticosteroid dose. The established risk factors can help to identify patients at risk. 1. Markova J, Zidka M, Feltl D, Mocikova H, Kozak T. Osteonecrosis as a Complication of Treating Hodgkin Lymphoma after BEACOPP Chemotherapy. *Ann of Oncol*, 2005, 16, suppl 5, abstr No 269, p 116. Poster. 9. ICML, 8. – 11. June, Lugano, Switzerland. 2. Borchmann S, Müller H, Haverkamp H, Baues C, Markova J, Hüttmann A, Glunz A, Fuchs M, Borchmann P, Engert A. Osteonecrosis after Treatment for Hodgkin Lymphoma, the German Hodgkin Study Group Experience. *Haematologica*, 2016, 101, Suppl. 1, 21st Congress of the EHA, Copenhagen, Denmark and *Haematologica*, 2016, 101, Suppl.5, poster 115, p. 62, 10 ISHL, Cologne, Germany. 3. Borchmann S, Müller H, Haverkamp H, Baues C, Markova J, Hüttmann A, Glunz A, Fuchs M, Borchmann P, Engert A. Symptomatic osteonecrosis as a treatment complication in Hodgkin lymphoma: an analysis of the German Hodgkin Study Group (GHSg). *Leukemia*. 2018, 32, Aug 21. doi: 10.1038/s41375-018-0240-8.

KONFERENCE ZDRAVOTNÍCH LABORANTŮ 2

Laboratorní diagnostika DOAC – teorie a praxe ve FN Plzeň

Šigutová P., Korelusová I., Bultasová L., Palátová J., Hajšmanová Z. (Ústav klinické biochemie a hematologie, FN a LF UK, Plzeň)

Cíl: Práce předkládá vlastní zkušenosti s monitorací léčby přímými orálními antitrombotiky (DOAC; direct oral anticoagulants). Přímé inhibitory trombinu nebo FXa jsou někdy označovány jako NOAC (new oral anticoagulants nebo také non vitamin K antagonists oral anticoagulants). Účinnost léčby je potřeba kontrolovat pouze za určitých situací: před invazivními neodkladnými výkony, při krvácení, při podezření na předávkování, před zvažováním podáním antidota, případně léčíme-li pacienta s poruchou ledvinových funkcí. **Metody:** V hematologické laboratoři ÚKBH FN Plzeň se od března 2012 stanovuje účinnost léčby přímým inhibitory trombinu dabigatranem pomocí diluovaného trombinového testu (dTt). Účinnost léčby přímými inhibitory FXa se vyšetřuje pomocí aktivity antiFXa vyjádřené koncentrací příslušného léku - v případě rivaroxabanu od dubna 2013 a apixabanu od května 2015. Je připravováno vyšetřování účinnosti edoxabanu, ale na toto stanovení vzhledem k menšímu rozšíření podávání léku v populaci zatím nebyl klinický požadavek. **Výsledky:** V práci se autorky zamýšlí nad množstvím

zbytečných požadavků na laboratorní testování léčby DOAC a zabývají se rozбором neindikovaných statimových požadavků tj. zrušených vyšetření na základě cílené konzultace hematologa. **Závěr:** Role hematologa při korekci požadavků kliniků je nezastupitelná: na jedné straně musí být zajištěna bezpečnost pacientů, na straně druhé je potřeba udržet racionální chod laboratoře z hlediska lidských zdrojů, financí a času. Nezbytnou součástí práce laboratorního týmu je proto neustálý kontakt s klinickými pracovníky (lékaři a sestrami) v preanalytické i postanalytické fázi laboratorní diagnostiky léčby DOAC.

Současná antikoagulační terapie a naše zkušenosti s jejím laboratorním monitorováním

Bůžková K., Pulcer M., Matuška M., Recová L. (Ústav laboratorní diagnostiky, Oddělení klinické hematologie, FN, Ostrava)

Statistiky posledních 13 let vypovídají o pozvolném snižování míry úmrtnosti na choroby oběhové soustavy, přesto tvořily nemoci srdce a cév v roce 2017 až 40% podíl na všech úmrtích v České republice. Trombóza postihující jak žilní tak tepenný systém je jednou z hlavních příčin nejen mortality ale i rozšířené vysoké morbiditativy v Evropě. Hemostáza je vysoce sofistikovaný ochranný mechanismus organismu nutný k přežití. Za určitých okolností může docházet k narušení rovnováhy v cirkulaci. Příznivý efekt fyziologických reparačních procesů pak přechází v patologickou aktivaci krevního srážení s případnou tvorbou trombů. Účelem léčebných opatření je tlumit prokoagulační tendence a tím předcházet vzniku trombotických komplikací. Nové poznatky koagulačních procesů, terapeutické požadavky a zkušenosti s klasickými antitrombotiky posunuly výzkum antikoagulační léčby v posledních 45 letech směrem k vývoji přímých i nepřímých inhibitorů trombinu a FXa. NOAC/DOAC jsou klinicky využívány posledních 10 let. Tato cílená antikoagulační léčba má řadu výhod určitá terapeutická úskalí. Obsahem našeho sdělení je přehled používaných antikoagulačních v současnosti. Věnovat se budeme především novějším antikoagulačním přípravkům, kterými jsou fondaparinux, dabigatran etexilát, apixaban, rivaroxaban a edoxaban. Kromě popisu léčiv, indikací a dalších terapeutických doporučení přikládáme své zkušenosti s laboratorním monitorováním. V rutinní koagulační laboratoři ve Fakultní nemocnici v Ostravě nabízíme lékařům od roku 2015 kromě základních rutinních testů také možnosti chromogenního stanovení plazmatických hladin těchto antitrombotik. Přestože dle doporučení není nutné nová antikoagulační monitorovat, za rok 2018 jsme vyšetřili 182 testů. Nejčastěji byla monitorována léčba rivaroxabanem.

Validace inhibice vlivu NOAC při koagulačních testech

Chalupníková P., Jačová J., Friedecký D., Pavlíková A., Nepochová D., Kupková P., Slavík L., Úlehlová J. (Hemato-onkologická klinika, FN a LF UP, Olomouc; Oddělení klinické biochemie, FN, Olomouc)

Nová perorální antikoagulační (NOAC), jsou přímými inhibitory koagulačních faktorů (gatranu – inhibitory FIIa a xabany – inhibitory FXa), což vede k ovlivnění řady koagulačních vyšetření. Všechny studie s NOAC prokázaly ovlivnění rutinních koagulačních testů, jako je PT a / nebo APTT, přičemž dabigatran ovlivňuje APTT více než PT a xabany ovlivňují PT více než APTT. Trombinový čas jako poslední ze screeningových testů je velmi citlivý na dabigatran, ale necitlivý na přípravky anti-FXa. Stanovení fibrinogenu není obvykle ovlivněno žádným NOAC, s výjimkou alternativních metodik. V souladu s relativními citlivostmi na PT a APTT jsou ovlivněny i stanovení koagulačních faktorů, jak vnitřní tak vnější cesty aktivace hemostázy. Nejlépe je interference popsána při stanovení lupus antikoagulant pomocí diluovaného jedu Russeovy zmije (dRVVT). Stejně tak je popsán vliv NOAC na stanovení trombofilních markerů. Cílem naší práce bylo potlačení vlivu NOAC na koagulační vyšetření použitím jejich selektivního vyvážení procedurou DOAC Stop. Procedura DOAC Stop je založena na selektivním vyvážování malých molekul léčiva na adsorbent, bez ovlivnění dalších parametrů stanovení. Za tímto účelem byla provedena validace této procedury pomocí funkčního stanovení specifickým testem a HPLC MS/MS stanovení zbytkové hladiny NOAC za použití vlastní nově vyvinuté metody. Stanovení bylo provedeno na souboru 60 pacientů léčených různými jednotlivými NOAC a to před vyvážáním inhibitoru a po eliminaci jeho účinku přípravkem DOAC Stop. Z porovnání všech výsledků koagulačních metod jsme prokázali plnou eliminaci vlivu NOAC na koagulační testy při použití specifického prostředku pro vyvážení a současně jsme stanovili zbytkovou hladinu léku, která je detekovatelná pouze HPLC MS/MS technikou.

47.

Komplikovaní pacienti v imunohepatologické laboratoři

Vodičková M., Kalmanová P., Holusková I., Galuszková D., Entrová A. (Transfúzní oddělení, FN, Olomouc)

Úvod: Úkolem Transfúzního oddělení FN Olomouc je mimo jiné i zajištění hemoterapie pro pacienty s komplikovaným imunohepatologickým nálezem, ať již nově zjištěným, či zjištěným v minulosti. Mezi pacienty s komplikovaným imunohepatologickým nálezem řadíme pacienty se specifickou antierytrocytární aloprotilátkou či směsí aloprotiláték, pacienty chronicky substituované erytrocytárními, trombocytárními či granulocytárními transfúzními přípravky (zejména hematologickými a dialyzovanými pacienty), pacienty s autoimunitní hemolytickou anémií, pacienty po transplantaci kostní dřeně či krvetvorných buněk a nově i pacienti s mnohočetným myelomem léčením monoklonální protilátkou (daratumumab). Součástí sdělení bude interpretace komplikovaných imunohepatologických nálezů u výše zmiňovaných pacientů. Materiál: krevní vzorek pacienta odebraný do K3EDTA Metodika: Součástí imunohepatologického vyšetření je vyšetření krevní skupiny ABO a RhD, screening nepravidelných tepelných antierytrocytárních protilátek a u předtransfúzního vyšetření ještě vlastní test kompatibility. V současné době se na našem oddělení rutinně vyšetření screeningu antierytrocytárních protilátek provádí metodou sloupcové aglutinace firmy BioRad manuálně nebo na analyzátoch TECHNO TwinStation a IH-500 System. V případě pozitivního screeningu protilátek následuje jejich identifikace a vyšetření fenotypu pacienta, popř. další testy (přímý antiglobulinový test, absorpce, eluce). Výběh vhodných erytrocytárních TP se vždy řídí doporučením transfúzního lékaře dle aktuálních výsledků imunohepatologických vyšetření. Závěr: U pacientů s komplikovaným imunohepatologickým nálezem je příprava transfúzních přípravků časově a organizačně náročná a klade velké nároky na personál, který předtransfúzní a specializované imunohepatologické vyšetření provádí. Vždy je naším cílem zajištění adekvátní a co neúčinnější hemoterapie a minimalizace erytrocytární aloimunitace.

OPORTUNNÍ INFEKCE

48.

Klinicky významné virové infekce u hematologických pacientů

Hubáček P. (Ústav lékařské mikrobiologie a Klinika dětské hematologie a onkologie, 2. LF UK a FN Motol, Praha)

Během posledních dvaceti let došlo k významnému posuvu v léčbě hematologických onemocnění; zvýšení účinnosti terapie je však často vykoupeno častějším výskytem jejich nežádoucích účinků jako jsou infekční komplikace. Z virových se pak může jednat jak o běžně se vyskytující infekce, které může pacient získat například během ambulantních kontrol a pobytu mimo nemocnici (např. respirační viry jako influenza, RSV, nebo viry gastroenteritid jako např. rotaviry, noroviry, adenoviry a apod.), stejně jako se mohou objevovat reaktivace virů latentně přítomných v organismu (typicky např. herpesviry, polyomaviry). Od roku 2002 jsme ve FN Motol detekovali přítomnost virů ve více jak 70000 biologických vzorcích od hematologických dospělých a dětských pacientů, většinou po alogenní transplantaci kmenových buněk krvetvorby (HSCT). V přednášce se pokusíme shrnout a na příkladech dokumentovat naši zkušenost s diagnostikou a léčbou zejména u infekcí respiračními viry, lidskými herpesviry a adenoviry. Mimo stupně poškození imunitního systému pak chceme demonstrovat zejména nutnost respektování biologického chování těchto virů pro správnou diagnostiku a léčbu těchto infekcí ať již v rámci kompartmentace virové nálože, délky virové proliferace a jeho vylučování, nebo rozvoje rezistence. Podpořeno MZ ČR – RVO, FN v Motole 00064203

49.

Virus-specifické lymfocyty (VSL) v léčbě infekčních komplikací po alogenní transplantaci krvetvorných buněk

Pytlík R., Viktorová D., Rahmatová Š., Kalina T., Konrádová Š., Moutelíková K., Vrbasová J., Vávrová M., Vydra J., Lesný P. (Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha; Fakultní nemocnice Motol, Praha)

Nákaza virovými infekcemi nebo jejich reaktivace patří mezi závažné události po alogenní transplantaci. Odhady incidence těchto infekcí se v různých pracích výrazně liší, dostupná literatura se však shoduje v tom, že virové infekce s prokázaným orgánovým postižením mají vysokou mortalitu – CMV pneumonitidy v 80%, adenovirové pneumonie 100%, encefalitidy až 80%, posttransplantační lymfoproliferace způsobené EBV kolem 50%. Riziko infekcí zvyšuje protilátkový mismatch (pozitivní pacient transplantovaný od negativního dárce), dětský věk, užití pupečnickové krve, ATG či jiná forma lymfodeplece a léčba nemoci štěpu proti hostiteli (zejména mykofenolát mofetilem či ruxolitinibem). Reaktivaci určitých virových infekcí (např. CMV) je možno předcházet monitorací a preventivním či preemtivním podáním virostatik, ev. rituximabu v případě EBV-asociovaných lymfoproliferací. Problémem je toxicita virostatik, možnost vzniku rezistence a to, že pro některá onemocnění (adenovirus, BK-virus) neexistuje všeobecně uznávaná protivirová léčba. Virus-specifické lymfocyty jsou v léčbě virových infekcí po alogenní transplantaci užívány již od 90. let minulého století. Existují dva základní způsoby přípravy – ex vivo expanze virus-specifických buněk či pouhá stimulace a selekce. Výhodou kultivace je možnost produkce většího množství buněk z chudšího vstupního materiálu a nižší cena, výhodou stimulace a selekce je rychlost procedury a existence uzavřených systémů, v nichž je možno připravovat buňky i v nižší třídě čistých prostor. Takovou platformu vyvinula firma Miltenyi Biotec pro přístroj CliniMACS Prodigy, kde dochází k aktivaci virus-specifických lymfocytů pomocí směsi krátkých peptidů příslušného antigenu (tedy bez HLA restrikce) a k jejich následné imunomagnetické selekci na podkladě cytokine-capture systému, který vybírá IFN- γ -gamma secernující T-lymfocyty. IFN- γ je na povrchu buněk zachycen primární protilátkou a na vzniklý komplex je navázána sekundární protilátka s imunomagnetickou partikulí. Uvedenou metodou jsme v ÚHKT připravili celkem šest produktů pro čtyři pacienty, ve všech případech šlo o CMV-specifické lymfocyty. Zdrojem VSL byli haploidentiční rodinní příslušníci, v jednom případě šlo o člena rodiny s nižší HLA shodou. Ve čtyřech případech se podařilo dosáhnout cílové dávky 104 buněk/kg. Podání preparátu bylo bez komplikací, avšak první virus-specifické lymfocyty se objevily až po několika týdnech. Hlavním problémem je správné načasování výroby a vysoká cena spotřebního materiálu (v současné době kolem 450 tis Kč na proceduru).

50.

Léčba CMV-specifickými T-lymfocyty u nemocného po alogenní transplantaci krvetvorných buněk s prokázaným virovým multiorgánovým postižením

Marková M., Rahmatová Š., Kalina T., Viktorová D., Kouba M., Lesný P., Pytlík R. (Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha; Fakultní nemocnice Motol, Praha)

Předmětem kazuistiky je 53-letý pacient transplantovaný v lednu 2016 pro myelodysplastický syndrom od HLA shodné nepřibuzné dárkyně s protilátkovým mismatchem (pacient CMV pozitivní, dárkyně CMV negativní). CMV reaktivace den +45 byla léčena valganciklovirem zpočátku s efektem, po podání systémových steroidů pro GvHD (den +90) však došlo k nárůstu CMV nálože s průkazem rezistence na ganciklovir. Přes léčbu foscavirem a cidofovirem došlo k rozvoji histologicky, resp. PCR potvrzených orgánových komplikací (CMV kolitida a pneumonitida). Den +219 a den +302 byly podány CMV-specifické T-lymfocyty od haploidentické dcery. Výraznější protivirová odpověď byla detekována až den +301, tedy 69 dní po prvním převodu (0.46% z CD8+ lymfocytů, absolutně 552/ml). Vzestup CMV specifických lymfocytů až na 7.8% z CD8+ lymfocytů (absolutně až 15 160/ml) byl doprovázen poklesem a posléze vymizením CMV kopií v periferní krvi. Tč. je pacient bez známek malignity i CMV infekce, v dobrém celkovém stavu, avšak v chronickém dialyzačním programu pro selhání ledvin způsobené virostatiky a cyklosporinem. Diskutován bude podíl jednotlivých intervencí na celkovém výsledku léčby, správné načasování buněčné terapie a její nákladová efektivita.

Toxoplasmosa – podceňovaná oportunní infekce v hematologii?

Raida L., Sztokowska R., Rusiňáková Z., Kuba A., Urbanová R., Bartková M. (Hemato-onkologická klinika, FN a LF UP, Olomouc; Ústav mikrobiologie, FN a LF UP, Olomouc)

Infekce způsobená intracelulárním protozoárním parazitem *Toxoplasma gondii* může představovat život ohrožující komplikaci u imunokompromitovaných jedinců, mezi které patří i řada primárně hematologicky nemocných. Parazitární cysty perzistující latentně v různých tkáních (svaly, sítnice, mozek aj.) hostitele, se v situacích selhávající imunity reaktivují a dochází k orgánové diseminaci. Nedostatečná Th1 imunitní odpověď není spojena pouze s HIV infekcí, ale také s imunosupresivní léčbou, včetně transplantace krvetvorných buněk (HCT). Přestože významné množství hematologických pacientů trpí těžkou alterací imunity a různé oportunní infekce jsou časté, případy toxoplasmosy jsou referovány relativně vzácně (obvykle po alogenních HCT, některé dokonce až na základě autopsie), a to i přes nezanedbatelnou séroprevalenci v dospělé populaci. Nabízí se otázka, zda není její diagnóza u řady non-HIV, mj. i hematologických, pacientů opomíjena? Klinické symptomy toxoplasmové infekce u imunokompromitovaného pacienta jsou obvykle nespecifické, měnlivé, vyvíjejí se. Sérologická diagnostika není u jedinců se selhávající imunitou spolehlivá, ale sama detekce IgG protilátek přináší důležitou informaci, že je nutno s reaktivací toxoplasmosy počítat. Stanovení diagnózy se v současnosti obvykle opírá o stanovení parazitární DNA v biologickém materiálu (krev, mozkomíšni mok, tekutina z bronchoalveolární laváže nebo jakákoliv biopsovaná tkáň) pomocí PCR. Avšak ani negativita z hlediska detekce toxoplasmové DNA diagnózu této infekce jednoznačně nevylučuje. Je třeba zvážit serologický status nemocného, závažnost jeho imunodeficitu, klinický obraz a výsledky dalších, např. zobrazovacích, vyšetření (MRI mozku). V rámci sdělení budou prezentovány příklady aktivace toxoplasmové infekce (většinou s dominujícím CNS postižením) u nemocných, kteří byli primárně sledováni, léčeni a transplantováni pro různá hematologická onemocnění. DemonstrOVány budou zejména diagnostické problémy a v některých případech i nezbytnost empirické léčby.

MNOHOČETNÝ MYELOM**Je možné vyléčit nemocné s mnohočetným myelomem? Ano!**

Hájek R. (Klinika hematooonkologie, FN, Ostrava)

abstrakt nedodán

Je možné vyléčit nemocné s mnohočetným myelomem? Ne!

Pour L. (IHOK, FN, Brno – Bohunice)

Větou „Mnohočetný myelom tvoří 10% hematologických malignit a přes pokroky v léčbě v poslední době zůstává stále nevyléčitelnou nemocí“ začínala většina publikací o této chorobě v letech minulých. Otázka zda je myelom vyléčitelný je pro pacienty zásadní. Názory odborníků jsou velmi rozdílné. Shodují se, ale jednoznačně v několika faktech. 1) Bez dosažení co nejhlubší léčebné odpovědi není možné dosáhnout vyléčení. 2) Mnohočetný myelom je velice heterogenní onemocnění s velice širokým klinickým obrazem. 3) Nejsou známy jednoznačné prediktivní faktory předpovídající efektivitu jednotlivých léků z široké palety možných léčebných kombinací. Mnohočetný myelom je onemocnění vyššího věku s mediánem výskytu okolo 65 roku věku. I nové léky s sebou nesou někdy významnou toxicitu a je otázkou zda zejména u starších nemocných je opravdu klíčové dosáhnout negativitu minimální reziduální nemoci za „každou cenu“ s výrazným snížením kvality života. Z každodenní praxe jsou známy příklady nemocných v dlouhodobé např. i desetileté remisi, kteří i po takto dlouhé době fulminantně zprogredovali. Známe případy nemocných bez vstupních negativních prognostických faktorů, kteří nereagují na žádnou dostupnou léčbu, a jejich celkové přežití je výrazně zkráceno. Naopak existují nemocní, jež nedosáhli kompletní remise, a přesto dlouhodobě přežívají bez léčby. V posledních letech se registrují nové a nové léky. Nové a nové

léčebné kombinace. Faktem, ale zůstává, že u všech těchto studií je dříve či později dosažen medián celkového přežití. Tento medián se samozřejmě výrazně prodlužuje, ale pro drtivou většinu nemocných zůstává myelom nevyléčitelnou chorobou, i když s výborně kontrolovaným průběhem.

Je u myelomu nutná kompletní remise a MRD negativita? Ano!

Jelínek T. (Klinika hematooonkologie, FN, Ostrava)

Tradiční kritéria léčebné odpovědi u mnohočetného myelomu (MM) byly založeny na hodnocení koncentrace paraproteínu v séru nebo v moči pomocí klasické elektroforézy nebo imunofixace, jakožto ukazatelů odražejících nálož maligních plasmatických buněk. Původní definice kompletní remise (CR) vyžadovala negativní imunifaxici a méně než 5% plasmatických buněk v kostní dřeni plus vymizení extramedulárních lézí. Tato definice byla poté více upřesněna na tzv. stringentní kompletní remisi, k jejíž dosažení byla nutná normalizace poměru volných lehkých řetězců (FLC ratio) v séru a nepřítomnost klonálních plasmatických buněk v kostní dřeni vyšetřených pomocí imunohistochemie. V současnosti je známo, že existuje jednoznačný vztah mezi hloubkou léčebné odpovědi (zejména dosažením CR) a prodloužením doby do progresu (PFS) a celkového přežití (OS). Tento koncept, tedy čím hlubší léčebná odpověď, tím delší přežití pacienta, je validní u naprosté většiny myelomových pacientů. Nedávný pokrok v léčebných možnostech u MM, kdy více než polovina pacientů dosahuje CR, vedl k nutnosti zavedení nových vysoce senzitivních technik, které jsou schopny detekovat velmi malé množství zbylých klonálních plasmatických buněk v kostní dřeni, tj. minimální reziduální nemoc (MRD). Základními metodami k evaluaci MRD jsou dle doporučení IMWG z roku 2016: i) flow cytometrie nové generace nebo ii) sekvenování nové generace, obojí se sensitivitou minimálně 10e-5, které jsou schopny detekovat 1 klonální plasmatickou buňku mezi 100 000 buňkami kostní dřene. Bylo jednoznačně prokázáno, že MRD negativní stav je nejsilnější prognostický ukazatel stran PFS i OS a to jak u nově diagnostikovaných, tak u relabovaných MM pacientů. Lahuerta et al. publikoval v roce 2017 velmi důležitou práci, ve které prokázal, že dosažení CR bez MRD negativity je prognosticky stejně jako dosažení pouze parciální remise (PR). Dosažení CR a MRD negativního stavu by mělo být základním imperativem moderní léčby mnohočetného myelomu, jejímž cílem je tzv. Operational cure – neboli vyléčení nemocného.

Je u myelomu nutná kompletní remise a MRD negativita? Ne!

Pavlíček P. (Interní hematologická klinika, FN Královské Vinohrady, Praha)

Dosažení MRD negativity se zdá být samozřejmým cílem léčby MM, vždyť čím méně myelomových buněk v těle pacienta zbývá, tím větší může být šance na dlouhodobou léčebnou odpověď. Otázkou zůstává, jakou léčebnou strategii zvolit u pacientů, u kterých se nám MRD nedaří dosáhnout. Mnohočetný myelom je choroba, která svým charakterem a klinickými projevy tvoří spíše heterogenní plejádu onemocnění. Tzv. klonální teorie zároveň upozorňuje, že heterogenita se týká nejen chorob jednotlivých pacientů, ale i různých subklonů této choroby u jednoho pacienta. Situaci dále komplikuje skutečnost, že tyto subklony navzájem interagují, a to nejen ve smyslu podpory, ale i možné vzájemné kompetice. Z klonálního modelu plyne, že interpretace statistických výsledků klinických studií může být komplikovanější, než je na první pohled patrné. Pokud skupina pacientů s MM podstoupí léčbu a zároveň nejlepších dlouhodobých výsledků dosáhnou ti, u kterých prokážeme MRD negativitu, neplyne nutně z této skutečnosti závěr, že MRD negativita je nezbytným cílem i u ostatních pacientů. Klinická zkušenost dále potvrzuje, že stabilizovaná populace neagresivního klonu MM nevyžaduje vždy léčbu (MGUS-like MM). Dalším aspektem, ovlivňujícím průběh onemocnění pacienta, je imunitní odpověď jeho organismu. Jak ve své studii dokázala např. studie Pessoa de Magalhães (2013), dlouhodobá kontrola choroby není omezena na pacienty v kompletní remisi. Tuto skutečnost studie vysvětluje souborem pozitivních imunitních změn, které se u těchto pacientů podařilo prokázat. Na základě těchto informací se zdá pravděpodobné, že vhodnou léčebnou strategii u pacienta s mnohočetným myelomem je nutno hledat nejen s ohledem na maximální parciální léčebnou odpověď, ale i s přihlédnutím na klinickou charakteristiku a chování pacientovy konkrétní „klonální směsi“.

CHRONICKÁ LYMFOCYTÁRNÍ LEUKÉMIE

56. Secondary malignant neoplasms in the CLL population in the Czech Republic – results from CONCLUDE study (Consequences of CLL – a Study on United Database in Eastern Europe)

Doubek M., Špaček M., Kósa F., Takács P., Koritáková E., Nečasová T., Nováčková M., Chrápavá M. (IHOK, FN Brno – Bohunice; I. Interní klinika – klinika hematologie, VFN, Praha; Janssen Global Commercial Strategy Organization; Institut biostatistiky a analýz, s.r.o., Brno)

Background: Secondary malignancies occurring in patients with chronic lymphocytic leukaemia (CLL) represent a well-known, but insufficiently investigated area. The aim was to determine incidence and time to development of secondary malignant neoplasms in relation to patient and CLL therapy characteristics. Material and Methods: Multicentric, real-world evidence, retrospective data of adult patients with newly diagnosed CLL within the period of January 2007 - September 2017 in the University Hospital Brno and the General University Hospital in Prague were analysed. The elapsed time between the CLL diagnosis and the first occurrence of any secondary malignant neoplasm was modelled by Kaplan-Meier survival curves, and the effect of the patient and therapy characteristics on risk of secondary malignancy occurrence was analysed by Cox proportional hazards model. Results: In total, 3574 patients (61.5% males; 7.7% younger than 50 years; 11.2% treated with first line FCR and 15.2% treated with other first line treatment) were analysed. Secondary malignant neoplasms occurred within the follow-up period in 22.9% cases (818 patients; 62.2% males; 15.9% treated with first line FCR and 24.0% treated with other first line treatment). The most common firstly occurring secondary malignancies were leukaemia (C91-C95; 289 patients; 8.1%), non-Hodgkin lymphoma (C82-C86; 269 patients; 7.5%), multiple myeloma (C90; 98 patients; 2.7%), myelodysplastic syndromes (D46; 63 patients; 1.8%), Hodgkin lymphoma (C81; 60 patients; 1.7%), and non-melanoma skin cancer (C44; 44 patients; 1.2%). Estimated 5-year survival without any secondary malignant neoplasm was 73.1%. Patients younger than 50 years had 2.1 times higher risk of occurrence of secondary malignant neoplasm than patients aged 50-59 years ($p < 0.001$). Patients treated with FCR and other treatment had 1.6 times and 2.1 times higher risk than untreated patients, respectively (both p -values < 0.001). Conclusion: Secondary malignant neoplasms occurred in more than one fifth of CLL patients in the 10 year retrospective study. Younger age and treatment were negative prognostic factors for the occurrence of secondary malignant neoplasms.

57. Volba režimu chemoimunoterapie u dosud neléčených starších a/nebo komorbidních nemocných s chronickou lymfocytární leukémií: analýza účinnosti a bezpečnosti z běžné klinické praxe

Smolej L., Šimkovič M., Vodárek P., Motyčková M., Štěpánková P., Sýkorová A., Pospíšková J., Vosáhlavá V., Belada D., Žák P. (IV. interní hematologická klinika, FN, Hradec Králové)

Úvod: U starších a/nebo významně komorbidních nemocných s dosud neléčenou chronickou lymfocytární leukémií máme v současné době k dispozici několik kvalitních protokolů chemoimunoterapie. Jde zejména o kombinace bendamustin + rituximab (BR), fludarabin + cyklofosfamid + rituximab s redukcí dávek chemoterapie (low-dose FCR, LDFCR), obinutuzumab + chlorambucil (G-CLB) a rituximab + chlorambucil (R-CLB). Problémem však může být volba specifického protokolu u konkrétního nemocného, neboť prakticky neexistují data porovnávající tyto léčebné možnosti v rámci běžné praxe, zejména s ohledem na celkový stav nemocného, přidružené choroby a funkci ledvin. Cíle studie: Hodnocení účinnosti a bezpečnosti léčby 1. linie u nemocných s CLL ve vyšším věku a/nebo se závažnými přidruženými onemocněními. Nemocní a metodiky: Od ledna 2011 do prosince 2018 byla na IV. interní hematologické klinice FN Hradec Králové zahájena chemoimunoterapie v 1. linii u 131 nemocných s CLL indikovaných k terapii dle IWCLL kritérií a zároveň nevhodných k léčbě plnodávkovaným protokolem FCR z důvodu vyššího věku, snížené funkce ledvin a / nebo významných přidružených chorob. Léčba sestávala z režimů BR (n=45, bendamustin 90 mg/m² D2-3 v cyklu 1, D1-2 v cyklech 2-6), LDFCR (n=37,

fludarabin 20 mg/m² p.o. a cyklofosfamid 150 mg/m² p.o. D2-4 v cyklu 1, D1-3 v cyklu 2-6); R-CLB (n=31, chlorambucil 10 mg/m² p.o. D1-7, max. 12 cyklů) a G-CLB (n=18, obinutuzumab 1000 mg i.v. D1, 8, 15 v cyklu 1, dále 1000 mg i.v. D1 v cyklech 2-6; chlorambucil 0,5 mg/kg p.o. D1 a 15, max. 6 cyklů). Dávka rituximabu v režimech BR, LDFCR a R-CLB byla obvyklá pro CLL (375 mg/m² i.v. D2 v 1. cyklu, 500 mg/m² i.v. D1 v cyklech 2-6). Cykly byly opakovány po 4 týdnech. Přidružená onemocnění byla hodnocena dle systému Cumulative Illness Rating Scale (CIRS; významně komorbidní nemocní definováni dle skóre ≥ 7); clearance kreatininu byla vypočtena dle Cockcroft-Gaultovy rovnice. V rámci stagingu a restagingu byla vždy použita k posouzení abdominální lymfadenopatie minimálně ultrasonografie břicha, u části nemocných CT hrudníku a břicha. Výsledky: Základní charakteristiky nemocných v jednotlivých skupinách jsou uvedeny v tabulce 1. Protokoly BR a LDFCR byly srovnatelné z hlediska věku, celkového stavu, komorbidit i renálních funkcí; porovnání účinnosti léčby je ztíženo nerovnoměrným zastoupením prognostických ukazatelů (významně více nemocných s pokročilými klinickými stádii a delecí 17p ve skupině BR, naopak významně častější nemutované IGHV geny a delecce 11q ve skupině LDFCR). Z hlediska chlorambucilových protokolů byli nemocní léčení protokolem R-CLB významně starší, s vyšším skóre komorbidit, s častějším výskytem nemutovaných IGHV a nepříznivé cytogenetiky. Na základě intention-to-treat principu byla celková léčebná odpověď/kompletní remise (ORR/CR, včetně CR s nekompletní obnovou krevního obrazu) u protokolů BR, LDFCR, G-CLB a R-CLB 80/33 %, 73/22 %, 83/28 % a 74/23 %. Závažná (CTCAE stupeň III/IV) neutropenie byla srovnatelná u protokolů BR, LDFCR a G-CLB (55 vs. 54 vs 50 %), výrazně nižší u R-CLB (25 %). Závažné infekce (st. III-V) se rozvinuly u 9, 11, 22, resp. 18 % nemocných. Závěr: Výsledky této retrospektivní studie ukazují, že chemoimunoterapie představuje účinnou a bezpečnou možnost léčby 1. linie u starších a / nebo komorbidních nemocných s CLL, zejména pokud je intenzita léčby přizpůsobena celkovému stavu, renálními funkcím a přidruženým chorobám. Budou prezentována aktualizovaná data včetně dat týkajících se minimální zbytkové choroby, období do progresu a celkového přežití. Podpořeno programem PROGRES Q40/08 a RVO MZ ČR (FNHK, 00179906).

	BR n=45	LDFCR n=37	G-CLB n=18	R-CLB n=31
Věk, medián (rozmezí)	68 (54-77)	70 (67,7-70,8)	75 (70-81)	79 (64-88)
Muži, %	56	78	39	61
Výkonnostní stav dle 0-1 dle ECOG, %	82	86	78	81
Celkové CIRS skóre, medián (rozmezí)	9 (5-16)	8 (4-14)	8 (5-16)	11 (5-22)
Clearance kreatininu (ml/min.), průměr (95% IS)	85,4 (77,1-93,8)	74,4 (66,1-82,3)	64,5 (58,8-70,1)	60,7 (53,6-67,9)
Klinické stádium Rai III/IV, %	76	64	67	52
Nemutované IGHV geny (z vyšetřených pac.), %	72	91	50	82
Delecce 11q (z vyšetřených pac.), %	16	31	25	17
Delecce 17p (z vyšetřených pac.), %	16	8	8	17
Medián podaných cyklů (rozmezí)	6 (1-6)	5 (1-6)	6 (1-6)	6 (1-8)
Celková léčebná odpověď, %	80	73	83	74
Kompletní remise + CRi, %	33	22	28	23
Stabilní choroba / progres, %	11	13	11	23
Nehodnotitelná léčebná odpověď, %	9	14	6	3
Neutropenie stupně III/IV, %	55	54	50	25
Infekce stupně III-V, %	9	11	22	13

58. Recent results of reduced-intensity transplantation in patients with high-risk or advanced chronic lymphocytic leukemia in era of CLL targeted treatment - single centre experience 2013-2018

Karas M., Steinerová K., Hrabětová M., Šrámek J., Lysák D., Jungová A., Jindra P. (Hematoonkologické oddělení, FN, Plzeň)

Background: allogeneic hematopoietic stem cell transplantation is the only documented curative treatment of chronic lymphocytic leukemia (CLL) however with historically reported higher transplant-related morbidity and mortality. New targeted drugs dramatically improved the results of high-risk CLL treatment, leading to a decrease in the number of CLL transplanted patients (pts). In recent years outcome of RIT has also improved, but actual published results in CLL patients are limited. To evaluate the current results of RIT for CLL we retrospectively analysed the results of pts with CLL transplanted in our centre during last 5 years and we also tried to compare these results with our historical results and published EBMT results in period 2000-2010. Patients and methods: from 6/2013 to 6/2018 20 consecutive pts with median of age 61 years (range: 36-68 years) with high-risk or advanced CLL (17p-/p53 mutation, chemoresistant CLL including 3 pts resistant to BCRi, relapse \leq 24 moths, \geq 3 treatment lines) underwent RIT. Donors were in 25% HLA identical related, in 60% HLA matched unrelated and in 15% HLA mismatched unrelated. HCT-CI \geq 3 was in 20% of pts. Source of stem cells was peripheral blood in 80% and bone marrow in 20% of pts. The median of infused CD 34+ cells was $5,4 \times 10^6$ /kg ($2,05-16,34 \times 10^6$ /kg). The conditioning regimen consisted of fludarabine and melphalan +/- ATG in unrelated donor. GVHD prophylaxis were cyclosporine and methotrexate. Results: all pts engrafted. None of 3 pts in CR before RIT progressed at day +30 after RIT and among 17 pts beyond CR before RIT all of them achieved at least PR at day +30 after RIT. 13 pts (65%) developed acute GVHD (2 pts grade III-IV) and among 19 evaluable pts 10 (53%) of them developed chronic GVHD (6 mild, 2 moderate, 2 severe). With median follow-up 50 months (range 6-63 months) 15 pts (75%) are alive in CR. 3 pts (15%) relapsed or progressed 5, 19 and 21 months after RIT and 2 of them died. Last relapsed patient achieved next CR after ibrutinib. 3 pts (15%) died due to NRM. NRM till day +100 after RIT was 5%. The estimated probabilities of 2-years current GRFS, PFS and OS are 55%, 73% and 83%. Conclusion: in spite of relatively small number of evaluated pts and retrospective type of analysis our data show that RIT in pts with high-risk or advanced CLL has achieved promising results (2- and 5- years PFS and OS 73% and 55% resp. 83% and 57%) in recent years and these results seem to be better than outcomes of our historical patient cohort from period 2000-2012 (2- and 5-years PFS 41% and 26% resp. OS 56% and 35%, $p=0,009$) or EBMT published data of pts transplanted for CLL in period 2000-2010 (2- and 5-years PFS 49% and 35% resp. OS 62% and 45%). Current results of transplantation should be taken into account in our future decision-making process on indications for transplantation in patients with high-risk CLL, of course also in the context of new or updated results of targeted CLL treatment and its complications.

59. Analýza profilu chemokininových receptorů na CD5high a CD5low neoplastických klonách prokázala rozdíly v CXCR3 a CXCR5 expresi mezi pacienty s chronickou lymfocytární leukémií s IgHVmut a IgHVnemut stavem

Gabčová G., Manukyan G., Papajík T., Mikulková Z., Urbanová R., Kudělka M., Šmotková Kraicová V., Zehnalová Š., Divoká M., Turcsányi P., Kriegová E. (Ústav imunologie, FN, Olomouc; Hemato-onkologická klinika, LF UP a FN, Olomouc; Fakulta elektrotechniky a informatiky, VŠB TUO, Ostrava)

ÚVOD: Existuje stále více důkazů o heterogenitě neoplastických buněk u chronické lymfocytární leukemie (CLL), které se liší expresí CD5 znaku a proliferační kapacitou. Přesto nejsou CD5high a CD5low subpopulace CLL buněk dostatečně charakterizované, a to zejména u podskupiny pacientů s mutovaným a nemutovaným IgHV lišících se prognózou. CÍL: Studovat expresi chemokininových receptorů a adhezivních molekul exprimovaných na CD5high a CD5low neoplastických klonách v periferní krvi CLL pacientů a podskupinách pacientů dle IgHV mutačního stavu. PACIENTI A METODY: Do studie bylo zařazeno 60 CLL pacientů, subanalýza byla provedena u podskupin

pacientů dle IgHV mutačního stavu (IgHVmut, $n=24$; IgHVnemut, $n=36$). Chemokininové receptory (CCR5, CCR7, CCR10, CXCR3, CXCR4, CXCR5) a adhezivní molekuly (CD54, CD62L, CD49d) na CD5high a CD5low subpopulacích neoplastických buněk, stanovených dle exprese CD5/CD19, byly analyzovány v periferní krvi pomocí 6-barevné průtokové cytometrie (BD FACSCanto II, Becton Dickinson). Multivariační síťová analýza byla použita k analýze dat. VÝSLEDKY: Subpopulace CD5high CLL buněk vykazovala vyšší expresi CXCR3 ($P<0,001$), CXCR5 ($P=0,005$), CCR7 ($P=0,013$), CCR10 ($P=0,001$) a CD62L ($P=0,031$) v porovnání s CD5low subpopulací, která se vyznačovala zvýšenou expresí CXCR4 ($P<0,001$). Porovnání expresních profilů u podskupin pacientů s IgHVmut a IgHVnemut stavem prokázalo vyšší expresi CXCR3 a CXCR5 na celé neoplastické populaci, stejně jako u CD5high a CD5low subpopulacích, u IgHVmut pacientů s dobrou prognózou. Analýza pomocí multivariačních podobnostních sítí potvrdila rozdíly mezi expresním profilem CXCR3, CXCR4, CXCR5 a CCR7 mezi IgHVmut a IgHVnemut pacienty, které bylo evidentní zejména na CD5low buňkách. ZÁVĚR: Naše studie prokázala vyšší expresi chemokininových receptorů CXCR3 a CXCR5 na obou subpopulacích CD5high a CD5low neoplastických buněk u pacientů s IgHVmut ve srovnání s IgHVnemut. Studium role CXCR3 i CXCR5 a jejich vztah k prognóze onemocnění bude předmětem dalšího výzkumu. GRANTY: MZ ČR VES16-32339A, IGA UP_2019_014, IGA_LF_2019_001, MH CZ-DRO (FNOL, 00098892)

60. Srovnání počtu a alelické četnosti mutací genu TP53 u pacientů před první terapií a pacientů s relabující/refrakterní chronickou lymfocytární leukémií

Vonková B., Pavlová Š., Malčíková J., Kotašková J., Plevová K., Ženatová M., Hynšt J., Panovská A., Brychtová Y., Doubek M., Tichý B., Pál K., Mayer J., Pospíšilová Š. (IHOK, FN, Brno – Bohunice; CEITEC, MU, Brno)

Úvod: I přes přibývající poznatky o patogenezi a zavedení nových léčiv patří chronická lymfocytární leukemie (CLL) stále mezi nevléčitelná onemocnění. Jedním z nejvýznamnějších prognostických a prediktivních ukazatelů je mutační status TP53, tento gen je doporučeno analyzovat před každou terapií. Je známo, že varianty s nízkou alelickou četností (VAF) mohou podléhat selektivnímu tlaku terapie a jejich expanze na úkor nemutované populace vede k progresi onemocnění. Sekvenování nové generace (NGS), které má limit detekce výrazně nižší než Sangerovo sekvenování, poukázalo na velkou heterogenitu a dynamiku v počtu a velikosti mutovaných klonů. CÍL: Srovnání počtu a VAF mutací TP53 u pacientů (1) před započítím 1. terapie a (2) v pokročilé fázi onemocnění před nasazením terapie BCR/bcl-2 inhibitory u pacientů relabujících či rezistentních na standardní chemo(imuno)terapii (R/R CLL). Soubor a metody: Dvě skupiny vzorků od pacientů s CLL léčebných na IHOK FN Brno v období 4/2013 až 6/2018: (1) vzorky od 295 pacientů před vstupem do 1. terapie, (2) vzorky od 82 R/R pacientů před zahájením léčby inhibitory. Pro párové srovnání byly využity starší odběry nad rámec těchto skupin. Analýza TP53: Amplikonové NGS pokrývající kódující oblast genu (exony 2-11 + sestřihová místa) s využitím Nextera XT Library Preparation kitu na přístroji MiSeq. Vyhledávání variant $\geq 0,1$ % pomocí zavedených bioinformatických postupů. Část pacientů s TP53 mutací > 80 % byla vyšetřena pomocí Sangerova sekvenování. V obou skupinách byli pacienti rozděleni následovně: podskupina pacientů s mutací TP53 > 10 % VAF (dále pacienti nesoucí mutaci $> 10\%$), pacienti s mutacemi 0,1-10 % VAF (dále pacienti s minoritními mutacemi) a pacienti, u kterých nebyla mutace TP53 nalezena (dále wild-type pacienti). Výsledky: Mezi pacienty vstupujícími do 1. terapie (skupina 1) neslo 27 z 295 (9 %) pacientů mutací $> 10\%$ (medián mutace s nejvyšší VAF 50 %), 208 pacientů bylo označeno jako wild-type (70 %), 60 pacientů neslo minoritní mutace (20 %; medián mutace s nejvyšší VAF 0,4 %). Ve skupině pacientů s minoritními mutacemi převažovali pacienti s jedinou mutací (51 pacientů; 85 %), rozsah počtu mutací 1 až 27, medián 1/průměr 1,8 mutace na pacienta. Oproti tomu, skupinu R/R CLL (2) tvořilo 38 pacientů (46 %) s mutací $> 10\%$, 23 wild-type pacientů (28 %) a 21 pacientů (26 %) s minoritními mutacemi (medián mutace s nejvyšší VAF 2 %). Ve skupině s minoritními mutacemi převažovali pacienti s více mutacemi, jediná mutace byla nalezena u 8 pacientů (38 %), rozsah počtu mutací 1 až 36, medián 6/průměr 10 mutací na pacienta. Od 49 z 59 R/R pacientů s mutací $> 10\%$ či s minoritní mutací byl dostupný odběr z doby před 1. terapií. Ze 35 R/R pacientů nesoucích mutací $> 10\%$ byly před nasazením 1. terapie přítomny minoritní mutace u 8 pacientů (23 %) a žádná TP53 mutace nebyla nalezena u 5 pacientů (14 %). U zbylých 22 pacientů (63 %) byla přítomna mutace $> 10\%$ již před

nasazením 1. terapie. Ze skupiny R/R pacientů s minoritními mutacemi (14 pacientů) nebyla u většiny pacientů před 1. terapií přítomná žádná mutace (11/14; 79 %), u 3 pacientů (21 %) byly minoritní mutace přítomny. Závěr: Ve skupině R/R CLL pacientů bylo ve shodě s publikovanými daty zjištěno signifikantně vyšší zastoupení pacientů s TP53 mutací ($P < 0,0001$). Pro mutace pod 10 % platí, že u R/R CLL jsme pozorovali jak výrazně vyšší počet mutací u jednotlivých pacientů ($P < 0,0001$), tak i jejich vyšší alelickou četnost. Toto pozorování odpovídalo vývoji mutačního statusu u individuálních pacientů. Zvyšující se podíl klonů s TP53 mutacemi v pokročilých fázích onemocnění koresponduje s všeobecně přijímaným předpokladem, že chemo(imuno)terapie zvýhodňuje buňky s inaktivním p53. Podpořeno z projektu: MZCR-RVO 65269705 a MUNI/A/1105/2018, MZCR-AZV NV19-03-00091.

MORFOLOGIE

61. Chronická myelomonocytární leukémie – současný pohled na diagnostiku onemocnění

Rohoň P., Machová R., Lapčíková A., Juráňová J. (Hemato-onkologická klinika, FN a LF UP a Ústav lékařské genetiky, FN a LF UP, Olomouc)

Chronická myelomonocytární leukémie (CMML) je klonální onemocnění krvetvorby, které nese znaky myelodysplastických i myeloproliferativních chorob. Základním rysem je perzistující (> 3 měsíce trvající) periferní monocytóza ($\geq 1 \times 10^9/L$). CMML je vzácné onemocnění, typicky se vyskytuje u starších osob (medián věku při diagnóze je 70-74 let, častější je postižení mužů). U části pacientů (~ 20 %) nemoc přechází do akutní myeloidní leukémie. CMML má široké spektrum klinických projevů – částečně jsou odrazem (bi)cytopenie, může být přítomná (hepato)splenomegalie, orgánové infiltrace monocytů a konstituční příznaky. Hodnocení morfoloického obrazu CMML je náročné – diferenciace monocytových forem u zdravých osob, reaktivních změn a leukemické proliferace. Neexistuje jeden specifický nálezný, který by s určitostí potvrdil toto onemocnění. Periferní monocytóza ukazuje přítomnost atypických monocytů nebo mladších prekurzorů. Aspirát kostní dřeně je nejčastěji hypercelulární s granulomonocytární hyperplázií a různě vyjádřenou dysplázií. U části pacientů lze nalézt mikromegakaryocyty. Otázka správného určení jednotlivých monocytových variant a blastových ekvivalentů je předmětem diskuzí. Cílem sdělení je poukázat na diagnostické možnosti i limity u CMML, popis konkrétních diagnostických případů a celkový pohled na vznik nemoci. Práce byla podpořena grantem IGA_LF_2019_001.

62. Pancytopenie

Šimečková R. (Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha)

Za pancytopenii označujeme stav, kdy v periferní krvi dochází k poklesu počtu všech typů krevních buněk pod dolní hranici normy. Příčin může být mnoho, vždy je nutné vyloučit hematologickou malignitu, dále klonální onemocnění krvetvorby, útlum krvetvorby, vrozená onemocnění, deficit vitamínu B12 a kyseliny listové, sekundární postižení kostní dřeně při jiné malignitě, chronické infekce, ale i některá méně častá onemocnění - hemofagocytární syndrom, syndrom získaného selhání imunity, systémový lupus erythematosus i některé otravy. Vždy je nutné pečlivě zhodnotit krevního obrazu, posouzení nátěru periferní krve, vyšetření kostní dřeně doplněné cytochemickým a histologickým vyšetřením, imunofenotypizační vyšetření, cytogenetické a molekulárně genetické vyšetření. Ve sdělení se formou několika kazuistik zaměříme na diferenciální diagnostiku pancytopenie.

63. Dysplastic features in non-clonal diseases

Zini G. (Blood Bank, UNICATT Cord Blood Bank, Fondazione Policlinico Universitario A. Gemelli IRCCS, Università Cattolica del Sacro Cuore, Roma – Italy)

abstrakt nedodán

MONOKLONÁLNÍ GAMAPATIE

64. Mnohočetný myelom – vliv deprese a anxiety na průběh nemoci

Adam Z., Klimeš J. (IHOK, FN Brno-Bohunice; Soukromá psychologická ambulance, Praha – Újezd nad Lesy)

Setkání s maligní nemocí je provázáno negativními emocemi – zprvu šokem a strachem, dále úzkostí a depresivní poruchou. Tyto psychické poruchy jsou u části nemocných dlouhodobé a negativně ovlivňují průběh nemoci. Australská skupina popsala u pacientů s mnohočetným myelomem či lymfomem v 15 % úzkostné příznaky a v 18 % příznaky deprese. Analýza pacientů ze severního Německa (3370 osob po ukončené léčbě, 25-55 let) popsala úzkostné příznaky u 39 % z nich a frekvence úzkosti v průběhu 6 let neklesala. Depresi popsali u 19 % pacientů, což je více než v obecné populaci. I deprese zvyšuje riziko morbiditu i mortality. V analýze autorů Mayo Clinic byli pacienti s mnohočetným myelomem rozděleni do tří skupin. První bez psychiatrických komorbidit, druhá s jakoukoliv psychiatrickou komorbiditou a třetí s depresí. Pacienti s psychiatrickou komorbiditou anebo s depresí měli signifikantně více komplikací v průběhu myelomu (počet hyperkalcémií, renálního selhání, kostních komplikací). Dále častější hospitalizace, více dní trávených v nemocnici a vyšší počet návštěv ambulance. Vyšší byly i finanční náklady u nemocných s depresí nebo obecně s nějakou psychiatrickou komorbiditou. Depresivní porucha byla diagnostikována a léčena u 13,5 % nemocných ještě před vysokodávkovanou chemoterapií s autologní transplantací. V obou skupinách srovnávali průměrnou délku celkového přežití a počet dní mimo nemocnici. Třiroční OS u pacientů s předtransplantační depresí bylo 67 %, zatímco u pacientů bez předtransplantační deprese bylo 73 %. Nicméně při multivariační analýze nebylo prokázán rozdíl v tříletém celkovém přežití. Jen pacienti, kteří šli do transplantační léčby s depresí, měli v prvních 100 dnech signifikantně více dní v nemocnici a kratší interval pobytu doma než pacienti bez deprese. Z toho plyne, že pacienti s depresivní či jinou psychiatrickou komorbiditou při stanovení maligní diagnózy mohou mít prospěch z psychologické či psychiatrické intervence. Rozvoj deprese mimo jiné souvisí s neuspokojením nově vzniklých potřeb nemocného, které jsou podmíněny nemocí, anglickým termínem unmet needs. U všech častějších diagnóz je hodně publikací na téma marital status and survival. U mnohočetného myelomu, lymfomů a dále u četných solidních nádorů byla provedena analýza vlivu marital status (žijící v páru, ovdovělý či rozvedený, nebo trvale single). Marital status byl signifikantním prognostickým faktorem. Autoři to vysvětlují podstatně vyšším stresem u osob, které musí zvládat nemoc bez podpory partnera. A stres, jak bylo prokázáno v četných experimentálních i klinických studiích, potencuje vznik maligních chorob a zrychluje proces metastazování, zvyšuje četnost virových i bakteriálních nemocí a také autoimunitních poruch, prostě zvyšuje morbiditu i mortalitu. Pacienti, kteří nemají odpovídající podporu v rodině, jsou vystaveni většímu stresu a to vysvětluje, že ve všech provedených studiích byl marital status příznivým prognostickým faktorem. Nejkratší přežití měli pacienti, kteří dříve žili v partnerském vztahu, který však skončil smrtí či rozvodem. Závěry četných prací, analyzujících vliv psychické zátěže na průběh maligní nemoci, doporučují provádění skríningu těchto psychických komorbidit hematologů či onkologů a předávání pacientů s depresí, úzkostnou poruchou či posttraumatickou stresovou poruchou do specializované péče. Kritéria pro diagnostiku těchto poruch onkology a hematologové uvádí například Distress guidelines z roku 2016. J Natl Compr Canc Netw. 2016; 14 (6):715-24. NCCN Guidelines Insights: Survivorship, Version 1.2016.

65. Psychologická podstata fází Elisabeth Kübler-Ross

Klimeš J., Adam Z. (Soukromá psychologická poradna, Praha – Újezd nad Lesy; IHOK, FN Brno-Bohunice)

Lékaři si občas stěžují, že popis fází vyrovnání se onkologickou diagnózou, jak je před půl stoletím popsala Elisabeth Kübler-Ross (EKR), neodpovídá tomu, co vidávají v praxi. Důvod je prostý, EKR popsala jen příklady nejnápadnějších reakcí (popření, agrese, vyjednávání, deprese, smíření), ale ne jejich psychologickou podstatu. Jedná se o postupně přijetí dvou důležitých informací týkající se identity: A) Mám smrtelnou chorobu, B) Není mi pomoci. Identitní výroky totiž začínají slovem „já“.

První informace vyvolává šok (1). Vysoká aktivace má za následek, že jednotlivé složky osobnosti přestávají spolupracovat, disociují, např. člověk se začne chovat jako robot bez citů, má divné prožitky, reaguje nelogicky. Popření EKR je pravda častou reakcí, ale lidi dělíme na ty, kteří se aktivují, například panikaří, utečou a bezcílně bloumají (fuga), jiní naopak ztuhnou (inhibice). Mohou působit klidně (Jste v pohodě? Ano...), ale šokovou disociaci prozradí nelogické uvažování, nerozumné nápady. Fáze agrese je jen příklad nespecifických obran (2). Je to styl, kterým dotyčný reaguje na většinu životních tráblí – obviňuje okolí, vyjednáváni s Bohem ap. Když nic z toho nefunguje, musí se člověk smířit s druhou identitní informací: „Není mi pomoci. Co nevidět umřu.“ Následuje fáze reaktivní deprese (4), čili poruchy přizpůsobení. Ta funguje zčásti jako nedobrovolný odpočinek předchozího vypětí a spontánně odeznívá do 3-6 měsíců. Protahuje ji nezdravý životní styl (nespí, nejí, nepije, vyhýbá se lidem), případný cyklus očekávání-zklamání (Ještě zkusíme toto – Hm, nevyšlo to) a výčitky okolí (Zemřeš, protože svůj boj s nemocí vzdáváš). Zde se loučí s nedokonalými identitními úkoly (není dům, není syn, není strom). Fáze smíření představuje přijetí nové identity (5) – jsem chabrus; už nikdy...; ještě mohu...; popř. umírám. Přes objektivně zhoršující se fyzický stav, se může se lépe cítit, působit vyrovnaným stoickým dojmem. Nová identita ale může být horší než předešlá, např. dělá naschvály; zneužívá nemoci pro mimořádné ohledy okolí, k intrikářství. U neterminálních případů je novou identitou i ustrnutí v roli nemocného – neochota návratu mezi zdravé lidi, kde na něj čeká nesnesitelná tíže bytí: Proč máš dluhy a závislosti, ale ne rodinu, práci, byt, kamarády, koníčky? Některé jevy předchozích fází se prolínají do následujících, například hypervigilance a depersonalizační a derealizační syndromy. Zesílená bdělost, hypervigilance je projev stresu, kdy vymizí denní snění, člověk zesíleně vnímá každý detail, má pocit, že realitu vidí jinak, až jako duchovní prozívaní. Kromě těchto fází se šokem na začátku, existují fáze bez šoku, které EKR nepopsala. Ty mají trochu jiný sled i logiku. První je fáze ztráty kontroly nad situací a zesílené zkoušení osvědčených metod. Druhá je fáze specifických obran (čtení návodu). Třetí je fáze nespecifických obran (hrubé násilí). Čtvrtou je reaktivní deprese a pátou smíření se s novou identitou. Na tuto poslední pak mohou plynule navazovat fáze coming out, pokud nová identita není pro okolí přijatelná. Bez šoku probíhají náboženské konverze, navrhovatel partnerského rozchodu i homosexuální coming out (vyjití/odhalení).

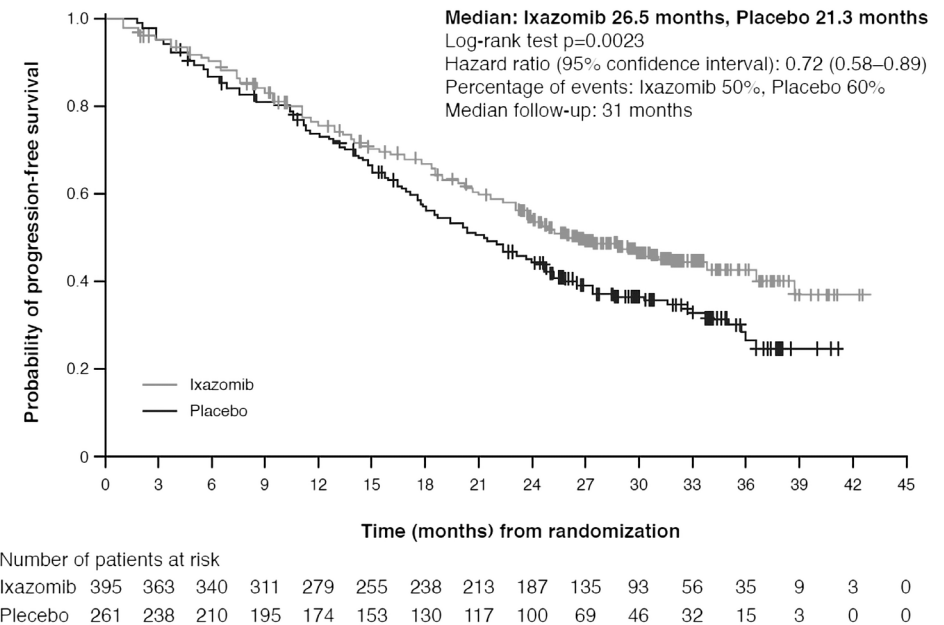
66.

Udržovací léčba perorálním inhibítorem proteazomu ixazomibem významně prodlužuje přežití bez progresu u pacientů s nově diagnostikovaným mnohočetným myelomem s následnou transplantací autologních kmenových buněk: studie TOURMALINE-MM3, fáze 3

Hájek R., Dimopoulos Meletios A., Gay F., Schjesvold Fredrik H., Beksac M., Weisel K. C., Goldschmidt H., Maisnar V., Moreau P., Min Chang-Ki, Pluta A., Chng Wee-Joo, Kaiser M., Zweegman S., Mateos M.-V., Spencer A., Iida Shinsuke, Morgan Gareth, Kaveri Suryanarayan, Rajkumar S. V. (Klinika hematologie, FN, Ostrava – CZE; Hematology and Medical Oncology, Department of Clinical Therapeutics, National and Kapodistrian University of Athens, Athens – Greece; Department of Oncology and Hematology, Azienda Ospedaliero City of Health and Science of Turin, Torino – Italy; Oslo Myeloma Center, Oslo University Hospital, Oslo – Norway; Department of Hematology, Ankara University, Ankara – Turkey; Department of Internal Medicine II, University Hospital, Tübingen – Germany; Department of Internal Medicine V, University Medical Hospital and National Center of Tumor Diseases, Heidelberg – Germany; Fourth Department of Medicine - Hematology, University Hospital, Hradec Králové – CZE; Department of Hematology, University Hospital Hôtel-Dieu, Nantes – France; Department of Internal Medicine, Seoul St. Mary's Hospital, Seoul – South Korea; Department of Hematology, Medical University of Lodz, Multidisciplinary Provincial Centre of Traumatology and Oncology Nicolas Copernicus, Lodz – Poland; Department of Haematology-Oncology, National University Cancer Institute, National University Health System, Singapore – Malaysia; Department of Haematology, The Royal Marsden Hospital, London – UK; Department of Hematology, Amsterdam University Medical Center, VU University Amsterdam, Cancer Center, Amsterdam – Netherlands; Department of Hematology,

University Hospital of Salamanca, CIC, IBM CC, Salamanca – Spain; Malignant Haematology and Stem Cell Transplantation Service, Alfred Health-Monash University, Melbourne – Australia; Department of Hematology and Oncology, Nagoya City University Graduate School of Medical Sciences, Nagoya – Japan; Myeloma Institute, University of Arkansas for Medical Sciences, Little Rock, AR – USA; Millennium Pharmaceuticals, Inc. Cambridge, MA – USA a wholly owned subsidiary of Takeda Pharmaceutical Company Limited; Division of Hematology, Department of Internal Medicine, Mayo Clinic, Rochester, MN – USA)

Udržovací léčba může prodloužit kontrolu nemoci a celkové přežití po transplantaci autologních kmenových buněk u nově diagnostikovaného mnohočetného myelomu. Pro tuto indikaci je schválen pouze lenalidomid, ten je však spojen s druhotnými primárními malignitami a problémy snášenlivosti. Základem léčby mnohočetného myelomu jsou inhibitory proteazomu (PI); udržovací léčba, založená na bortezomibu, prokázala účinnost po transplantaci, ne však v klinickém hodnocení 3. fáze oproti placebo, a v praxi má omezení dané snášenlivostí a podáním. Existuje tedy potřeba orálně podávané udržovací léčby PI, jež může být dlouhodobě dávkována, prohloubí odpověď bez kumulativní toxicity nebo toxicity s pozdním nástupem účinku a zlepší pohodlí pacientů. Dvojitě zaslepená multicentrická studie TOURMALINE-MM3 (NCT02181413) fáze 3, kontrolovaná placebem, porovnávala udržovací léčbu jednou týdně podávaným ixazomibem ve srovnání s placebem u pacientů s nově diagnostikovaným mnohočetným myelomem s minimálně částečnou odpovědí na PI a/nebo imunomodulační indukční léčbou (IMiD), plus jednou transplantací. Pacienti byli randomizováni v poměru 3:2 do skupin ixazomibu (n=395) nebo placebo (n=261) ve dnech 1, 8 a 15 z 28 denních cyklů po dobu přibližně 24 měsíců nebo do progresivního onemocnění/toxicity. Randomizace byla stratifikována dle režimu indukce (PI bez IMiD-u versus IMiD bez PI versus PI plus IMiD), stadia dle ISS před indukci (I versus II nebo III), a odpovědi po transplantaci (úplná odpověď nebo velmi dobrá částečná odpověď versus částečná odpověď). Počáteční dávka 3 mg ixazomibu byla od cyklu 5 zvýšena na 4 mg, pokud byla v cyklech 1-4 dobře snášena. Primárním cílovým ukazatelem bylo přežití bez progresu. Demografické charakteristiky a charakteristiky onemocnění byly mezi jednotlivými skupinami celkově dobře vyvážené. Celkově byl střední věk 58 let; 63 % pacientů mělo stadium dle systému International Staging System II nebo III; 59 %, 11 % a 30 % obdrželo indukci PI bez IMiD-u a, resp. IMiD bez PI resp. PI plus IMiD; 34 %, 45 % a 21 % dosáhlo po transplantaci úplné odpovědi, resp. velmi dobré částečné odpovědi resp. částečné odpovědi; 18 %



mělo vysoce rizikovou cytogenetiku. Po střední době sledování 31 měsíců (54 % případů přežití bez progresu) činilo snížení rizika progresu/úmrtí u ixazomibu oproti placebu 28 % (střední přežití bez progresu 26,5 vs. 21,3 měsíce; poměr rizik 0,72; 95 % interval spolehlivosti: 0,58–0,89; $p=0,0023$). Udržovací léčba ixazomibem vedla k vyšším podílům hlubší odpovědi ve srovnání s placebem (relativní riziko 1,41; 95 % interval spolehlivosti: 1,10–1,80; $p=0,0042$). 12 % vs. 7 % pacientů, léčených ixazomibem versus placebem, přešlo od statusu pozitivní minimální reziduální choroby k negativnímu statusu. Výhoda přežití bez progresu byla ve všech podskupinách široce patrná (stadium ISS III, poměr rizik 0,66; pacienti exponovaní PI poměr rizik 0,75; pacienti bez předchozí expozice PI poměr rizik 0,50; vysoce riziková cytogenetika poměr rizik 0,62). U ixazomibu přerušilo léčbu kvůli nežádoucím příhodám ve srovnání s placebem 7 % oproti 5 % pacientů, 42 % oproti 26 % mělo nežádoucí příhody stupně ≥ 3 , 27 % oproti 20 % mělo závažné nežádoucí příhody a 1 pacient oproti žádnému zemřel během období léčby. Nejčastějšími nežádoucími příhodami stupně ≥ 3 byly infekce (15 % oproti 8 %), zažívací potíže (6 % oproti 1 %), neutropenie (5 % oproti 3 %) a trombocytopenie (5 % oproti 1 %); zastoupení jakékoli periferní neuropatie činilo 19 % oproti 15 %; podíl druhotné primární malignity činil v obou skupinách 3 %. Na základě těchto zjištění lze učinit závěr, že udržovací léčba ixazomibem je cennou možností u pacientů po transplantaci, u nichž dochází k odpovědi na léčbu.

67.

Dynamika cell-free DNA u mnohočetného myelomu

Ševčíková S., Gregorová J., Vrabel D., Sedlářková L., Almáši, Bezděková R., Štork M., Krejčí M., Adam Z., Hájek R., Pour L. (Babáková myelomová skupina, Oddělení patologické fyziologie, LF MU, Brno; Oddělení klinické hematologie, FN, Brno; Interní hematologická a onkologická klinika, FN, Brno – Bohunice; Klinika hematonekologie, FN a LF OU, Ostrava)

Východisko: Za poslední desetiletí bylo v léčbě mnohočetného myelomu (MM) dosaženo značného pokroku, který změnil pojetí důležitosti zhodnocení minimální reziduální nemoci (MRD). MRD musí být hodnocena pomocí citlivých technik, jakými jsou alelově specifická PCR (ASO-PCR), sekvenování nové generace (NGS) nebo průtoková cytometrie. MM je z genetického hlediska heterogenní nádorové onemocnění, charakteristické četnými fokálními lézemi v kostní dřeni (BM). Biopsie z jednoho místa může vytvořit bias vzorků, ale přesto se na analýzu standardně používají právě vzorky BM. Intenzivně studovaným genetickým přístupem jsou tekuté biopsie, které využívají k analýze různých molekul tělní tekutiny. Jednou z takových molekul je mimobuněčná DNA (cfDNA). Cílem byla identifikace asociace dynamiky a kvantity klonotypické IGH přestavby detekované v cfDNA, která je pro daného pacienta specifická, s predikcí léčebné odpovědi u pacientů s MM.

Materiál a metody: Do studie bylo zahrnuto 45 pacientů s MM. Identifikovali jsme přestavbu genu těžkého řetězce imunoglobulinu (IGH), která byla použita k analýze cfDNA z periferní krve pomocí qPCR. Délka cfDNA fragmentů byla změřena ve všech vzorcích a byla určena přítomnost 4 frakcí (180-220 bp, 350-400 bp, 500-700 bp a 700-10000 bp).

Výsledky: Klasifikace pacientů proběhla na základě množství cfDNA, stanoveného v době diagnózy, na tři skupiny: negativní, pozitivní nekvantifikovatelná (PNQ) a pozitivní. Pacienti klasifikováni jako negativní (nebo PNQ s kvantitou <5) mají signifikantně vyšší šanci dosáhnout kompletní remise (CR) (2,7krát) ve srovnání s pacienty klasifikovanými jako pozitivní (nebo PNQ s kvantitou >5). Následně jsme určili, jestli se frekvence délky fragmentů cfDNA během léčby mění. Přestože byla frakce o délce 180-220 bp nejčastější, naše výsledky ukazují statisticky signifikantní změny v četnosti všech zbývajících delších frakcí fragmentů, což naznačuje nárůst nekrozy v nádorové tkáni. Tenhle trend je nejlépe pozorovatelný u skupiny pacientů, kteří dosáhli CR. Frekvence konkrétních frakcí fragmentů v čase stanovení diagnózy a v CR se změnila 2,4x (330-400 bp), 1,8x (500-700 bp) a 2,1x (700-10000 bp).

Závěr: Naše výsledky ukazují, že pacient-specifické cfDNA fragmenty v MM jsou uvolňovány do krevního oběhu a že pacienti s žádnými, respektive s velmi malým počtem fragmentů DNA mají eventuálně vyšší šanci dosažení lepší léčebné odpovědi. Výsledky analýzy délky fragmentů naznačují, že léčbou-indukovaná nekroza nádorové tkáně je pozorovatelná prostřednictvím analýzy cfDNA, a že pacienti dosahující CR mají vyšší hladinu příslušných nekrotických fragmentů.

Tato práce byla podpořena grantem AZV 17-29343A.

LABORATORNÍ HEMATOLOGIE

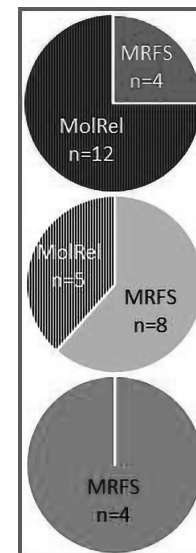
68.

DNA BCR-ABL1 analýza poskytuje stratifikační model "semaforu" s možným uplatněním pro předpověď přežití bez léčby u pacientů s chronickou myeloidní leukémií

Machová Poláková K., Žižková H., Zuna J., Motlová E., Hovorková L., Pecherková P., Klamová H., Štátná Marková M., Srbová D., Koblíhová J., Benešová A., Polívková V., Jurček T., Žáčková D., Mayer J., Ernst T., Mahon F. X., Saussele S., Cross Nicholas C.P., Hochhaus A. (Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha – CZE; Klinika dětské hematologie a onkologie, 2. LF UK a FN Motol, Praha – CZE; IHOK, FN, Brno – Bohunice – CZE; Abteilung Hämatologie/Onkologie, Klinik für Innere Medizin II, University of Jena, Jena – Germany; Bergonié Cancer Institute, Inserm Unit 916, University of Bordeaux, Bordeaux – France; Department of Hematology and Oncology, University Hospital Mannheim, Heidelberg University, Mannheim /Heidelberg – Germany; Wessex Regional Genetics Laboratory, Salisbury NHS Foundation Trust, Salisbury – UK)

Úvod: Jedním z hlavních terapeutických cílů pro pacienty s chronickou myeloidní leukémií (CML) se v současné době stává přežití bez léčby (Treatment Free Survival, TFR), nebo přežití bez molekulárního relapsu (Molecular Relapse Free Survival, MRFS). Tohoto léčebného cíle lze docílit dosažením trvalých hlubokých molekulárních odpovědí (Deep Molecular Response, DMR) v průběhu léčby inhibitory tyrozinových kináz (TKI). Cíl: V naší předchozí práci (Machova Polakova K, EHA 2018) jsme ukázali, že detekce BCR-ABL1 na úrovni DNA lépe odhalují reziduum CML buněk než analýza mRNA u signifikantního počtu vzorků periferní krve odebraných v průběhu DMR. Cílem této mezinárodní studie EUTOS je zjistit, zda DNA analýzy mohou pomoci predikovat TFR. Metody: Vzorky z po sobě jdoucích odběrů v období před a po vysazení léčby TKI byly k dispozici od 54 pacientů s CML, z nichž 20 bylo zařazeno do studie EURO-SKI. 34 pacientů, kteří splňovali kritéria, ale nemohli být zařazeni do EURO-SKI studie, souhlasilo s intermitentním režimem léčby (INTReg, léčba vysazována každý druhý měsíc). Míra dosažení MRFS u těchto pacientů byla srovnatelná s výsledky studie EURO-SKI a dalšími klinickými studii vysazujícími TKI (39 % ve 20 měsících a 32 % v 70 měsících po vynechání TKI). Pacient-specifické fúze BCR-ABL1 byly určeny metodou NGS (Next Generation Sequencing) a zbytková choroba byla měřena metodou droplet digitální PCR (ddPCR) na úrovni DNA a mRNA. Citlivost analýz na úrovni DNA a mRNA vzorků periferní krve byla srovnatelná (MR4-MR5). Výsledky: Hladiny BCR-ABL1 na úrovni DNA a mRNA byly měřeny u 945 vzorků periferní krve 33/54 pacientů (Me=30 vzorků, rozmezí 11-

44). Výsledky analýz umožnily pacienty rozdělit podle modelu „semaforu“ na základě positivity/negativity BCR-ABL1 na úrovni DNA a mRNA před vysazením TKI (Obr. 1); „zelená“ skupina - double negativní (n=4), „žlutá“ skupina - DNA-poz/RNAneg (n=13) a „červená“ skupina - double pozitivní (n=16). Všichni 4 pacienti ze zelené skupiny přetrvávali v MRFS s nedetekovatelným BCR-ABL1 na úrovni DNA i mRNA. U dvou z těchto pacientů byla analyzována kostní dřeň (KD) odebraná v době ukončení léčby TKI. Veškerá izolovaná DNA i RNA ze vzorku KD byla použita pro analýzu ddPCR, což zajistilo citlivost měření na úrovni MR6-MR6,5, přičemž oba vzorky byly double negativní (nedetekovatelný BCR-ABL1 na úrovni DNA i mRNA). Molekulární relaps (ztráta MMR) byl pozorován u 12/16 pacientů z červené skupiny (double pozitivní). 8/13 pacientů ze žluté skupiny (DNApoz/RNAneg)



Obrázek 1. Stratifikační model "semaforu", dle míry dosažení MRFS po ukončení léčby TKI na základě positivity/negativity BCR-ABL1 na úrovni DNA a mRNA.

Červená – DNApoz/mRNApoz
Žlutá – DNApoz/mRNAneg
Zelená – DNAneg/mRNAneg

MRFS (molecular relapse free survival) - přežití bez molekulárního relapsu
MolRel (molecular relapse) – molekulární relaps, tj. ztráta velké molekulární odpovědi

prežívá po vysazení TKI (Me=39,8 měsíců; rozmezí 19,1-82,2) bez molekulárního relapsu. U 5 z těchto 8 pacientů byla po vysazení TKI detekována exprese BCR-ABL1, ale pouze na úrovni DMR (MR4-MR5). U 3/8 pacientů nebyla exprese BCR-ABL1 po zastavení léčby detekována (Me=27,3 měsíců, rozmezí 19,1-53,6). U 2 z těchto 3 pacientů byla analyzována KD v době vysazení léčby TKI. V obou případech byla přes nepřítomnost exprese BCR-ABL1 detekována zbytková choroba na úrovni DNA. Závěr: Analýza BCR-ABL1 na úrovni DNA umožňuje klinicky relevantní stratifikaci CML pacientů s trvalou DMR před ukončením/přerušováním léčby. Tento přístup identifikuje pacienty, kteří jsou skutečně BCR-ABL1 negativní. Tato zelená skupina pacientů spíše bude ze zastavení léčby TKI profitovat. Z biologického hlediska je zajímavá žlutá skupina zahrnující pacienty s detekovatelnými CML buňkami, ale nepřítomností exprese BCR-ABL1. Přestože byla exprese BCR-ABL1 detekována u většiny pacientů po zastavení terapie, podíl MRFS u žluté skupiny byl vysoký (62%). Molekulární relaps nastal u většiny (76%) pacientů z červené skupiny. V současnosti validujeme navržený stratifikační model „semaforu“ na zbývajících 21 pacientech této kohorty pacientů. Podpořeno: EUTOS2018, MZCR 00023736, AZV 16-30186A

69.

Cytometrie a výběr optimální léčby pro pacienty s akutní leukémií

Hrušák O. (Klinika dětské hematologie a onkologie, 2. LF UK, FN Motol, Praha)

Úspěchy léčby dětské akutní leukémie stojí na optimální kombinaci chemoterapeutik, precizní diagnostice a kvalitní podpůrné léčbě. Přednáška shrnuje postavení průtokové cytometrie v současnosti a možný příspěvek této metody k dalším zlepšením v budoucnosti. Výsledky průtokové cytometrie jsou k dispozici velmi rychle, během hodin od odběru vzorku. Průtoková cytometrie na základě analýzy na úrovni jednotlivých buněk poskytuje velmi objektivní informaci o všech buněčných populacích. V současných protokolech umožňuje potvrdit diagnózu ALL nebo AML, stanovit podtyp, důležitý pro stratifikaci, slouží k monitorování léčebné odpovědi a potvrzuje, zda jsou přítomny cíle pro molekulárně cílenou léčbu. Dále poskytuje klinicky užitečné informace o nemaligní krevtvorbě a lze ji použít k obohacení jednotlivých subpopulací například pro sekvenování nové generace. Výzkumné využití průtokové cytometrie je široké, a vede například k objevování nových podskupin akutní leukémie nebo dokáže popsat dynamické změny leukemických buněk během terapie.

70.

K přehliženému karyometrii leukemických buněk

Smetana K., Klamová H., Mikulenková D., Hrkal Z., Zápotocký M. (Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha; Fakultní nemocnice Motol, Praha)

I v současné době může poskytnout morfologie a karyometrie komplementární informace o jednotlivých leukemických buňkách včetně jejich diferenciace a zrání. Na rozdíl od jádro-cytoplasmatického poměru, jádro-jádrový poměr v leukemických buňkách nebyl prakticky studován i když u některých nádorů byl využíván k detekci maligních buněk. V leukemických buňkách by pak mohl být márkem přibližné velikosti jaderných teritorií „okupovaných“ nukleolárními těly. U CML se ukázalo, že tato velikost je konstantní a charakteristická pro jednotlivá diferenciální a maturationální stadia granulocytů. Tato pozorování by souhlasila s názory o biosyntetické rovnováze mezi jadérky a extra-nukleolárními kompartmenty jádra během diferenciace a zrání krevních buněk. Při této příležitosti je nezbytné poznamenat, že biosyntetická aktivita v jadérech vyhasíná dříve než v extranukleolárních jaderných teritoriích. V pokusech na myeloblastech v tkáňových kulturách se ukázalo, že je velikost jaderných teritorií obsahujících jádérka charakteristická i pro apoptotické buňky a zůstala charakteristická i pro myeloblasty „přeživší“ působení anti-leukemik.

71.

Sledování klonálního vývoje u pacientů s akutní myeloidní leukémií s mutací NPM1 pomocí sekvenování nové generace

Navrátilová J., Szotkowski T., Urbánková H., Papajík T. (Hemato-onkologická klinika, FN a LF UP, Olomouc)

Úvod: Akutní myeloidní leukémie (AML) s mutovaným nukleofosminem (NPM1), bez interní tandemové duplikace FLT3 genu, jsou podle aktuálních doporučení řazeny k prognosticky příznivějším variantám AML. V rámci kurativní léčby u nich není v první kompletní remisi doporučována alogenní transplantace krevtvořných buněk. Významná část této geneticky definované skupiny nemocí však nemá příznivý průběh. Dochází k relapsu, případně i k rozvoji rezistence k chemoterapii. Proto jsou hledány další mutace, které by mohly být odpovědné za nepříznivý vývoj AML. Jejich nalezení u nemocného by vedlo ke změně léčebného přístupu. Především rekurentní mutace v DNMT3A, IDH1/2 či ASXL1 mají podle klinických studií pro pacienty negativní prognostický význam. Tyto mutované geny, zvláště pak IDH1/2, jsou také středem pozornosti výzkumu a staly se potenciálními terapeutickými cíli. Sledování klonálního vývoje v průběhu léčby může včas odhalit selekci rezistentního klonu či zachytit relaps onemocnění. Cíle: Cílem práce bylo stanovit mutační profil u 14 pacientů s NPM1c+ AML a sledovat jejich vývoj v průběhu remise a v době relapsu onemocnění. Metodika: Pro přípravu knihovny jsme zvolili panel pokrývající 48 exonů z 20 vybraných genů (Agilent). Metodika je založena na principu „target enrichment“ a technologii Haloplex HS využívající molekulární barkódy. Sekvence probíhala na přístroji MiSeq (Illumina). Vyhodnocení probíhalo v softwaru SureCall (Agilent). Výsledky pilotní analýzy: Soubor tvořilo 11 pacientů s de novo AML a 3 s AML vzniklou vývojem z MDS. U všech byl v době diagnózy detekován normální karyotyp a posunová mutace v NPM1. Všichni pacienti podstoupili kurativní léčbu a celkem u 10 z nich byla provedena alogenní transplantace krevtvořných buněk. Pouze u 3 pacientů ze souboru jsme nedetekovali žádné přidatné mutace v době diagnózy. U ostatních 11 pacientů byla pomocí sekvenování nové generace (NGS) detekována vždy minimálně jedna další mutace. Nejčastěji se v souboru vyskytovaly mutace v DNMT3A R882, IDH2 R140, IDH1 R132, které byly i v době hematologické remise rekurentní. Nově jsme u pacientů s MDS v době transformace do AML detekovali mutaci v protoonkogenu NRAS. Čtyři pacienti s hematologickým relapsem onemocnění měli kombinaci mutací NPM1c+ a mutací v IDH1/2, ale u žádného nebyla u nich detekována mutace v DNMT3A. Podrobné výsledky s klinickými údaji budou uvedeny v prezentaci. Práce je podporována grantem IGA-LF-2019-001.

72.

Komplexní NGS panel pro analýzu prognostických a prediktivních markerů B-buněčných lymfoproliferací

Navrkalová V., Pál K., Hynšt J., Plevová K., Darzentas N., Marečková A., Jelínková H., Pospíšilová Š. (IHOK, FN, Brno – Bohunice; Ceitec, MU, Brno)

Východiska: Současné NGS technologie přináší velký potenciál pro analýzu širokého spektra chromozomových a genetických aberací vyskytujících se u B-buněčných malignit v jednom experimentu. Hlavní předností takto komplexního přístupu je možnost získání velkého množství informací z jednoho odběru biologického materiálu v relativně krátkém čase. Navíc u klinicky velmi heterogenních onemocnění, jako je například chronická lymfocytární leukémie (CLL), je analýza prognostických a prediktivních markerů velmi žádoucí a to i opakovaně v průběhu onemocnění. Materiál a metody: Východním materiálem byla DNA izolovaná z různého biologického materiálu (periferní krev, kostní dřeň, nativní tkáň, FFPE bločky) získaného od pacientů s B-lymfoproliferací (CLL, ALL, MCL, DLBCL, FL). Validací soubor zahrnoval 32 vzorků analyzovaných ve 3 sekvenačních kolech na přístroji NextSeq (Illumina). Pro přípravu NGS knihoven byla použita technologie SureSelect XT HS (Agilent) založená na vychytávání cílových oblastí pomocí hybridizačních sond. Sondy byly vyrobeny na zakázku a pokrývají často mutované geny, chromozomální abnormality (CNVs), imunoglobulinové (IG) přestavby a klíčové translokace. Vývoj bioinformatického přístupu probíhal ve třech krocích: 1) vytvoření „in-house“ postupu pro analýzu mutací; 2) validace programu tCoNuT pro analýzu CNVs; 3) vytvoření výpočetního modulu programu ARResT/Interrogate pro analýzu IG přestaveb a translokací. Výsledky: Cílové oblasti nově navrženého panelu o velikosti

970 kb včetně požadovaného rozlišení jsou shrnuty v Příloze 1. Během validace byly testovány různé typy materiálu a široké spektrum aberací: genové mutace s různou alelickou frekvencí, chromozomální aberace různého rozsahu a lokalizace, IG přestavby a translokace. Nedílnou součástí byla několikastupňová kontrola kvality a zhodnocení správnosti měření, analytické citlivosti a specifity. Průměrné pokrytí po deduplikaci bylo 843x a PCR duplikáty tvořily v průměru 44 % všech mapovaných readů. Přítomnost PCR duplikátů je v našem nastavení analýzy do jisté míry žádoucí, protože jsou při zpracování dat využity k vytvoření tzv. consensus readu, což umožňuje redukci chyb a zpřesnění analýzy. Všechny mutace nad 5% limit detekce (LOD) byly detekovány, tzn. nevyskytly se žádné falešně negativní výsledky. Na druhou stranu jsme detekovali 2 falešně pozitivní varianty v genu ATM, nicméně obě byly na hranici detekčního limitu. Analýza CNVs je založena na analýze hloubky pokrytí a frekvence SNPs. LOD byl stanoven pomocí ředícího experimentu na 20 %. V rámci daného rozlišení a LOD jsme byli schopni detekovat 29/31 různých CNVs. Při analýze IG přestaveb bylo u všech testovaných pacientů detekováno 87 klonotypů (průměrně 4 na vzorek). Oproti klasické sekvenaci nebylo identifikováno 9/58 klonotypů, nicméně navíc bylo nalezeno 38 klonotypů. Detekce translokací t(11;14) a t(14;18) byla validována na 5 vzorcích a všechny byly potvrzeny. Analýza aberací z FFPE bločků byla problematická a je nutné ji dále optimalizovat. Závěr: Nově navržený NGS panel je vhodným nástrojem pro současnou analýzu genových mutací, detekci CNVs a lymfom-specifických translokací a zároveň pro sledování klonality u B-buněčných malignit. Má tedy vysoký potenciál pro všestranné využití jak ve výzkumu, tak také v běžné diagnostice. Nicméně validační soubor vzorků plánujeme ještě rozšířit pro zpřesnění možností a limitů takto komplexní analýzy. Práce byla podpořena z projektů AZV NV19-03-00091, CEITEC2020 LQ1601 a MZCR-RVO 65269705.

Cílová oblast	Diagnóza	Lokalizace	Rozlišení
ARID1A	FL, CLL	1p36.11	všechny exony +/-2bp
ASXL1	ALL, CLL	20q11.21	všechny exony +/-2bp
ATM	CLL, MCL	11q22.3	všechny exony +/-2bp
BIRC3	CLL, MCL	11q22.2	všechny exony +/-2bp
BRAF	CLL, ALL, DLBCL, FL	7q34	všechny exony +/-2bp
BTG1	Ph-like ALL	12q21.33	všechny exony +/-2bp
CARD11	MCL, FL, DLBCL, CLL	7p22.2	všechny exony +/-2bp
CCND1	MCL	11q13.3	všechny exony +/-2bp
CD79A	DLBCL, CLL	19q13.2	všechny exony +/-2bp
...atd. (celkem 70 genů)			
Del17p	CLL, MCL	17p13.3-11.1	300 kb
		17p	5Mb
Del11q	CLL, MCL	11q14.3-23.3	300 kb
		11q13.4-14.3	1Mb
		11q23.3-24.3	1Mb
		11q	5Mb
Del13q	CLL, MCL	13q14.13-14.3	300 kb
		13q14.11-14.13	1Mb
		13q14.3-22.2	1Mb
Trisomy 12	CLL, MCL	chr12	8Mb
genomová backbone		celý genom	8Mb
CCND1/IGH t(11;14)	MCL	14q32.33	celá IGHJ oblast
BCL2/IGH t(14;18)	FL	14q32.33	celá IGHJ oblast
BCL6/IGH t(3;14)	DLBCL	14q32.33	celá IGHJ oblast
IGH@ (79 subgenů)	CLL, ALL, lymfomy	14q32.33	všechny exony
IGK@ (44 subgenů)	CLL, lymfomy	2p11.2	všechny exony
IGL@ (42 subgenů)	CLL, lymfomy	22q11.2	všechny exony

RICHTEROVA TRANSFORMACE CLL

73.

Richterova transformace CLL v éře léčby inhibitory buněčných drah – pohled molekulárního genetika

Petráčeková A., Papajík T., Kriegová E. (Ústav imunologie, FN, Olomouc; Hemato-onkologická klinika, FN, Olomouc)

Nová cílená léčba inhibitory buněčných drah představuje obrovský pokrok v léčbě chronické lymfocytární leukemie (CLL) nejen pro relabující pacienty, ale také pro nově diagnostikované pacienty s prognosticky negativními genetickými aberacemi. I přes velmi dobrou léčebnou odezvu u většiny léčených pacientů dochází u 4-20 % pacientů k rozvoji Richterova syndromu (RS). Ten se nejčastěji projevuje jako transformace CLL do difúzního velkobuněčného lymfomu (DLBCL) s velmi nepříznivou prognózou. Současné znalosti patogenese RS naznačují, že RS se v éře nových inhibitorů buněčných drah vyvíjí na genetickém podkladě TP53 abnormalit (del(17p), TP53 mutace) a komplexního karyotypu (CK), jejichž přítomnost je nejčastější indikací k této léčbě. Další důležitou roli hraje aktivace MYC (zisk 8q nebo NOTCH1 mutace) a ztráta tumor supresorového genu CDKN2A/B. Často jsou také zmiňovány mutace v genech BTK nebo PLCG2, které způsobují rezistenci k ibrutinibu a podmiňují vznik ibrutinib-rezistentní CLL progresse. Současné literární údaje však uvádí u RS přítomnost těchto mutací pouze ve 30 % případů. Role genetiky u RS v éře nových léčiv ještě není kompletně objasněná, neboť jsou dostupné informace pouze u malých počtů pacientů často intenzivně předléčených chemoimunoterapií. Zajímavé bude také porovnání výskytu RS a vztahu ke genetickým změnám u skupiny pacientů léčených inhibitory v první linii, neboť současné znalosti RS vychází především ze zkušeností u pacientů předléčených chemoimunoterapií. Grantová podpora: MZ ČR VES16-32339A, IGA UP_2019_014, MH CZ-DRO (FNOL, 00098892)

74.

Richterova transformácia CLL v ére liečby inhibítormi bunkových dráh – pohľad patologa

Balhárek T., Szépe P., Plank T. (Ústav patologickej anatómie, Jesseniova lekárska fakulta v Martine a Univerzitná nemocnica, Martin – Slovensko)

Richterova transformácia (RT), resp. Richterov syndróm (RS) je dobre známa, prognosticky nepriaznivá komplikácia chronickej lymfocytovej leukémie (CLL), zodpovedajúca jej blastickéj („vysokomalignej“) transformácii do sekundárneho agresívneho, častokrát chemorefraktérneho lymfómu, ktorá postihuje cca 10-15%, podľa niektorých zdrojov 5-20% pacientov s CLL. Najčastejšie (>90%) ide o transformáciu do difúzneho velkobunkového B-lymfómu (DLBCL-typ RT), v 80-90% klonálne príbuzného, zriedkavo (5-10%) do klasického Hodgkinovho lymfómu (HL-typ RT), ktorý býva klonálne príbuzný len asi v 50% prípadov. Riziko RT sa zvyšuje s mierou predliečenosti pacientov, pričom otázka samotného vplyvu nových liekov z kategórie inhibitorov bunkových dráh ostáva otvorená, i keď prípady RT po tejto liečbe sa vyznačujú vysokou agresivitou a možno u nich očakávať iné mechanizmy patogenézy. Kľúčovú úlohu v diagnostike RT zohráva histopatologické vyšetrenie excíznej biopsie indikovanej na základe klinicko-laboratórnej symptomatológie a PET/CT zobrazovania. Hrubihoľová „core cut“ biopsia a tenkoihľová aspiračná cytológia sa pri podozrení na RT neodporúčajú. Prípady RT treba odlišiť od „rastovo aktívnej“ („akcelerovanej“), ako aj „progresívnej“ CLL s črtami tzv. „paraimunoblastového“ a „prolymfocytového variantu“ či „transformácie“ CLL, ktoré síce predstavujú určité kontinuum s RS, nie sú s ním však biologicky ani prognosticky totožné. Keďže žiadna z klasifikácií hematologických ochorení podľa Svetovej zdravotníckej organizácie (SZO) neuvádza exaktné kritériá spomenutej „agresívnej“ CLL, ani samotného RS, ich diagnostika sa vyznačuje pomerne vysokou variabilitou medzi vyšetrujúcimi patológmi. Diagnostika transformácie CLL vyžaduje skúsenosti a kritickú interpretáciu histomorfologických náleзов v kontexte klinicko-laboratórneho obrazu ochorenia a výsledkov ostatných vyšetrovacích metód (najmä genetiky, prípadne prietokovej cytometrie). Podporené Grantom VEGA 1/0366/18.

75. Richterova transformace CLL v éře léčby inhibitory buněčných drah – pohled klinika

Špaček M. (I. Interní klinika – klinika hematologie, VFN, Praha)

Histologická transformace do agresivního lymfomu (Richterův syndrom) se vyskytuje až u 10% pacientů s chronickou lymfocytární leukémií (CLL). K transformaci může dojít kdykoli v průběhu choroby. Nejčastěji se jedná o transformaci do difúzního velkobuněčného B-lymfomu (DLBCL), méně často do klasického Hodgkinova lymfomu. Většina případů DLBCL (80%) je klonálně příbuzná s původní CLL a medián přežití těchto pacientů je 1-2 roky. Oproti tomu klonálně nepřibuzný DLBCL má stejnou prognózu jako de novo případy. Mezi klinické rizikové faktory vzniku transformace patří vyšší klinické stádium v době diagnózy či velikost lymfadenopatie. Rovněž některé genetické aberace jsou spojeny s vyšším rizikem transformace. Mezi klinické známky počínající transformace patří rychle narůstající lymfadenopatie, B-symptomy (teploty, pokles váhy), zvýšení LDH nebo extranodální postižení. Při klinickém podezření na Richterův syndrom je vhodné provést PET/CT vyšetření, které má zejména vysokou negativní prediktivní hodnotu a také může určit vhodnou lokalitu k provedení biopsie, která je nezbytná k finálnímu potvrzení diagnózy. Terapie v případě transformace je zpravidla založena na chemoimunoterapii a nedosahuje uspokojivých výsledků. K Richterově transformací dochází i při terapii novými cílenými léky, a to mnohdy relativně časně na léčbě. Léčba takových pacientů je velmi svízelná a jejich přežití se pohybuje v řádu měsíců. Prezentovány budou aktuální diagnostické a terapeutické postupy u pacientů s Richterovou transformací a rovněž výhled do budoucna v éře stále častěji a v dřívějších liniích používané cílené léčby.

76. Chromozomové a genomické změny u pacientů s transformací chronické lymfocytární leukémie léčených inhibitory BCR signalizace

Urbánková H., Krůzová L., Holzerová M., Urbanová R., Turcsányi P., Procházková V., Divoká M., Janská R., Schneiderová P., Kriegová E., Flodr P., Janková J., Papajík T. (Hemato-onkologická klinika, FN a LF UP, Olomouc; Ústav imunologie, FN a LF UP, Olomouc; Ústav klinické a molekulární patologie, FN a LF UP, Olomouc)

Chronická lymfocytární leukémie (CLL) je onemocněním značně heterogenní, což se odráží v rozmanitém klinickém obrazu, chování a vývoji choroby. Setkáváme se jak s pacienty s indolentním průběhem, kteří nepotřebují protinádorovou terapii, tak s nemocnými s agresivními variantami choroby, kteří neprofitují ze standardní imunochemoterapie, časně a opakovaně relabují. Osud těchto pacientů se zlepšil díky nové, cílené terapii, kterou představují inhibitory přenosu signálu z BCR (BCRi). Ale i přes jejich nespornou efektivitu část pacientů s CLL na léčbě BCRi relabuje, a u některých z nich choroba transformuje do agresivnější formy neoplázie, nejčastěji do difúzního B-velkobuněčného lymfomu. Cílem práce bylo popsat chromozomové a genomické změny u nemocných s obrazem transformace onemocnění při léčbě BCRi a vývoj těchto změn od diagnózy, období zahájení léčby BCRi až k transformaci. U 5 pacientů (3 muži a 2 ženy, medián věku 66 let; 58 – 69 let) z celkového počtu 47 léčených BCRi na HOK FN Olomouc (od 1/2015 do 1/2018) byla histopatologicky potvrzena transformace CLL. 4 nemocní byli léčeni ibrutinibem, 1 idelalisibem. 4 nemocní byli léčeni BCRi pro relaps / refrakterní (R/R) onemocnění, 1 pacient byl léčen BCRi v první linii. U 4 pacientů byla prokázána Richterova transformace (RT) do DLBCL, u 1 nemocné transformace, resp. možná transdiferenciace do histiocytárního sarkomu. Všichni nemocní s transformací R/R CLL zemřeli, přežití od zahájení léčby BCRi bylo od 6 do 19 měsíců, přežití od diagnózy transformace bylo od 0,5 do 4 měsíců. U všech pacientů byla v době diagnózy CLL, před zahájením léčby BCRi a při zjištění transformace choroby vyšetřena periferní krev, popř. kostní dřeň metodou konvenční cytogenetiky (G-pruhování) doplněnou o fluorescenční in-situ hybridizaci (FISH), mnohobarevnou FISH (mFISH) a array komparativní genomickou hybridizaci (arrayCGH). Mutační stav IGHV genu byl stanoven Sangerovým sekvenováním a vybrané mutace metodou next generation sequencing (NGS). U všech pacientů byl v době diagnózy CLL detekován nemutovaný stav IGHV genu a změny karyotypu: delece 13q (3 pac.), delece 17p (TP53) (2 pac.), u jednoho pacienta byl prokázán komplexní karyotyp zahrnující delecí genu TP53 v rámci dicentrického

chromosomu dic(4;17). V průběhu onemocnění došlo u všech pacientů ke klonálnímu vývoji choroby s akumulací dalších početních i strukturálních chromozomových aberací. Přítomnost komplexního karyotypu byla v době zahájení léčby BCRi prokázána u všech 5 pacientů. Součástí komplexních karyotypů byly nejčastěji abnormality chromozomů 6, 8, 11 (delece genu ATM u 2 pac.), 12, 13, 17 a 18. V době transformace nemoci byly detekovány metodou NGS mutace genů TP53 (3 pac.), NRAS (2 pac.), NOTCH1 (1 pac.), SF3B1 (1 pac.), BRAF (1 pac.) a XPO1 (1 pac.). Nově byla prokázána bialelická delece oblasti 9p21 (CDKN2A) (1 pac.), amplifikace genu MYC (8q24) (1 pac.) a další aberace s neznámým prognostickým významem. Naše výsledky potvrzují nestabilitu genomu u pacientů s transformací CLL způsobenou narušením reparačních a apoptotických mechanismů CLL buněk v kombinaci se současným zvýšením intenzity jejich proliferace, což odpovídá rychlé progresi onemocnění s fatálními důsledky. Zároveň ukazují nezbytnost kombinace dostupných cytogenetických, molekulárně cytogenetických a genomických metod pro přesné určení změn probíhajících v nádorové buňce. Tato vyšetření dnes představují nedílnou součást kontinuální péče o rizikové pacienty s CLL léčené BCRi a do budoucna mohly přispět k pochopení vývoje nádorového klonu při této cílené terapii. Podporováno: MZ ČR VES16-32339A, MEX-1 (87-91), IGA_LF_2019_001 a MZ ČR_RVO (FNOL, 00098892).

77. Richterova transformace u nemocného s refrakterní chronickou lymfocytární leukémií léčeného ibrutinibem

Smolej L., Šimkovič M., Zavlřelová A., Kašparová P., Belada D., Žák P. (IV. interní hematologická klinika, FN, Hradec Králové; Fingerlandův ústav patologie, FN a LF UK, Hradec Králové)

Úvod: Tyrozinkinázové inhibitory ibrutinib (inhibitor Brutonovy kinázy) a idelalisib (inhibitor fosfatidylinositol-3-kinázy) a inhibitor bcl-2 venetoklax představují účinnou léčebnou možnost pro nemocné s relapsem / refrakterní chronickou lymfocytární leukémií (CLL). Richterova transformace (RT, progres CLL do agresivní lymfoproliferace, nejčastěji difúzního velkobuněčného lymfomu) představuje zpravidla prognosticky vysoce nepříznivou událost s omezenými možnostmi léčby a krátkým přežitím, zejména dojde-li k RT na léčbě některým z nových inhibitorů. Cíle práce: popsat rozvoj Richterova syndromu u nemocného s CLL na terapii ibrutinibem. Popis případu: 50-letý muž s CLL prodělal v září 2008 alogenní nepřibuzenskou transplantaci krvetvorných kmeňových buněk (aloT) od plně shodného (10/10) dárce. Důvodem k provedení aloT byla refrakterita na režim FCR (fludarabin, cyklofosfamid, rituximab) podaný v rámci léčby 2. linie. Po alo T bylo dosaženo kompletní remise s negativitou minimální reziduální nemoci (MRN) v říjnu 2009. Pro počínající relaps 10/2011 byly opakovaně podávány infuze dárcovských lymfocytů (DLI). K plně rozvinuté progresi CLL došlo v lednu 2017 (tedy 100 měsíců po aloT) s trombocytopenií, nočním pocením a masivní symptomatickou nitrobřišní lymfadenopatií; cytogenetickým vyšetřením byl zjištěn komplexní karyotyp včetně delece 17p. Vzhledem k selhání chemoimunoterapie (1x rituximab, cyklofosfamid, dexametazon, 2x bendamustin + rituximab) byl od června 2017 po schválení revizním lékařem nasazen ibrutinib v dávce 420 mg/den; při léčbě ibrutinibem bylo dosaženo parciální remise s významným zmenšením nitrobřišních uzlin, plnou úpravou krevního obrazu a zřetelným zlepšením kvality života nemocného. V květnu 2018 (po 11 měsících léčby ibrutinibem) onemocnění opět progreduje ve smyslu B-příznaků, progres retroperitoneální lymfadenopatie a rozvoje hyperkalcémie. Proto bylo provedeno PET/CT a následně vzhledem k vysoké FDG aviditě břišních uzlin jehlová biopsie, která prokázala Richterovu transformaci do difúzního velkobuněčného lymfomu, CD5+, s non-germinal center fenotypem. Z tohoto důvodu byl zahájen režim R-CHOP, který však byl komplikován neutropenickou sepsí; pro známky progres RT na léčbě byl změněn protokol na R-GD (rituximab, gemcitabin, dexametazon). V další terapii ale nebylo možné pokračovat pro přetrvávající závažnou trombocytopenii; léčba byla tedy po domluvě s nemocným změněna na paliativní s důrazem na maximální ovlivnění symptomů a nemocný byl předán do hospicové péče, kde posléze zemřel (2 měsíce od stanovení diagnózy RT). Závěr: Tato kazuistika demonstruje velmi nepříznivou prognózu Richterova syndromu u nemocného s pokročilou a významně předléčenou CLL. Podpořeno programem PROGRES Q40/08 a RVO MZ ČR (FNHK, 00179906).

Transformace chronické lymfocytární leukémie do Hodgkinovy nemoci*Hrobková S., Panovská A., Brychtová Y., Doubek M. (IHOK, FN, Brno – Bohunice)*

Richterova transformace či Richterův syndrom (RS) je většinou vysoce prognosticky nepříznivá komplikace chronické lymfocytární leukémie (CLL). Přestože je CLL považována za low-grade lymfoproliferaci, u 2-10 % pacientů se nemoc transformuje do agresivnější lymfoidní malignity. Klinicky transformaci charakterizuje rozvoj B-příznaků, rapidní progresse lymfadenopatie a výrazné zvýšení laktátdehydrogenázy. K potvrzení Richterova syndromu je rozhodující extirpace mízní uzliny s histologickým vyšetřením. Ve velké většině případů (85-90 %) se jedná o transformaci do difuzního velkobuněčného lymfomu (DLBCL-RS), transformace do Hodgkinova lymfomu je mnohem vzácnější a vyskytuje se v 0,4-0,7 % všech případů. V literatuře byly sice popsány transformace do dalších non-hodgkinských lymfomů, v klinické praxi se ale téměř nevyskytují. V současné době je téma transformace CLL stále aktuálnější v souvislosti s nově používanými inhibitory signalizace B buněčného receptoru. Hodgkinova varianta Richterova syndromu (HV-RS) je charakterizovaná přítomností Reed-Sternbergových buněk, s klasickým imunofenotypem CD30+ a CD15+. Zatímco 80% případů DLBCL-RS má klonální vztah k původní CLL, až 50% případů HV-RS je vzniklých de novo. Hodgkinova varianta RS je v porovnání s DLBCL-RS sice méně agresivní, proti de novo vzniklému Hodgkinovu lymfomu má ale prognózu výrazně horší, s mediánem přežití 24-44 měsíců. V případě Richterovy transformace do Hodgkinova lymfomu je indikována chemoterapie určená k léčbě tohoto onemocnění (např. ABVD – doxorubicin, dakarbazin, vinblastin, bleomycin). Prezentovaná kazuistika popisuje případ polymorbidního pacienta s CLL, roztroušenou sklerózou, anamnézou maligního melanomu a retinoblastomu. K podání terapie byl indikován pro výraznou B-symptomatologii a generalizovanou lymfadenopatii. Z prognostických faktorů byla přítomná delecce 11q, trisomie 12, protein p53 byl funkční, IgVH nemutovaný. S ohledem na anamnézu malignit bylo podáno 5 cyklů RCD (rituximab, cyklofosfamid, dexamethason) s dosažením parciální remise. Již po 3 měsících ale dochází k rychlé progresi nemoci, spojenou s masivní břišní lymfadenopatií o průměru až 30cm. Byla zahájena terapie inhibitory Brutonovy tyrosinkinázy – ibrutinibem, se skvělou tolerancí a velmi dobrým efektem – po půl roku léčby bylo dosaženo klinické celkové remise. Přibližně po roku terapie ale opět dochází k masivnímu nárůstu krčních a axilárních uzlin, výrazným B-symptomům. Histologicky byla prokázána Hodgkinova varianta Richterova syndromu a pacient již má za sebou 1. cyklus ABVD.

Histiocytární sarkom – raritní forma transformace CLL*Urbanová R., Turcsányi P., Procházková V., Krůzová L., Holzerová M., Urbánková H., Kriegová E., Tichý T., Tichý M., Michal M., Papajík T. (Hemato-onkologická klinika, FN a LF UP, Olomouc; Šiklův ústav patologie, LF UK a FN, Plzeň)*

Úvod: Díky významným pokrokům v léčbě vysoce rizikových forem CLL inhibitory BCR signalizace a inhibitory proteínu BCL2 se setkáváme častěji s potřebou vyloučit transformaci nemoci. Léčebný postup u relapsu nebo progresu CLL a transformace je odlišný, také včasnost diagnostiky transformace hraje pro nemocného zásadní roli. Transformace představuje nejčastěji vývoj CLL do difuzního velkobuněčného lymfomu (95 %), méně často Hodgkinova lymfomu (5 %), jiná forma transformace je záležitost raritní. Popis případu: Referujeme případ nemocné, u které byla CLL diagnostikována v roce 2004 ve věku 46ti let ve stadiu Binet A, s nemutovaným stavem IGHV a s 13q-. První linii léčby CLL s obrazem čisté aplazie červené řady absolvovala v roce 2006 6ti cykly FCR (fludarabin, cyklofosfamid, rituximab) s dosažením kompletní remise nemoci, v roce 2012 dochází ke klonálnímu vývoji onemocnění s nálezem komplexního karyotypu, TP53 funkční. Po 6ti cyklech FCR byla dosažena druhá kompletní remise. Následoval do dvou let časný relaps onemocnění, který se manifestoval pancytopenií s trombocytopenií pod $10 \times 10^9/l$ a život ohrožující pneumonií s nutností umělé plicní ventilace. Za současné léčby infekce bylo režimem R idelalisib dosaženo na devět měsíců parciální remise nemoci, pro další relaps indikována v září 2016 terapie ibrutinibem, na které trvala parciální remise dalších sedm měsíců s dobrou kvalitou života nemocné. V lednu 2017 se objevují stěhovavé netypické bolesti zad, subfebrilie, pocení, laboratorně zvýšení hodnoty LDH, prokázána mutace SF3B1. Zvažována léčba ventoklaxem. K vyloučení transformace nemoci

realizujeme PET/CT, kde prokazujeme mnohočetná ložiska ve svalch a podkoží s SUV max 15 a osteolytické ložisko v oblasti Th 11. V květnu 2017 byla provedena biopsie ložiska svalu s nálezem mezenchymálního tumoru, vzorek odeslán ke druhému čtení, kde popsán lymfom z malých lymfocytů s velkobuněčnou komponentou, diferenciatně diagnosticky uvažováno o blastickém zvratu CLL nebo o nálezů histiocytů. Vyšetření ale limitováno malým množstvím materiálu. U nemocné současně prokázán v periferní krvi i histologicky v kostní dřeni relaps CLL, nově se objevuje zvětšená krční uzlina, pro diagnostické nejasnosti realizujeme extirpaci, kde histologicky zjištěna kompletně infiltrovaná lymfatická uzlina histiocytárním sarkomem, bez nálezů buněk CLL. V literatuře byl opakovaně popsán identický původ buněk histiocytárního sarkomu a CLL jako forma transformace/transdiferenciace CLL. Prokázali jsme metodou FISH na FFPE řezu infiltrované uzliny klonální příbuznost buněk CLL a histiocytárního sarkomu. Delecce oblasti 13q14, přítomná v době diagnózy CLL, byla prokázána v době transformace v uzlině infiltrované histiocytárním sarkomem bez buněk CLL. Indikujeme terapii CHOP, nemocná zemřela pod obrazem septického šoku 14 dnů od zahájení léčby. Závěr: Referujeme případ nemocné s vysoce rizikovou formou CLL, u které po 16ti měsících úspěšné léčby inhibitory BCR signalizace došlo ke klinickému zhoršení s netypickým PET/CT nálezem. Chtěli bychom upozornit v případech klinického podezření na transformaci nemoci na nutnost opakovaného histologického vyšetření a případně potřebu druhého čtení nezávislým patologem. Podporováno granty IGA_LF_2019_001 a MZ ČR_RVO (FNOL, 00098892).

POSTEROVÁ ČÁST

P1.

Abnormality chromosomu X u pacientů s mnohočetným myelomem

Balcárková J., Flodr P., Kořínková G., Svobodová N., Pika T., Krhovská P., Urbánková H., Papajík T., Minařík J. (Hemato-onkologická klinika, FN a LF UP, Olomouc; Ústav klinické a molekulární patologie, FN a LF UP, Olomouc)

Aberace chromosomu X patří mezi méně časté abnormality, které lze pozorovat u pacientů s mnohočetným myelomem (MM). V literatuře je popisována monosomie X u žen, delece Xp, duplikace Xq27-Xq28 jako pravděpodobný následek translokace této oblasti na autosom. Je prokázána asociace změn chromosomu X s větším počtem strukturních abnormalit, ale zatím nebyla prokázána asociace s celkovým přežitím pacientů, jen tendence lepšího přežití u ztráty celého chromosomu X. V duplikované oblasti Xq27-Xq28 se nachází geny dráhy NFKB, které jsou spojeny s progresí MM (IKBKG a IRAK1), dále jsou zde lokalizovány geny rodiny MAGE C1 (melanom antigen C1) a MAGE C2. Jedná se o cancer testis antigeny (CTA), které jsou omezeně exprimovány v somatických buňkách (varlata, vaječníky, fetální a placentární tkáně). Tyto geny jsou exprimovány i u MM. Cílem této práce je analyzovat abnormality chromosomu X v souboru 80 pacientů (52 žen a 28 mužů) s aktivním MM pomocí metody array komparativní genomové hybridizace (arrayCGH) (Agilent, Technologies, Santa Clara, CA) provedené na separovaných CD 138+ pozitivních buňkách (MACS, Miltenyi Biotec, Auburn, CA), zjistit frekvenci a rozsah jednotlivých změn a tyto změny dále analyzovat pomocí imunohistochemických metod k průkazu exprese genu MAGE-C1 (MAGE-C1-CT-33, Santa Cruz). Abnormality chromosomu X byly prokázány u 29/52 (56 %) žen. Monosomie X byla zjištěna u 18/52 (34,6 %) pacientek. U 5 (9,6 %) žen byla prokázána parciální monosomie chromosomu X, která zahrnovala celou oblast Xp a částečně oblast Xq (u 2 pacientek v kombinaci se zmnožením terminální části Xq). U 2 (3,9 %) žen byla prokázána ztráta heterozygoty na Xq. Zmnožení Xq bylo prokázáno u 4/52 (7,7 %) pacientek, přičemž minimální zmnožená oblast zahrnovala pruhy Xq27- Xq28. U těchto žen byla prokázána v jádře i cytoplasmě exprese genu MAGE-C1. Abnormality X byly prokázány u 14/28 (46 %) pacientů (minimální zmnožená oblast zahrnovala pruhy Xq27- Xq28). U 11 (39, 1%) pacientů bylo zjištěno zmnožení Xq27-Xq28 a u 8/11 pacientů byla pomocí imunohistochemických metod prokázána exprese genu MAGE-C1 v jádře i v cytoplasmě. Delece Xp22 byla nalezena u 2 (7,1 %) pacientů. V našem souboru pacientů jsme zjistili vysokou četnost (51 %) abnormalit chromosomu X. Potvrdili jsme nález nejčastějších změn: monosomie X u žen a zmnožení Xq27-Xq28 u mužů, které je spojeno s expresí genu MAGE-C1. Expresí CTA u MM je spojena s progresí onemocnění tím, že chrání myelomové buňky před apoptózou navozenou v důsledku léčby. CTA by mohly být dalším terapeutickým cílem, zejména v kombinované imunoterapii pacientů s MM. Tato práce je podporována grantem IGA_LF_2019_001, MZ ČR – RVO (FNOL, 00098892).

P2.

Cílené sekvenování mutací TP53 z kostní dřeně u pacientů s mnohočetným myelomem

Petráčeková A., Sedlářková L., Minařík J., Hamplová A., Libigerová T., Vašínek M., Dýšková T., Urbánková H., Bačovský J., Papajík T., Kriegová E. (Ústav imunologie, FN, Olomouc; Hemato-onkologická klinika, FN a LF UP, Olomouc; Katedra informatiky, Fakulta elektrotechniky a informatiky, VŠB-TUO, Ostrava)

Úvod: Mezi prognosticky nejvýznamnější genetické aberace u mnohočetného myelomu (MM) patří delece 17p a/nebo mutace genu TP53. Zajímalo nás, zdali v případě nedostupnosti sortovaných plazmatických buněk (PB) je možné využít pro detekci mutací v genu TP53 sekvenování nové generace (NGS) přímo z kostní dřeně (KD). Cíle: Cílem naší studie bylo srovnat výsledky cíleného sekvenování vzorků KD pro vyšetření mutací TP53 a dalších často mutovaných genů NRAS, KRAS a BRAF s výsledky ze sortovaných PB u pacientů s MM. Metody: Genomická DNA byla izolována z KD (infiltrace PB: medián 16,4 %, min-max 1,2 - 65,6 %) od 35 pacientů s MM (12 mužů/23 žen) a párových vzorků sortovaných PB. Celá kódující sekvence, 5' a 3' UTR oblasti genu TP53 a mutační hotspoty genů NRAS, KRAS a BRAF byly sekvenovány pomocí NGS (MiSeq, Illumina). Cut off limit pro detekci mutací byl stanoven jako 1 % frekvence variantních alel (VAF). Výsledky: U 22,9 % (8/35) pacientů s MM byly pomocí NGS z KD detekovány mutace v genu TP53, u 20,0 % (7/35) pacientů mutace v genu KRAS, u 14,3 % (5/35) mutace v genu

NRAS a u 8,6 % (3/35) pacientů mutace v genu BRAF. Většina detekovaných mutací v genu TP53 se vyznačovala nízkou frekvencí (VAF 2-9 %) a detekovaná hodnota VAF byla v souladu s infiltrací PB v KD. U 62,5 % (5/8) pacientů jsme prokázali izolovanou mutaci TP53, u dvou pacientů se současně vyskytovala mutace TP53 a del(17p) a u jednoho pacienta byla detekována mutace v genu TP53 spolu s trisomií chromosomu 17. V případech, kdy byl k dispozici párový sortovaný vzorek PB, jsme nalezené mutace prokázali v KD i sortovaných MM buňkách. Závěr: Naše výsledky prokazují využitelnost vzorků KD pro hodnocení mutací genu TP53 u MM pomocí cíleného NGS při nedostupnosti sortovaných PB. Naše data navíc zdůrazňují důležitost vyšetření mutací v genu TP53 u pacientů s MM současně s cytogenetickou analýzou. Další studie na větší kohortě pacientů je nutná k ověření našich výsledků. Grantová podpora: MZ ČR VES16-32339A, IGA UP_2019_014, MH CZ-DRO (FNOL, 00098892), NV18-03-00500 Klíčová slova: mnohočetný myelom, TP53, kostní dřeň, NGS

P3./1629

Hlas pacientů je slyšet

Plechátá I., Tůmová M., Onderková A. (LF MU, Brno; Dialog Jessenius; Klub pacientů mnohočetný myelom)

Projekt patientských organizací „Hlas onkologických a hemato-onkologických pacientů“ formuluje široké zdravotní, sociální a psychologické potřeby pacientů a usiluje o jejich naplňování všude tam, kde dosud naplňovány nejsou. Cílí na aktivní zapojení a účast pacientů (prostřednictvím zkušených patientských organizací) do legislativních i rozhodovacích procesů, a to zejména tam, kde se upravuje dostupnost a kvalita zdravotní péče, včetně dostupnosti léků, zdravotnických prostředků a obecně inovativních technologií. V rámci projektu došlo již k mnoha pozitivním výstupům jak ve zdravotní péči, tak také sociální oblasti (posuzování invalidity, možnosti neomezených vycházek, sociálních dávek apod.) Úzká spolupráce s odborníky všech odvětví onkologie a hemato-onkologie je v projektu klíčová, kultivuje prostředí českého zdravotnictví a posouvá ho dál do 21. století.

P4./1564

Vztah mezi sérovými hladinami vybraných biomarkerů mikroprostředí kostní dřeně a aktivitou mnohočetného myelomu

Prošková J., Krhovská P., Heřmanová Z., Petrová P., Píka T., Bačovský J., Minařík J. (Oddělení klinické biochemie, FN, Olomouc; HOK, FN, Olomouc; Ústav imunologie, FN, Olomouc)

Úvod: Mnohočetný myelom (MM) je maligní onemocnění způsobené transformací terminálně diferencovaných B-lymfocytů. Je charakteristické akumulací maligních plazmatických buněk v kostní dřeni a je spojeno s celou řadou sekundárních klinických projevů, včetně anémie, imunodeficiency, selhání ledvin, hyperkalcémie a tvorbou kostních lytických lézí. Osteolytické kostní léze se vyvíjejí u většiny pacientů s mnohočetným myelomem a jsou spojeny se zvýšenou morbiditou. Biomarkery mikroprostředí kostní dřeně byly vybrány pro předpokládaný přínos k diagnostice úbytku kostní hmoty u MM a možného podílu na transformaci z monoklonální gamopatie nejistého významu (MGUS). Cílem naší studie bylo zjistit korelaci mezi sérovými koncentracemi 11 vybraných biomarkerů a skupinami pacientů s MGUS, s doutnajícím myelomem (SMM) a s mnohočetným myelomem. Metody: Retrospektivně jsme analyzovali kohortu 108 jedinců s plazmocelulární dyskrázií (65 pacientů s MM, 13 s SMM a 30 s MGUS). V našem souboru byl medián věku 68 let (36-93), poměr M/Ž byl 1,2:1, pacienti měli obvyklou distribuci jednotlivých imunohistochemických typů monoklonálního imunoglobulinu (Ig). Byly hodnoceny následující parametry kostního metabolismu a mikroprostředí kostní dřeně: C-terminální telopeptid kolagenu typu I (ICTP) a N-terminální propeptid prokolagenu typu I (PINP), dále růstový faktor hepatocytů (HGF), osteoprotegerin (OPG), makrofágový zánětlivý protein 1a (MIP-1a), aktivin A, anexin A2, sklerostin, sekretovaný protein příbuzný proteinu Frizzled (sFRP), Dickkopf-related protein 1 (DKK-1) a kyselá fosfatáza rezistentní na tartrát (TRAP5). Tyto parametry byly hodnoceny u jednotlivých pacientů a porovnávány v podskupinách MM, SMM a MGUS. Pro statistiku jsme použili Kruskal-Wallisův test s korekcí na $p < 0,05$. Výsledek: Analýza ukazuje signifikantně rozdílné sérové hladiny kostních markerů ve skupinách MM

a SMM ve srovnání s MGUS pro ICTP (mediány, MM 0.687 vs SMM 0.32 vs MGUS 0.325 $\mu\text{g/L}$, $p < 0,0001$) a PINP (mediány, MM 51.5 vs SMM 40.8 vs MGUS 42.9 $\mu\text{g/L}$, $p = 0,045$). Mezi skupinami pacientů s MM, SMM a MGUS jsme zjistili významné rozdíly u HGF v séru (medián MM 2650 vs SMM 2465 vs MGUS 1625 ng/L, $p < 0,0001$), MIP-1a (medián MM 26,1 vs SMM 22,1 vs MGUS 22,4 ng/l, $p = 0,022$), sFRP (medián MM 941 vs SMM 817 vs MGUS 725 ng / l, $p = 0,0041$) a DKK-1 (medián MM 3327 vs SMM 2202 vs MGUS 2571 ng/L, $p = 0,0075$). U ostatních markerů mikroprostředí kostní dřeně nebyl mezi jednotlivými podskupinami nalezen statisticky významný vztah. Závěry: Analýza prokázala vztah vybraných markerů k aktivitě nemoci, resp. v případě HGF, MIP-1a, DKK-1 a sFRP byly nalezeny významně zvýšené hladiny u pacientů s aktivním mnohočetným myelomem oproti pacientům s MGUS. Výsledky podporují hypotézu o jejich úloze v procesu transformace z MGUS na MM. S podporou grantů NV18-03-00500, MH CZ-DRO (FNOI, 00098892) a IGA-LF-2019-001

P5./1584

Nestin jako nový specifický tumor marker u mnohočetného myelomu

Svobodová N., Navrátilová J., Šváchová H., Balcárková J., Urbánková H., Prošková J., Novák M., Papajík T., Minařík J. (Hemato-onkologická klinika, FN a LF UP, Olomouc)

Gen pro nestin (NES) je lokalizován v pruhu 1q23 a je primárně exprimován v nervových kmenových buňkách, kde tvoří součást intermediálních filament. Expresí NES je dále popisována u rychle se dělících progenitorových buněk embryonální a fetální tkáně ale i maligních buněk solidních nádorů. NES byl popsán i jako specifický marker pro maligní plazmatické buňky (PC) mnohočetného myelomu (MM). Zdá se, že hladiny NES během progresu onemocnění z monoklonální gamopatie nejasného významu (MGUS) k MM narůstají a jsou spojeny s horší prognózou a odpovědí na léčbu. Cílem naší studie bylo zhodnotit expresi genu NES v kostní dřeni (KD) u pacientů s MM a výsledky porovnat s dalšími parametry jako jsou množství PC v KD a zmožení 1q. Analyzovali jsme 33 vzorků KD pacientů s aktivním MM. Vysoce kvalitní RNA byla izolována z mononukleárních buněk (MNC) KD za použití TRIzol® Reagent (Ambion, USA). Celková RNA byla reverzně transkribována do cDNA (High-Capacity RNA-to-cDNA kit, Applied Biosystems, USA). Kvantitativní PCR v reálném čase (qPCR) byla provedena se sondami Tag-Man (Tag-Man expression gene assay, Thermo Fisher, USA) za použití Light Cycler II (Roche, Švýcarsko). Pro optimalizaci metody byla zjištěna konkrétní Ct (cycle threshold) pro každý vzorek. Expresí NES každého patientského vzorku byla vztažena k expresi zvoleného kontrolního genu β glukuronidáza (GUSB) a zároveň normalizována na expresi kalibrátoru. Jako kalibrátor pro kvantifikační přístup 2- $\Delta\Delta\text{Ct}$ byla použita lidská cDNA získaná z KD jedinců bez infiltrace hematologickou malignitou. Zmožení 1q bylo hodnoceno metodou FICTION (fluorescenční imunofenotypizace a interfázní in situ hybridizace) se sondou SPEC CKS1B/CDKN2C (Zytovision, Německo), která zahrnuje lokusy 1q21 a 1p32. Zmožení 1q a současně zvýšená expresí NES byla zjištěna u 13/33 (39 %) pacientů (pouze u 2/13 pacientů bylo množství PC v KD < 10 %). Zmožení 1q bez prokázané zvýšené expresí NES bylo nalezeno u 7/33 pacientů (21 %) (pouze 1/7 pacientů měl PC ≥ 10 %). U 11/33 (33 %) pacientů nebylo prokázáno zmožení 1q ani vyšší hladina expresí NES (u 6/11 pacientů bylo množství PC v KD > 10 %). U 2/33 pacientů bez zmožení 1q byla zvýšená expresí NES pravděpodobně z důvodu vyšší infiltrace PC v KD (PC v KD > 10 %). Pacienti, u kterých zvýšená hladina expresí NES koreluje se zmožením 1q, mají zároveň většinou i vyšší infiltraci PC v KD. Zůstává otázkou, zda pacienti, u kterých nekoreluje množství PC v KD, s expresí NES a zmožením 1q, nejsou zhodnoceni jako falešně negativní v důsledku odběru KD s falešně nižší infiltrací PC, což může mít vliv na následnou nižší expresí NES. Nová metoda kvantifikace expresí NES pomocí qPCR je použitelná v rutinním vyšetřování pacientů s MM, ale je nutné provést analýzu většího souboru pacientů přímo na separované populaci CD 138+ PC, aby byla zaručena vyšší citlivost a přesnost metody. Naše výsledky ukazují, že expresí NES může hrát důležitou roli při progresi či relapsu MM. Tato práce je podporována grantem MH CZ – RVO (FNOI, 00098892) a IGA LF-2019-001.

P6./1464

Ixazomib plus lenalidomid-dexamethason u pacientů s mnohočetným relabujícím/refrakterním mnohočetným myelomem – účinnost v běžné klinické praxi je podobná účinnosti ve studii fáze 3 TOURMALINE MM1: sdružená analýza z observační studie INSIGHT MM a českého rejstříku monoklonálních gamapatií

Hájek R., Minařík J., Terpos Evangelos, Lee Hans C., Chari Ajai, Costello Caitlin L., Puig Noemi, Leleu Xavier, Berdeja Jesus G., Davies Faith E., Weisel Katja C., Usmani Saad Z., Hungria Vania T. M., Boccadoro Mario, Rifkin Robert M., Zonder Jeffrey A., Cook Gordon, Brožová L., Bařinová M., Dawn Marie Stull, Maisnar V. (Klinika hematologie, FN, Ostrava; Hemato-onkologická klinika, FN a LF, Olomouc; Department of Clinical Therapeutics, National and Kapodistrian University of Athens, School of Medicine, Athens – Greece; Department of Lymphoma and Myeloma, The University of Texas, M.D. Anderson Cancer Center, Houston, TX – USA; Hematology-Oncology, Mount Sinai School of Medicine, New York, NY – USA; Division of Blood and Marrow Transplant, Moores Cancer Center, University of California, San Diego, La Jolla, CA – USA; Hematology Department, Hospital Universitario de Salamanca, Salamanca – Spain; Pôle Régional de Cancérologie, CHU de Poitiers, Poitiers – France; Department of Hematology, Sarah Cannon Research Institute, Nashville, TN – USA; Myeloma Institute for Research and Therapy, Winthrop P. Rockefeller Cancer Institute at the University of Arkansas for Medical Sciences, Little Rock, AR – USA; Department of Oncology, Hematology, Stem Cell Transplantation with Section of Pneumology, University Medical Center of Hamburg-E, Hamburg – Germany; Department of Hematologic Oncology & Blood Disorders, Levine Cancer Institute, Charlotte, NC – USA; Department of Hematology, Clínica São Germano and Santa Casa Medical School, Sao Paulo – Brazil; Myeloma Unit, Division of Hematology, University of Torino, Torino – Italy; Hematology Research, US Oncology Research, Rocky Mountain Cancer Centers, Denver, CO – USA; Department of Malignant Hematology, Karmanos Cancer Institute / Wayne State University School of Medicine, Detroit, MI – USA; Haematology, Clinical Trials Research Unit, NIHR (Leeds) IVD Cooperative, Leeds Teaching Hospital, Leeds – UK; Oddělení analýzy dat, Institut biostatistiky a analýz, s.r.o., Brno – CZE; Millennium Pharmaceuticals, Inc., Cambridge, MA – USA, a wholly owned subsidiary of Takeda Pharmaceutical Company Limited Cambridge, MA – USA; V. interní hematologická klinika, FN, Hradec Králové – CZE)

Perorálně podávaný inhibitor proteazomu ixazomib je ve více než 60 zemích po celém světě schválen v kombinaci s lenalidomidem/dexamethasonem (IRd) pro léčbu pacientů s relabujícím/refrakterním mnohočetným myelomem, kteří již obdrželi ≥ 1 předchozí léčbu. Výsledky a snášenlivost v běžné klinické praxi se liší od údajů z klinických hodnocení s použitím inovativních přípravků pro léčbu mnohočetného myelomu, nicméně data porovnávající účinnost v klinických studiích s reálnou účinností nových léčeb myelomu jsou omezená. Pro vyhodnocení účinnosti IRd u pacientů s relabujícím/refrakterním mnohočetným myelomem v běžné klinické praxi jsme provedli sdruženou analýzu dat na úrovni pacienta pro pacienty s relabujícím/refrakterním mnohočetným myelomem, léčené IRd, z probíhající, globální, prospektivní, observační studie INSIGHT MM (NCT02761187), do níž je zařazeno cca ~4200 pacientů s mnohočetným myelomem, a Českého rejstříku monoklonálních gamapatií (RMG), jenž obsahuje klinická data pro více než 6000 pacientů s mnohočetným myelomem z 19 českých center. Byli identifikováni pacienti s relabujícím/refrakterním mnohočetným myelomem, léčení režimem IRd, s 1–3 (INSIGHT MM) nebo ≥ 1 (RMG) předchozími léčbami. Pacienti vyžadovali prospektivně shromažďovaná data o léčbě IRd; pacienti, kteří obdrželi další léčbu v rámci shodné linie jako IRd, byli vyloučeni. Do analýzy bylo celkem zařazeno 163 pacientů s relabujícím/refrakterním mnohočetným myelomem, léčených IRd (50 INSIGHT MM, 113 Český RMG) z 9 zemí. Medián věku byl 67 let, přičemž 14 % pacientů bylo ve věku > 75 let; 53 % byli muži. Při diagnóze mělo 26 % pacientů onemocnění stadia III dle systému International Staging System; medián doby od diagnózy do zahájení léčby IRd byl 42,6 měsíce; 71 % pacientů mělo statut dle Eastern Cooperative Oncology Group ≥ 1 . Většina pacientů (65 %) mělo myelom s imunoglobulinem G; 14 % mělo extramedulární onemocnění. Celkově obdrželo 50 %/30 %/20 % pacientů IRd jako léčbu 2./3./ ≥ 4 . linie; nejčastějšími důvody zahájení IRd byly relaps/progrese (90 %), včetně kostních lézí (53 %) a anémie (14 %). Předchozí léčby zahrnovaly bortezomib (89 %), transplantaci (61 %), thalidomid (42 %),

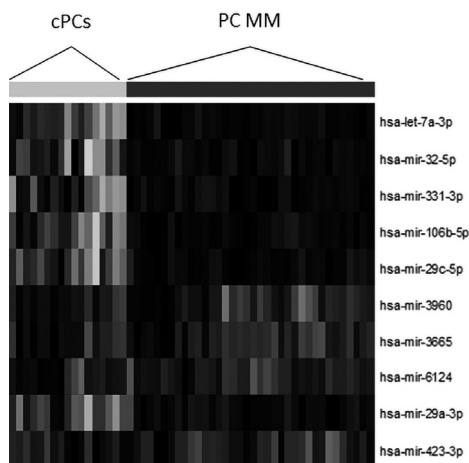
lenalidomid (21 %), carfilzomib (11 %), daratumumab (3 %), a pomalidomid (2 %). Medián trvání léčby byl 14,0 měsíců (95 % interval spolehlivosti 11,2–23,0; tabulka); 62 % pacientů bylo léčeno při ukončení analýzy dat. Mezi 105 hodnotitelnými pacienty byl celkový výskyt léčebné odpovědi 74 %, přičemž u 31 % byla velmi dobrá či lepší odpověď. Medián doby do první (Český RMG)/nejlepší (INSIGHT MM) odpovědi 1,1/3,7 měsíce. Průměrná doba trvání sledování u všech pacientů byla 9,3 měsíců (64 pacientů ve studii po 12 měsících); výsledky by měly být interpretovány s opatrností vzhledem omezené zralosti dat. Celkový medián přežití bez progresy byl 20,9 měsíců (95 % interval spolehlivosti 13,0–28,7); míra 12měsíčního přežití bez progresy byla 65 %. Medián doby do další léčby byl 26,2 měsíce (95 % interval spolehlivosti 9,6–42,8); míra 12měsíčního období do další léčby byla 73 %; 23 % pacientů obdrželo následně terapii (bortezomib 24 %, pomalidomid 24 %, thalidomid 16 %, daratumumab 16 %, carfilzomib 14 %, lenalidomid 8 %). Medián celkového přežití nebyl dosažen, 81 % pacientů po 12 měsících žilo. Údaje naznačují, že IRd je v běžné klinické praxi dobře snášen a jeho účinnost je srovnatelná s účinností, hlášenou ve studii TOURMALINE MM1 (celková míra odpovědi 78 %, medián doby přežití bez progresy 20,6 měsíce

Cílové ukazatele účinnosti	Všichni pacienti (N=163)	2. linie (n=82)
Nejlepší odpověď na léčbu, n	105	58
Celková míra odpovědi, % (95 % interval spolehlivosti)	74 (65–82)	91 (81–97)
Velmi dobrá či lepší odpověď, %	31	41
Doba trvání léčby		
Medián (95 % interval spolehlivosti), měsíců	14,0 (11,2–23,0)	20,2 (12,4–NR)
12měsíční míra, %	57	65
Přežití bez progresy		
Medián (95 % interval spolehlivosti), měsíců	20,9 (13,0–28,7)	NR
12měsíční míra, %	65	70
Doba do další léčby		
Medián (95 % interval spolehlivosti), měsíců	26,2 (9,6–42,8)	NR
12měsíční míra, %	73	73
Celkové přežití		
Medián, měsíců	NR	NR
12měsíční míra, %	81	89
Cílové ukazatele bezpečnosti	Ixazomib (N=163)	Lenalidomid (N=163)
Snížení dávky, %	18	37
Trvalé přerušování, %	4	5

NR = not reached, nedosaženo

MikroRNA u mnohočetného myelomu

Gregorová J., Bútová R., Radová L., Gablo N. A., Almáši M., Bezděková R., Štork M., Slabý O., Pour L., Minařík J., Ševčíková S. (Ústav patologické fyziologie, LF MU, Brno; Ceitec, LF MU, Brno; Oddělení klinické hematologie, FN, Brno; IHOK, FN, Brno; Hemato-onkologická klinika, FN a LF UP, Olomouc)



Východiska: MikroRNA (miRNA) jsou krátké, nekódující molekuly RNA, které se podílejí na mnoha fyziologických, ale i patologických procesech. Mnohočetný myelom (MM) je druhé nejčastější hematoonkologické onemocnění plazmatických buněk (PC). Přežití pacientů je negativně ovlivněno tzv. extramedulárním onemocněním (EM), který je způsoben ztrátou závislosti PC na mikroprostředí kostní dřevě a jejich vycestováním mimo kostní dřevě. Podstata a příčina tohoto procesu nejsou v současnosti objasněny. U pacientů s MM mohou být v periferní krvi detekovány cirkulující PC, buňky, které ztratily závislost na mikroprostředí kostní dřevě. Cirkulující PC jsou negativní markery MM. Význam miRNA u patogeneze MM byl prokázán několika studiemi. Předpokládáme, že se podílejí i na rozvoji EM. Cílem této práce byla analýza rozdílné exprese miRNA mezi vzorky PC kostní dřevě MM pacientů a EM pacientů, v porovnání s cirkulujícími PC MM pacientů. Materiál a metody: Pomocí sekvenování nové generace (NGS) bylo analyzováno 36 vzorků plazmatických buněk z kostní dřevě pacientů s MM při diagnóze, 9 vzorků PC z kostní dřevě nemocných s EM a 17 vzorků cirkulujících PC od pacientů s MM. Výsledky: Celkem bylo sekvenováno 2335 miRNA, ale do analýzy bylo vzato 578 miRNA, které byly exprimovány v alespoň 30 vzorcích a měly nejméně 1 na milion readů. Expresní data byla generována pomocí Chimera tool z fastq dat. Všechny sekvence byly mapovány pomocí miRBase v20. Další analýzy byly provedeny s použitím R/Bioconductor package. Po normalizaci exprese byl použit Bayesův postup. P hodnoty byly adjustovány s použitím Benjamini-Hochberg metody. Analýza prokázala, že existuje 29 miRNA ($p < 0,0001$), které se významně liší v expresi mezi cirkulujícími PC a PC EM pacientů. Dále jsme prokázali 10 miRNA ($p < 0,000000001$), které jsou statisticky významně odlišně exprimovány u cirkulujících PC vs. PC u MM pacientů (Obrázek 1). Závěr: Tato studie ukázala, že existují rozdílně exprimované miRNA mezi MM PC i EM PC a cirkulujícími PC MM pacientů. Tato práce byla podpořena grantem MZ ČR AZV 17-29343A a AZV 18-003-00203.

P8./1529**Predikce dlouhodobé prognózy pomocí výchozích laboratorních ukazatelů – experimentální model při léčbě rheofemaférou**

Bláha M., Bláha V., Langrová H., Andrys C., Lánská M., Filip S. (IV. interní hematologická klinika, FN, Hradec Králové; 3. interní klinika, LF a FN, Hradec Králové; Oční klinika, LF a FN, Hradec Králové; Ústav klinické imunologie a alergologie, LF a FN, Hradec Králové; 4. interní klinika LF a FN, Hradec Králové; Klinika onkologie a radioterapie, LF a FN, Hradec Králové)

ÚVOD: Posouzení prognózy je v klinické medicíně extrémně důležité u řady chorob, především v oblasti kardiovaskulární nebo cerebrální (hypertenze, diabetes, hypercholesterolemie a další), které vedou k fatálním komplikacím, pokud nejsou intenzivně léčeny. Určení ukazatelů, podle kterých by již období záchytu nemocných bylo možno určit budoucí osud nemocných, by umožnilo cíleně řídit léčbu – individualizovaně modifikovat způsob a intenzitu terapie - v rámci moderní metodiky „tailored medicine“. K našemu experimentu byla vhodná věkem podmíněná makulární degenerace sítnice (AMD), která zpravidla dlouhodobě progreduje, je klinicky důležitá - vede k praktické slepotě. MERODIKA A SOUBOR NEMOCNÝCH Pacienti (pc) se suchou formou AMD byli léčeni serií 8 reoferéz za 10 týdnů: 71

pc., doba sledování 6-132 měsíců, medián 48 měs. Pc. Sledování déle než 2 roky, byli rozděleni na 2 skupiny: klinicky úspěšně léčení a neúspěšně - 65 pc., z nich úspěšných 51 a neúspěšných 14 (nejdůležitějším kritériem byla zraková ostrost). K predikci prognózy byla použita diskriminační analýza – software Systat 13. Výběr předpokládaných účinných činitelů: spektrum reologicky účinných vysokomolekulárních proteinů podle Klingela et al., tj. celkový cholesterol, LDL-cholesterol, apolipoprotein B, IgM, α 2-makroglobulin, fibrinogen, dále viskozita krve a plazmy. Jako spektrum dalších, tzv. druhořadých činitelů: ukazatele snadno dostupné a standardně používané: albumin, celkovou bílkovinu, hladinu hemoglobinu, počet leukocytů, trombocytů, kreatinin, glykémii. VÝSLEDKY: Systém určil koeficienty dvou klasifikačních funkcí pro každý model (jednu pro úspěšné a druhou pro neúspěšné nemocné), postupně vyřadil nevýznamné ukazatele. Do dalšího hodnocení postoupily pouze: glykémie, kreatinin, celkový cholesterol, LDL-cholesterol a lipoprotein (a). V závěru program provedl konečné vyhodnocení a určil procentuální správnost predikce úspěšné léčby. Předpověď byla správná u 90 % neúspěšných nemocných a u 74 % úspěšných, celkově v 78 %. DISKUSE A ZÁVĚR Diskriminační analýza jako statistická metoda, umožňuje klasifikaci (rozřídění) skupiny objektů do tříd podle hodnoty několika faktorů. Výsledky predikce prognózy pomocí uvedeného experimentálního modelu jsou povzbudivé. Počet našich nemocných je ovšem dosud nedostatečný k přesvědčivým závěrům. Sestavení tohoto modelu však přináší možnost již relativně jednoduše pokračovat při testování – postupnou registrací dalších výsledků dosažených při pokračující výzkumné činnosti a rekrutaci dalších nemocných. Podle výsledku by pak bylo již na začátku léčby volit případně intenzivnější postup. Laboratorní hodnoty, s kterými náš model pracuje, jsou relativně lehce dosažitelné – jakmile je pacient rekrutován do výzkumného protokolu a absolvuje první reoferézu, jsou uvedené laboratorní výsledky k dispozici. Po rekrutaci potřebného počtu pacientů bude pak možné tento model znovu a přesněji posoudit a upřesnit jeho praktickou hodnotu. PODĚKOVÁNÍ Práce byla podporována granty MZ ČR AZV 17-29241A a 16-30366A

P9./1644**K akej diagnóze môže viesť leukocytóza u darcu krvi?**

Bratková A., Juhásová L., Sopková D. (Hematologicko-transfuziologické oddelenie, Nemocnica Košice-Šaca a.s., 1. súkromná nemocnica, Košice – Slovensko)

Leukocytóza patrí medzi najčastejšie laboratórne nálezy. Odlíšenie sekundárnej/reaktívnej od malignej príčiny je jedným z najdôležitejších krokov v diagnostike leukocytózy. Niekoľko dostupných pôvodných prác sa venovalo výskytu karcinómu u darcov krvi, vzťahu železa a rizika rakoviny, ale málo publikácií je venovaných problematike výskytu hematoonkologických ochorení u darcov krvi. V 10-ročnom období (1.1.2009 - 31.12.2018) sme zaevidovali na našom pracovisku 16.572 darcov krvi. Pri predodberovom vyšetrení hemogramu sme v 237 prípadoch zaznamenali zvýšený počet leukocytov. Opisujeme kazuistiky troch darcov krvi, u ktorých počiatočný nález leukocytózy viedol k následným vyšetreniam a k potvrdeniu hematoonkologickej diagnózy. V prvom prípade u 25-ročného opakovaného darcu krvi, s nádorovým ochorením v rodine, s bezvýznamným predchorobím, bez subjektívnych ťažkostí, sme zistili leukocytózu $13,3 \times 10^9/l$. Pri fyzikálnom vyšetrení nebol patologický nález, nebola evidentná príčina tejto leukocytózy. Následnými vyšetreniami bola potvrdená výrazná mediastinálna lymfadenopatia a diagnostikovaná Hodgkinova choroba. Pacient absolvoval terapiu vo Východoslovenskom onkologickom ústave, je v kompletnej remisii ochorenia. V druhom prípade u 19-ročného prvodarcu s bezvýznamným predchorobím, bez subjektívnych ťažkostí, sme pri fyzikálnom vyšetrení zistili splenomegáliu (+7 cm v medioklavikulárnej čiare), v hemograme extrémnu leukocytózu ($202 \times 10^9/l$) a normocytovú anémiu ľahkého stupňa (hemoglobín 120 g/l). V náteri periférnej krvi bol prítomný výrazný posun dola-va a zastúpený celý vývojový rad myeloidnej línie, lymfopénia, erytroblasty. V biochemických vyšetreniach boli prítomné známky zvýšeného bunkového obratu (zvýšená hladina laktátdehydrogenázy, tymidinkinázy, urikémie). Sonografické vyšetrenie verifikovalo splenomegáliu (22×12 cm). Odobrli sme vzorku periférnej krvi na imunofenotypové a genetické vyšetrenie. Ordinovali sme liečbu hydroxyureou a allopurinolom. Pacient bol odoslaný s pracovnou diagnózou chronickej myelocytovej leukémie v chronickej fáze na Klinikum hematológie a onkohematológie Univerzitnej nemocnice L. Pastuera v Košiciach, kde realizovali vyšetrenie kostnej drene a započali liečbu inhibítorom tyrozínkinázy. V treťom prípade išlo o 47-ročného opakovaného darcu krvi, s rodinným výskytom karcinómu, s bezvýznamným predchorobím, bez subjektívnych ťažkostí, s negatívnym fyzikálnym vyšetrením. V krvnom obraze bol zvýšený počet leukocytov ($16 \times 10^9/l$). Odber krvi bol kontraindikovaný a darcovi bol doporučený kontrolný odber o 14 dní. O 33 dní v hemograme sme zaznamenali progredujúcu leukocytózu ($23,6 \times 10^9/l$),

normocytovú anémiu ľahkého stupňa (hemoglobín 106 g/l). V náteri periférnej krvi boli prítomné patologické plazmocytózy i plazmoblasty, verifikované imunofenotypovým vyšetrením (vyše 20% diferenciálneho rozpočtu, vyše 2x10⁹/l). V ďalších laboratórnych nálezoch bola zvýšená laktátdehydrogenáza, κ 2mikroglobulín, tymidinkináza, prítomná monoklonová gamapatia IgA lambda, röntgenologicky boli dokumentované prejasnenia panvy, preriedená štruktúra oblúkov L1-4, nehomogénna štruktúra cervikálnych stavcov. Vyšetrenie kostnej drene potvrdilo cca 50% plazmocytovú infiltráciu kostnej drene. Pacienta sme odoslali s diagnózou primárnej plazmocelulárnej leukémie na Kliniku hematológie a onkohematológie Univerzitnej nemocnice L. Pasteura v Košiciach, kde mu poskytli komplexnú starostlivosť a liečbu. Záverom môžeme konštatovať: hoci vyšetrenie krvného obrazu podľa platnej legislatívy SR a direktív Európskeho parlamentu a Európskej rady nie je pred darovaním krvi nevyhnutné, zmeny v hemograme vrátane zvýšeného počtu leukocytov môžu upozorniť na patologický stav v tele darcu krvi i pri negatívnej anamnéze a negatívnom fyzikálnom náleze.

P10./1582

Zajištění hemoterapie pro pacientku s MDS a se selektivním IgA deficitem

Smítal J., Machová R. (Transfúzní oddělení, FN, Olomouc; Hemato-onkologická klinika, FN a LF UP, Olomouc)

Úvod: Selektivní deficit IgA (SDIgA) představuje častý humorální imunodeficit. Je charakterizován sníženou koncentrací sérového IgA při normálních hladinách IgG a IgM. Většina nositelů je zcela klinicky asymptomatická, významnou komplikaci však představuje riziko tvorby protilátek anti IgA a následný rozvoj anafylaktické reakce po parenterálním podání přípravků obsahujících plazmu nebo její deriváty. Nezbytným opatřením je podávání promytých transfúzních přípravků, další možnosti jsou autotransfúze nebo přípravy od IgA deficitního dárce. Postup: Přípravky promytých erytrocytů se získávají centrifugací z plné krve a jsou opakovaně promývány izotonickým roztokem. Proces je časově náročný. Vzhledem k porušení uzavřeného systému transfúzního přípravku a poškození erytrocytů promýváním je expirace přípravku zkrácena na 24 hod. Kazuistika: Pacientka, 63 let, dg. MDS, 5q-syndrom, inic. IPSS 0 (LR), dg. 08/05, od 12/05 v terapii EPO, do 6/13 bez potřeby hemosubstituce. Pro rozvoj transfúzní závislosti od 10/14 terapie lenalidomidem, ukončeno během 2. cyklu pro rozvoj pancytopenie, následně opět EPO (+G-CSF) s efektem na stabilizaci KO, od 7/17 opět anemizace s rozvojem transfúzní závislosti, dle přešetření KD progresse do obrazu MDS EB2, v plánu epigenetická terapie. V 6/2013 po podání 1 T.U. EBR rozvoj těžké anafylaktické reakce. Zjištěna výrazně snížená hladina IgA. Do současnosti podáno postupně 61 promytých erytrocytárních přípravků, bez další potransfúzní reakce. V terapii pacientky snaha o potlačení transfúzní závislosti, aktuálně komplikována progresí onemocnění. Závěr: U pacientů s SDIgA je riziko rozvoje silné potransfúzní reakce po podání transfúzního přípravku i se zbytkovým množstvím plazmy. Protože pacienti mohou být jinak asymptomatictí, může být tato reakce nečekaná, je nutné tento stav došetřovat. Vzhledem k časové náročnosti přípravy promytých transfúzních přípravků je třeba dobrá komunikace mezi klinickým a transfúzním oddělením, přípravy není možné poskytnout v režimu vitální indikace nebo statim.

P11./1580

Výroba granulocytárních transfúzních přípravků k terapii febrilní neutropenie

Smítal J. (Transfúzní oddělení, FN, Olomouc)

Úvod: Febrilní neutropenie je život ohrožující stav, který vzniká jako komplikace útlumu krvetvorby. Je definovaná jako pokles počtu neutrofilních granulocytů pod 0,5 x 10⁹/l s rozvojem febrilií nad 38,5 °C. Febrilní neutropenie může přejít do neutropenické sepse, která může progredovat až do multiorgánového selhání. Zdrojem je infekce, která může díky absenci granulocytů probíhat atypicky. Základem je antibiotická, popř. antimykotická terapie, jako doplňková léčba stimulace granulocytární řady v kostní dřeni nebo aplikace intravenózních imunoglobulinů. V závažnějších případech může být indikováno podání granulocytárních koncentrátů. Postup: Granulocytární koncentrát je možné získat aferetickým odběrem (GA) nebo z plné krve (GPK). Před aferézou je nutné několik hodin předem dárce nastimulovat vyplavení granulocytů do periferní krve intravenózní aplikací kortikoidů. Separátor odeberá z krve granulocyty a zbylé krevní komponenty vrací dárce. Granulocyty z plné krve jsou připravovány z buffy-coatů (vrstva leukocytů a trombocytů) izolovaných z odběrů plné krve. Z buffy-coatu se po centrifugaci oddělí plazma s trombocyty, zůstane tak koncentrát granulocytů. Léčebná dávka pro dospělého pacienta by

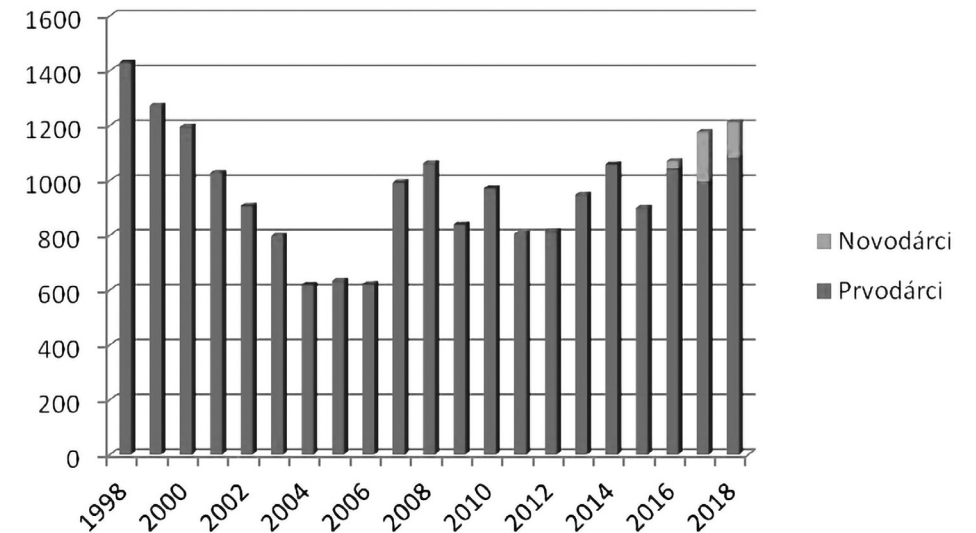
měla obsahovat minimálně 5 - 6 jednotek GPK. Před vydáním ke klinickému použití je granulocytární přípravy nutné ozářit ionizujícím zářením 25Gy. Pro významnou kontaminaci erytrocyty je nutné dodržovat ABO kompatibilitu. U příjemců s HLA protilátkami nebo anti-granulocytárními protilátkami je vhodné ověřit kompatibilitu mezi dárce a příjemcem lymfocytotoxickým testem nebo jeho ekvivalentem. Přípravky je nutné aplikovat do 24 hodin od výroby. Efektivní terapeutický přínos je v dávce 1,5 x 108 až 3,0 x 108 granulocytů / kg tělesné váhy pacienta. Přehled: Na TO FNOL byla zahájena výroba GA v roce 2016, GPK v roce 2017. Celkem bylo zatím vyprodukováno 34 GA a 230 jednotek GPK (rozdělených do 27 aplikací) pro 11 různých pacientů (diagnózy: 3xMDS, 3xAML, 2xCMMML, 1xHCL, 1xAL se smíšeným fenotypem, 1xWaldenströmova makroglobulinémie). Minimální počet aplikací granulocytárních koncentrátů byly 3, maximální 18. Aplikace byly většinou započaty u pacientů v nepříznivém klinickém stavu, přes laboratorní nárůst v počtu granulocytů došlo u 9 případů z 11 k úmrtí. Shrnutí: U závažnějších případů febrilní neutropenie lze indikovat podání granulocytárních koncentrátů. Jejich výroba je časově náročná a nabízí ji jen několik transfúzních pracovišť v ČR, nelze je proto v současných podmínkách poskytnout pro větší počet pacientů. Očekávatelný dopad na klinický stav pacienta je nejistý, pro jejich malé využití v porovnání s ostatními transfúzními přípravky se data obtížně vyhodnocují.

P12./1409

Vývoj základny dárce krve v období 1998 - 2018

Vybíralová L., Fedorco M., Galuszková D. (Transfúzní oddělení, FN, Olomouc)

Úvod: V dnešní době pozorujeme velký úbytek dárce. Stárne dárcovská základna, velký vliv na pokles počtu dárce mělo zrušení základní vojenské služby, ale také vznik soukromých plazmaferetických center. Metodika: V prezentaci jsou zpracována data za období 1998-2018 dle typu odběru, dle počtu dárce, dle druhu vyřazení dárce. Pořádáme náborové akce, tematické odběry, edukujeme studenty a zaměstnance firem. Novým trendem je používání sociálních sítí a vzájemná komunikace mezi dárce a pacientem. Zveřejňujeme i tzv. příběhy darované krve, kde se pacient dělí o svůj příběh. Monitorujeme důvody vyřazených dárce, kdy 96,05% tvoří vyřazení z důvodu nespoupráče dárce a vyřazení na vlastní žádost. Na základě získaných výsledků hledáme mezery v populaci mezi tzv. „ne-dárce“, ale současně se také snažíme udržet dárce stávající a nepřicházet o ně. Výsledky: K největšímu poklesu dárcovské základny došlo v roce 2006, kdy počet prvodárce za jeden rok klesl na 622. Naše oddělení vydá každý rok více jak 30 000 TP, které směřují ke konkrétnímu pacientovi, a do budoucna se bez dárce krve neobejde. Cíl: Cílem je rozšiřovat stávající dárcovskou základnu a udržet si stávající dárce. Součástí udržení, případně rozšíření dárcovské základny je vytvářet pro dárce příjemné prostředí, kam se budou rádi vracet.



P13./1486

Nádor z blastických plazmocytoidních dendritických buněk: první retrospektivní studie v České republice

Čerňan M., Szotkowski T., Hisemová M., Cetkovský P., Šrámková L., Starý J., Ráčil Z., Mayer J., Šrámek J., Jindra P., Víšek B., Žák P., Novák J., Kozák T., Fürst T., Papajik T. (Hemato-onkologická klinika, LF UP a FN, Olomouc; Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha; Klinika dětské hematologie a onkologie, 2. LF UK a FN Motol, Praha; Interní hematologická a onkologická klinika, FN, Brno; Hematologicko-onkologické oddělení, FN, Plzeň; IV. interní hematologická klinika, FN, Hradec Králové; Interní hematologická klinika, FN Královské Vinohrady, Praha; Katedra matematické analýzy a aplikací matematiky, Přírodovědecká fakulta, UP, Olomouc)

Nádor z blastických plazmocytoidních dendritických buněk (BPDCN) je raritní hematologická malignita s agresivním chováním a nepříznivou prognózou. Prezentovaná práce je první retrospektivní analýzou mapující výskyt onemocnění a výsledky terapie u nemocných diagnostikovaných a léčených v letech 2000 až 2017 v České republice. Soubor tvoří celkem 14 nemocných, 10 mužů a 4 ženy, s mediánem věku při stanovení diagnózy 39 (5-68) let. Kožní postižení bylo vstupně popsáno u 10 (71%) pacientů a infiltrace kostní dřeně byla přítomná u 9 (64%) pacientů. Generalizované onemocnění (postižení 2 a více orgánů) mělo vstupně 9 nemocných. První kompletní remisi po režimu pro terapii akutních lymfoblastických leukémií/lymfomů (ALL/lymfom-like) dosáhlo 6/14 (43%) a po režimu pro terapii akutních myeloidních leukémií (AML-like) 3/14 (21%) nemocní. Celkem 9 pacientů ze souboru podstoupilo alogenní transplantaci krevtvořných buněk, přičemž 2 nemocní dosáhli první kompletní remise až po provedení alogenní transplantace. Nemocní, kteří podstoupili alogenní transplantaci krevtvořných buněk, měli delší celkové přežití ve srovnání s netransplantovanými nemocnými. Medián trvání první kompletní remise byl v souboru 12,2 (1,0-42,7) měsíce. Relaps onemocnění byl významným prediktorem mortality ($p=0,05$). Přežití nemocných v souboru bylo ve sledovaném období 3,3-44,2 měsíce, s mediánem celkového přežití 13 měsíců. Nízká četnost onemocnění bude vyžadovat vznik mezinárodních registrů a kooperativních skupin, jen tak se dají očekávat další pokroky v diagnostice, klasifikaci a terapii. Cílem uvedené práce je prezentovat reálná data z České republiky a přispět tak ke globálnímu poznání BPDCN.

P14./1559

Klinické registry CELL a současný pohled na sběr RWE dat

Křístková Z., Nečasová T., Koritáková E., Jindra P., Kozák T., Szotkowski T., Stejskal L., Žák P., Ráčil Z., Doubek M., Cetkovský P., Mayer J. (Institut biostatistiky a analýz, s.r.o., spinoff Masarykovy univerzity, Brno; Hematoonkologické oddělení, FN, Plzeň; Interní hematologická klinika, FN Královské Vinohrady, Praha; Hemato onkologická klinika, FN, Olomouc; Klinika hematoonkologie, FN, Ostrava; IV. interní hematologická klinika, FN, Hradec Králové; IHOK, FN, Brno; Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha)

„Real World Evidence“ data (RWE data) představují data vypovídající o účinnosti, bezpečnosti a nákladové efektivitě léčby pacientů s určitým typem onemocnění sbíraná mimo randomizované klinické studie. Sběr dat z reálné klinické praxe, tedy mimo umělé prostředí klinických studií, může dále pomoci zhodnotit efektivnost nových, nákladných terapií a současně i míru jejich benefitů pro pacienta, lékaře ale i pro plátce zdravotní péče. Zdrojem RWE dat mohou být mimo jiné i klinické registry zaměřené na určité onemocnění nebo skupiny onemocnění. Klinické registry jsou převážně iniciovány a řízeny odbornými společnostmi. Monitorování a vyhodnocování dat z reálné klinické praxe zvyšuje kvalitu diagnostiky a zdravotní péče o nemocné, ale také pomáhá standardizovat léčebné postupy v participujících centrech a sledovat soulad používaných léčebných postupů s doporučeními a stanovisky odborné společnosti. V neposlední řadě jsou data v registrech cenným zdrojem pro další výzkumné projekty. V oblasti hematologie a hematoonkologie je v České republice dlouhodobě vedeno několik klinických registrů, z nichž významný podíl je pod správou České leukemické skupiny – pro život (The CzEch Leukemia Study Group – for Life), CELL, odborné, nezávislé platformy sdružující odborníky spolupracující v rámci diagnostiky a léčby leukémií již od roku 2006. V současnosti CELL zajišťuje šest celorepublikových klinických registrů, na kterých spolupracuje s Institutem biostatistiky a analýz (IBA), spinoff společností Masarykovy univerzity v Brně. IBA zajišťuje především technické vedení registrů (vývoj vlastního informačního systému CLADE) a analýzu dat. Jedná se o registry:

INFINITY (chronická myeloidní leukemie), CLLEAR (chronická lymfocytární leukemie), DATOOL-AML (akutní myeloidní leukemie), DATOOL-ALL (akutní lymfoblastická leukemie), MIND (Ph-negativní myeloproliferativní onemocnění) a FIND (invazivní mykotické infekce u hematoonkologických pacientů). Od roku 2016 probíhá postupný převod uvedených registrů do CLADE IS, spolu s hloubkovou revizí eCRF ve spolupráci se zapojenými centra tak, aby registry co nejlépe reflektovaly diagnostické postupy a léčebné protokoly na pracovištích. Kvalita a cennost dat v registru je daná dobrým CRF, kvalitou zadávání dat a jejich kontrolou a zejména co nejkomplesnějším pokrytím dané pacientské populace. Údaje z jednoho nebo několika málo center nemusí představovat přesnou, výpovědní hodnotu, a proto je doporučováno evropskými odbornými společnostmi a rovněž i Evropskou lékovou agenturou (EMA) sloučovat registry stejného zaměření, a to především na národní úrovni. V roce 2019 dojde i z těchto důvodů ke sloučení dat z registru Camelia do Infinity a z registru Alert do registrů DATOOL-AML a DATOOL-ALL. Zvyšující se důraz na reprezentativnost registrů je patrný i v jednáních EMA, která varuje před snahou zakládat lékové registry s krátkodobou perspektivou za účelem splnění požadavků regulátora v rámci post-registračního sběru dat namísto využití již existujících klinických registrů zaměřených na daná onemocnění. To vede k duplicitě úsilí datamanážerů v centrech a k zakládání početných, neflexibilních registrů s omezeným využitím dat v budoucnosti. Evropská doporučení v otázce sběru RWE dat jsou daná: kompletní přístup ke zdravotnickým údajům pacienta za splnění legislativních podmínek, konzistentní kvalita zadaných dat v registru a zahrnutí rozšířené sběru dat a tím i oslabení jejich potenciálu. Národní registr by pak měl být co možná nejlépe synchronizován s analogickými projekty v zahraničí a na mezinárodní úrovni. Pouze v takové situaci mají statistická data význam a se zvětšující se reprezentativností a kvalitou se násobí i cennost a kredibilita daného registru pro vědecké, státní i firemní instituce.

P15./1538

Periferně zaváděné centrální žilní katetry (PICC) jsou bezpečnou možností zajištění centrálního žilního přístupu u nemocných s akutní myeloidní leukémií

Szotkowski T., Čerňan M., Rohoň P., Hájková V., Holúbková P., Kaštilová K., Konupčíková P., Kovaříková K., Utikalová S., Vodičková M., Vykydalová J., Labudíková M. (Hemato-onkologická klinika, FN a LF UP, Olomouc)

Úvod: PICC katetry na HOK FN Olomouc zavádíme od října 2016. Po získání prvních zkušeností, kdy byly používány především v rámci paliativní léčby, jsme v roce 2017 začali tyto katetry používat i pro intenzivní protinádorovou léčbu včetně vysokodávkované chemoterapie. Cílem práce je shrnutí našich dosavadních zkušeností s použitím PICC katetrů jako žilních přístupů pro léčbu nemocných s akutní myeloidní leukémií. Soubor nemocných, výsledky: Do konce února 2019 jsme 35 nemocným s AML zavedli celkem 39 PICC katetrů. U 5 nemocných s akutní promyelocytární leukémií (APL) byl PICC volen jako primární žilní vstup, tedy již při stanovení diagnózy, před podáním indukční chemoterapie (jednalo se o všechny nemocné s APL diagnostikované a léčené v uvedeném období). U ostatních subtypů AML byl PICC zaváděn po dosažení kompletní remise choroby, před zahájením konsolidační chemoterapie. Extrakce katetru byla standardně indikována po ukončení konsolidační léčby u nemocných neindikovaných k alogenní transplantaci krevtvořných buněk (TKB). U nemocných indikovaných k TKB byl katetr ponecháván k léčbě případných potransplantačních komplikací. Pro indukční chemoterapii i vlastní provedení TKB byl použit klasický centrální žilní katetr; během transplantace PICC není používán, pouze standardně ošetřován. Používáme 1-3 lumenové katetry (4-6 French), šířka katetru je vždy volena individuálně, podle vnitřního průměru příslušné periferní žíly (v. brachialis, v. basilica, v. cephalica, v. axillaris). Katetry zavádíme pod sonografickou kontrolou, s podkožní tunelizací a s kontrolou polohy konce katetru intrakardiálním EKG během výkonu a RTG hrudníku po výkonu. U 28 nemocných byl PICC primárně indikován pro intenzivní protinádorovou terapii, včetně 5 nemocných s APL. U 7 nemocných byl katetr zaveden k paliativní a substituční terapii. PICC katetry byly u tohoto souboru nemocných používány celkem 2987 katetrodnů, s průměrnou dobou zavedení 85,3 dnů (rozmezí 2-247 dnů). Komplikace vedoucí k extrakci katetru se vyskytly u 7 nemocných – 2x infekce místa vstupu, 2x úplná neprůchodnost, 1x progredující trombóza žíly, 1x suspektní infekce katetru, 1x neúmyslná extrakce katetru pacientem. U žádného nemocného, včetně nemocných s APL, nedošlo při zavádění katetru k závažnému krvácení. U žádného nemocného se zavedeným PICC nedošlo k rozvoji sepse způsobené tímto katetrem. Další podrobné údaje

budou součástí prezentace. Závěr: PICC katetry jsou bezpečnou a užitečnou možností žilního přístupu i u nemocných s akutní myeloidní leukémií. U nemocných s nově diagnostikovanou akutní promyelocytární leukémií, u kterých je zavedení klasického centrálního žilního katetru kontraindikováno pro vysoké riziko krvácivých komplikací, je PICC katetr ideálním prostředkem k bezpečnému zajištění žilního vstupu. Nezbytnou podmínkou úspěšného používání PICC katetrů je zkušený tým zdravotních sester zajišťujících specializovanou ošetrovatelskou péči o tyto katetry. Podpořeno grantem IGA_LF_2019_001.

P16./1399

Vícečetné mutace genu NRAS u pacientů s akutní myeloidní leukémií

Đurínková A., Foltá A., Čulen M., Al Tukmachi D., Kosařová Z., Tom N., Cetkovský P., Jindra P., Szołkowski T., Žák P., Mayer J., Ráčil Z., Ježíšková I. (Masarykova univerzita, Brno; Fakultní nemocnice, Brno; Ústav hematologie a krevní transfúze, Praha; Fakultní nemocnice, Plzeň; Fakultní nemocnice, Olomouc; Fakultní nemocnice, Hradec Králové)

Úvod: Akutní myeloidní leukémie (AML) je maligní onemocnění myeloidní krevní řady charakterizované rychlým nárůstem nediferencovaných prekurzorů. U 11-22 % pacientů s AML lze identifikovat transformační bodové mutace genu NRAS lokalizované téměř výlučně do hotspotových kodonů 12, 13 a 61. Somatické mutace genu vedou k patologické konstitutivní aktivaci signální RAS dráhy, mající za následek nekontrolovatelně zvýšenou proliferaci a sníženou apoptózu buněk. U určité skupiny pacientů s AML lze identifikovat vícečetné mutace genu NRAS, jejichž efekt dosud nebyl studován. Cílem práce bylo identifikovat frekvenci vícečetných mutací v genu NRAS a jejich konsekvence u vybrané skupiny pacientů s AML. Metody: Vyšetření mutací bylo provedeno metodou sekvenování nové generace (NGS) u konsektivního souboru 297 AML pacientů (medián 53 let, rozpětí 19-70 let) s kurativním přístupem léčby. NGS knihovny byly připraveny pomocí panelu ClearSeq AML (Agilent Technologies) a sekvenovány na přístrojích MiSeq a NextSeq (Illumina). Mutace v genu NRAS detekované s hladinou frekvence variantní alely (VAF) $\geq 1,0$ % byly dále verifikovány stripovou analýzou pomocí NRAS StripAssay (ViennaLab). Pouze mutace pozitivní oběma metodami byly zahrnuty do dalších analýz. Celkové přežití bylo analyzováno log-rank Mantel-Coxovým testem, komparativní statistická analýza byla provedena pomocí Fisherova exaktního testu a Studentova t-testu. Výsledky: Celkově bylo identifikováno 84 mutací u 66/297 (22,2 %) analyzovaných pacientů. Mutace byly nejčastěji detekovány v kodonu G12 (44/84; 52,3 % mutací), nejfrekventovanější zastoupenými aberacemi byly: G12D (26/84; 31,0 % mutací), G13D (15/84; 17,9 %) a G12S (14/84; 16,7 %). U jednoho pacienta byla detekována vzácná mutace G60E. 15/66 (22,7 %) NRAS pozitivních pacientů neslo vícečetné mutace genu. 12/15 (80 %) pacientů neslo současně 2 mutace genu, zbylí 3/15 (20 %) byli nosiči tří různých aberací současně. U 5/15 pacientů (33,3 %) byl mutacemi postižen stejný kodon, zbylých 10/15 (66,7 %) pacientů neslo mutace v různých kodonech genu. Analýza NRAS pozitivních pacientů neodhalila žádný statisticky významný rozdíl pro celkové přežití, věk, pohlaví či procento blastů v kostní dřeni mezi skupinami s jednou nebo vícečetnými mutacemi. Závěr: Vícečetné mutace v genu NRAS jsou u pacientů s AML frekventní událostí – lze je detekovat u více než pětiny NRAS pozitivních a přibližně 5 % všech AML pacientů, nicméně v testované skupině AML nemocných s kurativním typem léčby nebyl identifikován rozdíl mezi NRAS pozitivními pacienty s jednou nebo vícečetnými mutacemi genu. Podpořeno z programového projektu Ministerstva zdravotnictví ČR s reg. č. 15-25809A, projektu FNBr. 65269705 a projektu MUNI/A/1105/2018.

P17./1442

Je pravá polycytemie (PV) vždy pravá?

Gürtlerová C., Fürst T., Koranda P., Schwarz J., Voglová J., Penka M., Inđrák K. (HOK, FN a LF UP, Olomouc; KNM, FN a LF UP, Olomouc; Katedra matematické analýzy, PříF UP, Olomouc; UHKT, Praha; 4. Int. klin. hematol., LF UK a FN, Hradec Králové; OKH, FN, Brno)

Diagnostika JAK+ PV a ET se podle WHO 2016 opírá o hodnoty KO. Hranice Hb a Hkt odlišující PV a ET byly stanoveny arbitrárně, bez vyhodnocení jejich senzitivity a specifity. Vyšetření objemu cirkulující erymasy (RCM) je při hraničních hodnotách KO sice doporučeno, ale téměř nikde se již neprovádí. Standardně se při podezření na PV mnohde neprovádí ani trepanobiopsie.

Odlišení JAK2+ PV a ET s prahovými hodnotami Hb a Hkt tak může být problematické, protože obě jednotky nesou stejnou mutaci a mohou mít stejný fenotyp. Důsledkem může být poddiagnostikování nemocných s PV ve prospěch ET. Na sestavě 103 nemocných, kteří měli pro většinou hraniční erytrocytózu provedeno vyšetření RCM, jsme srovnáním hodnot Hb a Hkt s RCM analyzovali specifitu a senzitivitu těchto hodnot pro diagnózu PV dle WHO 2016 resp. pro dg. sekundární absolutní polycytemie. 51 pacientů naší sestavy mělo diagnostikovanou PV, 9 ET, 3 PMF a 40 pacientů mělo sekundární polycytemii. V souboru 63 pacientů s Ph- MPN mělo 22 pacientů (34,9%) maskovanou PV (nesplňovali podle WHO 2016 a hodnot Hb a Hkt bez vyšetření RCM diagnostická kritéria pro PV, ale měli RCM vyšší než 25% průměru normy). U pacientů se sekundární polycytemií jsme naopak identifikovali u 23 ze 40 pacientů (57,5%) relativní erytrocytózu (zvýšené hodnoty Hb a Hkt, ale RCM v normě). Univariátní analýzou jsme vyhodnotili korelaci Hb a Hkt s RCM. Pomocí logistické regrese a ROC křivky hodnotící vztah mezi senzitivitou a specifitou pro danou hodnotu cut - off jsme stanovili schopnost predikovat z hodnot Hb a Hkt zvýšený objem cirkulující erytromasy. Zjistili jsme, že senzitivita WHO kritérií 2016 se blíží 100%, to znamená, že diagnosticky budou, až na vzácné výjimky, zachyceni všichni nemocní s PV resp. absolutní erytrocytózou, ale specifita těchto kritérií je velmi nízká - v jednotkách procent. To znamená, že nejsou vyloučeni nemocní, kteří PV resp. absolutní erytrocytózu nemají! Statistickou analýzou jsme zjistili, že nespecifitu univariátního hodnocení zvýšeného RCM z hodnot Hb a Hkt lze snížit pomocí multivariátní analýzy – logistickou regresí. K podobným výsledkům dospěl i R. Silver analýzou dat 83 pacientů s PV a 39 pacientů s ET JAK2+. Pokusili jsme se zvýšit specifitu a senzitivitu identifikace zvýšeného RCM přidáním dalšího prediktoru - absolutního počtu erytrocytů resp. nahrazením odvozené hodnoty Hkt (Hkt = RBC x MCV) reálnými počty erytrocytů a jejich objemu (MCV). Podrobná data včetně názorného grafického zobrazení budou prezentována. Závěr: Na vybraném souboru nemocných s hraničními hodnotami Hb a Hkt jsme demonstrovali vysoké procento maskovaných PV (34,9%) a relativních sekundárních erytrocytóz (57,5%), které se podařilo správně diagnostikovat jen díky vyšetření RCM. Ukázali jsme, že predikce diagnostického zvýšení objemu RCM dle WHO 2016 doporučení jen na základě hodnot Hb nebo Hkt je nespecifická, ROC křivky jsou blízko diagonále. Vysokou senzitivitu i specifitu odhadu zvýšeného RCM můžeme u PV a sekundárních erytrocytóz dosáhnout multivariátní logistickou regresí kombinace hodnot Hb a Hkt. Pro přesné stanovení zvýšení RCM u PV a absolutních polycytemií je ale při hraničních hodnotách KO nutné provést vyšetření RCM. Tato práce byla podpořena grantovým projektem IGA LF 2019 001

P18./1620

Účinnost, tolerancia a bezpečnosť liečby ponatinibom u pacientov s BCR-ABL1 pozitívnu chronickou myelocytovou leukémiou v bežnej klinickej praxi – skúsenosti jedného centra Slezáková K., Mistrík M., Bátorová A., Žákovcová A., Lukačková R., Majerová L. (Klinika hematológie a transfúziológie, LF UK a UNB, Bratislava – Slovensko; Oddelenie lekárskej genetiky, Medirex, a.s., Bratislava - Slovensko)

Úvod. Ponatinib je inhibitor tyrozinkinázy (TKI) 3. generácie, ktorý je liečebnou možnosťou u pacientov s BCR-ABL1 pozitívnu chronickou myelocytovou leukémiou (CML) s rezistenciou alebo intoleranciou TKI 2. generácie (dasatinib alebo nilotinib) alebo u pacientov s mutáciou T315I. Cieľom nášho príspevku je zhodnotenie prvých skúseností s liečbou ponatinibom u pacientov s CML v chronickej fáze na pracovisku Kliniky hematológie a transfúziológie Univerzitnej nemocnice v Bratislave. Súbor pacientov a metódy. Retrospektívna analýza súboru pacientov s BCR-ABL1 pozitívnu CML v chronickej fáze liečených ponatinibom na pracovisku KHaT UNB. Súbor tvorí 5 pacientov (3 muži, 2 ženy) s mediánom veku pri diagnóze 49 rokov (26 – 49 rokov). Ponatinib bol použitý v rámci 2. línie liečby u 1 pacienta, v 3. línii u 2 pacientov a v 4. línii u 2 pacientov. BCR-ABL1 mutácie boli dokázané u 4 pacientov (F317L u 2 pacientov, mutácia E255K u 1 pacienta a T315I u 1 pacienta). Priemerná iniciálna dávka ponatinibu bola 27 mg (15 mg - 45 mg). Súbor pacientov sme hodnotili k 28.2.2019. Hodnotili sme liečebnú odpoveď podľa ELN odporúčaní (u 4 hodnotiteľných pacientov), toxicitu a toleranciu liečby. Medián sledovania súboru bol 12 mesiacov (2 – 28 mesiacov). Výsledky. K dátumu hodnotenia súboru žijú všetci pacienti. U všetkých hodnotiteľných pacientov je prítomná kompletná hematologická a kompletná cytogenetická remisia. Všetci pacienti sú v tzv. optimálnej molekulovej odpovedi, z toho 2 pacientky majú BCR/ABL 0 %.

V léčbě pokračují 3 pacienti. 1 pacientka ukončila léčbu po 28 měsících pre koronární arteriální chorobu a 1 pacient po 2 měsících pre zápal plic s recidivujícím pleurálním výpotkem (predtým dlhodobě liečený dasatinibom). U žiadneho z pacientov sme nepozorovali hematologickú toxicitu liečby. U 1 pacienta bola zaznamenaná prechodná elevácia pankreatickej LPS. Eleváciu hepatálnych enzýmov sme pozorovali u 3 pacientov – vyžadovali redukciu dávky ponatinibu a hepatoprotektíva. Nový vznik artériovej hypertenzie sme nepozorovali u žiadneho pacienta. Všetkým pacientom podávame antiagregačnú profylaxiu. Pacient s mutáciou T315I sa pripravuje na alogénnu transplantáciu krvotvorných buniek (TKB). Záver: Aj na základe našich skúseností môžeme konštatovať, že ponatinib je účinná liečba BCR-ABL1 pozitívnej CML aj u pacientov s mutáciami ako aj u predliečených pacientov. Aj pri zníženej dávke ponatinibu majú pacienti šancu dosiahnuť a udržať si optimálnu liečebnú odpoveď. Liečbou ponatinibom môžeme zabezpečiť tzv. premostenie do alogénnej TKB u pacientov s mutáciou T315I. Počas podávania ponatinibu je nevyhnutné pravidelné monitorovanie pacienta aj z hľadiska možných kardiovaskulárnych rizikových faktorov za účelom prevencie artériových oklúzií.

P19.

Erytropoetin a prednison zvyšujú hladinu mediátorové RNA pro cereblon v buňkách linií odvozených z pacientů s myelodysplastickým syndromem a v mononukleárních buňkách pacientů s MDS a s delecí na chromozomu 5 na terapii lenalidomidem

Fuchs O., Bokorová R., Neuwirtová R., Stopka T., Lauermannová M., Čermák J., Šálek C., Soukupová Maaloufová J., Štátná Marková M., Mikulenková D., Myslivcová D., Březinová J., Zemanová Z., Michalová K., Jonášová A. (Ústav hematologie a krevní transfúze, Praha; I. interní klinika - klinika hematologie, 1. LF UK a VFN, Praha; Centrum onkocytogenetiky, 1. LF UK a VFN, Praha)

Úvod a cíle: Naším cílem bylo přispět ke studiu mechanismu účinku erytropoetinu a prednisonu u nízkorizikových pacientů MDS s del(5q) na terapii imunomodulačním lékem-lenalidomidem při ztrátě citlivosti na samotný lenalidomid. Ukázali jsme (Jonášová et al. Leuk Res. 2018), že erytropoetin i prednison po přidání k lenalidomidu při ztrátě citlivosti samotného lenalidomidu mohou obnovit citlivost na kombinaci lenalidomidu a erythropoetinu nebo na kombinaci lenalidomidu, erythropoetinu a prednisonu. Zjistili jsme, že tyto kombinace zároveň zvedají hladinu plnodělkové mRNA pro cereblon (CRBN) v mononukleárních buňkách izolovaných z periferní krve nízkorizikových pacientů MDS s del(5q) na terapii lenalidomidem. Účinek erytropoetinu (EPO) a prednisonu (PRED) a jejich kombinace s lenalidomidem jsme zkoumali i na buňkách linií odvozených z MDS pacientů (MDS-L a SKM-1). Metody: Hladiny mRNA pro CRBN a protizánětlivý a antioxidační transkripční faktor Nrf2 (NF-E2-related factor 2) byly stanoveny pomocí kvantitativní TaqMan PCR. Odpovídající proteiny byly detekovány Western blotem. Výsledky: Zjistili jsme, že účinek EPO v kombinaci s lenalidomidem je řízen dvěma mechanismy a to jednak stabilizací receptoru pro EPO lenalidomidem a dále stimulací exprese genu pro CRBN pomocí Nrf2 indukovaného působením EPO. Účinek PRED v buňkách obou linií MDS-L a SKM1 také zvyšoval hladinu CRBN mRNA a podobně i v trojkombinaci s lenalidomidem a EPO. Práce byla podpořena grantem pro koncepční rozvoj výzkumné organizace (23736; ÚHKT Praha), grantem TAČR 006 a grantem GAUK (924616).

P20.

ArrayCGH analýza duplikací krátkých ramen chromozomu 2 u pacientů s chronickou lymfocytární leukémií

Krůžová L., Štefková B., Holzerová M., Janská R., Divoká M., Urbanová R., Turcsányi P., Papajík T., Urbánková H. (Hemato-onkologická klinika, FN a LF UP, Olomouc)

Zmnožení krátkého ramene 2. chromozomu není častou změnou vyskytující se u pacientů s CLL, avšak jedná se o aberaci zhoršující pacientovu prognózu. Vyskytuje se u 2 – 8 % nemocných. Samostatně se tato změna vyskytuje vzácně, provází další chromozomové změny - delecí 13q, 11q, 18p, 17p a 6q. Zmnožení 2p se může vyskytovat v několika variantách: různě derivované chromozomy, částečné trizomie. Duplicitní 2p sekvence bývá také zapojena do nebalancovaných translokací s dalšími chromozomy. Zmnožení 2p je tedy součástí dalších, často komplexních chromozomových změn, souvisejících s progresí onemocnění. Cílem bylo provést arrayCGH

analýzu souboru pacientů s duplikací krátkých ramen chromozomu 2, určit rozsah duplikace a současně určit nejmenší duplikovanou oblast a kandidátní geny, u nichž bude dovyšetřena exprese. Pomocí cytogenetických a molekulárně cytogenetických metod FISH (fluorescenční in-situ hybridizace; se sondami k detekci delecí ATM, TP53, 13q14, 13q34, 6q21, duplikace MYC, trizomie 12 a přestavby IGH) a arrayCGH (array komparativní hybridizace) byl vyšetřen soubor nemocných s duplikacemi na krátkém rameni chromozomu 2 léčených na Hemato-onkologické klinice (HOK) v letech 1996 – 2018. V souboru 935 pacientů byla duplikace 2p určena u 55 (6 %) pacientů. Soubor tvořilo 45 mužů a 10 žen s mediánem věku 61 let (34 – 92 let). 14 pacientů mělo Binet stádium A, 19 pacientů stádium B, 17 pacientů stádium C a u 5 pacientů nebylo stádium určeno. 41 pacientů mělo nemutovaný status IGHV, mutovaný stav 6, u 2 pacientů byla prokázána hraniční homologie (na úrovni 97,9 %) a u 6 pacientů nebyl mutační status vyšetřen. Z celkového počtu 55 pacientů s duplikací 2p bylo možné vyšetřit pouze 40 pacientů z důvodu nízkého procentuálního zastoupení duplikace. Kromě prosté duplikace na chromozomu 2, jsme zaznamenali také translokace zmnožené části 2p na různé chromozomy, přítomnost dicentrických chromozomů (nejčastěji dic(2;18)) a také izochromozom 2p. ArrayCGH analýza potvrdila, že nejčastěji dochází ke zmnožení celých krátkých ramen. U menších duplikací prokázala velkou heterogenitu v rozsahu, díky které se nepodařilo přesně zmapovat minimální duplikovanou oblast, nicméně geny ALK a NMYC byly duplikovány u 75 % pacientů. Duplikace 2p se nevyskytuje u našeho souboru pacientů samostatně, ale je doprovázena dalšími chromozomovými aberacemi, nejčastěji delecemi oblastí 13q a 11q (~ 60 %). Celkově bylo zmnožení 2p v našem souboru pacientů v 78 % případů doprovázeno komplexním karyotypem (přítomností 3 a více klonálních chromozomových aberací) a nemutovaným stavem IGHV (75 %), což odpovídá zvýšenému riziku a progresi onemocnění. Metoda arrayCGH se ukázala být vhodným nástrojem k detekci nebalancovaných změn chromozomu 2 a jejich rozsahu. Tato práce je podpořena granty: VES16-32339A, IGA_LF_2019_001 a MZ ČR_RVO (FNOL, 00098892).

P21.

Nádorové mikropartikule u CLL

Novák M., Grohmann J., Procházka V., Fürst T., Slavík L., Papajík T. (Hemato-onkologická klinika, FN a LF UP, Olomouc)

Mikropartikule jsou nový, potenciálně diagnosticky významný kompartment. Jedná se o uzavřené membránové struktury velmi malých rozměrů, konstitutivně vytvářené mnoha typy buněk, hrající roli ve fyziologických i patologických procesech, např. v mezibuněčné komunikaci, v regulaci hematopoézy, udržování mikroprostředí včetně mikroprostředí tumoru, v regulaci apoptózy a podobně. Jsou rovněž schopny cíleně transportovat široké spektrum proteinů a RNA k akceptorovým buňkám, čímž doplňují „klasickou“ cestu mezibuněčné signalizace, založenou na interakcích mezi ligandem a receptorem, která je zprostředkována cytokiny, chemokiny, atd. a jejich receptory. Mikropartikule jsou detekovatelné prakticky výhradně pomocí průtokové cytometrie, z důvodu technické náročnosti je však problematika celosvětově málo zpracována. V rámci pilotní studie na modelu nemocných s CLL prezentujeme techniku detekce nádorových mikropartikulí na průtokovém cytometru BD FACS Canto II s cílem ověřit korelaci nádorové nálože s počtem cirkulujících nádorových mikropartikulí. K vizualizaci mikropartikulí byla použita reagentie CFDA (5-Carboxyfluorescein Diacetate, Invitrogen), k detekci CLL populace byly využity protilátky CD5 PerCP Cy 5.5, CD19 PE-Cy7 a CD52 Pacific Blue (vše EXBIO). Na kohortě 76 nemocných (M 45, F 36, medián věku 69let) s CLL v různých stádiích onemocnění a 10 zdravých dárcích krve, použitých jako kontrolní skupina, byl v periferní krvi prokázán lineární vztah mezi procentuálním zastoupením nádorových buněk a logaritmem počtu mikropartikulí nesoucích imunofenotyp CLL dle vzorce: $\log(\text{mikropartikule}) = -4.31 + 0.07 \times \% \text{ buněk CLL}$. Každý nárůst nádorové nálože o 10% navyšuje log o 0.7, tedy přibližně o dvojnásobek počtu nádorových mikropartikulí. Počet nádorových mikropartikulí statisticky významně koreluje s nádorovou náloží u CLL. V dalším výzkumu plánujeme testovat korelaci u dalších hematologických malignit s cílem využít tuto metodu k detekci a kvantifikaci obtížně dosažitelných tumorů pomocí nádorové specifických mikropartikulí kolujících v periferní krvi. Podpořeno MZ ČR – RVO (FNOI, 00098892)

P22.

Potenciál inhibice proteinu checkpoint kinase 1 u chronické lymfocytární leukémie s mutacemi v genu TP53

Boudný M., Zemanová J., Khirsariya P., Borský M., Verner J., Černá J., Šeda V., Mráz M., Oltová A., Jaroš J., Jašková Z., Špunarová M., Brychtová Y., Mayer J., Paruch K., Trbušek M. (IHOK, FN, Brno – Bohunice; Ústav chemie, CZ Openscreen, Přírodovědecká fakulta, MU, Brno; Ústav histologie a embryologie, LF MU, Brno)

Úvod: Navzdory rozšířeným terapeutickým možnostem zůstává chronická lymfocytární leukémie (CLL) nevyčlelným onemocněním, u kterého pacienti s defekty v genu TP53 vykazují obzvláště nepříznivou prognózu. Cílem studie bylo otestovat potenciál inhibice proteinu CHK1 (Checkpoint kinase 1) u CLL pomocí námi vyvinutého inovativního inhibitoru MU380, který je netriviálním analogem klinicky testovaného SCH900776 (Merck). CHK1 je kináza, která plní důležitou úlohu v odpovědi na poškození DNA a podílí se na regulaci buněčného cyklu. Jedná se o atraktivní cíl protinádorové terapie, který je testován u řady nádorových onemocnění v preklinických i klinických studiích. Metody: Genetické aberace primárních buněk CLL byly detekovány metodami FISH a NGS. Pro-proliferativní stimulace buněk CLL byla provedena 10-denní ko-kultivací s myšími fibroblasty, protilátkou anti-CD40 a IL-4. Viabilita buněk po aplikaci MU380 byla měřena pomocí testu WST-1, apoptóza analyzována western blotem proteinů PARP a kaspázy-3 a aktivace dráhy p53 sledována pomocí real time PCR. Transfekce buněk CLL byly provedeny elektroporací pomocí přístroje Neon. Pro experimenty in vivo byl využit myší kmen NOD/SCID IL2R α -null s lokalizovanými nádory vytvořenými subkutánní aplikací buněk MEC-1 (TP53-mutovaná CLL). Výsledky: Nejprve jsme ověřili, že inhibitor MU380 blokuje protein CHK1. MU380 blokoval jak aktivaci fosforylaci CHK1 na serinu 296, tak i další cíle ATR-CHK1 signální dráhy jako např. CDC25C, CDK1 nebo cyklin B1. Inhibitor MU380 snižoval viabilitu všech testovaných buněčných linií leukémií (n=10) a lymfomů (n=9) (medián IC50 = 238 resp. 401 nM; P=0,004). Linie odvozené od CLL byly velmi citlivé: IC50=221 nM u OSU-CLL (TP53-wt) a IC50=195 nM u MEC-1 (TP53-mut). U těchto buněk aplikace inhibitoru (48 h) vedla k nárůstu buněk v S-fázi a masivní apoptóze. Naopak nenádorové fibroblasty byly k inhibitoru výrazně rezistentnější (IC50 = 3,7 resp. 8,1 μ M). Dále se nám u nedělicích se buněk CLL z periferní krve podařilo detekovat hladinu proteinu CHK1. CHK1 byla po poškození DNA dokonce schopná aktivace, což dokládá funkčnost dráhy ATR-CHK1 u těchto buněk. Aplikace inhibitoru MU380 (72 h) vedla k poklesu viability jak u buněk CLL stimulovaných k proliferaci (n=13 kultur; průměr IC50=1 μ M), tak i u nestimulovaných buněk CLL (n=96 kultur; průměr IC50=0,37 μ M) a to bez ohledu na negativních prognostických faktorech (defekty v genech TP53 a ATM). Na molekulární úrovni MU380 zvyšoval replikační stres a/nebo poškození DNA (nárůst γ -H2AX) a vedl k indukci apoptózy (štěpení proteinů PARP a kaspázy-3). Aktivita MU380 byla nezávislá na aktivaci dráhy p53: aplikace vedla k nulové indukci proteinu p53 a jím řízených genů (např. PUMA, BAX, GADD45A, p21). Fenotyp inhibice CHK1 byl u buněk CLL potvrzen transfekcí siRNA cílené proti CHEK1, kdy také docházelo k poklesu viability. Výrazný efekt inhibice CHK1 byl pozorován rovněž ve dvou nezávislých experimentech in vivo. Sedm aplikací MU380 (mezi dny +14 a +28 po transplantaci MEC-1 buněk) inhibovalo růst nádorů o 44%, deset aplikací inhibitoru pak o 61%. Závěr: Inhibice proteinu Chk1 představuje potenciální inovativní možnost terapie TP53-mutované CLL. Podpora projektu: AZV 15-33999A, FNBr 65269705, MUNI/A/1105/2018.

P23.

Závažné komplikace po alogenní transplantaci krvetvorných buněk – kazuistika pacienta

Kabátová Maxová K., Šlehofer P., Hladíková Š., Karas M., Jindra P. (Hematoonkologické oddělení, FN, Plzeň)

Příčinou nejčastějších komplikací po alogenní transplantaci krvetvorných buněk bývají infekce, dále toxicita chemoterapie, aplikovaná medikace a projevy a léčba GVHD. Kazuistika pacienta - anamnéza a průběh léčby Pacient 62let, dg. Folikulární lymfom (FL) grade IIIb, klin.st. IVA, FLIP13 v 10/2016. V 11/2016 - 5/2017 podány 3 linie chemoterapie, poté progresse a přechod do Difuzního velkobuněčného lymfomu (DLBCL). Následně proběhla extirpace rozsáhlého tumoru, paketu uzlin mesenteria a resekce infiltrovaného distálního jejunu pro lymfom. V 12/2017 - 1/2018 podána 4. linie chemoterapie a následná radioterapie, poté následovala remise onemocnění. V 4/2018 naplánována příprava (FLU/MEL/ATG) k alogenní transplantaci krvetvorných buněk se shodným nepřibuzným



dárce (muž, 22let). Po transplantaci v 5/2018 došlo ke vzniku komplikace štěpu krvetvorných buněk formou aGVHD GIT (II.st), vznik mykotické pneumonie bilat. (pozitivní Ag. Aspergillus), kolitidy infekčního původu a sepse. V 6/2018 proběhla dimise do domácí péče. Po 10 dnech opět příjem pacienta na ALO JIP z důvodu hemolýzy, febrilie, cytopénie. Diagnostikována Hemophagocytic lymphohistiocytosis (HLH), podány 2 dávky Etoposidu v 6/2017. Pro rozvoj komplikací – enterorhagie a hypotenze pacient přeložen na MJIP, zde provedena intervence s následnou embolizací.

Po stabilizaci stavu pacienta přeložen zpět na naše oddělení ALO JIP. Došlo ke vzniku nových komplikací – celková imobilita, rozvoj mukositivity a ke vzniku nejasné léze na rtu cca 2cm pravděpodobně v souvislosti s podanou chemoterapií. V 7/2018 došlo k částečnému zhojení mukositivity, léze na rtu však v progresi (NGS, EV, dieta 0). Pozváno stomatologické konzilium – doporučeny výplachy úst Dexpanthenolovým roztokem společně s aplikací Ophthalmohydrocortison ung. a střídavě s aplikací Solcoseryl ophthalmol ung lokálně na defekty. Došlo k odlučování krust ze rtů, které se zkomplikovalo krvácením- zástava pomocí Traumacelu a Gelasponu s nutným podáváním krevních přípravků v několika dávkách. Laboratorně zjištěna přítomnost HSV viru stěrem z obličejové a odběrem krve, dg. rozsáhlý Herpes simplex v oblasti rtů a pravé části obličejové- proběhla aplikace vysokých dávek antivirotik (Herpesin i.v., Cymevene, Foscavir). Spolupráce s pacientem byla velmi obtížná, odmítal výplachy DÚ a čištění zubů. V 8/2018 došlo k zasažení oka HSV, společně s očním lékařem domluven plán terapie pomocí kombinace očních kapek 5 x denně. V 9/2018 se oko definitivně zhojilo. Další těžkou komplikací pacienta bylo poškození střeva. V období od 7/2018 vznik častých stolic o větším množství střídavě s příměsí krve, zaveden Fekální systém SECCO. Střídavě aplikována enterální a parenterální výživa se střídavě úspěšným efektem a opět podávány krevní přípravky z důvodu opakovaného krvácení do GIT. Probíhala neustálá snaha ošetřovatelského personálu o celkovou mobilizaci pacienta s rehabilitací 2 x denně, poskytovala se komplexní ošetřovatelská péče o imobilního pacienta. Dutina ústní toho času již zhojena. V 9/2018 došlo ke zhoršení stavu pacienta, byl spavý, nekomunikoval. Opětovně vznik febrilie, pancytopenie, exacerbace HLH, následná porucha vědomí, recidiva krvácení do trávicího traktu. Rezervy pacienta a možnosti léčby byly již vyčerpány a pacient koncem 9/2018 bohužel zemřel. Péče o pacienta v takto komplikovaném stavu byla pro veškerý zdravotnický personál velmi fyzicky a psychicky vyčerpávající. Bylo nutné pravidelné střídání ošetřujícího personálu u pacienta v rámci denních a nočních služeb a také nutnost soudržnosti a komunikace o problematice pacienta mezi ošetřujícím personálem a lékaři. Celková délka hospitalizace včetně alogenní transplantace činila 5 měsíců (mezidobí strávené s rodinou trvalo pouze 11 dní).

P24.

Výsledky léčby pacientů s chronickou myelomonocytární leukémií na IV. interní hematologické klinice Fakultní nemocnice v Hradci Králové

Víšek B., Radocha J., Zavřelová A., Bělohávková P., Žák P. (IV. interní hematologická klinika, FN, Hradec Králové)

Úvod: Chronická myelomonocytární leukémie (CMML) je klonální onemocnění krvetvorby s vysokou variabilitou biologického chování. Riziko transformace do akutní leukémie je 15 - 20% / 3 - 5 let. Jedinou potenciálně kurativní modalitou v léčbě CMML je alogenní transplantace krvetvorných buněk (AloT). Kritickým bodem k určení prognózy je vytipování prognostických znaků, s jejichž pomocí by bylo možné zvolit optimální léčebnou strategii. Z dosud dostupných numerických modelů (CPSS, CPSS-Mol, MDAPS a další) je možná riziková stratifikace choroby,

níceméně reálné chování nemoci a výběr optimální léčebné modalitě stále zůstávají nedořešeny. Cíl: Předkládáme výsledky léčby pacientů s CMML na IV. interní hematologické klinice FN v Hradci Králové od roku 1996 s cílem vytipování pacientů vhodných k AloT. Metodika: K dispozici máme výsledky u 34 pacientů s CMML. V zastoupení převládají muži (1,4 : 1), věk pacientů při diagnóze je 42 – 87 let (medián 65,5 let). Rozčlenění dle typu CMML bylo následující: CMML-0: 0 pac., CMML-1: 24 pac. (70,5%), CMML-2: 8 pac. (23,5%), blastický zvrát: 2 pac. (6%). Myeloproliferativní podtyp byl zastoupen častěji než myelodysplastický (21 vs. 13 pac.). Nizké cytogenetické riziko v době diagnózy mělo 21 pac. (61,8%), střední a vysoké riziko souhrnně 6 pac. (17,6%), u 7 pacientů není karyotyp k dispozici. Zastoupení dle CPSS: nízké riziko: 4 pac. (11,8%), Int-1: 10 pac. (29,4%), Int-2: 12 pac. (35,4%), vysoké riziko: 1 pac. (2,9%), N/A: 7 pac. (20,6%). Celkem 7 pac. nepodstoupilo terapii (20,6%), 15 pac. (44,2%) bylo léčeno pouze chemoterapií nebo hypomethylačními látkami. AloT podstoupilo 14 pac. (41,2%), z toho u 5 pac. se jednalo o AloT od příbuzného dárce, u 8 pac. od nepříbuzného, 1x byla provedena haploidentická AloT. 2x transplantován byl 1 pac. Medián věku transplantovaných v době AloT byl 58 let. Výsledky: Medián celkového přežití (OS) všech pacientů v našem souboru byl 19 měsíců. U transplantovaných medián doby od diagnózy do AloT byl 5 měsíců. Při srovnání transplantovaných pacientů proti ostatním (s léčbou i bez) byl medián OS 21 resp. 9, avšak statisticky nevýznamný ($p=0,22$). Zcela nesignifikantně ($p=0,21$) vyšlo porovnání OS nemocných dle CPSS, stejně tak i OS na základě podtypu nemoci (myeloproliferativní: medián 21 měsíců, myelodysplastický 9 měsíců, $p=0,71$). Z celkového souboru dosud zemřelo 28 pac., z toho 22 pac. (78,6%) mělo v době úmrtí aktivní chorobu a to bez ohledu na typ předešlé léčby. Dominujícím důvodem úmrtí byla progresse CMML do akutní leukemie (13 pac.) a infekce (12 pac.). Závěr: Naše výsledky jsou v souladu s dostupnou literaturou a poukazují na fakt, že CMML je dlouhodobě velmi obtížně ovlivnitelné onemocnění. Dosud jsme neidentifikovali prognostický faktor, který by mohl zásadně ovlivnit rozhodování v léčebné strategii. Přestože AloT zůstává jedinou kurativní metodou léčby CMML, naše výsledky poukazují na statisticky nevýznamný benefit z provedené AloT proti netransplantovaným. K lepšímu porozumění problematice bude zapotřebí sběr více pacientů do celkového souboru, stejně tak i rozšíření výsledků molekulárně genetických vyšetření (tyto jsou nyní k dispozici pouze u malého vzorku pacientů).

P25.

BeGEV a IGEV jako druhá linie záchranné léčby u Hodgkinova lymfomu před vysokodávkovanou chemoterapií s autologní transplantací kmenových buněk

Krčmeryová M., Móciková H., Jančárková T., Kozák T. (Interní hematologická klinika, FN Královské Vinohrady, Praha)

Východiska. Vysokodávkovaná chemoterapie s následnou autologní transplantací periferních kmenových buněk (HDT/ASCT) je nadále standardem léčby u relabovaného nebo refrakterního Hodgkinova lymfomu (HL). Retrospektivně jsme vyhodnotili účinnost a bezpečnost režimu BeGEV a IGEV ve druhé linii záchranné léčby před HDT/ASCT u 6 pacientů s relabovaným/refrakterním HL, kteří nedosáhli PET-negativní kompletní remise po 1.linii záchranné léčby DHAP. Pacienti a metody. Celkem 15 pacientů s relabovaným/refrakterním HL bylo léčeno HDT/ASCT od 1/2010 do 1/2019. U 6 z nich, kteří nedosáhli PET negativní kompletní remise po 1.linii záchranné léčby DHAP (3 s PD, 2 v PR a 1 s „undetermined response“) byla podána 2.linie záchranné chemoterapie: 2-3 cykly BeGEV nebo IGEV. Výsledky. Po 2.linii záchranné léčby BEGEV /IGEV byla ORR 83%, CR 66% (4 pac.) a PR 17% (1pac). U 4 pacientů trvá CR po HDT/ASCT od +9més. do +51 més.), 1 pacient v PR po 2.linii záchranné léčby čeká na HDT/ASCT. 1 pacient po 2 cyklech IGEV progredoval a absolvoval tandemovou ASCT a následně exitoval v důsledku komplikací ASCT. Po IGEV se vyskytla hematologická a kožní toxicita WHO stupně III/IV u všech pacientů, po BeGEV se neutropenie a kožní toxicita WHO stupně III/IV objevila jen u 1 pacienta a trombocytopenie WHO stupně III/IV u 2 ze 3 pacientů. Závěr: BeGEV a IGEV představují bezpečnou a účinnou druhou linii záchranné léčby pro pacienty, kteří nedosáhli PET negativní kompletní remise po první linii záchranné léčby. Práce byla podpořena grantem AZV 16-29857A MZ ČR a výzkumným projektem Q 28 Progres uděleným 3. LF UK v Praze

P26.

Marker CD64 v diagnostice pozdní novorozenecké sepse u předčasně narozených dětí
Novák M., Hálek J., Medková A., Fürst T., Juráňová J., Slavík L., Kantor L., Papajík T. (Hemato-onkologická klinika, FN a LF UP, Olomouc; Novorozenecké odd., FN, Olomouc; Dětská klinika, FN, Olomouc; Přírodovědecká fakulta UP, Olomouc)

Úvod: Sepse je jedním z nejvýznamnějších faktorů novorozenecké morbiditě a mortality. Její diagnostika je však, zejména u předčasně narozených novorozenců, obtížná. Prezентujeme metodiku cytometrické detekce pozdní sepse cestou kvantifikace exprese CD64 na granulocytech. Cíle: Analyzovat expresi znaku CD64 na granulocytech u předčasně narozených novorozenců se suspektní pozdní sepsí, stanovit senzitivitu a specifitu metody a porovnat je se stanovením c-reaktivního proteinu (CRP) a prokalcitoninu (PCT). Metody: V prospektivní studii bylo vyšetřeno 95 vzorků periferní krve předčasně narozených novorozenců s podezřením na pozdní novorozeneckou sepsi (Late onset sepsis – LOS), u všech bylo stanoveno metodou mnohobarevné průtokové cytometrie zastoupení CD64 pozitivních granulocytů. Dle zhodnocení klinického průběhu a laboratorních výsledků byly děti rozděleny do diagnostických kategorií novorozenecké sepse (Sepse jistá, pravděpodobná, klinická, nepřítomná). Následně byla zhodnocena asociace hodnot nCD64 se zařazením do kategorií. Výsledky: Byla prokázána těsná korelace mezi expresí CD64 a přítomností pozdní novorozenecké sepse. Na testované kohortě vykazuje vyšetření stoprocentní i specifitu a vykazuje těsnější asociaci a vyšší senzitivitu i specifitu ve srovnání se stanovením CRT i PCT. Závěr: Stanovení CD64 na granulocytech se jeví jako vysoce efektivní nástroj detekce novorozenecké sepse u předčasně narozených dětí, jehož senzitivita i specifita převyšuje současné rutinně používané metody. Podpořeno MZ ČR – RVO (FNOI, 00098892)

P27.

Podpůrný tým Hemato-onkologické kliniky FN Olomouc, zkušenosti prvního roku práce

Urbanová R., Labudíková M., Vítková J., Látalová J., Hájková V., Vánská P., Škrobánková A., Březinová J., Knoppová I., Tvrdoň S., Machová R., Szotkowská R., Hluší A., Papajík T. (Hemato-onkologická klinika, FN, Olomouc; Poradna Hořec, FN, Olomouc; Sociální oddělení, FN, Olomouc; Mobilní hospic Strom života)

Způsoby poskytování paliativní péče (PP) v hematologii se stále diskutují, a to zejména s ohledem na obtíž při stanovení prognózy krevních onemocnění, dále vzhledem k současným možnostem mnoha linií léčby, transfuzní závislosti nemocných a k malým zkušenostem hospiců s péčí o hematologicky nemocné. Na HOK FN (Hemato-onkologické klinice Fakultní nemocnice) Olomouc obecnou PP poskytujeme dlouhodobě. Rok funguje podpůrný tým kliniky poskytující specializovanou PP s cílem zlepšit kvalitu života nemocných v posledních měsících života. Zásadní podmínkou pro jeho rozvoj bylo získání grantové podpory Nadačního fondu (NF) AVAST v roce 2017, Avast Foundation Palliative Care Scholarship na podporu paliativních lidí. Grant pro nás představoval nejen finanční podporu, tj. prostředky na vzdělání lékaře v PP zahrnující stáže v zařízeních hospicové péče, dále prostředky na kurz ELNEC (End of Life Nursing Education Consortium) pro všech 75 nelékařských zdravotnických pracovníků (všeobecných sester a sanitářek) HOK a na komunikační kurzy pro lékaře, ale také možnost sdílení zkušeností v PP s dalšími 20ti stipendisty programu. Sdílení se pro naši praxi ukázalo velmi cenné. Projekt přinesl na kliniku otevřenou diskuzi v týmu lékařů HOK o zahajování a formách End of Life Care (EoLC). O práci v týmu projevil spontánní zájem sestry z oddělení i ambulance. Tým využívá zkušenosti psychologa, který na HOK pracuje dlouhodobě na plný úvazek, nutričního specialisty a sociální sestry FN, dále klinického farmakologa, intenzivně spolupracuje při organizaci vrchní sestry, sestry staniční včetně edukační sestry HOK, týmem HOK byl posléze přijat také kaplan. Spolupráce s mobilními hospici (MH) se stává součástí EoLC hematologicky nemocných, hledáme její optimální formy pro konkrétní nemocné. V druhém partnerském projektu NF AVAST pro rok 2018 s kolegy z MH Strom života sbíráme zkušenosti s mobilní hospicovou péčí u všech hemato-onkologických diagnóz, zkušenosti s optimálním načasováním předání nemocných a s podáváním krevních derivátů, na společných schůzkách týmu diskutujeme o zkušenostech dobrých, ale i potížích, plánujeme výměnné stáže sester mezi pracovišti a po roce spolupráce koncem roku 2019 paliativní workshop. Pracujeme na supervizi práce týmu. O prvních zkušenostech jsme informovali vedení FN, které vyjádřilo projektu podporu, informujeme paliativní komunitu, spolupracující hematologové i veřejnost. Povzbuzující je pozitivní zpětná vazba od rodin i samotných nemocných.

S přibývajícím zkušenostmi před sebou vidíme další úkoly, mimo jiné zahájení práce paliativní ambulance pro nemocné HOK. Součástí grantového projektu NF Avast z roku 2017 bylo také zahájení výuky předmětu Paliativní medicína 2 na Lékařské fakultě Univerzity Palackého v Olomouci. Příprava výuky s sebou přinesla možnost spolupracovat s dalšími kolegy paliatry, kteří pracují ve FN, v mobilních i kamenných hospicích, s kolegy z Vojenské nemocnice v Olomouci. Snažíme se, aby studenti pochopili, jak se postarat o nemocné a jejich rodiny, když víme, že v boji s nemocí nezbývá vítězství.

P28.

Paliativní tým ve FN Hradec Králové – multioborový koncept paliativní péče

Filip S., Hrušešová J., Hrnčiarik M., Švecová D., Šimková M. (Klinika onkologie a radioterapie, FN, Hradec Králové; Klinika anesteziologie a resuscitace, FN, Hradec Králové; Plicní klinika, FN, Hradec Králové; Oddělení sociální péče, FN, Hradec Králové)

Definice: Paliativní tým je koncipován na multioborových principech spolupráce lékařských a nelékařských pracovníků ve Fakultní nemocnici s cílem udržet co nejlepší kvalitu života u nemocných s ukončenou aktivní kurativní léčbou. Základní myšlenkou pro práci paliativního týmu je jeho aktivní práce směřující k posílení obecného principu paliativní péče v jednotlivých oborech. Specializovanou paliativní péči poskytuje paliativní tým konsiliární a konzultační formou. Cíle: Zajistit aktivní komplexní a na kvalitu života zaměřenou léčebnou a ošetrovatelskou intervenci pacientovi, který trpí nevy léčitelným onemocněním v pokročilém nebo terminálním stádiu onemocnění, včetně jeho rodiny. Plán činnosti: Rozvíjet obecnou paliativní péči (především léčba symptomů) – konzultační a konsiliární činnost na jednotlivých klinikách, stacionářích a ambulancích ve FN; Zajistit specializovanou paliativní péči: a. Konziliární činnost b. Poradenská činnost c. Edukační činnost d. Intervence Priority péče: Zvládnutím bolesti a jiných symptomů spjatých s léčebně neodvratitelnou progresí onemocnění; Respektovat přání nemocného a jeho rodiny; Zajistit přítomnost blízkých osob; Empatická a lidsky autentická péče zdravotníků; Ekonomické podmínky a udržitelnost činnosti paliativního týmu: Spolupráce s vedením FN; Realizace pilotních studií podporujících „benefit cost“.

ADAM Z.	35, 38	BLÁHA M.	54
AL TUKMACHI D.	60	BOCCADORO MARIO.....	52
ALMÁŠI M.....	38, 54	BOKOROVÁ R.	62
AMIOT M.	11	BONNET A.	11
ANDRÝS C.	54	BORCHMANN S.....	24
ARAKELYAN A.....	8	BORSKÝ M.	64
BAČOVSKÝ J.....	11, 49, 50	BOUDNÝ M.	64
BACHANOVÁ V.	20	BOURCIER J.	11
BALCÁRKOVÁ J.	11, 49, 51	BRATKOVÁ A.....	55
BALHÁREK T.	43	BRÁZDILOVÁ L.....	14
BARTKOVÁ M.....	28	BRENNER D.....	13
BAŘINOVÁ M.....	52	BREZINOVA J.....	12
BÁTOROVÁ A.	61	BROŽOVÁ L.	52
BĚHÁLEK M.	11	BRYCHTOVA Y.	7, 33, 46, 64
BEKSAC M.	36	BŘEZINOVÁ J.....	62, 67
BELADA D.	20, 30, 45	BULTASOVÁ L.	24
BĚLOHLÁVKOVÁ P.	18, 65	BURDA P.....	12
BENES V.....	7	BÚTOVÁ R.....	54
BENEŠOVÁ A.....	39	BŮŽKOVÁ K.	25
BENEŠOVÁ K.....	20	CAMPR V.	20
BERDEJA JESUS G.	52	CERNA K.	6
BERGEROVÁ V.....	14	CETKOVSKÝ P.	58
BESSE A.	12	CETKOVSKÝ P.	60
BESSE L.....	12	COOK GORDON.....	52
BEZDĚKOVÁ R.....	38, 54	COSTELLO CAITLIN L.	52
BINDER H.	8	CROSS NICHOLAS C.P.....	39
BLAGOEVOVA K.	12	CURIK N.	12

ČERMÁK J.....	62	FLODR P.	44, 49
ČERNÁ J.	64	FOLTA A.	60
ČERŇAN M.....	58, 59	FRANČOVÁ Z.	14
ČERVINEK L.	3	FRIEDECKÝ D.	25
ČUDOVÁ B.	22	FUCHS O.....	62
ČULEN M.	60	FÜRST T.	20, 58, 60, 63, 67
DANIELOVÁ L.....	15	GABČOVÁ G.	32
DARZENTAS N.....	41	GABLO N. A.	54
DAVIES FAITH E.....	52	GAHÉROVÁ L.....	24
DAWN MARIE STULL.....	52	GAJDOŠ P.	11
DIMOPOULOS MELETIOS A.	36	GALUSZKOVÁ D.	26, 57
DIVOKÁ M.	17, 32, 44, 62	GAY F.....	36
DOUBEK M.	7, 30, 33, 46, 58	GERŽOVÁ Z.	14
DRIESSEN C.	12	GOLDSCHMIDT H.....	36
DROBILIČOVÁ A.	15	GOMEZ-BOUGIE P.....	11
ŽURAŠ J.	20	GREGOROVÁ J.....	38, 54
ŽURINÍKOVÁ A.....	60	GROHMANN J.	63
DYNTEROVÁ A.....	16	GÜRTLEROVÁ C.	60
DÝŠKOVÁ T.	49	HÁJEK R.....	28, 36, 38, 52
ENTROVÁ A.	26	HÁJKOVÁ V.....	59, 67
ERNST T.	39	HAJŠMANOVÁ Z.	24
FABRYOVÁ V.	17	HAKOBYAN Y.....	8
FÁTOROVÁ I.	16	HÁLEK J.	67
FEDORCO M.....	57	HAMOUZOVÁ J.....	20
FILIP D.....	6	HAMPLOVÁ A.....	18, 49
FILIP S.	54, 68	HANÁČKOVÁ V.....	9
FILLEROVÁ R.	11	HANÁKOVÁ M.	9
FÍNOVÁ L.....	14	HEŘMANOVÁ Z.....	50

HILSKÁ I.....	23	INDRÁK K.....	17, 60
HISEMOVÁ M.....	58	JACOVÁ J.....	25
HLADÍKOVÁ Š.....	64	JANČÁRKOVÁ T.....	66
HLUŠÍ A.....	3, 67	JANÍKOVÁ A.....	20
HOCHHAUS A.....	39	JANKOVÁ J.....	44
HOCHOVÁ I.....	17	JANSKÁ R.....	44, 62
HOLÚBKOVÁ P.....	59	JAROSOVA M.....	7
HOLUSKOVÁ I.....	26	JAROŠ J.....	64
HOLZEROVÁ M.....	44, 46, 62	JAŠKOVÁ Z.....	64
HORÁKOVÁ M.....	13	JELÍNEK T.....	29
HOUDKOVÁ A.....	17	JELÍNKOVÁ H.....	41
HOVORKOVÁ L.....	39	JEŽÍŠKOVÁ I.....	60
HRABĚTOVÁ M.....	32	JINDRA P.....	32, 58, 60, 64
HRKAL Z.....	40	JIRKUVOVÁ A.....	15, 22
HRNČIARIK M.....	68	JONÁŠOVÁ A.....	62
HROBKOVÁ S.....	46	JUHÁSOVÁ L'.....	55
HRUBEŠOVÁ J.....	68	JUNGOVÁ A.....	32
HRUŠÁK O.....	40	JURÁŇOVÁ J.....	9, 34, 67
HUBÁČEK P.....	26	JURČEK T.....	39
HUNGRIA VANIA T. M.....	52	KABÁTOVÁ MAXOVÁ K.....	64
HYNST J.....	7, 33, 41	KABÍČKOVÁ E.....	23
CHALUPNÍKOVÁ P.....	25	KACEROVA L.....	12
CHARI AJAI.....	52	KADLECOVÁ J.....	16
CHAROUZKOVÁ J.....	13	KAISER M.....	36
CHNG WEE-JOO.....	36	KAJABA V.....	9
CHOCHOLKOVÁ D.....	15	KALINA T.....	12, 27
CHRÁPAVÁ M.....	30	KALINOVÁ M.....	23
IIDA SHINSUKE.....	36	KALMANOVÁ P.....	26

KALODOVÁ HADAČOVÁ J.....	14	KOUBA M.....	27
KANDEROVA V.....	12	KOUŘILOVÁ P.....	13, 14
KANTOR L.....	67	KOVAŘÍKOVÁ K.....	59
KARAS M.....	32, 64	KOZÁK T.....	24, 58, 66
KAŠPAROVÁ P.....	45	KRÁL Z.....	24
KAŠTILOVÁ K.....	59	KRAUS M.....	12
KAVERI SURYANARAYAN.....	36	KRČMÉRYOVÁ M.....	66
KHIRSARIYA P.....	64	KREJČÍ M.....	38
KLAMOVÁ H.....	39, 40	KRHOVSKÁ P.....	10, 11, 49, 50
KLENER P. JR.....	22	KRIEGOVÁ E.....	4, 11, 22, 32, 43 44, 46, 49
KLIMEŠ J.....	35	KRŮZOVÁ L.....	44, 46, 62
KNOPPOVÁ I.....	67	KŘÍSTKOVÁ Z.....	58
KOBLIHOVA J.....	12, 39	KUBA A.....	28
KODET R.....	23	KUDĚLKA M.....	32
KOLAŘÍK L.....	17	KULIS M.....	8
KOLKOVÁ A.....	15	KUPKOVÁ P.....	25
KOLOMAZNÍKOVÁ D.....	14	KUZILKOVA D.....	12
KONEČNÁ V.....	16	LABUDÍKOVÁ M.....	10, 59, 67
KONRÁDOVÁ Š.....	27	LANGROVÁ H.....	54
KONUPČÍKOVÁ P.....	59	LÁNSKÁ M.....	54
KOPEČKOVÁ K.....	20	LAPČÍKOVÁ A.....	17, 34
KORANDA P.....	60	LÁTALOVÁ J.....	10, 67
KORELUSOVÁ I.....	24	LAUERMANNOVÁ M.....	62
KORIŤÁKOVÁ E.....	30, 58	LE GOUILL S.....	11
KOŘÍNKOVÁ G.....	49	LEE HANS C.....	52
KÓSA F.....	30	LELEU XAVIER.....	52
KOSAŘOVÁ Z.....	60	LESNÝ P.....	27
KOTAŠKOVÁ J.....	33	LIBIGEROVÁ T.....	49

LOEFFLER-WIRTH H.....	8	MOREAU P.....	11, 36
LUKAČKOVÁ R.....	61	MORGAN GARETH.....	36
LYSÁK D.....	14, 32	MOTLOVÁ E.....	39
MAHON F. X.....	39	MOTYČKOVÁ M.....	30
MACHOVÁ POLÁKOVÁ K.....	12, 39	MOUTELÍKOVÁ K.....	27
MACHOVÁ R.....	34, 56, 67	MRÁZ M.....	6, 64
MAIGA S.....	11	MRHALOVÁ M.....	23
MAISNAR V.....	36, 52	MUSILOVA K.....	6
MAJEROVÁ L'.....	61	MYSLIVCOVÁ D.....	62
MALCIKOVA J.....	7, 33	NAVRÁTILOVÁ J.....	41, 51
MANUKYAN G.....	32	NAVRKALOVÁ V.....	41
MAREČKOVÁ A.....	41	NEČASOVÁ T.....	30, 58
MARKOVÁ J.....	24	NEPLECHOVÁ D.....	25
MARKOVÁ M.....	27	NEUWIRTOVÁ R.....	62
MATEOS M.-V.....	36	NIKOGHOSYAN M.....	8
MATUŠKA M.....	25	NOVÁČKOVÁ M.....	30
MAYER J.....	6, 18, 33, 39, 58, 60, 64	NOVÁK J.....	58
MEDKOVÁ A.....	67	NOVÁK M.....	51, 63, 67
MERTIN T.....	18	OBR A.....	15, 22
MICHAL M.....	46	OLTOVÁ A.....	64
MICHALKA J.....	20	ONDERKOVÁ A.....	50
MICHALOVÁ K.....	62	ONDROUSKOVA E.....	7
MIKULENKOVÁ D.....	40, 62	OPPELT J.....	6
MIKULKOVÁ Z.....	11, 32	ORVISKÁ M.....	17
MIN CHANG-KI.....	36	OVERKLEEF H. S.....	12
MINAŘÍK J.....	11, 49, 50, 51, 52, 54	PÁL K.....	33, 41
MISTRÍK M.....	61	PALÁTOVÁ J.....	24
MÓCIKOVÁ H.....	20, 24, 66	PALOVÁ M.....	3

PANOVSKA A.....	7, 33, 46	PROUZOVÁ Z.....	23
PAPAJÍK T.....	4, 6, 9, 10, 11, 20, 22, 32, 41, 43, 44, 46, 49, 51, 58, 62, 67, 63	PUIG NOEMI.....	52
PARUCH K.....	64	PULCER M.....	25
PAVLASOVA G.....	6	PYTLÍK R.....	20, 27
PAVLÍČEK P.....	29	ŘÁČIL Z.....	5, 18, 58, 60
PAVLÍKOVÁ A.....	25	RADOCHA J.....	4, 65
PAVLOVA S.....	7, 33	RADOVA L.....	7, 54
PECHERKOVÁ P.....	39	RAHMATOVÁ Š.....	27
PELLAT-DECEUNYNCK C.....	11	RAIDA L.....	28
PENKA M.....	60	RAIDOVÁ A.....	16
PETRÁČKOVÁ A.....	11, 22, 43, 49	RAJKUMAR S. V.....	36
PETROVÁ P.....	50	RANSORFOVA S.....	12
PETULOVÁ K.....	10	RAUSCH T.....	7
PIKA T.....	11, 49, 50	RECOVÁ L.....	25
PIRNOS J.....	20	REJLOVA K.....	12
PLANK T.....	43	RIFKIN ROBERT M.....	52
PLECHATÁ I.....	50	ROHOŇ P.....	34, 59
PLEVOVA K.....	7, 33, 41	RUSIŇÁKOVÁ Z.....	28
PLUTA A.....	36	ŘÍHA P.....	23
POLIVKOVA V.....	12, 39	SANDOVA V.....	6
POSPISILOVA S.....	7, 33, 41	SAUSSELE S.....	39
POSPÍŠILOVÁ D.....	17, 2	SEDA V.....	6
POSPÍŠKOVÁ J.....	30	SEDLÁČKOVÁ R.....	9
POUR L.....	28, 38, 54	SEDLAŘÍKOVÁ L.....	22, 38, 49
PROCHÁZKA V.....	9, 20, 22, 44, 46, 63	SCHJESVOLD FREDRIK H.....	36
PROCHÁZKOVÁ J.....	3	SCHNEIDEROVÁ P.....	44
PROŠKOVÁ J.....	50, 51	SCHWARZ J.....	60
		SLABÝ O.....	54

SLAVÍK L.	2, 3, 9, 25, 63, 67	ŠIMEČKOVÁ R.	34
SLEZÁKOVÁ K.	61	ŠIMKOVÁ M.	68
SMETANA K.	40	ŠIMKOVIČ M.	30, 45
SMITAL J.	56	ŠKROBÁNKOVÁ A.	67
SMOLEJ L.	30, 45	ŠLEHOFER P.	64
SOBH A.	12	ŠMARDOVÁ L.	24
SONALI S.	6	ŠMOTKOVÁ KRAICZOVÁ V.	32
SOPKOVÁ D.	55	ŠPAČEK M.	30, 44
SOUKUPOVÁ MAALOUFOVÁ J.	62	ŠPAČKOVÁ J.	14
SPENCER A.	36	ŠPUNAROVÁ M.	64
SRBOVÁ D.	39	ŠRÁMEK J.	32, 58
STARÝ J.	5, 58	ŠRÁMKOVÁ L.	58
STEINEROVÁ K.	14, 32	ŠŤASTNÁ MARKOVÁ M.	39, 62
STEJSKAL L.	58	ŠTEFKOVÁ B.	62
STEJSKALOVÁ P.	15	ŠTĚPÁNKOVÁ P.	30
STOLZE S. C.	12	ŠTORK M.	38, 54
STOPKA T.	62	ŠVÁCHOVÁ H.	51
STROJIL J.	9	ŠVECOVÁ D.	68
SVOBODOVÁ N.	49, 51	TAKÁCS P.	30
SÝKOROVÁ A.	20, 30	TERPOS EVANGELOS.	52
SZÉPE P.	43	TESSOULIN B.	11
SZOTKOWSKÁ R.	28, 67	TICHÝ B.	33
SZOTKOWSKI T.	10, 41, 58, 59, 60	TICHÝ M.	46
ŠÁLEK C.	19, 62	TICHÝ T.	46
ŠEBELOVÁ H.	14	TOM N.	60
ŠEDA V.	64	TOUZEAU C.	11
ŠEVČÍKOVÁ S.	38, 54	TRBUŠEK M.	64
ŠIGUTOVÁ P.	24	TRNĚNÝ M.	5

TRNĚNÝ M.	20, 22	VRÁNOVÁ J.	13
TŮMOVÁ M.	50	VRBASOVÁ J.	27
TURCSÁNYI P.	32, 44, 46, 62	VULPE C.	12
TVRDOŇ S.	67	VYBÍRALOVÁ L.	57
UHLÍŘOVÁ K.	13	VYDRA J.	27
ÚLEHLOVÁ J.	25	VYKYDALOVÁ J.	59
URBÁNKOVÁ H.	9, 22, 41, 44, 46, 49, 51, 62	WEISEL KATJA C.	52
URBANOVÁ R.	28, 32, 44, 46, 62, 67	WEISEL K. C.	36
USMANI SAAD Z.	52	ZÁPOTOCKÝ M.	40
UTÍKALOVÁ S.	59	ZAVACKA K.	7
VACULOVÁ G.	13	ZAVŘELOVÁ A.	45, 65
VÁNSKÁ P.	67	ZDRÁHALOVÁ H.	16
VAŠÍNEK M.	49	ZEHNALOVÁ Š.	32
VÁVROVÁ M.	27	ZEMANOVÁ J.	64
VENCLIKOVA S.	12	ZEMANOVÁ Z.	22, 62
VERNER J.	64	ZENI P.	6
VIKTOROVÁ D.	27	ZINI G.	34
VÍŠEK B.	58, 65	ZONDER JEFFREY A.	52
VÍTKOVÁ J.	67	ZUNA J.	39
VLCANOVA K.	12	ZWEEGMAN S.	36
VODÁREK P.	30	ŽÁČKOVÁ D.	18, 39
VODIČKOVÁ M.	26, 59	ŽÁK P.	30, 45, 58, 60, 65
VODIČKOVÁ P.	14	ŽÁKOVIČOVÁ A.	61
VOGLOVÁ J.	60	ŽENATOVÁ M.	33
VOJACKOVA E.	6	ŽIŽKOVÁ H.	39
VONKOVÁ B.	33		
VOSÁHLOVÁ V.	30		
VRÁBEL D.	38		

GENERÁLNÍ PARTNEŘI

AbbVie s.r.o. / AMGEN s.r.o. / Gilead Sciences s.r.o. / Roche s.r.o. / Janssen Cilag s.r.o.

abbvie

AMGEN

GILEAD

Roche

janssen
PHARMACEUTICAL COMPANIES
of Johnson & Johnson**HLAVNÍ PARTNEŘI**Angelini Pharma ČR s.r.o. / Bristol-Myers Squibb spol.s.r.o. / Celgene s.r.o. / Novartis s.r.o.
Takeda Pharmaceuticals Czech Republic s.r.o.

ANGELINI

Bristol-Myers Squibb

Celgene

NOVARTIS

Takeda

VÝZNAMNÍ PARTNEŘI

Sandoz s.r.o. / Sysmex CZ s.r.o. / TerumoBCT Europe N.V.

SANDOZ A Novartis
Division

sysmex

TERUMOBCT
Unlocking the Potential of Blood**PARTNEŘI**Abbott Laboratories s.r.o. / Accord Healthcare s.r.o. / Alexion Pharma Czech s.r.o.
AOP Orphan Pharmaceuticals CZ / Beckman Coulter ČR s.r.o. / Becton Dickinson Czechia s.r.o.
BIOHEM spol. s r.o. / Biomedica ČS s.r.o. / Carl Zeiss s.r.o. / CSL Behring s.r.o. / DS Soft Olomouc s.r.o.
Exbio Praha a.s. / GRIFOLS s.r.o. / I.T.A.-Intertact s.r.o. / Medesa s.r.o. / Medista spol.s r.o.
Merck Sharp & Dohme s.r.o. / Octapharma CZ s.r.o. / Pfizer PFE spol. s r.o. / Pfizer spol. s r.o.
sanofi-aventis s.r.o. / Sarstedt spol. s r.o. / Swedish Orphan Biovitrum s.r.o.
TEVA Pharmaceuticals CR s.r.o. / The Binding Site s.r.o. / VIAGENE s.r.o. / Werfen Czech s.r.o.

SANOFI GENZYME

MEDIÁLNÍ PARTNEŘI

farmakoterapie

acta_medicinae

Na shledanou v Olomouci

24. - 26. 5. 2020



XXXIV.

**Olomoucké
hematologické dny**

www.olhemdny.cz