proLékaře.cz | 6.9.2025

Realita vyšetřování minimální reziduální nemoci u akutních leukemií aneb kolik laboratorní akrobacie je skutečně třeba?

Froňková E, Trka J
CLIP, Klinika dětské hematologie a onkologie, 2. LF UK a FN Motol, Praha

Transfuze Hematol. dnes, 19, 2013, No. 1, p. 6–7

V tomto čísle časopisu THD vychází článek ***Identifikace nových molekulárních markerů pro sledování minimální reziduální nemoci u akutních leukemií*** od kolektivu autorů z pracoviště Chambon. Autoři zde popisují nalezení cíle pro sledování minimální reziduální nemoci (MRN) v podobě sekvence DNA z místa konkrétního chromozomálního zlomu. Přestože samotný popis pracovního postupu představuje zajímavou exkurzi do téměř všech molekulárně-genetických metod, zásadně nesouhlasíme s tvrzením autorů, že tato metoda bude jakkoli uplatnitelná v rutinní praxi. Autoři vycházejí z předpokladu, že množství dostupných cílů pro sledování MRN u akutních leukemií (AL) je nedostatečné a že je třeba cíle hledat (doslova) za každou cenu. U akutní lymfoblastické leukemie (ALL) je v současnosti na protokolech využívajících MRN sledováno 90-95 % pacientů pomocí mezinárodně standardizované metodiky pro klonální přestavby imunoreceptorových genů (1, 2). Zbylí pacienti jsou např. u pediatrického protokolu ALL-BFM 2009 stratifikováni pomocí průtokové cytometrie (PC), která je postupně účinně standardizována např. v rámci konsorcia EuroFlow. Pro nižší senzitivitu spočívá přínos PC především ve stanovení redukce nádorové masy v časných fázích léčby, kdy poskytuje informaci srovnatelnou s PCR v pozdějších časových bodech (2). Potřeba dalších molekulárních cílů u ALL je tedy velmi diskutabilní, pokud by vyvstala, nabízejí se poměrně časté, snadno „screenovatelné“ aberace typu fúzních genů, delecí IKZF1, translokací CRLF2 apod.

U AML je situace skutečně složitější. Přestože ale představovaná metoda využívá v jednom z mnoha kroků sekvenování nové generace (NGS), autoři zcela opomíjejí zmínit rychlý nárůst množství cílů u AML, které jsou hlavně díky NGS nově identifikovány, jako jsou např. mutace IDH1/2, DNMT3A, BCOR, BCORL1, PHF6 a mnoho dalších (3). Pouze kombinací vyšetření genů ASXL1, NPM1, FLT3, TET2, IDH1, IDH2 a RUNX1 byl alespoň jeden cíl nalezen u 85 % AML s normálním karyotypem (4). Využití mutací pro účely MRN bylo donedávna obtížné. S nástupem amplikonového NGS do rutinní praxe bude možno v dohledné době při vhodném výběru přístroje a využití multiplexování (tzv. „barcoding“) sledovat MRN pomocí těchto cílů s vysokou senzitivitou a za cenu podobnou kvantitativní PCR (3). Nedostatek cílů tedy není hlavním problémem, který brzdí integraci MRN do protokolů pro léčbu AML. Tím je jednak absence standardizace vyšetření, a to i u běžně sledovaných aberací typu fúzních genů, a především nejasný prognostický význam u většiny znaků. Rozsáhlá studie u dětské AML porovnávající různé metody detekce MRN například ukázala, že PC po indukci predikovala prognózu v multivariantní analýze, zatímco podstatně citlivější vyšetření transkriptu AML1-ETO a CBFβ-MYH11 nemělo prognostický význam (5). Pro definitivní stanovení role MRN u AML je třeba hodnotit velké kohorty pacientů s konkrétní aberací, léčených podle konkrétního protokolu. Předkládaný přístup spolu s mantrou o individualizované medicíně představuje přesný opak tohoto trendu.

Metody představené v článku jsou jistě dokladem technických možností současné molekulární cytogenetiky a molekulární genetiky. Představa, že by měly být využity rutinně, nebo dokonce hrazeny z veřejných financí, je však spíše žertovná a ani autoři sami ji nemohou myslet vážně. Finanční i časový aspekt a potřeba přístrojového vybavení včetně chemikálií (mFISH/mBAND, knihovna 25 000 sond, speciální stroj na česání DNA, mikrodisektor, sekvenátor nové generace a další), předurčují tuto metodu spíše mezi technické kuriozity. Navíc, výsledkem je u jednoho z 3 vyšetřovaných vzorků nalezení fúze u genu MLL/AF4, který je běžně sledován na úrovni transkriptu. Genomický zlom pro účely spolehlivějšího sledování MRN na úrovni DNA lze u většiny fúzí zahrnujících gen MLL najít pomocí inverzní PCR. Pokud bychom chtěli přistoupit na představu, že je (alespoň pro část pacientů s AML)

003_TH_0113.indd 6 3/27/13 2:04:26 PM

proLékaře.cz | 6.9.2025

nutné hledat individuální, dosud nepopsané cíle pro sledování MRN, je již v současnosti levnější a rychlejší variantou přímo transkriptomová, exomová nebo dokonce celogenomová sekvenace vzorku.

LITERATURA

1. Fronkova E, Mejstrikova E, Avigad S, et al. Minimal residual disease (MRD) analysis in the non-MRD-based ALL IC-BFM 2002 protocol for childhood ALL: is it possible to avoid MRD testing? Leukemia 2008; 22(5): 989-997.
2. Schrappe M. Minimal residual disease: optimal methods, timing, and clinical relevance for an individual patient. Hematology Am Soc Hematol Educ Program 2012; 2012: 137-142.
3. Kohlmann A, Grossmann V, Nadarajah N, et al. Next-generation sequencing - feasibility and practicality in haematology. Br J Haematol; publikováno elektronicky 7. ledna 2013. Doi: 10.1111/bjh.12194.
4. Fernandez-Mercado M, Yip BH, Pellagatti A, et al. Mutation patterns of 16 genes in primary and secondary acute myeloid leukemia (AML) with normal cytogenetics. PLoS One. 2012; 7(8): e42334.
5. Inaba H, Coustan-Smith E, Cao X, et al. Comparative analysis of different approaches to measure treatment response in acute myeloid leukemia. J Clin Oncol. 2012; 30(29): 3625-3632.

MUDr. Eva Froňková, Ph.D.
CLIP, Klinika dětské hematologie a onkologie
2. LF UK a FN Motol
V Úvalu 84
150 06 Praha 5
e-mail: eva.fronkova@lfmotol.cuni.cz

OSPDL ČLS JEP
Zpč. regionu

pořádá

dne 13. 4. 2013 od 9 do 15 hodin
v Plzni, Šafránkově pavilonu, Alej Svobody 31

Regionální vzdělávací seminář na téma

Imunologie v ordinaci PLDD

Program:

9.00	**zahájení**
9.05 – 10.00	Prof. MUDr. A. Šedivá, Ph.D. – ***Autoinflamatorní onemocnění***
10.00 – 10.50	MUDr. V. Gutová – ***Primární imunodeficity***
10.50 – 11.05	**Přestávka**
11.05 – 12.00	MUDr. M. Liška – ***Často nemocné dítě, dif. dg. a léčba***
12.00 – 13.00	**oběd**
13.00 – 13.40	MUDr. V. Gutová – ***Autoimunity***
13.40 – 14.30	MUDr. V. Gutová, MUDr. M. Liška – ***Laboratorní diagnostika imunopatologických stavů***
14.30 – 15.00	**Diskuse**

„Akce má charakter postgraduálního vzdělávání a je garantována ČLS JEP ve spolupráci s ČLK (ohodnocena kredity) jako akce kontinuálního vzdělávání.“

MUDr. Alena Šebková, regionální zástupce OSPDL ČLS JEP

003_TH_0113.indd 7 3/27/13 2:04:26 PM