

# G3 Symposium 2018 – Remise bez nutnosti terapie (TFR) u chronické myeloidní leukemie

Stejně jako v minulých letech se i letos konalo, v pátek 16. března na půdě děkanátu 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy, Symposium G3 – Genes, Genetics, Genomics. Odehrálo se ve spolupráci 1. lékařské fakulty UK, Biotechnologického a biomedicínského centra Akademie věd a UK ve Vestci a Ústavu hematologie a krevní transfuze a jeho ústředním tématem, které bylo oproti loňsku orientováno více směrem ke klinické praxi, bylo vysazování léčby u chronické myeloidní leukemie a dosahování trvalé remise bez nutnosti další terapie (TFR; *Treatment free remission*).

Úvodní přednášku k tématu měla **MUDr. Daniela Žáčková, Ph.D.**, z Interní hematologické a onkologické kliniky Fakultní nemocnice Brno. Dr. Žáčková na úvod připomněla, že současná léčba CML inhibitory tyrozिनových kináz (TKI) představuje paradigma úspěšné terapie onkologických onemocnění. Je založena na identifikaci kauzální chromozomové aberace (Ph chromozom; 1960) a jejích molekulárně genetických projevů (hyperaktivní chimérická tyrozínová kináza Bcr-Abl) a následném nalezení látek cíleně zaměřených proti jejich působení.

Současné použití TKI vykazuje při léčbě CML velmi dobrých výsledků, avšak vyžaduje v podstatě doživotní nutnost užívání léků. Pro řadu pacientů představuje tato terapie omezení kvality života, a to zejména kvůli četným nežádoucím účinkům, např. tvorbě otoků, pleurálních výpotků, rozvoji diabetes, hypercholesterolemie, nebo pulmonální arteriální hypertenze. Vedle toho představuje léčba rovněž nemalou ekonomickou zátěž pro zdravotnické systémy, která se zvyšující se prevalencí CML navíc stále roste.

Ve společenském zájmu je proto nalezení možnosti bezpečného ukončení terapie TKI bez rizika rozvoje reziduální choroby a relapsu onemocnění. První studie v tomto směru se uskutečnily již v letech 2004–2007 ve Francii, Jižní Koreji, Japonsku a Austrálii. Později následovala i evropská studie EURO-SKI, do které se zapojili také pacienti z České republiky.

Všechny tyto studie přinesly v zásadě velmi podobné výsledky: Po přerušení léčby zůstalo do 5 let v TFR v závislosti na zvoleném kritériu (přežití bez relapsu; ztráta velké molekulární odpovědi MMR) mezi 40 a 60 % pacientů. Ukázalo se, že k velké větši-

ně relapsů u pacientů s CML po vysazení TKI dochází v prvních šesti měsících, pozdních relapsů je méně a po jistém čase už k relapsům prakticky nedochází. Studie rovněž ukázaly, že úspěšné udržení TFR nejprůkazněji koreluje s dobou předchozí léčby TKI, méně pak s dobou dosažení hluboké molekulární odpovědi, zatímco korelace s věkem a pohlavím pacientů nebyla pozorována. Tyto výsledky představují slibný základ pro další výzkum. Přinesly nicméně i některá nepříjemná překvapení, zejména pozorování nežádoucích jevů v podobě nežídky velmi silných bolestí svalů, kostí a kloubů u jedné čtvrtiny až třetiny pacientů (tzv. TKI withdrawal syndrome).

**Profesorka Satu Mustjoki** z Univerzity v Helsinkách se ve svém příspěvku zaměřila na imunogenicitu CML jako prediktivní faktor pro úspěšné dosažení TFR. Nádory obecně – a CML v tomto není výjimkou – působí ve svém mikroprostředí imunosupresivně a v řadě případů stimulují inhibiční receptory T-buněk. Využití inhibitorů těchto inhibičních receptorů již přineslo řadu slibných výsledků v klinické praxi některých solidních nádorů (melanomy, karcinom plic) i hematologických malignit. Imunologická léčba působí přes zvýšenou prezentaci antigenů maligní buňky a její rozpoznávání imunitním systémem, zvýšenou aktivaci T lymfocytů, jejich zvýšenou migraci směrem k nádoru a lepší průnik do jeho masy.

Výzkumný tým prof. Mustjoki za použití multiplexové imunohistochemie a tkáňové microarray z kostní dřeně pacientů s CML identifikoval fenotyp buněk imunitního systému (T a B lymfocyty a NK buňky) v různých fázích onemocnění a porovnal jej s profilem zdravých jedinců. Prokázal, že v CML dochází k zvýšené expresi inhibičních receptorů T lymfocytů, jako je např. CTLA-4 a PD-1, což vede k zastavení proliferace efektorových T-buněk a jejich smrti (apoptóze). Léčba pomocí TKI vedla k výraznému poklesu exprese PD-1 v kostní dřeni i periferní krvi pacientů s CML, což ukazuje na aktivaci imunitního systému. Imunostimulační účinky byly zejména prokázány u TKI 2. generace dasatinibu, který zvyšuje počet cirkulujících CD8+ T lymfocytů a NK buněk a snižuje počet regulačních T lymfocytů (CD4+ Treg), které jinak inhibují efektorové buňky. Spojení

léčby dasatinibem s  $\alpha$ -interferonem (IFN $\alpha$ ) vede k omezení nežádoucích účinků léčby.

Imunofenotypování CML má samo o sobě nemalý prognostický potenciál. Příznivá prognóza CML koreluje s nízkou proporcí PD-1+ CD8+ T buněk a nízkým počtem neutrofilů v periferní krvi. Určité profily významně korelují s dosažením hluboké molekulární odpovědi, a to lépe než stávající prognostické hodnotící systémy (EUTOS, Sokal, Hasford). Tato skutečnost má velký význam i pro predikci TFR. Výsledky francouzské STIM1 studie ukazují, že příznivý imunologický profil pro dosažení TFR představuje vysoké zastoupení paměťových CD8+ T buněk a vysoké zastoupení NK buněk, zatímco naopak vysoké zastoupení CD4 Treg je v tomto směru spojeno s horší prognózou. Nízké zastoupení NK buněk také signifikantně častěji predikuje časný relaps.

**Profesor Andreas Burchert** z Univerzitní nemocnice v Giessenu a Marburgu se svým příspěvkem navázal na prof. Mustjokioho. V souvislosti s TFR uvedl, že pouze cca 12 % pacientů s CML léčených imatinibem se dnes dostává do TFR, a proto je třeba jednak zdokonalit predikci pacientů s vysokou pravděpodobností dosažení TFR a také všeobecně snížit míru vzniku relapsů u pacientů po eventuálním vysazení léčby.

K dosažení těchto cílů je nezbytné prohloubit naše znalosti o přežívání leukemických kmenových buněk představujících zdroj reziduální choroby, a to kromě jiného lepším porozuměním mechanismům, kterým tyto buňky unikají pozornosti imunitního systému.

Jednou z cest může být již v předchozím příspěvku zmíněné posílení imunitního dozoru působením IFN $\alpha$ . Nově získaná data ukazují, že IFN $\alpha$  zvyšuje přežívání, expanzi a diferenciaci T-buněk a mohl by být užitečný v udržení remise, zejména po předchozí kombinované terapii TKI/IFN $\alpha$ . IFN $\alpha$  je z 95 % v těle produkován aktivovanými plazmocytoidními dendritickými buňkami (pDC). Relativní zastoupení pDC v CML je zhruba desetkrát nižší než u zdravých jedinců, což naznačovalo jejich nedostatečnou produkci. Následně se ale ukázalo, že absolutní počty pDC jsou u pacientů s CML a zdravých jedinců srovnatelné. Co se lišilo, bylo ale zastoupení subpopulace CD86+ pDC, kterých bylo u CML pacientů výrazně více. CD86 představuje ligand pro inhibiční receptor CTLA-4 na povrchu efektorových T-lymfocytů. Tento objev má zásadní přesah i do problematiky TFR: V prospektivní analýze na 122 pacientech po vysazení léčby v rámci studie EURO-SKI se ukázalo, že právě vysoká exprese CD86 na pDC predikuje riziko relapsů po přerušení léčby. Počet CD86+ pDC signifikantně koreloval s frekvencí PD-1+ CD8+ T-lymfocytů, které jsou znakem vyčerpanosti T-buněčné imunitní odpovědi (viz výše).

Dalším klíčovým mechanismem ve vztahu k reziduální chorobě je rezistence leukemických kmenových buněk. Práce z poslední doby ukazují, že tyto buňky, které nejsou cíleny TKI, využívají při udržení rezistence určitých signalizačních drah, například signalizaci přes TGF- $\beta$  receptor a transkripční faktor FOXO3. Leukemické kmenové buňky u akutní myeloidní leukemie zase zvýšeně exprimují antiapoptotický protein BCL-2 a jsou energeticky závislé na oxidativní fosforylaci, což může být i případ spících leukemických kmenových buněk u CML.

Posledním vystupujícím byl **prof. Ingo Roeder** z Lékařské fakulty Carla Gustava Caruse v Drážďanech, který se zabývá systémovou medicínou, integrací teoretických, statistických a experimentálních přístupů. Prof. Roeder nejprve vysvětlil obecné principy matematického modelování v kontrastu se statistickými a bioinformatickými přístupy. Zatímco ty druhé jsou postaveny na popisu dat a hledání rozdílů mezi nimi na základě určitých hladin pravděpodobnosti, matematické modely vycházejí z hypotéz a možných scénářů, snaží se nalézt mechanistické vysvětlení pozorovaných jevů. Pro jejich aplikaci je důležité vycházet z toho, že model představuje zjednodušení situace, zobecňuje podstatné skutečnosti na úkor detailů a musí být zvolen tak, aby ke zkoumanému předmětu přistupoval na správné úrovni.

V konkrétní aplikaci vzhledem k problematice CML se nabízí zkoumat a predikovat pomocí matematického modelování efekt léčby TKI u pacientů s CML a speciálně pak riziko molekulárního relapsu po vysazení léčby u jednotlivých pacientů. Model popisuje CML jako klonální kompetici mezi zdravými (HSC) a leukemickými (LSC) hematopoetickými buňkami a předpokládá, respektive vychází z hypotézy, že existují jednak rozdíly mezi buněčnou proliferací klonů vycházejících z HSC a LSC a také, že TKI působí s různou efektivitou na spící LSC, proliferující LSC a na „diferencované“ leukemické klony. Na tomto základě s přihlédnutím k imunitní odpovědi pacienta lze modelovat několik scénářů vývoje onemocnění (po vysazení TKI) včetně scénáře předpokládajícího existenci „bodu“, kde se rozhoduje o vzniku relapsů a jehož překročení predikuje vyléčení pacienta. Zajímavým důsledkem vyplývajícím z předpokládaných modelovaných scénářů je, že většina pacientů bere v určitém časovém úseku své léčby zbytečně vysoké dávky TKI. To dostává do hry možnost terapie CML s postupnou deeskalací dávky TKI – možnost, která dnes často uniká pozornosti vzhledem k binárnímu myšlení standardní dávka TKI vs. úplné vysazení léčby. Roeder každopádně zdůraznil, že predikované výstupy modelů musí být validovány klinickými studiemi.

**KONGRESY • SYMPOZIA • KONFERENCE • STUDIJNÍ POBYTY**

Všechny přednášky pronesené v rámci Symposia G3 2018 zaujaly přítomnou odbornou veřejnost a vedly k řadě zajímavých otázek a diskusí. Potvrzuje se tím, že Symposium G3, jako akce s více než desetiletou tradicí, zaujala významné místo v oblasti základního, aplikovaného a translačního výzkumu a klinické praxe

hematopoetických nádorových onemocnění v České republice.

**RNDr. Nikola Čuřík, Ph.D.**

Ústav hematologie a krevní transfuze  
Oddělení molekulární genetiky  
e-mail: nikola.curik@uhkt.cz