

## 12. MYELOPROLIFERATIVNÍ NEMOCI A CHRONICKÁ MYELOIDNÍ LEUKÉMIE

### SÚČASNÉ MOŽNOSTI LIEČBY PH-NEGATÍVNYCH MYELOPROLIFERATÍVNYCH NEOPLÁZIÍ

Hrubiško M.

Katedra hematológie a transfúziológie LF SZU, KHaT UN Bratislava

**Úvod:** Ako Ph-negatívne myeloproliferatívne neoplázie (MPN) sa označujú tie MPN, ktoré nemajú Filadelfský chromozóm (Ph chromozóm, gén *BCR/ABL*). Z najdôležitejších sem patria polycytémia vera (PV), esenciálna trombocytémia (ET) a primárna myelofibróza (PMF). Nie vždy ide o vyhranené chorobné jednotky, pri ktorých je nádorovo pozmenená len tvorba erytrocytov (PV), trombocytov (ET) prípadne strómy kostnej drene (PMF). Všetky MPN vrátane chronickej myelocytovej leukémie (CML) vychádzajú z nádorovo pozmenenej predurčenej bunky CFU-GEMM (koloniformná jednotka granulocyto-erythrocyto-monocyto-megakaryocytová). Mutácie v CFU-GEMM postihujú všetky krvinky, ktoré z nej vychádzajú, vrátane granulocytov i strómy. Postihnuté sú aj kapiláry a ich endotel. Mutácia *JAK2* sa našla aj v endoteliálnych bunkách pacientov s MPN, ktorí prekonalí trombózu. Experimentálne bolo dokázané, že takto zmutované endoteliálne bunky majú proadhezívne a protrombotické vlastnosti.

**Diagnostika:** Mutácia *BCR/ABL* je charakteristická pre CML, ak ju nenájdeme, ide o Ph-neg. MPN. Charakteristickú mutáciu má len PV – *JAK2 V617F* v exóne 14 (95 % pacientov) alebo v exóne 12 (3 %). Bez vyššie uvedenej mutácie prakticky neexistuje PV. Pri ostatných MPN to už neplatí, síce je táto mutácia typická aj pre ET i PMF (50–65 % prípadov), ale jej neprítomnosť uvedenej diagnózy nevyklučuje. Mutácia môže postihovať *MPL* gén v exóne 10 (okolo 10 % pacientov) ako aj gén pre kalretikulín v exóne 9 (15–25 % pacientov). Bez týchto mutácií (*triple negative*) tak zostáva len okolo 10–15 % chorých. Ph-neg. MPN sa nemusia prejaviť hneď na začiatku ochorenia typickými príznakmi. Nie je vzácné, že PV i PMF začína trombocytózou a až histologické vyšetrenie odhalí pravú podstatu choroby. Vtedy hovoríme o prepolycytemickej fáze PV, resp. o prefibrotickej fáze PMF. Mutáciu postihnuté bunky (vrátane leukocytov) majú potom pozmenené vlastnosti a prispievajú k najrôznejším klinickým prejavom, predovšetkým ku zvýšenej náchylnosti k trombózam. Z uvedeného vyplýva, že k základným diagnostickým princípom okrem molekulových vyšetrení patrí trepanobiopsické vyšetrenie kostnej drene, keďže len histológia môže rozlíšiť medzi jednotlivými podtypmi MPN.

**Liečba:** Prístup k liečbe MPN nie je vo svete jednotný. Na rozdiel od väčšiny onko-hematologických chorôb, kde sa princípy liečby veľmi nelíšia a prípadné rozdiely sú dané skôr ekonomickými možnosťami tej ktorej krajiny, pri MPN sa prístupy líšia aj v rámci Európy. Vidíme tu

anglickú školu, ktorá až donedávna prakticky výhradne presadzovala cytostatickú liečbu hydroxyureou (HU), škandinávsku, ktorá preferuje interferón-beta (IFN) a stredoeurópsku (CEMPO – Central European Myeloproliferative Neoplasm Organisation), ktorá presadzuje pri PV interferón a pri ET anagrelid (ANA) prípadne IFN. Rozdielny prístup je aj k hodnoteniu rizikovosti jednotlivých podskupín ako aj času začatia liečby.

**Polycytémia vera:** Pacienti sú ohrození predovšetkým trombózou, preto je cieľom znížiť hematokrit na bezpečné hodnoty (< 0,45 u mužov a < 0,42 u žien). Klasickou metódou sú venepunkcie, ktoré je možné vykonať odstránením celej krvi, ale aj prístrojovo, erythrocytaferézou, kde sa odstránia len prebytočné erythrocyty. Samozrejmosťou je antiagregačná liečba. Dlhodobé venepunkcie však vedú postupne k deplécii železa, požadovaný hematokrit sa dosiahne len vďaka mikrocytóze. Počet erythrocytov je pritom zvýšený. Tento fakt ako aj prípadná intolerancia procedúry, resp. jej neúčinnosť, či progresia klinických symptómov vyžadujú v ďalšom kroku cytoredukciu. V krajinách CEMPO sa ako liek 1. voľby používa IFN, v súčasnosti väčšinou dlhodobो pôsobiaci pegylovaný IFN. V EMA bol schválený mono-pegylovaný IFN-beta 2b – ropeginterferon. Výhodou je podávanie v intervale 14 dní, prípadne i dlhšom. Pri vzácnej neúčinnosti IFN prichádza do úvahy HU, prípadne špecifický inhibitor *JAK1/JAK2* ruxolitinib, ktorý je v niektorých krajinách považovaný za liek 2. voľby po IFN. Pri neúčinnosti všetkých uvedených liekov prichádza do úvahy busulfan avšak s rizikom zvýšenej pravdepodobnosti transformácie do akútnej leukémie. Vo výskume sú však aj nové lieky s úplne iným mechanizmom účinku.

**Esenciálna trombocytémia:** Pri tejto diagnóze sú rozdiely v prístupe k terapii najvýraznejšie. Podľa usmernení CEMPO je liekom 1. voľby anagrelid, necytostatický anti-megakaryocytový liek, ktorý ovplyvňuje vyzrievanie megakaryocytov a nedovolí ich nárast do obrovských rozmerov, čo je vlastne príčinou trombocytózy pri ET. K dispozícii sú dva preparáty s rozdielnou farmakokinetikou. ANA dostupný v západnej Európe mal podstatne horšiu toleranciu, čo viedlo k jeho zaradeniu do tretej, niekedy až 4. línie liečby. Oproti tomu ANA dostupný v strednej Európe je pomerne dobre tolerovaný a je preto liekom 1. voľby, u mladých pacientov v reprodukčnom veku je liekom 1. voľby IFN. Možné sú i kombinácie IFN + ANA, prípadne kombinácie s HU. Po (vzácnom) zlyhaní ANA alebo IFN prichádza do úvahy opäť HU.

**Primárna myelofibróza:** Ide o najvážnejšiu MPN. Dostupná liečba je len paliatívna, jedinou kuratívnu metódou je alogénna transplantácia krvotvorných buniek (TKB). K rozhodnutiu o potrebe liečby napomáhajú rôzne skórovacie systémy. Všeobecne platí, že v počiatočnom štádiu sa neoplatí riskovať mortalitu TKB, v najvyšších štádiách je však mortalita pri TKB natoľko vysoká, že jej vykonanie

už nedává zmysel. Na transplantáciu sú teda vhodní mladší pacienti v intermediárnych štádiách choroby. V prefibrotickom štádiu PMF (keď je jediným príznakom choroby trombocytóza) prichádza do úvahy liečba ANA aj IFN. Schváleným liekom je ruxolitinib, ktorý vie zmierniť príznaky choroby (najmä splenomegáliu) a znížiť transfúziu závislosť, nie však u všetkých chorých a kuratívny nie je. Pri výraznej proliferácii leukocytov prichádzajú do úvahy cytostatiká, predovšetkým HU. Na poli terapie PMF prebieha intenzívny výskum nových liekov.

**Záver:** Významný rozdiel v prístupe k (ne)liečbe MPN je aj v indikácii jej zahájenia. Ide o klonálne choroby, pri ktorých sa v priebehu ich väčšinou dlhodobého priebehu objavujú postupne nové mutácie. Prechod od „normálu“ k MPN a prípadne ďalej (k akútnej leukémii) je pozvoľný a postupný. Prvé mutácie ešte nemusia znamenať žiadne klinické prejavy, hovoríme o fáze „CHIP“ (*Clonal hematopoiesis with indeterminate potential*). Časom sú mutáciou postihnuté aj iné gény, čím dlhšie choroba trvá, tým je ich viac a postupne sa môžu objaviť aj mutácie typické pre AML. Preto je potrebné zvážiť liečbu už vo fáze CHIP, vo svete sa však názory na túto problematiku rozchádzajú. V strednej Európe sa riadime tým, že prístup *watch and wait* je vlastne čakaním na prvú tromboembolickú príhodu, čo nepokladáme za etické. Preto presadzujeme skorú necytostatickú liečbu v závislosti na veku a rizikových faktoroch.

## CHRONICKÁ MYELOIDNÍ LEUKÉMIE – JE ČAS NA UKONČENÍ SPECIFICKÉ LÉČBY?

Čičátková P., Žáčková D.

Interní hematologická a onkologická klinika LF MU a FN Brno

Odhalení patogenetického podkladu chronické myeloidní leukémie (CML), fúzního genu *BCR/ABL1*, a s tím spojené konstitutivně aktivované tyrozinkinázy Bcr-Abl1, rychle vedlo ke snahám o cílenou terapii. Již zavedení prvního inhibitory tyrozinkináz (*tyrosine kinase inhibitors* – TKI) imatinibu do klinické praxe zcela zásadně ovlivnilo nejen prognózu pacientů, ale také celkový pohled na léčbu CML. Imatinib byl následován dalšími TKI druhé a třetí generace (nilotinib, dasatinib, bosutinibu a ponatinib) a celková délka života pacientů s nově diagnostikovanou CML se nyní neliší od délky života zdravých vrstevníků. Léčba TKI je podle aktuálních doporučení Evropské leukemické sítě z roku 2020 obvykle celoživotní, a tak představuje nejen ekonomickou zátěž pro zdravotnické systémy, ale zejména může být spojena s negativním vlivem na kvalitu života pacientů. Stejně tak jak se vyvíjela terapie CML, měnily se i její cíle od dosažení kompletní hematologické (*complete hematological response* – CHR) a kompletní cytogenetické odpovědi (*complete cytogenetic response* – CCyR) až k odpovědi na molekulární úrovni – tzv. velké molekulární odpovědi (*major molecular response* – MMR, tj. pokles hladiny BCR/ABL1 transkriptů  $\leq 0,1$  % vzhledem k IS). Se zavedením TKI vyšších generací stále narůstá počet pacientů, u kterých je dosažena i tzv. hluboká molekulární odpověď (*deep molecular response* – DMR, tj. hladina transkriptů BCR/ABL1  $\leq 0,01$  % vzhledem k IS). Počet

pacientů, u kterých je DMR nastolena, se po 5 letech léčby pohybuje na základě zvoleného TKI mezi 40 a 60 %. Dosažení DMR je zásadním předpokladem k vysazení TKI a navození remise bez nutnosti léčby (TFR – *treatment free remission*), která se nyní pozvolna stává novým cílem léčby pacientů s CML. Tomu však předcházelo provedení řady klinických studií i kontrolovaných vysazení u pacientů v reálné klinické praxi a na zkušenosti z těchto prací navázala i akademická prospektivní celonárodní studie HALF probíhající nyní v České republice. Je určena pro pacienty s déle než 2 roky trvající DMR a její sofistikovaný design umožní po dvoustupňové redukci dávky vysadit TKI pacientům, kteří i při snižování dávky udrží stabilní MMR. Setrvat v TFR se v publikovaných studiích podařilo asi u poloviny pacientů. Z celkového počtu CML pacientů se však jedná jen o zlomek z nich (cca 20 %). K odhalení faktorů, které pacienty k úspěšnému vysazení predisponují, se snaží právě studie HALF přispět. Otázka, zda je u pacientů s CML čas na ukončení specifické léčby, zatím zůstává nezodpovězena a prozatím představuje možnost pouze pro malou skupinu pacientů.

Práce byla podpořena grantem číslo MUNI/A/1330/2021.

## HALF: MULTICENTRICKÁ AKADEMICKÁ STUDIE FÁZE II VYSAZUJÍCÍ INHIBITORY TYROZINKINÁZ PO DVOUSTUPŇOVÉ REDUKCI DÁVKY U PACIENTŮ S CHRONICKOU MYELOIDNÍ LEUKÉMIÍ – DOSAVADNÍ VÝSLEDKY

Žáčková D.<sup>1</sup>, Kvetková A.<sup>1</sup>, Faber E.<sup>2</sup>, Bělohávková P.<sup>3</sup>, Klamová H.<sup>4</sup>, Stejskal L.<sup>5</sup>, Karas M.<sup>6</sup>, Černá O.<sup>7</sup>, Cmunt E.<sup>8</sup>, Čičátková P.<sup>1</sup>, Semerád L.<sup>1</sup>, Horňák T.<sup>1</sup>, Procházková J.<sup>1</sup>, Rychlíčková J.<sup>9</sup>, Štěpánová R.<sup>9</sup>, Svobodník A.<sup>9</sup>, Machová Poláková K.<sup>4</sup>, Žižková H.<sup>4</sup>, Srbová D.<sup>4</sup>, Skoumalová I.<sup>2</sup>, Ježišková I.<sup>1</sup>, Jurček T.<sup>1</sup>, Borský M.<sup>1</sup>, Wieworka O.<sup>10</sup>, Demlová R.<sup>9</sup>, Mayer J.<sup>1,11</sup>

<sup>1</sup> Interní hematologická a onkologická klinika LF MU a FN Brno

<sup>2</sup> Hematoonkologická klinika LF UP a FN Olomouc

<sup>3</sup> IV. Interní hematologická klinika LF UK a FN Hradec Králové

<sup>4</sup> Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

<sup>5</sup> Klinika hematoonkologie LF OU a FN Ostrava

<sup>6</sup> Hematoonkologická klinika LF UK a FN Plzeň

<sup>7</sup> Interní hematologická klinika 3. LF UK a FN Královské Vinohrady, Praha

<sup>8</sup> 1. Interní klinika – klinika hematologie 1. LF UK a VFN v Praze

<sup>9</sup> Farmakologický ústav, LF MU Brno

<sup>10</sup> Oddělení klinické biochemie, FN Brno

<sup>11</sup> Středoevropský technologický institut (CEITEC), MU Brno

**Úvod:** HALF je multicentrická akademická studie fáze II, v rámci které je u pacientů s chronickou myeloidní leukémií (CML) v dlouhodobé hluboké molekulární odpovědi (DMR) terapie inhibitory tyrozinkináz (TKI) redukována postupně. V prvním půlroce je dávka dosavadně užívaného TKI redukována na polovinu standardní dávky, s následným intermitentním podáváním téže dávky v půlroce dalším. Následně

je podávání TKI ukončeno (HALF, ClinicalTrials.gov NCT04147533, obr. 1).

**Cíle:** Zhodnotit účinnost a bezpečnost postupného vysazení TKI u pacientů s CML v dlouhodobé DMR.

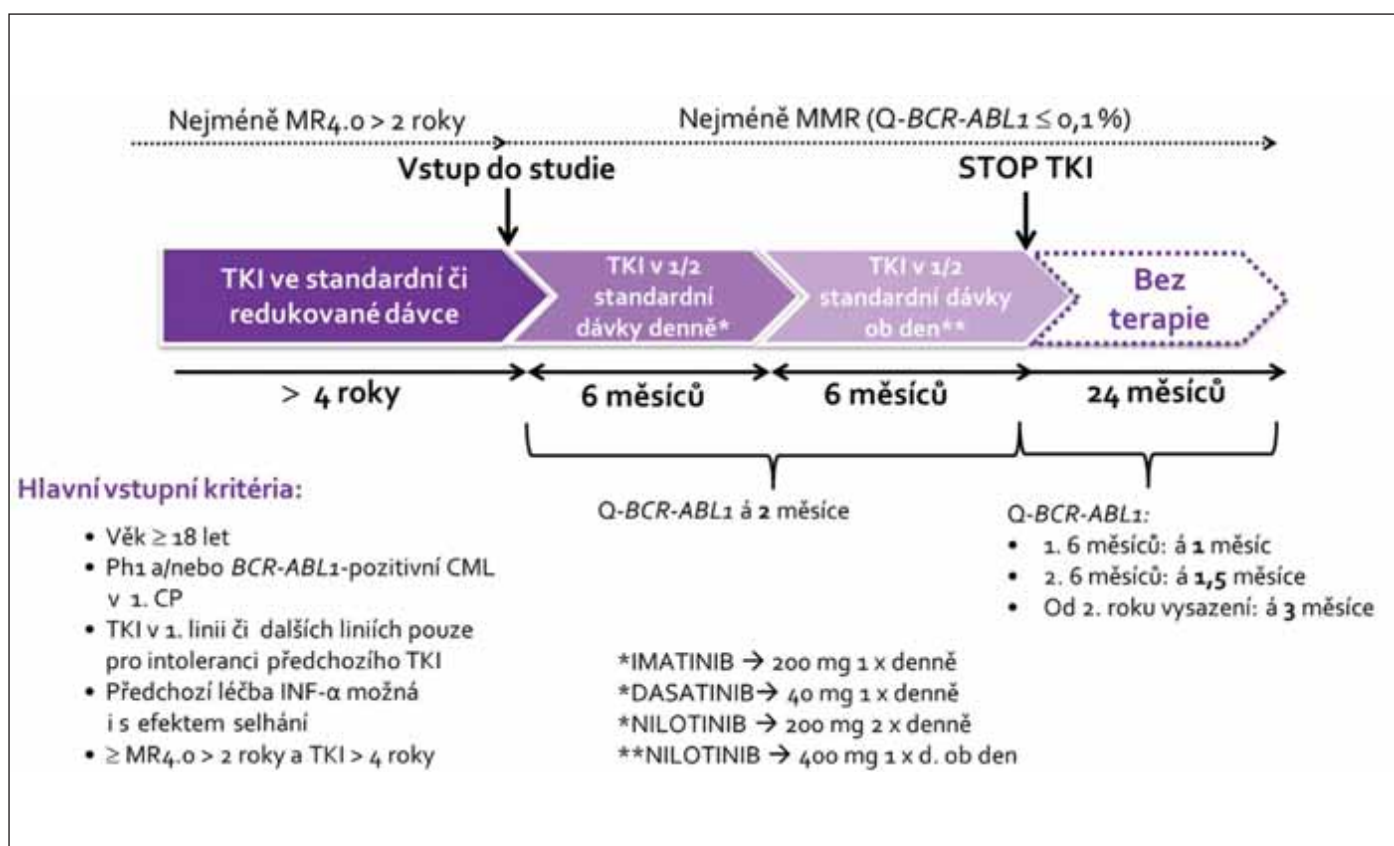
**Metody:** Provedena deskriptivní analýza dat 153 pacientů zařazených do studie v období 1.6.2020 až 31.12.2021 v šesti z osmi participujících center: FN Brno, FNOL, FNHK, ÚHKT Praha, FNO a FN Plzeň.

**Výsledky:** Do studie bylo doposud zařazeno 153 pacientů (80 mužů a 73 žen) s mediánem věku v době diagnózy 51 let (rozmezí 18–74). Medián intervalu od diagnózy CML po vstup do studie byl 9 let (rozmezí 4,4–22,5) a medián věku při vstupu do studie byl 62,2 let (rozmezí 24–86). V době diagnózy bylo 91 (59,5 %) pacientů v kategorii nízkého, 31 (20,3 %) středního a 22 (14,4 %) vysokého rizika dle ELTS skóre. Celkem 115 (75,2 %) pacientů dosáhlo poklesu BCR/ABL1 transkriptů  $\leq 10\%$  v IS po 3 měsících terapie TKI. Při vstupu do studie bylo 118 (78,7 %) pacientů léčeno imatinibem, 21 (14,0 %) nilotinibem a 11 (7,3 %) dasatinibem, přičemž u 60 (39,2 %) pacientů byla dávka již při vstupu do studie redukována. K 31.12.2021 bylo celkově screenováno 166 pacientů, z čehož zmiňovaných 153 (92,2 %)

do studie vstoupilo a byla u nich provedena první fáze de-eskalace. Do druhé fáze postoupilo 99 (59,6 %) pacientů a do vysazovací fáze studie 49 (29,5 %) pacientů, bez signifikantních projevů syndromu z vysazení. Konfirmovaná molekulární rekurence, tj. ztráta MMR ve dvou konsektivních odběrech ve stanoveném minimálním intervalu, byla doposud dokumentovaná u 18 (10,8 %) pacientů. U těchto pacientů byla terapie TKI navržena v původně užívané dávce.

**Závěr:** Postupná redukce dávky TKI se dosud jeví být účinným a bezpečným postupem k dosažení remise bez léčby (*treatment-free remission* – TFR). Zájem o bezpečné dosažení TFR reflektuje zařazení již 153 pacientů v šesti hematologických centrech napříč ČR v době analýzy, přičemž nábor dále pokračuje. Frekventní kontroly molekulární odpovědi po vysazení TKI umožňují promptní navrácení léčby, je-li k tomu indikace.

Podpořeno prostřednictvím MŠMT projektem VI CZECRIN (LM2018128), z Evropského fondu pro regionální rozvoj – projekt CZECRIN\_4 PATIENTS (CZ.02.1.01/0.0/0.0/16\_013/0001826) a z programového projektu Ministerstva zdravotnictví ČR s reg. č. NU22-03-00136.



## PŘIDATNÉ CYTOGENETICKÉ ABNORMALITY PROKÁZANÉ PŘI DIAGNÓZE CHRONICKÉ MYELOIDNÍ LEUKÉMIE A JEJICH VLIV NA PROGNÓZU – ANALÝZA Z DATABÁZE INFINITY

Čičátková P.<sup>1</sup>, Jarošová M.<sup>1</sup>, Mazalová M.<sup>2</sup>, Klamová H.<sup>3</sup>,  
Bělohávková P.<sup>4</sup>, Stejskal L.<sup>5</sup>, Faber E.<sup>6</sup>, Horňák T.<sup>1</sup>, Kvetková A.<sup>1</sup>,  
Semerád L.<sup>1</sup>, Procházková J.<sup>1</sup>, Ransdorfová Š.<sup>3</sup>, Cmunt E.<sup>7</sup>, Černá O.<sup>8</sup>,  
Mayer J.<sup>1,9</sup>, Žáčková D.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Interní hematologická a onkologická klinika LF MU a FN Brno

<sup>2</sup> Institut biostatistiky a analýz, LF MU Brno

<sup>3</sup> Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

<sup>4</sup> IV. interní hematologická klinika LF UK a FN Hradec Králové

<sup>5</sup> Klinika hematoonkologie LF OU a FN Ostrava

<sup>6</sup> Hemato-onkologická klinika LF UP a FN Olomouc

<sup>7</sup> I. interní klinika – hematologie LF UK a VFN v Praze

<sup>8</sup> Hematologická klinika LF UK a FN Královské Vinohrady, Praha

<sup>9</sup> Středoevropský technologický institut, MU Brno

**Cíl:** Analyzovat vliv přídavných cytogenetických abnormalit (*additional cytogenetic abnormalities* – ACAs) přítomných při diagnóze chronické myeloidní leukémie (CML) na prognózu pacientů léčených terapií inhibitorů tyrozinkináz (TKI) v klinické praxi.

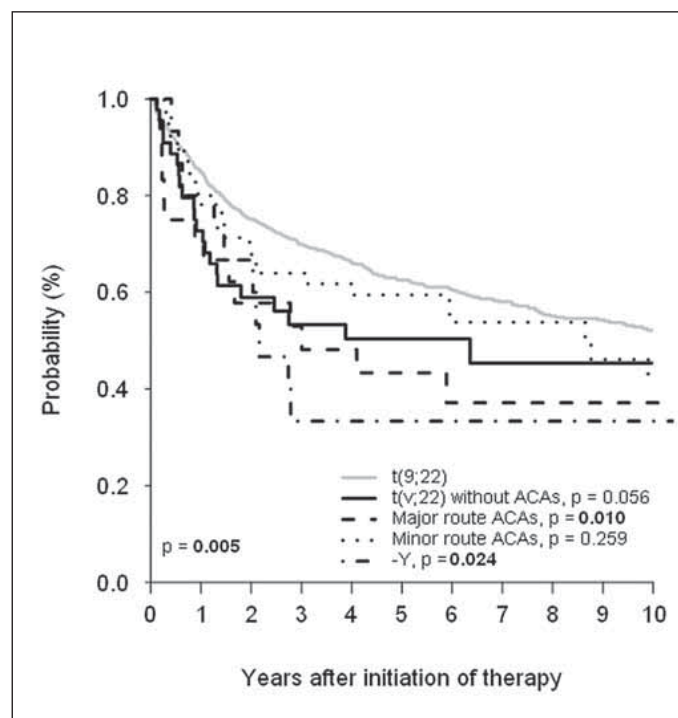
**Metody:** Byla provedena retrospektivní analýza dat z klinické praxe získaných cestou databáze INFINITY. K porovnávání mezi jednotlivými skupinami byly využity Mantelův-Haenszelův log-rank test – celkové přežití (OS), přežití bez progresu (PFS), přežití bez alternativní léčby (ATFS) nebo Grayův test – dosažení kompletní cytogenetické odpovědi (*complete cytogenetic response* – CCyR) a velké molekulární odpovědi (*major molecular response* – MMR), specifické přežití (hodnotící pouze úmrtí v důsledku CML) s hladinou významnosti 0,05.

**Výsledky:** V ČR byla v letech 2005–2019 diagnostikována CML v chronické fázi u 1 319 pacientů. Z nich 1 087 bylo v 1. linii léčeno imatinibem ( $m = 937$ ) nebo nilotinibem ( $n = 150$ ) a mělo validní záznamy. Izolovaná  $t(9;22)$  byla přítomna u 939 (86 %), variantní translokace u 44 (4,4 %), ACAs typu *major route* (+Ph, +8, i17q a +19) u 24 (2,2 %), ACAs typu *minor route* (všechny ostatní ACAs s výjimkou -Y) u 65 (6,0 %) a -Y u 15 pacientů (1,4 %). Pětileté OS bylo v uvedených kategoriích 89,4 %, 76,0 %, 68,6 %, 92,3 %, resp. 76,6 % ( $p < 0,001$ ), specifické přežití pak 98 %, 88,3 %, 87,5 %, 95,6 %, resp. 100 % ( $p < 0,001$ ). Dále jsme analyzovali unikátní parametry – ATFS (obr. 1) a také CLFS (*current leukemia-free survival*) objektivněji odrážející klinickou rutinní praxi. Na OS, specifické přežití a PFS měly statisticky významný vliv variantní translokace a *major route* ACAs. V případě PFS byly navíc signifikantně horší výsledky u pacientů s -Y ( $p = 0,023$ ). Při analýze ATFS jsme prokázali vliv v neprospěch kategorií *major route* ACAs a také -Y. Na druhou stranu žádná ze sledovaných kategorií neměla signifikantní vliv na dosažení CCyR ani MMR.

**Závěr:** Potvrdili jsme významný vliv *major route* ACAs při diagnóze na prognózu pacientů. Naproti tomu výsledky ukazující na význam variantní translokace jsou v souladu s literaturou rozporuplné a k jednoznačným závěrům bude zapotřebí dalších analýz. Přestože

je v současné době cytogenetické vyšetření částečně nahrazováno vyšetřením molekulárně biologickým, zejména při diagnóze je stále nezastupitelné. Jeho provedení bychom měli zvažovat i u pacientů s přídavnými cytogenetickými změnami přítomnými při diagnóze a neoptimální léčebnou odpovědí. U pacientů s *major route* ACAs při diagnóze je také ke zvážení intenzifikace léčby v první linii.

Práce byla podpořena grantem číslo MUNI/A/1330/2021 a MZ ČR – RVO (FNBr, 65269705).



## IMATINIB-REZISTENTNÍ KLONY MODELU BLASTICKÉHO ZVRATU CHRONICKÉ MYELOIDNÍ LEUKÉMIE NESOUCÍ RŮZNÉ SPEKTRUM MUTACÍ V BCR/ABL1 A JINÝCH GENECH ASOCIOVANÝCH S MALIGNITAMI SE LIŠÍ SVOU CITLIVOSTNÍ K BH3-MIMETIKŮM

Láznička A.<sup>1,2</sup>, Čuřík N.<sup>1,3</sup>, Polívková V.<sup>1</sup>, Kobliňová J.<sup>1</sup>, Burda P.<sup>1,3</sup>,  
Dolníková A.<sup>3</sup>, Pokorná E.<sup>3</sup>, Šálek C.<sup>1</sup>, Klamová H.<sup>1</sup>, Srbová D.<sup>1</sup>,  
Klener P.<sup>3,4</sup>, Machová Poláková K.<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup> Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

<sup>2</sup> LF UK, Praha

<sup>3</sup> Ústav patologické fyziologie, 1. LF UK, Praha

<sup>4</sup> 1. interní klinika – klinika hematologie 1. LF UK a VFN v Praze

**Úvod:** Blastický zvrát chronické myeloidní leukémie (BC-CML) zůstává i v éře tyrozin-kinázových inhibitorů (TKI) terapeuticky těžce ovlivnitelný. Dysregulovaná apoptóza společně s přídavnými mutacemi vede k přežívání maligních buněk. BH3-mimetika,

inhibitory antiapoptotických proteinů, nachází aktuálně uplatnění v léčbě hematologických malignit. Práce předpokládá terapeutický potenciál kombinované léčby TKI a BH3-mimetiky na buňky BC-CML na základě zjištěných molekulárních změn.

**Cíle:** Cílem práce je testovat sensitivitu odvozených imatinib-rezistentních (IR) klonů linie KCL-22, modelu BC-CML, k BH3-mimetikům a analýzou BCL-2 proteinů popsat mechanismus účinnosti/rezistence s ověřením výsledků *in vivo* a na primárních buňkách pacientů s BC-CML.

**Metody:** IR-klony KCL-22 (n = 10) byly charakterizovány NGS a 72 hod kultivovány s imatinibem (IM) a BH3-mimetiky (inhibitor BCL-2 venetoclax, MCL-1 S63845 a BCL-XL A-1155463). Proteinová analýza probíhala po 48hod kultivaci v IM s/bez 3μM BH3-mimetiky. NOD-SCID-gamma myším (n = 16) bylo podkožně aplikováno 1 × 10<sup>6</sup> buněk klonu BCR/ABL1-T315I. Myši byly rozděleny do čtyř skupin dle terapie. Blasty pacientů (n = 4) byly kultivovány s IM a BH3-mimetiky 7 dní s následným stanovením LC50.

**Výsledky:** IR-klony KCL-22 se liší senzitivitou k BH3-mimetikům (tab. 1). Většina klonů (8/10) byla citlivá k anti-MCL-1, vč. čtyř klonů s BCR/ABL1-T315I. Snížená citlivost byla pozorována u klonů s mutacemi BCR/ABL1-T315I a GATA2-P27Q, a BCR/ABL1-Y253H a BCOR-R1454Q. Dva klony s BCR/ABL1-T315I byly citlivé k venetoclaxu, dva s mutacemi v jiných onkogenech vykazovaly sníženou citlivost či rezistenci. Pouze dva klony byly citlivé k anti-BCL-XL, nicméně re-

zistentní k venetoclaxu. Proteinová analýza linie KCL-22IR z čtyř vybraných klonů ukázala vysokou (a po vystavení BH3-mimetikům neměnnou) expresi BCL-2 a BCL-XL. S výjimkou klonu BCR/ABL1-T315I nebyl detekován MCL-1, po ovlivnění BH3-mimetiky však došlo k výraznému zvýšení exprese. U klonu BCR/ABL1-T315I senzitivního k anti-MCL-1 nebyl nárůst MCL-1 pozorován, navíc byla detekována aktivní forma apoptotického efektoru BAX. Koimunoprecipitace mateřské linie po vystavení anti-MCL-1 prokázala rozvolnění antiapoptotického komplexu MCL-1/BIM, uvolněný BIM pak působí jako aktivátor apoptózy. *In vivo* došlo ke snížení růstu podkožního tumoru při léčbě IM, venetoclaxem, nebo kombinací. Přídavný efekt kombinované terapie oproti monoterapii nebyl pozorován, což může být vysvětleno inhibicí nemutovaného BCR/ABL1 (KCL-22 má dva Ph-chromozomy, z nichž pouze jeden nese mutaci). Analýza primárních buněk pacientů s BC-CML zjistila nejnižší LC50 pro anti-MCL-1. Blasty s mutacemi v dalších onkogenech nebo aberacemi karyotypu vykazovaly vyšší LC50 pro venetoclax nebo anti-BCL-XL.

**Závěr:** Na základě pilotních dat se inhibitor MCL-1 jeví jako nejpotentnější z testovaných BH3-mimetik v cílení BC-CML. Kombinovaná terapie BH3-mimetiky a TKI by měla reflektovat přítomnost mutací BCR/ABL1 a dalších genů asociovaných s malignitami.

Podpořeno MZCR 00023736.

Tab. 1.

Klon KCL-22IR	BCR::ABL1 mutace	Další detekované mutace (NGS panel)	Venetoclax IC <sub>50</sub> (μm)	S63845 IC <sub>50</sub> (μm)	A-1155463 IC <sub>50</sub> (μm)
B8	T315I	-	0,21	0,45	> 100
YC2	T315I	-	1,13	1,91	> 100
LG4	T315I	CEBPA Q305X	2,63	1,12	> 100
XE4I	T315I	KRAS G12V + RUNX1 G74R + ATRX K1933Kfs	7,09	0,46	1,41
LE5	T315I	GATA2 P27Q	16,58	7,51	1,85
XF4III	Y253H	-	6,23	0,28	27,70
YB4	Y253H	-	2,61	0,46	23,00
B10	Y253H	BCOR R1454Q	4,00	9,79	> 100
F4	E255K	-	1,62	1,24	> 100
E4	-	KRAS G12V + RUNX1 G74R + ATRX K1933Kfs	2,53	0,55	> 100