# 7. MYELOIDNÍ NEOPLÁZIE A VZÁCNÁ ONEMOCNĚNÍ

## REZISTENCE MYELOIDNÍCH MALIGNIT NA LÉČBU A STRATEGIE K JEJÍMU PŘEKONÁNÍ

Stopka T.

*I. interní kliniky 1. LF UK a VFN & Biocev Praha*

Hematologické malignity se dělí na klinické, morfologické či genetické jednotky. V České republice přibývá ročně asi 6 tisíc nových pacientů a tento počet se zvyšuje s věkem. Myeloidní vs. lymfoidní malignity jsou přibližně v poměru 1 : 3, obecně méně u žen než u mužů. Myeloidních malignity zahrnují též Myelodysplastický syndrom (MDS), jehož molekulární patogeneze představuje vícestupňový proces. MDS je dobře známý díky postupné klonální selekci, která je hlavní hnací silou progrese MDS vyznačující se vývojem *driver* mutací kmenových buněk. Mechanizmus v kmenových buňkách a myeloidních progenitorech stimuluje přežívání a proliferaci buněk spojenou s replikační senescencí a zkracováním telomer, což v další fázi při ztrátě DNA, opravě DNA náchylné k chybám, ztrátě genomové stability a proliferační expanzi vede nakonec k vysoce charakteristické konverzi MDS na akutní myeloidní leukémii (AML).

Naše klinická skupina již delší dobu studuje účinnost léčby azacitidinem (AZA) u MDS. AZA se inkorporuje místo cytidinu do DNA, kde působí jako přímý a ireverzibilní inhibitor DNA metyltransferázy, což vede k hypometylaci DNA transkripčně umlčených genů a současně k bloku proliferace nádorových buněk. Studie AZA-001 zahrnující 358 pacientů s MDS vyššího rizika dosáhla mediánu 24 měsíců OS pro AZA a léčebné odpovědi téměř ¾ vč. zlepšení hematologie. Zatímco odpovědi typu CR+HI představovala lepší výsledek s 24měsíčním Mediánem přežívání (OS), všichni pacienti nakonec selhali při léčbě AZA a zemřeli. Selhání hypometylační terapie představovalo donedávna slepou uličku šancí pacientů s MDS na delší přežití (~ 4–6 medián OS). V recentní minulosti bylo učiněno mnoho pokusů o zapojení nových léčebných postupů vč. inhibitoru BCL2 VENETOCLAX nebo inhibitoru Neddylace PEVONEDISTAT do terapie s AZA. Z širšího pohledu má oblast MDS (v případě 5q MDS) již zkušenosti s proteazom-interferující terapií LENALIDOMIDEM, který molekulárně funguje tím způsobem, že generuje neomorfní cíle proteazomu, které jsou shodou okolností kódovány na 5q chromozomu.

Naším vědeckým cílem je dešifrovat události a mechanizmy klonální evoluce během navození terapeutické tolerance a progrese hematologických malignit a doplnit terapeutické přístupy nebo nahradit původní látku látkou, která cílí na klíčový mechanizmus terapeutické rezistence. V neposlední řadě je naším cílem také vyvinout nové terapeutické přístupy pro pacienty s progresí na léčbě a navrhnout klinickou studii k zavedení takového přístupu do klinické medicíny. V přednášce představíme náš nejnovější vývoj v oblasti buněčných a myších PDX modelů MDS/AML pro studium terapeutické rezistence. Popíšu také náš konceptuální výzkum s využitím OMICS technologií k identifikaci genetických a epigenetických důsledků terapeutické rezistence jednak vůči AZA a dále i k PEVONEDISTATU. Nakonec také popíšeme využití proteomických přístupů a zejména redoxní proteomiky ke studiu toho, jak terapeutická rezistence vede k dysbalancím v homeostáze redoxního systému.

Mezi experimentálně dříve definované přístupy k léčbě MDS a AML patří tzv. diferenciační terapie. Poskytneme další experimentální důkazy o tom, že pokud chceme takový přístup považovat za úspěšný, musí zahrnovat zástavu buněčného cyklu a fenotypové výsledky související s apotózou, a nikoliv pouze transkripční odpověď.

Přednášku zakončím recentní interim analýzou naší akademické randomizované klinické studie EudraCT#: 2013-001639-38 zkoumající podání G-CSF před léčbou standardního AZA u MDS s vyšším rizikem a MDS/AML s počtem blastů do 30 %. Do GA studie vstoupilo celkem 76 pacientů od 6. 2. 2017 do 31. 12. 2021. Nemocní byli randomizováni do ramene A (monoterapie azacitidinem) a ramene GA (kombinace s G-CSF). Zařazeni byli jen nemocní, kteří nebyli kandidáti transplantace. Primárními cíli studie byly celkový počet terapeutických odpovědí a přežívání.

## PRVNÍ ZKUŠENOSTI JEDNOHO CENTRA S TERAPIÍ REBLOZYLEM U NEMOCNÝCH S MYELODYSPLASTICKÝM SYNDROMEM (MDS) S NÍZKÝM RIZIKEM S TRANSFUZNÍ DEPENDENCÍ, REFRAKTERNÍCH NA TERAPII ERYTROPOETINY

Jonášová A., Stopka T., Minařík L.

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

**Úvod:** V terapii nízce rizikových nemocných s myelodysplastickým syndromem (MDS) je dominujícím problémem anémie, asi 90 % nemocných je anémických a 60 % vyžaduje transfuze. Léta používáme u terapie anémie erytropoetiny (EPO). Bohužel u transfuzně dependentních nemocných odpovídá pouze 10–20 %. Recentním průlomem v terapii anémie jsou léky účastnící se blokády dráhy TGFβ. Do této skupiny patří luspatercept. Luspatercept (Reblozyl, Celgene-BMS) je modifikovaný IIB receptor aktivinu, který inhibuje dráhu SMAD2/3 blokádou GDF11 (*growth differentiation factor*) a vede k potenciaci diferenciace a proliferace červené řady. Luspatercept byl povolen v loňském roce EMEA v terapii anémických nízce rizikových nemocných s věnečkovitými siderosblasty (MDS-RS-MLD, MDS-RS-SLD) s transfuzní závislostí, neodpovídajících nebo nevhodných k EPO. Ve studiích vedl k transfuzní nezávislosti mezi 40–50 %.

**Metody:** Od ledna 2021 do března 2022 bylo na I. Interní klinice VFN v Praze léčeno Reblozylem 21 nemocných. Medián věku nemocných byl 77 (57–89) s poměrem muži/ženy (11/10). Diagnózy podle WHO 2016: 18 MDS-RS-MLD a tři RARS-T. Reblozyl byl podáván

prolékaře.cz | 20.10.2026

v subkutánních injekcích 1× za 3 týdny s iniciální dávkou 1 mg/kg váhy. Zvyšování dávky proběhlo podle schématu vždy po dvou cyklech bez odpovědi na 1,33 a 1,75/kg. Medián podaných cyklů byl 7 (2–17). Transfuzní dependence se pohybovala před zahájením terapie od 4TU/4 týdny po 1TU/6 týdnů. Tři nemocní měl v době zahájení neutropenii Gr II, tři nemocní trombocytopenii Gr II. Vstupní hladina erytropoetinu byla v průměru 350 mU/ml (150–770). Nevyskytli se žádné nežádoucí účinky Gr II a více.

**Výsledky:** Dosud odpovědělo dosažením transfuzní nezávislosti 14 (73 %) nemocných, jeden nemocný má pouze snížení transfuzní závislosti, pět nemocných neodpovědělo, dva nejsou zatím hodnotitelní. Dobu trvání odpovědi, ale zatím nelze hodnotit pro krátké trvání sledování nemocných (2–13 měsíců). Medián počtu cyklů k dosažení odpovědi jsou čtyři cykly. U 10 nemocných bylo nutno k dosažení kýžené odpovědi zvyšovat dávku (šest na 1,75 a čtyři na 1,33/kg). U šesti nemocných jsme ještě přidávali k terapii Reblozylem EPO (oba působí na odlišné úrovni erytropoézy), čtyři z nich zlepšili svou odpověď. Lepšími respondenty obecně byli nemocni s nižší iniciální vstupní hladinou erytropoetinu. Byť mnozí nemocní dostávali Exjade u respondentů byl významný pokles hodnot ferritinu v průměru o 1 030 µg/l během terapie.

**Závěr:** Závěrem zle říci, že luspatercept (Reblozyl) je jistě dalším významným krokem v terapii anemie u MDS nemocných. Výhodou léku je velmi dobrá tolerance a snadná aplikace. Vyšší procento odpovědí v našem sledování může být ovlivněno kombinací s EPO a rychlým navyšováním dávky.

## REGISTR NEMOCNÝCH S PAROXYSMÁLNÍ NOČNÍ HEMOGLOBINURIÍ V ÚHKT A JEHO KLINICKÝ VÝZNAM

Čermák J., Válka J.

*Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha*

Ústav hematologie a krevní transfuze (ÚHKT) patří mezi centra specializované péče v rámci Evropské sítě pro vzácné choroby krvetvorby (EuroBloodNet). V rámci tohoto projektu jsou budovány registry nemocných. Registr nemocných s paroxysmální noční hemoglobinurií (PNH) v současné době čítá 47 nemocných, 44 z nich žije (93,6 %). Věkový průměr v době dg. činil 35,1 let, u osmi nemocných se PNH rozvinula z AA, resp. dětské refrakterní cytopenie (RCC), čtyři z nich byli léčeni v minulosti kombinovanou imunosupresí s ATG. U 19 nemocných byla přítomna těžká hemolýza +/– trombotické komplikace, u 10 nemocných středně těžká chronická hemolýza, u devíti nemocných pouze minimální hemolýza, pět nemocných mělo hypoplastickou formu PNH a u čtyř nemocných byl přítomen pouze minimální klon (< 1 % PNH III. RBC). V jednotlivých skupinách byl průměrný počet PNH III. RBC/PNH III. granulocytů 34,8/74,1; 18,5/60,7; 6,1/22,1; 2,4/46,3 a 0,8/3,7 %. Průměrné hodnoty Hb činily 94,1; 104,7; 112,0; 70,0; a 131,0 g/l, průměr hodnot LD byl 23,4; 17,4; 5,6; 6,4 a 5,0 µkat/l a hodnoty D dimérů 1147,7; 290,0; 186,7; 236,4 a 136,0 µmol/l. Průměr podaných transfuzí/měsíc činil 1,9; 0,2; 0,1; 3,4 a 0 TU. Trombotické komplikace se vyskytly u sedmi nemocných s těžkou formou hemolýzy, u dvou nemocných se středně těžkou a jednoho nemocného minimální hemolýzou. Antikoagulancia byla podávána léčebně či profylakticky u všech nemocných s těžkou hemolýzou u 6 z 10 nemocných se středně těžkou hemolýzou a jednoho nemocného s minimální hemolýzou. U 14 z 19 nemocných s těžkou hemolýzou byla zahájena léčba Solirisem, u sedmi z nich došlo k vymizení hemolýzy a kompletní úpravě KO, tři z nich byli převedeni na léčbu Ultomirisem, u sedmi nemocných byla přítomna redukce hemolýzy s poklesem počtu podaných transfuzí RBC/měsíc o více než 50 %. U žádného z nemocných léčených inhibitory komplementu nebyla během léčby pozorována rekurence trombózy, nicméně, u všech bylo přítomno přetrvávající zvýšení C3b složky komplementu svědčící o trvajícím určitém stupni extravaskulární hemolýzy. Čtyřem nemocných s chronickou hemolýzou byly podávány steroidy +/– CS-A a u dvou nemocných byla nutná dlouhodobá substituce Fe. Allogenní SCT byla provedena u tří nemocných, z toho u dvou s hypoplastickou formou choroby, všichni nemocní žijí. Naše výsledky potvrzují, že nemocní s opakovanou závažnou hemolýzou představují skupinu s největším rizikem a jsou plně indikováni k léčbě inhibitory komplementu, další rizikovou skupinou jsou nemocní s hypoplastickou formou choroby, kde je metodou volby allogenní SCT (dva nemocní, kteří zemřeli, měli hypoplastickou PNH). V současné době se ÚHKT participuje na studiích hodnotících přínos inhibitorů C3 složky komplementu.

## GATA2 DEFICIENCE – JEDNA MUTACE A MNOHO KLINICKÝCH OBRAZŮ

Bělohlávková P., Hrochová K., Fátorová I.

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

**Úvod:** Gen *GATA2* se nachází na chromozomu 3q21.2 a patří do rodiny nukleárního transkripčního faktoru. GATA2 deficience byla poprvé popsána v roce 2011 a až 80 % mutací vzniká *de novo*. Nemocní s GATA2 deficiencí trpí variabilními klinickými projevy, které jsou nejčastěji hematologického, infekčního, plicního nebo cévního charakteru. U pacientů je velmi vysoké riziko rozvoje myelodysplastického syndromu (MDS) či akutní leukémie (AML). Medián věku prvních klinických projevů je udáván kolem 18 let. Podle literatury byla dosud GATA2 deficience diagnostikována u více než 500 jedinců.

**Kazuistika:** Popisujeme případ 30leté nemocné, která byla na naše pracoviště v červnu 2021 odeslána pro podezření na MDS. Nemocná od 12 let má lymfedém pravé dolní končetiny a trpí opakovanými infekcemi (opakovaně erysipel). V červnu 2020 prodělala pneumonii, kde jako etiologické agens bylo prokázáno *Mycobacterium avium,* následně nemocná podstoupila 6měsíční antiinfekční léčbu (ciprofloxacin, etambutol, rifampicin). V březnu 2021 onemocněla COVID-19 pneumonií s nutností hospitalizace (nutnost oxygenoterapie, podání remdesiviru a kortikoidů). Vstupní parametry krevního obrazu byly následující: leukocyty 1,5 × $10^9$/l se 76 % neutrofilů, 4 % neutrofilních tyčí, 15 % lymfocytů, 6 % bazofilů a 0 % monocytů. Hodnota hemoglobinu

a trombocytů byla normální. Nátěry kostní dřeni byly hypocelulární s dysplastickými změnami červené a bílé řady a 1 % blastů (tedy obraz MDS s multilineární dysplázií). Cytogenetické vyšetření prokázalo normální karyotyp, ale NGS vyšetření prokázalo GATA2 deficienci variantu c.354 (Ser119GlufsTer66), která dosud v literatuře nebyla popsána. Dále u nemocné byly nalezeny mutace BCOR c.2607T>A, p.(Tyr869Ter) a ATM: c.1229T>C, p.(Val410Ala). Pacientka podstoupila plicní vyšetření vč. HRCT, kde byl zjištěn plicní emfyzém, centrální bronchiektazie a postižení plicního intersticia. Byla zahájena inhalační léčba (tiotropium/olodaterolum, ipratropium) se zlepšením námahové dušnosti. Nemocná je pravidelně dispenzarizována, v plánu jsou kontrolní vyšetření dřeně po 6 měsících. Nicméně vzhledem k vysokému riziku progrese do vyšších stádií MDS či AML do 40 let, nemocná bude jistě indikována k alogenní transplantaci krvetvornými buňkami.

**Závěr:** Ve sdělení shrneme pestrost laboratorního a klinického obrazu u deficience GATA2. Případ naší pacientky potvrzuje nutnost u dětí a mladých pacientů s obrazem selhávání kostní dřeně na tuto vzácnou, klinickou jednotku pomýšlet.

## K TLOUŠŤCE CHROMATINOVÝCH VLÁKEN BĚHEM DIFERENCIACE BUNĚK LYMFOCYTÁRNÍ, GRANULOCYTÁRNÍ A ČERVENÉ KREVNÍ ŘADY NEMOCNÝCH S CLL, CML A M2AML. MORFOLOGICKÁ A CYTOCHEMICKÁ POZNÁMKA

Smetana K.[1], Mikulenková D.[1], Klamová H.[1], Karban J.[2], Trněný M.[2]

[1] *Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha*

[2] *Klinika hematologie a onkologie 1. LF UK, Praha*

Strukturální organizace chromatinových vláken (fibril) a vlákének (filament) je předmětem velkého počtu publikací ve světovém písemnictví. Na druhé straně tloušťka vláken v chromozomech a buněčném jádře během buněčné diferenciace byla méně studována i když by mohla přinést komplementární informace jak pro základní, tak aplikované biomedicínské poznatky o těchto buněčných komponentách. Proto byla tloušťka chromatinových vláken v interfazických jádrech měřena v časných a terminálních stádiích jednotlivých buněk lymfocytární, granulocytární (neutrofilní) a červené krevní řady v nátěrech periferní krve a kostní dřeně nemocných s CLL, CML a M2AML kde tyto buňky jsou přítomny v dostatečných počtech. Chromatinová vlákna byla vizualizována cytochemickou metodou pro demonstraci DNA a panoptickým barvením May-Grünwald – Giemsa-Romanowsky (MG-GR), které do jisté míry také představuje cytochemickou metodu. Měření bylo prováděno upraveným světelným mikroskopem na počítačem zpracovaných digitalizovaných obrazech pomocí počítačových programů firmy Olympus a NIH. Podle výsledků měření tloušťka chromatinových vláken v centrální a periferní oblasti jádra buněk s proliferativním potenciálem (≈ 0,56 ± 0,4 µm) byla shodná a stabilní ve všech studovaných řadách. Pouze u myeloblastů M2AML s poruchou diferenciace byla větší (0,66 ± 0,01 µm) a prakticky shodná jako ve zralých buňkách neutrofilní řady ve stádiu terminální diferenciace (0,67 ± 0,01 µm). Tento fenomén pak lze přiřadit k asynchronní buněčné dysplasii jednotlivých abnormálních myeloblastů. V terminálních erytroblastech tloušťka některých chromatinových vláken byla také větší, avšak bez statistického významu pro vyšší variabilitu měřených výsledků. Za zmínku ještě stojí, že tloušťka chromatinových vláken byla o málo větší po barvení MG-GR metodou než po cytochemické vizualizaci DNA díky přítomností asociovaných proteinů s těmito vlákny. Je rovněž zajímavé, že tloušťka chromatinových vláken v interfazickém jádře myeloblastů se blížila tloušťce vlákna „spiremu" nebo mitotických chromatid.

*Studie byla umožněna částečným financováním z výzkumného fondu ÚHKT.*