

6. AKUTNÍ LEUKÉMIE

GEMTUZUMAB OZOGAMICIN V INTENZIVNÍ LÉČBĚ U NOVĚ DIAGNOSTIKOVANÉ CD33+ AKUTNÍ MYELOIDNÍ LEUKÉMIE – ZKUŠENOSTI ČESKÝCH HEMATOLOGICKÝCH CENTER

Weinbergerová B.¹, Čerňan M.², Šrámek J.³, Víšek B.⁴, Benková K.⁵, Válka J.⁶, Šálek C.⁶, Jindra P.³, Semerád L.¹, Kabut T.¹, Podstavková N.¹, Procházková J.¹, Szotkowski T.², Kořístek Z.⁵, Žák P.⁴, Mayer J.¹

¹ Interní hematologická a onkologická klinika LF MU a FN Brno

² Hemato-onkologická klinika LF UP a FN Olomouc

³ Hematologicko-onkologické oddělení, FN Plzeň

⁴ IV. Interní hematologická klinika LF UK a FN Hradec Králové

⁵ Klinika hematoonkologie LF OU a FN Ostrava

⁶ Ústav hematologie a krevní transfúze, Praha

Úvod: Konjugát protilátka-cytostatikum, gemtuzumab ozogamicin (GO), v kombinaci s intenzivní chemoterapií představuje možnost zlepšení výsledků léčby pacientů s nově diagnostikovanou CD33+ akutní myeloidní leukémií (AML) v nízkém/středním cytogenetickém riziku.

Cíle: Zhodnocení reálných klinických dat týkajících se efektu a tolerance GO v intenzivní terapii u AML.

Metody: Provedli jsme retrospektivní analýzu dat z registru DATOOL-AML hodnotících epidemiologii, léčbu a prognózu pacientů s novou CD33+ AML, u kterých byl na šesti hematoonkologických centrech použit GO v intenzivní léčbě během 06/2020–10/2021. Osm případů léčených GO + midostaurin + intenzivní chemoterapie bylo hodnoceno v separátní analýze.

Výsledky: Analyzováno bylo 34 případů (47 % mužů) s mediánem věku v době diagnózy 46 let (20–68). Medián sledování od diagnózy byl 44 týdnů. Většina pacientů měla *de novo* AML (94 %) a 2× AML „therapy-related“ (6 %). Sedm případů bylo AML NOS (21 %) a 27× AML s rekurentní genetickou abnormalitou (79 %) (12 *NPM1* – 35 %; sedm *CBFB-MYH11* – 21 %; čtyři *RUNX1-RUNX1T1* – 12 %; dva *CEBPA* – 6 %; dva *MLLT3-KMT2A* – 6 %). ELN riziko bylo: 23× příznivé (68 %), 6× střední (27 %), 2× nehodnotitelné (5 %). Cytogenetické riziko bylo příznivé 10 (29 %) a střední 24 (71 %). Medián doby od diagnózy do zahájení intenzivní léčby [3 (daunorubicin 60 mg/m²)+7+GO] byl 7 dní. Celkem 29 (85 %) pacientů dosáhlo CR, z nich 6 MRD (18 %), 1 PR (3 %), 3 RD (9 %) a 1 neznámo (3 %). Devět pacientů (27 %) bylo alogenně transplantováno. Medián délky neutropenie ≤ 1,0 × 10⁹/l trombocytopenie ≤ 50 × 10⁹/l byl po indukci respektive 1. konzolidaci s GO: 28/28, resp. 18/22 dní. Závažnější toxicita po indukci byla: 3× VOD, 3× GI krvácení, 2× hyperbilirubinémie gr. ≥ 3, 2× elevace ALT/AST gr. ≥ 3. U třetiny pacientů s CR po indukci (10/29; 35 %) nebyl v 1. konzolidaci podáván GO, v 5/29 případech 17 % pro toxicitu. Ve 2. konzolidaci nebyl GO podáván u sedmi pacientů (24 %), u pěti pro toxicitu (17 %). Na posledním „follow up“ žije 30 (88 %) pacientů –

29 v CR (85 %) z nich 21 (62 %) v CRmol. Čtyři pacienti zemřeli (12 %) – většinou pro progresi AML (3; 9 %).

Závěr: Analýza prokázala efektivitu a tolerabilitu intenzivní léčby s použitím GO u pacientů s AML ve smyslu vysoké četnosti dosažení CR a celkového přežívání. Byli pozorovány obvyklé nežádoucí účinky vedoucí u třetiny pacientů k předčasnému ukončení léčby GO, v žádném případě v přímé souvislosti s úmrtím pacienta.

Práce byla podpořena Českou leukemickou skupinou pro život (CELL) a grantem MZ ČR – RVO (FNBr 65269705).

PŘESTAVBY LOKUSŮ PRO T-BUNĚČNÉ RECEPTORY U DĚTÍ S T-BUNĚČNOU AKUTNÍ LYMFBLASTICKOU LEUKÉMIÍ

Lizcová L.¹, Příhodová E.¹, Pavlišťová L.¹, Svobodová K.¹, Hodaňová L.¹, Mejstříková E.^{1,2}, Hrušák O.², Luknářová P.², Janotová I.^{2,3}, Šrámková L.³, Starý J.³, Zemanová Z.¹

¹ Centrum nádorové cytogenomiky, ÚLB LD, 1. LF UK a VFN v Praze

² CLIP-Childhood Leukaemia Investigation Prague, Klinika dětské hematologie a onkologie 2. LF UK a FN Motol, Praha

³ Klinika dětské hematologie a onkologie 2. LF UK a FN Motol, Praha

Úvod: Leukémie z T-lymfocytů představuje 10–15 % nově diagnostikovaných dětských akutních lymfoblastických leukémií (ALL) a jedná se o heterogenní onemocnění způsobené akumulací genetických aberací v genech, které zodpovídají za normální vývoj T-buněk. Nejčastější strukturální aberace zahrnují přestavby lokusů pro T-buněčné receptory (*TCR*) – *TRA/TRD* (14q11) a *TRB* (7q34), které nacházíme u 20–25 % pacientů. Tyto změny jsou pravděpodobně primární událostí v leukemogenezi T-buněčné akutní lymfoblastické leukémie (T-ALL) a dochází při nich k přemístění protoonkogenů kódujících klíčové transkripční faktory pod vliv regulačních oblastí *TCR*, což vede k jejich aberantní expresi.

Cíle: Analyzovat přestavby *TCR* a asociované cytogenomické aberace u dětí léčených podle BFM protokolů a korelovat nálezy s klinickými údaji.

Metody: Vyšetřili jsme vzorky kostní dřeně 66 dětí s T-ALL diagnostikovaných v letech 1996–2017 pomocí cytogenomických metod. Jednalo se o 46 chlapců a 20 dívek (medián věku 7,9 let, medián sledování 86,4 měsíců). Přestavby *TCR* lokusů a další rekurentní aberace (tj. genů *TLX3*, *CDKN2A/2B* a *ABL1*) jsme detekovali pomocí I-FISH (Abbott Molecular, Dako, Cytocell). K detekci delecí/amplifikací dalších genů jsme využili metodu MLPA (MRC-Holland). Komplexní karyotypy jsme analyzovali metodami mFISH/mBAND (MetaSystems) a/nebo aCGH/SNP (Agilent Technologies).

Výsledky: Přestavby *TCR* jsme detekovali u 18/66 pacientů (27 %). Aberace *TRA/TRD* jsme prokázali v devíti případech, aberace *TRB*

v pěti a vzácný nález zahrnující přestavby obou lokusů v jednom patologickém klonu jsme našli u dvou pacientů. Rekurentní translokace *TRA/TRD* lokusu t(8;14)(q24;q11), t(11;14)(p13;q11), t(1;14)(p32;q11) nebo t(10;14)(q24;q11) zahrnující geny *MYC*, *LMO2*, *TAL1* a *TLX1* jsme detekovali u pěti nemocných. U tří pacientů s aberací *TRB* jsme identifikovali přestavby vedoucí k aberantní expresi genů *TAL1*, *LMO2* a *TAL2* [tj. ins(1;7)(p32;q34q34), t(7;11)(q34;p13) a t(7;9)(q34;q32)]. U ostatních nemocných byly přestavby kryptické nebo součástí komplexního karyotypu. Kromě jedné pacientky jsme společně s přestavbami *TCR* detekovali další chromosomové aberace, nejčastěji delecí genu *CDKN2A/2B*. Aberace *TCR* lokusů byly asociovány se signifikantně lepším EFS ($p = 0,011$) i OS ($p = 0,0074$), všichni pacienti žijí v 1. CR.

Závěr: Prokázali jsme, že aberace genů pro T-buněčné receptory tvoří velmi heterogenní skupinu přestaveb, které vedou k aberantní expresi řady onkogenů podílejících se na zrání a proliferaci T-lymfocytů. Zároveň jsme prokázali, že se obvykle vyskytují v kombinaci s dalšími abnormalitami genů podílejících se na regulaci buněčného cyklu a/nebo signálních drah a potvrdili jsme tak teorii vícestupňového procesu patogeneze T-ALL. Z klinického hlediska jsme prokázali, že přes velkou heterogenitu se jedná o prognosticky příznivou skupinu onemocnění.

Podpořeno MZ ČR-RVO-VFN64165.

KOMBINOVANÁ LÉČBA GEMTUZUMAB OZOGAMICINEM S MIDOSTAURINEM V INTENZIVNÍ LÉČBĚ U NOVĚ DIAGNOSTIKOVANÉ CD33+/ FLT3+ AML – ZKUŠENOSTI ČESKÝCH HEMATOLOGICKÝCH CENTER

Weinbergerová B.¹, Čerňan M.², Szotkowski T.², Semerád L.¹, Kabut T.¹, Navrátilová J.², Podstavková N.¹, Procházková J.¹, Ježíšková I.¹, Klemešová I.¹, Folta A.¹, Mayer J.¹

¹Interní hematologická a onkologická klinika LF MU a FN Brno

²Hemato-onkologická klinika LF UP a FN Olomouc

Úvod: Midostaurin (MIDO) v kombinaci s intenzivní chemoterapií představuje standardní postup léčby u mladších pacientů s nově diagnostikovanou *FLT3+* akutní myeloidní leukémií (AML) a podobně gemtuzumab ozogamicin (GO) pro definovanou skupinu pacientů s *CD33+* AML.

Cíle: Naším cílem bylo zhodnocení klinických dat týkajících se současného použití GO a MIDO s intenzivní terapií u nově diagnostikované AML.

Metody: Provedli jsme retrospektivní analýzu dat z registru DATOOL-AML týkajících se epidemiologie, léčby a prognózy pacientů s novou *FLT3+/CD33+* AML, u kterých byla na dvou českých hematoonkologických centrech použita kombinace GO+MIDO+intenzivní chemoterapie během 07/2020–10/2021.

Výsledky: Celkem bylo analyzováno osm případů (62,5 % mužů) s mediánem věku 45 let (27–61). Medián sledování od diagnózy byl 43 týdnů. Většina pacientů měla *de novo* AML (87,5 %), jeden AML „therapy-related“ (12,5 %). Šest (75 %) případů mělo AML s rekurentní genetickou abnormalitou (*NPM1* 62,5 %, *RUNX1-RUNX1T1* 12,5 %), *AML NOS* 12,5%. *FLT3-ITD+* byla u pěti pacientů (62,5 %), *FLT3-TKD+* u dvou případů (25 %), jeden případ (12,5 %) měl současně *FLT3-ITD+/FLT3-TKD+*. Většina měla normální cytogenetický nález 87,5 %. Medián vstupního počtu leukocytů byl $61 \times 10^9/l$. Nízké ELN riziko mělo pět případů (62,5 %) a vysoké tři případy (37,5 %). Medián počtu dní od diagnózy do zahájení intenzivní léčby byl 8 dní. Všichni pacienti zahájili indukci 3 (daunorubicin 60 mg/m²)+7+GO+MIDO, z toho sedm (87,5 %) dosáhlo CR, z nich: jeden MRD (*NPM1*) – 12,5 %, jeden MRD (*FLT3-TKD/FLT3-ITD*) – 12,5 %, u čtyř pacientů klesla nálož *NPM1* v kostní dřeni na medián 181 kopií (22–23 417). Jeden pacient měl RD (12,5 %) a záchranný FLAG zajistil CHR s následnou aloHSCT. Celkem šest pacientů (75 %) pokračovalo 1–2 konzolidacemi vč. GO+MIDO a tři z nich byli následně alogenně transplantováni (37,5 %). U jednoho (12,5 %) pacienta nebyl v konzolidaci GO podáván pro komplikace po indukci. Na posledním „follow up“ žije sedm (87,5 %) pacientů, jeden pacient s AML „therapy-related“ zemřel v aplázii po aloHSCT. Všech sedm žijících pacientů je v CHR.

Závěr: Analýza prokázala efektivitu a tolerabilitu kombinované intenzivní léčby s GO+MIDO u *de novo* AML ve smyslu vysoké četnosti dosažení CR s hlubokým poklesem MRDmol a celkového přežívání. Nutno však zohlednit menší vzorek analyzovaných pacientů.

Práce byla podpořena Českou leukemickou skupinou pro život (CELL) a grantem MZ ČR – RVO (FNBr 65269705).

NOVÉ TYPY CAR-T LYMFOMŮ PRO LÉČBU AKUTNÍ MYELOIDNÍ LEUKÉMII

Mucha M., Šmilauerová K., Petráčková M., Štach M., Rychlá J., Kaštánková I., Šroller V., Lesný P., Otáhal P.

Ústav hematologie a krevní transfúze, Praha

Léčba akutní myeloidní leukémie (AML) pomocí CAR-T lymfocytů je velmi experimentální léčebný postup. V porovnání s B-buněčnými malignitami není k dispozici žádný molekulární target, který by byl podobně účinný jako je antigen CD19. V současnosti testované targety pro léčbu pomocí CAR-T jsou antigeny CD33, CLL-1 a CD1123, které jsou však exprimovány i na zdravých hematopoetických buňkách a jejich použití je spojené s podobnými nežádoucími účinky – eliminace zdravé hematopoiezy v důsledku off-target toxicity. Současně se ale jedná o účinné cíle pro nádorovou imunoterapii a v řadě klinických studií byla popsána jejich efektivita v eliminaci buněk AML. Řešení tohoto problému spočívá v cílené eliminaci CAR-T po navození remise onemocnění pomocí tzv. bezpečnostní pojistky

(safety switch). Toho lze dosáhnout např. pomocí koexprese antigenů CD20 nebo EGFR současně s CAR konstruktem. Aplikované CAR-T lymfocyty lze tedy cíleně eliminovat terapeutickými protilátkami rituximab (anti-CD20) nebo cetuximab (anti-EGFR) a zabránit tak vzniku dlouhodobé cytopenie. V ÚHKT byl zahájen vývoj nového typu CAR-T lymfocytů specifických na antigen CD123 a exprimujících EGFR safety switch. Pro přípravu CD123 CAR-T buněk se využívá nevirální metoda transfekce pomocí transpozonu piggyBac. Vektory pro přípravu CD123 CAR-T jsou založené na synteticky vyrobeném DNA transpozonu obsahujícím CD123 CAR a na *in vitro* transkribované mRNA kódující piggyBac transpozázou, která umožní integraci CD123 CAR transpozonu do genomu buňky. Obě komponenty (DNA transpozón a mRNA transpozázá) se elektroporují do leukocytů získaných z periferní krve a následně se buňky expandují *in vitro* v bioreaktoru. Takto připravené buňky účinně rozpoznají AML targety *in vitro* a jsou schopné kontinuální cytotoxicity po dobu několika dnů během *in vitro* kokultivace s AML targety. Vyvinutý postup výroby je založen na synteticky připravených DNA/RNA vektorech, což je významný benefit pro plánovanou GMP certifikaci tohoto experimentálního léčivého přípravku. Zahájení klinického testování CD123 CAR-T je hlavní cíl tohoto projektu, což ale bude možné až po zavedení GMP výroby a splnění všech podmínek regulačních úřadů (SÚKL).

HODNOCENÍ GERIATRICKÝCH SYNDROMŮ U STARŠÍCH PACIENTŮ S AKUTNÍ MYELOIDNÍ LEUKÉMIÍ – PILOTNÍ PROJEKT JEDNOHO CENTRA

Weinbergerová B.¹, Voldřich J.¹, Nováková Z.¹, Semerád L.¹, Podstavková N.¹, Kvetková A.¹, Procházková J.¹, Warren J.², Tomiška M.^{1,3}, Matějovská Kubešová H.⁴, Mayer J.¹

¹ Interní hematologická a onkologická klinika LF MU a FN Brno

² Oddělení klinické psychologie, FN Brno

³ Oddělení léčebné výživy, LF MU a FN Brno

⁴ Klinika interní, geriatry a praktického lékařství LF MU a FN Brno

Úvod: Akutní myeloidní leukémie (AML) nejvíce postihuje starší pacienty s výrazně horšími léčebnými výsledky, toxicitou léčby a přežíváním ve srovnání s mladšími nemocnými vzhledem k nepříznivé biologické charakteristice onemocnění, sníženým rezervám organismu a komorbiditám. V klinické praxi představuje správná personifikovaná selekce pacientů k příslušné léčbě hlavní nástroj ke zlepšení výsledků, přičemž komplexní hodnocení tzv. geriatrických syndromů se stává v poslední době její rutinní součástí. **Cíle:** Naším cílem bylo vytvořit, otestovat a optimalizovat jednoduchý skórovací systém se začleněním hodnocení „geriatrických syndromů“ použitelný pro terapeutickou rozvahu v běžné klinické praxi.

Tab. 1. Skórovací systém hodnocení geriatrických syndromů u akutní myeloidní leukémie – pilotní a aktualizovaná verze.

Pilotní verze			
	fit	vulnerabilní	křehký
ECOG	< 2	2	≥ 3
HCT-C1	0–1	2	≥ 3
ADL	bez deficitu	bez deficitu	deficit
IADL	bez deficitu	mírný deficit	deficit
TUG	< 10 s	10–20 s	> 20 s
ACE-R	bez deficitu	lehký deficit	těžší deficit
polyfarmacie ≥ 5 užívaných léků	ne	ne	ano
malnutrice	ne	ano	ano
Aktualizovaná verze			
	fit	vulnerabilní	křehký
CIRS-G	bez komorbidit se skóre 3–4	Max. 1 komorbidita se skóre 3–4	2 a více komorbidit se skóre 3–4
ADL	75–100	50–70	0–45
IADL	75–80	50–70	0–45
TUG	< 10 s	10–20 s	> 20 s
MoCA	26–30/30	21–30/30	0–20/30
polyfarmacie ≥ 5 užívaných léků	ne	ano	ano
malnutrice	ne	lehká	významná

ADL – activities of daily living; ACER-R – Addenbrooke’s Cognitive Examination-Revised; CIRS-G – Cumulative Illness Rating Scale-Geriatric; IADL – Instrumental Activities of Daily Living; MoCA – Montreal Cognitive Assessment; TUG – Timed Up and Go

Metody: Provedli jsme prospektivní hodnocení geriatrických syndromů a ostatních prognostických faktorů u pacientů ≥ 60 let s nově diagnostikovanou AML (mimo M3) během 04–12/2021. Skórovací systém zahrnoval kognitivní/fyzickou výkonnost, nutriční stav, komorbidity, polyfarmacii, prognostický model AML. Na základě výsledků byli pacienti rozděleni do tří skupin: fit, vulnerabilní a křehcí (pilotní verze v tab. 1). Následně byly výsledky léčby porovnány s pilotním skórovacím systémem a navržena optimalizace.

Výsledky: Do pilotního projektu vstoupilo 29 pacientů. U 15/29 pacientů (52 %) byly zhodnoceny všechny parametry (53 % mužů, medián 74 let). Rozdělení do skupin bylo: sedm fit (47 %), šest vulnerabilní (40 %), dva křehcí (13 %). Ve „fit“ skupině byli čtyři pacienti léčeni kurativně s efektem CR, dva pacienti venetoklaxem+azacitidinem (VENE+AZA) s efektem CRi a jeden případ symptomaticky s efektem PROG. Ve „vulnerabilní“ skupině byli tři pacienti léčeni VENE+AZA s efektem $2\times$ CR/CRi a $1\times$ PROG, dva pacienti paliativně a jeden symptomaticky s efektem PROG. V „křehké“ skupině byl jeden pacient léčen paliativně bez hodnoceného efektu

a jeden symptomaticky s efektem PROG. U žádného pacienta v souboru nebyly pozorovány neobvyklé komplikující události. Celková doba sledování je 20 týdnů (4–44). Celkem šest (40 %) pacientů zemřelo (jeden fit, čtyři vulnerabilní, jeden křehký), všichni na progresi AML. Ostatních devět pacientů žije v CR/CRi. Většina „fit“ pacientů dosáhla léčbou CR/CRi (86 %), která trvá na posledním follow-up (medián 25 týdnů). „Vulnerabilní“ skupina profitovala z léčby VENE+AZA.

Závěr: Pilotní projekt hodnocení geriatrických syndromů u nově diagnostikovaných starších pacientů s AML prokázal funkčnost ve smyslu adekvátní selekce nemocných do příslušné skupiny a volby léčby. Ve snaze zvýšit zastoupení kompletně skórovaných pacientů jsme ve spolupráci s odborníky nahradili některá vyšetření snáze proveditelnými v klinické praxi a zavedli jsme kvantitativní a jednotný systém hodnocení jednotlivých parametrů (aktualizovaná verze v tab. 1).

Práce byla podpořena Českou leukemickou skupinou pro život (CELL) a grantem MZ ČR – RVO (FNBr 65269705).