

# Transfuze a hematologie *časopis*

ČASOPIS SPOLEČNOSTI PRO TRANSFUZNÍ LÉKAŘSTVÍ  
A ČESKÉ HEMATOLOGICKÉ SPOLEČNOSTI

## II. ČESKÝ HEMATOLOGICKÝ A TRANSFUZILOGICKÝ SJEZD

12. - 15. září 2021

NH Collection Olomouc Congress



Časopis je indexován v Seznamu recenzovaných neimpaktovaných periodik Rady vlády pro výzkum a vývoj ČR, v EMBASe/Excerpta Medica a v EBSCO-Academic Search Complete. Indexováno a excerpováno v databázi SCOPUS. Excerpováno v BIBLIOGRAPHIA MEDICA ČECHOSLOVACA.

Vydání časopisu bylo podpořeno Ministerstvem zdravotnictví České republiky.

## II. český hematologický a transfuziologický sjezd

12.–15. září 2021

## Sborník abstraktů



Ceská hematologická  
společnost ČLS JEP

# II. ČESKÝ HEMATOLOGICKÝ A TRANSFUZILOGICKÝ SJEZD



12. – 15. září 2021

NH Collection Olomouc Congress

POŘADATELÉ:



Česká hematologická  
společnost ČLS JEP



ČSTH  
ČESKÁ SPOLEČNOST PRO TROMBÓZU A HEMOSTÁZU  
České lékařské společnosti J. E. Purkyně

# Transfuze a hematologie *dnes*

ročník 27 | 2021 | **Supplementum 2**

## POŘADATELÉ SJEZDU

Česká hematologická společnost ČLS JEP  
Společnost pro transfuzní lékařství ČLS JEP  
Česká společnost pro trombózu a hemostázu ČLS JEP

## PREZIDENT SJEZDU

prof. MUDr. Jiří Mayer, CSc.

## ČESTNÝ PREZIDENT SJEZDU

prof. MUDr. Karel Indrák, DrSc.

## VICEPREZIDENTI SJEZDU

plk. MUDr. Miloš Bohoněk, Ph.D.  
prof. MUDr. Miroslav Penka, CSc.

## VĚDECKÝ VÝBOR

**Předseda vědeckého výboru:** prof. MUDr. Edgar Faber, CSc.

**Členové vědeckého výboru:** za Českou hematologickou společnost ČLS JEP – prof. MUDr. Angelika Bátorová, CSc., doc. MUDr. Jan Blatný, Ph.D., prof. MUDr. Petr Cetkovský, Ph.D., MBA, prof. MUDr. Jaroslav Čermák, CSc., prof. MUDr. Michael Doubek, Ph.D., doc. MUDr. Luboš Drgoňa, CSc., prof. MUDr. Roman Hájek, CSc., MUDr. Pavel Jindra, Ph.D., Mgr. Petra Kouřilová, prof. MUDr. Tomáš Kozák Ph.D., MUDr. Dana Mikulenková, doc. MUDr. Martin Mistrík, Ph.D., Zdeňka Pavlíková, prof. RNDr. Šárka Pospíšilová, Ph.D., prof. MUDr. Jan Starý, DrSc., prof. MUDr. Jan Trka, Ph.D., MUDr. Alexander Wild, prof. MUDr. Marek Trněný, CSc., prof. MUDr. Pavel Žák, Ph.D.  
za Společnost pro transfuzní lékařství ČLS JEP – doc. MUDr. Zuzana Čermáková, Ph.D., MUDr. Daniela Dušková, Ph.D., doc. MUDr. Zdenka Gašová, CSc., MUDr. Hana Lejdarová, MUDr. Jiří Masopust, MUDr. Martin Písačka, MUDr. Renata Procházková, Ph.D., MUDr. Vít Řeháček, MUDr. Petr Turek, CSc.  
za Českou společnost pro trombózu a hemostázu ČLS JEP – doc. MUDr. Petr Dulíček, Ph.D., MUDr. Jaromír Gumulec, prof. MUDr. Jan Kvasnička, DrSc., MUDr. Peter Salaj

## ORGANIZAČNÍ VÝBOR

**Předseda organizačního výboru:** prof. MUDr. Tomáš Papajík, CSc.

**Členové organizačního výboru:** za Českou hematologickou společnost ČLS JEP – doc. RNDr. Vladimír Divoký, Ph.D., MUDr. Antonín Hluší, Ph.D., Mgr. Jarmila Juráňová, Bc. Jana Kadlecová, doc. Ing. Eva Kriegová, Dr., Bc. Monika Labudíková, doc. MUDr. Mgr. Jiří Minařík, Ph.D., prof. MUDr. Dagmar Pospíšilová, Ph.D., prof. MUDr. Vít Procházka, Ph.D., MUDr. Luděk Raida, Ph.D., doc. Mgr. Luděk Slavík, Ph.D., doc. MUDr. Tomáš Szotkowski, Ph.D., Mgr. Helena Urbánková, Ph.D.  
za Společnost pro transfuzní lékařství ČLS JEP – MUDr. Alice Entrová, MBA, Michaela Fedorco, DiS., MUDr. Dana Galuszková, Ph.D., MBA, MUDr. Iva Holousková, Ph.D., Bc. Marta Vodičková  
za Českou společnost pro trombózu a hemostázu ČLS JEP – RNDr. Ingrid Hrachovinová, Ph.D., Bc. Markéta Klainerová, Ing. Jana Štikarová, Ph.D.

## ZÁŠTITU NAD II. ČESKÝM HEMATOLOGICKÝM A TRANSFUZIOLOGICKÝM SJEZDEM PŘEVZALI:

Prof. MUDr. Štěpán Svačina, DrSc., *předseda České lékařské společnosti Jana Evangelisty Purkyně*  
Prof. MUDr. Martin Bareš, Ph.D., *rektor Masarykovy Univerzity v Brně*  
Prof. MUDr. Martin Procházka, Ph.D., *rektor Univerzity Palackého v Olomouci*  
Prof. MUDr. Tomáš Zima, DrSc., MBA, *rektor Karlovy Univerzity v Praze*

# HODNOTITELÉ ABSTRAKTŮ

Vědecký výbor sjezdu děkuje všem, kteří se podíleli na hodnocení abstraktů.

Mgr. Martina Adamcová  
Doc. MUDr. David Belada, Ph.D.  
MUDr. Petra Bělohávková, Ph.D.  
Plk. gšt. MUDr. Miloš Bohoněk, Ph.D.  
MUDr. Alena Buliková, Ph.D.  
Prof. MUDr. Petr Cetkovský, Ph.D.  
Prof. MUDr. Jaroslav Čermák, CSc.  
Doc. MUDr. Zuzana Čermáková, Ph.D.  
MUDr. Libor Červínek, Ph.D.  
Prof. MUDr. Michael Doubek, Ph.D.  
Doc. MUDr. Ľuboš Drgoňa, CSc.  
Doc. MUDr. Petr Duliček, Ph.D.  
Prof. MUDr. Edgar Faber, CSc.  
Doc. MUDr. Dana Galuszková, Ph.D., MBA  
Doc. MUDr. Zdenka Gašová, CSc.  
MUDr. Jaromír Gumulec  
Prof. MUDr. Roman Hájek, CSc.  
MUDr. Antonín Hluší, Ph.D.  
Doc. MUDr. Andrea Janíková, Ph.D.  
Prof. RNDr. Mgr. Marie Jarošová, CSc.

MUDr. Pavel Jindra, Ph.D.  
MUDr. Ivana Ježíšková  
Doc. MUDr. Anna Jonášová, Ph.D.  
MUDr. Milan Košťál, Ph.D.  
MUDr. Michal Kouba  
Prof. MUDr. Tomáš Kozák, Ph.D.  
Doc. MUDr. Tomáš Kvasnička, CSc.  
doc. MUDr. Daniel Lysák, Ph.D.  
Doc. MUDr. Kateřina Machová Poláková, Ph.D.  
Prof. MUDr. Vladimír Maisnar, Ph.D., MBA  
MUDr. Jiří Masopust  
Prof. MUDr. Jiří Mayer, CSc.  
MUDr. Dana Mikulenková  
Doc. MUDr. Mgr. Jiří Minařík, Ph.D.  
MUDr. Heidi Móciková, Ph.D.  
doc. MUDr. Mgr. Marek Mráz, Ph.D.  
Prof. MUDr. Tomáš Papajík, CSc.  
Zdeňka Pavlíková  
MUDr. Alena Pejchalová  
Prof. MUDr. Miroslav Penka, CSc.

MUDr. Martin Písačka  
Prof. RNDr. Šárka Pospíšilová, Ph.D.  
Prof. MUDr. Vít Procházka, Ph.D.  
Prof. MUDr. Zdeněk Ráčil, Ph.D.  
MUDr. Luděk Raida, Ph.D.  
MUDr. Vít Řeháček  
MUDr. Petr Smejkal, Ph.D.  
Prof. MUDr. Lukáš Smolej, Ph.D.  
Prof. MUDr. Jan Starý, DrSc.  
MUDr. Martina Suková, Ph.D.  
Doc. MUDr. Tomáš Szotkowski, Ph.D.  
Prof. MUDr. Ivan Špička, Ph.D.  
Prof. MUDr. Jan Trka, Ph.D.  
Prof. MUDr. Marek Trněný, CSc.  
MUDr. Petr Turek, CSc.  
MUDr. Jana Ullrychová  
MUDr. Andrej Vranovský, Ph.D.  
MUDr. Alexander Wild  
MUDr. Daniela Žáčková, Ph.D.  
Prof. MUDr. Pavel Žák, Ph.D.

# Obsah

<b>1. Přednášková sdělení</b>	<b>2S6</b>
<b>Lékařská sekce</b>	<b>2S6</b>
Hemostáza a laboratorní hematologie	2S6
Akutní leukémie	2S9
Experimentální a translační hematologie	2S13
Chronická myeloidní leukémie / myeloproliferativní choroby	2S17
Myelodysplastický syndrom	2S22
Lymfomy	2S25
Chronická lymfocytární leukémie	2S29
Mnohočetný myelom – Klinická část	2S34
Mnohočetný myelom – Experimentální část	2S38
Anémie, cytopenie, vzácná krevní onemocnění	2S42
Transplantace a buněčná terapie	2S46
COVID-19	2S50
Transfuzní lékařství	2S54
<b>Sesterská sekce</b>	<b>2S57</b>
<b>Transfuziologie pro laboranty a sestry</b>	<b>2S61</b>
<b>2. Posterová sekce</b>	<b>2S64</b>
<b>3. Pouze k publikaci</b>	<b>2S129</b>
<b>Rejstřík</b>	<b>2S134</b>

# HEMOSTÁZA A LABORATORNÍ HEMATOLOGIE

## NON-CRITERIA PROTILÁTKY ANTI-PHOSPHATIDYLSEKIN/PROTHROMBIN A ANTI-ANNEXIN V: PŘÍNOS V DIAGNOSTICE ANTIFOSFOLIPIDOVÉHO SYNDROMU

Bradáčová P.<sup>1</sup>, Slavík L.<sup>2</sup>, Ullrychová J.<sup>1</sup>, Úlehlová J.<sup>2</sup>, Procházková J.<sup>2</sup>, Hluší A.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Oddělení klinické hematologie, Masarykova nemocnice, Krajská zdravotní a.s., Ústí nad Labem

<sup>2</sup> Hemato-onkologická klinika FN Olomouc

**Úvod:** Antifosfolipidový syndrom (APS) je hyperkoagulační stav doprovázený výskytem antifosfolipidových protilátek (aPL), které nespecificky ovlivňují procesy hemostázy. Klinicky se APS projevuje arteriálními nebo žilními trombózami a reprodukčními ztrátami. Klasifikace APS je velmi přesně definována, pro určení diagnózy APS musí být splněno nejméně jedno klinické a nejméně jedno laboratorní kritérium. Mezi laboratorní kritéria patří pozitivita alespoň jedné aPL typu anti-cardiolipin, anti-β<sub>2</sub>-glykoprotein-I a lupus antikoagulans.

**Cíl:** U pacientů, kteří splňují klinická kritéria APS, ale současně nesplňují laboratorní kritéria, jsme stávající laboratorní vyšetření rozšířili o průkaz dalších non-criteria aPL anti-phosphatidylserin/prothrombin (anti-PS/PT) a anti-annexin V.

**Metody:** Vyšetření anti-PS/PT, anti-annexin V jsme provedli ELISA metodou za použití kitů QUANTA Lite aPS/PT IgM a QUANTA Lite aPS/PT IgG a anti-annexin V IgG/IgM.

**Výsledek:** Z celkového počtu 581 pacientů byla pozitivita aPL stanovena u 120 (20,6 %). Single pozitivita byla zjištěna u 85 (14,6 %), double pozitivita u 29 (5,0 %) a triple pozitivita u 6 (1,0 %). APS séronegativních (SNAPS) bylo 461 (79,4 %) z nichž splnilo klinická kritéria 240 (52,1 %). Ve skupině SNAPS pacientů s klinickými projevy APS byla zjištěna pozitivita non-criteria aPL anti-PS/PT u 10 (4,1 %) a anti-annexin V u 20 (8,3 %).

**Závěr:** Dle současných mezinárodních doporučení u séronegativních pacientů nemůže být stanovena diagnóza APS a následně zahájena příslušná profylaktická léčba, což může v některých případech vést k rekurenci trombotického stavu se všemi závažnými důsledky na zdraví pacienta. Z tohoto důvodu považujeme za přínosné rozšířit diagnostiku APS o další non-criteria aPL anti-PS/PT a anti-annexin V.

Supported by IGA-KZ-2020-1-1, LF-2021-001 a MH CZ – DRO (FNOI, 00098892).

## ADAMTS13 SOUČASNÉ MOŽNOSTI DIAGNOSTIKY

Slavík L.<sup>1</sup>, Bradáčová P.<sup>2</sup>, Úlehlová J.<sup>1</sup>, Procházková J.<sup>1</sup>, Hluší A.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Hemato-onkologická klinika LF UP a FN Olomouc

<sup>2</sup> Oddělení klinické hematologie, Masarykova nemocnice Ústí nad Labem

**Úvod:** Hladina ADAMTS13 pod 10 % je v současné době jasným diagnostickým kritériem pro diagnostiku TTP. Nicméně dostupnost

metodik pro stanovení ADAMTS13 pokročila teprve nedávno. V současné době máme spolehlivé ELISA metodiky jak pro ADAMTS13 aktivitu, resp. inhibitor, v poslední době se dostávají do klinické praxe také nové chemiluminiscenční metodiky (CLIA) a rychlý screeningový test.

**Cíl:** Cílem naší práce bylo posoudit použitelnost metod v reálné praxi, a to jak z hlediska dostupnosti pro jednotlivá pracoviště, časové náročnosti a kvality výsledků.

**Metody:** 63 vzorků od 58 pacientů s podezřením na TTP bylo v rámci diagnostického procesu vyšetřeno screeningově a ELISA/CLIA metodikou a metody vzájemně porovnány. Stanovení inhibitoru metodou CLIA bylo provedeno podle metodiky Bethesda a screeningový test byl doplněn automatickou detekcí pro odstranění subjektivního hodnocení.

**Výsledek:** Z hlediska stanovení diagnózy bylo hodnoceno 58 výsledků. Porovnali jsme obě metody ve dvou centrech a našli jsme 10 vzorků s hladinami ADAMTS13 pod 10 % testem ELISA / CLIA a 16 vzorků screeningovým testem se subjektivní detekcí. Z hodnocení celkového souboru je zřejmé, že rozdíl mezi screeningem a testy ELISA / CLIA byl zjištěn u 6 vzorků, což představuje 8,8 % (všechny vzorky byly potvrzeny jako falešně pozitivní na dg TTP).

Za účelem zlepšení subjektivního hodnocení byla upravena screeningová metoda detekce pomocí čtečky NycoCard a rozdíl mezi metodami se snížil na 2,1 %.

**Závěr:** Upravený screeningový test poskytuje negativní prediktivní hodnotu 97,9 % a vyvrací některá počáteční tvrzení o nízké citlivosti screeningového testu v klinickém použití.

Diagnostika TTP pomocí testu aktivity a inhibitoru ADAMTS13 zůstává náročným laboratorním problémem a vyžaduje značné zkušenosti na pracovišti a zaškolení personálu. Nové technologie však otevírají možnost diagnostikovat TTP na širokém spektru pracovišť. Postupy by však měly být podrobně validovány a diagnostický postup pečlivě vyhodnocen.

Podporováno grantem LF-2021-001 a MH CZ – DRO (FNOI, 00098892).

## KARDIOCHIRURGICKÝ VÝKON U PACIENTŮ SE SUBAKTUNÍ HEPARINEM INDUKOVANOU TROMBOCYTOPENIÍ – ZKUŠENOSTI JEDNOHO CENTRA

Demel I., Mihályová J., Gumulec J.

Klinika hematoonkologie, LF OU a FN Ostrava

**Cíl:** Heparinem indukovaná trombocytopenie je relativně vzácný, ale život ohrožující hyperkoagulační stav zvyšující morbiditu a mortalitu kardiologických pacientů. V případě neodkladné operace s napojením na mimotělní oběh (MO) nelze jako antikoagulaci využít nefrakcionovaný heparin (UFH). Doporučovaný bivalirudin má

své limitace, především metabolický profil, krátký poločas, obtížné monitorování a dostupnost. Prezентujeme kazuistiky dvou pacientů operovaných na kombinaci heparinu s epoprostenolem.

**Metody:** Epoprostenol se podává kontinuální intravenózní infuzí se zvyšováním dávky o 5 ng/kg/min každých 5 minut až do rychlosti 30 ng/kg/min, kdy lze podat plnou dávku UFH za standardní monitorace, a poté napojit MO. Po operaci byl UFH vyvážen protamin sulfátem a epoprostenol postupně redukován o 5 ng/kg/min každých 5 minut. V roce 2019 byl takto odoperován pacient 1 s koronárním bypassesem a plastikou mitrální chlopně, a v roce 2020 pacient 2 s infekční endokarditidou mitrální chlopně v septickém stavu. Oba pacienti se subakutní HIT.

**Výsledky:** Pacient 1: Počet destiček před operací  $232 \times 10^9/l$ , po operaci poklesl na  $131 \times 10^9/l$ . Antikoagulační testy před i po operaci byly ovlivněny podáváním argatrobanu s hodnotami aPTT ratio v rozmezí 1,63–1,74. Pacient 2: počet destiček před operací poklesl z hodnoty  $122 \times 10^9/l$  na  $22 \times 10^9/l$  po výkonu. Účinné před- i pooperační antikoagulace bylo dosaženo fondaparinuxem (anti-Xa fondaparinux 0,93 anti-Xa/ml). Pro tepenné krvácení neošetřené cévy v podkoží absolvoval revizi rány. Trombotické komplikace vč. systému MO nebyly u pacientů pozorovány.

**Závěr:** Kombinace epoprostenolu s UFH se zdá být bezpečná varianta perioperačního zajištění kardiokirurgických výkonů při nedostupnosti zavedeného protokolu s bivalirudinem.

## PLATELET MICROPARTICLES IN RELATION TO DISEASE-RELATED RISK FACTORS IN POLYCYTHEMIA VERA AND ESSENTIAL THROMBOCYTHEMIA

Aswad M. H.<sup>1</sup>, Kisoová J.<sup>1</sup>, Ovesná P.<sup>2</sup>, Penka M.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Clinical Hematology, Faculty of Medicine, Masaryk University, University Hospital Brno, Czech Republic

<sup>2</sup>Institute of Biostatistics and Analyses, Faculty of Medicine, Masaryk University, Brno, Czech Republic

**Introduction:** Thromboembolism is a common life-threatening complication in patients with polycythemia vera (PV) and essential thrombocythemia (ET), accounting for a mortality rate of 41% and 26% of patients with an incidence rate of 3.8% and 1.9% per year, respectively. Besides older age and history of thrombosis being the definite risk factors of thrombosis, disease-related factors, such as JAK2V617F mutation and blood count results, have been linked to the increased risk of thrombosis. Circulating microparticles (MPs) may contribute to thrombosis through expressing pro-coagulant phosphatidylserine and tissue factor.

**Methods:** The absolute count of platelet microparticles (PMPs) and MPs procoagulant activity (MP-activity) were evaluated in relation to disease-related thrombotic risk factors in a cohort of 170 patients (51 with PV and 119 with ET). MP-activity was measured by the Zymuphen functional assay in 363 samples. PMPs were enumerated by flow cytometry in 466 samples.

**Results:** Compared to healthy individuals, patients with ET or PV have significantly higher MPs levels. The pathological values of MP-activity are significantly higher in PV patients than in ET patients. Regarding disease-related risk factors, the presence of JAK2V617F mutation is associated with a significantly higher PMPs count. During the follow-up, patients who had their hematocrit value > 45%, platelet count >  $400 \times 10^9/L$ , or leukocytes count >  $10 \times 10^9/L$  have significantly increased MPs levels. Patients with a history of thrombosis before PV or ET diagnosis have significantly higher MP-activity values than thrombosis-free patients. Treatment during the follow-up probably affects MPs levels as patients with arterial or venous thrombotic complications after diagnosis have significantly lower MPs values.

**Conclusion:** Levels of platelet microparticles and their procoagulant activity are increased in disease-related risk factors for thrombosis, and this relationship indicates a possible role of MPs in thrombotic complications of patients with polycythemia vera and essential thrombocythemia.

Supported by MH CZ–DRO (FNBr–65269705).

## LABORATORNÍ MONITOROVÁNÍ PACIENTŮ S HEMOFILIÍ LÉČENÝCH KONCENTRÁTY S PRODLOUŽENÝM BIOLOGICKÝM POLOČASEM

Prudková M.<sup>1,2</sup>, Smejkal P.<sup>1,2</sup>, Zavřelová J.<sup>1,2</sup>, Chytrá D.<sup>1</sup>, Penka M.<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Oddělení klinické hematologie, FN Brno

<sup>2</sup>Katedra laboratorních metod, LF MU, Brno

<sup>3</sup>Interní hematologická a onkologická klinika FN Brno

Hemofilie A/B jsou vrozená krvácivá onemocnění charakterizovaná deficitem FVIII, resp. FIX. Standardní léčba je založena na substituci chybějícího faktoru, přičemž v posledních letech byly do praxe zavedeny koncentráty rekombinantních faktorů, jejichž molekula byla upravena za účelem prodloužení biologického poločasu. Podle několika studií však takto modifikace přinesla obtíže při laboratorním monitorování.

Na Oddělení klinické hematologie FN Brno jsme porovnávali výsledky aktivity FVIII (FVIII:C) a FIX (FIX:C) u pacientů s hemofilií A/B léčených EHL (Extended half-life) koncentráty rFVIII – Adynovi®, Elocta®, Jivi®, Esperoct® a rFIX – Alprolix®. Aktivitu faktorů jsme vyšetřovali jednofázovou koagulační metodou na bázi APTT s použitím reagentie Cephascreeen (Stago) s polyfenolickým aktivátorem a dvofázovou metodou s chromogenními substráty s využitím komerčních setů Biophen FVIII:C a Biophen FIX (Hyphen BioMed).

Cílem naší práce bylo zjistit, do jaké míry se liší výsledky získané zmíněnými metodami.

Výsledky FVIII:C < 13 % Adynovi®, Elocta® a Jivi® byly koagulační metodou vyšší než metodou chromogenní (průměrně o 18 %, 16 %, 52 %). Naopak výsledky FVIII:C > 13 % byly koagulační metodou nižší (průměrně o 13 %, 11 %), ale u Jivi® byly vyšší průměrně o 16 %.

U Esperoct® byly výsledky koagulační metodou nižší pro FVIII:C < 13 % (průměrně o 16 %) i pro FVIII:C > 13 % (průměrně o 44 %), jednalo se jen o jednoho pacienta.

Výsledky FIX:C < 13 % Alprolix® byly chromogenní metodou průměrně o 31 % nižší, > 20 % naopak o 12 % vyšší.

Dle Evropského lékopisu je účinnost schválených koncentrátů FVIII stanovována chromogenní metodou. Podle našich výsledků koagulační metoda vysoké hladiny podhodnocovala u Adynovi®, Elocta® a Esperoct®, u Jivi® naopak nadhodnocovala. Nízké hladiny koagulační metoda nadhodnocovala u všech koncentrátů, kromě Esperoct®.

Účinnost koncentrátů FIX je dle Evropského lékopisu stanovována naopak koagulační metodou na bázi APTT. Chromogenní metoda, dle našich výsledků, vysoké hladiny FIX nadhodnocovala, nízké podhodnocovala.

Podpořeno MZ ČR – RVO (FNBr, 65269705).

## INTERFERENCE LUPUS ANTIKOAGULANT U STANOVENÍ DABIGATRANU, RIVAROXABANU A APIXABANU

Úlehlová J.<sup>1</sup>, Slavík L.<sup>1</sup>, Jačová J.<sup>2</sup>, Friedecký D.<sup>2</sup>, Ivanovová E.<sup>2</sup>, Kvasnička A.<sup>2</sup>, Piskláková B.<sup>2</sup>, Skoumalová A.<sup>3</sup>, Procházková J.<sup>1</sup>, Hluší A.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Hemato-onkologická klinika LF UP a DN Olomouc

<sup>2</sup>Oddělení klinické biochemie, LF UP a FN Olomouc

<sup>3</sup>Interní klinika III-nefrologie LF UP a FN Olomouc

**Úvod:** Stanovení přímých perorálních antikoagulantů (DOAC) funkčními laboratorní testy může být ovlivněno řadou faktorů. Při stanovení inhibiční aktivity vůči faktoru IIa respektive Xa je jedním

ze zásadních vlivů vyšetření přítomnost fosfolipidových protilátek zejména lupus antikoagulans.

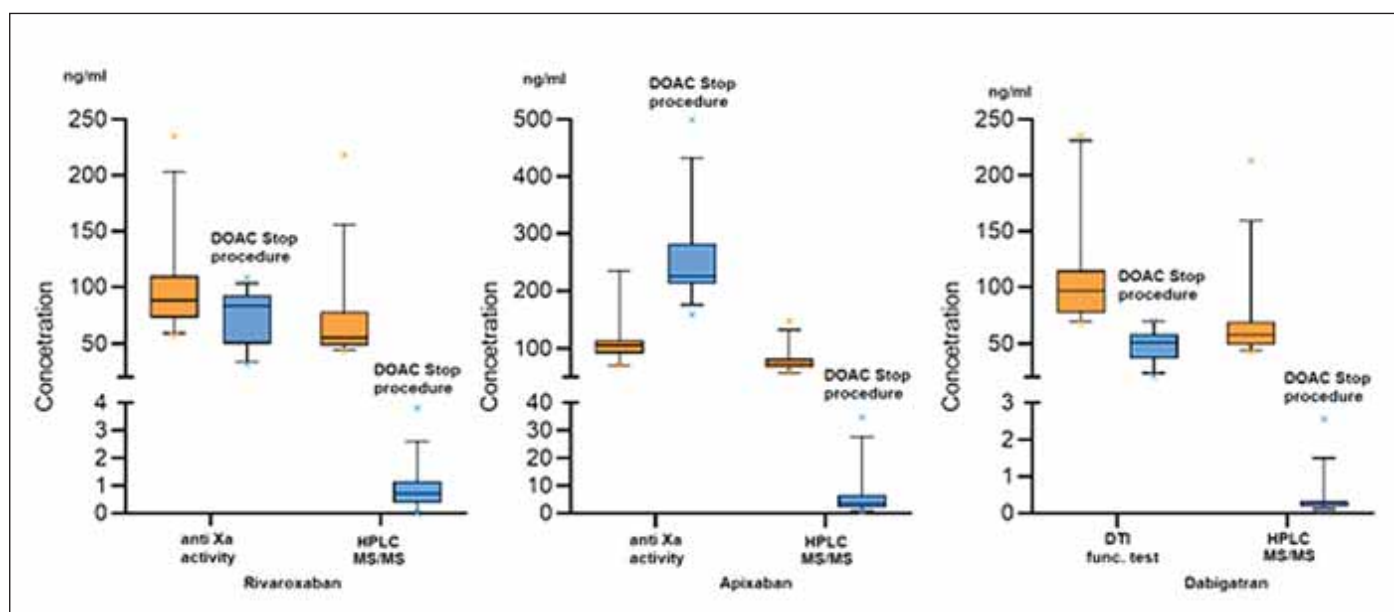
**Cíl:** Zhodnocení vlivu lupus antikoagulans na stanovení hladiny DOAC funkčními specifickými testy v porovnání s HPLC MS. Pro hodnocení účinnosti tohoto postupu bylo zařazeno 35 pacientů léčených DOAC. Všechny vzorky pacientů byly analyzovány na přítomnost jednotlivých typů DOAC a následně podrobeny proceduře DOAC-Stop. Účinnost jsme vyhodnotili pomocí naší vlastní vysoce účinné metody tandemové hmotnostní spektrometrie spojené s kapalinovou chromatografií, která současně nastavuje všechny vysoce citlivé DOAC. Na rozdíl od koagulačních testů založených na stanovení reziduálních účinků DOAC na cílové enzymy, které komplikuje rozsáhlá interindividuální variace, je tato metodika vysoce specifická a citlivá.

**Metody:** Tato studie byla provedena na souboru vzorků krve od 35 pacientů léčených NOAC. Naše metoda LC-MS/MS umožňuje současné stanovení apixabanu, dabigatranu a rivaroxabanu. Cílem naší studie bylo srovnání této metody s funkčními testy pro stanovení DOAC.

**Výsledky:** Výsledky hladin DOAC stanovených funkčním testem a HPLC MS/MS vykazovaly signifikantní rozdíly.

**Závěr:** Přítomnost vysokého titru protilátek typu LA zásadně ovlivňuje stanovení DOAC funkčními testy a v tomto případě je nutné ke stanovení skutečné hodnoty použít analýzu HPLC MS / MS. Pokud se u pacientů léčených DOAC objeví LA se středním a vyšším titrem, jeví se efektivnější využít ke stanovení kapalinovou chromatografií s hmotnostní detekcí.

Podpořeno grantem LF-2021-001 a MZ ČR – RVO (FNOI, 00098892).





# AKUTNÍ LEUKÉMIE

## AKUTNÍ LYMFOBLASTICKÁ LEUKÉMIE BEZ FILADELFSKÉHO CHROMOZOMU U DOSPĚLÝCH: VÝSLEDKY LÉČBY V CENTRECH CELL

Šálek C.<sup>1,2</sup>, Folber F.<sup>2,3</sup>, Jindra P.<sup>2,4</sup>, Horáček J. M.<sup>2,5</sup>, Szotkowski T.<sup>2,6</sup>, Novák J.<sup>2,7</sup>, Kořístek Z.<sup>2,8</sup>, Doubek M.<sup>2,3</sup>, Mayer J.<sup>2,3</sup>

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

<sup>2</sup> Česká leukemická skupina – pro život (CELL), Brno

<sup>3</sup> Interní hematologická a onkologická klinika LF MU a FN Brno

<sup>4</sup> Hemato-onkologické oddělení, FN Plzeň

<sup>5</sup> IV. interní hematologická klinika FN Hradec Králové

<sup>6</sup> Hemato-onkologická klinika FN Olomouc

<sup>7</sup> Hematologická klinika FN Královské Vinohrady, Praha

<sup>8</sup> Klinika hematoonkologie, FN Ostrava

**Cíl:** Akutní lymfoblastická leukémie dospělých bez filadelfského chromozomu (Ph– ALL) je relativně vzácné onemocnění, jehož léčba je v ČR soustředěna do velkých hematologických center. Cílem práce bylo zhodnotit výsledky léčby nemocných s Ph– ALL v centrech CELL.

**Metody:** Do této retrospektivní analýzy byli zařazeni všichni pacienti s Ph– ALL, kteří mají záznam v databázi DATOOL-ALL. Na základě léčby první linie byli rozděleni na skupinu intenzivní a neintenzivní. V každé skupině byly hodnoceny vstupní parametry, použitý protokol, míra dosažení kompletní (CR) a molekulární remise (CMR), postremisní léčba vč. alogenní transplantace, celkové přežití (OS), přežití bez progresu (PFS) a výsledky léčby případného relapsu.

**Výsledky:** Analyzována byla data celkem 305 nemocných s Ph– ALL. Intenzivní skupina zahrnovala 260 pacientů (189 B-ALL, 71 T-ALL). Indukční léčba probíhala nejčastěji (65 %) podle společného protokolu ALL CELL 2012 junior. CR dosáhlo 94 % pacientů, CMR 87 % nemocných, u B-ALL obvykle již po 2. fázi indukce. Alogenní transplantace byla provedena u 50 % pacientů. U B-ALL činily 5leté OS a PFS 50 % a 39 %, zatímco u T-ALL 40 % a 36 %. Výrazně lepší přežití následovalo při dosažení CMR a provedení transplantace. V případě relapsu bylo CR2 dosaženo v 71 %. Neintenzivní skupina zahrnovala 45 pacientů (31 B-ALL, 14 T-ALL), většina nemocných byla léčena protokoly s redukovanými dávkami chemoterapie. CR dosáhla pouze 62 % pacientů. Dvouleté OS a PFS činilo u B-ALL 21 % a 15 %, u T-ALL 48 % a 48 % (ovlivněno malým množstvím pacientů). Výsledky léčby relapsu byly velmi špatné, s přežitím pouze několik měsíců.

**Závěr:** Pacienti s Ph– ALL léčení moderními protokoly dosahují výborných léčebných výsledků, které závisí zejména na časnosti dosažení remise a její hloubce a provedení alogenní transplantace v indikovaných případech. U starších pacientů jsou terapeutické možnosti omezené a remise obvykle pouze krátkodobá.

## AKUTNÍ LYMFOBLASTICKÁ LEUKÉMIE S FILADELFSKÝM CHROMOZOMEM U DOSPĚLÝCH: VÝSLEDKY LÉČBY V CENTRECH CELL

Folber F.<sup>1,2</sup>, Šálek C.<sup>2,3</sup>, Jindra P.<sup>2,4</sup>, Horáček J. M.<sup>2,5</sup>, Szotkowski T.<sup>2,6</sup>, Novák J.<sup>2,7</sup>, Kořístek Z.<sup>2,8</sup>, Doubek M.<sup>1,2</sup>, Mayer J.<sup>1,2</sup>

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

<sup>2</sup> Česká leukemická skupina – pro život, Brno

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

<sup>4</sup> Hemato-onkologické oddělení, FN Plzeň

<sup>5</sup> IV. interní hematologická klinika FN Hradec Králové

<sup>6</sup> Hemato-onkologická klinika FN Olomouc

<sup>7</sup> Hematologická klinika FN Královské Vinohrady, Praha

<sup>8</sup> Klinika hematoonkologie FN Ostrava

**Cíl:** Akutní lymfoblastická leukémie s filadelfským chromozomem u dospělých (Ph+ ALL) je vzácné onemocnění, jehož léčba je v ČR soustředěna do velkých hematologických center. Cílem práce bylo zhodnotit výsledky léčby nemocných s Ph+ ALL v centrech CELL.

**Metody:** Do této retrospektivní analýzy byli zařazeni všichni pacienti s Ph+ ALL, kteří mají záznam v databázi DATOOL-ALL. Na základě léčby první linie byli rozděleni na skupinu intenzivní a neintenzivní. V každé skupině byly hodnoceny vstupní parametry, použitý protokol, míra dosažení kompletní (CR) a molekulární remise (CMR), postremisní léčba vč. alogenní transplantace, celkové přežití (OS), přežití bez progresu (PFS) a výsledky léčby případného relapsu.

**Výsledky:** Analyzována byla data celkem 125 nemocných s Ph+ ALL. Intenzivní skupina zahrnovala 89 pacientů s mediánem věku při diagnóze 49 let. Další cytogenetická abnormalita byla nalezena v 57 % případů. Indukční léčba probíhala nejčastěji (65 %) podle společného protokolu ALL CELL 2012 junior v kombinaci s imatinibem. CR dosáhlo 93 % pacientů, CMR 86 % nemocných, obvykle však až později během léčby. Alogenní transplantace byla provedena u 78 % pacientů. Mediány OS a PFS v celé skupině činily 58 a 19 měsíců, v 5 letech 49 % a 42 %, výrazně lepší přežití následovalo při dosažení CMR a provedení transplantace. V případě relapsu bylo CR2 dosaženo v 81 %. Neintenzivní skupina zahrnovala 36 pacientů s mediánem věku 70 let, většina nemocných byla léčena protokoly s redukovanými dávkami chemoterapie spolu s imatinibem. CR dosáhlo 81 %, zatímco CMR pouze 27 % pacientů. Mediány OS a PFS činily 15 a 8 měsíců. Výsledky léčby relapsu byly velmi špatné.

**Závěr:** Pacienti s Ph+ ALL léčení moderními protokoly dosahují dobrých léčebných výsledků, které závisí zejména na hloubce remise a provedení alogenní transplantace. U starších pacientů jsou terapeutické možnosti omezené a remise obvykle pouze krátkodobá.

## GENETICKÉ ABERACE U DOSPĚLÝCH PACIENTŮ S B-OTHER AKUTNÍ LYMFOLASTICKOU LEUKÉMIÍ V ČESKÉ REPUBLICE SE ZAMĚŘENÍM NA BCR-ABL1-LIKE AKUTNÍ LYMFOLASTICKOU LEUKÉMIÍ

Hrabovský Š.<sup>1,2</sup>, Vrzalová Z.<sup>1,3</sup>, Štika J.<sup>3</sup>, Jelínková H.<sup>1</sup>, Jarošová M.<sup>1-3</sup>, Navrkalová V.<sup>1,3</sup>, Doubek M.<sup>1-3</sup>

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

<sup>2</sup>LF MU, Brno

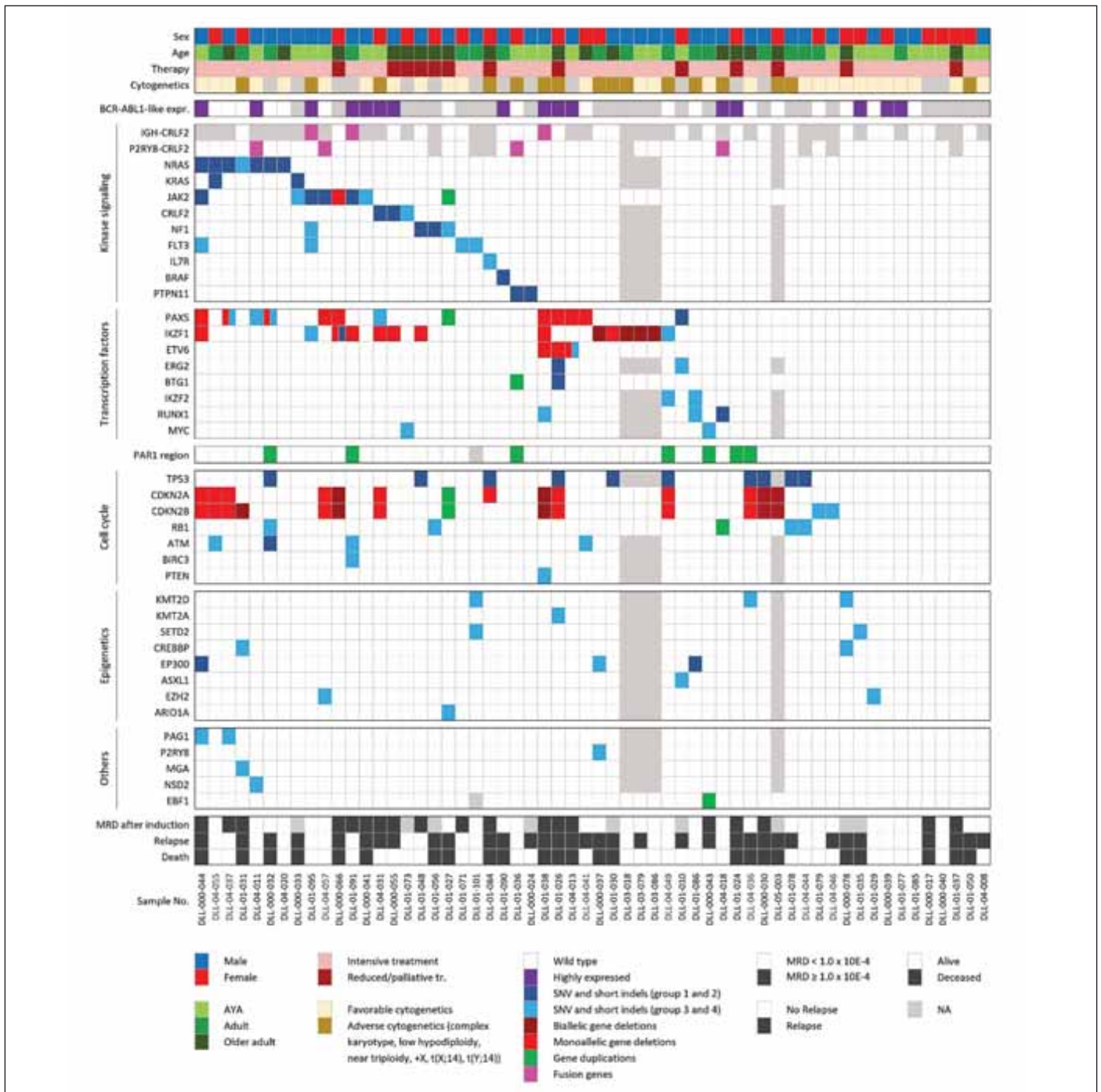
<sup>3</sup>Středoevropský technologický institut (CEITEC), Brno

**Cíl:** BCR-ABL1-like akutní lymfoblastická leukemie (ALL) je onemocnění se složitým genetickým pozadím a nepříznivou

prognózou. Cílem této retrospektivní studie bylo zmapovat subtypy a prognózu BCR-ABL1-like ALL u dospělých pacientů v ČR.

**Metody:** Byly analyzovány vzorky kostní dřeně a periferní krve dospělých pacientů s B-ALL bez rekurentních genetických aberací (přestavby KMT2A, BCR-ABL1, ETV6-RUNX1, TCF3-PBX1 a iAMP21). Pro vyšetření byly použity cytogenetické metody, analýza genové exprese, metoda MLPA a sekvenování nové generace (NGS).

**Výsledky:** Do studie bylo zařazeno 58 pacientů. Pro analýzu genové exprese byly k dispozici vzorky od 33 pacientů, z nich bylo 49 % identifikováno jako BCR-ABL1-like ALL. Přestavby CRLF2 byly přítomny u 19 %, mutace JAK2 u 12 %, přestavby CRLF2 s mutací JAK2 u 12 % a mutace genů skupiny Ras u 6 % pacientů s BCR-ABL1-like ALL. Ve skupině BCR-ABL1-like ALL pacientů byly oproti zbytku kohorty



zaznamenány méně časté dosažení kompletní molekulární remise (13 vs. 50 %;  $p = 0,05$ ) a statisticky nevýznamná tendence k horšímu OS a PFS. U pacientů s BCR-ABL1-like ALL byly častější delece IKZF1 (31 vs. 6 %). Celkem 31 % pacientů s delecí IKZF1 neslo i delece v genech CDKN2A, CDKN2B, PAX5 nebo PAR1 regionu, tzv. profil IKZF1plus. Tito pacienti měli horší PFS ( $p = 0,02$ ) a OS ( $p = 0,08$ ), než pacienti se samotnou delecí IKZF1 nebo bez delece IKZF1. Pomocí NGS bylo vyšetřeno 54 vzorků a detekováno celkem 99 jednonukleotidových variant a krátkých insercí/deleceí. Nejčastěji postižené geny byly TP53, JAK2, NRAS, PAX5, CREBBP, NF1, FLT3, ATM, KRAS a RUNX1. Celkem 75 z těchto mutací nebylo dosud u B-ALL popsáno.

**Závěr:** Studie potvrdila podobné početní zastoupení nejčastějších genetických aberací BCR-ABL1-like ALL v české dospělé populaci jako dříve publikovaná data ze zahraničí, jako první ukázala velmi nepříznivou prognózu dospělých pacientů s profilem IKZF1plus obdobně jako u pediatrických pacientů a popsala několik desítek nových bodových mutací.

## VÝSLEDKY LÉČBY DOSPĚLÝCH NEMOCNÝCH S AKUTNÍ MYELOIDNÍ LEUKÉMIÍ POD 60 LET – ANALÝZA DAT Z ČESKÉ NÁRODNÍ DATABÁZE DATOOL-AML

Semerád L.<sup>1</sup>, Weinbergerová B.<sup>1</sup>, Nováková Z.<sup>1</sup>, Ráčil Z.<sup>2</sup>, Novák J.<sup>3</sup>, Sztokowski T.<sup>4</sup>, Kořístek Z.<sup>5</sup>, Jindra P.<sup>6</sup>, Pospíšil Z.<sup>7</sup>, Baranová J.<sup>8</sup>, Křístková Z.<sup>8</sup>, Cetkovský P.<sup>2</sup>, Žák P.<sup>9</sup>, Mayer J.<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup> Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

<sup>3</sup> Interní hematologická klinika FN Královské Vinohrady, Praha

<sup>4</sup> Hemato-onkologická klinika FN Olomouc

<sup>5</sup> Klinika hematologie FN Ostrava

<sup>6</sup> Hemato-onkologické oddělení, FN Plzeň

<sup>7</sup> Přírodovědecká fakulta, MU, Brno

<sup>8</sup> Institut biostatistiky a analýz, Brno

<sup>9</sup> IV. interní hematologická klinika FN Hradec Králové

**Cíl:** Analýza výsledků léčby nemocných s AML ve věku 18–59 let diagnostikovaných v letech 2007–2019 v sedmi hematologických centrech spolupracujících v rámci České leukemické skupiny pro život (CELL).

**Metody:** Retrospektivní analýza dat z databáze DATOOL-AML.

**Výsledky:** Zařazeno bylo celkem 1 028 nemocných ve věku 18–59 let s nově diagnostikovanou AML, vč. AML M3. V souboru mírně převažují muži – 51,8 %. ECOG 0-1 v době diagnózy mělo 84,6 %; sekundární AML byla zjištěna u 20,3 % nemocných. Cytogenetika je známa u 933 nemocných, z nichž 22,1 % spadá do nízkého rizika dle Grimwade 1998; 60,0 % do středního a 17,9 % do vysokého rizika. Mutace FLT3-ITD byla vyšetřena u 918 nemocných – pozitivita zjištěna u 22,7 %; mutace NPM1 byla vyšetřena u 823 – pozitivita zjištěna u 27,9 %. Pro analýzu výsledků léčby bylo vyřazeno 112 nemocných s AML M3. Intenzivní, respektive paliativní terapie byla zahájena u 837 (95,4 %) vs. 40 (4,6 %) pacientů. U 39 nemocných

nejsou informace o léčbě dostupné. Up-front alogenní HSCT byla provedena u 1,8 % intenzivně léčených nemocných, u zbývajících 98,2 % byla zahájena indukce. Medián času do zahájení indukce byl 3 dny. CR bylo dosaženo u 70,1 %; k časnému úmrtí během 30 dní od zahájení indukce došlo u 3,9 % nemocných. Alogenní HSCT kdykoliv během léčby byla provedena u 50,9 % nemocných; k úmrtí do dne +100 došlo u 10,5 % z nich. 5 let od stanovení diagnózy se dožívá 44 % nemocných; 5leté přežití nemocných v nízkém, resp. středním a vysokém cytogenetickém riziku je 69 vs. 47 vs. 21 %. V letech 2013–2019 došlo k poklesu časné mortality na 1,8 %; úmrtí do dne +100 od alogenní HSCT kleslo na 7,7 % a 5leté celkové přežití nemocných se prodloužilo na 51 % (HR: 0,66; 95% CI: 0,53–0,81).

**Závěr:** Centralizace péče do sedmi českých hematologických center má pozitivní vliv na výsledky léčby mladších pacientů s AML. Ty odpovídají úrovni dosahované v jiných vyspělých zemích.

## CHARAKTERISTIKA A VÝSLEDKY LÉČBY NEMOCNÝCH S AML > 60 LET – DATA Z ČESKÉ DATABÁZE DATOOL

Podstavková N.<sup>1</sup>, Weinbergerová B.<sup>1</sup>, Jindra P.<sup>2</sup>, Kořístek Z.<sup>3</sup>, Novák J.<sup>4</sup>, Sztokowski T.<sup>5</sup>, Ráčil Z.<sup>6</sup>, Víšek B.<sup>7</sup>, Žák P.<sup>7</sup>, Cetkovský P.<sup>6</sup>, Mayer J.<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup> Hematologicko-onkologické oddělení, FN Plzeň

<sup>3</sup> Klinika hematologie LF OU a FN Ostrava

<sup>4</sup> Interní hematologická klinika 3.LF UK a FN Královské Vinohrady, Praha

<sup>5</sup> Hemato-onkologická klinika LF UP a FN Olomouc

<sup>6</sup> Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

<sup>7</sup> 4. Interní hematologická klinika LF UK a FN Hradec Králové

**Cíl:** Zhodnocení reálných klinických a laboratorních dat a výsledků léčby u pacientů s AML starších 60 let v ČR.

**Metody:** Retrospektivní analýza dat pacientů starších 60 let zařazených do databáze DATOOL sedmi českými hematologickými centry v letech 2007–2021.

**Výsledky:** Ve sledovaném období bylo do DATOOL zařazeno celkem 2 910 pacientů s AML starších 18 let, z toho 60 % pacientů > 60 let ( $n = 1 731$ ). U 17 % se jednalo o sekundární AML v terénu předchozí MDS nebo MPN a u 13 % o therapy related AML. Cytogenetické vyšetření bylo při diagnóze provedeno u 76 % s nálezem normálního karyotypu u 40 % z nich. Prognosticky nepříznivé změny byly zachyceny u 27 % pacientů, nejčastěji komplexní karyotyp (72 %). Příznivé cytogenetické riziko bylo zaznamenáno pouze u 4 % pacientů. Molekulárně-genetické vyšetření na přítomnost mutace FLT3-ITD a FLT3-TKD bylo provedeno u 51 % a 31 % pacientů, s pozitivním průkazem u 18 % a 5 % z vyšetřených. Pouze třetina pacientů (33 %) byla kurativně léčena, většina ve věku 60–65 let (64 %); alogenní HSCT podstoupila celkem pětina z nich (20 %). Paliativní a symptomatická léčba byla zahájena u 37 % a 31 % pacientů. Medián přežití byl nejdelší u kurativně léčených (12,6 měsíce), přičemž delší byl u pacientů s alogenní HSCT oproti pacientům bez alogenní HSCT (25,4 vs. 10,3 měsíců). Výrazně kratší medián přežití

byl u paliativně (5,9 měsíců) a symptomaticky léčených nemocných (1,1 měsíců).

**Závěr:** Naše práce potvrdila možnost použití kurativního přístupu doposud pouze u výrazné menšiny starších pacientů. Nicméně jako jediná léčba jednoznačně zlepšuje přežívání této velké skupiny pacientů s AML. Do klinické praxe se v současné době dostávají nové léky mající potenciál zvýšit podíl kurativně léčených starších pacientů vč. možnosti provedení alogenní HSCT.

*Práce byla podpořena CELL a grantem MZ ČR – RVO (FNBr 65269705).*

## PROGNOSTICKÝ VÝZNAM DOSAŽENÍ KOMPLETNÍ REMISE PO JEDNOM VS. DVOU CYKLECH INDUKČNÍ CHEMOTERAPIE U DE NOVO AKUTNÍ MYELOIDNÍ LEUKÉMIE: ANALÝZA DAT Z DATABÁZE DATOOL-AML

Semerád L.<sup>1</sup>, Weinbergerová B.<sup>1</sup>, Nováková Z.<sup>1</sup>, Ráčil Z.<sup>2</sup>, Novák J.<sup>3</sup>, Sztokowski T.<sup>4</sup>, Kořístek Z.<sup>5</sup>, Jindra P.<sup>6</sup>, Pospíšil Z.<sup>7</sup>, Cetkovský P.<sup>2</sup>, Žák P.<sup>8</sup>, Mayer J.<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup> Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

<sup>3</sup> Interní hematologická klinika FN Královské Vinohrady, Praha

<sup>4</sup> Hemato-onkologická klinika FN Olomouc

<sup>5</sup> Klinika hematoonkologie FN Ostrava

<sup>6</sup> Hemato-onkologické oddělení, FN Plzeň

<sup>7</sup> Přírodovědecká fakulta, MU, Brno

<sup>8</sup> IV. interní hematologická klinika FN Hradec Králové

**Cíl:** Cílem práce bylo porovnání RFS a OS u nemocných s de novo AML, kteří dosáhli první kompletní remise po prvním (skupina CR I) versus druhém cyklu indukční chemoterapie (skupina CR II). Následně byl sledován vliv intenzity druhého cyklu indukční chemoterapie na přežití nemocných, kteří nedosáhli CR po prvním cyklu.

**Metody:** Retrospektivní analýza dat z celonárodní databáze DATOOL-AML zadaných v letech 2007–2019.

**Výsledky:** Indukční chemoterapie byla zahájena u 1 010 pacientů. Ve skupině CR I bylo celkem 631 (62,5 %) a ve skupině CR II 191 (18,9 %) nemocných. Medián věku byl 53 let (18–74); medián sledování od

stanovení diagnózy byl 25,6 měsíců (0,3–150,6). Ve skupině CR II byli více zastoupeni nemocní ve vysokém riziku dle ELN 2010 (26,4 vs. 14,0%;  $p = 0,001$ ) a méně zastoupeni nemocní v nízkém riziku (10,6 vs. 36,4%;  $p < 0,001$ ). Alogenní HSCT v první CR byla častěji indikována u nemocných ve skupině CR II (67,0 vs. 38,8%;  $p = 0,001$ ), zejména pak u nízké rizikových nemocných (57,9 vs. 14,4%;  $p < 0,001$ ). RFS ve 4 letech byl podobný ve skupině CR I vs. CR II (39,0 vs. 38,0 %;  $p = 0,179$ ); OS ve 4 letech byl vyšší ve skupině CR I oproti CR II (52,6 vs. 46,2 %;  $p = 0,069$ ).

RFS ve 4 letech u nemocných léčených v rámci druhé indukce režimem s vysokou dávkou cytarabinu byl srovnatelný se skupinou léčenou standardním režimem 3 + 7 (38,0 vs. 40,7 %;  $p = 0,449$ ), OS ve 4 letech byl 43,3 vs. 68,8 % ( $p = 0,267$ ).

**Závěr:** Neprokázali jsme signifikantní rozdíl v RFS ani OS mezi skupinou nemocných s dosaženou CR po prvním a druhém cyklu indukční chemoterapie. Výsledky analýzy mohou být ovlivněny signifikantně častějším použitím alogenní HSCT v první linii u pacientů s dosaženou CR až po druhé indukci.

Indukční režimy s vysokou dávkou cytarabinu podané v rámci druhého indukčního cyklu nevedly k signifikantnímu prodloužení RFS ani OS ve srovnání se standardním režimem 3 + 7.

	skupina CR I n (%)	skupina CR II n (%)	hodnota p
<b>celkem</b>	631	191	×
<b>ELN 2010 riziko</b>			
favorable	216 (36,4)	19 (10,6)	< 0,001
intermediate I	221 (37,3)	82 (45,8)	0,049
intermediate II	73 (12,3)	34 (19,0)	0,023
adverse	83 (14,0)	44 (24,6)	0,001
neznámo	38	12	×
Alo HSCT v 1. CR	245 (38,8)	128 (67,0)	0,001
favorable	31 (14,4)	11 (57,9)	< 0,001
intermediate I	107 (48,4)	55 (67,1)	0,004
intermediate II	38 (52,1)	23 (67,6)	0,147
adverse	45 (54,2)	33 (75,0)	0,023

# EXPERIMENTÁLNÍ A TRANSLAČNÍ HEMATOLOGIE

## VALIDACE PROGNOSTICKY VÝZNAMNÝCH ZMĚN METYLACE DNA U PACIENTŮ S AKUTNÍ MYELOIDNÍ LEUKÉMIÍ PŘI DIAGNÓZE

Šestáková Š.<sup>1</sup>, Cerovská E.<sup>1,2</sup>, Šálek C.<sup>1</sup>, Kundrát D.<sup>1</sup>, Ježíšková I.<sup>3</sup>, Mayer J.<sup>3</sup>, Ráčil Z.<sup>1</sup>, Remešová H.<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup> Přírodovědecká fakulta, UK, Praha

<sup>3</sup> Interní hematologická a onkologická klinika FN Brno

**Cíl:** U akutní myeloidní leukémie (AML) byla popsána řada změn na úrovni metylace DNA ve spojitosti s prognózou onemocnění. V klinické praxi jsou však zohledňovány pouze dobře zavedené a validované genetické či cytogenetické markery. Naším cílem bylo nezávisle validovat studie popisující vztah mezi DNA metylací konkrétních genů a jejich vlivem na celkové přežití (OS) a přežití bez relapsu (EFS).

**Metody:** Vybrali jsme 14 studií popisujících vliv metylace na prognózu AML (publikovaných mezi lety 2011–2019). Pomocí DNA metylačního panelu (Roche) jsme osekvenovali 27 genů (MiSeq, Illumina) u 178 non-APL diagnostických AML pacientů, kteří podstoupili indukční terapii v režimu 3 + 7. Statistická analýza byla provedena v R (4.0.0).

**Výsledky:** Při validaci jsme vycházeli z oblastí, které byly vyšetřovány v původních pracích. Výsledky získané studiem specifických podskupin (např. AML s normální cytogenetikou – CN-AML), jsme reprodukovali na stejném subtypu pacientů. Abychom výsledky považovali za úspěšně validované, musela být prokázána signifikance pomocí log rank testu i Coxovy regresní analýzy. Prognostickou roli DNA metylace jsme potvrdili pouze u 3 prací, a to pro 4 geny: *CEBPA* (OS:  $p = 0,01$ ; EFS:  $p = 0,02$ ), *PBX3* (EFS:  $p = 0,01$ ), *LZTS2* (OS:  $p = 0,05$ ; EFS:  $p = 0,0003$ ) a *NR6A1* (OS:  $p = 0,004$ ; EFS:  $p = 0,0003$ ). U všech těchto genů byla vyšší metylace ukazatelem delšího přežití. U jedné studie, která popisovala vliv snížené metylace genu *GPX3* na lepší prognózu, jsme odhalili pravý opak, tedy opět spojitost vyšší metylace *GPX3* s příznivým výsledkem léčby (OS:  $p = 0,006$ ; EFS:  $p < 0,0001$ ). Současná vyšší metylace *LZTS2* i *NR6A1* byla vysoce signifikantní pro přežití i ve skupině CN-AML (OS:  $p < 0,0001$ ; EFS:  $p < 0,0001$ ). Hladiny významnosti jednotlivých genů se vztahují k výstupům Coxovy multivariantační analýzy.

**Závěr:** Nezávislá validace prognosticky relevantních změn metylace DNA může pomoci k zavedení těchto slibných markerů do klinické praxe a pomoci přesněji stratifikovat pacienty dle jejich rizika.

Podpořeno projektem pro koncepční rozvoj výzkumné organizace financovaným MZČR (00023736, ÚHK).

## DETEKCE TRANSPOZIBILNÍCH ELEMENTŮ U HEMATOLOGICKÝCH MALIGNIT

Plevová K.<sup>1,2</sup>, Pavlová Š.<sup>1,2</sup>, Volakhava A.<sup>2</sup>, Krzyžánková M.<sup>1</sup>, Synáčková H.<sup>1</sup>, Jelínková H.<sup>1</sup>, Ženatová M.<sup>1</sup>, Bohúnová M.<sup>1</sup>, Loja T.<sup>2</sup>, Doubek M.<sup>1,2</sup>, Červinek L.<sup>1</sup>, Kotašková J.<sup>1,2</sup>, Mayer J.<sup>1,2</sup>, Pospíšilová Š.<sup>1,2</sup>, Mamedov I.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> FN Brno

<sup>2</sup> MU, Brno

**Cíl:** Transpozibilní elementy jsou repetitivní mobilní sekvence DNA, které mají schopnost replikovat se a začleňovat se na nová místa v genomu. V lidském genomu je většina těchto elementů tvořena tzv. retroelementy (REs), které se dále dělí do několika kategorií (např. LINE-1, Alu, SVA). Mobilita REs je regulována proteiny ORF1 a ORF2. Aktivita REs je jednou z významných příčin nestability genomu. Somatické transpozice vedoucí k aktivaci onkogenů byly popsány u solidních nádorů. Naším cílem bylo stanovit aktivitu a regulaci REs u hematologických malignit.

**Metody:** Pomocí cíleného NGS pro detekci inzercí REs z rodin Alu-Ya5, Alu-Yb8 a L1-HS jsme vyšetřili vzorky od pacientů s chronickou lymfocytární leukémií (CLL), akutní lymfoblastickou leukémií (ALL) a myelodysplastickým syndromem (MDS), a vzorky imortalizovaných nádorových linií. Kandidátní somatické inzercce jsme validovali pomocí nezávislé PCR. U nádorových linií (HL-60, DAMI) jsme testovali indukci proteinů ORF1/2 po působení azacytidinu. Expresi proteinů jsme detekovali metodami western blot, fluorescenční mikroskopie a průtokové cytometrie. U pacientů s MDS jsme také vyšetřili expresi ORF1 ve vzorcích kostní dřeně.

**Výsledky:** Dohromady jsme cíleným NGS vyšetřili 118 vzorků od 49 pacientů. U CLL jsme studovali výskyt nových inzercí po inaktivaci genu *TP53*, který reguluje aktivitu REs; testovali jsme párové vzorky se známým klonálním vývojem mutací *TP53*. U MDS jsme analyzovali párové vzorky v průběhu léčby azacytidinem, neboť demethylace genomu může vést k aktivaci REs. U ALL byly vyšetřeny diagnostické odběry. Ve 13 vzorcích (většina ALL) jsme našli kandidátní somatické inzercce, které však nebyly potvrzeny nezávislou PCR. Expresi proteinu ORF1 v nádorových liniích byla indukována po ošetření azacytidinem. Stejně tak byla detekována exprese ORF1 v myeloidních prekurzorech pacientů s MDS.

**Závěr:** Četnost somatických inzercí REs u hematologických malignit je nízká. Expresi proteinů regulujících REs může být zvýšená v důsledku terapie, avšak vznik nových inzercí je nejspíše utlumen jinými buněčnými mechanismy.

Podpořeno GAČR 19-11299S, MUNI/A/1595/2020, MZČR-RVO FNBr652 69705.

## LYNX (LYMPHOID NEXT-GENERATION SEQUENCING): NGS PANEL A BIOINFORMATICKÝ NÁSTROJ PRO INTEGRATIVNÍ ANALÝZU PROGNOSTICKÝCH A PREDIKTIVNÍCH MARKERŮ B-BUNĚČNÝCH LYMFOPROLIFERACÍ

Navrkalová V.<sup>1,2</sup>, Plevová K.<sup>1-3</sup>, Reigl T.<sup>2</sup>, Hynšt J.<sup>2</sup>, Pál K.<sup>2</sup>, Porc J.<sup>2</sup>, Marečková A.<sup>1</sup>, Jelínková H.<sup>1</sup>, Janíková A.<sup>1</sup>, Doubek M.<sup>1-3</sup>, Pospíšilová Š.<sup>1-3</sup>

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

<sup>2</sup> Lékařská genomika, CEITEC MU, Brno

<sup>3</sup> Ústav lékařské genetiky a genomiky, LF MU a FN Brno

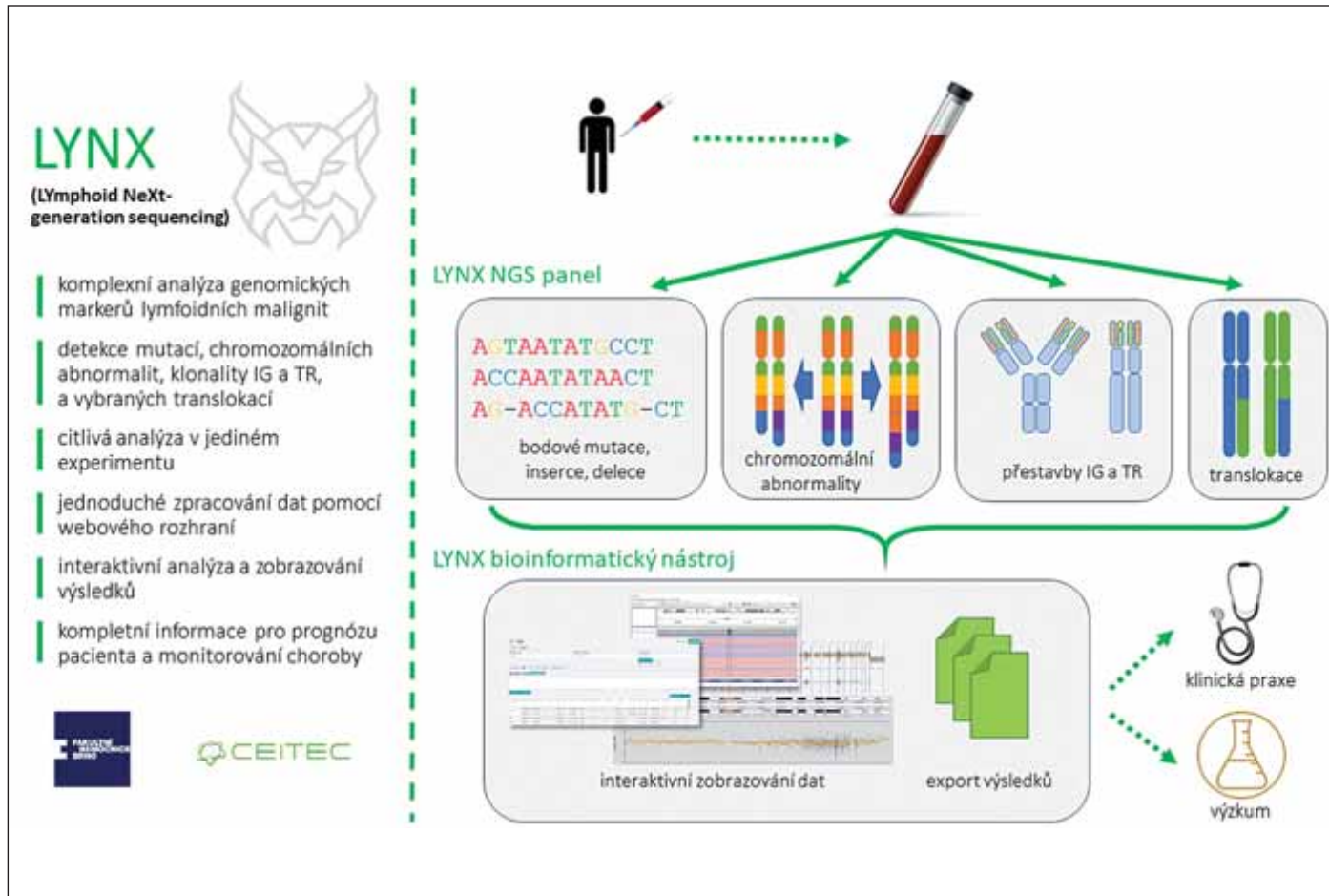
**Cíl:** Naším cílem bylo vytvořit komplexní přístup pro analýzu různých typů molekulárních markerů na úrovni DNA, které mají prokázány nebo potenciální klinický význam u nejčastějších B-buněčných malignit (CLL, ALL, MCL, DLBCL, FL). Řešení zahrnovalo vytvoření všestranného NGS panelu a příslušného bioinformatického nástroje s uživatelským rozhraním pro vyhodnocení získaných dat.

**Metody:** Panel LYNX je založen na obohacení cílových oblastí pomocí hybridizačních sond, které byly vyrobeny na zakázku (technologie SureSelect, Agilent). Umožňuje analýzu mutací v 70 genech, chromozomálních abnormalit (CNVs) napříč genomem, přestaveb imunoglobulinů (IG) a T-buněčného receptoru (TR) a klíčových lymfomových translokací. Jako výchozí materiál byla použita DNA

izolovaná z různých biologických vzorků (periferní krev, kostní dřeň, nativní tkáň, FFPE bločky) od pacientů s B-lymfoproliferací. Modulární bioinformatický nástroj je založen na vlastních výpočetních postupech a volně dostupných programech a bylo k němu vytvořeno webové uživatelské rozhraní pomocí javascriptových technologií.

**Výsledky:** Validace NGS panelu byla provedena na 84 vzorcích z různých diagnóz, které nesly široké spektrum aberací rozmanitého rozsahu a klonální proporce. Medián pokrytí cílových genů po deduplikaci byl 980x. Na základě výsledků validace lze shrnout, že panel umožňuje spolehlivou detekci: i) mutací s citlivostí 5 %, ii) rekurentních delecí 17p, 11q, 13q ( $\geq 300$  kb) a větších CNVs ( $\geq 6$  Mb) přítomných v minimálně 20 % buněk, iii) IG/TR přestaveb a iv) běžných translokací zahrnujících lokus IGH (CCND1/IGH, Bcl2/IGH, Bcl6/IGH, MYC/IGH), nicméně tato analýza prozatím vykazuje určité limity. Uživatelsky přívětivý interaktivní nástroj na vyhodnocení získaných dat umožňuje spuštění bioinformatické analýzy a přehlednou vizualizaci výsledků ve formě tabulek a dynamických obrázků pro snadnou interpretaci dat. Využití panelu a nástroje LYNX je shrnuto na obrázku.

**Závěr:** Úspěšně jsme navrhli a zavedli cílený NGS panel LYNX, který spolu s webovým nástrojem poskytuje komplexní řešení pro rutinní analýzu molekulárních markerů u B-buněčných lymfoproliferací. Podpořeno granty AZV NV19-03-00091, MZCR-RVO 65269705, TAČR ZETA TJ02000133.



## SPEKTRUM MUTACÍ A JEJICH PROGNOSTICKÝ VÝZNAM U 199 KONSEKUTIVNÍCH AML V ČR

Ráčil Z.<sup>1</sup>, Beličková M.<sup>1</sup>, Šrámek J.<sup>2</sup>, Jindra P.<sup>2</sup>, Weinbergerová B.<sup>3</sup>, Mayer J.<sup>3</sup>, Szotkowski T.<sup>4</sup>, Navrátilová J.<sup>4</sup>, Novák J.<sup>5</sup>, Hisemová M.<sup>1</sup>, Pecherková P.<sup>1</sup>, Veselá J.<sup>1</sup>, Cetkovský P.<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup>Hematologicko-onkologické oddělení, FN Plzeň

<sup>3</sup>Interní hematologická a onkologická klinika FN Brno

<sup>4</sup>Hemato-onkologická klinika FN Olomouc

<sup>5</sup>Hematologická klinika FN královské Vinohrady, Praha

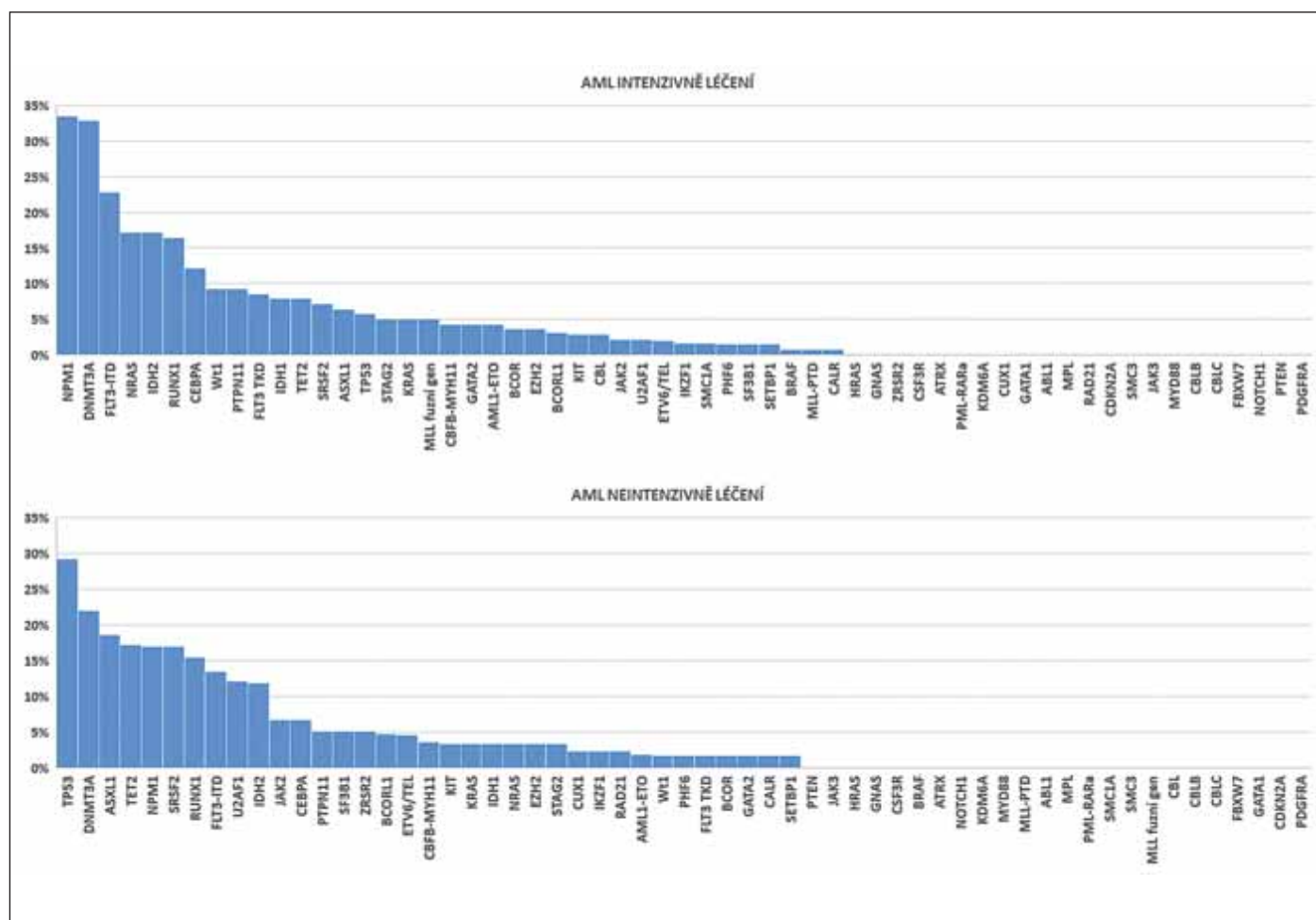
**Cíl:** Analýza spektra mutací u konsekutivně diagnostikovaných AML na hematologických centrech v ČR v letech 2019–2021. Analýza prognostického významu zachycených mutací u intenzivně léčených pacientů.

**Metody:** NGS analýza materiálu z kostní dřeně v době diagnózy AML. K analýze byly použity 3 typy NGS panelů s cut-off VAF  $\geq 5\%$ . Výsledky byly doplněny o výsledky konvenčních molekulárně biologických metod.

**Výsledky:** Ze 199 nemocných bylo 140 (70,4 %) léčeno intenzivně a 59 (29,6 %) neintenzivně. 42 (32 %) intenzivně léčených nemocných podstoupilo alogenní HSCT v 1. linii. Mutace byla zachycena u 95,5 % pacientů s průměrným počtem 2,8 mutací (1–7). Spektrum

nejčastějších mutací se významně lišilo mezi nemocnými léčenými intenzivně a neintenzivně (obrázek). Mutace v *NPM1*, *NRAS* a *WT1* byla signifikantně častější u nemocných podstupujících intenzivní léčbu ( $p = 0,0179$ ,  $0,0086$  a  $0,0588$ ), mutace v *TP53*, *ASXL1*, *TET2*, *U2AF1* a v celé skupině genů chromatin-spliceozom dohromady byly signifikantně častější ve skupině nemocných léčených neintenzivně ( $p < 0,0001$ ,  $0,0089$ ,  $0,0334$ ,  $0,0037$  a  $0,03621$ ). Medián sledování byl u intenzivně léčených nemocných 8,9 měsíce. Medián EFS, RFS a OS v této skupině byl 15,6, 16,7 a 21,9 měsíce. Z mutací a jejich kombinací, které se vyskytly u  $\geq 10\%$  intenzivně léčených nemocných (vč. vlivu FLT3-AR) byl potvrzen pouze signifikantně velmi negativní vliv mutace v *TP53* na EFS, RFS i OS ( $p < 0,0001$ ) a negativní vliv komutace *DNMT3A* u *NPM1* mutovaných nemocných na RFS ( $p = 0,0197$ ). U ostatních mutací a skupin mutací prognostický význam prokázán nebyl.

**Závěr:** Práce ukázala významnou odlišnost v molekulárně-biologickém podkladu AML u nemocných intenzivně a neintenzivně léčených, které mohou ovlivnit volbu léčebné strategie. S výjimkou mutace v *TP53* může být chybění prognostického vlivu způsobeno kratší dobou sledování, vyšším zastoupením alogenní HSCT v některých skupinách (FLT3-ITD) nebo cílenou léčbou (FLT3-ITD). U některých mutací považovaných za prognosticky nepříznivé musí být jejich reálný význam ještě validován (RUNX1, WT1, chromatin-spliceozom).



## IMPACT OF RARE, PROTEIN-ALTERING GERMLINE VARIANTS IN ATM GENE IN PATIENTS WITH CHRONIC LYMPHOCYTIC LEUKAEMIA

Petráčková A.<sup>1</sup>, Savara J.<sup>2</sup>, Turcsányi P.<sup>1</sup>, Gajdoš P.<sup>2</sup>, Kubová Z.<sup>1</sup>, Papajík T.<sup>1</sup>, Kriegová E.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>FN Olomouc

<sup>2</sup>Vysoká škola báňská – Technická univerzita Ostrava

**Aim:** Inherited rare variations in *ATM* gene have recently been shown to increase the risk of several cancers, including chronic lymphocytic leukaemia (CLL). Here, we aimed to elucidate the functional and clinical impact of rare variants in *ATM* gene in patients with chronic lymphocytic leukaemia (CLL), often reported as variants of uncertain significance (VUS) in diagnostics.

**Methods:** Full *ATM* coding sequence was analysed by next-generation sequencing of the whole blood DNA from 280 CLL patients and 98 age-/gender-matched healthy controls. Saliva DNA was used for germline/somatic origin assessment. Public sequencing data (445 tumour/normal pairs, EGAD00001001464) was used to confirm rare germline variants frequency in CLL. The functional impact of rare *ATM* variants was assessed by kinase *ATM* assay in CLL and T cells.

**Results:** Rare germline *ATM* variants occurred in 10% of CLL patients as demonstrated in our cohort (27/280) as well as public dataset (44/445). Regarding germline *ATM* variants, 6% of patients carried variants predicted pathogenic and 4% predicted benign. Patients with pathogenic variants had 3-times more likely unmutated *IGHV* and del(11q), with preferential loss of the wild-type allele, when compared to *ATM* predicted benign variants. Predicted pathogenic variants together with del(11q) resulted in complete loss of *ATM* activity in CLL cells as assessed by functional assay, while heterozygous variants lead to a partial decrease in *ATM* activity in CLL and T cells depending on the variant type. Predicted pathogenic variants did not associate with *TP53* disruption and somatic *ATM* mutations.

**Conclusion:** Our results demonstrate that ~6% of CLL patients carry rare germline pathogenic *ATM* variants, associated with unmutated *IGHV* and del(11q). The pathogenicity of these variants was demonstrated by the functional study.

Supported by IGA\_LF UP\_2021\_014, MH CZ – DRO (FNOI, 00098892).

## FOSFORYLACE PROTEINU P53: VLIV NA AKTIVITU DRÁHY P53 PO POŠKOZENÍ DNA U CHRONICKÉ LYMFOCYTÁRNÍ LEUKÉMIE

Pešová M.<sup>1,2</sup>, Mančíková V.<sup>1,2</sup>, Pavlová Š.<sup>1,2</sup>, Helma R.<sup>1,2</sup>, Malčíková J.<sup>1,2</sup>, Ženatová M.<sup>1</sup>, Hejret V.<sup>2</sup>, Tauš P.<sup>2</sup>, Kotašková J.<sup>1,2</sup>, Plevová K.<sup>1,2</sup>, Doubek M.<sup>1,2</sup>, Mayer J.<sup>1,2</sup>, Pospíšilová Š.<sup>1,2</sup>

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

<sup>2</sup>Středoevropský technologický institut, MU, Brno

**Cíl:** U chronické lymfocytární leukémie (CLL) jsou defekty genu *TP53* spojeny s agresivním onemocněním a špatnou prognózou. Funkčnost proteinu p53 však může být narušena i na jiné než genetické úrovni. p53 je silně regulován na posttranslační úrovni – nejčastěji fosforylacemi, které ovlivňují jeho stabilitu a aktivitu. U nádorů prsu bylo popsáno, že hypofosforylovaný wt-p53 vykazuje mutantní chování. Cílem projektu bylo zjistit, zda fosforylační stav proteinu p53 ovlivňuje jeho funkce také u CLL.

**Metody:** V primárních CLL buňkách s wt-*TP53* bylo doxorubicinem indukováno poškození DNA. Fosforylační stav p53 byl studován elektroforetickými metodami. Na základě fosforylačního stavu byly vybrány vzorky pro RNA sekvenování, které bylo rozšířeno i o vzorky s defekty v *TP53*. wt-*TP53* vzorky byly analyzovány pomocí cíleného NGS panelu genů pro lymfoidní malignity za účelem získání podrobnější genetické informace.

**Výsledky:** Poškození DNA vyvolané doxorubicinem v buňkách s wt-*TP53* vedlo ke vzniku dvou odlišně fosforylovaných profilů. Profil I je charakteristický vysokou mírou fosforylace p53, zatímco u vzorků z profilu II došlo pouze k nízké fosforylaci p53. Odlišná reakce na poškození DNA se odrazila i v rozdílech na úrovni transkripce. V profilu I došlo po ošetření doxorubicinem k aktivaci genů zapojených do p53 dráhy. U profilu II doxorubicin nevyvolal žádné signifikantní změny v expresi, čímž se tyto vzorky podobají vzorkům s mutovaným *TP53*. V bazálnímu stavu se jednotlivé skupiny také liší v aktivitě HIF-1 signální dráhy a v profilu II byly významně častěji detekovány defekty lokusu *ATM*.

**Závěr:** Naše studie naznačuje, že méně fosforylovaný p53 u wt-*TP53* vzorků vykazuje chování blízké *TP53* mutantům. Hypofosforylace p53 a s ní spojená nižší schopnost odpovídat na poškození DNA jsou pravděpodobně spojeny nejenom s mutacemi v *ATM*, ale i s vyšší bazální aktivitou HIF-1 signální dráhy u vzorků z profilu II.

Podpořeno GAČR 19-15737S, MZCR-RVO 65269705, MUNI/A/1595/2020.



## CML / MPN

### Ph-NEGATIVNÍ MYELOIDNÍ NEOPLÁZIE NA ČESKÝCH HEMATOLOGICKÝCH CENTRECH – REÁLNÁ DATA Z MIND

Podstavková N.<sup>1</sup>, Weinbergerová B.<sup>1</sup>, Palová M.<sup>2</sup>, Hluší A.<sup>2</sup>, Bělohávková P.<sup>3</sup>, Brejcha M.<sup>4</sup>, Stejskal L.<sup>5</sup>, Křístková Z.<sup>6</sup>, Nečasová T.<sup>6</sup>, Hurdálková K.<sup>6</sup>, Panovská A.<sup>1</sup>, Brychtová Y.<sup>1</sup>, Červínek L.<sup>1</sup>, Horáčková M.<sup>1</sup>, Král Z.<sup>1</sup>, Žák P.<sup>3</sup>, Faber E.<sup>2</sup>, Doubek M.<sup>1</sup>, Mayer J.<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup> Hemato-onkologická klinika LF UP a FN Olomouc

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

<sup>4</sup> Komplexní onkologické centrum Nový Jičín

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

<sup>6</sup> Institut biostatistiky a analýz s.r.o, Brno

**Cíl:** Cílem naší práce byla analýza dat pacientů s Ph-negativními myeloidními neopláziemi (Ph-MPN) zařazených do databáze MIND, projektu České leukemické skupiny pro život (CELL).

**Metody:** Provedli jsme retrospektivní analýzu epidemiologie, diagnostiky, léčby a přežívání případů Ph-MPN diagnostikovaných dle WHO kritérií z roku 2016 na 5 českých hematoonkologických centrech zadaných v letech 2013–2020 do MIND.

**Výsledky:** Celkem bylo analyzováno 641 případů, medián sledování byl 35 měsíců. Nejvíce byla zastoupena pravá polycytémie (PV – 34 %), primární myelofibróza (PMF – 31 %) a esenciální trombocytémie (ET – 22 %). Z doprovodných symptomů při stanovení diagnózy dominovaly únava (52 %), noční pocení (32 %) a snížená aktivita (30 %). Nejčastější komplikace v době diagnózy představovaly trombotické (22 %) a krvácivé (10 %) bez signifikantního rozdílu mezi typy Ph-MPN ( $p > 0,05$ ). U PV byla v 1. i 2. linii léčby nejčastěji podávána hydroxyurea (72 a 65 %), u ET v obou liniích anagrelid (52 a 82 %), u PMF v 1. linii hydroxyurea (70 %) a ve 2. linii ruxolitinib (30 %). Pouze 3 % MF podstoupila alogenní transplantaci krvetvorné tkáně. Leukemickou transformaci rozvinula 3 % Ph-MPN. Zemřelo 17 % pacientů, dominantně PMF (53 %). Medián celkového přežití (OS) nebyl dosažen u ET, na rozdíl od nejkratšího mediánu u sekundární MF (2,5 roku). U PMF měly nejkratší OS starší pacienti, s vyšším IPSS a JAK2 V617F pozitivní.

**Závěr:** Naše analýza potvrzuje vysokou četnost příznaků zhoršujících kvalitu života pacientů s Ph-MPN. Trombotické a krvácivé události v době diagnózy provázely PV, ET i PMF bez signifikantního rozdílu v četnosti. Nejdéle přežívali pacienti s ET na rozdíl od MF s nejvyšší incidencí leukemické transformace a nejkratší křivkou přežívání. Vyšší věk, vyšší IPSS a přítomnost JAK2 V617F se projeví jako faktory vedoucí k horšímu přežívání pacientů s PMF.

Práce byla podpořena CELL, grantem MUNI/A/1595/2020 a grantem MZ ČR – RVO (FNBr 65269705).

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

Žáčková D.<sup>1</sup>, Faber E.<sup>2</sup>, Stejskal L.<sup>3</sup>, Karas M.<sup>4</sup>, Bělohávková P.<sup>5</sup>, Klamová H.<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>, Kvetková A.<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>6</sup>, Ježíšková I.<sup>1</sup>, Jurček T.<sup>1</sup>, Borský M.<sup>1</sup>, Wiewiorka 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> Klinika hematoonkologie LF OU a FN Ostrava

<sup>4</sup> Hematoonkologická klinika LF UK a FN Plzeň

<sup>5</sup> IV. Interní hematologická klinika LF UK a FN Hradec Králové

<sup>6</sup> Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

<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> Ústav laboratorní diagnostiky – oddělení klinické biochemie, FN Brno

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

**Cíl:** Zhodnotit účinnost a bezpečnost vysazení inhibitorů tyrozinkináz (TKI) po předchozí dvoustupňové redukci dávky, tj. na polovinu standardní dávky v prvním půlroce a s intermitentním podáváním těžší dávky v dalším půlroce, u pacientů s CML v hluboké molekulární odpovědi (DMR) zařazených do akademické studie fáze II (HALF, ClinicalTrials.gov NCT04147533, obrázek).

**Metody:** Provedena deskriptivní analýza dat prvních 74 pacientů zařazených do studie v období 1/6/2020–30/4/2021 ve 3 z 8 participujících center: FNB, FNOL a FNO.

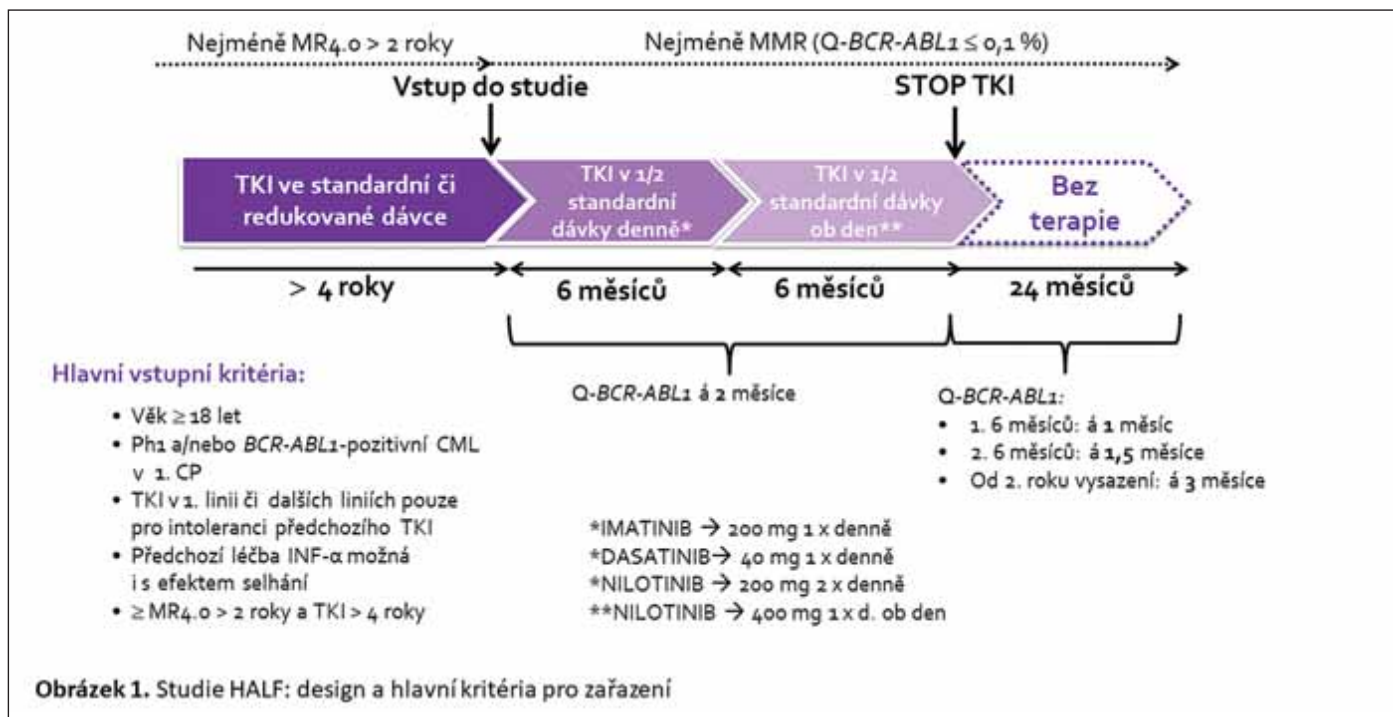
**Výsledky:** Soubor 74 pacientů (37 mužů a 37 žen), s mediánem věku při diagnóze 53 let (rozmezí, 23-74) a v době vstupu do studie 67 let (rozmezí, 35–86), dělal od diagnózy po vstup do studie interval v mediánu 9,9 let (rozmezí, 4,4–22,5). V době diagnózy bylo 62,2 % pacientů v kategorii nízkého, 21,6 % středního a 13,5 % vysokého rizika dle ELTS skóre. Celkem 85,1 % pacientů dosáhlo poklesu hladiny BCR-ABL1 transkriptů  $\leq 10$  % v IS po 3 měsících terapie TKI. Před vstupem byli pacienti léčeni TKI v mediánu délky trvání 9,8 let (rozmezí, 4,2–20,2), s DMR trvající v mediánu 7,3 let (rozmezí 3,2–18,3). Léčba interferonem- $\alpha$  předcházela TKI u 13,5 % pacientů. Při vstupu bylo 79,5 % pacientů léčeno imatinibem, 13,7 % nilotinibem a 6,8 % dasatinibem, přičemž u 86,3 % pacientů se jednalo o léčbu v první, u 9,6 % ve druhé a 4,1 % ve třetí linii. Dávka TKI byla již při vstupu redukována u 49 % pacientů. V době analýzy postoupilo 41,9 %

pacientů do druhé fáze de-eskalace a dosud žádný do fáze vysazovací. Vyjma 2 případů ztráty DMR nebyla zaznamenána žádná molekulární rekurence, tj. ztráta MMR, ani projevy podobné syndromu z vysazení.

**Závěr:** Navzdory pandemii onemocnění COVID-19 se podařilo do studie zařadit 74 pacientů a nábor dále intenzivně pokračuje.

Postupná redukce dávky TKI se dosud jeví být účinným a bezpečným postupem.

Podpořeno prostřednictvím MŠMT projekty VI CZECRIN (LM2018128) a CZECRIN\_4PATIENTS (CZ.02.1.01/0.0/0.0/16\_013/0001826).



## CÉVNÍ NEŽÁDOUCÍ ÚČINKY U PACIENTŮ S CHRONICKOU MYELOIDNÍ LEUKEMIÍ PŘI TERAPII INHIBITORY TYROZINKINÁZ V KAŽDODENNÍ KLINICKÉ PRAXI – ANALÝZA Z DATABÁZE INFINITY

Čičátková P.<sup>1</sup>, Klamová H.<sup>2</sup>, Bělohávková P.<sup>3</sup>, Stejskal L.<sup>4</sup>, Křístková Z.<sup>5</sup>, Baranová J.<sup>5</sup>, Kvetková A.<sup>1</sup>, Horňák T.<sup>1</sup>, Semerád L.<sup>1</sup>, Minařík R.<sup>1</sup>, Procházková J.<sup>1</sup>, Mayer J.<sup>1,6</sup>, Žáčková D.<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup> Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

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

<sup>4</sup> Klinika hematologie LF OU a FN Ostrava

<sup>5</sup> Institut biostatistiky a analýz, s.r.o., Brno

<sup>6</sup> Středoevropský technologický institut (CEITEC), MU, Brno

**Cíl:** Analyzovat výskyt cévních NÚ u pacientů s CML při terapii TKI v klinické praxi.

**Metody:** Byla provedena retrospektivní analýza dat z klinické praxe získaných cestou databáze INFINITY. Mezi pacienty léčenými jednotlivými TKI byl porovnáván výskyt cévních NÚ definovaných jako kardiovaskulární nebo cerebrovaskulární postižení, plicní arteriální hypertenze, periferní arteriální uzávěry a žilní trombotické postižení. K porovnávání v rámci léčebné linie byl využit Fisherův exaktní test s hladinou významnosti 0,05. Při vícená-

sobním porovnávání byla p-hodnota adjustována Bonferroniho korekcí.

**Výsledky:** V období 01/2005–08/2020 byla CML diagnostikována u 1 029 pacientů ve 4 hematologických centrech ČR (IHOK FNB, ÚHKT, HOK FNHK a KOH FNO). Z nich bylo léčeno TKI a zároveň mělo validní záznamy 1 007 pacientů. V chronické fázi (CP) bylo diagnostikováno 95,7 % a v akcelerované (AP) nebo blastické fázi (BP) 4,2 % pacientů. Alespoň 1 rizikový faktor (RF) predisponující k vzniku cévních NÚ byl přítomen u 668 pacientů (76,5 % z 873 hodnocených). Nejčastější RF zahrnovaly nadváhu a obezitu (53,7 %), arteriální hypertenzi (41,2 %), dyslipidémii (19,1 %), kouření (17,6 %) a diabetes mellitus (15,5 %). Během léčby TKI byl cévní NÚ diagnostikován u 76 pacientů v CP (tabulka). Dle očekávání byly cévní NÚ nejčastější u pacientů léčených ponatinibem (12,5 %) a nilotinibem (10,0 %). Při léčbě 1. linie se vyskytl alespoň 1 cévní NÚ u 54 pacientů (5,7 %). Statisticky významný rozdíl v neprospěch nilotinibu byl zaznamenán při jeho porovnání s imatinibem jak u výskytu kardiovaskulárních (2,4 vs. 6,4 %;  $p = 0,021$ ), cerebrovaskulárních (0,9 vs. 4,8 %;  $p = 0,004$ ) i periferních vaskulárních NÚ (0,2 vs. 4,0 %;  $p = 0,001$ ).

**Závěr:** Cévní NÚ jsou potenciálně závažnou, a ne ojedinělou komplikací mnohdy celoživotní terapie pomocí TKI a je třeba je zohlednit při výběru přípravku pro daného pacienta.

Práce byla podpořena grantem číslo MUNI/A/1595/2020.

## Výskyt cévních NÚ v chronické fázi CML při terapii TKI.

	imatinib (n = 848)	nilotinib (n = 260)	dasatinib (n = 211)	bosutinib (n = 14)	ponatinib (n = 24)	celkem (n = 967)
	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
kardiovaskulární NÚ	21 (2,5 %)	11 (4,2 %)	6 (2,8 %)	0 (0,0 %)	1 (4,2 %)	37 (3,8 %)
cerebrovaskulární NÚ	9 (1,1 %)	8 (3,1 %)	1 (0,5 %)	0 (0,0 %)	1 (4,2 %)	18 (1,9 %)
žilní trombembolické NÚ	9 (1,1 %)	0 (0,0 %)	3 (1,4 %)	0 (0,0 %)	0 (0,0 %)	12 (1,2 %)
periferní vaskulární NÚ	3 (0,4 %)	9 (3,5 %)	1 (0,5 %)	1 (7,1 %)	0 (0,0 %)	13 (1,3 %)
plicní arteriální hypertenze	2 (0,2 %)	2 (0,8 %)	2 (0,9 %)	0 (0,0 %)	1 (4,2 %)	7 (0,7 %)
vaskulární NÚ celkem	41 (4,8 %)	26 (10,0 %)	11 (5,2 %)	1 (7,1 %)	3 (12,5 %)	76 (7,9 %)

CML – chronická myeloidní leukémie, NÚ – nežádoucí účinky, TKI – inhibitory tyrozinkinázy

## VLIV PŘÍDATNÝCH CYTOGENETICKÝCH ABNORMALIT ZJIŠTĚNÝCH PŘI DIAGNÓZE CHRONICKÉ MYELOIDNÍ LEUKÉMIE NA PROGNÓZU – ANALÝZA Z DATABÁZE INFINITY

Čičátková P.<sup>1</sup>, Jarošová M.<sup>1</sup>, Žáčková D.<sup>1</sup>, Mazalová M.<sup>2</sup>, Klamová H.<sup>3</sup>, Ransdorfová Š.<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>, Cmunt E.<sup>7</sup>, Černá O.<sup>8</sup>, Pavlík T.<sup>2</sup>, Mayer J.<sup>1,9</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 (CEITEC), MU, Brno

**Cíl:** Analyzovat vliv přídatných cytogenetických abnormalit (*additional cytogenetic abnormalities* – ACAs) zjištěných při diagnóze CML na prognózu pacientů léčených TKI v klinické praxi.

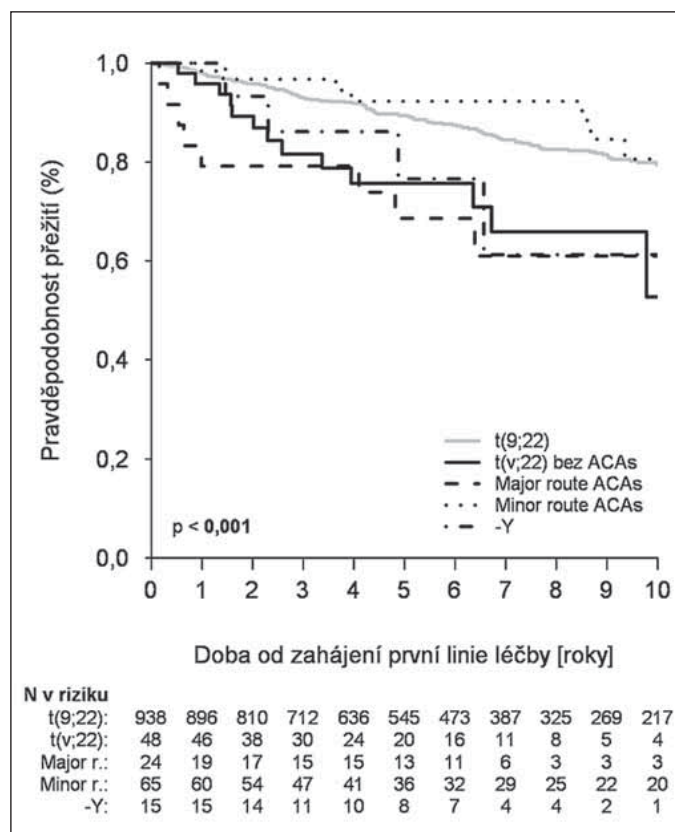
**Metody:** Byla provedena retrospektivní analýza dat z klinické praxe získaných cestou databáze INFINITY. K porovnávání mezi jednotlivými skupinami byly využity Mantel-Haenszelův log-rank test – celkové přežití (OS), přežití bez progresu (PFS) nebo Grayův test – dosažení CCyR a MMR, specifické přežití (hodnotící pouze úmrtí v důsledku CML a její léčby) s hladinou významnosti 0,05.

**Výsledky:** V ČR byla v období 01/2005–12/2019 diagnostikována CML v chronické fázi u 1 319 pacientů. Z nich 1 090 bylo v první linii léčeno imatinibem (n = 940) nebo nilotinibem (n = 150) a mělo validní záznamy. Izolovaná t(9;22) byla přítomna u 938 (86 %), variantní translokace u 48 (4,4 %), *major route* ACAs (+Ph, +8, i17q a +19) u 24 (2,2 %), *minor route* ACAs (všechny ostatní ACAs s výjimkou –Y) u 65 (6,0 %) a –Y u 15 pacientů (1,4 %). Pětiletý OS byl v jednotlivých skupinách 89,4 %, 75,7 %, 68,6 %, 92,3 % a 76,6 % (obrázek; p < 0,001). 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). 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. U pacientů s *major route* ACAs při diagnóze je ke zvážení intenzifikace léčby v první linii.

Práce byla podpořena grantem číslo MUNI/A/1595/2020.



## HODNOCENÍ ÚČINNOSTI A BEZPEČNOSTI LÉČBY IMATINIBEM VS. NILOTINIBEM V PRVNÍ LINII U PACIENTŮ S CHRONICKOU MYELOIDNÍ LEUKÉMIÍ – ANALÝZA DAT Z REGISTRU INFINITY

Bělohávková P.<sup>1</sup>, Žáčková D.<sup>2</sup>, Klamová H.<sup>3</sup>, Faber E.<sup>4</sup>, Karas M.<sup>5</sup>, Stejskal L.<sup>6</sup>, Cmunť E.<sup>7</sup>, Černá O.<sup>8</sup>, Jurková T.<sup>9</sup>, Křístková Z.<sup>9</sup>, Žák P.<sup>1</sup>, Mayer J.<sup>2,10</sup>

<sup>1</sup> IV. Interní hematologická klinika LF UK a FN Hradec Králové

<sup>2</sup> Interní hematologická a onkologická klinika LF MU a FN Brno

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

<sup>4</sup> Hematoonkologická klinika LF UP a FN Olomouc

<sup>5</sup> Hematoonkologická klinika LF UK a FN Plzeň

<sup>6</sup> Klinika hematoonkologie LF OU a FN Ostrava

<sup>7</sup> 1. Interní klinika – klinika hematologie 1. LF UK a VFN v Praze

<sup>8</sup> Interní hematologická klinika 3 LF UK a FN Královské Vinohrady, Praha

<sup>9</sup> Institut biostatistiky a analýz, s.r.o., Brno

<sup>10</sup> Středoevropský technologický institut (CEITEC), MU, Brno

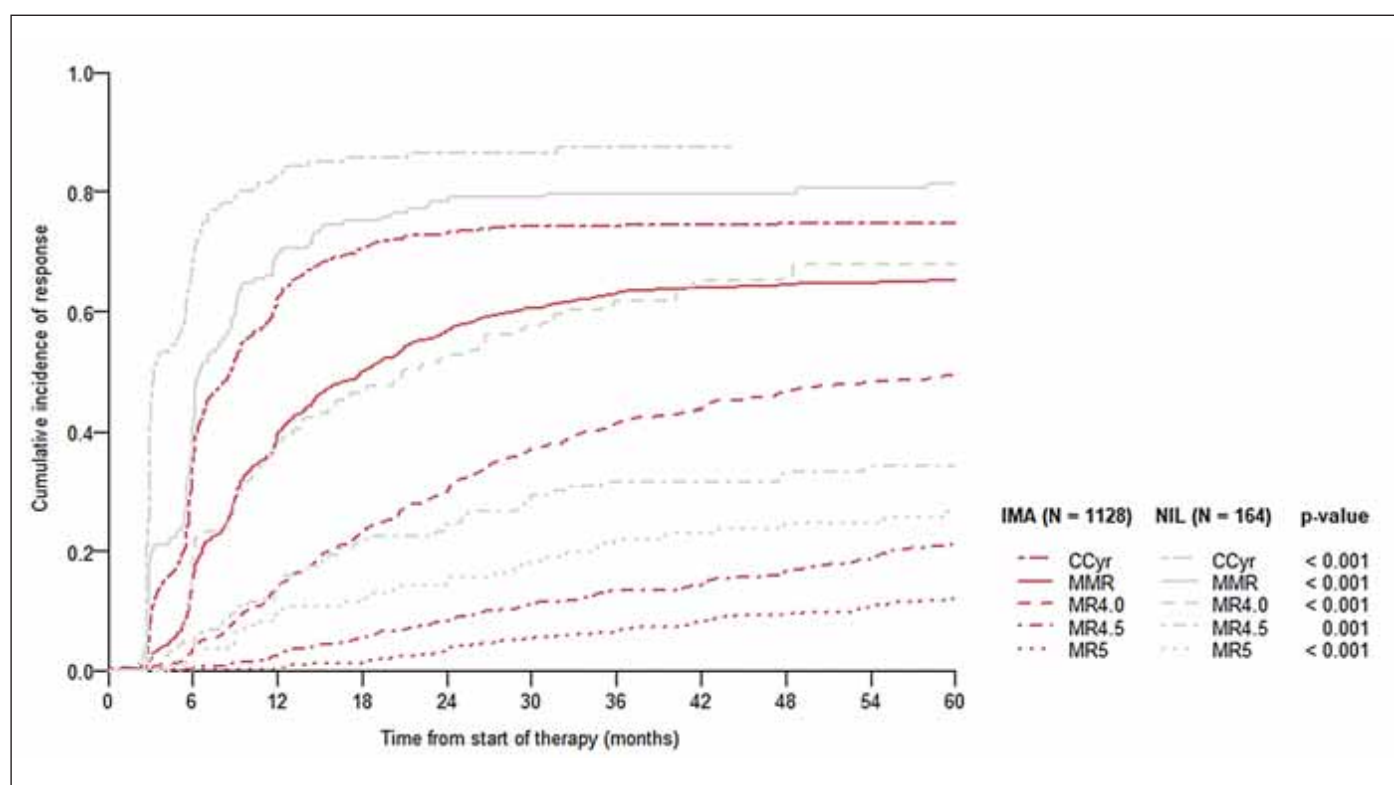
**Cíl:** Provést analýzu výsledků léčby pacientů s chronickou myeloidní leukémií v chronické fázi (CML-CP) léčených v první linii imatinibem (IMA) nebo nilotinibem (NILO).

**Metody:** Z databáze INFINITY byla provedena retrospektivní analýza pacientů s CML-CP, kteří byli diagnostikováni v období

1/2005–12/2020. V první linii 1 128 pacientů obdrželo léčbu IMA a 164 pacientů léčbu NILO. Medián doby sledování všech pacientů byl 64,3 měsíce (M) (IMA 69,6 M vs. NILO 56,0 M). Medián věku celého souboru v době diagnózy byl 57 let (18–91 let), nižší byl medián věku pacientů léčených NILO (46 let). U skupiny léčené NILO byl mírně vyšší podíl zastoupení vyšších prognostických rizikových skupin (např. ELTS 18,9 % vs. 14,7 % u IMA).

**Výsledky:** Dosažení hodnocených odpovědí CCyR, MMR, MR4,0, MR4,5 bylo ve všech hodnocených časech jednoznačně ve prospěch léčby NILO (graf). Celkové přežití (OS) pacientů v 5 letech léčených IMA bylo 86,8 % (95% CI: 84,6–89,0) vs. 94,3 % (95% CI: 90,5–98,3) u skupiny NILO, přežití bez progresu (PFS) v 5 letech bylo 86,1 % (95% CI: 83,9–88,4) u IMA a 93,5 % (95% CI: 89,7–97,5) u NILO. Celkový výskyt rozvoje hematologické toxicity všech stupňů ve skupině pacientů léčených IMA a NILO byl srovnatelný, dokonce v mírně prospěch léčby NILO (48,2 vs. 43,3 %). U pacientů léčených IMA k nečastějším projevům nehematologické toxicity patřil rozvoj periferních otoků (25,3 %), svalové křeče a bolesti (14,9 %; 12,5 %), a u pacientů léčených NILO se nejčastěji objevila vyrážka (21,9 %) či únava (15,2 %).

**Závěr:** Naše analýza prokázala rychleji dosažené a hlubší cytogenetické a molekulární odpovědi u pacientů na léčbě NILO. Výskyt hematologické a nehematologické toxicity byl srovnatelný. Léčba NILO v první linii u pacientů mladších, vysokého rizika s přihlédnutím na komorbidity představuje účinnou a bezpečnou alternativu terapie.



## ANALÝZY HLADINY BCR-ABL1 NA ÚROVNI MRNA A DNA U PACIENTŮ S RARITNÍMI PŘESTAVBAMI BCR-ABL1 UKAZUJÍ NA MOŽNOSTI VYSAZENÍ LÉČBY TKI

Žižková H.<sup>1</sup>, Vajnerová R.<sup>1</sup>, Benešová A.<sup>1</sup>, Koblíhová J.<sup>1</sup>, Klamová H.<sup>1</sup>, Srbová D.<sup>1</sup>, Motlová E.<sup>1</sup>, Fava C.<sup>2</sup>, Petiti J.<sup>3</sup>, Gottardi E. M.<sup>3</sup>, Saglio G.<sup>2</sup>, Machová Poláková K.<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup>Department of Clinical and Biological Sciences, University of Turin, Turin, Itálie

<sup>3</sup>Laboratory of Medicine and Hematology, A.O.U. San Luigi Gonzaga, Turin, Itálie

**Úvod:** Na základě doporučení European LeukemiaNet lze u pacientů s CML vysadit léčbu inhibitory tyrosinových kináz (TKI), nicméně pouze u pacientů s major BCR-ABL1 přestavbami se standardizovaným monitorováním hladiny transkriptu.

**Cíl:** Cílem mezinárodní studie EUTOS2018 je porovnat hladiny BCR-ABL1 na úrovni mRNA a DNA měřené metodami qPCR a ddPCR a vyhodnotit DNA/mRNA status pacientů s raritními BCR-ABL1 transkripty dosahujících DMR s ohledem na možnost vysazení léčby.

**Metody:** Párové vzorky periferní krve 9 pacientů (e19a2=5; e13a3=2; e1a2=1; e6a2=1) s mediánem sledování 90 měsíců (20–225 měsíců) byly měřeny metodami qPCR (n = 223) a ddPCR (n = 188). Šest

pacientů dosáhlo DMR (4xe19a2, 1xe13a3, 1xe6a2). Pro hodnocení MRD statusu byl aplikován deterministický model.

**Výsledky:** Hladiny mRNA a DNA BCR-ABL1ReIDG signifikantně korelují v období po zahájení léčby do dosažení DMR. Rozdíly byly detekovány na hladinách DMR u 75/223 vzorků měřených qPCR a u 62/188 vzorků měřených ddPCR s vyšší citlivostí detekce DNA-BCR-ABL1. U 203/220 vzorků byla měřena BCR-ABL1 mRNA/DNA oběma metodami s rozdíly u 39/36 vzorků s hladinami  $< 10^{-4}$  s vyšší citlivostí při použití metody ddPCR. Byl stanoven MRD status 6 pacientů, kteří dosáhli DMR: 1 pacient – RNA/DNA negativní, 3 pacienti – DNA pozitivní/RNA negativní a 2 pacienti – RNA/DNA pozitivní.

**Závěr:** Podobně jako u pacientů s transkripty BCR-ABL1 major, i u pacientů s raritními přestavbami hodnoty mRNA a DNA BCR-ABL1 vyšší než  $10^{-4}$  spolu významně korelují. Rozdíly jsou zřejmé na hladinách DMR, kdy většina vzorků kvantifikovatelná nebo pozitivní nekvantifikovatelná (POQR) na úrovni DNA je mRNA POQR nebo negativní. ddPCR v porovnání s qPCR byla přesnější při detekci a kvantifikaci BCR-ABL1 na hladinách DMR. Na základě stratifikačního modelu byla stanovena pravděpodobnost TFR po zastavení léčby – 1 pacient vysoká, 3 pacienti střední, 2 pacienti nízká. Zastavení TKI léčby se jeví bezpečně i pro pacienty s raritními přestavbami BCR-ABL1, zejména s použitím DNA-ddPCR.

Podpořeno EUTOS2018, MZCR 00023736.

# MYELOYDYSPLASTICKÝ SYNDROM

## DESET LET ČESKÉHO REGISTRU PRO MYELOYDYSPLASTICKÝ SYNDROM: ANALÝZA DAT, NAŠE ZKUŠENOSTI.

Jonášová A.<sup>1</sup>, Bělohávková P.<sup>2</sup>, Červinek L.<sup>3</sup>, Baranová J.<sup>4</sup>, Čermák J.<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Hematologie, I. interní klinika 1. LF UK a VFN v Praze

<sup>2</sup>Hematologie, FN Hradec Králové

<sup>3</sup>Hematologie, FN Brno

<sup>4</sup>Institut biostatistiky a analýz s.r.o, Brno

<sup>5</sup>Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

**Cíl:** Cílem naší práce je celková obsáhlejší analýza dat po 10 letech existence Českého registru pro myelodysplastický syndrom (MDS) (MYDYS), který byl iniciován 2010. Data odrážejí velmi dobře problematiku MDS v běžné praxi.

**Metody:** V registru jsme se zaměřili specificky na analýzy nemocných léčených azacitidinem a lenalidomidem, jakožto prvními převratnými léčebnými možnostmi v době zahájení registru. Český MDS registr je spravován a pravidelné analýzy jsou prováděny ve spolupráci s Institutem biostatistiky a analýz (IBA). Zadávání dat se účastní 9 universitních center a 13 menších hematologických center.

**Výsledky:** Dosud byla do registru zadána data 1 811 nemocných s pravidelným ročním přírůstkem od 150 do 200 nemocných. Z finální analýzy bylo vyřazeno 201 nemocných, u nichž nebyly záznamy kompletní. Hodnotíme 1 610 pacientů. Medián věku je 70 let (rozsah 19–91), 56,1 % tvoří muži. Maximum výskytu je ve věku 70–74 s incidencí 23,7/100 000 u mužů a 22/100 000 u žen. V době analýzy bylo 52 % nemocných zemřelých. Hlavními příčinami úmrtí je progresse onemocnění 34,6 %, AML transformace 14,5 %, komorbidity 39,1 %, infekce 17,7 % a překvapivě jen 2 % nemocných zemřelo na krvácení. Vedoucí diagnózy podle WHO klasifikace 2016 jsou: MDS-MLD (27,3 %) a EB II (24,3 %). Primárních MDS bylo 86,5 %. Kompletní cytogenetická data jsou k dispozici u 1 368 pacientů. Podle IPSS-R je rozložení podle karyotypu 68 % velmi příznivý a příznivý karyotyp, 13,7 % střední a 18,3 % nepříznivý a velmi nepříznivý. Celkově v terapeutických postupech v dominují transfuze cca 40 %, erythropoetin 20 % a azacitidin 49 %. Pouze 6 % bylo v době analýzy alogenně transplantováno. Mediány OS jsou analyzovány podle skórovacích systémů, terapeutických postupů a podle WHO klasifikace 2016, kde v jednotlivých podskupinách je medián OS: nemocní s izolovanou del(5q) 105, MDS-RS (MLD a SLD) 58,2, MDS-MLD 49,4, CMML 24,7, EB I 23,2 a EB II 15,6 měsíců. Nemocní léčení azacitidinem mají v ČR medián OS 14,6 měsíců od zahájení terapie. Podrobnější analýzy přežívání zvláště u nemocných léčených azacitidinem

sledují vliv cytogenetiky, počtu blastů, cytopenií, dávek, frekvencí terapie atd.

**Závěr:** Naše výsledky velmi dobře korespondují s daty jiných velkých registrů. Poskytují údaje velkého souboru nemocných a odrážejí dobře současnou situaci v epidemiologii, incidenci, terapii, průběhu onemocnění a problematiku MDS v běžné praxi. Dokládají jak komplikované, a ještě stále obtížně řešitelné toto onemocnění je.

## VÝSLEDKY ALOGENNÍ TRANSPLANTACE PACIENTŮ S MYELOYDYSPLASTICKÝM SYNDROMEM – ZKUŠENOSTI PRACOVÍŠTĚ

Bělohávková P., Vrbacký F., Smolej L., Radocha J., Lánská M., Víšek B., Kupsa T., Zavřelová A., Žák P.

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

**Úvod:** Alogenní transplantace krvetvornými buňkami (HSCT) představuje jedinou kurativní metodu léčby pro pacienty s myelodysplastickým syndromem (MDS). Některé faktory ovlivňující výsledky HSCT jsou známé, ale hledají se další parametry s cílem zlepšení dlouhodobých výsledků HSCT.

**Metody:** Provedli jsme analýzu výsledků 47 pacientů s MDS, kteří podstoupili HSCT. Zaměřili jsme se na prediktivní faktory ovlivňující celkové přežití (OS), rozvoj relapsů, infekcí a výskyt graft versus host disease (GvHD). Medián věku pacientů v souboru je 58 let (26–68 let) v době HSCT a medián doby od diagnózy k HSCT byl 5 měsíců (M) (2–42 M).

**Výsledky:** Potvrdili jsme vliv předtransplantační hodnoty blastů ve dřeni < 5 %, ( $p = 0,006$ ), hodnoty IPSS-R ( $p = 0,041$ ) a cytogenetického nálezu ( $p = 0,009$ ) na OS, naopak význam HCT-CI na výsledky OS ( $p = 0,23$ ) nebyl prokázán. Z biologických parametrů jsme neprokázali vliv předtransplantační elevace hodnoty feritinu ( $> 1 000 \mu\text{g/ml}$ ) ani zvýšené hodnoty C-reaktivního proteinu (CRP) ( $> 5 \text{ mg/l}$ ) na OS. Byla zjištěna pozitivní prediktivní hodnota zvýšené laktátdehydrogenázy (LDH) ( $> 4,22 \mu\text{kat/l}$ ) na OS ( $p = 0,04$ ) i přes nález remise onemocnění ve dřeni. U pacientů s předtransplantační vysokou hodnotou LDH byl prokázán častější výskyt relapsů ( $p = 0,006$ ). Naopak pacienti s elevací CRP měli jasně vyšší výskyt obou forem GvHD ( $p = 0,042$ ;  $p = 0,009$ ) a rovněž vyšší výskyt závažných infekcí ( $p = 0,02$ ).

**Závěr:** Naše analýza potvrdila význam tradičních prognostických faktorů na výsledky HSCT (počet blastů, IPSS-R a cytogenetický nález), neprokázali jsme však vliv HCT-CI. Z biologických markerů jsme přesvědčivě prokázali vliv LDH na OS a výskyt relapsů, naopak elevace CRP se zdá být spjata s vyšším rizikem rozvoje GvHD či infekcí.

## MUTACE V GENU *RUNX1* PŘÍSPÍVAJÍ K RYCHLÉ PROGRESI ONEMOCNĚNÍ NARUŠENÍM BUNĚČNÝCH TUMOR-SUPRESOROVÝCH MECHANISMŮ U MDS PACIENTŮ S NIŽŠÍM RIZIKEM

Kaisrlíková M.<sup>1,2</sup>, Veselá J.<sup>1</sup>, Vostrý M.<sup>1</sup>, Votavová H.<sup>1</sup>, Dostálová Merkerová M.<sup>1</sup>, Kunderát D.<sup>1</sup>, Soukupová Maaloufová J.<sup>3</sup>, Mertová J.<sup>3</sup>, Lauermannová M.<sup>3</sup>, Zemanová Z.<sup>4</sup>, Jonášová A.<sup>5</sup>, Čermák J.<sup>6</sup>, Beličková M.<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup> 1. LF UK, Praha

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

<sup>4</sup> Centrum nádorové cytogenetiky, Ústav lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky, 1. LF UK a VFN v Praze

<sup>5</sup> 1. interní klinika 1. LF UK a VFN v Praze

<sup>6</sup> Laboratoř anémií, Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

**Cíl:** Na základě klinických a cytogenetických nálezů se pacienti s myelodysplastickými syndromy (MDS) stratifikují do skupin podle rizika progresu do akutní myeloidní leukémie. Část pacientů s nižším rizikem však neočekávaně progreduje velmi rychle. Identifikace těchto rizikových pacientů může pomoci při volbě optimální léčby, a tak přispět k prodloužení délky jejich života. Proto cílem naší práce bylo identifikovat molekulární markery časné progresu a pomocí expresního profilování určit, jak se na progresu podílí.

**Metody:** 214 vzorků pacientů s nižším rizikem (LR-MDS) z doby diagnózy bylo osekvenováno NGS panelem TruSight Myeloid (Illumina). Metodou RNA-Seq (NEB, Illumina) byly vyšetřeny CD34+ buňky 29 LR-MDS bez a 8 LR-MDS s mutovaným genem *RUNX1* a 20 pacientů s vyšším rizikem. Diferenciálně exprimované geny byly analyzovány nástroji String a GSEA. Trepanobioptické vzorky od 3 pacientů s *RUNX1* mutací a 4 bez byly imunohistochemicky vyšetřeny na přítomnost markerů  $\gamma$ H2AX a ATM.

**Výsledky:** Alespoň jednu patogenní mutaci jsme identifikovali u 137 (64 %) pacientů. Signifikantní vliv na přežití bez progresu (PFS) měly mutace v genech *RUNX1*, *SETB1*, *STAG2*, *TP53* a *U2AF1*. V multivariátní analýze měly nesilnější vliv na PFS mutace v genu *RUNX1*. Přidáním mutačního statutu tohoto genu do mezinárodního skórovacího systému došlo k signifikantnímu oddělení křivek PFS pacientů s tímto mutovaným genem od křivek rizikové skupiny, kam byli zařazeni. V CD34+ buňkách LR-MDS pacientů s *RUNX1* mutací byly downregulované dráhy buněčné senescence, DNA oprav a umlčování chromatinu stejně jako u pacientů s vyšším rizikem. Také imunohistochemicky byl u pacientů s *RUNX1* mutací prokázán nižší výskyt markerů buněčné senescence.

**Závěr:** Vyšetření somatických mutací v době diagnózy by mohlo přispět k přesnějšímu určení rizika progresu LR-MDS pacientů. Podle našich výsledků, mutace v genu *RUNX1* přispívají k rychlejší progresi narušením drah chránících buňku před maligní transformací.

Podpořeno grantem AZV-NV18-03-00227, MZ ČR-RVO (ÚHKT,00023736) a (VFN,64165).

## ALLOGENNÍ TRANSPLANTACE HEMOPOÉZY U PACIENTŮ S MDS, ZKUŠENOSTI ÚHKT

Šťastná Marková M., Čermák J., Válková V., Nováková L., Vítek A., Kouba M., Vydra J.

Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

**Úvod:** I když je MDS je heterogenní skupinou onemocnění s velmi různým průběhem, allogenní transplantace hemopoézy zůstává hlavním kurativním přístupem u většiny z nich. I navzdory tomuto postupu jsou stále výsledky dlouhodobého přežití ne zcela uspokojivé a celková optimalizace jak vstupu do transplantace, samotné transplantace i posttransplantační léčby je stále předmětem řešení.

**Metody:** V retrospektivní analýze jsme hodnotili 118 pacientů s MDS, kteří byli transplantováni na ÚHKT v rozmezí 2009-2020. Do hodnocení byl vzat stav a charakter onemocnění (typ MDS: RCMD n=41, EB1 n=15, EB2 n=62, IPSS-R skóre, cytogenetické nálezy), typ přípravného režimu (myeloablativní n=66 a s redukovanou intenzitou n=52) a dárce (shodný sourozenec n=19, nepříbuzný n=78, haploidentický n=21) a předtransplantační terapeutický přístup. K hodnocení byly použity křivky přežití dle Kaplan-Meierovy metody.

**Výsledky:** Celkové přežití ve 4 letech bylo stratifikováno dle IPSS-R i po absolvované allogenní transplantaci s OS u *low and intermediate, high* a *very high risk* skupiny 82 %, 61 % a 40 %, resp. Nepříznivá cytogenetika měla významný negativní dopad na celkové přežití ve 3 letech pouze 25 vs. 71 % u příznivé či středně příznivé. Monozomie – 7 však nepříznivý dopad neměla. Intenzita přípravného režimu vliv na celkové přežití neměla, s tendencí lepšího OS u redukováných přípravných režimů, pravděpodobně díky zkeslení výběrem pacientů do jednotlivých skupin. Podle typu dárce se překvapivě nejlépe dařilo pacientům s dárce haploidentickým. U pokročilých stavů onemocnění mělo předlčení před vstupem do transplantace dopad na přežití ve 2 letech po transplantaci 79 % u předlčených vs. 46 % up-front. Nenalezli jsme rozdíl mezi předlčením standardní indukční chemoterapií a 5 azacytidinem. Obojí potransplantační relaps (RR 37 % v 5 letech) i peritransplantační mortalita měly významný podíl na neúspěchu transplantace.

**Závěr:** Allogenní transplantace u MDS zůstává nejefektivnějším kurativním postupem, přesto že je provázena četnými komplikacemi. Základním prediktivním faktorem je charakter samotného onemocnění vyjádřený jak IPSS-R tak cytogenetickým nálezem.

## DETEKCE CHROMOSOMOVÝCH ZMĚN U NEMOCNÝCH S MYELOYDYSPLASTICKÝM SYNDROMEM (MDS) SE ZAMĚŘENÍM NA PŘESTAVBU GENU MECOM

Rubešová A., Holzerová M., Balcárková J., Krůzová L., Machová R., Papajik T., Urbánková H.

Hemato-onkologická klinika LF UP a FN Olomouc

**Úvod:** Výsledky cytogenetického a molekulárně cytogenetického vyšetření přispívají u nemocných s MDS k upřesnění diagnostiky

onemocnění a umožňují na základě nalezených chromosomových aberací stratifikovat nemocné do prognostických skupin. Mezi chromosomové změny, které řadí nemocné s MDS do skupiny s horší prognózou, patří mimo jiné aberace dlouhých ramen chromozomu 3. Vyskytuje se přibližně u 10 % nemocných s MDS a nejčastěji je zastoupena jako  $inv(3)(q21q26)$  či  $t(3;3)(q21q26)$ .

**Cíl:** Cílem projektu bylo zanalyzovat chromosomové změny nemocných s MDS se zaměřením na přestavby chromozomu 3 a detailně zmapovat ztráty a zmnožení genetického materiálu metodami molekulární cytogenetiky.

**Metody:** Všichni nemocní byli vyšetřeni konvenční cytogenetickou metodou G-pruhováním, metodou FISH (fluorescenční *in situ* hybridizace), případně mFISH (mnohobarevná FISH) a aCGH (array komparativní genomová hybridizace).

**Výsledky:** V průběhu 20 let bylo v Laboratoři cytogenetiky a molekulární cytogenetiky HOK FN Olomouc vyšetřeno 324 nemocných s potvrzeným MDS, z toho u 17 nemocných (5 %) byla prokázána přestavba chromozomu 3. Nejčastějším typem

aberrace 3. chromozomu byly translokace (53 %) a inverze (17 %), spojené s přestavbou genu *MECOM* (3q26). V případě translokací byly nejčastějšími translokačními partnery chromozomy 2 (23 %), 3 (12 %) a 21 (12 %). Nejčastější přídatnou chromosomovou aberací k aberaci chromozomu 3 byla ztráta genetického materiálu chromozomu 7, kdy monozomie 7 byla častější než delece 7q31. Přínos aCGH analýzy v rámci abnormalit 3. chromozomu byl patrný u 35 % pacientů, u kterých tato analýza zpřesnila rozsah nebalancovaně přestavěných oblastí 3. chromozomu, u 3 pacientů nově prokázala přídatnou změnu mimo vyšetřovaný MDS panel, kterou byla delece oblasti genu *NF1*, a u jedné pacientky byla pomocí této analýzy detekována chromotripse chromozomu 3.

**Závěr:** Detekce genetických aberací metodami cytogenetiky a molekulární cytogenetiky napomáhá správnému diagnostickému zařazení MDS do jednotlivých podtypů a na základě nalezených změn umožňuje stanovení prognózy onemocnění a určení terapeutických přístupů.

*Práce je podporována grantem IGA\_LF\_2021\_001.*



# LYMFOMY

## POSTIŽENÍ CENTRÁLNÍHO NERVOVÉHO SYSTÉMU U PACIENTŮ S PERIFERNÍM T LYMFOMEM – ANALÝZA Z REGISTRU NIHiL

Móčíková H.<sup>1</sup>, Pytlík R.<sup>2</sup>, Benešová K.<sup>3</sup>, Janíková A.<sup>4</sup>, Ďuraš J.<sup>5</sup>, Sýkorová A.<sup>6</sup>, Steinerová K.<sup>7</sup>, Procházka V.<sup>8</sup>, Campr V.<sup>9</sup>, Belada D.<sup>6</sup>, Dlouhá J.<sup>10</sup>, Trněný M.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Hematologická klinika 3. LF UK a FN Královské Vinohrady, Praha

<sup>2</sup>Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

<sup>3</sup>1. Interní klinika-hematologie VFN v Praze

<sup>4</sup>Interní hematoonkologická klinika FN Brno

<sup>5</sup>Klinika hematoonkologie FN Ostrava

<sup>6</sup>4. Interní hematologická klinika FN Hradec Králové

<sup>7</sup>Hematologicko-onkologické oddělení, FN, Plzeň

<sup>8</sup>Hematoonkologická klinika FN Olomouc

<sup>9</sup>Ústav patologie a molekulární medicíny, FM Motol, Praha

<sup>10</sup>Datacentrum KLS, Praha

**Cíl:** Z registru NiHiL jsme u prospektivně sledovaných pacientů s periferním T lymfomem (PTCL) analyzovali výskyt, charakteristiky, rizikové faktory a prognózu nemocných s CNS postižením.

**Metody:** Z celkového počtu 1 040 pacientů s PTCL se u 29 (2,79 %) případů potvrdilo postižení CNS, z toho 13 (1,25 %) mělo CNS postižení při úvodní diagnóze a 16 (1,54 %) v relapsu. Medián věku při úvodním CNS postižení byl 61 let a u sekundárního CNS relapsu 54,5 roku. U většiny pacientů se zachytilo CNS postižení současně se systémovým postižením: u 11 ze 13 iniciálně diagnostikovaných pacientů a u 12 ze 16 relapsů. Meningeální postižení bylo v obou skupinách srovnatelné (9 vs. 11). Nejčastějším histologickým podtypem byl PTCL blíže nespecifikovaný (10 při úvodní diagnóze a 8 se sekundárním CNS relapsem).

**Výsledky:** Medián sledování u všech pacientů s PTCL byl 71,3 měsíců. Medián přežití bez relapsu u všech pacientů byl 32,6 měsíců a u pacientů s úvodním CNS postižením 4,8 měsíců. Medián doby do sekundárního CNS relapsu byl 5 měsíců. U sekundárních CNS relapsů byl medián doby bez dalšího relapsu 10,1 měsíců. Rizikové faktory pro CNS relaps: postižení  $\geq 1$  extranodální místo ( $p = 0,008$ , HR = 0,96), postižení měkkých tkání ( $p = 0,003$ , HR = 6,3), testikulární postižení ( $p = 0,046$ , HR = 1,58) a B symptomy ( $p = 0,035$ , HR = 0,91). Medián celkového přežití všech pacientů s PTCL byl 46 měsíců, s iniciálním CNS postižením 18,2 měsíců, se sekundárním CNS relapsem 11,8 měsíců a v relapsu mimo CNS 21,3 měsíců. Rozdíl mezi přežitím pacientů s CNS postižením ve srovnání s jinými než CNS relabovanými/refrakterními pacienty nebyl signifikantní ( $p = 0,072$ , HR = 0,63).

**Závěry:** Výskyt CNS postižení při úvodní diagnóze nebo v relapsu u PTCL je nízký a u většiny pacientů bývá součástí dalšího systémového postižení. Prognóza těchto pacientů je špatná ale srovnatelná s relapsem systémového PTCL. Optimální léčba zatím není definována.

## REÁLNÝ VÝZNAM ALK U DOSPĚLÝCH PACIENTŮ S ALCL – ANALÝZA Z REGISTRU KLS

Janíková A.<sup>1</sup>, Michalka J.<sup>1</sup>, Chloupková R.<sup>2</sup>, Campr V.<sup>3</sup>, Kamarádová K.<sup>4</sup>, Belada D.<sup>5</sup>, Benešová K.<sup>6</sup>, Klener P.<sup>6</sup>, Dlouhá J.<sup>6</sup>, Procházka V.<sup>7</sup>, Móčíková H.<sup>8</sup>, Ďuraš J.<sup>9</sup>, Trněný M.<sup>6</sup>

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

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

<sup>3</sup>Ústav patologie a molekulární medicíny, 2. LF UK a FN Motol Praha

<sup>4</sup>Fingerlandův ústav patologie, FN Hradec Králové

<sup>5</sup>4. interní hematologická klinika FN Hradec Králové

<sup>6</sup>1. interní klinika 1. LF UK a VFN v Praze

<sup>7</sup>Hemato-onkologická klinika FN Olomouc

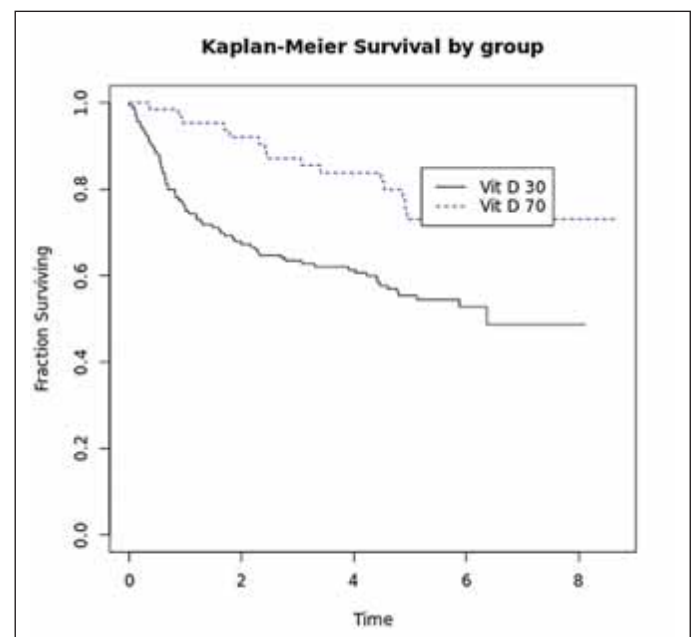
<sup>8</sup>Interní hematologická klinika FN Královské Vinohrady, Praha

<sup>9</sup>Klinika hematoonkologie LF OU a FN Ostrava

**Úvod:** Anaplastický velkobuněčný lymfom (ALCL) tvoří asi třetinu všech nově diagnostikovaných systémových T-lymfomů, v rámci ALCL se rozlišují dvě zásadní podskupiny ALK+ a ALK– se zcela odlišnou prognózou. ALK+ je však častěji přítomen u mladších pacientů s čímž může souviset i lepší přežití.

**Metody:** Jako výchozí soubor bylo využito 732 pacientů s nově diagnostikovaným AITL/ALCL/PTCL v období 2000–2017 a registrovaných v databázi KLS. Výběr pacientů pro retrospektivní analýzu podle ALK statusu byl proveden analýzou patologických reportů, definice ALK vyplývala z patologického závěru ALCL.

**Výsledky:** Význam ALK byl hodnocen u 244/732 (33,9 %) ALCL. Celkem 207/244 pacientů mělo stanoven ALK status (u 37 ALK nevyšetřen/neznámý), 69/207 (33,3 %) pacientů bylo ALK+ a 138/207 (66,2 %) ALK–. Mezi skupinami ALK+ vs. ALK– byly



pozorovány významné rozdíly ve věku s mediány 48 vs. 60 let ( $p < 0,001$ ) a v distribuci IPI skóre ( $p = 0,013$ ). ALK+ pacienti vykazovali lepší 5leté přežití PFS 65,9 % i OS 71,5 % oproti skupině ALK- s 5letým PFS 36,2 % a OS 45,9 % ( $p = 0,002$ ). Nicméně analýza OS dle věku v době iniciační diagnózy ukázala, že ALK+ vs. ALK- pacienti  $\geq 60$  let měli srovnatelný 5letý PFS 38,5 vs. 31,2 % a 5letý OS 38,5 vs. 39,6 % (ns). U mladších nemocných ( $< 60$  let) se zdá být lepší přežití u ALK+ pacientů, ale opět zde byl mezi skupinami významný věkový rozdíl: medián 42 let (18–59) vs. 51 let (22–59) pro skupinu ALK+ a ALK- ( $p = 0,0085$ ).

**Závěry:** ALK představuje důležitý diagnostický marker, který charakterizuje typ ALCL, ale sám o sobě patrně nemá vliv na prognózu nemocných, neboť je silně asociovan s věkem.

## PIXANTRÓN V POKROČILÝCH LÍNIÁCH TERAPIE REFRAKTÉRNÝCH/RELABOVANÝCH AGRESÍVNÝCH B-NON HODGKINOVÝCH LYMFÓMOV: RETROSPEKTÍVNA ANALÝZA DÁT

Mányová S., Greksák R.

*Odd. onkologickej hematológie I., Národný onkologický ústav, Bratislava, Slovensko*

**Ciel:** Na súbore pacientov sme hodnotili efektivitu a toleranciu nového aza-antracendiónu pixantrónu, ktorý rozšíril spektrum možností pre predliečených dospelých s agresívnym refraktérnym / relabovaným B-non Hodgkinovým lymfómom (R/R-B-NHL), ktorí už boli liečení rituximabom, a sú indikovaní na tretiu a ďalšiu líniu liečby.

**Metódy:** Od roku 2015 sme v Národnom onkologickom ústave v Bratislave (NOÚ) liečili pixantrónom 16 pacientov s R/R-B-NHL s mediánom veku 63,5 rokov (30–73), štádiom choroby II. 6,25 % (1), III. 12,5 % (2) a IV. 81,25 % (13). Pacienti boli predliečení 2–7 líniami (medián 3), najčastejšie režimom R-CHOP (75 %), väčšina 68,75 % (11) podstúpila 2–3 línie chemoterapie. Všetci boli predliečení antracyklínom, a až na 1 prípad (LBCL plazmablastový CD20-) aj rituximabom. Vysokodávkovanú chemoterapiu s autológnu transplantáciou podstúpilo 50 % (8) a alogénnu transplantáciu 12,5 % (2). Výsledky retrospektívnej analýzy získaných dát sme komparovali s výstupmi medzinárodnej randomizovanej štúdie PIX-301 (fáza III).

**Výsledky:** Kompletných 6 cyklov pixantrónu (18 aplikácií) ukončilo 43,75 % (7), medián podaní bol 10 (2–18), liečbu predčasne ukončilo 56,25 % (9), redukcia dávok bola nutná u 25 % (4) a odklady podávania u 75 % (12). Kompletnú remisiu dosiaholo 31,25 % (5) a parciálnu odpoveď 6,25 % (1). Progresiu na liečbe sme zaznamenali u 62,5 % (10). Všetci liečení mali hematologickú toxicitu, stupňa III. 50 % (8) a stupňa IV. 18,75 % (3). Na progresiu zomrelo 62,5 % (10), progresiu má aj 12,5 % (2) živých, v parciálnej remisii zostáva 6,25 % (1) a pretrvávajúcu kompletnú odpoveď pozorujeme u 18,75 % (3). Medián celkového prežívania (OS) predstavuje 10,4 mesiaca (1,43–49,8) a medián času bez progresie (PFS) 3,5 mesiaca (0,47–31,13).

**Záver:** V porovnaní s našim počtom 16 pacientov bolo v PIX-301 štúdiu 50 pacientov v ramene s pixantrónom a 49 pacientov v ramene s inou paliatívnou chemoterapiou. Porovnanie získaných dát je uvedený v tabuľke. Hematologická toxicita bola jedinou príčinou zníženia dávok a predĺženia intervalov medzi podaniami. Kardiotoxicitu sme nepozorovali u žiadneho pacienta.

	PIX-301	CHT	PIX-NOÚ
počet pacientov	50	49	16
línia liečby	3.–4.		3.–8.
vek pacientov	60 (28–80 r.)		63,5 (30–73 r.)
počet cyklov	4 (2–6)	3 (2–6)	3 (0–6)
kompletná remisia KR	23,1 %	5,1 %	31,25 %
celková odpoveď ORR	43,6 %	12,8 %	37,5 %
celkové prežívanie OS	10,2 mes.	7,6 mes.	10,4 mes.
čas do progresie PFS	5,4 mes.	2,8 mes.	3,5 mes.
hematol. toxicita st.3–4	41,2 %	19,4 %	68,75 %

## EARLY INTERIM PET/CT PREDICTS THE OUTCOME IN HIGH-TUMOUR-BURDEN FOLLICULAR LYMPHOMA PATIENTS

Kredátusová A.<sup>1</sup>, Procházka V.<sup>1</sup>, Hanáčková V.<sup>1</sup>, Henzlová L.<sup>2</sup>, Buriánková E.<sup>2</sup>, Ptáček J.<sup>2</sup>, Papajík T.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Hemato-onkologická klinika FN Olomouc

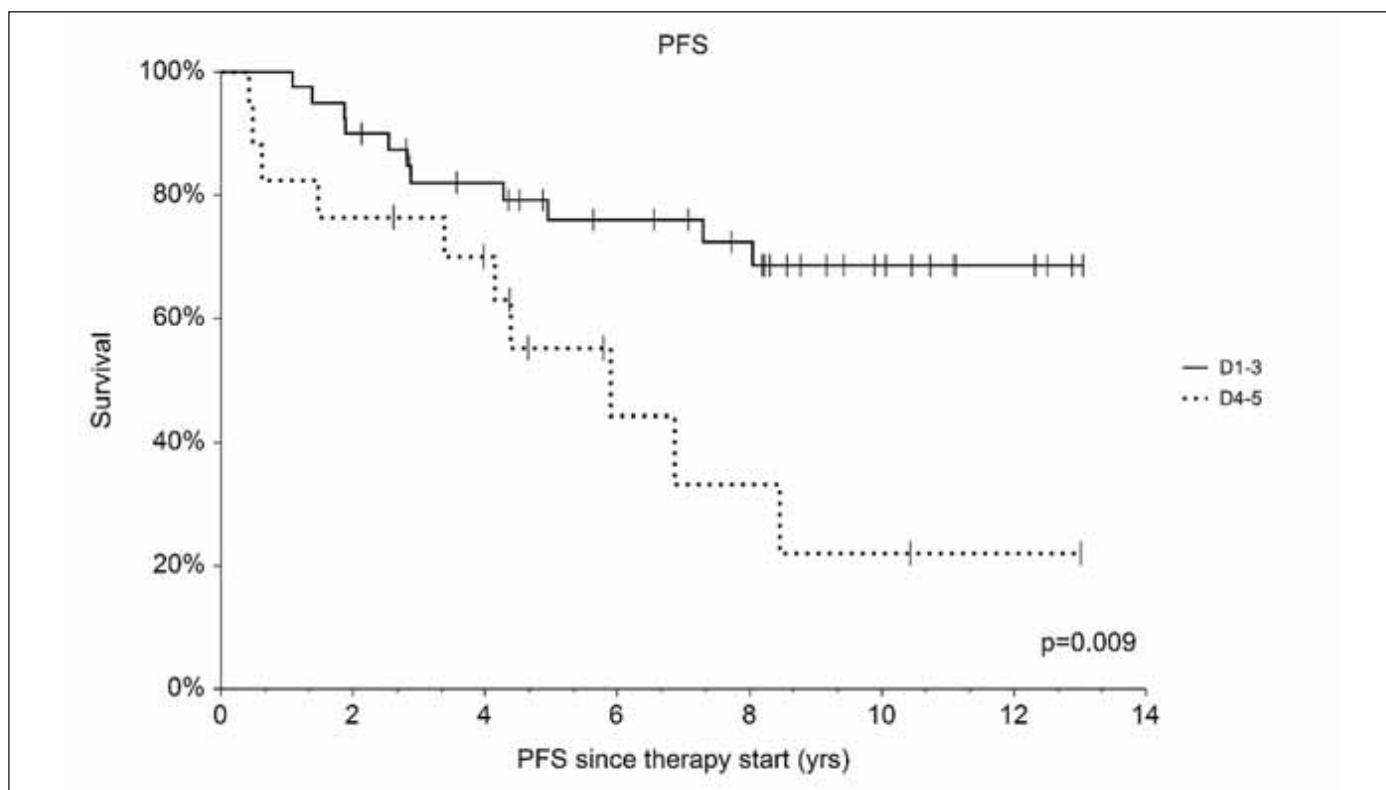
<sup>2</sup> Klinika nukleární medicíny FN Olomouc

**Introduction:** High-tumour-burden follicular lymphoma (HTB-FL) is a highly heterogeneous disease. Identification of early progression (POD24) of the disease is still an unmet prognostic need. Use of interimPET/CT remains controversial.

**Aim:** To assess the impact of early metabolic assessment on early disease outcome

**Methods:** We analysed 57 previously untreated grade I-IIIa HTB-FL patients undergoing PET/CT at diagnosis, after the 2nd cycle and after immunochemotherapy. Imaging studies were conducted using the same image acquisition protocols. Images were read by two independent experts blinded for patient outcome.

**Results:** Patients with median age 56yrs and advanced (CS III/IV) disease in 96.5% had the FLIPI/PRIMA-PI: low 12%/31%, intermediate 44%/43%, high 44%/26%. All but one of the patients were treated with a rituximab-anthracycline-containing regimen and 34 received rituximab maintenance. Forty-six patients (81%) achieved CR, seven (12%) PR and four (7%) had stable disease/progressed on therapy. After a median follow-up of 8.4 years, twenty (35%) relapsed and eight died. Eight of them (14%) progressed/relapsed within 24 months of therapy. Interim PET-2 was negative (D1-3) in 40 (70%) and positive (D4-5) in 17 (30%) patients. End-of-induction PET scans were obtained in all but two patients, with 47 (85%) negative and



eight (15%) positive results. Five-year PFS reached 55.2% and 79.2% ( $P = 0.009$ ) and 5-y OS 88.2% and 94.9% ( $P = 0.017$ ) in the D4-5 and D1-3 groups, respectively. Positive and negative predictive values were 58.8%/72.5% for PFS events and 29.4%/92.5% for death. The risk of a POD24 was 24% and 10% in the D1-3 and D4-5 groups, respectively.

**Conclusion:** Early interim PET/CT negativity is associated with a high negative predictive value for progression or lymphoma-related death. The risk of developing a POD24 event is reduced by 58% in the D1-3 group.

Supported by AZV\_NU21-03-00411 and IGA\_LF\_2021\_001 grants.

## VÝSLEDKY PRVOLÍNIOVEJ LIEČBY PACIENTOV S FOLIKULOVÝM LYMFÓMOM Z DATABÁZY SLOVLYMP

Ladická M.

Lymfómová skupina Slovenska, Martin, Slovensko

**Ciel:** Analýza pacientov s folikulovým lymfómom (FL) a zhodnotenie efektivity liečebných režimov v 1. línii na základe údajov z registra Lymfómovej skupiny Slovenska, Slovlymp.

**Metódy:** Ide o retrospektívnu analýzu, ktorá sa uskutočnila vo februári 2021. Zaradených bolo 213 pacientov, ktorí mali stanovenú diagnózu FL v období medzi 1993 a 2021.

**Výsledky:** V súbore bolo 55 % žien, medián veku v čase diagnózy bol 55 (22–87) rokov. V I., II., III. a IV. klinickom štádiu bolo 12 %, 5 %, 26 % a 57 % podľa poradia. Medián sledovania celého súboru bol 5,9 (0–27,3) rokov. V 1. línii, ktorá bola aplikovaná 197 pacientom,

bolo dosiahnutých 74 % kompletných a 12 % parciálnych remisií. Najčastejšie použitý režim bol R-CHOP u 106 pacientov (54 %), R-CVP u 34 pacientov (17 %) a BR u 15 pacientov (8 %). Charakteristiky rizikových faktorov v jednotlivých režimoch uvádza tabuľka. Päťročné celkové prežívanie (OS) a prežívanie bez progresie (PFS) boli 89 % (95% CI 43–98 %) a 80 % (95% CI 41–95 %) pre BR, 97 % (95% CI 79–100 %) a 72 % (95% CI 54–85 %) pre R-CVP a 93 % (95% CI 85–97 %) a 70 % (95% CI 59–78 %) pre R-CHOP. Udržiavacia liečba rituximabom (UR) v 1. línii sa podala 98 pacientom (50 %), predčasne ukončená

charakteristika	BR n (%) n = 15	R-CVP n (%) n = 34	R-CHOP n (%) n = 106
vek nad 60 rokov	9 (60)	16 (47)	26 (24)
štádium $\geq 3$	12 (80)	34 (100)	84 (79)
B symptómy	3 (20)	4 (12)	39 (37)
G 2–3*	1 (7)	1 (3)	14 (13)
transformácia	0	1 (3)	13 (12)
FLIPI $\geq 3$ †	2 (13)	12 (35)	39 (37)
extranodálne postihnutie	1 (7)	9 (26)	30 (28)
bulky masa $\geq 10$ cm	2 (13)	4 (12)	22 (21)
medián sledovania, roky, rozptyl	3,3 (0–7)	8,7 (0,8–13,4)	5,9 (0,8–8)

\* neuvedené u 6/23/54 pacientov podľa poradia pre jednotlivé režimy  
† neuvedené 3/3/15 pacientov podľa poradia pre jednotlivé režimy

bola v 25 %. Medián OS nebol dosiahnutý bez ohľadu na podávanie UR. Medián PFS v skupine s UR nebol dosiahnutý, u pacientov bez UR bol 7,628 roka  $p < 0,001$ . Päťročné OS a PFS pri UR bolo 96 % (95% CI 89–99 %) a 80 % (95% CI 68–87 %), bez UR bolo 90 % (95% CI 81–95 %) a 58 % (95% CI 47–68 %).

**Záver:** V našej analýze sme dokumentovali očakávanú účinnosť prvoliniových režimov v liečbe FL, viaceré limitácie však neumožňujú priame porovnanie režimov. UR viedla k signifikantnému predĺženiu PFS a OS.

## HLADINA VITAMINU D JAKO PROGNOSTICKÝ FAKTOR U DIFÚZNÍHO VELKOBUNĚČNÉHO LYMFOMU

Janíková A., Kopčík M., Tomiška M., Ehrlichová L., Šálek D., Michalka J., Hadrabová M., Mayer J.

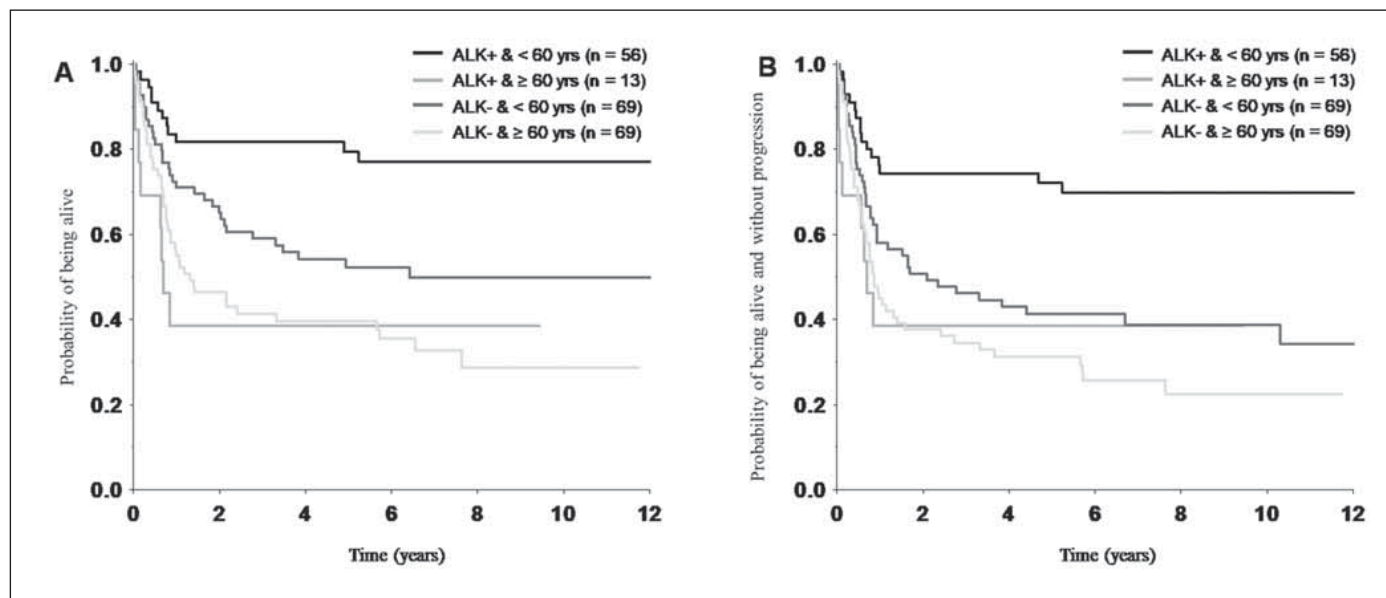
*Interní hematologická a onkologická klinika LF MU a FN Brno*

**Úvod:** Vitamin D je steroid, který se váže na receptor buněčného jádra mnoha buněk organizmu, má řadu metabolických a regulačních funkcí. Jeho hladina se zdá mít význam u normálních funkcí imunitního systému, i jeho poruch vč. autoimunitních poruch a nádorů imunitního systému (lymfomů). Cílem naší práce bylo analyzovat hladiny vitamínu D měřené v době iniciální diagnózy Nehodgkinova lymfomu (NHL) v kontextu klinicko-laboratorních parametrů a prognózy.

**Metody:** Do retrospektivní analýzy bylo zařazeno 987/1408 pacientů referovaných na IHOK FN B s nově diagnostikovaným NHL v době 01. 01. 2011 do 31. 12. 2016 a dostupnou hladinou vitamínu D.

**Výsledky:** Medián hladiny vitamínu D u celé kohorty 987 pacientů byl 44 nmol/l (7,4–157,5); referenční hodnoty ve FN Brno jsou 75–200 nmol/l. Medián věku v době diagnózy NHL byl 65 let (17–90) a 51 % bylo žen. Medián hladiny vitamínu D koreloval s typem/agresivitou lymfomu: Difúzní velkobuněčný B-lymfom (DLBCL) vs. folikulární lymfom (FL) vs. Burkittův lymfom (BL) 37,4 nmol/l (7,4–135,7) vs. 50,5 nmol/l (7,49–170,5) vs. 21,1 nmol/l (7,49–77,3;  $p < 0,001$ ). U DLBCL ( $n = 440$ ) nízké hladiny vitamínu D ( $\leq 30$  nmol/l) asociovaly s vyšším LDH ( $p = 0,004$ ), pokročilým klinickým stadiem III–IV ( $p = 0,001$ ) a horší léčebnou odpovědí (SD/PD;  $p = 0,012$ ), muži měli signifikantně vyšší hladiny než ženy ( $p = 0,0059$ ), ale nebyl pozorován rozdíl mezi skupinami  $\leq 60$  a  $\geq 70$  let. Byl pozorován významný sezónní rozdíl v hladinách vitamínu D, únor vs. srpen (medián 20,3 vs. 53,2 nmol/l;  $p = 0,00059$ ). Nižší hladiny vitamínu D asociovaly s horší prognózou OS v 5 letech 55 vs. 74 % ( $p = 0,0018$ ; obrázek), počet úmrtí za stejný FU (4,6 roku) byl 21 vs. 45 % ( $p = 0,003$ ).

**Závěry:** Hypovitaminóza D je u pacientů s NHL v ČR častá, zdá se být asociována s agresivitou/podtypem NHL a u DLBCL představuje faktor sdružený s obecně uznávanými parametry pokročilého onemocnění a je rovněž spojena s horší prognózou.



# CHRONICKÁ LYMFOCYTÁRNÍ LEUKÉMIE

## R-IDELALISIB A IBRUTINIB V BĚŽNÉ PRAXI U PACIENTŮ S CLL: DATA Z REGISTRU CLLEAR

Špaček M.<sup>1</sup>, Smolej L.<sup>2</sup>, Nekvindová L.<sup>3</sup>, Křístková Z.<sup>3</sup>, Šimkovič M.<sup>2</sup>, Brychtová Y.<sup>4</sup>, Panovská A.<sup>4</sup>, Mašlejová S.<sup>4</sup>, Bezděková L.<sup>4</sup>, Zuchnická J.<sup>5</sup>, Urbanová R.<sup>6</sup>, Lysák D.<sup>7</sup>, Novák J.<sup>8</sup>, Brejcha M.<sup>9</sup>, Doubek M.<sup>4</sup>

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

<sup>2</sup>IV. interní hematologická klinika LF UK a FN Hradec Králové

<sup>3</sup>Institut biostatistiky a analýz, Brno

<sup>4</sup>Interní hematologická a onkologická klinika LF MU a FN Brno

<sup>5</sup>Hematoonkologická klinika LF OU a FN Ostrava

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

<sup>7</sup>Hematologicko-onkologické oddělení, FN Plzeň

<sup>8</sup>Hematologická klinika 3. LF UK a FN Královské Vinohrady, Praha

<sup>9</sup>Hematologické oddělení, Nemocnice Agel, Nový Jičín

**Úvod:** V současné době je naprostá většina pacientů s relapsem chronické lymfocytární leukemie (CLL) léčena cílenou terapií. V běžné praxi se aktuálně používají inhibitory signálních drah B buněčného receptoru (BCRi) ibrutinib a idelalisib (+rituximab), nebo bcl-2 inhibitor venetoklax (+/-rituximab). Přímé porovnání těchto léků v rámci klinických studií nebylo provedeno.

**Cíl:** Popsat a porovnat výsledky léčby ibrutinibem a R-idelalisibem v běžné praxi, vč. analýzy nežádoucích účinků.

**Metody:** Retrospektivní analýza dat z národního registru pacientů s CLL (CLLEAR), kteří zahájili léčbu ibrutinibem nebo idelalisibem s rituximabem do 31. 12. 2019.

**Výsledky:** Celkem bylo konsekutivně zařazeno 261 pacientů léčených ibrutinibem a 181 léčených R-idelalisibem. Obě skupiny pacientů vykazovaly srovnatelné základní charakteristiky (tabulka) a medián sledování (27 měs. u ibrutinibu, 25 měs. u R-idelalisibu). Statisticky významně vyšší bylo u R-idelalisibu zastoupení aberace genu TP53, komplexního karyotypu a vyšší komorbidní skóre (CIRS). Celkové odpovědi na léčbu byly u ibrutinibu i R-idelalisibu shodné (87, resp. 89 %). Ibrutinib dosáhl dvakrát delší přežití bez progresu (PFS): 42,5 vs. 21,0 měs. ( $p < 0,001$ ). V případě celkového přežití byl rovněž patrný trend ve prospěch ibrutinibu (54,4 vs. 39,2 měs.;  $p = 0,053$ ). Nejčastější příčinou úmrtí byla v obou skupinách progres CLL nebo infekce. Délka podávání ibrutinibu byla signifikantně delší než u R-idelalisibu (medián 22 vs. 14 měs.). Terapii ibrutinibem ukončilo 136 (52 %) nemocných a terapii R-idelalisibem 143 (79 %) pacientů. Mezi nejčastější důvody ukončení patřila nehematologická toxicita (26 % ibrutinib, 30 % R-idelalisib) a progres CLL (22 % ibrutinib, 30 % R-idelalisib). Plánované z důvodu alogenní transplantace ukončilo ibrutinib 10 pacientů a R-idelalisib 9 pacientů.

**Závěr:** Data pacientů léčených ibrutinibem a R-idelalisibem v běžné praxi ukazují srovnatelné odpovědi na léčbu, signifikantně delší PFS

u ibrutinibu, delší délku terapie ibrutinibem a u obou léků významnou část pacientů ukončujících léčbu z důvodu nehematologické toxicity.

	R-idelalisib (n = 181)	Ibrutinib (n = 261)	p-hodnota
věk při zahájení léčby BCRi – medián	69 let (52–80)	69 let (50–81)	0,387
muži/ženy	123/58 (68/32 %)	183/78 (70/30 %)	0,553
nemutovaný stav IgHV	142 (88 %)	204 (88 %)	0,936
aberrace genu TP53 (mutace nebo delece)	97 (55 %)	110 (43 %)	0,015
komplexní karyotyp	71 (58 %)	78 (46 %)	0,045
CIRS – medián	8 (3–14)	7 (1–14)	0,002
redukce dávky BCRi	82 (53 %)	124 (52 %)	0,876
linie terapie BCRi			
1	9 (5 %)	10 (4 %)	0,858
2	56 (31 %)	86 (33 %)	
3	54 (30 %)	79 (30 %)	
4	30 (17 %)	48 (18 %)	
5+	32 (18 %)	38 (15 %)	

## KLINICKÝ DOPAD A EVOLUCE MINORITNÍCH TP53-MUTOVANÝCH KLONŮ V KONTEXTU RŮZNÝCH TERAPEUTICKÝCH REŽIMŮ U CLL

Malčíková J.<sup>1,2</sup>, Pavlová Š.<sup>1,2</sup>, Kunt Vonková B.<sup>1,2</sup>, Radová L.<sup>2</sup>, Plevová K.<sup>1,2</sup>, Kotašková J.<sup>1,2</sup>, Pál K.<sup>2</sup>, Dvořáčková B.<sup>1,2</sup>, Ženatová M.<sup>1</sup>, Hynš J.<sup>2</sup>, Ondroušková E.<sup>1</sup>, Panovská A.<sup>1</sup>, Brychtová Y.<sup>1</sup>, Závacká K.<sup>1,2</sup>, Tichý B.<sup>1,2</sup>, Tom N.<sup>2</sup>, Mayer J.<sup>1,2</sup>, Doubek M.<sup>1,2</sup>, Pospíšilová Š.<sup>1,2</sup>

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

<sup>2</sup>Molekulární medicína, Středoevropský technologický institut, MU, Brno

**Cíle:** Pacienti s CLL nesoucí defekty genu TP53 jsou rezistentní na chemo-imunoterapii a jsou proto indikováni pro cílenou léčbu inhibitory dráhy Bcr nebo bcl2 proteinu. Platná doporučení vychází z výsledků získaných Sangerovým sekvenováním, sekvenování nové generace (NGS) však dokáže detekovat mutace s daleko vyšší citlivostí. Význam malých TP53-mutovaných klonů je diskutován. V naší práci jsme studovali jsme klinický význam klonů nesoucích TP53 mutace pod hranicí citlivosti Sangerova sekvenování a popsali jsme scénáře jejich klonální evoluce v závislosti na terapii.

**Metody:** Status TP53 genu byl vyšetřen NGS s citlivostí 0,1 % variantních alel (VAF) u 511 pacientů před první linií léčby

chemo-/imunoterapií a 159 relabovaných pacientů vstupujících do terapie inhibitory.

**Výsledky:** Před 1. linií terapie byly *TP53* mutace < 10 % VAF nalezeny u 16 % pacientů. Přítomnost těchto mutací neovlivňovala čas do relapsu, ale vedla ke zkrácení celkového přežití. U pacientů léčených inhibitory v pozdějších fázích onemocnění docházelo k významnému prodloužení přežití bez ohledu na mutační status *TP53*. Analýza klonálního vývoje u pacientů s malými *TP53*-mutovanými klony ukázala, že nejvýznamnějším faktorem ovlivňujícím rychlost expanze je léčba FCR jak v první, tak ve druhé linii (násobek změny VAF: 14,8× a 11,8×), což bylo v kontrastu s léčbou méně intenzivními terapeutickými režimy (1,6×) a u neléčených pacientů (0,8×). V kohortě relabovaných pacientů neslo malé *TP53*-mutované klony 33 % pacientů a po terapii inhibitory nedocházelo k jejich klonální expanzi (násobek změny VAF 1×). V této skupině pacientů byly zaznamenány pouze ojedinělé případy klonálních změn *TP53*-mutovaných buněk a tyto byly spojeny se vznikem mutací v jiných genech asociovaných s rezistencí na cílenou terapii.

**Závěr:** Naše data podporují návrh, že všichni pacienti s CLL s mutacemi *TP53* by měli být léčeni inhibitory bez ohledu na velikost mutace, aby se předcházelo nežádoucí klonální expanzi agresivních klonů.

Podpořeno MZCR-RVO 65269705, GA19-15737S, GA19-11299S, MUNI/A/1595/2020, MZCR-AZV NV19-03-00091.

## CLLEAR – ČESKÝ REGISTR PACIENTŮ S CHRONICKOU LYMFOCYTÁRNÍ LEUKÉMIÍ: ANALÝZA DAT 2021

Doubek M.<sup>1</sup>, Nekvindová L.<sup>2</sup>, Šimkovič M.<sup>3</sup>, Urbanová R.<sup>4</sup>, Oršulová M.<sup>1</sup>, Lysák D.<sup>5</sup>, Břejcha M.<sup>6</sup>, Zuchnická J.<sup>7</sup>, Panovská A.<sup>1</sup>, Vodárek P.<sup>3</sup>, Obrtlíková P.<sup>8</sup>, Mohammad L.<sup>5</sup>, Brychtová Y.<sup>1</sup>, Ryznerová P.<sup>4</sup>, ěsiová D.<sup>3</sup>, Mašlejová S.<sup>1</sup>, Bezděková L.<sup>1</sup>, Poul H.<sup>9</sup>, Novák J.<sup>10</sup>, Kubová Z.<sup>4</sup>, Genský M.<sup>11</sup>, Škabrahová H.<sup>1</sup>, Veitová M.<sup>1</sup>, Klásková K.<sup>10</sup>, Pospíšilová Š.<sup>1</sup>, Molinský J.<sup>8</sup>, Křístková Z.<sup>2</sup>, Trněný M.<sup>8</sup>, Mayer J.<sup>1</sup>, Papajík T.<sup>4</sup>, Špaček M.<sup>8</sup>, Smolej L.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> LF MU a FN Brno

<sup>2</sup> Institut biostatistiky a analýz, s.r.o., spin-off MU, Brno

<sup>3</sup> LF UK a FN Hradec Králové

<sup>4</sup> LF UP a FN Olomouc

<sup>5</sup> FN Plzeň

<sup>6</sup> Nemocnice AGEL a.s., Nový Jičín

<sup>7</sup> LF OU a FN Ostrava

<sup>8</sup> 1. LF UK a VFN v Praze

<sup>9</sup> Nemocnice Pelhřimov

<sup>10</sup> 3. LF UK a FN Královské Vinohrady, Praha

<sup>11</sup> Krajská nemocnice, Liberec

**Úvod:** CLLEAR – registr pacientů s chronickou lymfocytární leukémií (CLL), je společným projektem České skupiny pro chronickou lymfocytární leukemii a České leukemické skupiny – pro život. Data do tohoto registru jsou prospektivně zadávána od roku 2011.

**Metody:** V registru je zadáno 3 568 nemocných. Vyhodnocována byla data 3 435 pacientů s validovanými záznamy.

**Výsledky:** Medián věku nemocných při diagnóze je 65 let (58; 47); 63,6 % nemocných jsou muži. Vstupně mělo stádium III nebo IV podle Raie 392 z 2725 pacientů (14,4%); 12,5 % nemocných mělo B symptomy (n = 2 630). Více než 54 % nemocných mělo v době stanovení diagnózy CIRS skóre (n = 1 138) nižší jak 6. Hypogamaglobulinemie (n = 1 419) byla zjištěna u 18,7 % nemocných; pozitivita Coombsova testu (n = 1 138) u 11,4 % pacientů. V čase diagnózy měla 3 % pacientů autoimunitní hemolýzu (n = 2 730), imunitní trombocytopenii (n = 2 721) mělo jen 1 % nemocných. Nemutovaný *IGHV* gen (n = 1 781) byl zjištěn u 55,1 % osob, delecí 17p/mutaci *TP53* (n = 1 806) mělo 7,4 % a delecí 11q (n = 1 807) 17,4 % pacientů. Z celého souboru zahájilo léčbu 2 220 nemocných (64,6 %). Celková léčebná odpověď (ORR) po 1. linii léčby byla 71,6 % (n = 2 191), nejčastějším režimem 1. linie byl FCR (28,5 % pacientů). Inhibitory BCR nebo Bcl-2 byly podávány zejména v 2. a dalších liniích. ORR ve 2. linii léčby byla 75,4 % v případě ibrutinibu (n = 114) a 79,3 % u idelalisibu (n = 58). ORR při terapii venetoklaxem ve 2. linii byla 63,6 % (n = 22). Dosud z celého souboru zemřelo 983 pacientů (29,1 %). Medián přežití pacientů v registru je 12,2 roků (11,4; 13,0).

**Závěr:** Prezentovaná data ukazují výraznou heterogenitu pacientů s CLL a poukazují na nutnost individuálního přístupu s výhodným zařazením novějších léčiv do klinické praxe. Ukazují rovněž na nutnost podrobného sledování nemocných k získání přesných informací o léčbě CLL v ČR.

## EXTERNÍ VALIDACE MEZINÁRODNÍHO PROGNOSTICKÉHO SKÓRE IPS-E A NÁVRH ALTERNATIVNÍHO SKÓRE AIPS-E PRO NEMOCNÉ S CHRONICKOU LYMFOCYTÁRNÍ LEUKÉMIÍ DIAGNOSTIKOVANÉ VE STÁDIU BINET A

Smolej L.<sup>1</sup>, Turcsányi P.<sup>2</sup>, Kubová Z.<sup>2</sup>, Zuchnická J.<sup>3</sup>, Mihályová J.<sup>3</sup>, Šimkovič M.<sup>1</sup>, Vodárek P.<sup>1</sup>, Krčmeryová M.<sup>4</sup>, Móciková H.<sup>4</sup>, Břejcha M.<sup>5</sup>, Špaček M.<sup>6</sup>

<sup>1</sup> IV. interní hematologická klinika LF UK a FN Hradec Králové

<sup>2</sup> Hemato-onkologická klinika FN Olomouc

<sup>3</sup> Klinika hematonekologie FN Ostrava

<sup>4</sup> Interní hematologická klinika FN Královské Vinohrady, Praha

<sup>5</sup> Hematologické oddělení, nemocnice Agel, Nový Jičín

<sup>6</sup> I. interní klinika – klinika hematologie VFN v Praze

**Úvod:** Většina nemocných s chronickou lymfocytární leukémií (CLL) je v současnosti diagnostikována v časných klinických stádiích (Rai 0-I / Binet A) bez příznaků a tedy nevyžaduje léčbu. Z tohoto důvodu je vhodná snaha o zpřesnění prognózy této velké a prognosticky heterogenní skupiny nemocných, zejména ve vztahu k riziku léčby. Nedávno bylo publikováno mezinárodní prognostické skóre pro nemocné diagnostikované ve stádiu Binet A (IPS-E) využívající kombinaci absolutního počtu lymfocytů (ALC) > 15×10<sup>9</sup>/l, hmatné

lymfadenopatie a nemutovaného genu pro variabilní oblast těžkého řetězce imunoglobulinu (IGHV), s přidělením jednoho bodu za každý rizikový faktor a rozdělením na nízké (0), střední (1–2) a vysoké riziko (3 body): nemocní s nízkým/středním/vysokým rizikem měli odhadovanou pravděpodobnost léčby v 5 letech 8 % / 28 % / 61 % (Condoluci et al., Blood 2020).

**Cíl:** Externí validace skóre IPS-E. Nemocní a metodiky: Validovali jsme skóre IPS-E na neselektované skupině 130 nemocných diagnostikovaných na jednom centru (FNHK) ve stádiu Binet A (demografické údaje viz Tab. 1). Odhadované riziko léčby v 5 letech bylo 11 % / 36 % / 78 % (c-statistic 0,74). Dále jsme na základě Coxovy regresní analýzy navrhli alternativní systém (AIPS-E) využívající cytogenetické aberace (přítomnost delece 11q či 17p) místo hmatné lymfadenopatie (riziko variability mezi vyšetřujícími, nepostihuje vnitřní lymfadenopatii). Bodové rozdělení bylo stejné: 0 bodů nízké riziko, 1-2 střední, 3 vysoké. Systém AIPS-E přinesl odhadované 5leté riziko léčby ve 14 % / 40 % / 72 %. Tyto výsledky byly externě validovány na 388 nemocných z pěti center spolupracujících v rámci České CLL skupiny (demografické údaje viz Tab. 1): 5leté riziko léčby u nízkého / středního / vysokého rizika bylo 16 % / 37 % / 80 % (c-statistic 0,74).

**Závěr:** Úspěšně jsme validovali skóre IPS-E u nemocných s CLL diagnostikovaných ve stádiu Binet A. Kromě toho navrhujeme modifikovaný skórovací systém založený výhradně na objektivních laboratorních parametrech (kombinace mutačního stavu IGHV, cytogenetiky a ALC).

	IPS-E validační dataset + AIPS-E experimentální dataset	AIPS-E validační dataset
počet nemocných	130	388
věk > 65 let, %	46,9	51,5
muži, %	61,5	54,6
ALC > 15×10 <sup>9</sup> /l, %	27,7	45,6
hmatné uzliny, %	22,5	33,2
nemutovaný IGHV, %	42,3	41,5
delece 11q, %	12,8	10,1
delece 17p, %	4,8	5,7
počet léčených, %	49,2	44,3
medián sledování (roky)	8,3	7,2

## GAB1 REGULUJE TONICKOU AKT SIGNALIZACI A MIGRACI BUNĚK CHRONICKÉ LYMFATICKÉ LEUKÉMIE: IMPLIKACE PRO KOMBINAČNÍ LÉČBU S BCR INHIBITORY

Šeda V.<sup>1-3</sup>, Vojáčková E.<sup>1</sup>, Ondříšová L.<sup>1-3</sup>, Košťálová L.<sup>1-3</sup>, Sharma S.<sup>1</sup>, Loja T.<sup>1</sup>, Zicha D.<sup>4</sup>, Verner J.<sup>2,3</sup>, Pospíšilová Š.<sup>1-3</sup>, Brychtová Y.<sup>2,3</sup>, Panovská A.<sup>2,3</sup>, Tan Z.<sup>5</sup>, Zhang S.<sup>5</sup>, Doubek M.<sup>2,3</sup>, Mayer J.<sup>2,3</sup>, Mráz M.<sup>1-3</sup>

<sup>1</sup> Molekulární medicína, CEITEC MU, Brno

<sup>2</sup> Interní hematologická a onkologická klinika FN Brno

<sup>3</sup> LF MU, Brno

<sup>4</sup> CEITEC, Vysoké učení technické, Brno

<sup>5</sup> MD Anderson Cancer Center, Texas, Spojené státy

**Cíl:** Recirkulace CLL buněk mezi periferní krví a mikroprostředím imunitních orgánů je klíčový patofyziologický rys choroby, ale jeho molekulární mechanismus není uspokojivě popsán.

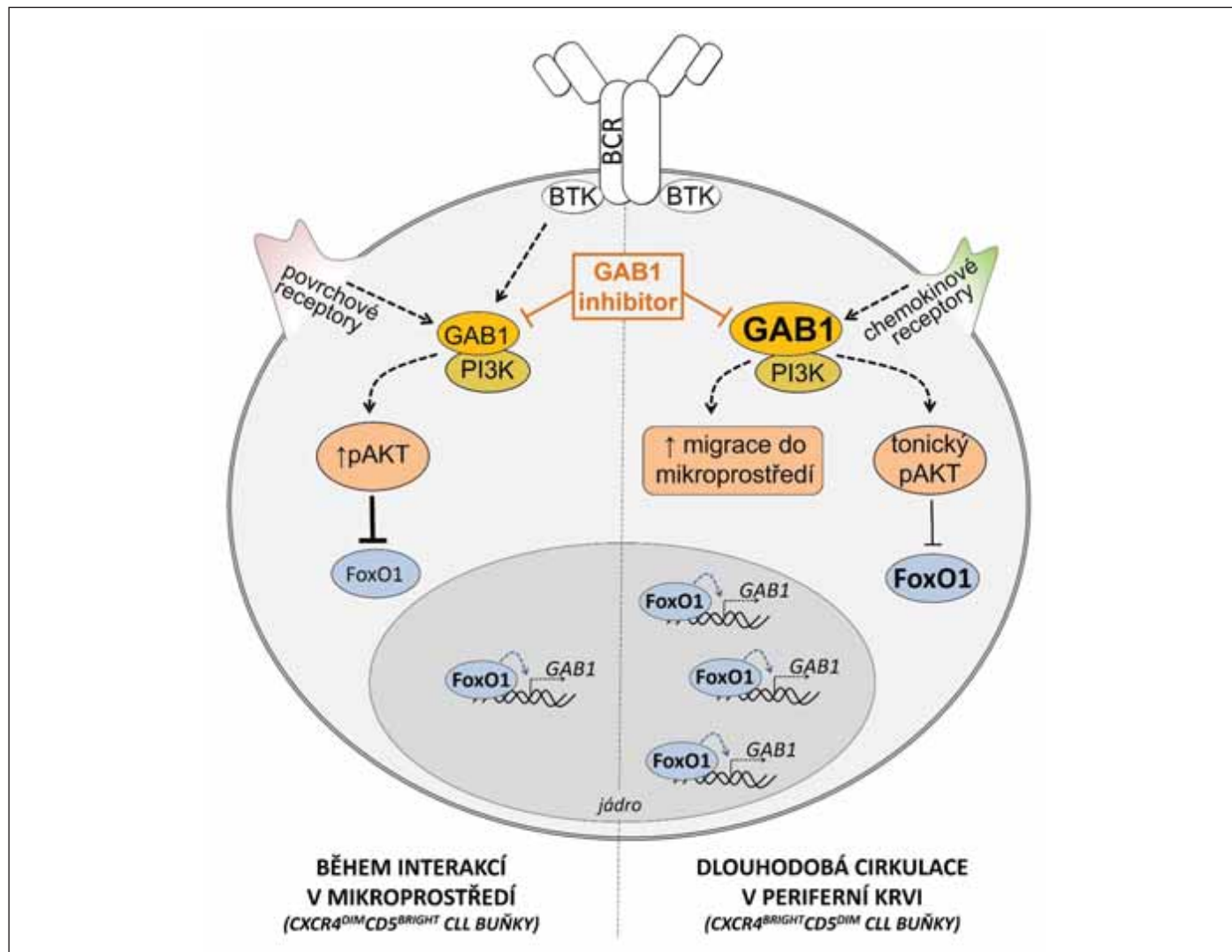
**Metody:** Provedli jsme transkripční profilování (RNAseq, Illumina) intra-klonálních CLL subpopulací CXCR4<sup>dim</sup>CD5<sup>bright</sup> (buňky, které nedávno opustily mikroprostředí) a CXCR4<sup>bright</sup>CD5<sup>dim</sup> (buňky migrující do mikroprostředí) s cílem identifikovat molekuly zapojené do migrace. Funkce GAB1 byla testována na primárních CLL buňkách a linii MEC1. Adaptace na ibrutinib byla analyzována na CLL vzorcích získaných před a během léčby (týden 5–12, n = 22).

**Výsledky:** RNA profilování u CXCR4/CD5 subpopulací (n = 10 párů) identifikovalo 147 genů s diferenciální expresí a potenciálně zapojených do migrace. Zaznamenali jsme ~2× zvýšenou hladinu GAB1 u CXCR4<sup>bright</sup>CD5<sup>dim</sup> subpopulace. Odstranění GAB1 z MEC1 (Crispr-Cas9) výrazně (~50 %, p < 0,05) potlačilo migraci *in vitro* vůči chemokinům (SDF1, CXCL13) produkovaným stromálními buňkami. Absence GAB1 zhoršila také *in vivo* migraci MEC1 buněk do sleziny NSG myši (p < 0,05, n = 14) a podobný efekt mělo utlumení GAB1 (siRNA) v primárních CLL buňkách (p < 0,05). Zvýšení hladin GAB1 u CXCR4<sup>bright</sup>CD5<sup>dim</sup> buněk podporuje tonickou AKT signalizaci. To je důležité v kontextu léčby BCR-inhibitorem ibrutinibem, který vede *in vivo* k zvýšení hladin GAB1, což obnoví aktivitu AKT a tím podporuje přežití CLL buněk během léčby (n = 22, p < 0,05). Prokázali jsme, že inhibice GAB1 novými inhibitory (GAB1-001/4) indukuje apoptózu CLL (IC50 ~25 nm; p < 0,05) a potenciuje účinek ibrutinibu.

**Závěr:** Popsali jsme nový regulační mechanismus závislý na GAB1, který u CLL buněk udržuje „tonickou“ AKT signalizaci a řídí jejich

migraci do mikroprostředí. GAB1 je indukován během adaptace na ibrutinib a lze jej terapeuticky cílit pomocí testovaných inhibitorů.

Práce byla uskutečněna za finanční podpory Ministerstva zdravotnictví ČR (grant NU20-03-00292); MH CZ-DRO (FNBr,65269705); MUNI/A/1595/2020.



## KLONÁLNÍ EVOLUCE CLL PODMÍNĚNÁ LÉČBOU: ANALÝZA POMOCÍ CELOEXOMOVÉHO SEKVENOVÁNÍ

Závacká K.<sup>1,2</sup>, Tauš P.<sup>2</sup>, Pál K.<sup>2</sup>, Stránská K.<sup>1,2</sup>, Pavlová Š.<sup>1,2</sup>, Malčíková J.<sup>1,2</sup>, Kabát M.<sup>2</sup>, Panovská A.<sup>1</sup>, Doubek M.<sup>1-3</sup>, Pospíšilová Š.<sup>1-3</sup>, Plevová K.<sup>1-3</sup>

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

<sup>2</sup> Centrum molekulární medicíny, Středoevropský technologický institut, MU, Brno

<sup>3</sup> Ústav lékařské genetiky a genomiky, LF MU a FN Brno

**Cíl:** U mnoha pacientů trpících chronickou lymfocytární leukémií (CLL), kteří jsou léčeni chemoimunoterapií, dochází v relapsu onemocnění k nárůstu leukemických klonů nesoucích mutace v genu *TP53* a k rozvoji refrakterního onemocnění. U některých pacientů jsou však pozorovány malé klony nesoucí mutace *TP53*, které neexpandují ani po několika léčebných liniích. Naším cílem bylo stanovit profil

somatických mutací a identifikovat molekulárně genetické faktory, které ovlivňují selekci klonů s *TP53* mutací u pacientů s CLL. Věříme, že odhalení klonální architektury a mutačních profilů leukemických buněk může přispět k optimalizaci léčebných postupů.

**Metody:** Pomocí celoexomového sekvenování jsme u 53 CLL pacientů vyšetřili 2–5 odběrů v různých fázích onemocnění. U pacientů byl znám klinický průběh a klonální vývoj mutací *TP53*. Náš soubor zahrnoval pacienty léčené pomocí chemoimunoterapie i pomocí inhibitorů buněčné signalizace.

**Výsledky:** Kromě rekurentních mutací v CLL-asociovaných genech, jako jsou *SF3B1*, *ATM*, *NOTCH1*, *BIRC3* nebo *NFKBIE*, jsme identifikovali rovněž množství unikátních mutací, které narůstaly nebo byly eliminovány v souvislosti s léčbou. Porovnali jsme, jak jejich nárůst či eliminace koreluje s klonálním vývojem mutací *TP53*. Mutované geny jsme pomocí výpočetních metod zařadili do příslušných molekulárních drah. Mezi aberantními dráhami jsme identifikovali



takové, které jsou u CLL poškozovány mutacemi rekurentně (např. signalizační kaskáda Notch a NF-κB, odpověď na poškození DNA), ale také procesy deregulované u CLL, avšak bez dříve popsaných mutovaných komponent (např. adipogeneze či oxidativní fosforylace).

**Závěr:** Stanovili jsme změny klonální kompozice somatických mutací u CLL v průběhu nemoci. Některé mutace se vyskytovaly souběžně,

zatímco jiné se vzájemně vylučovaly. Zjistili jsme, že přítomnost tzv. „driver“ mutací v CLL-asociovaných genech brání v raných fázích CLL expanzi klonů s mutacemi *TP53*. Získané výsledky umožňují lépe pochopit molekulární podstatu klonální evoluce CLL.

*Podpořeno projekty MZ ČR AZV NU21-08-00237 a RVO 65269705, MŠMT ČR MUNI/A/1595/2020 a MUNI/IGA/1640/2020, Brno Ph.D. Talent 2019.*

# MNOHOČETNÝ MYELOM – KLINICKÁ ČÁST

## VÝSTUPY Z RMG REGISTRA V SR – SKÚSENOSTI JEDNÉHO CENTRA

Harvanová L., Simančíková I., Štefániková Z., Mistrík M., Bátorová A.

*Klinika hematológie a transfuziológie, LF UK, LF Slovenská zdravotnícka univerzita a Univerzitná nemocnica, Bratislava, Slovensko*

**Ciel:** Liečebné výsledky pacientov s mnohočetným myelómom (MM) sa príchodom nových liekov a používaním autológnej transplantácie (ASCT) neustále zlepšujú. V poslednom období stúpa potreba poskytovania informácií o reálnych dátach širšej skupiny pacientov ako býva typicky zachytená v klinických štúdiách.

**Metódy:** Retrospektívna analýza prospektívne zbieraných dát pacientov s MM liečených na Klinike hematológie a transfuziológie Bratislava v rokoch 2007 až 2020. Dáta boli získané z RMG registra (Register Monoklonálnych Gamapatií).

**Výsledky:** Celkovo z 491 pacientov s MM zahájilo prvolíniou liečbu 406 pacientov s mnohočetným myelómom. Medián celkového prežívania (OS) od diagnózy bol 55,5 mesiacov a klesal s každou nasledujúcou liečebnou líniou. Podobný trend bol pozorovaný pri prežívaní bez progresie (PFS) a liečebnej odpovedi. Autológnu transplantáciu podstúpilo v rámci prvolíniovej liečby 38,7% pacientov. Pacienti do 70 rokov, ktorí postúpili ASCT mali signifikantne lepšie PFS, OS a liečebné odpovede, ako pacienti bez ASCT v tejto vekovej kategórii. V rámci všetkých liečebných línií bol najviac používaný bortezomibový, lenalidomidový a talidomidový režim (52,7 %, 27,9 % a 6,8 %). V prvolíniovej liečbe dominoval bortezomibový režim, u pacientov smerujúcich k ASCT najčastejšie v kombinácii s dexametazonom a cyklofosfamidom (CVD), u pacientov nevhodných na ASCT najviac v kombinácii s melfalanom a prednisonom (VMP). Od roku 2019, kedy boli kategorizované inovatívne lieky je najčastejšie používaný pomalidomid, daratumumab, ixazomib a najmenej karfilzomib, ktorý ako jediný nie je v SR kategorizovaný (16,8 %, 13,9 %, 4 % a 1 %). Inovácie spolu tvoria iba 35,7 % liečebných režimov v relapse. Lenalidomidový režim dominuje v liečbe relabujúceho myelómu (2.–3. liečebná línia). Z inovatívnych liekov dominuje v 3. línii daratumumabový a v 4. línii pomalidomidový režim. Celkovo pacienti vo vekovej kategórii do 70 rokov, s nízkym ISS štádiom, hladinou kreatinínu do 176 µmol/l a predchádzajúcou ASCT mali lepšie PFS a OS.

**Záver:** Táto analýza slovenských pacientov z RMG registra ponúka pohľad na reálny manažment pacientov s MM.

## DISULFIRAM AS A READILY AVAILABLE TREATMENT OPTION FOR RESISTANT FORMS OF MULTIPLE MYELOMA

Chromá K.<sup>1</sup>, Škrott Z.<sup>1</sup>, Gurský J.<sup>1</sup>, Bačovský J.<sup>2</sup>, Moudrý P.<sup>1</sup>, Buchtová T.<sup>1</sup>, Mistrík M.<sup>1</sup>, Bártek J.<sup>3,4</sup>

<sup>1</sup> *Laboratory of Genome Integrity, Institute of Molecular and Translational Medicine, Faculty of Medicine and Dentistry, Palacky University, Olomouc, Czech Republic*

<sup>2</sup> *Department of Hemato-oncology, University Hospital Olomouc and Medical Faculty of Palacky University, Olomouc, Czech Republic*

<sup>3</sup> *Danish Cancer Society Research Center, Copenhagen, Denmark*

<sup>4</sup> *Department of Medical Biochemistry and Biophysics, Science for Life Laboratory, Karolinska Institute, Stockholm, Sweden*

Despite an increasing number of approved therapies, multiple myeloma (MM) remains an incurable malignancy and only a small number of patients achieve prolonged disease control. The common anti-MM therapy aims at protein degradation via proteasome inhibition (PI) as MM cells typically accumulate large amounts of toxic proteins. However, MM cells often acquire resistance to PIs through aberrant expression or mutations of proteasome subunits such as PSMB5, resulting in disease recurrence. Here we propose CuET – a proteasome-like inhibitor agent that is spontaneously formed in vivo and in vitro from the approved alcohol-abuse drug disulfiram (DSF), as a readily available treatment against diverse resistant forms of multiple myeloma. We show that CuET can efficiently overcome specific adaptations of MM cells to proteasome inhibitors such as bortezomib and carfilzomib used as the first-line therapy and behaves similarly as other experimental drugs targeting protein degradation upstream of the proteasome. Furthermore, CuET can overcome also the adaptation mechanism based on reduced proteasome load, another clinically relevant form of treatment resistance. Data obtained from experimental treatment-resistant cellular models of human MM are corroborated using advanced cytotoxicity experiments on cells obtained from fresh biopsies from newly diagnosed as well as relapsed, refractory, and treatment-resistant MM patients. Our findings suggest that disulfiram repurposing may offer a promising treatment option for patients suffering from relapsed and/or therapy-resistant Multiple Myeloma.

## ALOGENNÍ TRANSPLANTACE U PACIENTŮ S MNOHOČETNÝM MYELOMEM – ZKUŠENOSTI JEDNOHO CENTRA

Kříž T., Jungová A., Lysák D., Karas M., Hrabětová M., Šrámek J., Jindra P.

Hematologicko-onkologické oddělení, FN Plzeň

**Cíl:** Standardem léčby MM je indukční chemoterapie s následnou autologní transplantací krvinek (autoSCT), která však nemá kurativní potenciál. Jedinou potenciálně kurativní modalitou je stále pouze alogenní transplantace (aloSCT). S ohledem na vysokou mortalitu a morbiditu (TRM) v porovnání s moderními léky chybí konsenzus v indikaci aloSCT a v identifikaci skupiny pacientů z ní profitujících. Proto provedena unicentrická retrospektivní analýza alogenně transplantovaných MM pacientů.

**Metody:** 36 konsekutivních pacientů s MM transplantovaných ve FN Plzeň v období 2000–2020. Medián věku 52 let (38–63), 26 mužů (72 %), 17 (47 %) transplantovaných v období 2000–2009. Medián předchozích linií 2 (1–5), všichni po autoSCT, u 9 (25 %) aloSCT elektivní (tandem auto-alo). 13 (36 %) transplantováno s rezistentní/aktivní nemocí, „novými“ léky před aloSCT léčeno 21 (58 %). Conditioning většinou nemyeloablativní (Flu-Mel, n = 33, 91,7 %), dárce nepřibuzní (n = 20, 56 %), shodní příbuzní (n = 14, 38,9 %), haploidentičtí (n = 2, 5,5 %).

**Výsledky:** S mediánem sledování 85 měsíců (8–178) zemřelo 27 (75 %) nemocných: 11 (31 %) na TRM, 16 (44 %) na relaps. Zrelabovalo/zprogredovalo 21 (58 %) nemocných v mediánu 11 měsíců (3–175). Z 9 přežívajících 6 žije s relapsem/progresí. Mediány OS/PFS jsou 30 (10–60), respektive 15 měsíců (11–175). 1/5 let OS pravděpodobnost jsou 55 %/30,3 %. Transplantovaní mimo rezistentní onemocnění měli lepší OS (HR 0,43, 95% CI 0,18–1,01; p = 0,05), nikoliv však PFS (HR 0,75, 95% CI 0,25–2,21; p = 0,57). Období transplantace (2000–2009 vs. 2010–2020) nemělo vliv na TRM (47 vs. 41,7 %) ani na OS (HR 0,91, 95% CI 0,40–2,11; p = 0,83). „Nové“ léky před aloSCT neovlivňovaly PFS (HR 0,81, 95% CI 0,35–1,88; p = 0,63).

**Závěr:** V souladu s literaturou naše data potvrzují u části vysoce rizikových MM pacientů: 1) kurativní potenciál aloSCT; 2) prodloužení přežití, byť s aktivní nemocí (graft vs. myeloma efekt jako platforma následné terapie). Přestože pacienty jednoznačně profitující z aloSCT neumíme jednoznačně definovat, měla by být aloSCT považována nadále za efektivní léčbu u vhodných rizikových pacientů.

## PRIMÁRNÍ EXTRAMEDULÁRNÍ MNOHOČETNÝ MYELOM – PROGNOSTICKÉ FAKTORY

Štork M.<sup>1</sup>, Ševčíková S.<sup>2</sup>, Minařík J.<sup>3</sup>, Radocha J.<sup>4</sup>, Špička I.<sup>5</sup>, Pavlíček P.<sup>6</sup>, Jungová A.<sup>7</sup>, Hájek R.<sup>8</sup>, Pour L.<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup> Babákova myelomová skupina, Ústav patologické fyziologie, LF MU, Brno

<sup>3</sup> Hemato-onkologická klinika LF UP a FN Olomouc

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

<sup>5</sup> I. interní klinika – klinika hematologie 1. LF UK a VFN v Praze

<sup>6</sup> Interní hematologická klinika 3. LF UK v Praze a FN Královské Vinohrady, Praha

<sup>7</sup> Hematologicko-onkologické oddělení, LF UK a FN Plzeň

<sup>8</sup> Klinika hematologie LF OU a FN Ostrava

**Cíl:** Mnohočetný myelom (MM) je druhé nejčastější maligní onemocnění krvinek. V případě extramedulární formy MM (EM) se plazmocytosy vyskytují mimo kostní dřeň. Jako primární EM se označuje onemocnění s manifestací EM ve fázi nově diagnostikovaného MM (NDMM). Dle literatury je prognóza primárního EM srovnatelná s MM bez extramedulárního poškození. S cílem definice rizikových skupin jsme analyzovali klinická a laboratorní data pacientů s primárním EM.

**Metody:** Z celkem 4 985 pacientů s MM diagnostikovaných v celé ČR v letech 2005–2017 bylo nalezeno 309 pacientů s primárním EM. Jako kontrolní skupina bylo nalezeno 2 092 pacientů s MM bez anamnézy EM. Data pacientů byla analyzována z Registru Monoklonálních Gamapatií.

**Výsledky:** Vícerozměrnou analýzou nebyl primární EM potvrzen jako nezávislý rizikový faktor jak pro přežití bez progresu (PFS) (HR 0,92 [95% CI: 0,77–1,11]; p = 0,37), tak pro přežití celkové (OS) (HR 0,85 [95% CI: 0,69–1,06]; p = 0,14). Wardovou shlukovou analýzou byly definované 2 skupiny pacientů s primárním EM. Skupina s nízkou nádorovou náloží (nízká infiltrace kostní dřeně, nízké hladiny paraproteinu a nízké ISS či DS stádium) měla signifikantně lepší prognózu než kontrolní skupina pacientů s MM a než skupina pacientů s primárním EM s vysokou nádorovou náloží (medián PFS 28,5 měsíce [95% CI: 23,7–36,4] vs. 17,3 měsíce [95% CI: 16,2–18,3] vs. 14,5 měsíce [95% CI: 10,4–21,7]; p < 0,001 a medián OS 94,3 měsíce [95% CI: 61,1 – nedosaženo] vs. 47,7 měsíce [95% CI: 44,6–51,3] vs. 29,8 měsíce [95% CI: 20,4–40,8]; p < 0,001).

**Závěr:** Robustní analýza klinických parametrů pacientů s primárním EM prokázala, že klíčovým faktorem ovlivňující prognózu pacientů je nádorová nálož v době diagnózy. Samotná skutečnost extramedulární propagace plazmocytů u pacientů s NDMM nemá negativní prognostický význam.

Podpořeno grantem AZV 17-29343A.

## VÝSLEDKY POUŽITÍ AUTOLOGNÍ TRANSPLANTACE U MNOHOČETNÉHO MYELOMU V ČESKÉ REPUBLICĚ

Popková T.<sup>1</sup>, Pour L.<sup>2</sup>, Špička I.<sup>3</sup>, Radocha J.<sup>4</sup>, Jungová A.<sup>5</sup>, Minařík J.<sup>6</sup>, Pavlíček P.<sup>7</sup>, Jelínek T.<sup>1</sup>, Krejčí M.<sup>2</sup>, Straub J.<sup>3</sup>, Maisnar V.<sup>4</sup>, Dekojová T.<sup>5</sup>, Pika T.<sup>6</sup>, Soukup J.<sup>7</sup>, Čápková L.<sup>8</sup>, Hájek R.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Klinika hematologické FN Ostrava

<sup>2</sup>Interní hematologická a onkologická klinika FN Brno

<sup>3</sup>I. interní klinika – klinika hematologie 1. LF UK a VFN v Praze

<sup>4</sup>4. Interní hematologická klinika FN Hradec Králové

<sup>5</sup>Hematologicko onkologické oddělení, FN Plzeň

<sup>6</sup>Hemato-onkologická klinika, FN Olomouc

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

<sup>8</sup>Institut biostatistiky a analýz, s. r. o., Brno

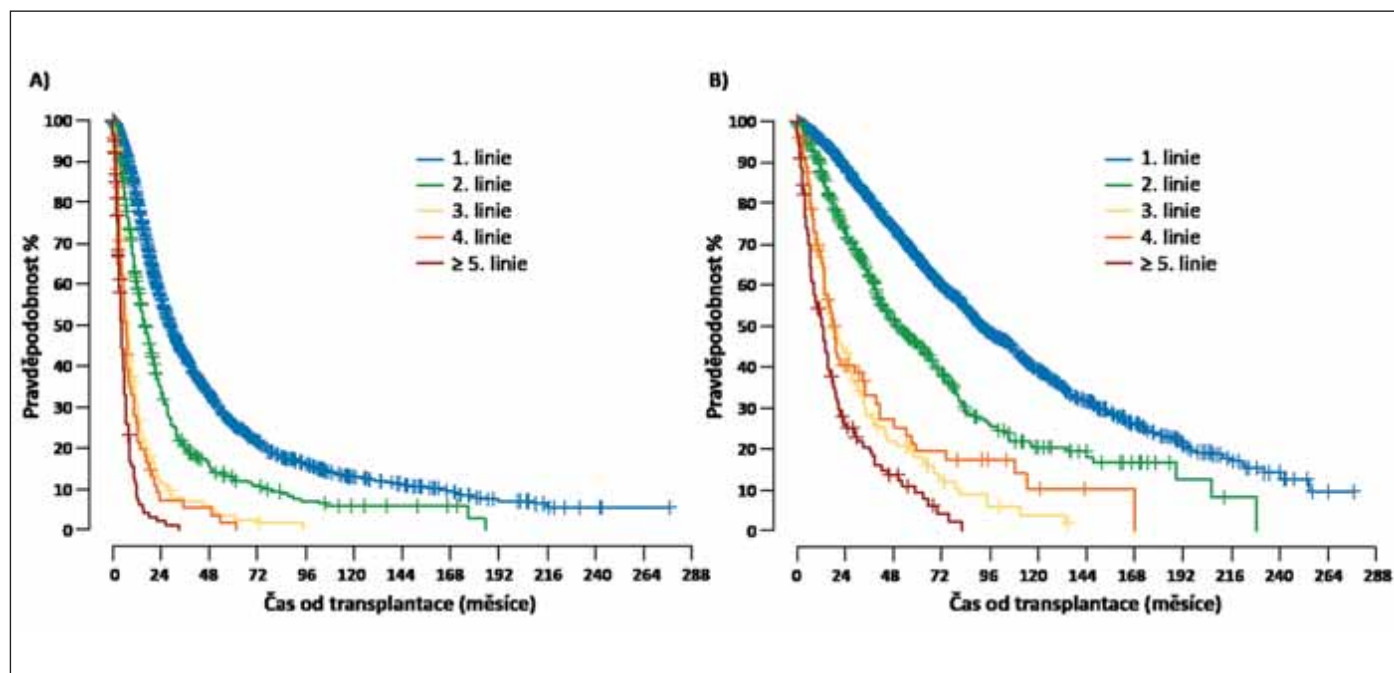
**Cíl:** Přestože jsou do terapeutických postupů u mnohočetného myelomu (MM) implementovány vysoce efektivní léky a nové strategie léčby, výsledky použití vysokodávkové chemoterapie s autologní transplantací krvinek (HDMEL + autoPBSCT) v první linii u pacientů vhodných k transplantaci prozatím nebyly

překonány. Navíc záchranná transplantace je důležitou možností volby také v době relapsu. Cílem této práce je analyzovat výsledky léčby HDMEL + autoPBSCT u MM v České republice.

**Metody:** Data byla získána z Registru monoklonálních gamapatií České myelomové skupiny. Přežití bez progresu (PFS) a celkové přežití (OS) jsou definována jako doba od transplantace do progresu nebo smrti, respektive smrti. Odpověď na léčbu byla hodnocena 100 dní po převodu štěpu.

**Výsledky:** K datu 2. února 2021 bylo v registru identifikováno 2 327 nemocných, kteří během terapie MM podstoupili HDMEL + autoPBSCT, a to konkrétně 2 134, 448, 182, 97 a 158 pacientů ve své 1., 2., 3., 4. a ≥ 5. linii. Celková četnost odpovědí (ORR) byla 92,7 %; 82,6 %; 60 %; 53,5 % a 40,9 % s dosažením kompletní remise u 32,9 %; 23,4 %; 6,2 %; 3,5 %; 2,4 % transplantovaných. Medián PFS v jednotlivých liniích čítal 28,9; 16,3; 7,8; 6,7 a 4,6 měsíců (obrázek A) a medián OS 92,1; 50,3; 17,5; 18,8 a 12,9 měsíců (obrázek B). U pacientů, kteří podstoupili HDMEL + autoPBSCT v první linii, byl medián věku 59 let, více byli zastoupeni muži (56 %), majoritní část těchto nemocných byla v dobrém celkovém stavu ECOG 0-1 (80 %), ale s onemocněním v pokročilém klinickém stádiu (DS stadium III 71 %) s relativně normální renální funkcí (DS substadium A 84 %), avšak s dobrým prognostickým indexem (ISS 1 40,7 % a ISS 2 32,7 %).

**Závěr:** Ve světě i v České republice je HDMEL + autoPBSCT důležitou léčebnou metodou u nově diagnostikovaných nemocných s mnohočetným myelomem, kde dosahuje nejlepších výsledků. Její použití v relapsu onemocnění má stále svou roli i v době moderní léčby triplety.



## KYPROLIS (CARFILZOMIB) V LÉČBĚ RELABUJÍCÍHO/REFRAKTERNÍHO MNOHOČETNÉHO MYELOMU: VÝSLEDKY Z REGISTRU MONONOKLONÁLNÍCH GAMAPATIÍ (RMG) V ČESKÉ REPUBLICĚ

Sandacká V.<sup>1</sup>, Špička I.<sup>2</sup>, Minařík J.<sup>3</sup>, Maisnar V.<sup>4</sup>, Pavlíček P.<sup>5</sup>, Jelínek T.<sup>6</sup>, Jungová A.<sup>7</sup>, Pour L.<sup>1</sup>, Mayer J.<sup>1</sup>, Hájek R.<sup>6</sup>

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

<sup>2</sup> I. interní klinika – klinika hematologie 1. LF UK a VFN v Praze

<sup>3</sup> Hemato-onkologická klinika FN Olomouc

<sup>4</sup> IV. Interní hematologická klinika FN Hradec Králové

<sup>5</sup> Hematologická klinika 3. LF UK a FN Královské Vinohrady, Praha

<sup>6</sup> Klinika hematoonkologie FN Ostrava

<sup>7</sup> Hematologicko-onkologické oddělení, FN Plzeň

**Cíl:** Analýza přináší léčebné výsledky pacientů s relabujícím/refrakterním mnohočetným myelomem (MM) léčené Kyprolisem v kombinaci s lenalidomidem a dexametasonem.

**Metody:** Do 2/2020 bylo v Česku Kyprolisem léčeno 90 pacientů. Do statistické analýzy bylo zahrnuto 81 (90 %) pacientů. Z analýzy bylo vyřazeno 9 (10 %) pacientů z důvodu nesplněných úhradových kritérií. Medián věku při zahájení léčby byl 64 let. U 51 (63 %) pacientů léčba probíhala v rámci 2. léčebné linie. U 36 (44,4 %) pacientů byla léčba Kyprolisem v čase analýzy ukončena, u 45 (55,6 %) pacientů

byla vedena jako stále probíhající. Medián délky léčby u pacientů s ukončenou léčbou byl 4 měsíce.

**Výsledky:** Celkové léčebné odpovědi (ORR) bylo dosaženo u 55 (85,9%) pacientů; 17 pacientů s kompletní remisi (CR), 23 pacientů s velmi dobrou parciální remisi (VGPR) a 15 pacientů s parciální remisi (PR). U 9 (14,1%) pacientů byla pozorována minimální léčebná odpověď (MR), stabilní onemocnění (SD) nebo progresse (PG). Medián doby trvání léčebné odpovědi (DOR) nebyl dosažen a pravděpodobnost přežití bez progresse ve 12 měsících byla 86,7 % (95% IS: 78,0–96,5 %). Medián přežití bez progresse (PFS) a medián celkového přežití (OS) taky nebyly dosaženy. Pravděpodobnost přežití bez progresse 12 měsíců od zahájení léčby byla 67,1 % (95% IS: 57–79 %) a 82,9 % (95% IS: 74,5–92,3 %) jednotlivě. Nejčastější hematologickou toxicitou stupně 1 a vyšší byla anémie (12 pacientů), neutropenie (10 pacientů) a trombocytopenie (7 pacientů). Nejčastější non-hematologickou toxicitou stupně 1 a vyšší byla infekce horních dýchacích cest (8 pacientů) a hluboká žilní trombóza (4 pacientů). Kardiotoxicita, jako nejzávažnější nežádoucí účinek Kyprolisu, byla pozorována celkem u 3 pacientů s projevem kardiálního selhání (1 pacient), arteriální hypertenze (1 pacient) a dušnosti (1 pacient).

**Závěr:** Naše výsledky dokazují, že Kyprolis patří mezi vysoce účinné léky v léčbě relabujícím/refrakterním MM za cenu přijatelné toxicity. Aktualizovaná data a výsledky detailní analýzy budou předmětem sdělení.

# MNOHOČETNÝ MYELOM – EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

## CIRCULATING PLASMA CELLS AS THE MOST IMPORTANT PROGNOSTIC BIOMARKER IN NEWLY DIAGNOSED MULTIPLE MYELOMA: CZECH VALIDATION COHORT

Jelínek T.<sup>1</sup>, Bezděková R.<sup>2,3</sup>, Čápková L.<sup>4</sup>, Poláčková P.<sup>2,3</sup>, Žihala D.<sup>1</sup>, Štork M.<sup>3,5</sup>, Ševčíková T.<sup>1</sup>, Knechtová Z.<sup>5</sup>, Venglář O.<sup>1</sup>, Penka M.<sup>2</sup>, Hájek R.<sup>1</sup>, Ševčíková S.<sup>2,3</sup>, Pour L.<sup>3,5</sup>, Říhová L.<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>KHO a LF OU, FN Ostrava

<sup>2</sup>OKH, FN Brno

<sup>3</sup>BMG, LF MU, Brno

<sup>4</sup>IBA, LF MU, Brno

<sup>5</sup>IHOK, LF MU a FN Brno

**Background:** Tumor burden in multiple myeloma (MM) has always been evaluated in the bone marrow; nevertheless, it has never been implemented as a part of any risk stratification system due the lack of prognostic value. On the other hand, the quantification of circulating plasma cells (cPCs) from peripheral blood (PB) may be used as a surrogate of tumor burden as well as a powerful diagnostic biomarker.

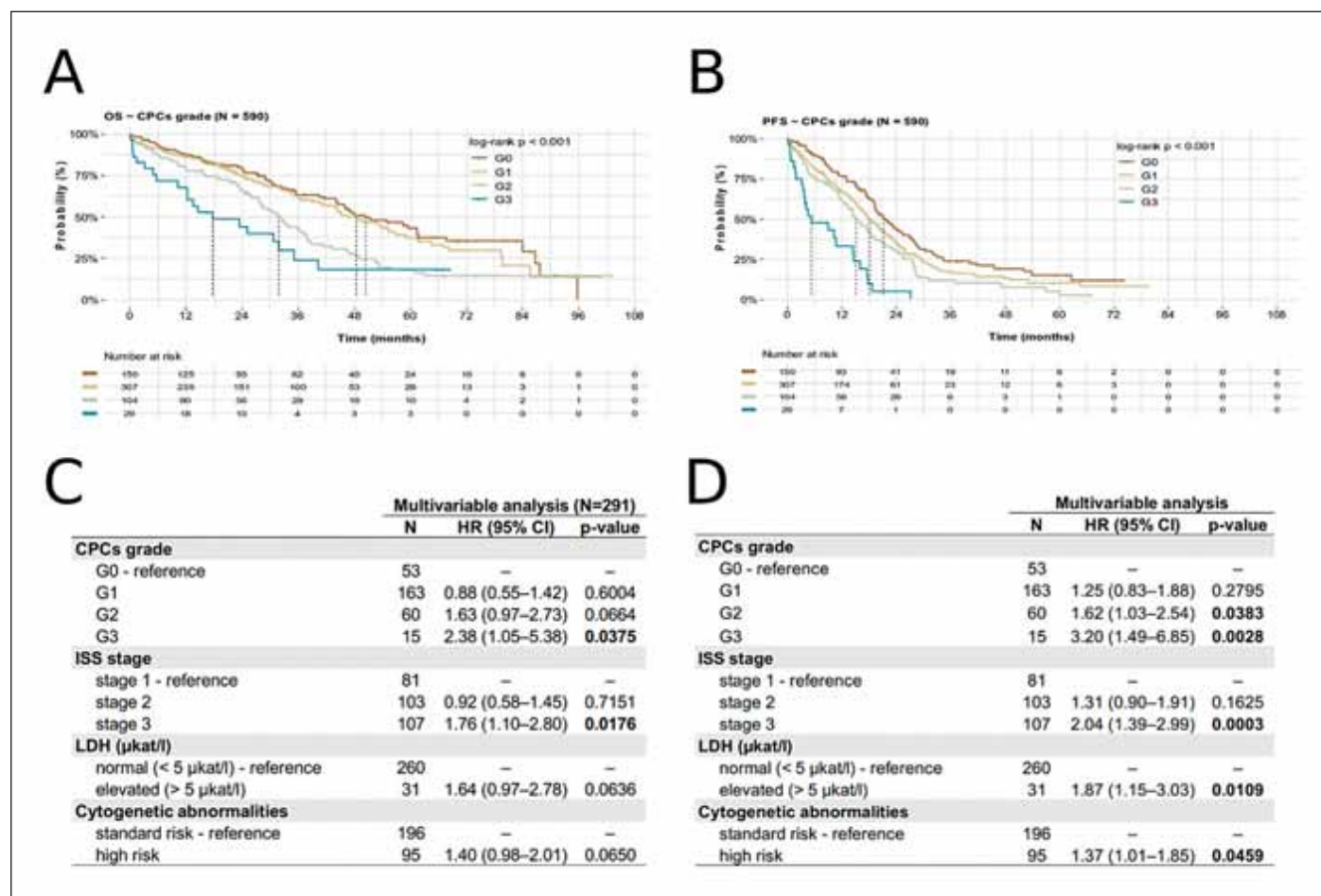
**Aim:** To validate the prognostic value of cPCs in newly diagnosed MM patients (as proposed by Garces, EHA 2021).

**Methods:** CPCs were analyzed in PB by flow cytometry (FC) in 590 MM patients diagnosed between 2012 and 2019 at University Hospitals Brno and Ostrava. Patients were treated in real-world setting and the clinical analysis was performed retrospectively based on data from the Czech Registry of Monoclonal Gammopathies.

**Results:** CPCs were detected in 74.6% (440/590) of newly diagnosed MM patients with applied threshold 20 cPCs and median of limit of detection 0.006% (range 0.0004-0.0391), sensitivity 10e-5. Patients were stratified into 4 groups based on the FC percentage of cPCs [0% (N = 150), > 0% to < 0.24% (N = 307), ≥ 0.24% to < 2.88% (N = 104) and ≥ 2.88% (N=23)] that resulted in different progression-free survival (PFS) (21.2 vs. 18.0, 15.1 and 5.1 months; P < 0.001) and in different overall survival (OS) (50.3 vs. 48.4, 31.7 and 17.6 months; P < 0.001). Quantification of cPCs was selected as the most powerful prognostic factor for survival by multivariable analysis including ISS, LDH and cytogenetics by Cox proportional hazard model.

**Conclusion:** Evaluation of cPCs by FC in PB is the most important diagnostic biomarker that may be used for risk stratification of newly diagnosed MM as we demonstrated, up to our knowledge, on the largest dataset worldwide.

Supported by grant AZV NV18-03-00203.



## ANALÝZA SUBPOPULACÍ LYMFOCYTŮ JAKO PREDIKTOR LÉČEBNÉ ODPOVĚDI U PACIENTŮ S MNOHOČETNÝM MYELOMEM PO AUTOLOGNÍ TRANSPLANTACI KMENOVÝCH BUNĚK

Štork M.<sup>1</sup>, Bezděková R.<sup>2</sup>, Králová R.<sup>2</sup>, Sandecká V.<sup>1</sup>, Adam Z.<sup>1</sup>, Krejčí M.<sup>1</sup>, Boichuk I.<sup>1</sup>, Krejčí M.<sup>1</sup>, Knechtová Z.<sup>1</sup>, Ševčíková S.<sup>3</sup>, Říhová L.<sup>2</sup>, Pour L.<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup> Oddělení klinické hematologie, FN Brno

<sup>3</sup> Babákova myelomová skupina, Ústav patologické fyziologie, LF MU, Brno

**Cíl:** Souvislost mezi změnami imunitního systému a prognózou mnohočetného myelomu (MM) stále není zcela jasná. Analyzovali jsme, zda rozložení subpopulací lymfocytů v kostní dřeni (KD) po autologní transplantaci kmenových buněk (ASCT) souvisí s dosažením či délkou léčebné odpovědi.

**Metody:** Od roku 2009 do roku 2018 podstoupilo 98 pacientů s MM po první ASCT rutinní vyšetření KD. Pomocí polychromatické flowcytometrie bylo analyzováno celkem dvanáct subpopulací lymfocytů. Z CD45+ lymfocytů byly B-lymfocyty identifikovány jako CD19+, preB1 lymfocyty jako CD34+CD10-/+CD20-, preB11 lymfocyty jako CD34-CD10+CD20-, nezralé B lymfocyty jako CD10+CD20+, zralé B lymfocyty jako CD10-CD20+, paměťové B lymfocyty jako CD19+CD27+. T lymfocyty jako CD19-CD5+, paměťové T lymfocyty jako CD19-CD27+, aktivované paměťové T lymfocyty jako CD19-CD27+CD38+. NK lymfocyty byly dopočítány jako zbytek CD5-CD19-CD45+ lymfocytů. NK/NKT lymfocyty byly definovány jako CD5-CD19-CD45+CD56+, NK subset z této populace jako CD38+. Plazmocyty byly definovány jako CD38+CD138+.

**Výsledky:** Zjistili jsme souvislost relativního zastoupení subpopulací lymfocytů s odpovědí na léčbu, přežitím bez progresu (PFS) a celkovým přežitím (OS). Nárůst relativního zastoupení paměťových B lymfocytů je asociován s rizikem kratšího PFS (HR 1,089 (95% CI: 1,023–1,160);  $p = 0,008$ ) a kratšího OS (HR 1,170 (95% CI: 1,074–1,274);  $p < 0,001$ ). V případě pacientů nereagujících na léčbu (minimální odpověď či horší léčebná odpověď) bylo nalezeno vyšší relativní zastoupení paměťových B lymfocytů ve srovnání s pacienty, kteří dosáhli CR (3,8 % (rozmezí 0,5–35,0) vs. 1,0 % (rozmezí 0,1–12,5));  $p = 0,001$ ).

**Závěr:** Naše výsledky ukazují, že změny v zastoupení dřeňových paměťových B buněk mohou mít prognostický význam u pacientů s MM po ASCT.

## RETINÁLNÍ KYSLÍKOVÁ SATURACE U PACIENTŮ S MONOKLONÁLNÍMI GAMAPATIEMI, PILOTNÍ STUDIE

Hübnerová P.<sup>1</sup>, Šín M.<sup>1</sup>, Šínová I.<sup>1</sup>, Mlčák P.<sup>1</sup>, Karhanová M.<sup>1</sup>, Krhovská P.<sup>2</sup>, Minařík J.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Oční klinika FN Olomouc

<sup>2</sup> Hemato-onkologická klinika FN Olomouc

**Úvod:** Cílem naší studie bylo pilotní hodnocení saturace sítnice kyslíkem u pacientů s monoklonálními gamapatiemi (tj. u pacientů s typickou produkcí monoklonálního imunoglobulinu v séru), jako je mnohočetný myelom, monoklonální gamapatie nejasného významu, Waldenströmova makroglobulinémie a AL-amyloidóza.

**Metody:** V letech 2016–2020 bylo zařazeno 29 pacientů s monoklonálními gamapatiemi (10 žen, 19 mužů, průměrného věku 65 let). Pacienti byli diagnostikováni na Hemato-onkologické klinice Fakultní nemocnice Olomouc s následným vyšetřením na Oční klinice Fakultní nemocnice Olomouc před zahájením systémové léčby. Všichni pacienti byli vyšetřeni pomocí automatické retinální oxymetrie (Oxymap, ehf. Reykjavik, Island) společně s fotografií očního pozadí (retinální kamera Topcon TRC-50DX). Posuzovali jsme asociaci retinální saturace kyslíkem (SatO<sub>2</sub>) – arteriální SatO<sub>2</sub>, venózní SatO<sub>2</sub>, arteriovenózní (AV) diference - a následující parametry monoklonálních gamapatií: celkový protein, viskozita, hladina proteinu sérového myelomu (M-protein) a sérum lehké řetězce (kappa a lambda), hemoglobin, albumin, laktátdehydrogenáza (LDH), C-reaktivní protein (CRP), kreatinin (Cr) a hladina vápníku v séru (Ca).

**Výsledky:** Korelační analýza nenalezla statistickou významnost mezi saturací sítnice kyslíkem a celkovým proteinem nebo viskozitou. Podobně nebyla statisticky signifikantní korelace mezi saturací sítnice kyslíkem a albuminem, LDH, CRP, Cr nebo Ca. Prokázali jsme ale významnou pozitivní korelaci AV diference a hladiny hemoglobinu ( $p = 0,031$ ). Během hodnocení se projevoval trend k negativní korelaci sérových hladin M-proteinu a AV diference, ale asociace nebyla statisticky významná. Dále byla prokázána významná středně silná negativní korelace mezi AV diferencí a koncentrací sérových monoklonálních lehkých řetězců lambda ( $p = 0,012$ ).

**Závěr:** Naše pilotní studie odhalila korelaci mezi saturací sítnice kyslíkem a některými vybranými parametry v krvi pacientů s monoklonálními gamapatiemi. Zdá se, že hladiny monoklonálního imunoglobulinu vedou ke snížení absorpce kyslíku v arteriolách

sítnice, což vede k nižší AV diferenci, zvláště u pacientů s vysokou hladinou lehkých řetězců lambda imunoglobulinu. Výsledky byly částečně ovlivněny současnou anémií, která také vedla k nižší AV diferenci. Se zvyšujícími se hladinami hemoglobinu se AV diference stala patrnější. Dospěli jsme k závěru, že hodnocení oxygenace sítnice může být užitečným nástrojem v diagnostice pacientů s monoklonálními gamapatiemi.

Podpořeno MZ ČR – RVO (FNOL, 00098892)

Podpořeno z programového projektu Ministerstva zdravotnictví ČR s reg. č. NU21J-01-00017. Veškerá práva podle předpisů na ochranu duševního vlastnictví jsou vyhrazena.

## DIFFERENT METHYLATION STATUS OF TET ENZYMES IN MULTIPLE MYELOMA PATIENTS

Smešný Trtková K.<sup>1,2</sup>, Weiser Drozdková D.<sup>1</sup>, Flodrová P.<sup>1</sup>, Frydrych I.<sup>2</sup>, Minařík J.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Department of Clinical and Molecular Pathology, Palacky University Olomouc

<sup>2</sup>Institute of Molecular and Translational Medicine, Palacky University Olomouc

<sup>3</sup>Department of Haemato-oncology, University Hospital Olomouc

**Background:** The modified bases 5-methylcytosine (5-mC) and 5-hydroxymethylcytosine (5-hmC) are included in the process of DNA methylation and demethylation. Because the oxidation of 5-mC into 5-hmC is mediated by Ten-eleven translocation (TET) enzymes, we investigated the percentage abundance of 5-hmC and 5-mC in TET1, TET2 and TET3 at different stages of myeloma.

**Methods:** We used a set of CD138+ purified plasma cells obtained from patients of three different stages of MM – newly diagnosed, in remission, and in relapsed stage. Percentage abundance of promoter-specific 5-hmC and 5-mC in the *TET1*, *TET2*, and *TET3* genes was quantified using a glucosylation and enzyme digestion-based method.

**Results:** In two newly diagnosed MM patients, TET1 promoter region contained low values of 5-mC (4.98% and 7.33%) without the presence of 5-hmC, whereas the 5-hmC was detected in patient in remission (6.64%) and patient in relapsed stage (1.92%). Similarly, in two newly diagnosed MM patients, the *TET2* promoter showed higher 5-mC (3.80% and 11.31%), and in the TET3 very high levels of 5-mC (34.93% and 16.59%) as compared to TET1. For all three monitored *TET1*, *TET2*, and *TET3* genes was determined the highest 5-hmC level in the MM patient in remission – 6.64%, 8.29%, and 1.49%, while the patient in relapsed stage showed low levels of 5-hmC – 1.92% for *TET1*, 1.63% for *TET2* and 1.70% for *TET3*.

**Conclusion:** Although a small number of analyzed MM patients was included in the study, the 5-hmC as an intermediate in DNA demethylation, appears to be a marker for a determining good prognosis.

Support by NV18-03-00500 from the Ministry of Health of the Czech Republic, the European Regional Development Fund – Project ENOCH (No. CZ.02.1.01/0.0/0.0/16\_019/0000868) and LF\_2021\_005 from Palacky University Olomouc.

## IDENTIFICATION OF NOVEL REGULATORY PATHWAY FOR IMMUNOGLOBULIN PRODUCTION PROVIDES RATIONAL TREATMENT FOR BORTEZOMIB RESISTANT MULTIPLE MYELOMA PATIENTS

Vdovin A.<sup>1-3</sup>, Durech M.<sup>1,2</sup>, Jelínek T.<sup>1,2</sup>, Ševčíková T.<sup>1-3</sup>, Bago J. R.<sup>1,2</sup>, Zihala D.<sup>1,2</sup>, Hrdinka M.<sup>1,2</sup>, Šnaurová R.<sup>1-3</sup>, Sahinbegovic H.<sup>1-3</sup>, Popková T.<sup>1</sup>, Hájek R.<sup>1,2</sup>, Šimíček M.<sup>1-3</sup>

<sup>1</sup>University Hospital Ostrava

<sup>2</sup>Faculty of Medicine, University of Ostrava

<sup>3</sup>Faculty of Science, University of Ostrava

**Introduction:** Extensive production of immunoglobulins (Ig) and high sensitivity to proteasome inhibitors (PI) are typical hallmarks of multiple myeloma (MM). Here, we describe novel molecular mechanism driving Ig production, PI sensitivity in MM.

**Methods:** CRISPR-Cas9 knock-out screen, biochemical and proteomic approaches, genetically engineered cell lines, mouse models, and primary MM samples.

**Results:** Analysis of primary MM samples and selective CRISPR screen revealed the association between deubiquitinase OTUD1 and Ig production. Knocking down OTUD1 in different myeloma cell lines reduced Ig synthesis, increased cell proliferation, and induced bortezomib resistance. OTUD1 overexpression caused a reversed phenotype. In vivo experiments using mouse models were able to phenocopy cell line data.

Mechanistic analysis has uncovered E3 ligase KEAP1 and ER-residing peroxidase as direct OTUD1 interactors. We revealed that OTUD1 specifically deubiquitinates and stabilizes PRDX4, known to catalyze formation of disulfide bonds in Ig molecules. Rescue genetic experiments showed a direct link between the OTUD1-PRDX4 axis and Ig production in myeloma cells. OTUD1 overexpression (high Ig) led to an increase in ubiquitinated proteins and the opposite effect in OTUD1 KD. We showed that an increase in ubiquitinated proteins in cells with high OTUD1 levels saturated proteasome and sensitized the cells to PI. From clinically relevant drugs tested so far, the HSP-90 inhibitor (17-AAG) reverted the PI resistance phenotype in OTUD1 low and Ig low myeloma cells.

**Conclusion:** Ig synthesis is a clinically significant factor related to PI response and MM patient survival. Our findings suggest that the intracellular Ig level is an important prediction biomarker to identify patients benefiting the most from PI-based therapies. Finally, we provide a rational solution for selective, combination therapy to overcome PI resistance in MM patients with a decreased capacity to synthesize Ig.



## IDENTIFICATION OF MOLECULAR MECHANISMS RESPONSIBLE FOR THE DEVELOPMENT OF EXTRAMEDULLARY DISEASE IN MYELOMA AND POTENTIAL NOVEL THERAPEUTIC TARGETS

Žihala D.<sup>1-3</sup>, Ševčíková T.<sup>1-3</sup>, Kapustová V.<sup>1,2</sup>, Šimíček M.<sup>1-3</sup>, Anilkumar Sithara A.<sup>2,3</sup>, Popková T.<sup>2</sup>, Plonková H.<sup>2</sup>, Broskevičová L.<sup>2</sup>, Vrána J.<sup>1,2</sup>, Bago J. R.<sup>1,2</sup>, Hájek R.<sup>1,2</sup>, Jelínek T.<sup>1-3</sup>

<sup>1</sup>Faculty of Medicine, University of Ostrava

<sup>2</sup>Department of Haematology, University Hospital Ostrava

<sup>3</sup>Department of Biology and Ecology, University of Ostrava

**Introduction:** Multiple myeloma (MM) is the second most common blood cancer, and despite recent treatment advances, most patients will ultimately die due to progression. Extramedullary disease (EMD) is a less frequent manifestation of MM often occurring during the course of disease where tumor plasma cells become independent of the bone marrow microenvironment and infiltrate other tissues and organs. The development of EMD is always considered a high-risk feature with a poor prognosis.

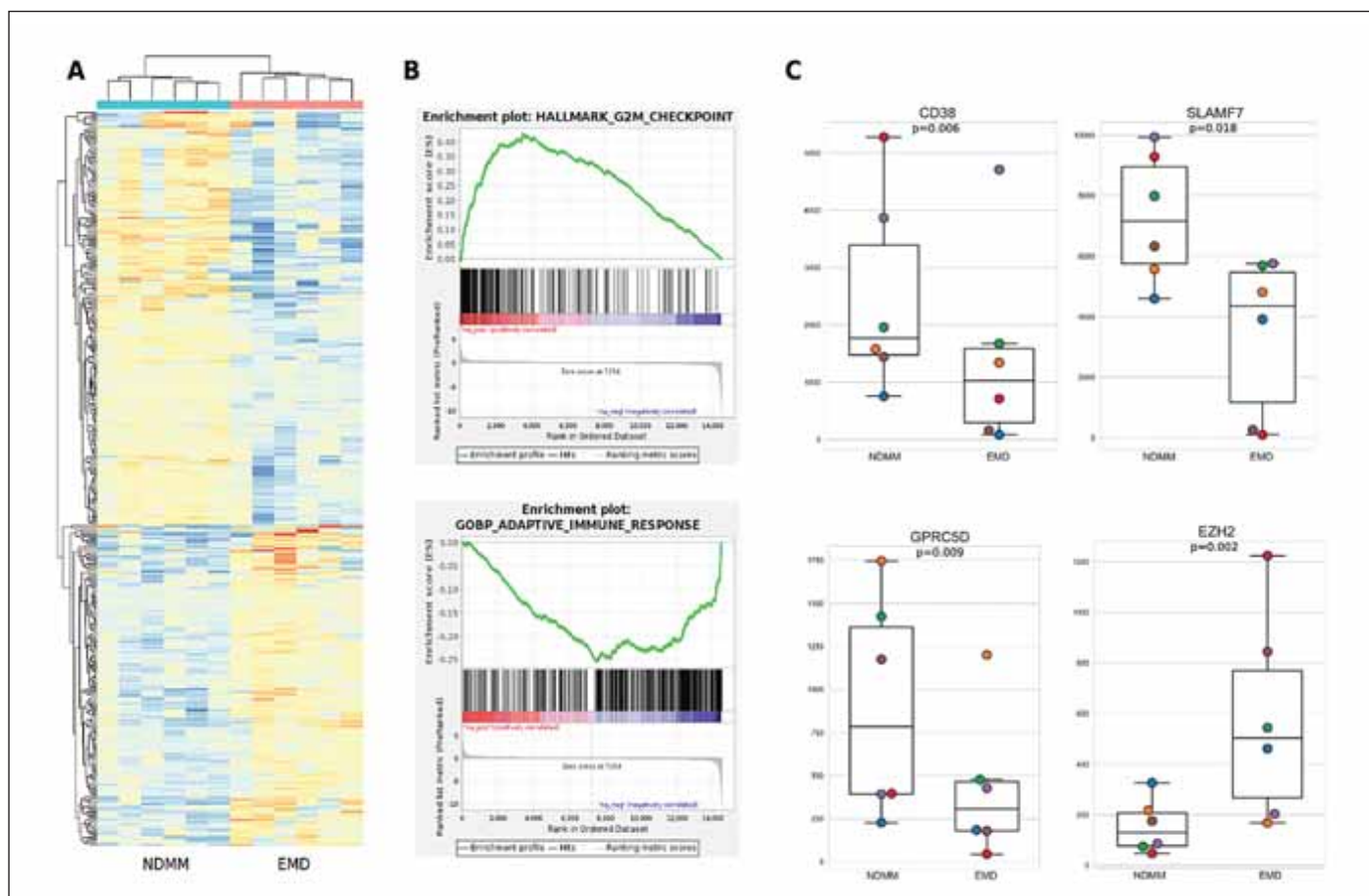
**Aim:** To identify molecular mechanisms responsible for the development of EMD using RNA sequencing and thus reveal potentially novel druggable targets. Currently, available anti-myeloma agents are not effective in patients with EMD. Thus, it is critical to perform this kind of translational research that will ultimately lead to discovering new treatment strategies.

**Methods:** We collected a unique set of sorted aberrant plasma cells from 6 freshly obtained EMD tumors at the time of relapse and their paired cryopreserved bone marrow samples from the time of diagnosis. To analyze differential gene expression, we used Deseq2 package and Salmon for read mapping and quantification and GSEA for the pathway enrichment analysis.

**Results:** Differential expression analysis revealed 202 significantly up-regulated and 259 down-regulated genes in EMD samples (Fig. A). Pathway enrichment analysis suggests a higher proliferation of EMD tumors with G2M checkpoint proteins being the most enriched hallmark pathways. EMD downregulated genes mostly belong to genes of adaptive immune response (Fig. B). Evaluation of currently available druggable targets revealed that e.g., CD38, SLAMF7 and GPRC5D are significantly down-regulated in EMD. Importantly, we identified several up-regulated genes with potential cancer inhibitors available, such as EZH2 (Tazemetostat) (Fig. C).

**Conclusion:** Here, we report the preliminary analysis of the expression profile of EMD. Our analysis shows deregulated expression of several molecular targets, suppression of immune response genes and suggests extensive proliferation of EMD cells.

Work was supported by project ENOCH (No. CZ.02.1.01/0.0/0.0/16\_019/0000868) and by the Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic through the e-INFRA CZ (ID:90140).



# ANÉMIE, CYTOPENIE, VZÁCNÁ ONEMOCNĚNÍ

## PROFIL A DYNAMIKA T LYMFOCYTÁRNÍCH KLONŮ U PACIENTŮ SE SELHÁNÍM KOSTNÍ DŘENĚ PO HEPATITIDĚ

Nováková M.<sup>1,2</sup>, Svatoň M.<sup>1,2</sup>, Skotnicová A.<sup>2</sup>, Suková M.<sup>1</sup>, Darzentas N.<sup>3</sup>, Kramná L.<sup>4</sup>, Cinek O.<sup>4</sup>, Fabri O.<sup>5</sup>, Švec P.<sup>5</sup>, Pospíšilová D.<sup>6</sup>, Trka J.<sup>1,2</sup>, Hrušák O.<sup>1,2</sup>, Starý J.<sup>1,2</sup>, Froňková E.<sup>1,2</sup>, Mejstříková E.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Klinika dětské hematologie a onkologie 2. LF UK a FN Motol, Praha

<sup>2</sup> CLIP-Childhood Leukaemia Investigation Prague, Praha

<sup>3</sup> Hämatologie Labor Kiel, Klinik für Innere Medizin II, Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Kiel, Německo

<sup>4</sup> Pediatrická klinika 2. LF UK a FN Motol, Praha

<sup>5</sup> Klinika detskej hematológie a onkológie LF UK a NÚDCH, Bratislava, Slovensko

<sup>6</sup> Dětská klinika, LF UP a FN Olomouc

**Úvod:** Vzácnu formou selhání kostní dřeně (KD) je selhání KD po hepatitidě (hepatitis-associated bone marrow failure – HABMF) je. HABMF nastává většinou 2–3 měsíce po atace akutní hepatitidy. Nedaří se prokázat virovou etiologii. Předpokládá se, že onemocnění vzniká na základě autoimunitního útoku T lymfocytů proti hepatocytům, a následně proti kmenovým buňkám krvetvorby. K objasnění úlohy T lymfocytů jsme vyšetřili jejich úroveň zralosti, aktivace a repertoár klonů podle genu pro beta řetězec T buněčného receptoru (TRBV).

**Metody:** Do kohorty jsme zařadili 20 dětských pacientů diagnostikovaných s HABMF v ČR v letech 2004–2020 a 1 pacienta ze Slovenska. Prevalence HABMF v rámci RCC a AA bez prokázané genetické příčiny (n = 118) byla v ČR v tomto období 17 %. U pacientů jsme neprokázali přítomnost PNH klonu ani cytogenetických aberací. Provedli jsme vyšetření KD a periferní krve pomocí průtokové cytometrie při diagnóze a 120 dní po zahájení imunosupresivní terapie (d120) (antithymocytární globulin + cyklosporin A). Pomocí sekvenování nové generace (NGS) jsme vyšetřili TRBV (d0: n = 20, d120: n = 11), exom diagnostických vzorků (n = 14) a přítomnost virové DNA (n = 8).

**Výsledky:** HABMF byla spojena s významnou aktivací CD8pos T lymfocytů dle exprese HLADR a snížením naivních forem CD8pos T lymfocytů. Analýza TRBV identifikovala expandované klony (> 5 %) T lymfocytů v 8 diagnostických vzorcích. Tyto expandované klony se lišily u jednotlivých pacientů a jejich dynamika v průběhu léčby nekorelovala s léčebnou odpovědí. U jednoho pacienta tvořil expandovaný klon 39 % všech sekvencí a sortováním jsme prokázali, že se jedná o klon CD8pos T lymfocytů s vysokým zastoupením senescentních CD57posCD8pos buněk. Neprokázali jsme společný genetický ani virový původ onemocnění.

**Závěr:** V současné době se jedná o největší kohortu dětských pacientů s HABMF vyšetřovaných cytometricky a NGS. Přestože u pacientů nacházíme významně aktivované CD8pos T lymfocyty a expandované klony, neprokázali jsme jejich význam z hlediska predikce odpovědi na léčbu.

Podpořeno NV18-07-00430, NU20J-07-00028, GAUK 534120

## KLINICKÝ A LABORATORNÍ PROFIL 91 PACIENTŮ SE SRPKOVITOU ANEMÍÍ (SCD) A EFEKT HYDROXYUREI (HU) NA PRŮBĚH ONEMOCNĚNÍ

Ráčil Z.<sup>1,3</sup>, Šilhárová B.<sup>1,3,4</sup>, Kiboa S.<sup>1</sup>, Chemweno R. K.<sup>1</sup>, Židlík M.<sup>3</sup>, Židlíková V.<sup>3</sup>, Krčmery V.<sup>4</sup>

<sup>1</sup> John Paul II Children's Clinic, Buikwe, Uganda

<sup>2</sup> Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

<sup>3</sup> SSUUBO foundation, Boskovice

<sup>4</sup> Vysoká škola zdravotníctva a sociálnej práce sv. Alžběty, Bratislava, Slovensko

**Cíl:** Analýza klinických a laboratorních parametrů nemocných s fenotypem SCD léčených na klinice Jana Pavla II. v Buikwe, Uganda. Současně byl analyzován efekt léčby HU na průběh onemocnění.

**Metody:** Analýza zdravotnické dokumentace nemocných s fenotypicky (test srpkovitosti) potvrzenou SCD sledovaných na pracovišti k 1. 4. 2021.

**Výsledky:** U 91 pacientů s průměrným věkem 10,4 let (1–39) byla v 14 % přítomna splenomegalie a průměrná hodnota hemoglobinu v posledním roce byla 67 g/l (41–97). V posledních roce mělo 82 % pacientů bolestivý záchvat – průměrně 3,6 záchvatů/rok (0–36); 51 % trpělo chronickou bolestí; u 54 % byla nutná transfúze erytrocytů – průměrně 1,2 jednotky/rok (0–10); 82 % mělo infekční komplikaci vyžadující ATB – průměrně 2,2 infekce/rok (0–9) a u 54 % proběhla epizoda malárie – průměr 1,3 epizody/rok (0–6). 23 % mužů mělo v průběhu života epizodu priapismu. U 64 % pacientů byla nutná v posledním roce hospitalizace pro komplikace SCD.

Skupina nemocných, kteří splnili indikace pro léčbu HU měla v posledním roce před zahájením léčby signifikantně nižší průměrnou hladinu hemoglobinu, větší nutnost transfúze erytrocytů, vyšší spotřebu jednotek erytrocytů, trpěla signifikantně více bolestivými krizemi, více bakteriálními a malarickými infekcemi. V této skupině byl signifikantně častější výskyt chronické bolesti, priapismu a byla nutná častější hospitalizace pro komplikace SCD (Tabulka).

U 16 (18 %) nemocných byla zahájena léčba HU. U 12/16 nemocných, kde léčba trvá již déle jak 12 měsíců došlo k signifikantnímu zlepšení hemoglobinu (62 vs. 82 g/l; p = 0,0326), snížení spotřeby jednotek erytrocytů (3,9 vs. 0,1/rok; p = 0,0136), počtu bolestivých atak (14 vs. 2/rok; p = 0,0083), počtu bakteriálních infekcí (3,6 vs. 0,8/rok; p = 0,0004), počtu malarických epizod (2 vs. 0,9/rok) a počtu hospitalizací (5,1 vs. 0,3/rok; p = 0,0019).

**Závěr:** SCD představuje v subsaharské Africe velmi významnou příčinu morbidit a mortality dětí. Naše práce potvrzuje, že systematický management a léčba HU dramaticky ovlivňuje prognózu a kvalitu života dětí s SCD.

Tab. Charakteristika nemocných s SCD a porovnání skupin pacientů, kteří splnili a nesplnili kritéria pro zahájení léčby HU.

	všichni pacienti (n = 91) n (%) pacientů / průměr (min–max)	pacienti neindikováni k HU (n = 75) n (%) pacientů / průměr (min–max)	pacienti indikováni k HU (hodnoty před startem) (n = 16) n (%) pacientů / průměr (min–max)	porovnání pacientů neindikovaných k HU versus indikovaných k HU P
Muži	44 (48 %)	35 (47 %)	9 (56 %)	0,4864
Věk (roky)	10,4 (1–39)	9,5 (1–29)	14,6 (3–39)	0,0025
<b>Klinické a laboratorní nálezy</b>				
Splenomegalie 13 (14 %)	9 (12 %)	4 (25 %)	0,1773	
Velikost splenomegalie (cm pod oblouk)	5,4 (2–10)	4,4 (2–10)	8,3 (5–10)	0,2316
Hemoglobin (g/l)*	67 (41–97)	70 (44–97)	57 (41–77)	0,0144
Leukocyty (10e9/l)*	15,7 (5,0–39,0)	15,1 (5,0–39,0)	18,3 (5,7–38,5)	0,1187
Trombocyty (10e9/l)*	463 (163–844)	475 (163–844)	408 (173–664)	0,1004
<b>Klinické projevy/komplikace:</b>				
Bolestivé záchvaty v posledním roce	75 (82 %)	59 (79 %)	16 (100 %)	0,1593
Počet bolestivých záchvatů v roce 2020 – počet/rok*	3,6(0–36)	21(0–15)	10,4 (1–36)	0,0001
Chronická bolest v posledním roce	47 (51 %)	35 (47 %)	13 (81 %)	0,0118
Priapismus (u mužů) v historii	10 (23 %)	3 (4 %)	9 (78 %)	< 0,0001
Infekční komplikace s potřebou ATB v posledním roce	75 (82 %)	61 (81 %)	14 (88 %)	0,5563
Počet infekčních komplikací s potřebou ATB v roce 2020 – počet/rok*	2,2 (0–9)	4,8 (0–6)	3,6 (0–9)	0,0005
Malárie v posledním roce	68 (75 %)	56 (75 %)	12 (75 %)	0,9777
Počet malarických epizod v roce 2020 – počet/rok*	1,3 (0–6)	4,1 (0–3)	2 (0–6)	0,0132
Nutnost transfuze ERY v posledním roce	49 (54 %)	34 (45 %)	15 (94 %)	0,0004
Počet jednotek ERY v roce 2020 – počet/rok*	4,2 (0–10)	0,44 (0–3)	3,9 (0–10)	0,0001
Zhoršení renálních fcí	5 (5,5 %)	2 (2,5 %)	3 (19 %)	0,01037
Proteinurie	1(1 %)	0 (0 %)	1(6 %)	NA
CMP	1(1 %)	0 (0 %)	1(6 %)	NA
Hrudní bolest (chest attack)	1(1 %)	0 (0 %)	1(6 %)	NA
<b>Hospitalizace pro SCD komplikace</b>				
Nutnost hospitalizace v posledním roce	58 (64 %)	42 (56 %)	16 (100 %)	0,0046
Počet hospitalizací v roce 2020 – počet/rok*	1,6(0–15)	0,6 (0–5)	5,4 (1–15)	0,0001

\* průměr roku 2020 (resp. u HU průměr posledního roku před startem HU)

## LÉČBA DĚTSKÉ IMUNITNÍ TROMBOCYTOPENIE AGONISTY TROMBOPOETINOVÉHO RECEPTORU – DESET LET ZKUŠENOSTÍ

Smíšek P., Suková M.

Klinika dětské hematologie a onkologie, FN Motol, Praha

**Úvod:** Imunitní trombocytopenie (ITP) je nejčastější krvácivé onemocnění dětského věku. Většinou má akutní průběh se spontánní úpravou počtu trombocytů nebo s rychlou odpovědí na terapii první volby. Asi 15 % případů probíhá chronicky, přibližně 5 % pacientů

potřebuje dlouhodobou terapii. Doporučovaným prvním lékem druhé linie léčby jsou agonisté trombopoetinového receptoru (TPOa).

**Metody:** Od ledna 2011 do května 2021 bylo na Klinice dětské hematologie a onkologie FN Motol léčeno TPO agonisty pro ITP celkem 46 dětí (24 dívek a 22 chlapců) ve věkovém rozmezí 7 měsíců až 18 let. Léčbu jsme indikovali většinou u pacientů s chronickou ITP, 9× s ITP persistující. Dvakrát jsme TPOa využili k přípravě před operačním výkonem, 5× jako záchrannou terapii. V léčbě jsme využili oba dostupné preparáty – 35 dětem jsme podávali romiplostim, 23 eltrombopag (12 pacientů bylo léčeno oběma preparáty).

**Výsledky:** Odpověď na oba dva TPOa byla příznivá. Na léčbu romiplostimem odpovědělo 83 % dětí, 20 % dosáhlo kompletní remise, 54 % částečné odpovědi a 9 % odpovědi minimální, nonresponderů bylo pouze 17 %. Efekt léčby eltrombopagem byl srovnatelný. Příznivou odpověď jsme zaznamenali u 87 % pacientů (kompletní remise dosáhlo 17 % pacientů, parciální odpovědi 61 %, minimální odpovědi 9 %), ve 13 % byla léčba bez efektu.

U 12 pacientů, kteří nedostatečně nebo jen přechodně odpověděli na terapii, jsme vyměnili dosud podávaný TPOa za druhý. 10 dětí na změnu preparátu odpovědělo zlepšením počtu trombocytů, pouze ve dvou případech zůstala změna bez efektu. Tolerance obou TPOa byla výborná, nezaznamenali jsme žádné významné nežádoucí účinky a pouze nízký počet nezávažných vedlejších efektů podávaných léků (přechodná bolest hlavy, nechutenství, změna chování).

**Závěr:** TPOa představují pro děti s perzistující či chronickou ITP neodpovídající na první linii léčby další terapeutickou možnost s vysokým procentem úspěšnosti a minimem nežádoucích účinků. Při selhání léčby jedním TPO agonistou může být přínosem změna na druhý preparát.

Podporováno MZ ČR – RVO, FN v Motole 00064203

## ANALÝZA DAT PACIENTŮ S VLASATOBUNĚČNOU LEUKÉMIÍ

Mašlejová S., Panovská A., Šimková K., Brychtová Y., Doubek M.

Interní hematologická a onkologická klinika LF MU a FN Brno

**Cíl:** Databáze CLLLEAR je celostátní registr spravovaný Českou skupinou pro chronickou lymfocytární leukémii. V roce 2020 byl registr rozšířen o sběr dat u pacientů s vlasatobuněčnou leukémií (HCL).

**Metody:** Vyhodnocována byla data 124 pacientů s HCL, kteří jsou sledováni a léčeni na Interní hematologické a onkologické klinice Fakultní nemocnice Brno.

**Výsledky:** Většina pacientů (78 %) byla v době stanovení diagnózy starších 65 let, 71 % nemocných byly muži. Klasická forma HCL byla potvrzena v 91 % případů (n = 114) na základě vyšetření kostní dřeně včetně histologie. Mutace genu BRAF byla zachycena u 78 % (n = 29) z 37 vyšetřovaných. Nižší počet hodnocených souvisí s recentním zavedením vyšetření do rutinní praxe.

K léčbě první linie bylo indikováno 84 % nemocných (n = 105). U 73 % pacientů (n = 77) byla podaná pouze jedna linie léčby. 28 pacientů podstoupilo léčbu druhé nebo další linie, přičemž 2 pacienti absolvovali 6 linií léčby. Nejčastější léčbou první linie byl purinový analog kladribin (83 %, n = 88), dále byly pacienti léčeni rituximabem (n = 8) nebo interferonem alfa (n = 5). Splenektomie byla provedena u 5 nemocných. Celková léčebná odpověď (ORR) po první linii léčby byla 92 %, z toho kompletní remise dosáhlo 89 % nemocných. Stabilní nemoc nebo progresse na léčbě se prokázala u 8 pacientů. MRD negativita dle flowcytometrie periferní krve bylo dosaženo u 26 pacientů. Mezi nejčastější nežádoucí účinky léčby patřila hematologická toxicita, zejména neutropenie (20 %), z nehematologických pak infekční komplikace (9 %).

Na našem centru je dále sledováno 71 pacientů (67 %), 22 pacientů bylo předáno na spádové hematologické pracoviště. K úmrtí došlo u 9 z léčených pacientů, přičemž progresse HCL byla příčinou úmrtí u 2 nemocných.

**Závěr:** Kladribin je lékem volby v první linii léčby klasické HCL, pacienti dosahují vysokého procenta kompletních remisí. Nejčastějšími komplikacemi léčby HCL jsou útlum krvetvorby a infekce.

## MOLEKULÁRNĚ GENETICKÁ DIAGNOSTIKA FAMILIÁRNÍCH ONEMOCNĚNÍ KRVETVORBY

Vrzalová Z.<sup>1,2</sup>, Staňo Kozubík K.<sup>1,2</sup>, Štika J.<sup>1</sup>, Skalníková M.<sup>1, 2</sup>, Radová L.<sup>1</sup>, Blaháková I.<sup>1,2</sup>, Trizuljak J.<sup>1,2</sup>, Pospíšilová Š.<sup>1,2</sup>, Doubek M.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Centrum molekulární medicíny, Středoevropský technologický institut (CEITEC), MU, Brno

<sup>2</sup>Centrum molekulární biologie a genetiky, Interní hematologická a onkologická klinika LF MU a FN Brno

Familiární onemocnění krvetvorby (FHD) jsou vzácnou a heterogenní skupinou onemocnění, která má variabilní klinické projevy a neúplnou penetranci fenotypu. V posledních letech se moderní genomické přístupy (celoexomové sekvenování – WES, analýza in silico) staly součástí standardního vyšetření těchto pacientů. Na našem pracovišti jsme doposud analyzovali 52 rodin s FHD (110 rodinných příslušníků). U 28 rodin jsme identifikovali již popsanou patogenní variantu nebo novou variantu nejasného klinického významu (VUS). Pozitivní záchyty vedly k detekci vzácných diagnóz v ČR, např. syndromů Bernard-Soulier (GP1BA gen); Heřmanský-Pudlák (HPS1 gen); Wiskott-Aldrich (WAS gen) a Sebastianův syndrom (MYH9 gen) apod. Nejčastěji se jednalo o jedinečné a rodinně-specifické genové varianty. V současné době rozšiřujeme metodické zaměření o funkční testování pomocí proteomických a mikroskopických metod vč. využití technologie CRISPR/Cas9. Cílem tohoto komplexního postupu je prokázat patogenitu genových variant typu VUS. Klasifikace a charakteristika kauzální varianty vede u pacientů k upřesnění diagnózy a ke stanovení rizika vzniku malignit či jiných orgánových dysfunkcí.

Práce byla podpořena grantovým projektem MZ ČR (grant AZV NU20-08-00137), interním grantem MU (MUNI/11/SUP/22/2020) a grantovým projektem A-C-G-T z EFRR (CZ.02.1.01/0.0/0.0/16\_026/0008448).

## DIFERENCIÁLNÍ DIAGNOSTIKA EOZINOFILIÍ V LETECH 2015–2020 NA IHOK FN BRNO

Brychtová Y., Vašíková A., Ježíšková I., Čábelová K., Šmuhařová P., Oltová A., Jarošová M., Mašlejová S., Bezděková L., Trizuljak J., Mayer J., Doubek M.

Interní hematologická a onkologická klinika LF MU a FN Brno

**Úvod:** Získané eozinofilie zahrnují primární klonální nemoci a nehematologické sekundární reaktivní onemocnění. V obou

případech je riziko orgánového postižení. Klonální eozinofilie jsou charakterizované cytogenetickými nebo molekulárně genetickými změnami. Hypereozinofilie (HE) je charakterizovaná počtem eozinofilů nad  $1,5 \times 10^9/l$ , v případě hypereozinofilního syndromu (HES) navíc klinickou manifestací orgánového postižení, v obou případech nejsou přítomny klonální změny a/nebo fenotypicky abnormální T lymfocyty. Dle WHO klasifikace mezi eozinofilie řadíme: idiopatickou HE/HES, lymfocytární variantu HE/HES, chronickou eozinofilní leukémii dále nespecifikovanou a myeloidní /lymfoidní neoplázií s eozinofilii a patologickými variantami genů PDGFRA, PDGFRB, FGFR1 a PCM1-JAK2. Přestavba FIP1L1-PDGFRB je nejznámější klonální přestavbou spojenou s eozinofilii.

**Cíl:** Pokusili jsme se retrospektivně zjistit počet primárně hematologických příčin eozinofilie ze všech eozinofilii, u nichž byla hematologická příčina zvažována a byli vyšetřeni v letech 2015–2020 na našem pracovišti. Vycházeli jsme z počtu indikací vyšetření přestavby FIP1L1-PDGFRB.

**Výsledky:** Celkem bylo na přítomnost přestavby FIP1L1/PDGFRB vyšetřeno 71 pacientů. Diagnóza idiopatického HES byla z tohoto počtu potvrzena u 3 pacientů, myeloidní /lymfoidní neoplázie s eozinofilii a patologickými variantami genů PDGFRA, PDGFRB, FGFR1 a PCM1-JAK2 byla zjištěna u 5 pacientů a 4 pacienti byli sledováni v průběhu léčby, lymfocytární variantu HE/HES a chronickou eozinofilní leukémií dále nespecifikovanou jsme nediaagnostikovali. Sekundární eozinofilie spojená s hemoblastózou byla zastoupena u 16 pacientů. Sekundární reaktivní eozinofilie byla diagnostikována u 28 pacientů (5 pacientů se solidním tumorem, 10 plicní eozinofilní stavy, 5 eozinofilii u systémové nemoci, 4 eozinofilie při infekci, 1 při hemodialýze, 2 při polinóze, 1 eozinofilie při jaterní cirhóze). U 15 pacientů byla HE krátce trvající nejasné etiologie, z toho u 7 pacientů byla detekována T klonalita pomocí PCR, ale bez záchytu populace lymfoidních buněk patologického fenotypu.

**Závěr:** Primární eozinofilie jsou méně časté než eozinofilie spojená s hemoblastózou či sekundární reaktivní eozinofilie.

# TRANSPLANTACE A BUNĚČNÁ TERAPIE

## PRVNÍ ZKUŠENOSTI S POUŽITÍM TISAGENLEUCELU V LÉČBĚ AKUTNÍ LYMFBLASTICKÉ LEUKÉMIE V ČESKÉ REPUBLICE

Šrámková L.<sup>1</sup>, Říha P.<sup>1</sup>, Pytlík R.<sup>2</sup>, Vydra J.<sup>2</sup>, Šálek C.<sup>2</sup>, Folber F.<sup>3</sup>, Zavadová Ž.<sup>4</sup>, Kolenová A.<sup>5</sup>, Domanský J.<sup>6</sup>, Kalina T.<sup>1</sup>, Hrušák O.<sup>1</sup>, Žaliová M.<sup>1</sup>, Trka J.<sup>1</sup>, Sedláček P.<sup>1</sup>, Starý J.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Klinika dětské hematologie a onkologie 2. LF UK a FN Motol, Praha

<sup>2</sup>Ústav hematologie a krevní transfúze, Praha

<sup>3</sup>Interní hematologická a onkologická klinika LF MU a FN Brno

<sup>4</sup>Oddělení krevní banky, FN Motol, Praha

<sup>5</sup>Klinika dětské hematologie a onkologie, DFNSP, Bratislava, Slovensko

<sup>6</sup>Klinika dětské onkologie LF MU a FN Brno

**Úvod:** Relaps akutní lymfoblastické leukémie (ALL) zůstává hlavním důvodem selhání léčby. Imunoterapie přináší reálné možnosti dalšího zlepšení výsledků, kromě blinatumomabu a inotuzumabu lze využít i léčbu autologními lymfocyty s chimérickým antigenním receptorem (CAR T-lymfocyty). V České republice byl tento program u ALL s použitím přípravku tisagenlecleucel zahájen v roce 2019.

**Metody:** V období 2019–2021 bylo v České republice k této léčbě indikováno celkem 10 pacientů ve věku 3–25 let (medián 10 let), indikací byl relaps po alogenní transplantaci (n = 6), relaps bez předchozí transplantace (n = 3) a primárně rezistentní onemocnění (n = 1). První fáze přípravy tisagenlecleucelu, separace mononukleárních buněk, proběhla u všech 10 pacientů s dostatečným výtěžkem z jedné procedury vč. pediatrických pacientů pod 20 kg a pacientů s leukocytózou při progresi leukémie.

**Výsledky:** Podání tisagenlecleucelu proběhlo u 8 z 10 separovaných pacientů. Důvodem nepodání léčby byla v jednom případě progresie do CD19 negativního relapsu a v jednom případě dostatečná odpověď na další linii léčby s následnou transplantací. Před podáním byli 4 pacienti v molekulární remisi a 4 pacienti měli více než 5 % blastů v kostní dřeni. Léčebné odpovědi dosáhlo 7 z 8 pacientů, všech 7 dosáhlo i negativity MRN měřené pomocí IgH/TCR přestaveb. Jeden pacient zemřel na závažnou neurotoxicitu asociovanou s podáním tisagenlecleucelu před zhodnocením odpovědi. Relaps po léčbě prodělali 3 pacienti, u všech byla předtím detekována časná regenerace B-lymfocytů do 6 měsíců od podání. U 1 pacienta s časnou regenerací B-lymfocytů jsme provedli preemptivně alogenní transplantaci bez manifestace relapsu. Bez události žijí 3 pacienti z 8 léčených s krátkou dobou sledování. Toxicita léčby byla očekávaná: cytokinový syndrom jsme zaznamenali u 4 pacientů (grade 1–2), pouze u 1 pacienta se manifestovala závažná neurotoxicita s fatálním koncem. Celkem žije 7 z 8 léčených pacientů, 3 jsou po následné alogenní transplantaci.

**Závěr:** První zkušenosti s použitím CAR T-lymfocytů ukazují jejich potenciál i u pacientů s vyčerpanými léčebnými možnostmi.

Podpořeno MZ ČR – RVO, FN Motol 00064203 a AZV NV18-03-00343.

## VLIV TYPU DÁRCE NA VÝSLEDKY ALOGENNÍ TRANSPLANTACE (ALOHCT) U PACIENTŮ S MYELOIDNÍ MALIGNITOU ≥60 LET.

Jindra P.<sup>1,2</sup>, Karas M.<sup>1</sup>, Lysák D.<sup>1</sup>, Steinerová K.<sup>1</sup>, Šrámek J.<sup>1</sup>, Jungová A.<sup>1</sup>, Hrabětová M.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Hematologicko-onkologické oddělení, FN Plzeň

<sup>2</sup>Český národní registr dárců dřeně o.p.s., Plzeň

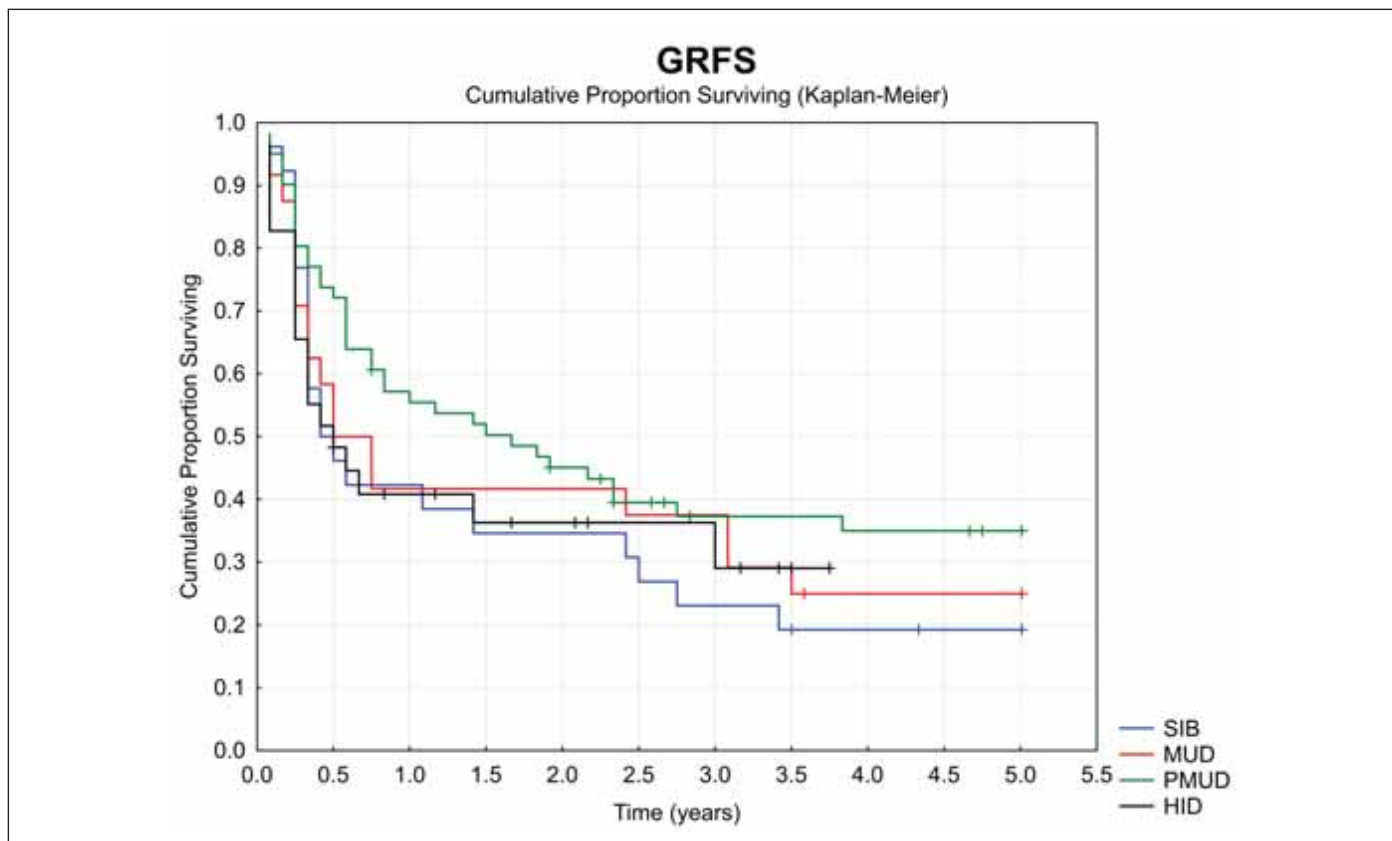
**Úvod:** AloHCT je u starších nemocných s AML/MDS jedinou kurativní léčbou. Standardem je HLA identický sourozenec (SIB) či shodný nepříbuzný dárc (MUD). Část nemocných má k dispozici pouze tzv. alternativní dárc – částečně shodné nepříbuzné (PMUD) či haploidentické dárc (HID). Tito však byli historicky spojováni s vyšší transplantační mortalitou (TRM).

**Cíl:** Analýza výsledků aloHCT jednoho centra u nemocných s AML/MDS ≥ 60 let s cílem stanovit vliv typu dárce na celkové přežití (OS) a přežití bez relapsu & závažné GVHD (GRFS).

**Metody:** Retrospektivní analýza 140 konsekutivně transplantovaných pacientů ≥ 60 let s AML (n = 123) či MDS (n = 17) v období 10/2001–07/2020. GRFS „událost“ definována jako aGVHD ≥ gr. III, extenzivní cGVHD, relaps či úmrtí během sledování (cokoliv bylo nejdříve).

**Výsledky:** Medián věku 64 let (60–74), dárci SIB (26,19 %), MUD (61,44 %), PMUD (24,17 %) a HID (29,21 %). 32 nemocných (35 %) s pokročilou nemocí (> CR1/PR1). Index rizika nemoci (DRI): nízký/střední 52 %, vysoký 48 %. Mezi skupinami s různými dárci nebyly signifikantní rozdíly kromě vyššího věku u pacientů s HID (medián 67 let; p = 0,0006) a vyššího věku dárců u SIB (p < 0,0001). S mediánem sledování 54 měsíců (6–171) žije 46 (33 %) nemocných. Pravděpodobnost OS/GRFS v 1. roce byla 59/48 % v 5 letech pak 33/28 %. Kumulativní incidence TRM a relapsů byla 47 %, resp. 23 %. OS i GRFS u jednotlivých skupin dárců byly srovnatelné (p = 0,1392). V multivariační analýze pro GRFS byl nejvýznamnější vliv pokročilé nemoci (HR 2,445, 95% CI 1,454–4,113; p = 0,0008), dále aGVHD III–IV (HR 2,974, 95% CI 1,431–6,179; p = 0,0035) a CMV shoda (HR 2,167, 95% CI 1,320–3,556; p = 0,0022). Stejně faktory byly v multivariační analýze významné i pro OS.

**Závěr:** Čtvrtina starších nemocných s AML/MDS dosáhne po AloHCT dlouhodobého GRFS. Zásadní je riziko základního onemocnění, nikoliv typ dárce. U těchto nemocných je tedy klíčové provedení transplantace v časných stádiích onemocnění, akceptovat lze jakéhokoliv nejlépe dostupného dárce.



## ALOGENNÍ TRANSPLANTACE KRVETVORBY STARŠÍCH PACIENTŮ – ROLE PŘÍPRAVNÉHO REŽIMU

Vydra J., Nováková L., Šťastná Marková M., Válková V., Vítek A., Cetkovský P.

Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

**Cíl:** Cílem práce bylo analyzovat vliv přípravného režimu na výsledky alogenní transplantace krve tvorby (alo-HCT) starších pacientů.

**Metody:** Analýza přežití dat pacientů starších 49 let, kteří absolvovali v ÚHKT v letech 2011–2021 první alo-HCT.

**Výsledky:** Bylo zařazenou 263 pacientů, 101 starších 59 let a 162 ve věku 50–59 let. Dárce byl HLA shodný nepříbuzný (MUD, n = 156 (59,3 %)), HLA shodný sourozenec (MSD, n = 43 (16,3 %)), HLA neshodný nepříbuzný (MMUD, n = 40 (15,2 %)) nebo haploidentický (HAPLO, n = 24 (9,14 %)). Profylaxe GvHD byla kombinací inhibitoru kalcineurinu a mykofenolátu (CNI + MMF) u MSD dárce; v případě nepříbuzných CNI+MMF s ATG (n = 133 (50,6 %)) nebo spotransplantačním cyklofosfamidem (ptCy, n = 23 (8,75 %)), v případě haploidentických dárce pak CNI + MMF + ptCy (ptCy, n = 24 (9,13 %)). Přípravný režim byl u pacientů do 59 let myeloablativní s busulfanem (MA-Bu) v 68 %, RIC Flu/Mel v 7,5 % a myeloablativní s TBI (MA-TBI) ve 24 %. U starších pacientů (> 59) byl použit RIC-Flu/Mel (56 %), RIC-BU/Flu (26 %), RIC Flu/Treo (9 %) a MA-BU (7 %). RIC-Flu/Treo byl podáván v 78 % s ptCy, zatímco RIC-Flu/Bu v 81 % s ATG. Pacienti starší 59 let měli častěji komorbidity (OR 2,03).

OS po 5 letech byl 52,9 % (95% CI 46,4–60,2 %); mezi 2011–2015 byl OS 42,4 % (95% CI 34,8–51,8 %), mezi 2016–2021 67,3% (95% CI 57,5–78,8%). Vzhledem k nízkému počtu pacientů v jednotlivých

podskupinách nebylo možné v multivariační analýze prokázat statisticky významné rozdíly vlivu transplantačních charakteristik na OS, NRM a incidenci relapsu s výjimkou nepříznivého vlivu myeloablativní přípravy s TBI a transplantace od MMUD dárce s použitím ATG. Z použitých přípravných režimů bylo dosahováno přijatelné kumulativní incidence nerelapsové mortality (NRM) po 2 letech po MA-Bu (10 %, n = 112) a RIC-Flu/Treo (11 %, n = 9), kumulativní incidence relapsu (CIR) byla 27 % po MA-Bu a 44 % po RIC-Flu/Treo. Při použití ostatních režimů byla NRM/CIR 26/21 % (Flu/Mel), 27/27 % (RIC Bu/Flu) a 29/22 % (MA-TBI).

**Závěr:** Použití MA-Bu bylo spojeno s přijatelnou incidencí NRM a CIR, MA-Bu je nicméně v ÚHKT používán u pacientů do 60 let věku. U pacientů > 60 let byla incidence NRM po RIC-Flu/Mel a RIC-Flu/Bu/ATG vysoká. Zkušenosti s použitím RIC-Flu/Treo s ptCy jsou zatím v našem centru limitované, ale odpovídají literárním údajům.

## DVA PŘÍSTUPY K ALOGENNÍM TRANSPLANTACÍM KRVETVORBY DOSPĚLÝCH S AKUTNÍMI LYMFOBLASTICKÝMI LEUKÉMIEMI V PRVNÍ KOMPLETNÍ REMISI

Raida L.<sup>1</sup>, Kuba A.<sup>1</sup>, Faber E.<sup>1</sup>, Szotkowská R.<sup>1</sup>, Skoumalová I.<sup>1</sup>, Szotkowski T.<sup>1</sup>, Čerňan M.<sup>1</sup>, Hubáček J.<sup>1</sup>, Indrák K.<sup>1</sup>, Papajík T.<sup>1</sup>, Langová K.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Hemato-onkologická klinika LF UP a FN Olomouc

<sup>2</sup> Ústav lékařské biofyziky, LF UP, Olomouc

**Úvod:** Indikace alogenních transplantací krve tvorných buněk (alloHSCT) v první kompletní remisi (1. CR) akutních lymfoblastických

leukémií (ALL) jsou stále diskutovány, a to zejména pro vysokou úmrtnost na komplikace (TRM) po preferovaných myeloablativních přípravných režimech (MAC). Alternativním přístupem by mohla být aplikace méně intenzivního přípravného režimu (RIC) s in vivo T-deplecí a následným časnějším vysazením imunosupresiv podávaných v prevenci nemoci štěpu proti hostiteli (GVHD), což může být zásadní pro imunitní kontrolu leukémie (GVL).

**Cíl:** Retrospektivně byly porovnány výsledky alloHSCT u dospělých nemocných v 1. CR ALL po MAC se standardně vedenou profylaktickou imunosupresí a po RIC kombinujících fludarabin, melfalan a thymoglobulin (FMTG) s plánem časně redukce a vysazení profylaktické imunosuprese. Podle stanovené nulové hypotézy se sledované potransplantační parametry (GVHD, relapsy, TRM, celková úmrtnost) v obou skupinách neměly významně lišit.

**Metody:** Byla vyhodnocena data 48 nemocných transplantovaných v 1. CR ALL po MAC (19; 39,6 %) a FMTG (29; 60,4 %) s mediány sledování 3,5 (0,02–12,7), resp. 5,1 (0,5–11) roku ( $p = 0,6$ ). Tyto skupiny se statisticky významně lišily v hyperleukocytóze při diagnóze (52,6 vs. 10,3 %;  $p = 0,002$ ), věku nemocných (27 [19–51] vs. 35 [20–61] let;  $p = 0,006$ ) a hraničně v omezeně hodnotitelné (28 příjemců; 58,3 % zbytkové chorobě (MRD) (80 vs. 38,9 %;  $p = 0,05$ ).

**Výsledky:** Vyšší pravděpodobnost přežití bez relapsu (RFS) (69,7 % [95% CI 52,3–87,1 %] vs. 34,6 % [95% CI 12,2–57,1 %];  $p = 0,04$ ), bez GVHD a relapsu (GRFS) (51,9 % [95% CI 33,2–70,6 %] vs. 12 % [95% CI 0–25,2 %];  $p = 0,002$ ) a celkového přežití (OS) (83,5 % [95% CI 68,9–98,1 %] vs. 44,7 % [95% CI 22,4–67 %];  $p = 0,005$ ) měli nemocní transplantovaní po FMTG s redukcí imunosuprese. Jedinými nezávislými prediktory, které zvýšily riziko relapsu ALL byly nepříznivé cytogenetické abnormality t(9;22) a t(4;11) (HR 5,7 [95% CI 1,6–20,2 %];  $p = 0,007$ ). Potransplantační úmrtí byla významně spojena se stupněm režimové gastrointestinální toxicity (HR 2,3 [95% CI 1,17–4,5 %];  $p = 0,02$ ) a samotným relapsem ALL (HR 14,0 [95% CI 3,4–57,4 %];  $p = 0,0002$ ). Aplikace thymoglobulinu v přípravném režimu pak byla jediným faktorem, který snížil riziko TRM (HR 0,25 [95% CI 0,12–0,54 %];  $p = 0,0004$ ).

**Závěr:** Analýza poukázala na potenciál dosažení lepších výsledků alloHSCT u dospělých s ALL v 1. CR po redukované přípravě s in vivo T-deplecí, avšak následnou časnou redukcí a vysazením profylaktické imunosuprese. Další validace prezentovaných výsledků by mohly změnit pohled na indikace alloHSCT v primární léčbě u řady ALL dospělého věku.

Podpořeno granty IGA-LF-2021-001 a MZ ČR – RVO (FNOI, 00098892)

## INCIDENCE GVHD PŘI RUTINNÍM POUŽITÍ ATG: ZKUŠENOSTI JEDNOHO PRACOVISTĚ

Kováčsová F., Krejčí M., Kabut T., Tomiška M., Weinbergerová B., Mayer J., Folber F.

Interní hematologická a onkologická klinika LF MU a FN Brno

**Cíl:** Antithymocytární globulin (ATG, Grafalon) je polyklonální imunoglobulin proti T lymfocytům využívaný ke snížení rizika

rejekce štěpu a akutní a chronické reakce štěpu proti hostiteli (GvHD) u alogenní transplantace krvetvorných buněk (aloHSCT). Cílem bylo zjištění incidence GvHD při použití ATG a porovnání výskytu v jednotlivých podskupinách pacientů.

**Metody:** Do analýzy byli zařazeni všichni pacienti po první aloHSCT provedené na našem pracovišti v letech 2006–2020, u kterých byl použit ATG. Sledovali jsme incidenci a závažnost akutní a chronické GvHD a rozdílly ve výskytu podle shody HLA mezi dárce a příjemcem, intenzity přípravného režimu a základní diagnózy.

**Výsledky:** Celkový počet definovaných pacientů za sledované období činil 398, z toho AML/MDS 203, ALL 69, NHL/HL 44, CML/MPN 40, CLL 30, ostatní diagnózy 12. Akutní GvHD byla zaznamenána u 36,2 % (grade III a IV u 6,8 %), chronická GvHD u 25,6 % (extenzivní 2,5 %). Incidence GvHD po nepřibuzenské transplantaci byla vyšší než po transplantaci od příbuzného dárce (akutní GvHD 39,9 % vs. 27,4 %,  $p = 0,02$ ; chronická GvHD 28,1 % vs. 19,7 %,  $p = 0,1$ ). V případě jedné neshody v HLA byl vyšší výskyt jak akutní (50 %), tak chronické GvHD (33,3 %) v porovnání se shodou 10/10 (akutní GvHD 37,6 %, chronická 20,4 %). Myeloablativním přípravným režimem (MAC) bylo léčeno 27,6 %, režimem s redukovanou intenzitou (RIC) 72,4 % nemocných. Výskyt akutní GvHD byl vyšší u pacientů s RIC než u pacientů s MAC (39,9 % vs. 26,4 %,  $p < 0,01$ ), rovněž ve skupině pacientů s myeloidními malignitami (38,3 %) než u nemocných s lymfoidními malignitami (11,9 %), což se však dá vysvětlit nižším podílem RIC v této skupině.

**Závěr:** Při použití ATG výskyt závažných forem akutní a chronické GvHD dosahoval 6,8 % a 2,5 %. Významná byla rozdílnost incidence dle intenzity přípravného režimu a HLA shody.

## INTESTINAL EXPRESSION OF P16INK4A CORRELATES WITH LATE ONSET OF GASTROINTESTINAL (GI) SYMPTOMS OF ACUTE GRAFT VERSUS HOST DISEASE (GVHD) AND IS ASSOCIATED WITH NFKB1 GENE POLYMORPHISMS IN ALLOGENEIC HEMATOPOIETIC STEM CELL TRANSPLANT (HSCT) RECIPIENTS

Kuba A.<sup>1</sup>, Raida L.<sup>1</sup>, Brychtová S.<sup>2</sup>, Kriegová E.<sup>3</sup>, Mrázek F.<sup>3</sup>, Petráčková A.<sup>3</sup>, Papajík T.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Department of Hemato-Oncology, University Hospital and Faculty of Medicine and Dentistry, Palacky University, Olomouc

<sup>2</sup> Department of Clinical and Molecular Pathology, University Hospital and Faculty of Medicine and Dentistry, Palacky University, Olomouc

<sup>3</sup> Department of Immunology, University Hospital and Faculty of Medicine and Dentistry, Palacky University, Olomouc

**Aim:** We analyzed the expression of p16<sup>INK4a</sup>, a hallmark of cellular senescence, in intestinal biopsies of patients with lower GI symptoms and the impact of NFKB1 gene polymorphisms.

**Methods:** We present a single-center retrospective study of 52 patients (50% male) who received HSCT for hematological diseases (acute leukemias in 67%) and developed lower GI symptoms



of probable GVHD. Immunohistochemical detection of p16<sup>INK4a</sup> expression in morphologically normal intestinal crypts and stroma were done on formalin-fixed and paraffin-embedded tissue samples.

Two *NFKB1* gene polymorphisms (rs3774937 C/T and rs3774959 A/G) that were previously reported in association with acute GVHD were genotyped from patients' peripheral blood.

**Results:** There was less p16<sup>INK4a</sup> expression detected in the intestinal stroma of patients with histological grade 3-4 GVHD (31% positive) than in those with grade 1-2 (68% positive), ( $P = 0.02$ ). Patients with and without p16<sup>INK4a</sup> expression in intestinal crypts developed lower GI symptoms in median of 43 days (range 12-140) and 24 days (range 13-80), respectively ( $P = 0.02$ ). The multivariate Cox regression confirmed the independent effect of p16<sup>INK4a</sup> expression on the risk of developing lower GI symptoms (RR 0.36 [95%CI 0.18-0.72];  $P = 0.004$ ).

The *NFKB1* genotype rs3774937 CC and TT/TC were present in 40 and 80% of patients with p16<sup>INK4a</sup> expression, respectively ( $P = 0.04$ ). The genotype rs3774959 AA and GG/AG were present among 43 and 82% of patients with p16<sup>INK4a</sup> expression, respectively ( $P = 0.02$ ).

**Conclusions:** Expression of p16<sup>INK4a</sup> in intestinal crypts was independently related to late manifestation of lower GI symptoms and was associated with no clinical variable but *NFKB1* genotype. Recently, a novel aspect of cellular senescence has emerged considering it as a program of the innate immune response. In GVHD, innate immunity becomes seriously deregulated. Our results suggest possible mechanisms that may lead to better understanding of HSCT-related immune complications.

*Supported by MH CZ-DRO (FNOI, 00098892).*

# COVID-19

## ICIS SKÓRE JAKO PROGNOSTICKÝ ZNAK TĚŽKÉHO PRŮBĚHU COVID-19 V ČASNÉ FÁZI ONEMOCNĚNÍ

Vrbacký F., Fátorová I., Hrnčířová K., Malá M., Žák P.

IV. interní hematologická klinika FN Hradec Králové

**Úvod:** Přes veškeré úsilí je onemocnění COVID-19 stále velmi nebezpečnou a život ohrožující chorobou, pro kterou je typický velmi různorodý průběh. Riziko závažných komplikací je vyšší u starších, obézních či komorbidních nemocných, mohou se však rozvinout i u mladších a celkově zdravých jedinců. Závažně nemocní často potřebují ventilační podporu a musí být přijati do nemocnice, kde jim je poskytnuta adekvátní péče. V současné době se objevuje řada prací studujících znaky umožňující rozpoznat závažně nemocné v časně fázi onemocnění, aby jim mohla být tato péče poskytnuta co nejdříve. Cílem práce bylo zhodnotit prognostický potenciál tzv. ICIS (Intensive Care Inflammatory Score), parametru poskytovaného analyzátorů krvinek firmy Sysmex. ICIS popisuje včasnou odpověď organismu na infekci a používá se např. jako včasný ukazatel rozvíjející se sepse. Mohl by být proto vhodným kandidátem na prognostický znak u onemocnění COVID-19.

**Metody:** U nemocných s onemocněním COVID-19 diagnostikovaným ve Fakultní nemocnici Hradec Králové v říjnu a listopadu 2020 bylo pomocí analyzátoru Sysmex XN-3000 stanoveno ICIS. Pacienti byli následně rozděleni do skupin podle průběhu onemocnění. Závažný průběh byl definován jako potřeba ventilační podpory či úmrtí způsobené nemocí. Prognostický význam ICIS a dílčích výsledků použitých k jeho výpočtu, byl vyhodnocen pomocí ROC (Receiver Operating Characteristic) křivek a plochy pod křivkou (AUC, area under curve).

**Výsledky:** Z 205 nemocných se závažné příznaky rozvinuly u 156. Ze sledovaných parametrů byla nejvyšší hodnota AUC u parametru ICIS. Pomocí hodnoty Youdenova indexu bylo nejvyšší sensitivity a specifity (64,7 a 77,6 %) dosaženo při hranici ICIS > 3. Pozitivní prediktivní hodnota ve studovaném souboru byla 90,2 %.

**Závěr:** ICIS skóre se jeví jako nadějný, na rozšířených analyzátoch firmy Sysmex snadno a rychle měřitelný, parametr s dobrým prognostickým potenciálem. Hodnota ICIS > 3 predikuje závažný průběh onemocnění s vysokou sensitivity a pozitivní prediktivní hodnotou.

Podpořeno programem PROGRES Q40/08 a MZ ČR-RVO (FNHK, 00179906).

## COVID-19 U HEMATOLOGICKÝCH PACIENTOV LIEČENÝCH NA NOÚ BRATISLAVA

Rusiňáková Z.<sup>1</sup>, Kašperová B.<sup>1</sup>, Vašíčková R.<sup>1</sup>, Cingelová S.<sup>1</sup>,

Vranovský A.<sup>1,2</sup>, Mikušková E.<sup>1</sup>, Drgoňa L.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Klinika onkohematológie, Národný onkologický ústav, Bratislava, Slovensko

<sup>2</sup> Lekárska fakulta UK, Bratislava, Slovensko

**Ciel:** Popísať mortalitu i zhodnotiť rizika spojené s nepriaznivým priebehom COVID-19 u pacientov s hematologickou malignitou.

**Metódy a výsledky:** Retrospektívne sme analyzovali 150 pacientov, u ktorých bol od 10/2020 do 4/2021 zachytený pozitívny PCR test na SARS-CoV-2. V súbore bolo 84 mužov (56 %), 66 (44 %) žien, medián veku bol 56 rokov, 64 pacientov bolo starších ako 60 rokov (42 %). Pacienti boli liečení/sledovaní s dg. NHL (46 %), HL (19 %) MM (11 %), AL (11 %), CLL (7 %), alebo s inými ochoreniami (6 %). Desiat pacientov bolo po alloTKB, 22 po autoTKB a 1 pacientka po CAR-T bunkovej terapii. Z pridružených ochorení malo 21 (14 %) pacientov diabetes mellitus, 63 (42 %) arteriálnu hypertenziu a 35 (23 %) bezitu. Deväťdesiat (60 %) pacientov sa v dobe dg. COVID-19 buď liečilo alebo bolo do 6 mesiacov od poslednej systémovej protinádorovej terapie. Tridsaťosem (25 %) pacientov terapiu začalo, alebo v nej pokračovalo pri trvajúcej PCR pozitivite na SARS-CoV-2. Priebeh ochorenia bol u 26 (17 %) pacientov asymptomatický, 59 (39 %) vyžadovalo hospitalizáciu. Nad ≥ 60 rokov vyžadovalo hospitalizáciu 34 pacientov. U mladších (< 60 rokov) to bolo 25 pacientov (p = 0,003). Medián dĺžky hospitalizácie bol 19 dní (3–69 dní). Z 59 hospitalizovaných pacientov vyžadovalo 52 oxygenoterapiu – 11× HFNO a 10× UPV (medián dĺžky UPV bol 11,5 dňa). Z súboru zomrelo 32 pacientov (21 %), 13 bolo v KR. Z 90 pacientov, ktorí dostali protinádorovú liečbu, prežilo 65 (72 %), kým z ostatných 60 pacientov, ktorí liečbu nedostávali, preživalo 53 (88 %), (p = 0,018). Zo 71 pacientov (47 %), ktorí nemali ani jeden rizikový faktor zomrelo 15 pacientov. V skupine s aspoň 2 RF ich bolo 12 (p = 0,12).

**Záver:** Analýza našich pacientov potvrdila, že anamnéza hematologickej malignity u pacienta v dlhodobej remisii nemusí byť spojená s vyšším rizikom závažného priebehu ochorenia COVID-19, zatiaľ, čo aktívna protinádorová terapia zvyšuje riziká v porovnaní s bežnou populáciou

## COVID-19 U NEMOCNÝCH S CHRONICKOU LYMFOCYTÁRNÍ LEUKEMIÍ V ČESKÉ REPUBLICE: MULTICENTRICKÁ ANALÝZA ČESKÉ CLL SKUPINY (ČSCLL)

Turcsányi P.<sup>1\*</sup>, Šimkovič M.<sup>2\*</sup>, Mihályová J.<sup>3</sup>, Ryznerová P.<sup>1</sup>, Maco M.<sup>4</sup>, Panovská A.<sup>5</sup>, Prchlíková A.<sup>5</sup>, Mašlejová S.<sup>5</sup>, Brychtová Y.<sup>5</sup>, Bezděková L.<sup>5</sup>, Lekaa M.<sup>6</sup>, Vodárek P.<sup>2</sup>, ěsiová D.<sup>2</sup>, Poul H.<sup>7</sup>, Móciková H.<sup>4</sup>, Zuchnická J.<sup>3</sup>, Papajík T.<sup>1</sup>, Urbanová R.<sup>1</sup>, Smolej L.<sup>2</sup>, Lysák D.<sup>6</sup>, Špaček M.<sup>4</sup>, Doubek M.<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Hemato-onkologická klinika LF UP a FN Olomouc

<sup>2</sup>IV. interní hematologická klinika LF UK a FN Hradec Králové

<sup>3</sup>Klinika hematookologie FN Ostrava

<sup>4</sup>Hematologická klinika 3. LF UK a FN Královské Vinohrady, Praha

<sup>5</sup>Interní hematologická a onkologická klinika LF MU a FN Brno

<sup>6</sup>Hematologicko-onkologické oddělení, FN Plzeň

<sup>7</sup>Oddělení hematologie a transfuziologie, Nemocnice, Pelhřimov

\*první dva autoři přispěli ke vzniku abstrakta stejnou měrou.

**Úvod:** Nemocní s chronickou lymfocytární leukemií (CLL) mají v důsledku závažné imunosuprese a vlivem případné léčby vysoké riziko nepříznivého průběhu infekce SARS-CoV-2 (COVID-19).

**Cíl:** Popsat výskyt a dopad infekce virem COVID-19 na populaci pacientů s CLL v České republice.

**Metody:** Multicentrická, retrospektivní analýza klinických dat. Použité statistické metody: Coxův regresní model, log-rank test, Kaplan-Meierovy křivky přežití. Definice významné komorbidity: CIRS (Cumulative Illness Rating Scale)  $\geq 3$  body u jednotlivé komorbidity, nebo celkové skóre CIRS  $> 6$

**Výsledky:** V období od března 2020 do dubna 2021 bylo identifikováno 286 pacientů (199 mužů) s CLL a nemocí COVID-19, prokázanou PCR testem. Věkový průměr byl 69 let (rozmezí 38–91). Medián sledování souboru byl 105 dnů. K úmrtí v souvislosti s onemocněním COVID-19 došlo u 26,6 % pacientů. Z 279 hodnocených vyžadovalo hospitalizaci 169 (60 %) pacientů, přičemž 58 (21 %) vyžadovalo hospitalizaci na JIP. CLL byla v době infekce aktivně léčena u 111 pacientů (39 %); mortalita u 75 nemocných s probíhající léčbou perorální inhibitory, bez anti-CD20 protilátky byla 39 % a u 26 nemocných léčených imunochemoterapií 46 %. Univariátní analýzou byl prokázán jako klinicky signifikantní rizikový faktor (RF) pro celkové přežití (OS): předchozí či pokračující léčba CLL – poměr rizik (HR) 3,18 ( $p < 0,001$ ), významná komorbidita – HR 1,87 ( $p = 0,030$ ), věk nad 70 let – HR 2,69 ( $p < 0,0001$ ) a nemutovaný gen pro IGHV – HR 1,82 ( $p = 0,034$ ). Multivariátní analýza prokázala jako klinicky významné RF vyšší počet předchozích linií – HR 1,29 ( $p = 0,010$ ) a věk nad 70 let – HR 2,72 ( $p = 0,001$ ). Zkoumané RF jako obezita, pohlaví, alterace TP53 dráhy nebyly identifikovány jako klinicky významné.

**Závěr:** Data z České republiky potvrzují vysokou mortalitu na onemocnění COVID-19 u pacientů s CLL. Naše analýza prokázala nejvyšší úmrtnost u podskupiny nemocných ve vyšším věku, s předchozí či probíhající léčbou CLL a závažnými komorbiditami.

Práce byla podpořena programem PROGRES Q40/08.

## ÚČINNOST A BEZPEČNOST MONOKLONÁLNÍCH PROTILÁTEK ANTI-SARS-COV-2 U HEMATOLOGICKÝCH PACIENTŮ – VÝSLEDKY MULTICENTRICKÉ OBSERVAČNÍ STUDIE

Weinbergerová B.<sup>1</sup>, Demel I.<sup>2</sup>, Válka J.<sup>3</sup>, Víšek B.<sup>4</sup>, Čerňan M.<sup>5</sup>, Jindra P.<sup>6</sup>, Novák J.<sup>7</sup>, Stejskal L.<sup>8</sup>, Kováčsová F.<sup>1</sup>, Kabut T.<sup>1</sup>, Sztokowski T.<sup>5</sup>, Hájek R.<sup>2</sup>, Žák P.<sup>4</sup>, Cetkovský P.<sup>3</sup>, Procházková J.<sup>1</sup>, Mayer J.<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup>Klinika hematookologie LF OU a FN Ostrava

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

<sup>4</sup>Interní hematologická klinika LF UK a FN Hradec Králové

<sup>5</sup>Hemato-onkologická klinika LF UP a FN Olomouc

<sup>6</sup>Hematologicko-onkologické oddělení, FN Plzeň

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

<sup>8</sup>Hematologicko-transfúzní oddělení, Slezská nemocnice, Opava

**Cíl:** Hematologičtí pacienti mají oproti běžné populaci vyšší riziko závažného průběhu COVID-19. Rekombinantní monoklonální protilátky neutralizující SARS-CoV-2 podané časně v době diagnózy infekce mohou zmírnit její průběh.

**Metody:** Retrospektivní analýza hodnotící účinnost a bezpečnost preparátů Bamlanivimab a REGN-COV2 podaných 1. 3. 2021–13. 5. 2021 u COVID-19 pozitivních hematologických pacientů dispenzarizovaných na 8 hematologických centrech ČR.

**Výsledky:** Analyzováno bylo 97 pacientů s mediánem věku 62 let (19–84). Medián sledování od podání protilátky byl 25 dní (0–83). Nejčastější hematologickou diagnózu představoval lymfom (31 %; 30/97), akutní leukémie (21 %; 20/97), myelom (18 %; 17/97) a CLL (12 %; 12/97). Hematologickou léčbu (poslední 2 roky před COVID-19) dostalo 75 % pacientů (73/97), z nich 37 % (27/73) anti-CD20 protilátku, 8 % (6/73) mělo provedenou alogenní a 8 % (6/73) autologní HSCT. Více než třetina pacientů (37 %; 33/90) se infikovala po očkování anti-SARS-CoV-2, většina z nich po 1. dávce (73 %; 24/33), 3 po 2. dávce (9 %; 3/33), u 18 % (6/33) data chybí. Bamlanivimab byl použit častěji (69 %; 67/97) než REGN-COV2; medián aplikace protilátek byl 1 den od diagnostického testu (0–6). Nežádoucí příhoda po podání preparátů byla zaznamenána u 2,6 % (2/78) pacientů. V době podání preparátů bylo rozložení závažnosti infekce následující: 27 % (26/97) asymptomatických, 59 % (57/97) lehkých, 11 % (11/97) středních, 2 % (2/97) těžkých a 1 % (1/97) kritických případů. Po podání protilátky zůstalo 18 % (17/97) pacientů asymptomatických, naopak ke zhoršení závažnosti infekce došlo v celém souboru u 26 % (25/97) případů, pouze u 12 % (12/97) do těžkého-kritického COVID-19, 14 % případů bylo nehodnotitelných (14/97). V celém souboru zemřelo 5 % (5/97) pacientů, všichni v souvislosti s infekcí.

**Závěr:** Na základě výsledků analýzy se zdají být u hematologických pacientů, především se vstupně mírnější formou COVID-19, časně aplikované monoklonální protilátky efektivní, co se týče zmírnění průběhu a zlepšení prognózy. Tolerance podaných preparátů byla velmi dobrá.

Práce byla podpořena CELL, grantem MZČR–RVO (FNBr 65269705).

## PROTEKCE PROTI COVID-19 U PACIENTŮ LÉČENÝCH ANTICD38 PROTILÁTKOU PRO MNOHOČETNÝ MYELOMEM PO VAKCINACI MRNA VAKCÍNOU (BNT162B2, MRNA-1273) – RETROSPEKTIVNÍ ANALÝZA

Radocha J.<sup>1</sup>, Jelínek T.<sup>2</sup>, Fajfr M.<sup>3</sup>, Králíčková P.<sup>4</sup>, Sedlák F.<sup>5</sup>, Minařík J.<sup>6</sup>, Jungová A.<sup>7</sup>, Šušol O.<sup>2</sup>, Nováková D.<sup>1</sup>, Hájková B.<sup>2</sup>, Hájek R.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>IV. interní hematologická klinika LF UK a FN Hradec Králové

<sup>2</sup>Klinika hematookologie FN Ostrava

<sup>3</sup>Ústav klinické mikrobiologie, LF UK a FN Hradec Králové

<sup>4</sup>Ústav klinické imunologie a alergologie, LF UK a FN Hradec Králové

<sup>5</sup>I. interní klinika – klinika hematologie 1. LF UK a VFN v Praze

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

<sup>7</sup>Hematologicko-onkologické oddělení, LF UK a FN Plzeň

**Úvod:** Pacienti s mnohočetným myelomem (MM) léčení antiCD38 protilátkou jsou v riziku rozvoje infekcí a v riziku selhání přirozené nebo postvakcinační imunity. Cílem této analýzy bylo retrospektivně vyhodnotit protilátkovou odpověď a odpověď buněčné imunity u pacientů s MM, kteří byli vakcinováni mRNA vakcínou.

**Metodika:** Do analýzy byli zahrnuti nemocní léčení pro MM, léčení isatuximabem či daratumumabem v jakékoli kombinaci a kteří podstoupili očkování proti COVID-19 mRNA vakcínou BNT162b2 (Comirnaty, Pfizer) nebo mRNA-1273 (Moderna COVID-19 vaccine, Moderna) a současně měli k dispozici vyšetření protilátek a/nebo buněčné imunity nejdříve za 7 dní po 2. dávce vakcíny. Zdrojem analýzy byla data doplněná z Registru monoklonálních gamapatií. Protilátky byly stanoveny pomocí standardů v daném centru (EI SARS-CoV-2 IgG (Euroimmune, Německo) nebo LIAISON® SARS-CoV-2 S1/S2 IgG (Diasorin, Itálie). Virus neutralizační test byl proveden dle dříve popsané metodiky (Manetti et al, 2020). Test na buněčnou imunitu QuantiFERON SARS-CoV-2 RUO (Qiagen, Německo) dle pokynů výrobce.

**Výsledky:** Byla získána data od 52 pacientů s MM, kteří splnili výše uvedená kritéria (průměrný věk 67 let, 41–80 let). Celkem 33/60 (55 %) pacientů bylo léčeno kombinací Dara-RD, 9/60 (15 %) Dara-VD, 2/60 (3,3 %) Dara v monoterapii, 9/60 (15 %) jinou kombinací Dara a 7/60 pacientů (11,7 %) kombinací Isatuximabu. Medián předchozích linií byl 1 (0-5) a pacienti dostali medián 9 cyklů (1–37) dané terapie. Celkem byla protilátková odpověď ve třídě IgG detekovatelná u 46/60 pacientů (76,7 %), ve třídě IgA u 7/30 pacientů (76,7 %). VNT byl pozitivní u 21/39 pacientů (53,8 %). Vyšetření buněčné imunity bylo pozitivní v subsetu CD4+ lymfocytů u 14/30 pacientů (46,7 %) a subsetu CD8+ u 17/30 pacientů (56,7 %).

**Závěr:** Protektivní protilátky proti SARS CoV-2 2019 viru je možné detekovat u 76,7 % pacientů, vzestup protilátek není vždy doprovázen adekvátní neutralizací séra a buněčnou odpovědí, která je přítomna asi u poloviny vakcinovaných.

## PROTILÁTKOVÁ ODPOVĚĎ U 556 NAOČKOVANÝCH DVOUDÁVKOVOU MRNA VAKCÍNOU PROTI SARS-COV-2 – ZKUŠENOSTI JEDNOHO CENTRA

Šušol O.<sup>1</sup>, Hájková B.<sup>1</sup>, Kočí M.<sup>1</sup>, Jelínek T.<sup>1,2</sup>, Mihályová J.<sup>1,2</sup>, Kaščák M.<sup>1,2</sup>, Ďuraš J.<sup>1,2</sup>, Szeligová L.<sup>1</sup>, Kořístek Z.<sup>1,2</sup>, Navrátil M.<sup>1,2</sup>, Zuchnická J.<sup>1</sup>, Plonková H.<sup>1</sup>, Stejskal L.<sup>1,2</sup>, Buffa D.<sup>1</sup>, Demel I.<sup>1</sup>, Popková T.<sup>1,2</sup>, Hradská K.<sup>1</sup>, Muroňová L.<sup>1</sup>, Dluhošová B.<sup>1</sup>, Žitníková D.<sup>1</sup>, Janušková M.<sup>1</sup>, Dudová L.<sup>1</sup>, Benková K.<sup>1,2</sup>, Zelená H.<sup>3</sup>, Gumulec J.<sup>1,2</sup>, Hájek R.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Klinika hematookologie FN Ostrava

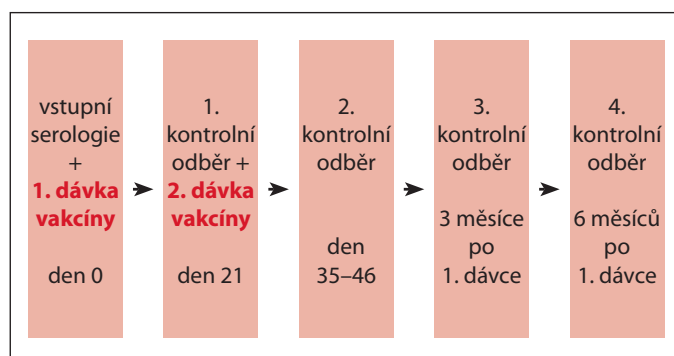
<sup>2</sup>LF OU, Ostrava

<sup>3</sup>Zdravotní ústav se sídlem v Ostravě

**Úvod:** Hematoonkologičtí pacienti patří k nejrizikovějším skupinám pro těžký průběh onemocnění COVID-19 a je důležité jim nabídnout všechny dostupné způsoby ochrany včetně vakcinace. Na našem pracovišti jsme mimo standardních bariérových opatření zavedli očkovací program včetně sledování protilátkové odpovědi. První výstupy jsou předmětem tohoto sdělení.

**Metody:** Od 1. 3. 2021 do 31. 5. 2021 jsme na Klinice hematookologie FN Ostrava 556 nemocným aplikovali dvoudávkovou mRNA vakcínu COMIRNATY (Pfizer/ BioNTech) ve 21denním schématu. V průběhu očkování byla všem provedena kontrolní vyšetření titru protilátek a virus neutralizačního testu (obrázek) a vybraným skupinám pacientů (léčba anti-CD38, Venetoclax, Bendamustin) otestována specifická CD4+ a CD8+ buněčná imunita.

**Výsledky:** Během 3 měsíců jsme naočkovali 556 pacientů s onkologickou (94 %) i neonkologickou (6 %) hematologickou diagnózou a 165 pacientů bylo naočkováno v jiném zdravotnickém zařízení, což je více než 95 % aktivně léčených na naší klinice. V pěti případech nebyla vakcinace dokončena z důvodu úmrtí pro progresi základního onemocnění. Protilátkové odpovědi dosáhlo 59,1 % (197/333) pacientů [85 % (40/47) u chronických myeloproliferací,



**Obr. 1. časové schéma vakcinace a kontrolních odběrů (IgG, IgM, IgA a VNT anti SARS-CoV-2)  
\*u vybraných skupin pacientů (anti-CD38, anti-CD20, Venetoclax) také buněčná imunita**

69 % (59/86) u mnohočetného myelomu, 67 % (24/36) u akutních leukemií, 60 % u B-lymfomů (49/82) a neonkologických diagnóz (15/25) a 33 % (14/43) u CLL]. Nejčastějším nežádoucím účinkem po 1. a 2. dávce byla bolest v místě vpichu [(42,5 %, (209/492), resp. 25 %, (94/377)], nejčastějším systémovým nežádoucím účinkem byla únava [(10,5 %, 52/492, resp. 13 %, 49/377)]. Vliv očkování na snížení mortality a výsledky buněčné imunity budou prezentovány po zpracování dat 3 měsíce po očkování.

**Závěr:** Očkování hematoonkologických pacientů je jedním z důležitých pilířů ochrany před COVID-19, ačkoliv u některých typů onemocnění (CLL) či léčby (anti-CD20) je jeho účinnost významně snížena. Dosud není určen význam hladiny protilátek a VNT pro ochranu jedince, můžeme však předpokládat nízkou ochranu určitých skupin nemocných i po vakcinaci. U těchto pacientů bude vhodné diskutovat alternativní řešení jako např. specifické monoklonální protilátky, snižující rizika komplikací.

# TRANSFUZNÍ LÉKAŘSTVÍ

## PATOGEN REDUKCE KRYOKONZERVOVANÝCH ERYTROCYTŮ

Kutáč D.<sup>1,2</sup>, Bohoněk M.<sup>1,3</sup>, Landová L.<sup>1,3</sup>, Kostrouchová B.<sup>1</sup>, Stašková E.<sup>1</sup>, Blahutová M.<sup>1</sup>, Lovecký J.<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Oddělení hematologie a krevní transfuze, ÚVN – VFN, Praha

<sup>2</sup> Fakulta vojenského zdravotnictví, Univerzita obrany v Brně, Hradec Králové

<sup>3</sup> Fakulta biomedicínského inženýrství, ČVUT v Praze

<sup>4</sup> Oddělení klinické biochemie, Nemocnice Milosrdných sester sv. Karla Boromejského v Praze

**Úvod a cíl:** Metody patogen redukce (PRT) se úspěšně používají k ošetření plazmy, čerstvých trombocytů a čerstvé plné krve. Bylo publikováno mnoho studií pro hodnocení kvalitativních parametrů kryokonzervovaných erytrocytů (CRBC), ale dopad PRT na CRBC nebyl doposud hodnocen. Cílem této studie bylo srovnání in vitro kvalitativních parametrů mezi PRT ošetřenými a neošetřenými CRBC, vyrobenými z PRT ošetřených nebo neošetřených čerstvých plných krví (WB).

**Metody:** Byla provedena srovnávací studie CRBC ošetřených PRT (T-CRBC) a neošetřených (C-CRBC). Po odběru byly jednotky WB ošetřeny PRT metodou Mirasol (n = 23) nebo zůstaly neošetřené (n = 20). Po ošetření PRT byl odstraněn buffy coat a jednotky byly in-line deleukotizovány a zpracovány podle standardních postupů. Erytrocyty ze všech jednotek byly glycerolizovány ve 40% glycerolu a zmrazeny na -80 °C, následovalo rozmrazení a několik promývacích cyklů. Deglycerolizované CRBC byly rekonstituovány v Nutricel (AS-3) a skladovány při 4 ± 2 °C po dobu 21 dnů. Po rekonstituci CRBC v AS-3 byly ve dnech 0, 1, 7, 14 a 21 měřeny následující parametry: Leukocyty, hematokrit, objem, HB/TU, pH, % hemolýzy, hemoglobin (HB) v supernatantu, K, P, NH<sub>3</sub>, osmolalita, ATP a 2,3-difosfoglycerát.

**Výsledky a závěr:** Hematokrit všech jednotek byl mezi 0,35 a 0,57, splňující nařízení EU (0,35–0,70 pro rozmražené CRBC). Zvýšený hematokrit, HB/TU a snížený HB v odpadu byl pozorován u T-CRBC v porovnání s C-CRBC, z čehož vyplývá, že T-CRBC jsou méně náchylné k hemolýze během kryokonzervace a při následném rozmrazení. Po 3 týdnech skladování, nepozorujeme pokles hematokritu u T-CRBC a HB/TU, ale vidíme rostoucí % hemolýzy, hladin K a NH<sub>3</sub>, které limitují dobu skladování v rozmraženém stavu. Kryokonzervované erytrocyty vyrobené z Mirasolem-ošetřené čerstvé plné krve mohou být zmrazeny, rekonstituovány a skladovány pro emergentní užití 7 dní. Tento postup poskytuje dodatečnou ochranu zásob erytrocytů vůči infekčním hrozbám.

## PODÁNÍ UNIVERZÁLNÍ PLNÉ KRVE V PŘEDNEMOCNIČNÍ PÉČI – PROJEKT LÉČBY MASIVNÍHO KRVÁCENÍ VE FN HRADEC KRÁLOVÉ (RABBIT)

Řeháček V.<sup>1,2</sup>, Truhlář A.<sup>2,3</sup>, Kočí J.<sup>2,4</sup>, Kleinová R.<sup>1</sup>, Burešová P.<sup>1</sup>, Mašatová M.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Transfuzní oddělení, FN Hradec Králové

<sup>2</sup> LF UK Hradec Králové

<sup>3</sup> Zdravotnická záchranná služba Královéhradeckého kraje, Hradec Králové

<sup>4</sup> Oddělení urgentní medicíny, FN Hradec Králové

**Úvod a metody:** Projekt RABBIT (Rapid Administration of Blood by Hems In Trauma) je pilotním projektem Oddělení urgentní medicíny FNHK (OUM), Letecké záchranné služby Královéhradeckého kraje (LZS) a Transfuzního oddělení FNHK, vyhodnocuje proveditelnost a vliv podání TP v přednemocniční péči na celkovou spotřebu TP použitých pro léčbu pacientů s akutním masivním krvácením. V rámci projektu RABBIT I byly od 1.6.2018 do 31. 5. 2020 do vrtulníku LZS pro přednemocniční podání vydávány 1 TU erytrocytů (ERD) a 1 TU plazmy. TO FNHK zahájilo v květnu 2020 odběry a výrobu PKDU, proběhla validace výrobního postupu. Od 1. 6. 2020 byl zahájen projekt RABBIT II, pro LZS jsou vydávány do vrtulníku 2 TU PKDU (plná krev deleukotizovaná pro univerzální podání se zachovanými trombocyty), PKDU je používána i pro léčbu masivního krvácení ve FNHK.

**Výsledky:** Validace výroby PKDU splnila požadavky kvality, průměrný obsah Hb 64,5 g/TU, leukocyty pod 106/TU, trombocyty 73×10<sup>9</sup>/TU, titry anti-A a anti-B vyhovují. Od 15. 5. 2020 do 31. 5. 2021 bylo vyrobeno celkem 428 TU PKDU, od 1. 6. 2020 do 31. 5. 2021 bylo v přednemocniční péči LZS podáno 28 pacientům 54 TU PKDU. Pro léčbu akutního krvácení bylo v uvedeném období na OUM a na klinikách FNHK podáno 87 pacientům celkem 311 TU PKDU. Celkem 46 PKDU bylo následně zpracováno na ERD. Po podání PKDU byly nahlášeny 3 lehké potransfuzní reakce, závažné reakce hlášeny nebyly

**Závěr:** Průběh projektu RABBIT II prokazuje snadnou proveditelnost (výroba PKDU, zásobování LZS, výdej PKDU do FNHK, transfuze). Klinický efekt podávání PKDU (RABBIT II) bude vyhodnocen srovnáním s projektem RABBIT I a se souborem pacientů s masivním krvácením léčených standardním transfuzním protokolem.

Podpořeno vnitřním grantem Fakultní nemocnice Hradec Králové (FNHK 00179906)

## KDYŽ SI NEVYSTAČÍME SE STANDARDNÍMI TRANSFUZNÍMI PŘÍPRAVKY ANEB PORTFOLIO SPECIÁLNÍCH TRANSFUZNÍCH PŘÍPRAVKŮ V KREVNÍM CENTRU FN OSTRAVA

Blahutová Š.<sup>1,2</sup>, Kořístka M.<sup>1,2</sup>, Furková J.<sup>1</sup>, Hrdličková R.<sup>1</sup>, Marcalíková J.<sup>1</sup>, Malušková A.<sup>1</sup>, Čermáková Z.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Krevní centrum, FN Ostrava

<sup>2</sup>LF OU, Ostrava

**Úvod:** Úkolem Krevního centra Fakultní nemocnice (KC FNO) je zajistit pro účelnou a bezpečnou hemoterapii v rámci Moravskoslezského kraje kromě standardních transfuzních přípravků také speciální transfuzní přípravky (TP). Tyto TP jsou co do počtu minoritní skupinou oproti produkci standardních transfuzních přípravků, ale představují výzvu a překonávání mnoha úskalí.

**Metody:** V portfoliu Krevního centra Fakultní nemocnice Ostrava jsou v současné době tyto speciální TP: Erytrocyty deleukotizované pro intraumbilikální transfuzi (EDU), Erytrocyty deleukotizované v plazmě pro výměnnou transfuzi (EDV), Plasma aferetická rekonvalescentní (post COVID-19 = PAR-CoV-2), Plná krev deleukotizovaná pro univerzální podání (PKDU), Erytrocyty promyté a Trombocyty promyté, Trombocyty z buffy-coatu směsné deleukotizované kryokonzervované/zmrazené a Trombocyty aferetické deleukotizované kryokonzervované/zmrazené (TBSDK/TBSDKZ a TADK/TADKZ).

**Výsledky:** V období 1/2018–5/2021 bylo vyrobeno a vydáno: 10 TU EDU a 14 TU EDV pro potřeby Gynekologicko-porodnické kliniky a Neonatologie, 880 TU PAR CoV-2 pro Kliniku infekčního lékařství FNO, KARIM FNO, nemocnici Třinec, Karviná a Havířov. V rámci činnosti centra Krizové transfuzní připravenosti byla vytvořena skladová zásoba 30 TU kryokonzervovaných trombocytů. Za období 6/2020–6/2021 bylo také vyrobeno a aplikováno 74 TU PKDU pro pacienty Urgentního příjmu FNO, Centrálních operačních sálů a Gynekologicko-porodnické kliniky. Proces zvaní dárců, výroby, laboratorního a imunohematologického vyšetřování, skladování a expedice jednotlivých typů TP budou sděleny v přednášce, včetně klinického použití ilustrovaného kazuistikami.

**Závěr:** Zařízení transfuzní služby čelí výzvám, které přináší pokrok a stále se zlepšující lékařská péče, přičemž je třeba najít pro pacienta a lékaře adekvátní řešení i v hemoterapii.

## REKONVALESCENTNÍ PLAZMA VE FN BRNO – VÝROBA A VÝDEJ K HEMOTERAPII

Pacasová R., Lejdarová H., Poloková N., Kostrouchová H., Křížová E., Tylečková J., Vojáčková P.

Transfuzní a tkáňové oddělení, FN Brno

**Úvod:** Pandemie onemocnění COVID-19 si vyžádala od výrobců transfuzních přípravků zavedení výroby jedné z dostupných léčebných alternativ, rekonvalescentní plazmy (RP). Její podání

pacientům představuje pasivní specifickou imunizaci díky převodu anti-SARS-CoV-2 protilátek od dárců, osob po prodělané infekci SARS-CoV-2. Produkce RP v České republice byla zahájena již v dubnu 2020. Transfuzní a tkáňové oddělení FN Brno přistoupilo k zavedení výroby RP na základě požadavků klinických pracovišť v regionu Jihomoravského kraje a Kraje Vysočina v souvislosti s nárůstem počtu pacientů COVID-19 v podzimních měsících roku 2020.

**Metody:** Autoři představují výrobu a výdej rekonvalescentní plazmy, patogen inaktivované, vyráběné v Transfuzním a tkáňovém oddělení FN Brno od října 2020 do května 2021. Jednalo se o transfuzní přípravek získávaný z plazmy vybraných dárců krve převážně technikou aferézy. Použitá metoda patogenní inaktivace systémem Mirasol byla prováděna po rozmrazení již jednou šokově zmrazené plazmy s ověřeným titrem virus-neutralizačních protilátek a umožňovala okamžité a bezpečné uvolnění RP pro klinické použití bez karantény.

**Výsledky:** Ve sledovaném období říjen 2020 až květen 2021 bylo provedeno 1325 odběrů od dárců po prodělané infekci SARS-CoV-2. Stanovením anti-SARS-CoV-2 S protilátek, bylo vyřazeno z další výroby 75 % odebrané plazmy, která byla uvolněna pro frakcionaci. Ke klinickému použití bylo po stanovení titru virus-neutralizačních protilátek a následné patogenní inaktivaci propuštěno 760 T.U., vydáno pro klinické použití celkem 723 T.U. Hemoterapie u pacientů FN Brno si vyžádala 274 T.U. RP, z toho více než 25 % představovalo podání v časné fázi infekce (profylaktické podání). Na základě požadavku jiných zdravotnických zařízení bylo vydáno k hemoterapii 449 T.U. RP.

**Závěr:** Zvolený výrobní postup rekonvalescentní plazmy na Transfuzním a tkáňovém oddělení FN Brno umožnil produkci bezpečného transfuzního přípravku rekonvalescentní plazma, s ověřeným, vysokým nebo velmi vysokým titrem virus-neutralizačních protilátek, vhodným pro profylaktické použití, a průběžně plynulé doplňování skladu podle aktuální spotřeby bez rizika ekonomických ztrát.

## INCIDENCE ANTIERYTROCYTÁRNÍCH PROTILÁTEK U TĚHOTNÝCH ŽEN V LETECH 2000–2020

Holusková I., Galuszková D.

Transfuzní oddělení, FN Olomouc

**Cíl:** Cílem studie bylo určení incidence specifických, klinicky významných antierytrocytárních aloprotilátek, které mohou způsobit závažné hemolytické onemocnění plodu a novorozence u těhotných žen v I. trimestru těhotenství v olomouckém regionu. V souvislosti s tím jsme sledovali i počet provedených intrauterinních transfuzí a výměnných transfuzí u novorozenců.

**Metody:** V letech 2000–2020 bylo na našem Transfuzním oddělení vyšetřeno celkem 63 504 těhotných žen. V I. trimestru těhotenství byl u všech žen proveden screening nepravidelných tepelných antierytrocytárních protilátek, a dále pak i identifikace protilátkových nálezů.

**Výsledky:** Klinicky významné antierytrocytární aloprotilátky byly detekovány u 1,9 % těhotných žen (1215/63504). Nejčastěji byla detekována aloprotilátka anti-E s incidencí 7,4 ‰ (467/63504), následována aloprotilátkou anti-D s incidencí 4,2 ‰ (268/63504), dále následovaly aloprotilátky anti-M s incidencí 2,2 ‰ (141/63504), anti-K s incidencí 1,6 ‰ (102/63504), anti-C s incidencí 1,5 ‰ (94/63504), anti-c s incidencí 1,2 ‰ (78/63504), anti-S s incidencí 0,5 ‰ (29/63504), anti-Jka s incidencí 0,2 ‰ (13/63504) a anti-Fya s incidencí 0,1 ‰ (8/63504). V souvislosti s těmito protilátkami byla v letech 2000 až 2020 provedena intrauterinní transfuze u 28 těhotných žen a bylo provedeno 51 výměnných transfuzí u novorozenců.

**Závěr:** Nejčastěji detekovanou aloprotilátkou v našem souboru byla aloprotilátka anti-E, o které ovšem víme, že může vznikat

i přirozeně, bez erytrocytárního antigenního podnětu. Druhou nejčastěji detekovanou, avšak klinicky asi nejvýznamnější aloprotilátkou, která byla příčinou 26 intrauterinních a 42 výměnných transfuzí, byla aloprotilátka anti-D (3× anti-D + anti-C), a to i přes provádění anti-D imunoprophylaxe u RhD negativních žen. Klinický problém mohou představovat i jiné aloprotilátky, zejména pak anti-c a anti-K. Aloprotilátka anti-c byla příčinou 1 intrauterinní transfuze a 8 výměnných transfuzí, aloprotilátka anti-K 1 intrauterinní a 1 výměnné transfuze, 3x se jednalo pouze o doplnění krevního oběhu. Počet intrauterinních transfuzí v posledních letech velmi výrazně poklesl a od roku 2011 nebyla ve Fakultní nemocnici Olomouc provedena ani jedna intrauterinní transfuze.



# SESTERSKÁ SEKCE

## COVID-19 NA HEMATO-ONKOLOGICKÉM ODDĚLENÍ

Caletková M., Gilarová B., Látalová J., Labudíková M., Čerňan M.

*Hemato-onkologie JIP, FN Olomouc*

Onemocnění COVID-19 je způsobeno novým typem koronaviru, označovaným SARS-CoV-2. Ve skupině nemocných s nádorovým onemocněním může mortalita dosáhnout až více než 30 %. Průběh onemocnění se liší od asymptomatického až po respirační selhání. Dle WHO závažnost infekce klasifikujeme na lehkou, střední a těžkou. Všichni pacienti indikovaní k příjmu na plánovanou léčbu, byli vstupně vyšetřeni metodou PCR SARS-CoV-2 s negativním výsledkem. Na základě zhoršení klinického stavu, dne 1. 10. 2020 byly na lůžkové části potvrzeny první případy COVID-19 pozitivních pacientů a bylo nutné transformovat nejprve standardní oddělení na COVID intermediální jednotku (1. 10. 2020–16. 11. 2020) a následně JIP na Covid JIP (15. 12. 2020–26. 1. 2021). V krátkém čase bylo nutné zajistit dostatek osobních ochranných pomůcek, rozšířit centrální monitorovací systém vitálních funkcí, důkladně proškolení personál v dodržování hygienicko-epidemiologického režimu, přizpůsobit režim oddělení a vytvořit vstupní a výstupní filtr. Na Covid JIP jsme žádali o navýšení počtu přístrojů pro podávání vysokoprůtokové oxygenační terapie (high flow oxygen therapy – HFOT) z původního jednoho přístroje na celkem pět přístrojů.

Po dobu otevření obou covid oddělení bylo hospitalizováno 53 pacientů s průměrnou délkou pobytu 13,5 dne. Lehký průběh onemocnění jsme zaznamenali u 29 pacientů, středně závažný u 14 pacientů a těžký průběh byl diagnostikován u 10 pacientů. Dle závažnosti stavu byly v rámci terapie COVID-19 onemocnění aplikovány především kortikosteroidy, Remdesivir, rekonvalescentní plazma, Isoprinosine a další komplexní podpůrná péče vč. antikoagulační profylaxe nízkomolekulárním heparinem. Oxygenoterapii maskou nebo brýlemi vyžadovalo 33 pacientů a 6 pacientů bylo indikováno k zahájení HFOT. Celkem se podařilo vyléčit 39 pacientů, 8 bylo předáno na jiné pracoviště a 6 pacientů zemřelo. Prezentace podrobně představí 2 kazuistiky pacientů s rozdílným průběhem onemocnění COVID 19. Koronavirus a opatření proti jeho šíření zasáhla do života každého z nás, proměnila naši práci, systém vzdělávání i trávení volného času. Rok 2020 byl pro nás všechny rokem velké výzvy, obav, strachu, ale také soudržnosti a solidarity.

## OCHRANA A BEZPEČNOST NA KLINICE HEMATOONKOLOGIE

Hašová K.<sup>1</sup>, Polanská A.<sup>2</sup>, Koňářík M.<sup>1</sup>, Horáková K.<sup>1</sup>, Ramiková P.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Klinika hematookologie FN Ostrava

<sup>2</sup>FN Ostrava

V celém světě byly diskutovány preventivní a kontrolní strategie pro nozokomiální infekci na hematologických odděleních, aby se zabránilo

infekci COVID-19 a jejím závažným následkům. Řada pracovišť navrhla podle svých zkušeností z posledních měsíců preventivní opatření do budoucna [1]. Pacienti s rakovinou mohou být náchylnější k COVID-19 a mají vyšší míru morbidit a mortality než běžná populace, zatímco epidemiologické údaje specificky určené pro hematologické pacienty jsou omezené [2]. Navrhovaná základní ochranná opatření proti nemoci COVID-19 – tj. časté mytí a dezinfekce rukou, sociální distancování, vyhýbání se přeplněným místům a udržování odstupů od každého, kdo kašle nebo kýchá – byla našim pacientům vždy doporučována, zejména v obdobích vyššího rizika po imunosupresivní léčbě. To by mohlo být možným vysvětlením omezeného šíření COVID-19 pozorovaného u našich hematologických pacientů navzdory plánované léčbě, vč. intenzivní chemoterapie a transplantace kmenových buněk. V době covidové pandemie jsme opatření rozšířili o ještě větší ochranu pacientů, ať již výbavou ochrannými pomůckami či pravidelnými stěry personálu i pacientů. Dezinfekci prostor jsme rozšířili o speciálními přístroje na bázi ozónu nebo peroxidu kyslíku, a také o pračky vzduchu. Bezpečnost na Klinice hematookologie Fakultní nemocnice Ostrava je nastavena na maximální možnou úroveň v reálném čase, přičemž je zachován standardní provoz všech pracovišť a tím i léčba nemocných s krevními nádory.

## Literatura

1. Wang Y, Li J, Liu L, et al. Measures for preventing nosocomial infection with SARS-CoV-2 in hematology departments. *Annals of Hematology*. 2020;99(8):1933–1938. doi: 10.1007/s00277-020-04127-x.
2. Girmenia C, Gentile G, Micozzi A, et al. COVID-19 in patients with hematologic disorders undergoing therapy: perspective of a large referral hematology center in Rome. *Acta Haematologica*. 2020;143(6):574–582. doi: 10.1159/000510769.

## HEMATOONKOLOGICKÝ PACIENT A ÚNAVA

Koňářík M., Hašová K.

*Klinika hematookologie FN Ostrava*

Únava provázející nádorová onemocnění (cancer-related fatigue – CRF) je syndromem, který nepříznivě ovlivňuje fyzický i psychický stav onkologicky nemocných pacientů a má negativní dopad na průběh onemocnění. Je zcela odlišná od běžné únavy po fyzické či psychické aktivitě zdravého člověka. Dosahuje takových rozměrů, že pacient není schopen běžných denních činností, ale problémem se může stát i jakákoli, sebemenší, fyzická námaha. K únavě fyzické se přidružuje i únava psychická, která má za následek deprese, úzkost, odevzdanost, apatii atp. Četné studie prokazují protektivní účinky fyzické aktivity, která může být různé intenzity – přínosný je jakýkoli pohyb. Na Klinice hematookologie Fakultní nemocnice Ostrava o tuto potřebu intenzivně pečujeme a nabízíme pacientům různé možnosti pohybové aktivity. V plánu máme program dále rozšiřovat a aplikované postupy využít i ve výzkumné činnosti.

## LÉČBA S. C IMUNOGLOBULINY U HEMATOONKOLOGICKÝCH PACIENTŮ

Šulcová T., Daňková L., Tříletá J., Bílá A., Karasová L., Vodičková P., Kabátová-Maxová K., Jungová A.

*Hematoonkologicko-onkologické oddělení, FN Plzeň*

U pacientů s hematoonkologickými chorobami dochází ke vzniku poruch imunity (tzv. sekundární imunodeficience – SID) na podkladě základní choroby nebo vlivem probíhající léčby. Nejčastěji se to týká pacientů s chronickou lymfatickou leukémií, akutní leukémií či mnohočetným myelomem. SID se u těchto pacientů projevuje opakovanými či závažnějšími infekty nebo špatnou odpovědí na antibiotickou léčbu. Vše toto zvyšuje riziko komplikací při léčbě, a dokonce i vyšší riziko úmrtí. Až 80 % pacientů s chronickou lymfocytární leukémií (CLL) trpí opakovanými infekty a u více než 50 % z nich je infekce dokonce příčinou úmrtí. U pacientů s mnohočetným myelomem je riziko infekce až 7× vyšší než u běžné populace. U těchto pacientů je tedy nutné imunitu zvyšovat podáváním imunoglobulinů. Substituční léčbu imunoglobulinu G můžeme podávat buď intravenózně (IVIG), či subkutánně (SCIG). Obecně je léčba indikována, pokud se objeví více než tři infekty vyžadující antibiotika za méně než 12 měsíců, pacientům s těžkým infektem či nízkou hladinou IgG. SCIG podáváme na našem oddělení od roku 2020. Většina pacientů dostává tuto léčbu bez premedikace. SCIG aplikujeme přes zahnutou jehlu od výrobce, a to pomocí speciální pumpy. Nejprve se vpraví enzym hyaluronidáza 2,5 či 5 ml. Poté se čeká 10 minut, než enzym zapůsobí. Následně podáme imunoglobulin 50 či 100 ml. U nás aplikujeme cca hodinu, a to s volbou postupně zrychlujícího se programu P240ml/h. Léčba bývá snášena velmi dobře, mezi nejčastější komplikace patří mírná lokální reakce, a to v podobě erytému, svědění či pálení.

**Závěr:** U hematoonkologických pacientů je velmi důležité doplňování imunoglobulinů, protože včasné zahájení substituce Ig snižuje výskyt infekcí, snižuje se spotřeba ATB a je patrné i zásadní snížení úmrtnosti na infekce. Co se týče s.c. podávání Ig, je pro pacienty velmi výhodné, a dokonce je možné i podávání v domácích podmínkách, což v době pandemie byl velmi výrazný benefit pro pacienty.

## OŠETŘOVATELSKÁ PÉČE U PACIENTKY S NON HODGKINOVÝM LYMFOMEM

Brojáčková D.

*IV. interní hematologická klinika FN Hradec Králové*

28letá pacientka L. Š. byla přijata na naše pracoviště s dg. anaplastický velkobuněčný T lymfom. Průběh onemocnění a léčby byl provázen komplikacemi různého charakteru (hemoragické, infekční...) až po progredující multiorgánové selhání s nutností UPV a CRRT. V průběhu léčby byla pacientka přeložena na KARIM s nutností UPV. Po stabilizaci stavu byla opět přeložena na naši kliniku. Její stav se

zkomplikoval mukorovou infekcí v oblasti obličeje. Tato komplikace se výrazně podílela na dalším vývoji jejího zdravotního stavu. Kazuistika se zabývá problematikou hojení ran u hematologicky nemocné a specifickým jejich ošetřování.

## TRANSFUZNÍ ODDĚLENÍ V ČASE PANDEMIE ONEMOCNĚNÍ COVID-19

Fedorco M.

*Transfuzní oddělení, FN Olomouc*

**Úvod:** Pandemie onemocnění COVID-19 v České republice ovlivnila život celé české společnosti a výrazně zasáhla i do činnosti zdravotnických zařízení. Provoz na Transfuzním oddělení FN Olomouc se musel přizpůsobit epidemiologickým opatřením a reagovat na nové trendy v péči o pacienty s nemocí COVID-19. Jedním z léčebných metod je podávání rekonvalescentní plazmy od nemocných po prodělaném onemocnění.

**Metody:** Na základě pozitivní reakce na výzvu v médiích a sociálních sítí byli následně dotazníkovou metodou selektováni potenciální dárči splňující podmínky pro darování rekonvalescentní plazmy. U všech dárců byl stanoven titr protilátek a podle hladiny bylo rozhodnuto o vhodnosti rekonvalescentní plazmy pro léčebné účely.

**Výsledky:** Celkově bylo v roce 2020 dotazováno 2500 potenciálních dárců rekonvalescentní plazmy. Odběr plazmy byl proveden od 900 dárců, následně bylo po zpracování vyrobeno 1 600 jednotek. Pro nemocné ve FN Olomouc, VN Olomouc a dalších 6 nemocnic v olomouckém kraji bylo vydáno celkově 800 jednotek pro klinické použití.

Ve srovnání s rokem 2019 došlo v „covidovém“ roce 2020 k poklesu množství celkových odběrů o 1 526 (27 494 vs. 25 968). Počet aktivních dárců poklesl o 152, ale paradoxně ve srovnání s rokem 2019 došlo k nárůstu nově přivedených dárců o 175.

**Závěr:** Pandemie onemocnění COVID-19 v roce 2020 výrazně ovlivnila provoz transfuzního oddělení. Přes všechna epidemiologická omezení se podařilo zajistit dostatečné množství běžných krevních derivátů i léčebné rekonvalescentní plazmy.

## HEMATOLOGICKÉ KOMPLIKACE U PACIENTŮ PO RADIAČNÍ LÉČBĚ

Dašková V.

*IV. Interní hematologická klinika, FN Hradec Králové*

Radioterapie patří mezi rutinní medicínské obory a je využívána nejčastěji v onkologii. Účinky záření na živé organismy zkoumá radiobiologie. Nádory se liší různou radiosenzitivitou. Při ozařování nádoru dochází vždy k ozaření zdravých tkání v těsném sousedství s tumorem. Toxicitu radiační terapie můžeme rozlišit na lokální a systémovou a podle doby nástupu reakce na akutní a chronickou radiační toxicitu. V přednášce se zaměříme na hematologickou toxicitu a její formy.

## REPRODUKCE PO HEMATOONKOLOGICKÉ LÉČBĚ

Majdyšová H.

*Klinika hematologie FN Ostrava*

K častým trvalým následkům hematologické léčby patří neplodnost. Práce shrnuje současné poznatky o vlivu hematologické léčby na reprodukční schopnosti mužů a žen. Dále se přednáška zaměřuje na kryokonzervaci spermatu a oocytů. V závěru přednášky je vzhled na problematiku jako etickou otázkou.

## ZMĚNY NUTRIČNÍHO STAVU BĚHEM VYSOKODÁVKOVANÉ CHEMOTERAPIE U VYBRANÝCH HEMATOONKOLOGICKÝCH ONEMOCNĚNÍ

Křivánková J.

*FN Olomouc*

Hematologická onemocnění jsou často doprovázena omezením příjmu stravy, zejména při cytotoxické léčbě. Vliv vysokodávkované chemoterapie na změny nutričního stavu byl sledován u dvou skupin hematologicky nemocných. Celkem bylo zařazeno 16 pacientů. Hodnoceny byly změny tělesné kompozice pomocí bioelektrické impedanční analýzy doplněné sledováním biochemických nutričních ukazatelů. Sběr dat probíhal od července 2020 do konce února 2021 na Hemato-onkologické klinice Fakultní nemocnice Olomouc.

Pozorování ukázalo, že u obou skupin došlo ve většině případů k úbytku tělesné hmotnosti. U první skupiny osmi pacientů s akutní myeloidní leukémií sledovaných během tří po sobě jdoucích hospitalizací představovala mediánová změna tělesné hmotnosti  $-3,7$  kg ( $-4,3$  %). U všech pacientů byla zachycena ztráta beztukové tělesné hmoty s mediánem  $-4,8$  kg ( $-7,2$  %). Hmotnost tělesného tuku se snížila u poloviny pacientů. V některých případech s délkou sledování docházelo k nárůstu tukové hmoty společně s tukem viscerálním. Ve druhé skupině zahrnující osm pacientů (po autologní transplantaci krvetvorných buněk), u kterých byla hodnocena jedna hospitalizace, se tělesná hmotnost snížila u šesti pacientů s mediánovou hodnotou  $-2,1$  kg ( $-2,3$  %). U pěti pacientů léčba představovala ztrátu aktivní metabolické hmoty s mediánem  $-1,5$  kg ( $-3,0$  %). Tělesný tuk se snížil u více než poloviny pacientů.

Získané výsledky naznačují, že ve většině případů dochází při vysokodávkované chemoterapii k úbytku tělesné hmotnosti. Ukázalo se však, že každý pacient je velice specifický s odlišnou reakcí na vzniklé onemocnění a jeho léčbu. Podávání umělé výživy či substituce albuminu u některých pacientů této práce značí, že léčba hematologicky nemocných vysokodávkovanou chemoterapií je rizikovým faktorem dostatečného příjmu energie a vstřebávání živin z potravy. Je důležité věnovat pozornost výživě

těchto pacientů a zajistit včas dostatečný příjem energie a zejména bílkovin, a pokusit se tak zmírnit především ztráty kosterních svalů.

## EXTRAKORPORÁLNÍ FOTOFERÉZA PŘÍSTROJEM UVA PIT

Drahošová R., Hušková M., Strnadová B., Trampotová I.

*Separátorové centrum, VI. interní hematologická klinika*

*FN Hradec Králové*

**Úvod:** extrakorporální fotoferéza (ECP) je léčebná metoda využívaná při léčbě reakce štěpu proti hostiteli (graft versus host disease – GVHD) a při léčbě Sézaryho syndromu (jeleukemická forma Mycosis fungoides).

**Metodiky:** Metodu ECP využíváme na našem pracovišti od roku 2007. ECP se zahajuje na separátoru krevních buněk (SPECTRA OPTIA), kde se odebere část leukocytů – lymfomonocytární frakce (MNC) z krve nemocného, následně se v aseptických prostorách v laminárním boxu přidá fotosenzibilující látka 8-metoxypsoralen, poté se buňky ozáří ultrafialovým zářením na přístroji Macogenic G2 a koncentrát MNC je vrácen pacientovi.

V dubnu 2021 nám byl zapůjčen firmou Terumo přístroj UVA PIT Systém, umožňující okamžité přidání 8-metoxypsoralen a ozáření MNC přímo u lůžka pacienta uzavřeným systémem.

**Výsledky:** Od 1. 4. 2021 do 30. 6. 2021 nám byl firmou Terumo zapůjčen přístroj UVA PIT. Systém, který umožňuje při metodě ECP okamžité přidání 8-metoxypsoralen a ozáření MNC buněk na místě a ponechat pacienta během celého výkonu v lůžku. Tím se stává výkon kontinuální (bez nutnosti zajištění transportu buněk na transfúzní stanici k dalšímu zpracování a následnému transportu zpět na SC, dále pak odpadá ozařování přístrojem Macogenic G2, který se nachází v jiném patře než separátorové centrum). Pacienta není nutno opakovaně napichovat k podání produktu ECP. Celkově se tím výkon výrazně zkrátí a není potřeba zajišťovat další zdravotnický personál.

**Závěr:** ECP je velice účinná a efektivní metoda při léčbě GVHD a Sézaryho syndromu. Je dobře tolerována pacienty s minimem nežádoucích reakcí (hypokalcémie). Reakce při podání buněk nebyla žádná. Použitím přístroje UVA PIT je výrazně zkrácena doba pobytu pacienta v nemocničním zařízení a snížila se potřeba zdravotnického personálu.

## IZOLACE NEMOCNÉHO OD RODINY NA TRANSPLANTAČNÍ JEDNOTCE

Hynčicová Klimková K., Matušová M.

*Hemato-onkologická klinika, HOK 5C, FN Olomouc*

Předmětem přednášky je izolace nemocného od rodiny na transplantační jednotce se zaměřením na jeho potřeby. Cílem bylo zamyslet se nad možnostmi zvýšení spokojenosti v rámci

hospitalizace. Sociální izolaci definujeme jako redukováný počet sociálních kontaktů, vyčlenění ze společnosti. Pojem reverzní neboli také ochranná izolace je soubor opatření chránící těžce imunokompromitovaného, transplantovaného pacienta před vnějšími vlivy a nákazami. Pro pacienta to znamená určitý omezený prostor, ve kterém se pohybuje a specifický přístup ze strany personálu a návštěv, a to na několik týdnů až měsíců. Zvýšenou psychickou zátěží a izolací tak mohou vnímat i jako určitý druh „vězení“. Ošetrovatelský problém sociální i reverzní izolace pacientů obecně, ale i v době pandemie, je velmi významným faktorem v poskytování komplexní ošetrovatelské péče. Zaměřili jsme se na popsání problematiky potřeb pacienta, konkrétně spirituální a existencionální potřeby. Spirituální potřeby bývají často zaměňovány za potřeby psychologické a jejich význam podceňován. Účastníky výzkumného šetření byli pacienti s hematologickým onemocněním, kteří byli hospitalizováni na transplantační jednotce Hemato-onkologické kliniky ve FNOL. Výzkumu se zúčastnilo celkem 9 pacientů, ve věku od 19 do 65 let. Data získaná pomocí polostukturovaných rozhovorů byla analyzována pomocí dílčích analytických postupů zakotvené teorie. Domníváme se, že velmi důležitou, ne-li klíčovou hodnotou při léčbě hematologických pacientů je psychická pohoda a duševní vyrovnanost pacienta. Rádi bychom proto představili právě návrhy, které jsou zaměřené na zlepšení psychického stavu pacienta, protože úkolem zdravotnického personálu není jen léčba onemocnění, ale především uzdravení pacienta a jeho návrat do běžného života. Zcela zásadní je v léčbě hematologických pacientů komunikace, dále je také nutný empatický přístup ke všem pacientům trpícím maligním onemocněním krve tvorby. Pokud se naučíme správně naslouchat pacientům a vcítit se do jejich potřeb můžeme s nimi mluvit vždy, pokud to zrovna vyžadují, můžeme jim pomoci pojmenovat a řešit jejich problémy, které vnímají, a které mohou výrazně ovlivnit jejich kvalitu života.

## ŽIVOTOSPRÁVA SESTER A CIRKADIÁNNÍ RYTMY

Kalodová Hadačová J., Fínová L., Blaháková P.

*Interní hematologická a onkologická klinika FN Brno*

**Úvod:** Problematika životosprávy u sester je stále aktuální téma. Velice zajímavá je právě z pohledu fyziologie cirkadiánních rytmů a orgánové aktivity. Sdělení ukazuje dopad na zdraví, pokud jsou tyto rytmy narušovány. Cílem naší práce bylo zmapovat u všeobecných sester pravidelnost ve stravování. Zjistit jaké jsou spánkové návyky u sester ve směnném provozu a zda sestry trpí nějakými chronickými onemocněními. Zmapovaly jsme jaké benefity spojené se životosprávou sestry očekávají od svého zaměstnavatele.

**Metody:** Na základě kvantitativního výzkumu, který byl proveden pomocí dotazníkového šetření a zpracován relativní a absolutní četností bylo zjištěno, že pouze menšina (3,73 %) dotazovaných se stravuje v přesně stanovený čas. Spánkové návyky nejsou dobré u většiny dotazovaných a 77,43 % respondentů uvedlo chronické onemocnění v oblasti neurologické, kardiovaskulární a hormonální. Zjištěné benefity se v největší míře týkaly stravování, volno časových aktivit a času na jídlo v práci.

**Závěr:** Výsledkem projektu je brožura určená pro personál.

### Literatura

1. Homolka P. a kol. Monitorování krevního tlaku v klinické praxi a biologické rytmy. Praha: Grada 2010.
2. Mourek J. Fyziologie. 2. rev. vyd. Praha: Grada 2012.
3. Kachlík P. Lidské biorytmy a jejich význam. Tělesná kultura. 2017;40(1):23–32.
4. Frej D. Biologické hodiny, Tajemství metabolismu, dlouhověkosti a zdraví. Praha: Eminent 2013.
5. Mandžuková J. Budíková dieta aneb jíst ve správný čas a hubnout. Praha: Vyšehrad 2015.
6. Pretl P. Poruchy cirkadiánního rytmu. Practicus. 2014;13(6):25–28.

# ZDRAVOTNÍ LABORANTI – TRANSFUZIOLOGIE

## POTŘEBUJEME VÁS VŠECHNY

Kalužová N., Lakotová O.

Marketing – Krevní centrum, FN Ostrava

Na této videoprezentaci chceme klientům a možná budoucím dárcům přiblížit prostředí Krevního centra Fakultní nemocnice Ostrava. Chceme ukázat, že samotný odběr krve není tak náročný, jak se někteří dárci domnívají a mají z něj obavy. Také jsme připojili krátký průřez našich akcí za posledních 12 let. Z důvodu epidemiologické situace, byly náborové aktivity omezeny, ale přesto je naší snahou tuto nelehkou situaci zvládat. Neustále hledáme nové cesty směrem ke klientům – dárcům.



## NÁBOR DÁRCŮ KRVE

Kopečková K.

Transfuzní a tkáňové oddělení, FN Brno

**Úvod:** Nábor dárců na Transfuzním a tkáňovém odd. FN Brno zaznamenal v posledních letech řadu změn. Pro udržení a rozšiřování registru dárců je třeba veřejnost s problematikou dárcovství krve aktivně oslovovat. Od roku 2015 je naše náborová činnost proto zintenzivněna, soustředíme se na propagaci novými prostředky, pomocí sociálních sítí, akcemi pro dárcce, cílíme i na anglicky mluvící dárcce dlouhodobě žijící a pracující v ČR.

**Metody:** Úspěšnost náborových snah a spokojenost dárců vyhodnocujeme pomocí statistik počtu prvodárců a hromadných akcí, z dotazníků spokojenosti i z přehledů na sociálních sítích.

**Výsledky:** Počet prvodárců se od roku 2015 zvyšuje. Nejvyšší nárůst jsme zaznamenali v roce 2017. Příčinou navýšení bylo aktivní oslovování firem a škol s možností přednášky a následné hromadné darování krve. V roce 2018 přibyla řada dárců díky novému zapojení se do projektu 450 ml Naděje. O rok později jsme zaznamenali úspěch během opakování této akce, kdy nám přišlo 180 prvodárců. Při zvýšené potřebě transfuzních přípravků nám dobře funguje oslovení dárců pomocí sociálních sítí. Takto se nám vrací jednak dárci, kteří dlouho krev nedarovali i se zvýší počty prvodárců.

**Závěr:** S výsledky zvýšené náborové činnosti jsme spokojeni. Nicméně je nutné sledovat trendy dnešní doby v oblasti marketingu a propagace, které se neustále vyvíjí. Aktivní oslovování veřejnosti s problematikou dárcovství krve je nikdy nekončící proces.

## REOFERÉZA – NOVÁ LÉČEBNÁ AFERETICKÁ METODA V KREVNÍM CENTRU FN OSTRAVA

Carbolová M.<sup>1</sup>, Blahutová Š.<sup>1, 2</sup>, Hejsková I.<sup>1</sup>, Křívová H.<sup>1</sup>, Štaffová M.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Krevní centrum, FN Ostrava

<sup>2</sup> LF OU, Ostrava

**Úvod:** Aferetický úsek Ambulance Krevního centra Fakultní nemocnice Ostrava (KC FNO) provádí široké spektrum léčebných hemaferetických výkonů. V únoru 2021 byla zavedena do portfolia nová léčebná metoda, reoferéza. Reoferézy jsou indikovány k ovlivnění mikrocirkulace, například u pacientů se suchou formou věkem podmíněné makulární degenerace sítnice (VPMD). Základním příznakem suché formy VPMD je zhoršení zrakové ostrosti a zhoršení kvality obrazu. Vzhledem k nedostupnosti účinné farmakoterapie, představuje reoferéza možnost, jak ovlivnit tento nepříznivý stav.

**Metody:** Reoferéza je v KC FNO prováděna na separátoru COM. TEC® Fresenius Kabi a filtrem Monet® Fresenius Medical Care (= Membrane Filtration Optimized Novel Extracorporeal Treatment neboli optimalizovaná nová metoda mimotělní léčby membránovou filtrací). Na stěnách kapilár filtru jsou zachycovány lipoproteiny a proteiny s vysokou molekulární hmotností, které jsou významné z hlediska reologických vlastností, jako je například LDL-C (low density lipoprotein cholesterol), Lipoprotein A, imunoglobulin M, α<sub>2</sub>-makroglobulin, fibrinogen, von Willebrandův faktor a jiné. Pomocí dvou periferních žil je pacient připojen k separátoru. Vlastní postup sestává ze dvou kroků: v prvním se plazma separuje z plné krve centrifugací, ve druhém kroku prochází filtrem MONET. Je prováděno celkem 8 výkonů v deseti týdnech. Při každé proceduře je zpracováno cca 1,0násobek plazmatického objemu pacienta.

**Výsledky:** V roce 2021 bylo na Ambulanci KC FNO referováno z Oční kliniky FNO a z Evropské oční kliniky Lexum Ostrava celkem 6 pacientů. Jednalo se o ženy, ve věku 52–79 let. U tří pacientek nebyl shledán vyhovující periferní žilní přístup, proto byly zkontraindikovány. U dvou pacientek byla bez komplikací dokončena série všech osmi reoferetických výkonů. U jedné pacientky byly reoferézy předčasně ukončeny u třetího výkonu z důvodu alergické reakce.

**Závěr:** Terapeutický postup extrakorporální reoferézy, při které dochází k eliminaci definovaného spektra reologicky významných vysokomolekulárních proteinů z cirkulace nemocného v podmínkách KC FNO hodnotíme jako bezpečnou, proveditelnou zkušeným aferetickým týmem.

## TESTOVANIE ANTI-SARS COV-2 U DARCOV KRVÍ – REKONVALESCENTOV COVID -19

Kračunová M., Bérešová Z., Lazarová K., Mačalová J.

Národná transfúzna služba SR Spracovateľské centrum Košice, Slovensko

**Úvod:** Imunitný systém hostiteľa reaguje na infekciu SARS-CoV-2 tvorbou špecifických protilátok. Plazma získaná od vhodných darcov – rekonvalescentov COVID-19, obsahuje protilátky IgG a neutralizačné protilátky proti koronavírusu SARS CoV-2.

**Ciel:** Laboratórnym testovaním oddiferencovať darcov krvi po prekonaní ochorenia COVID-19 s negatívnou anamnézou (muži, ktorí nedostali transfúziu a ženy, ktoré neboli gravidné a nedostali transfúziu) vhodných na prípravu CCP (COVID-19 Convalescent Plasma) z celej krvi určenú na terapiu pre pacientov s ochorením COVID-19.

**Metódy:** Testovanie je realizované na automatických analyzátoroch Architect od firmy Abbott. Ide o chemiluminiscenčnú imunoanalýzu na mikročasticiach, ktorá sa používa na kvalitatívnu detekciu protilátok IgG proti nukleofosfolipidovému proteínu SARS-CoV-2 v ľudskom sére a plazme.

**Výsledky:** V období od 1. 11. 2020 do 30. 04. 2021 bolo v Národnej transfúznej službe SR Spracovateľskom centre Košice vyšetrených 1 500 vzoriek darcov krvi – rekonvalescentov COVID-19, ktorých plazma bola primárne určená na hemoterapiu. Pozitívne výsledky anti-SARS CoV-2 IgG s hodnotou vyššou ako 1,4 index (s/c) tvorili 63,6 % (954 vzoriek) z vyšetřovaného súboru. Negatívne výsledky anti-SARS CoV-2 IgG s hodnotou nižšou ako 1,4 index (s/c) malo 36,4 % (546 vzoriek) darcov rekonvalescentov z vyšetřovaného súboru, ktorých plazma bola následne zaradená do karantény.

**Záver:** Z vyšetřovaného súboru darcov krvi – rekonvalescentov COVID-19 s negatívnou anamnézou sa laboratórnym testovaním anti-SARS CoV-2 IgG umožnilo vyčleniť 495 TU (33 %) vhodných na prípravu transfúzneho lieku PČZD-I-R (plazma čerstvo zmrazená deleukotizovaná inaktivovaná rekonvalescentná), za účelom jej ďalšieho použitia v rámci alternatívneho liečebného postupu ochorenia COVID-19. Kontrolným laboratórnym testovaním sa taktiež potvrdilo potrebné množstvo prítomných anti-SARS CoV-2 IgG vo vyrobených transfúznych liekoch PČZD-I-R.

## APLIKACE TRANSFUZNÍCH PŘÍPRAVKŮ U ŽIVOT OHROŽUJÍCÍHO KRVÁCENÍ PACIENTŮ FAKULTNÍ NEMOCNICE OLOMOUC (FNOL)

Vodičková M., Holusková I., Kalmanová P., Galuszková D.

Transfúzní oddělení, FN Olomouc

**Úvod:** Aplikace transfúzních přípravků hraje důležitou roli při záchrane krvácejícího pacienta. Pacient je v takovém stavu ohrožen tzv. život ohrožujícím krvácením (ŽOK). Jako ŽOK je definována ztráta

objemu krve během 24 hodin odpovídající 10 T.U. erytrocytárních transfúzních přípravků (TP), dále ztráta 50 % krevního objemu během 3 hodin, trvající krevní ztráta, která přesahuje množství 150 ml/min a krvácení, které je lokalizované v místě, kde vede k ohrožení životních funkcí např. v mozku.

**Metody:** Sledovali jsme 719 pacientů (8–106 let) s různými diagnózami, kteří byli přijati na Oddělení urgentního příjmu (OUP) ve FNOL v roce 2018, a kterým bylo podáno 1 578 T.U. TP v režimu statim a vitální indikace, se zaměřením na aplikaci 0 RhD negativních erytrocytárních TP. U pacientů, kterým byl aplikován univerzální erytrocytární TP v režimu vitální indikace, jsme se zabývali i časovou osou od odběru krevního vzorku pacienta po jeho příjem na Transfúzní oddělení. U všech pacientů jsme sledovali i krevní skupinu (KS), screening antierytrocytárních protilátek (SP) a v případě jeho positivity i výskyt antierytrocytárních protilátek.

**Výsledky:** Z celkového počtu 719 pacientů OUP v roce 2018 bylo 334 žen a 385 mužů. Nejčastější KS byla KS A RhD pozitivní, nejméně častou AB RhD negativní. U 675 pacientů byl SP negativní (675/719, 94 %), u 44 byl SP pozitivní (44/719, 6 %), z toho ve 24 případech se jednalo o specifickou aloprotilátku (24/44, 54,5 %). Bylo vydáno 1578 T.U. TP, z toho 1285 T.U. v režimu statim (1285/1578, 81 %) a 293 v režimu vitální indikace (293/1578, 19 %). Ve 1 444 případech se jednalo o erytrocytární TP (1444/1578, 92 %), z toho bylo 330 T.U. 0 RhD negativní (330/1444, 23 %), 113 T.U. v režimu statim (113/330, 34 %), 217 T.U. v režimu vitální indikace (217/330, 66 %).

**Závěr:** Čas, za který je pacientovi aplikován TP, hraje důležitou roli v záchrane života pacienta. TP je potřeba dostat k pacientovi v co nejkratší možné době při zachování maximální bezpečnosti pro pacienta.

## JAK JSME NE/ZVLÁDLI KOMBINACI PANDEMIE A KYBERNETICKÉHO ÚTOKU NA TRANSFUZNÍM A TKÁŇOVÉM ODDĚLENÍ FN BRNO ANEB JAK NÁM ZBYLA TUŽKA A PAPIR

Košková S., Langová M., Hladká J., Hladilová J., Felklová B., Bednářová J., Adamcová M., Pacasová R.

Transfúzní a tkáňové oddělení, FN Brno

**Úvod a cíl:** Rok 2020 byl pro všechna zdravotnická zařízení složitý. Ve startu emočně vypjaté první vlny pandemie zasáhl FN Brno cílený a zdařilý kybernetický útok, který způsobil zašifrování dat s následným preventivním odpojením všech informačních systémů nemocnice. Nedostupnost IT způsobila, mimo jiné, nedostupnost přehledu o objednaných dárcích krve, nedostupnost identifikace přípravků od odběru, přes zpracování až po výdej, přehled skladových zásob. Funkční zůstaly pouze telefony, nenapojené přes ústřednu FN. Transfúzní a tkáňové oddělení (TTO) i přesto muselo zajistit svou činnost v celém rozsahu. Cílem sdělení je předat

zkušenosti úseku expedice s činností během výpadku IS delšího než 24 hodin s nejistým časovým rámcem a obsahovým výsledkem výpadku.

**Metody:** TTO pravidelně aktualizuje postupy Havarijního plánu při výpadku IT. Poslední praktický nácvik havarijní připravenosti proběhl na podzim 2019. Pro postupy celého procesu výroby od odběru, přes zpracování až po výdej TP jsme měli připraveny náhradní doklady, které se pro nás staly funkčním nástrojem udržení chodu TTO. Do těchto dokladů byly postupně vepisovány záznamy z jednotlivých úseků.

**Výsledky:** Návrat k IS proběhl po 6 dnech odstávky, ale výdej listinnou podobou dokladů jsme používali až po dobu 30 dnů. V tomto období byl výdej kombinací zadaných a nezadaných dat v IS ztížen o nutnost průběžného doplňování dat z období výpadku IS. To vše při polovičním počtu pracovníků z důvodu týmování.

**Závěr:** Zkušenosti získané během tohoto období jsou naprosto jedinečné. Na sofistikovaný a cílený kybernetický útok se dá připravit, nicméně ne vždy se mu dá zcela ubránit. Naše poznatky o tom, na co se lze nebo nelze předem připravit, tak mohou být cenné pro řadu jiných pracovišť.

# HEMOSTÁZA A LABORATORNÍ HEMATOLOGIE

## P01. TROMBOTICKÁ MIKROANGIOPATIE U TŘÍ PACIENTŮ V SOUVISLOSTI S ONEMOCNĚNÍM COVID-19

Bradáčová P.<sup>1</sup>, Slavík L.<sup>2</sup>, Ullrychová J.<sup>1</sup>, Úlehlová J.<sup>2</sup>, Procházková J.<sup>2</sup>, Hluší A.<sup>2</sup>, Čerňan M.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Oddělení klinické hematologie, Masarykova nemocnice, Krajská zdravotní a.s., Ústí nad Labem

<sup>2</sup> Hemato-onkologická klinika FN Olomouc

**Úvod:** Nové, pandemicky se šířící onemocnění Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 vyvolává u infikovaných osob nejružnější projevy od velmi mírných chřipkovitých příznaků až po fatální závažné pneumonie a selhávání orgánů. V souvislosti s onemocněním způsobeným novým koronavirem (COVID-19) pozorujeme nárůst trombotických mikroangiopatií (TMA).

**Cíl:** Popis tří kazuistik onemocnění COVID-19 a následně rozvinutou trombotickou mikroangiopatií.

**Metody:** U tří pacientů byla provedena vyšetření krevní obraz, trombocyty, schistocyty, laktát dehydrogenáza, urea, kreatinin, ADAMTS13 aktivita a inhibitor.

**Výsledky:** *Kazuistika 1* – muž 68 let, COVID-19 pozitivní, 5. den hospitalizace na JIP dochází k rozvoji TMA, trombocyty  $49 \times 10^9/l$ , schistocyty 68/1000 erytrocytů, ADAMTS13 aktivita 43 %, inhibitor 12 IU/ml. Po zahájení plazmaferéz dochází ke zlepšení zdravotního stavu pacienta. *Kazuistika 2* – muž 64 let, Covid-19 pozitivní, 8. den hospitalizace dochází k rozvoji TMA, trombocyty  $16 \times 10^9/l$ , schistocyty 64/1000 erytrocytů, ADAMTS13 aktivita 29 %, inhibitor 68 IU/ml. Po zahájení plazmaferéz dochází ke zlepšení laboratorních nálezů, ale celkový stav pacienta je i nadále velmi vážný a pacient umírá. *Kazuistika 3* – žena 35 let, COVID-19 prodělán před 6 měsíci, pacientka přijata pro anemii HGB 59 g/l, bolesti hlavy trvající 10 dní, subfebrilie a tvorbu modřin trombocyty  $4 \times 10^9/l$ , schistocyty 40/1000 erytrocytů, ADAMTS13 aktivita < 1%, inhibitor 96,3 IU/ml. Po zahájení plazmaferéz (PEX) dochází k rychlému zlepšení stavu pacientky, avšak s časnou exacerbací trombocytopenie. Do terapie přidána kombinovaná imunosuprese – kortikoidy, rituximab, caplacizumab společně s PEX. Na zavedené terapii dochází k promptní terapeutické odpovědi s normalizací počtu trombocytů.

**Závěr:** V souvislosti s onemocněním COVID-19 může dojít k rozvoji trombotické mikroangiopatie. Onemocnění COVID-19 přináší širokou škálu projevů a příznaků, které se vzájemně překrývají a tím znesnadňují diagnostiku závažné TMA. Z tohoto důvodu je mnohdy léčba zahájena pozdě a část pacientů umírá.

Podpořeno LF-2021-001 a MH CZ – DRO (FNOI, 00098892).

## P02. FIBRIN CLOT FORMATION UNDER OXIDATIVE STRESS CONDITIONS

Kaufmanová J.<sup>1,2</sup>, Štikarová J.<sup>2</sup>, Hlaváčková A.<sup>2</sup>, Chrastinová L.<sup>2</sup>, Malý M.<sup>3</sup>, Suttar J.<sup>2</sup>, Dyr J. E.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Department of Biochemistry and Microbiology, University of Chemistry and Technology Prague, Prague

<sup>2</sup> Department of Biochemistry, Institute of Hematology and Blood Transfusion, Prague

<sup>3</sup> Military University Hospital, Prague

**Aim:** During coagulation, the soluble fibrinogen is converted into insoluble fibrin. Fibrinogen is a multifunctional plasma protein, which is essential for hemostasis. Various oxidative posttranslational modifications influence fibrinogen structure as well as interactions between various partners in coagulation process. The aim was to examine the effects of oxidative stress conditions on fibrin clot formation in arterial atherothrombotic disorders.

**Methods:** We studied the changes in *in vitro* fibrin network formation in three groups of patients – with acute coronary syndrome (ACS), with significant carotid artery stenosis (SCAS), and with acute ischemic stroke (AIS), as well as a control group. Malondialdehyde (MDA) concentration in plasma was measured by LC-MS/MS as a marker of oxidative stress. Turbidimetric analysis of polymerization and fibrinolysis was used to evaluate fibrin clot formation and dissolution. Electron microscopy was used to visualize changes in the *in vitro* formed fibrin network.

**Results:** MDA concentration was higher in SCAS and AIS patients compared with controls. The clots of these patients had higher final optical density and longer lysis time. Fibers from patients with AIS were significantly thicker in comparison with control and ACS fibers. Number of fibrin fibers in patients with AIS was significantly lower in comparison with ACS and controls.

**Conclusion:** Thus, oxidative stress mediated changes in fibrin clot formation, structure and dissolution may affect the effectiveness of thrombolytic therapy.

*This research was funded by the ERDF and the state budget of the Czech Republic (project AIIHHP: CZ.02.1.01/0.0/0.0/16\_025/0007428, OP RDE, Ministry of Education, Youth and Sports), by the Ministry of Health, Czech Republic (project 00023736; grant NV18-08-00149) and by ERDF OPK (CZ.2.16/3.1.00/24001).*



### P03. VÝZNAM METODY MLPA U STANOVENÍ PORUCH HEMOSTÁZY

Provazníková D., Fenclová T., Radovská A., Šimoníková M., Kalinová L., Němcová J., Češpivová D., Mareček F., Hrachovinová I.

Laboratoř pro poruchy hemostázy, Ústav hematologie a krevní transfúze, Praha

MLPA (Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification) je metoda založená na multiplexní PCR s jedním párem primerů, která slouží ke stanovení změny počtu kopií v DNA jako jsou delece či duplikace celých exonů nebo jejich částí v genu. Tato metoda znamená velký pokrok oproti dříve používanému blotování. MLPA využíváme při molekulárně-genetickém vyšetřování pacientů s vrozenými poruchami hemostázy jako je hemofilie A (HA), hemofilie B (HB), von Willebrandova choroba (VWCH), deficit antitrombinu (AT) a proteinu S (PS). Zhodnotit užitečnost MLPA jako nástroje pro molekulárně-genetickou analýzu při hledání kauzální mutace u pacientů s dědičnými poruchami hemostázy. V rámci vyšetření těžké HA provádíme nejdříve stanovení, zda jsou přítomny inverze v intronech *F8*. V případě negativního nálezu pokračujeme metodou MLPA. Pokud ani touto metodou není nalezena kauzální mutace, přistupujeme k Sangerovu sekvenování nebo NGS *F8*. U lehké HA, HB, VWCH a dědičných trombofilií je vzhledem k nízké incidenci velkých delecí/duplikací zvolen opačný postup – nejdříve sekvenování, poté MLPA. V letech 2018–2021 jsme metodou MLPA v našem centru vyšetřili celkem 35 pacientů s HA, 28 pacientů s VWCH, 17 pacientů s deficitem AT, 30 pacientů s deficitem PS a provedli jsme 1 prenatální vyšetření u HB. Velká delece/duplikace byla nalezena v 15,8 % u pacientů s těžkou HA, 12,5 % u lehkých hemofiliků, 14,3 % u pacientů s VWCH, 11,8 % s deficitem AT, 7,1 % s deficitem PS. U posledních dvou jmenovaných jsme se setkali s omezením této metody, na které upozorňuje i výrobce kitů. Pokud se v ligačním místě vyskytuje záměna, může dojít ke snížení fluorescenčního signálu a nesprávnému vyhodnocení přítomnosti delece. Díky své jednoduchosti je MLPA užitečná a rychlá metoda pro stanovení velkých delecí a duplikací především u těžkých deficitů koagulačních faktorů a inhibitorů. Z našich zkušeností vyplynulo, že je také přínosná pro diagnostiku lehké HA. Nevýhodou MLPA je možná falešná pozitivita; je vždy nutné výsledek verifikovat.

### P04. POROVNÁNÍ ERYTORYTÁRNÍCH PARAMETRŮ KREVNÍHO OBRAZU MĚŘENÝCH RŮZNÝMI PRINCIPY MĚŘENÍ NA ANALYZÁTORU SYSMEX XN

Vytisková S.<sup>1</sup>, Šimičková K.<sup>2</sup>, Klinerová J.<sup>1</sup>, Bourková L.<sup>1</sup>, Penka M.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Oddělení klinické hematologie, FN Brno

<sup>2</sup> Katedra laboratorních metod, LF MU, Brno

Cílem této práce bylo porovnat klasicky měřené erytrocytární parametry RBC, HGB, MCH a MCHC s ekvivalentními parametry měřenými na stejném analyzátoru Sysmex XN3100 metodou optickou, RBC-O, HGB-O, RBC-He a MCHC-O.

Analýza vzorků probíhala na OKH FN Brno od 3. 12. 2020 do 28. 2. 2021. Za toto období bylo nashromážděno 1 716 vzorků pacientů. Ke statistické analýze byly vybrány všechny vzorky periferní krve, u kterých se vyšetřoval na analyzátoru Sysmex XN 3100 KO s retikulocyty, aby bylo možné porovnat klasické a optické parametry analýzy, které se za běžných okolností nevydávají, ale jsou analyzovány a vyhodnocovány vždy při vyšetřování retikulocytů ve vzorku.

Pro všechna data byl proveden Shapiro-Wilkův test pro normální rozdělení a na základě těchto výsledků byly následně použity neparametrické statistické testy a metody, které nemají zvláštní předpoklady pro rozdělení vstupních dat. Mezi tyto neparametrické testy patří Wilcoxonův párový test, výpočet Spearmanova korelačního koeficientu a Passing-Bablokova regrese. Dále byl pro každý parametr sestaven Bland-Altmanův graf.

Statistickým porovnáním naměřených dat bylo zjištěno, že všechny dvojice porovnávaných parametrů spolu dobře korelují (tabulka). Nejlepší korelace byla nalezena mezi parametry RBC a RBC-O. Menší, avšak stále velmi dobrá korelace se projevila mezi parametry HGB a HGB-O. Mezi parametry MCHC a MCHC-O byla korelace nejnižší, o málo vyšší byla korelace mezi parametry MCH a RBC-He.

Z naměřených dat vyplynulo, že při přítomnosti chladových protilátek ve vzorku je vhodné vydávat opticky měřené počet erytrocytů namísto impedančního, který je falešně snížený. Zároveň je vhodné vydávat přímo měřené optický parametr RBC-He namísto MCH vypočítaného z impedančních parametrů. MCH je u takových vzorků falešně zvýšené. Vhodnost použití parametru MCHC-O namísto parametru MCHC se nepotvrdila. Pro vydávání správných výsledků parametru MCHC bez nutnosti zásahu personálu do přípravy vzorku by bylo nutné zakoupení placené licence aplikace CBC-O, která při podezřeních na patologické vzorky přepočítá hodnotu hematokritu a nabídne korigovanou hodnotu MCHC-O.

Podpořeno MZ ČR – RVO (FNBr, 65269705).

	RBC (10 <sup>12</sup> /l)	RBC-O (10 <sup>12</sup> /l)	HGB (g/l)	HGB-O (g/l)	MCHC (g/l)	MCHC-O (g/l)	MCH (pg)	RBC-He (pg)
počet vzorků	1 716	1 716	1 716	1 716	1 716	1 716	1 716	1 716
průměr parametru	3,9929	4,0444	119,0635	119,1329	334,9709	334,1981	30,1722	29,5441
medián parametru	4,055	4,1	120	121	335	336	30,1	29,9
nejnižší hodnota	0,9	1,2	37	30	230	186	14,2	11
nejvyšší hodnota	7,24	7,55	184	193	1242	1274	131,1	40,2
Spearmanův korelační koeficient		0,995		0,991		0,876		0,906

## P05. VELIKOST BUNĚČNÉHO PROSTORU S JÁDREM BĚHEM DIFERENCIACE LYMFOCYTŮ, GRANULOCYTŮ A ERYTROBLASTŮ

Smetana K.<sup>1</sup>, Klamová H.<sup>1</sup>, Mikulenková D.<sup>1</sup>, Čermák J.<sup>1</sup>, Otevřelová P.<sup>1</sup>, Karban J.<sup>2</sup>, Trněný M.<sup>2</sup>

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

<sup>2</sup>I. interní klinika hematologie VFN v Praze

Poměr velikosti jádra a cytoplasmy je předmětem zájmu cytologů již od konce předminulého století jelikož je morfologickým vyjádřením rovnováhy obou hlavních komponent buňky. Změna této rovnováhy pak má za následek nástup změn jako je buněčné dělení a diferenciace. Obecně je uznáváno, že velké jádro v buňce je přítomno v méně diferencovaných buňkách s velkým mitotickým potenciálem včetně maligních buněk. Proto jsme se zabývali velikostí jádra v buněčném prostoru během diferenciace buněk lymfocytární, granulocytární a erytrocytární řady na roztěrech periferní krve a kostní dřeně nemocných s CLL, CML a RA MDS. Mimo to byly také studovány zralé a experimentálně dediferencované lymfocyty dárců krve. Měřeny byly průměry jader a buněčných těl v jednotlivých buňkách po vizualizaci nukleárních a buněčných obrysů kdy byly současně viditelné typy jaderek jako další pomocné márkry stavu diferenciace. Hrubý odhad velikosti jader v buněčném prostoru byl stanoven poměrem maximálního průměru jádra k maximálnímu průměru buněčného těla násobeného stem. Pro měření digitalizovaných obrazů jednotlivých buněk a zpracování výsledků byly použity počítačové programy Olympus a NIH. Výsledky ukázaly rozdíly velikosti poměru jádra a buněčného těla během diferenciace studovaných krevních řad a omezily obecnou platnost současných názorů. Na druhé straně se však ukázalo, že v progenitorových buňkách všech těchto buněčných řad jádra zaujímají více než 70 % buněčného prostoru. V lymfocytárních řadách nemocných s CLL i dárců krve tak velký prostor těla buňky "okupovaný" jádrem je také ve zralých a terminálních lymfocytech i když jejich velikost ve srovnání s progenitory je signifikantně menší. Bylo také pozorováno, že velikost prostoru těla buňky s jádrem je charakteristická pro každé diferenciální stadium. Podle předběžných výsledků sledování velikosti buněčného prostoru s jádrem by mohlo být v budoucnosti užitečné nejen při sledování fyziologie ale i patologie diferenciace jednotlivých buněk.

Studie byla z části financována ústavním výzkumným fondem ÚHKT.

## P06. VÝSKYT TROMBOCYTOPATIE U NEMOCNÝCH S CLL LÉČENÝCH IBRUTINIBEM

Chasáková K.<sup>1</sup>, Slavík L.<sup>2</sup>, Starostka D.<sup>1</sup>, Úlehlová J.<sup>2</sup>, Papajík T.<sup>2</sup>, Turcsányi P.<sup>2</sup>, Urbanová R.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Centrum hematologie a klinické biochemie, Nemocnice Havířov

<sup>2</sup>Hemato-onkologická klinika LF UP a FN Olomouc

**Cíle:** Ibrutinib je ireverzibilní inhibitor Brutonovy tyrozinkinázy používaný zejména v léčbě chronické lymfocytární leukémie (CLL).

Léčba ibrutinibem přináší riziko trombocytopenie s krvácivými projevy. Pacienti léčení ibrutinibem mají sníženou agregaci trombocytů po indukci kolagenem a ristocetinem. Cílem studie bylo stanovení výskytu trombocytopenie u nemocných s CLL léčených ibrutinibem metodou optické agregometrie.

**Metody:** Agregace trombocytů v PRP po kolagenu, arachidonové kyselině a ristocetinu na agregometru SD Medical TA byla stanovena v sérii 103 vzorků krve od 46 pacientů s CLL léčených ibrutinibem. Hodnota cut off pro definici trombocytární dysfunkce (maximální amplituda agregace trombocytů) byla stanovena na 60 %.

**Výsledky:** Agregace trombocytů po kolagenu byla snížena u 8/103 vzorků (8 %), agregace po arachidonové kyselině byla snížena u 6/103 vzorků (6 %) a agregace po ristocetinu byla snížena u 5/103 vzorků (5 %). Trombocytopenie byla prokázána pouze u malé části nemocných s CLL léčených ibrutinibem.

**Závěr:** Brutonova tyrozinkináza zprostředkovává aktivaci trombocytů cestou destičkového glykoproteinu VI, kterou lze selektivně inhibovat ibrutinibem, což vede ke klinicky manifestní trombocytopenii. V naší studii byla incidence trombocytární dysfunkce 5–8 %. V rozporu s tímto nálezem je výskyt krvácení u nemocných s CLL léčených ibrutinibem popisován ve 31–61 %. Variabilitu krvácivých projevů u nemocných s CLL léčených ibrutinibem, včetně naší kohorty, lze kromě léčby ibrutinibem vysvětlit též jinými faktory jako jsou rozdíly v typu nemoci, dávkování léku, medikací antiagregačními a antikoagulačními preparáty a tíží trombocytopenie. Jsou též popisovány individuální rozdíly v destičkové odpovědi na ibrutinib.

## P07. SLEDOVÁNÍ ÚČINNOSTI PROTIDESTIČKOVÉ LÉČBY KYSELINOU ACETYLSALICYLOVOU U PACIENTŮ S AKUTNÍ ISCHEMICKOU MOZKOVOU PŘÍHODOU

Bultasová L.<sup>1,2</sup>, Hajšmanová Z.<sup>1,2</sup>, Šigutová P.<sup>1,2</sup>, Rohan V.<sup>2,3</sup>, Polívka J.<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>ÚKBH, FN Plzeň

<sup>2</sup>LF UK, Plzeň

<sup>3</sup>Neurologická klinika FN Plzeň

**Cíl:** Kyselina acetylsalicylová (ASA) je základním protidestičkovým lékem používaným v léčbě a sekundární prevenci ischemické mozkové příhody. Cílem studie bylo monitorovat nástup a účinnost terapie ASA zahájené 24 hodin po provedení trombolýzy u pacientů s akutní ischemickou mozkovou příhodou.

**Metody:** Do studie byli zařazeni pacienti (n = 23) konsekutivně přijatí na neurologickou kliniku s akutní ischemickou mozkovou příhodou. Těmto pacientům byla ve čtyřech po sobě následujících dnech vyšetřována funkce trombocytů metodou ASPItest na impedančním agregometru Multiplate® Analyser (Roche). První vzorek krve na vyšetření byl odebrán bezprostředně před podáním nasycovací dávky 500 mg ASA, s odstupem 24 hodin po podání trombolýzy. Další náběry byly prováděny v 24hodinových intervalech, kdy již pacienti užívali pravidelnou udržovací dávku 100 mg ASA denně. Pro cut-off

účinné protideštičkové terapie byla použita hodnota  $\leq 30$  U (Roche, Multiplate® analyzer, Cut off values ADPtest and ASPItest, Version 2.0, 2014).

**Výsledky:** U všech pacientů ve studii vedlo podávání ASA k signifikantnímu poklesu hodnot ASPItestu. Nasycovací dávka 500 mg ASA poskytne za 24 hodin po aplikaci účinnou protideštičkovou léčbu u 78 % pacientů. Po dvou dnech následné léčby udržovací dávkou ASA 100 mg mělo účinnou hladinu protideštičkové léčby 52 % pacientů, 22 % pacientů nedosáhlo plně účinné léčby, ale naměřené hodnoty se jí blížily (31–37 U). Zbývajících 6 pacientů (26 %) dosáhlo hodnot ASPItestu v rozmezí 42–66 U.

**Závěr:** Výsledky studie prokazují vysokou účinnost nasycovací 500 mg dávky ASA 24 hodin po jejím podání pacientům s akutní ischemickou mozkovou příhodou. Zhruba 35 % pacientů by dosáhlo účinné protideštičkové léčby, pokud by udržovací dávka byla vyšší než standardních 100 mg denně.

*Podpořeno projektem MZ ČR – RVO, Fakultní nemocnice Plzeň – FNPI 00669806*

## P08. ANALÝZA POČTU TROMBOCYTŮ TECHNOLOGIÍ MAPSS S OPTICKOU DETEKČÍ NA HEMATOLOGICKÉM ANALYZÁTORU ABBOTT ALINITY HQ

Vášová V., Malíková I., Špaček M.

*Ústav lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky, Centrální hematologické laboratoře, VFN v Praze*

**Úvod:** V hematologické laboratoři se stále setkáváme s problémy při stanovení správného počtu trombocytů. Jsou-li počty trombocytů stanovovány impedančně, tak stále existuje riziko uvolnění nesprávného výsledku. Falešně nízký počet můžeme zaznamenat při výskytu shluků trombocytů nebo je-li ve vzorku větší počet trombocytů, které dosahují velikosti erytrocytů. Naopak k falešně vysokému počtu trombocytů může dojít, pokud se ve vzorku vyskytují fragmenty erytrocytů či leukocytů, mikroerytrocyty či kryoglobulin. V případě zjištěné diskrepance je nutné vzorek přeměřit. Přeměření vzorku jinou metodou však nemusí poskytnout jednoznačný výsledek a vzorek je nutné konfirmovat mikroskopickou analýzou nátěru periferní krve. Cílem této práce bylo ověřit schopnosti a možnosti stanovení počtu krevních destiček na analyzátoru Alinity hq technologií MAPSS (Multi-Angle-Polarized-Scatter-Separation) u vzorků s výraznou trombocytopenií, u vzorků s falešně nízkým či naopak falešně vysokým počtem destiček s následnou mikroskopickou analýzou nátěru periferní krve.

**Metody:** Nesrážlivá (K3EDTA) periferní krev byla změřena nejprve na krevním analyzátoru Sysmex XN 3000, kde byl počet trombocytů stanoven impedanční metodou a následně metodou fluorescenční průtokové cytometrie. Poté byl vzorek změřen na analyzátoru Alinity hq a výsledky byly porovnány. Posledním krokem byla mikroskopická analýza nátěru periferní krve se zaměřením na počet trombocytů, jejich morfoloii a nález případných interferujících látek ve vzorku.

Nátěr periferní krve byl zhotoven na analyzátoru SP10 firmy Sysmex a mikroskopická analýza byla provedena na mikroskopu Olympus BX43.

**Výsledek:** Vyšetřili jsme 35 vzorků s počtem destiček nižším než  $20 \times 10^9/l$  metodou MAPSS a výsledky byly srovnatelné s metodou fluorescenční průtokové cytometrie. Vzorky, u kterých jsme impedanční metodou získali falešně vysoký počet destiček, byly na Alinity hq přeměřeny se správnou hodnotou hned napoprvé. Počet destiček byl potvrzen mikroskopicky.

**Závěr:** Diskrepantní výsledky, které jsme získali impedančním měřením a trombocytopenické vzorky, byly následně přeměřené na hematologickém analyzátoru Abbott Alinity hq a výsledky počtu trombocytů se shodovaly s nálezem v nátěru periferní krve. Proto by technologie MAPSS mohla být využívána pro vyšetřování problematických vzorků.

## P09. POROVNÁNÍ ANALYZÁTORŮ KREVNÍCH ČÁSTIC DXH 900 (BECKMAN COULTER), BC-6200 (MINDRAY) A XN-20 (SYSMEX)

Palátová J., Hajšmanová Z.

*Ústav klinické biochemie a hematologie, FN Plzeň, Plzeň*

**Cíl:** V roce 2019 jsme testovali hematologické analyzátory krevních částic výrobců Beckman Coulter, Mindray a Sysmex s cílem porovnat technické parametry přístrojů a seznámit se s měřením těch, které jsme doposud nestanovovali.

**Metody:** Proměřili jsme 100 patientských vzorků od fyziologických až po vysoce patologické od kriticky nemocných pacientů včetně nezralých novorozenců. Analyzované parametry jsou obsahem posterového sdělení.

**Výsledek:** Porovnávané přístroje analyzují krevní obraz s pětipopulačním diferenciálním počtem leukocytů, stanovují počet normoblastů a retikulocytů, umožňují měření tělních tekutin ve speciálním módu. Analyzátory BC-6200 a XN-20 navíc umožňují kvantifikovat populaci nezralých granulocytů, měřit trombocyty i optickým principem a vydávat parametr nezralé destičkové frakce. Normoblasty měří s každým krevním obrazem, kdežto DxH 900 s diferenciálním počtem leukocytů. Analyzátor DxH 900 aspiruje 165  $\mu l$  vzorku, využívá 5 reagensů, nabízí 29 diagnostických parametrů a 2 parametry tělních tekutin. Aspirační objem BC-6200 je 80  $\mu l$  a pouhých 35  $\mu l$  v kapilárním módu. Využívá 9 reagensů, nabízí 37 diagnostických parametrů a 7 parametrů tělních tekutin. Analyzátor XN-20 aspiruje 88  $\mu l$  vzorku, využívá 12 reagensů, nabízí 44 diagnostických parametrů a 7 parametrů tělních tekutin. Bylo dosaženo vysoké míry shody výsledků u všech parametrů KO, a to i v případě těžkých trombocytopenií měřených impedančně v případě DxH 900 a opticky v případě analyzátorů Sysmex a Mindray. Impedanční metoda selhávala u vzorků, ve kterých byly přítomny makrotrombocyty či mikrocyty. Na patologii v diferenciálním počtu leukocytů všechny

srovnávané analyzátoři upozornily. Při měření normoblastů jsme zaznamenali četnější interference pouze u analyzátoři DxH 900.

**Závěr:** Možnost měřit stejný vzorek krve z téhož odběru v témže okamžiku na třech různých analyzátořích byla dobrá zkušenost, kdy kromě výborné porovnatelnosti výsledků, která se předpokládá, je prostor uvědomit si přednosti a nedostatky jednotlivých detekčních systémů a zároveň zjistit, že testované analyzátoři jsou schopny pokrýt požadavky různých typů laboratoří. Sofistikované middlewary, které se stávají součástí analýzy, výsledky základních parametrů KO dále zvyšují.

## P10. LABORATORNÍ MONITORACE HLADINY EMICIZUMABU

Jelínková M., Blažková P., Vrábel L., Blatný J.

*Oddělení dětské hematologie a biochemie, FN Brno*

Emicizumab (léčivý přípravek Hemlibra®) je humanizovaná monoklonální modifikovaná protilátka imunoglobulin G4 (IgG4) s bispecifickým zaměřením proti faktoru IXa a faktoru X. Přemostěním F IXa a F X nahrazuje funkci chybějícího F VIII potřebného k efektivní hemostáze. Je indikován k rutinní profylaxi krvácivých epizod u pacientů s hemofilií A s inhibitory F VIII a s těžkou hemofilií A (F VIII < 1 %) ve všech věkových kategoriích.

Emicizumab ovlivňuje vyšetření aPTT a všechna vyšetření na bázi aPTT včetně jednofázové koagulační metody stanovení F VIII. Proto nelze tyto metody použít ke sledování účinku emicizumabu ani ke stanovení F VIII nebo titru inhibitoru F VIII u pacientů léčených touto protilátkou. Při potřebě stanovení aktivity FVIII u pacienta léčeného emicizumabem je nutné použít chromogenní metodu s bovinními koagulačními faktory. K monitoraci hladiny emicizumabu v plazmě lze pak využít buď modifikované jednofázové koagulační metody stanovení F VIII nebo chromogenní metody s obsahem lidských koagulačních faktorů.

Na našem pracovišti používáme k monitoraci hladiny emicizumabu modifikovanou jednofázovou koagulační metodu stanovení F VIII. Modifikovaná jednofázová metoda stanovení F VIII se liší od klasické jednofázové metody stanovení F VIII v použitém ředění vyšetřované plazmy a dále pak v použití speciálního typu kalibrátoru a kontrol s deklarovanými hodnotami pro koncentraci emicizumabu.

Metoda je snadno aplikovatelná na automatické koagulometry. V naší laboratoři ji máme zavedenou na koagulometru Sysmex CS-2500. Poster tuto metodu popisuje.

## P11. VROZENÉ PORUCHY FIBRINOGENU – 15 LET ZKUŠENOSTÍ

Kotlín R.<sup>1</sup>, Ceznerová E.<sup>1</sup>, Štikarová J.<sup>1</sup>, Suttnar J.<sup>1</sup>, Loužil J.<sup>2</sup>, Salaj P.<sup>2</sup>

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

<sup>2</sup> Centrum pro trombózu a hemostázu, Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

**Cíl:** Fibrinogen je klíčovým proteinem hemostázy. Vrozené poruchy fibrinogenu mohou být kvalitativní – dysfibrinogenemie, či kvantitativní – hypofibrinogenemie, afibrinogenemie či hyperfibrinogenemie. O tom, jakou fenotypovou formu bude porucha mít rozhoduje do největší míry mutace, která se v některém z genů vyskytuje. Klinicky se vrozené poruchy fibrinogenu nejčastěji manifestují asymptoticky, dále krvácivě a nejzávažněji tromboticky. Cílem projektu je zjistit primární příčinu dysfibrinogenemie či hypofibrinogenemie a její vliv na funkci fibrinogenu a strukturu fibrinové sítě za pomoci specializovaných biochemických metod.

**Metody:** Genetická analýza byla prováděna Sangerovým sekvenováním, polymerace a fibrinolýza byly sledovány turbidimetrickou metodou, kinetika odštěpování fibrinopeptidů byla sledována chromatograficky, morfologie sítě byla studována pomocí elektronové a konfokální mikroskopie. U mutací v oblastech fibrinogenu, pro které byla k dispozici krystalografická data, bylo provedeno také molekulární modelování.

**Výsledky:** Výzkumem v oblasti vrozených poruch fibrinogenu se zabýváme od roku 2006. Za tuto dobu se nám podařilo identifikovat více než 90 případů vrozených poruch v české populaci. Z tohoto počtu byla jedna afibrinogenemie, 41 případů dysfibrinogenemie a 29 případů hypofibrinogenemie. U všech pacientů se nám podařilo identifikovat molekulární příčinu onemocnění. Většina pacientů byla asymptomatická a byli vyšetřeni v souvislosti s abnormálními výsledky koagulačního vyšetření, či v souvislosti s rodinou anamnézou. Nejčastější mutací v české populaci je záměna na pozici Aa Arg16His (15 rodin), Aa Arg16Cys (6 rodin) a Aa Gly13Glu (12 rodin). Všechny tři mutace jsou v místě katalytického působení trombinu katalyzujícího hydrolytické odštěpování N-terminálních fibrinopeptidů A a B vedoucího k odkrytí polymeračního místa.

**Závěr:** Za 15 let, co se zabýváme vrozenými poruchami fibrinogenu, se nám podařilo identifikovat vrozené mutace ve fibrinogenu v celkem 93 rodinách, provést funkční a strukturní analýzu objevených variant fibrinogenu; odhalit nové, dosud nepopsané mutace, a přispět tak k lepšímu porozumění strukturních vlastností fibrinogenu a jejich vlivu na funkci fibrinogenu.

*Projekt byl podpořen MZČR – RVO ÚHK 00023736.*

# AKUTNÍ LEUKÉMIE

## P12. PROGNOTICKÝ VÝZNAM NÍZKÝCH POZITIVIT MINIMÁLNÍ REZIDUÁLNÍ NEMOCI U PH-NEGATIVNÍ AKUTNÍ LYMFOBLASTICKÉ LEUKÉMIE DOSPĚLÝCH

Šálek C.<sup>1,2</sup>, Folber F.<sup>2,3</sup>, Horáček J. M.<sup>2,4</sup>, Froňková E.<sup>5</sup>, Cetkovský P.<sup>1,2</sup>, Mayer J.<sup>2,3</sup>, Trka J.<sup>5</sup>, Doubek M.<sup>2,3</sup>

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

<sup>2</sup> Česká leukemická skupina – pro život (CELL), Brno

<sup>3</sup> Interní hematologická a onkologická klinika LF MU a FN Brno

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

<sup>5</sup> CLIP – Childhood Leukaemia Investigation Prague, Klinika dětské hematologie a onkologie 2. LF UK a FN Motol, Praha

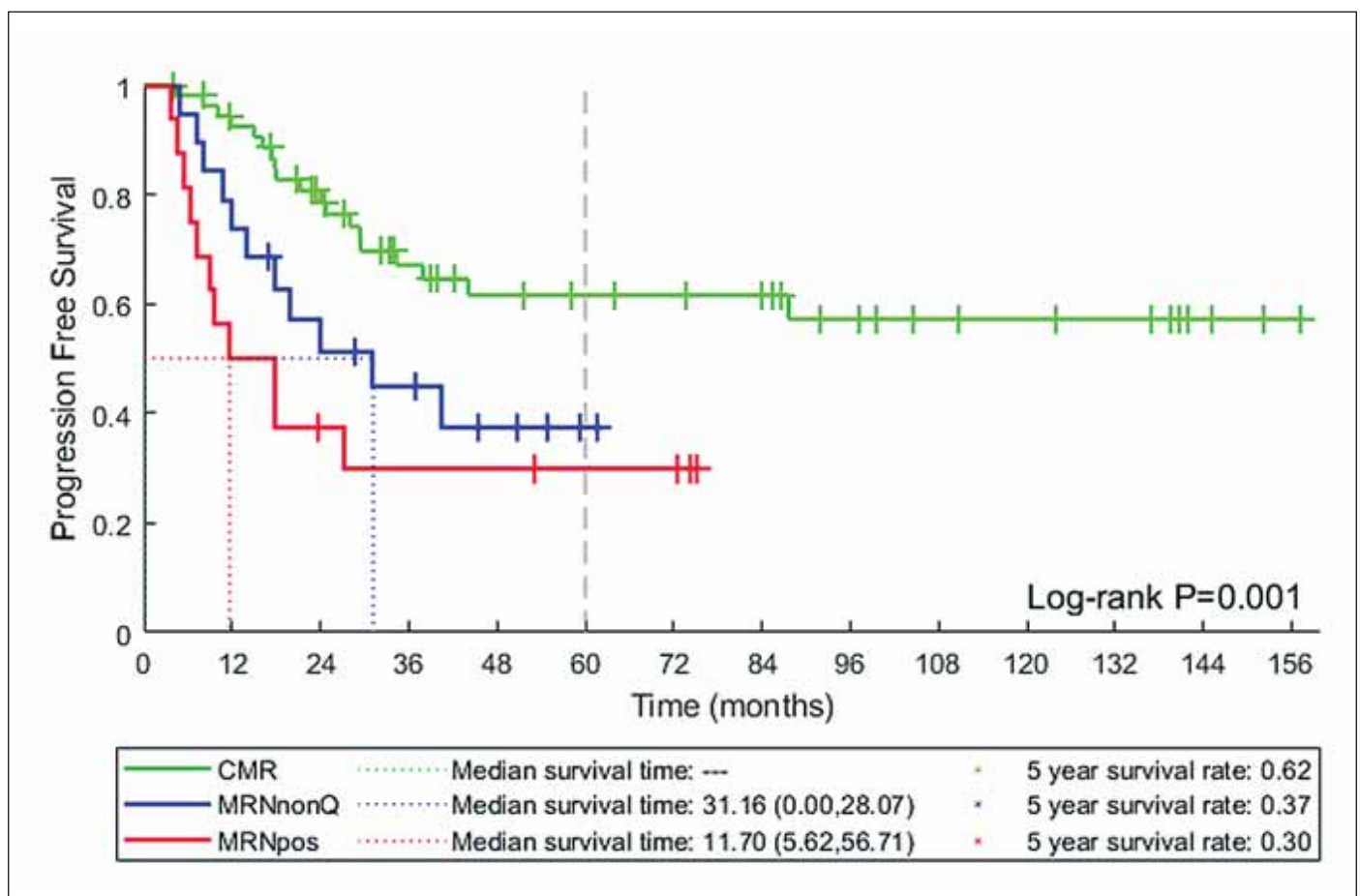
**Cíl:** Minimální reziduální nemoc (MRN) je považována za hlavní prognostický faktor u akutní lymfoblastické leukémie bez filadelfského chromozomu (Ph-ALL). Rozhodující význam pro hodnocení rizika má pokles MRN v časných fázích léčby, zpravidla za 3–4 měsíce od jejího zahájení. Jako pozitivní jsou v souladu s mezinárodními doporučeními považovány hodnoty MRN v řádu  $10^{-4}$  a vyšší. Cílem této studie bylo zhodnotit klinickou relevanci pozitivit menších než  $10^{-4}$ .

**Metody:** Do analýzy bylo zařazeno 112 pacientů diagnostikovaných mezi lety 2007 a 2020, kteří byli léčeni dle protokolů GMALL

07/2003 nebo CELL Junior 2012, dosáhli kompletní remise po indukční fázi léčby a měli MRN měřenou metodou kvantifikace specifických přestaveb v genech pro imunoglobuliny a T buněčné receptory (Ig/TCR). MRN byla sledována po 1. a 2. indukčním cyklu a dále v týdnu 11 a 16 (před 1. a 2. konsolidačním cyklem). Nálož MRN byla hodnocena jako pozitivní kvantifikovatelná ( $\geq 10^{-4}$ ; MRNpos), pozitivní nekvantifikovatelná (hodnoty  $< 10^{-4}$  mimo kvantifikovatelné rozmezí metody; MRNnonQ) a negativní (kompletní molekulární odpověď; CMR). V každé fázi léčby bylo vypočteno celkové přežití (OS) a přežití bez progresu (PFS) v závislosti na aktuální náloži MRN.

**Výsledky:** MRN měřená po 2. indukčním cyklu rozdělila kohortu na tři prognostické skupiny (CMR, MRNnonQ, MRNpos) s odlišným OS (medián nedosažen, 92 měs., 18 měs.;  $p < 0,001$ ) a PFS (medián nedosažen, 88 měs., 15 měs.;  $p < 0,001$ ). Podobný prognostický význam měla hodnota v týdnu 11 pro OS (medián nedosažen, 58 měs., 18 měs.;  $p < 0,001$ ) a PFS (medián nedosažen, 31 měs., 12 měs.;  $p = 0,001$ ; graf). Přežití pacientů s MRNnonQ v týdnu 16 se nelišilo od osob s MRNpos.

**Závěr:** Nízké (nekvantifikovatelné) pozitivitivity MRN měřené po skončení indukční fáze nebo před zahájením konsolidační fáze léčby jsou klinicky relevantní. Tyto hodnoty mají negativní prognostický význam srovnatelný se skupinou s vysokou (kvantifikovatelnou) náloží MRN.



### P13. PALBOCICLIB AND PONATINIB INDUCE REGRESSION OF ACUTE MYELOID LEUKEMIA IN PATIENT-DERIVED XENOGRAFT MODEL

Buša D.<sup>1</sup>, Loja T.<sup>2</sup>, Ježíšková I.<sup>1,3</sup>, Folta A.<sup>3</sup>, Mayer J.<sup>1,2,3</sup>, Čulen M.<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup> Faculty of Medicine, Masaryk University, Brno

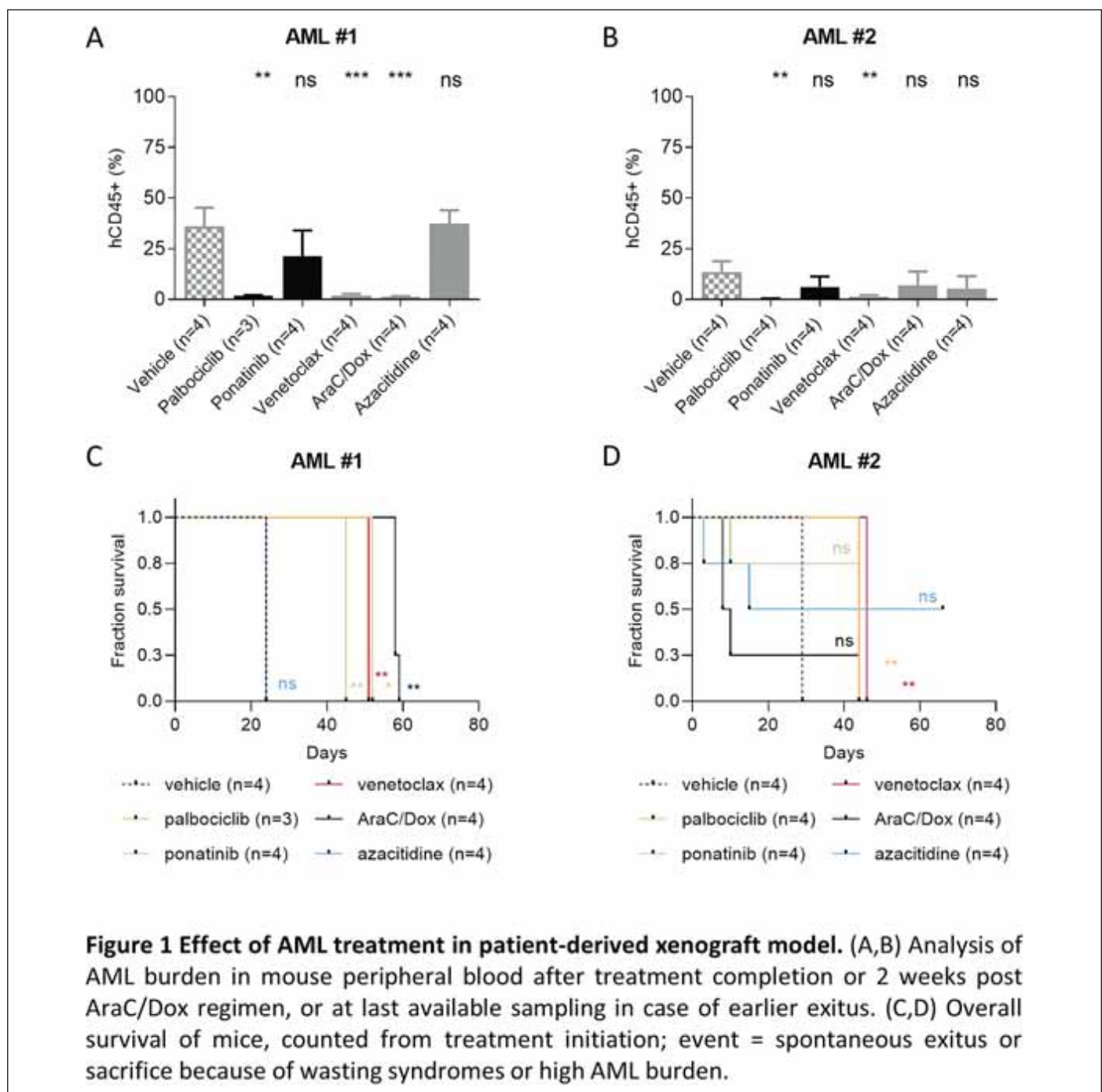
<sup>2</sup> Central European Institute of Technology, Masaryk University, Brno

<sup>3</sup> Department of Internal Medicine – Hematology and Oncology, University Hospital Brno

**Aims:** Palbociclib, a breast cancer approved CDK4/6 inhibitor, and ponatinib, a BCR/ABL1 inhibitor with a multi-kinase activity approved for

chronic myeloid and acute lymphoid leukemia, were previously shown to be effective *in vitro* against acute myeloid leukemia (AML). Here, we aimed to confirm this effect *in vivo* using primary acute myeloid leukemia cells.

**Methods:** Two newly diagnosed AMLs were xenotransplanted into NOD SCID gamma mice. Treatment was initiated at detection of approximately 5% hCD45+ cells in mouse peripheral blood. Palbociclib, ponatinib, vehicle, and venetoclax as a comparative treatment, were administered orally for 3 weeks, 5 days per week. Chemotherapy (cytarabine+doxorubicine, AraC/Dox) 5 + 3 regimen served as a positive control. Azacitidine served as another comparative drug and was administered subcutaneously, five days per week in 3 cycles – 1 week on, 1 week off.



**Figure 1** Effect of AML treatment in patient-derived xenograft model. (A,B) Analysis of AML burden in mouse peripheral blood after treatment completion or 2 weeks post AraC/Dox regimen, or at last available sampling in case of earlier exitus. (C,D) Overall survival of mice, counted from treatment initiation; event = spontaneous exitus or sacrifice because of wasting syndromes or high AML burden.

**Results:** Significant decrease in AML burden and prolongation of overall survival (OS) was seen with both AMLs for palbociclib (Figure). Ponatinib only prolonged OS in AML#2 (Figure). Venetoclax was equally effective as palbociclib. The AraC/Dox regimen effectively suppressed AML but was the only associated with toxicity demonstrated by weight decrease (AML#1,  $24 \pm 2\%$  [mean  $\pm$  SD];  $P = 0.0001$ ; AML#2,  $19 \pm 11\%$ ;  $P = 0.04$ ), and possibly with early mouse mortality in the AML#2 (3/4 mice). Azacitidine failed to suppress the disease except for 2/4 mice in AML#2 where it induced a long-term remission. Otherwise, all tested treatments produced only a transient AML decline, followed by a relapse confirmed by high hCD45+ levels in PB, BM and spleens.

**Summary:** Palbociclib, and partially ponatinib, demonstrated AML suppression *in vivo*, encouraging further investigation. Based on this study, we intend to investigate combinatorial drug effects and modified administration regimens.

Supported by MUNI/A/1595/2020.

## P14. CHARAKTERISTIKA A LÉČBA PACIENTŮ S RELABOVANOU AKUTNÍ MYELOIDNÍ LEUKÉMIÍ – REÁLNÁ DATA Z DATOOL-AML

Weinbergerová B.<sup>1</sup>, Semerád L.<sup>1</sup>, Křístková Z.<sup>2</sup>, Baranová J.<sup>2</sup>, Nečasová T.<sup>2</sup>, Nováková Z.<sup>1</sup>, Kabut T.<sup>1</sup>, Podstavková N.<sup>1</sup>, Jindra P.<sup>3</sup>, Kořístek Z.<sup>4</sup>, Novák J.<sup>5</sup>, Szotkowski T.<sup>6</sup>, Ráčil Z.<sup>7</sup>, Víšek B.<sup>8</sup>, Žák P.<sup>8</sup>, Cetkovský P.<sup>7</sup>, Mayer J.<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> Hematologicko-onkologické oddělení, FN Plzeň

<sup>4</sup> Klinika hematooonkologie LF OU a FN Ostrava

<sup>5</sup> Interní hematologická klinika 3. LF UK a FN Královské Vinohrady, Praha

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

<sup>7</sup> Ústav hematologie a krevní transfúze, Praha

<sup>8</sup> IV. Interní hematologická klinika LF UK a FN Hradec Králové

**Cíle:** Prognóza pacientů s relabující AML je závažná a obecně závisí na řadě individuálních klinických a molekulárně-genetických faktorech. Cílem multicentrického projektu „DATOOL-AML-RELAPSE“ bylo zhodnocení reálných klinických dat z České republiky.

**Metody:** Provedli jsme retrospektivní analýzu dat týkajících se epidemiologie, molekulárně-genetické charakteristiky, léčby a prognózy pacientů s relabovanou AML zadaných celkem 7 hematoonkologickými centry do registru DATOOL-AML a diagnostikovaných v letech 2007–2019.

**Výsledky:** Celkem bylo analyzováno 415 případů (50 % mužů) s mediánem věku v době relapsu 54 let. Medián sledování od relapsu byl 6,2 měsíců. Většina pacientů měla primární diagnózu *de novo* AML (83 %), střední riziko dle ELN kritérií (50 %), časný relaps do 12 měsíců od 1. kompletní remise (74 %), hematologický relaps (78 %). Převážná část případů byla před relapsem konsolidována bez alogenní HSCT (74 %). Léčba relapsu s kurativním záměrem vedla při použití alogenní HSCT ( $n = 124$ ; 30 %) ve srovnání s kurativní léčbou bez alogenní HSCT

( $n = 152$ ; 37 %) k signifikantně vyšší četnosti kompletních remisí (87 vs. 50 %;  $p < 0,001$ ) s delším mediánem EFS u mladších (< 60 let) i starších ( $\geq 60$  let) pacientů (11 vs. 4 měsíce; 22 vs. 6 měsíců). Medián OS byl delší ve skupině mladších oproti starším pacientům – 8 měsíců vs. 6 měsíců. Časný relaps byl spojen s kratším mediánem OS v porovnání s pozdním relapsem, a to v obou věkových skupinách (< 60 let: 6 vs. 31 měsíců;  $\geq 60$  let: 5 vs. 12 měsíců). V souboru zemřelo celkem 72 % pacientů.

**Závěr:** Naše analýza potvrzuje velmi špatnou prognózu pacientů s relabovanou AML. Věk, doba do relapsu a typ léčby relapsu mohou představovat faktory ovlivňující výsledky léčby pacientů. Nové léky u AML představují společně s alogenní HSCT potenciál ke zlepšení prognózy těchto nemocných.

Práce byla podpořena Českou leukemickou skupinou pro život (CELL), grantem MUNI/A/1595/2020 a grantem MZ ČR – RVO (FNBr 65269705).

## P15. VÝSLEDKY LÉČBY AML U PACIENTŮ VE VĚKU 70–80 LET – ZKUŠENOSTI JEDNOHO CENTRA V OBDOBÍ 2015–2020

Karas M., Jindra P., Steinerová K., Bergerová V., Šrámek J., Hrabětová M., Lysák D., Procházka T., Mohammad L.

Hematologicko-onkologické oddělení, FN Plzeň

**Úvod:** Pacienti s AML ve věku 70–80 let jsou obvykle léčeni symptomatickou léčnou (SL). Publikovaná data ukazují, že intenzivní léčba (IL) nebo paliativní léčba (PL) za využití nových léků u nich vede k částečnému zlepšení prognózy.

**Cíle:** analýza výsledku léčby AML u pacientů jednoho centra ve věku 70–80 let a zhodnocení významu léčby ve srovnání se symptomatickým postupem.

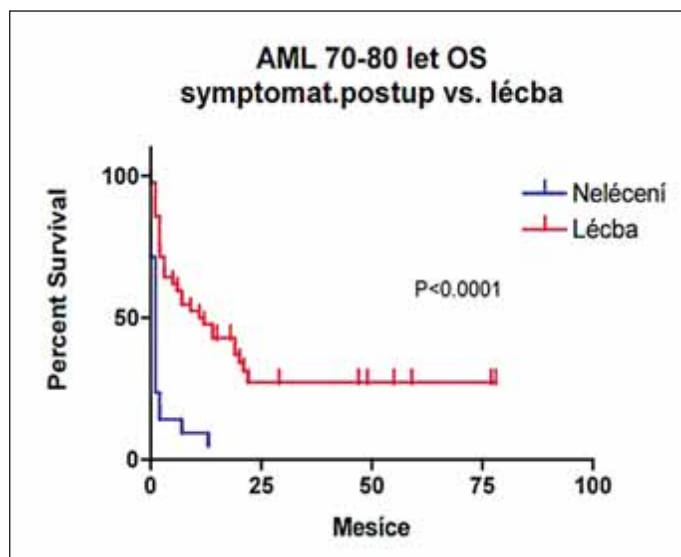
**Metody:** retrospektivní analýza 63 konsekutivně diagnostikovaných pacientů s AML (mimo APL) v období 1/2015–12/2020

**Výsledky:** medián věku 73 let (70–80), vstupní ECOG vyšší než 2 u 38 % případů. De novo AML byla diagnostikována u 65 % pacientů (ELN 2017 prognóza příznivá 2 %, intermediární 37 %, nepříznivá 49 %, neznámo 12 %). 35 % pacientů mělo sekundární AML (50 % na podkladě MDS/MPN, 50 % v souvislosti s předchozí chemo/radioterapií). 21 (33 %) pacientů bylo léčeno symptomaticky. 42 (67 %) pacientů pak bylo léčeno IL (29 %) nebo PL (38 %). 14 pacientů (22 % ze všech) podstoupilo alogenní transplantaci krevetvorných buněk.

S mediánem sledování 26 měsíců (5–78) byl medián přežití celého souboru 3 měsíce (0–78) a pravděpodobnost OS ve 2 letech 19 %. V případě SL byl medián přežití pouze 1 měsíc (0–13 měsíců) a byl signifikantně horší než ve skupině léčených pacientů s medián přežití 11 měsíců (0–78) ( $p < 0,0001$ ). V případě IL byl medián přežití 16 měsíců (0–77) a u PL 9 měsíců (0–78) s pravděpodobností OS ve 2 letech 40 resp. 20 % ( $p = 0,08$ ). V případě aloSCT (50 % v CR) byl medián přežití 21 měsíců (2–77) a pravděpodobnost OS ve 2 letech 49 %.

**Závěr:** intenzivní (vč. aloSCT) i paliativní léčba pacientů ve věku 70–80 let s AML zlepšuje signifikantně jejich prognózu ve srovnání se symptomatickou léčbou.

S ohledem na naše a publikované výsledky, zlepšení podpůrné péče a zavádění nových léků do léčby by u pacientů s AML  $\geq 70$  let měla být SL indikována jen u nemocných závažně komorbidních či vážném celkovém stavu.



## P16. VZÁCNÉ CHROMOZOMOVÉ PŘESTAVBY U NEMOCNÝCH S AKUTNÍ MYELOIDNÍ LEUKÉMIÍ (AML)

Ransdorfová Š.<sup>1</sup>, Zemanová Z.<sup>2</sup>, Valeriánová M.<sup>1</sup>, Onderková M.<sup>1</sup>, Mendlíková I.<sup>1</sup>, Marková J.<sup>1</sup>, Lizcová L.<sup>2</sup>, Pavlišťová L.<sup>2</sup>, Svobodová K.<sup>2</sup>, Izáková S.<sup>2</sup>, Jonášová A.<sup>3</sup>, Mertová J.<sup>1</sup>, Šálek C.<sup>1</sup>, Ráčil Z.<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup> Centrum nádorové cytogenomiky, Ústav lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky, 1. LF UK a VFN v Praze

<sup>3</sup> I. interní klinika – klinika hematologie 1. LF UK a VFN v Praze

**Úvod:** Rekurentní změny v genomu buněk kostní dřeně pacientů s AML jsou klíčovými faktory pro přesné zařazení nemocných do diagnostických a prognostických skupin. Kromě známých aberací se můžeme setkat i se vzácnými kryptickými přestavbami, které pravděpodobně ovlivňují prognózu onemocnění, ale doposud o nich máme velmi málo informací.

**Cíl:** Cílem studie bylo identifikovat vzácné fúzní geny, které by mohly hrát významnou roli v patogenezi AML.

**Metody:** Kombinací metod klasické cytogenetiky, I-FISH a mFISH/mBAND jsme od roku 2017 vyšetřili buňky kostní dřeně 268 nově diagnostikovaných dospělých nemocných s AML. K detekci vzácných fúzních genů jsme použili RT-PCR následovanou přímým sekvenováním.

**Výsledky:** Celkem u 31/268 nemocných (12 %) jsme prokázali rekurentní translokace t(15;17)(q22;q21), t(16;16)(p13;q22) nebo inv(16)(p13.1q22). 107 pacientů (40 %) mělo další chromozomové změny nebo komplexní karyotyp. U 4 nemocných (1,5 %) jsme detekovali vzácné chromozomové přestavby. U první nemocné (33 let, AML M0)

j jsme metodou mFISH prokázali vzácnou variantní translokaci t(3;9;21)(q26;p23;q11) současně s monosomií 7. Molekulární analýza potvrdila fúzní gen *MECOM-NRIP1*. U druhého nemocného (74 let, AML M0) jsme našli translokaci t(5;12)(q31.1;p13) a odhalili gen *ACSL6* jako fúzní partner genu *ETV6*. U třetí nemocné (81 let, AML M5b) jsme detekovali translokaci t(11;17)(q23;p13) a tetrasomii chromozomu 8. Molekulární analýzou jsme identifikovali velmi vzácný fúzní gen *KMT2A-GAS7*. V případě čtvrté nemocné (46 let, AML M2) jsme metodou mFISH potvrdili translokaci t(3;12)(q26;p13) současně s delecí 5q a monosomií 7. Následnou molekulární analýzou jsme prokázali fúzní gen *MECOM-ETV6*. Na základě těchto výsledků byly navrženy specifické primery a sondy tak, aby umožnily monitorovat minimální zbytkové onemocnění v průběhu anti-leukemické léčby.

**Závěr:** Kombinací cytogenomických metod jsme u pacientů s AML detekovali čtyři vzácné translokace, jejichž molekulární analýzy poskytly informace důležité pro přesné monitorování průběhu terapie. Identifikace vzácných fúzních genů může rovněž přispět k lepšímu pochopení patogeneze AML.

Podpořeno projekty MZČR00023736 a RVO-VFN64165.

## P17. PACIENT-SPECIFICKÉ SYSTÉMY JAKO CESTA KE SLEDOVÁNÍ MINIMÁLNÍ ZBYTKOVÉ CHOROBY U DALŠÍCH PACIENTŮ S AKUTNÍ MYELOIDNÍ LEUKÉMIÍ

Ježíšková I.<sup>1,2</sup>, Folta A.<sup>1</sup>, Šašíková M.<sup>1</sup>, Klemešová I.<sup>1</sup>, Smitalová D.<sup>1,2</sup>, Vašíková A.<sup>1</sup>, Weinbergerová B.<sup>1,2</sup>, Jarošová M.<sup>1,2</sup>, Mayer J.<sup>1,2</sup>

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

<sup>2</sup> Interní hematologická a onkologická klinika LF MU, Brno

**Cíl:** Identifikace molekulárních markerů s potenciálem pro sledování minimální reziduální nemoci (MRN) u skupiny kurativně léčených pacientů s AML, u nichž nebyl při vstupním vyšetření detekován „klasický“ MRN molekulární marker (NPM1, RUNX1-RUNX1T1, CBF-MYH11 a PML-RARA). Následně pro nemocné návrh „pacient-specifických systémů“ pro rutinní kvantitativní real-time PCR analýzu.

**Metody:** Celkem bylo na pracovišti v období 8/2020 až 5/2021 zachyceno 21 pacientů s nově diagnostikovanou AML s kurativním přístupem léčby. U těchto pacientů bylo provedeno vstupní cytogenetické vyšetření a molekulárně biologická analýza somatických aberací pomocí NGS panelu VariantPlex Core Myeloid (Archer, USA) a fúzních genů pomocí panelu Mentype AMLplex (BioType, Německo).

**Výsledky:** Vstupním vyšetřením byl „klasický“ MRN marker identifikován u celkem 12/21 (57 %) pacientů: 5/21 (24 %) mutace v genu NPM1, 5/21 (24 %) fúzní gen *PML-RARA*, 1/21 (5 %) *RUNX1-RUNX1T1* a 1/21 (5 %) *CBFB-MYH11*. U 3/21 (14 %) pacientů byly identifikovány aberace potenciálně využitelné pro sledování MRN. U prvního pacienta byla detekována mutace c.921\_986dup v genu *CEBPA*, u druhého FLT3-ITD (FLT3:c.1801\_1802ins33), u třetího byl identifikován fúzní gen *KMT2A-MLLT10* (MLL-AF10), zlom e10e10. Pro tyto tři aberace byl proveden návrh a optimalizace „pacient-



specifických systémů“ pro kvantitativní real-time PCR analýzu. Systémy byly validovány na hladině senzitivity 0,1 % pro aberace v genech CEBPA a FLT3 a 0,01 % pro fúzní gen *KMT2A-MLL10*, a zařazeny do rutinního MRN monitoringu pacientů. U 3/21 (14 %) pacientů NGS analýza ani cytogenetické vyšetření neukázaly žádný vhodný marker s potenciálem pro sledování MRN. U zbylých 3/21 (14 %) nejnovějších pacientů nebylo ještě v době přípravy abstraktu ukončeno hodnocení analýz.

**Závěr:** Příprava „pacient-specifických systémů“ je, i přes jejich značnou časovou a metodickou náročnost, vhodnou cestou k vysoce senzitivnímu monitorování zbytkových leukemických buněk u té skupiny pacientů s AML, u nichž vstupně nebyl identifikován „klasický“ molekulární marker pro sledování MRN.

Podpořeno projekty MZ ČR 15-25809A a MŠMT MUNI/A/1595/2020.

## P18. ČASNÁ ZTRÁTA CD38 PO PODÁNÍ DARATUMUMABU U PACIENTŮ S AKUTNÍ LYMFBLASTICKOU LEUKÉMIÍ

Vakrmanová B.<sup>1</sup>, Žaliová M.<sup>1</sup>, Nováková M.<sup>1</sup>, Říha P.<sup>1,2</sup>, Starý J.<sup>2</sup>, Hrušák O.<sup>1,2</sup>, Šrámková L.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Klinika dětské hematologie a onkologie 2. LF UK, Praha

<sup>2</sup>Klinika dětské hematologie a onkologie FN Motol, Praha

Relaps postihuje 10–15 % dětí s akutní lymfoblastickou leukémií (ALL) a zůstává hlavní příčinou selhání léčby. Prognóza B-prekursorových leukémií (BCP ALL) se výrazně zlepšila díky dostupnosti imunoterapie (blinatumomab, inotuzumab, CART lymfocyty). U T-ALL jsou možnosti léčby relapsu omezené a šance na vyléčení jsou špatné. Jednou z možností cílené léčby je daratumumab, monoklonální protilátka proti CD38, jejíž účinek byl potvrzen u pacientů s mnohočetným myelomem a nyní je testována u pacientů s relapsem ALL v kombinaci s chemoterapií. Informace o účinnosti daratumumabu u relapsu ALL jsou omezené.

V našem centru jsme daratumumab použili celkem u 5 dětí s relapsem ALL (T-ALL n = 4 a CD19 negativní relaps BCP ALL n = 1). Ve 3 případech to bylo v kombinaci s chemoterapií a u 2 pacientů v monoterapii (1x pro těžký stav neumožňující chemoterapii a 1x v časném potransplantačním období). V den 15 léčby byla CD38 na blastech dvou pacientů (pacient 1 a 2) nedetekovatelná. Pacient 1 (T-ALL) zemřel s plně rozvinutým CD38 negativním relapsem. Pacient 2 (BCP ALL) byl po zjištění negativity CD38 léčen pomocí inotuzumabu a nyní žije v druhé remisi po transplantaci. U pacientů 3 a 4 nemoc s odstupem několika měsíců relabovala jako CD38 pozitivní a oba zemřeli na její progresi. Pacient 5 (T-ALL s izolovaným CNS relapsem) léčený daratumomabem pro pozitivní minimální reziduální nemoc v kostní dřeni žije v druhé remisi. Mechanismus časně ztráty CD38 je nejasný, je otázkou, zda se jedná o skutečnou ztrátu CD38 či mechanické zablokování vazebného místa pro protilátku proti CD38 daratumumabem. U pacienta 1 jsme detekovali obdobnou expresi CD38 na úrovni mRNA jako u CD38 pozitivních ALL a přítomnost intracelulární CD38 a kappa řetězce, který je součástí

molekuly daratumumabu, což ukazuje na blokování vazebného místa. Časná negativita CD38 po daratumumabu dle průtokové cytometrie nemusí tedy indikovat ztrátu proteinu na povrchu blastů. Podpořeno z GAUK-364119, NV18-03-00343, RVO-00064203.

## P19. EXPRESNÍ A GENOTYPIZAČNÍ PROFILOVÁNÍ ABC TRANSPORTÉRŮ U PACIENTŮ S AKUTNÍ MYELOIDNÍ LEUKÉMIÍ

Cerovská E.<sup>1,2</sup>, Šálek C.<sup>1</sup>, Ráčil Z.<sup>1</sup>, Kundrát D.<sup>1</sup>, Remešová H.<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup>Přírodovědecká fakulta, UK, Praha

**Cíle:** Cílem projektu je identifikovat vliv kandidátních ABC transportérů (ABCA2, ABCA5, ABCB1, ABCB6, ABCC1, ABCC3, ABCG2) na sníženou senzitivitu některých AML pacientů k antracyklinům a cytarabinu.

**Metody:** Východním materiálem byly odseparované leukemické blasty z periferní krve pacientů odebrané při diagnóze a 3. den terapie 3 + 7. Odseparované myeloblasty zdravých dárců sloužily jako kontrolní materiál. Pomocí TaqMan esejí byla změřena exprese kandidátních genů s využitím referenčních genů *YWHAZ* a *B2M*, genotypizační analýza byla provedena pomocí Roche „custom“ sekvenačního panelu (Illumina). K analýze dat byl použit GraphPad a R.

**Výsledky:** Byla zjištěna souvislost mezi vyšší expresí *ABCA2*, *ABCC1* a *ABCG2* při diagnóze (n = 60) a nedosažením hematologické remise po 1. cyklu chemoterapie. Rozdíly v expresi *ABCA2*, *ABCA5*, *ABCC1*, *ABCC3* a *ABCG2* byly patrné také mezi leukemickými (n = 60) a zdravými myeloblasty (n=11). Detekovali jsme signifikantní nárůst exprese *ABCA5*, *ABCB6*, *ABCC1* a *ABCC3* v den 3, přičemž ke zvýšení docházelo především u pacientů dosahujících remise (n = 24), u rezistentních pacientů (n=21) se exprese neměnila. V diagnostických vzorcích (n = 79) jsme identifikovali 7 DNA variant, u kterých byla přítomnost variantní alely negativním prognostickým faktorem (rs2301837, rs8077268, rs17563146, rs113369901, rs1373970189, 9:137016875-137016875, 9:137022522-137022522), a 5 DNA variant, u kterých byla variantní alela příznivým prognostickým faktorem z hlediska dosažení remise (rs200096224, rs556735807, rs2235048, rs1045642, 9:137018426-137018426). Přítomnost rizikové varianty rs113369901 korelovala s vyšší expresí *ABCC1*, příznivé varianty rs200096224 s nižší expresí *ABCG2*, což odpovídá našim výsledkům o prognostickém významu exprese těchto genů.

**Závěr:** Identifikovali jsme ABC transportéry, jejichž exprese a varianty mohou sloužit jako markery predikující selhání terapie 3 + 7 u AML pacientů. Ze změn exprese u párových vzorků po podání terapie usuzujeme, že ABC transportéry přispívají u AML k chemorezistenci primárního typu. S příchodem nových léčiv podobné markery umožní zvážení odlišné terapeutické strategie u pacientů s rizikem rozvoje chemorezistence a zvýší pravděpodobnost dosažení remise a delšího přežití.

Podpořeno MZČR-00023736, ÚHK.

## P20. SOLUBILNÍ RECEPTOR PRO INTERLEUKIN-2 JE PREDIKTOREM CELKOVÉHO PŘEŽITÍ U NOVĚ DIAGNOSTIKOVANÉ AKUTNÍ MYELOIDNÍ LEUKÉMIE

Kupsa T.<sup>1,2</sup>, Horáček J. M.<sup>1,2</sup>, Vaněk J.<sup>1</sup>, Jebavý L.<sup>1,2</sup>, Žák P.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Katedra vojenského vnitřního lékařství a vojenské hygieny, Univerzita obrany, Fakulta vojenského zdravotnictví Hradec Králové

<sup>2</sup>IV. interní hematologická klinika, FN Hradec Králové

**Cíl:** Posoudit využití cytokinů a adhezních molekul jako prognostických markerů u AML.

**Metody:** Byl studován soubor 80 pacientů s nově zjištěnou AML, medián věku 58,5 let. Všichni byli léčeni indukční chemoterapií „3 + 7“. AML vysokého rizika mělo 33 nemocných. Biomarkery byly stanoveny biochip array technologií na analyzátoru Evidence Investigator (Randox). Byly měřeny sérové hladiny interleukinů IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-3, IL-4, IL-6, IL-7, IL-8, IL-10, IL-12, IL-13, EGF, VEGF, IFN- $\gamma$ , MCP-1, TNF- $\alpha$ , GM-CSF, MIP-1 $\alpha$ ,  $\alpha$ -podjednotka solubilního receptoru IL-2 (sIL-2R $\alpha$ ), solubilní receptor IL-6, MMP-9, solubilní receptor TNF- $\alpha$  typ I a II (TNFR-1,2), E-selectin (E-SEL), P-selectin, L-selectin, ICAM-1, VCAM-1.

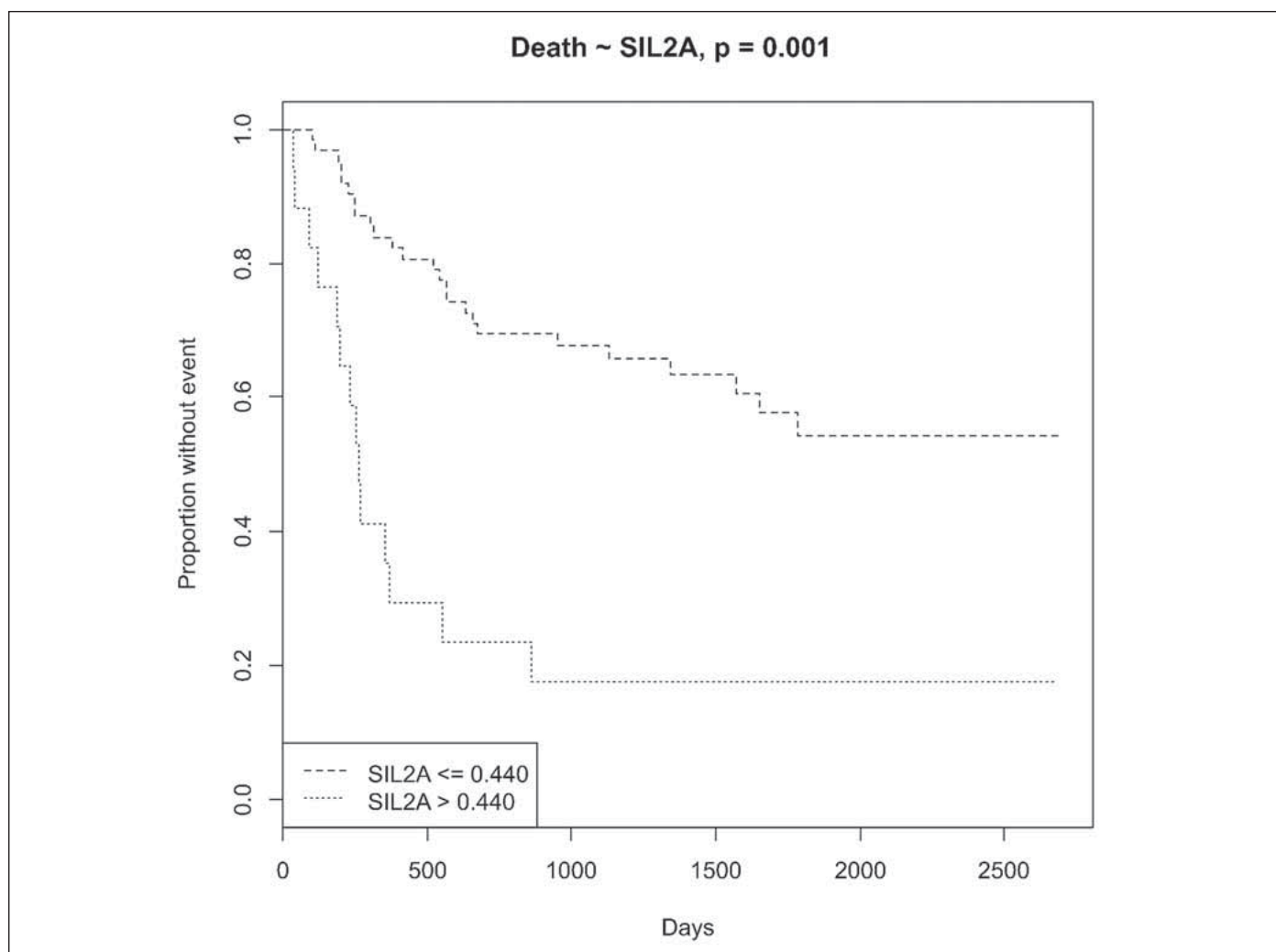
Biomarkery byly analyzovány s ohledem na věk, hyperleukocytózu, vysoké riziko AML, LDH nad pětinasobkem normálních hodnot, mutace FLT3-ITD a NPM-1, přežití do progresu nemoci (PFS) a celkové přežití (OS).

**Výsledky:** Žádný z hodnocených faktorů nebyl ovlivněn věkem ani vysokým rizikem AML. Nemocní se vstupní hyperleukocytózou měli vyšší E-SEL ( $p < 0,001$ ) a TNFR-1 ( $p = 0,020$ ). FLT3-ITD souvisela s NPM-1 a vyšším E-SEL ( $p = 0,002$ ). Nemocní s významnou elevací LDH měli nižší EGF ( $p = 0,048$ ).

OS bylo nepříznivě ovlivněno relapsem nemoci ( $p < 0,001$ ), vysokým rizikem AML ( $p = 0,001$ ) a vyšším věkem ( $p = 0,033$ ). Alogenně transplantovaní byli mladší ( $p = 0,009$ ) a přežívali déle ( $p = 0,010$ ). Zvýšená LDH byla spojena s horším přežitím u nemocných s nízkým a středním rizikem. V univariantské analýze souviselo 9 biomarkerů s PFS a 15 biomarkerů s OS. Po korekci P na vícenásobné testování sIL-2R $\alpha$  predikoval OS ( $p = 0,001$ ). TNFR-1 měl blízko statistické významnosti pro OS ( $p = 0,053$ ) i PFS ( $p = 0,075$ ).

**Závěr:** Nemocné s AML lze dále prognosticky diferencovat. Vstupní hladiny sIL-2R $\alpha$  a TNFR-1 mohou být využity v prognostické stratifikaci nemocných.

Práce byla podpořena z DZRO 1011 (FVZ UO) a MH CZ – DRO (UHHK, 00179906).



## P21. ZMĚNY KONCENTRACÍ VYBRANÝCH AMINOKYSELIN, METABOLITŮ CITRÁTOVÉHO CYKLU, GLYKOLÝZY A MALONDIALDEHYDU U AML PACIENTŮ BĚHEM PŘEDTRANSPLANTAČNÍ PŘÍPRAVY

Hlaváčková A.<sup>1</sup>, Hrdličková A.<sup>2</sup>, Vydra J.<sup>3</sup>, Suttnar J.<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup> Ústav biochemie a mikrobiologie, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze

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

**Cíl:** Během léčby AML pacientů dochází k významnému vychýlení základních metabolických drah a ke vzniku oxidačního stresu [1]. Naše dřívější studie ukázala, že koncentrace metabolitů citrátového cyklu a glykolýzy se významně mění mezi jednotlivými stádii léčby, avšak hodnotám zdravého metabolismu nedosahuje [2]. V této práci jsme se zaměřili na období předtransplantační přípravy, konkrétně jsme sledovali změny koncentrací proteinogenních aminokyselin, metabolitů citrátového cyklu, glykolýzy a markeru lipoperoxidace malondialdehydu (MDA).

**Metody:** Byl studován soubor vzorků krevní plazmy 58 AML pacientů v časovém období po dosažení remise a po předtransplantační přípravě před alogenní transplantací kostní dřeně. Vybrané analyty byly kvantifikovány pomocí kapalinové chromatografie spojené s tandemovou hmotnostní spektrometrií (LC-MS/MS). Celkový MDA byl stanoven metodou LC-MS/MS po derivatizaci 2,4-dinitrofenylhydrazinem.

**Výsledky:** Pomocí metody LC-MS/MS jsme našli signifikantní změny u 14 proteinogenních aminokyselin, konkrétně u 12 z nich došlo během předtransplantační přípravy k signifikantnímu zvýšení. Naopak v případě citrátového cyklu a glykolýzy jsme zjistili u většiny kvantifikovaných metabolitů signifikantní pokles. K posouzení oxidačního stresu jsme měřili celkový MDA, urát a pyroglutamát. Zjistili jsme, že během předtransplantační přípravy došlo k signifikantnímu zvýšení MDA, dále k signifikantnímu poklesu významného antioxidantu plazmy urátu a současněmu zvýšení pyroglutamátu, který slouží jako marker deplece glutathionu.

**Závěr:** Znalost změn v základních metabolických drahách, v koncentracích jednotlivých aminokyselin spolu s popsáním míry oxidačního stresu může být dalším parametrem pro srovnání myeloablativních a nemyeloablativních režimů s potenciačním vlivem na podpůrné režimy léčby.

### Literatura

1. Sabuncuoğlu S, Kuşkonmaz B, Uckun Çetinkaya D, et al. Evaluation of oxidative and antioxidative parameters in pediatric hematopoietic SCT patients. *Bone Marrow Transplant.* 2012;47:651–656.

2. Hlavackova A, Vydra J, Chrastinova L, et al. Targeted metabolomic profiling in acute myeloid leukemia with IDH2R140 and IDH2R172 mutations. *Blood.* 2018;132(Supplement1):1470.

Projekt byl podpořen MZČR – RVO ÚHK 00023736.

## P22. METABOLICKÉ ZMĚNY IN VITRO EXPANDOVANÝCH NK BUNĚK

Jedlička M.<sup>1,2</sup>, Feglarová T.<sup>1</sup>, Kořánová T.<sup>3,2</sup>, Mašínová E.<sup>1,2</sup>, Dvořák J.<sup>1</sup>, Sládková L.<sup>1,2</sup>, Kuželová K.<sup>3</sup>, Frič J.<sup>1,4</sup>

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

<sup>2</sup> Přírodovědecká fakulta, UK, Praha

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

<sup>4</sup> Mezinárodní centrum klinického výzkumu. FN u sv. Anny v Brně

**Úvod:** NK buňky hrají důležitou roli ve vrozené imunitní odpovědi. Po aktivaci cytokiny a aktivními receptory jsou NK buňky schopny zabít nádorové nebo patogenem infikované buňky, a to bez předchozí stimulace. Diferenciace, proliferace a efektorové funkce NK buněk jsou silně ovlivněny jejich buněčným metabolismem. Hlavním zdrojem ATP u klidových NK buněk je oxidativní fosforylace, zatímco aktivované NK buňky přepínají metabolismus na glykolýzu. Cílem projektu je definovat vliv imunometabolizmu na expanzi a cytotoxické funkce NK buněk v kontextu buněčné imunoterapie hemato-onkologických onemocnění.

**Metody:** Čerstvě izolované NK buňky (NK Cell Isolation Kit, Miltenyi) byly expandovány 14 dní *in vitro* za přítomnosti cytokinů IL-2 a IL-15. Byl měřen jejich metabolický profil (Seahorse), cytotoxicita (Calcein AM) a exprese efektorových molekul (Granzym B). Fenotypizace povrchových znaků (CD3, CD16, CD56, CD226, CD335, CD337) byla provedena průtokovou cytometrií, produkce cytokinů a efektorových molekul byla měřena metodou ELISA a qPCR.

**Výsledky:** *In vitro* expandované NK buňky vykazovaly lepší cytotoxické vlastnosti v závislosti na vyšší rezervní respirační kapacitě (SRC z anglického „spare respiratory capacity“). Na základě těchto dat jsme vybrali kandidátní metabolické geny pro qPCR analýzu. Zároveň jsme v našich experimentech pozorovali rozdíly v produkci granzymu B a INF- $\gamma$  mezi čerstvými a 14 dní kultivovanými NK buňkami. Prokázali jsme, že metabolický status NK buněk koreluje s jejich cytotoxicitou, dále výsledky ukazují, že variabilita NK buněk mezi jednotlivými dárci má vliv na jejich expanzní schopnosti.

**Závěr:** V tkáňové kultuře expandované NK buňky stejně tak jako NK buňky analyzované přímo po odběru se liší produkcí efektorových molekul, a to převážně granzymu B. Prokázali jsme, že jejich metabolický status koreluje s cytotoxicitou. Tato data slouží k optimalizaci protokolu pro expanzi NK buněk pro imunoterapeutické účely. V budoucnu se dále chceme věnovat metabolismu NK buněk a jeho možnému vlivu na efektorové funkce.

# TRANSLAČNÍ HEMATOLOGIE

## P23. 3D IN VITRO MODELY PRO STUDIUM HEMATOLOGICKÝCH MALIGNIT

Svozilová H.<sup>1,2</sup>, Vojtová L.<sup>3</sup>, Horák D.<sup>4</sup>, Studená R.<sup>1</sup>, Dorazilová J.<sup>3</sup>, Baloun J.<sup>1</sup>, Plichta Z.<sup>4</sup>, Proks V.<sup>4</sup>, Doubek M.<sup>1,2</sup>, Pospíšilová Š.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Centrum molekulární medicíny, Středoevropský technologický institut (CEITEC Masarykovy univerzity), Brno

<sup>2</sup>Centrum molekulární biologie a genetiky, Interní hematologická a onkologická klinika LF MU a FN Brno

<sup>3</sup>Pokročilé biomateriály, CEITEC VUT, Brno

<sup>4</sup>Ústav makromolekulární chemie, Akademie věd ČR, v.v.i., Praha

**Cíl:** Pro laboratorní výzkum leukémie se tradičně využívá kultivace buněk v čirých plastových nádobách. Tento přístup však nijak nezohledňuje reliéf povrchu, přirozenou prostorovou organizaci buněk a četnost buněčných interakcí s podkladem. Z toho důvodu je žádoucí vývoj komplexních trojrozměrných kultivačních systémů, které lépe simulují *in vivo* prostředí.

**Metody:** Otestovali jsme čtyři typy materiálů: (1) porózní hydrogely vyrobené z poly(2-hydroxyl metakrylátu-co-2-aminoethyl metakrylátu), (2) kolagenové pěny, (3) karboxymethylcelulózy gely s polyetylenoglykolem (CMC-PEG) (4) a iota-karagenanové gely. Materiály jsme osazovali adherentními liniemi stromálních buněk kostní dřeně (HS-5, MS-5 a M2-10B4), suspenzními liniemi chronické lymfocytární leukémie (CLL; MEC-1 a HG-3) nebo primárními patientskými CLL buňkami. Distribuce buněk a jejich životnost v různých vrstvách materiálů byla studována konfokálním mikroskopem, buněčná metabolická aktivita byla kvantifikována pomocí MTT a AlamarBlue.

**Výsledky:** Všechny testované materiály vykazovaly přijatelnou transparentnost pro pozorování konfokálním mikroskopem, byly dostatečně prostupné pro používané roztoky a barviva a zároveň umožnily izolaci nukleových kyselin přímo z buněk kultivovaných v materiálu. Hydrogely, kolagenové pěny a CMC-PEG gely se ukázaly jako vhodné pro dlouhodobou kultivaci buněčných linií (2 měsíce) a krátkodobou kultivaci primárních buněk pacientů s CLL (4–6 dní). Adherentní buněčné linie vykazovaly vyšší metabolickou aktivitu v pevných porózních materiálech oproti CMC-PEG gelům, u suspenzních linií byl ve všech testovaných biokompatibilních materiálech naměřen podobný trend metabolické aktivity. Metabolismus buněk bylo dále možné podpořit povrchovou modifikací hydrogelů adhezivním peptidem RGDS. Iota-karagenanové gely byly jako jediné z testovaných materiálů vyhodnoceny jako biologicky nekompatibilní.

**Závěr:** Porózní hydrogely, kolagenové pěny a CMC-PEG gely se jeví jako vhodní kandidáti pro sestavení 3D *in vitro* modelu leukémie. Model lze dále vylepšit povrchovou modifikací materiálů, např. adhezivním peptidem RGDS. Pro dosažení dlouhodobější kultivace

primárních CLL buněk je však pravděpodobně zapotřebí věrnější imitace jejich přirozeného mikroprostředí.

Práce vznikla za podpory projektů MUNI/A/1595/2020 (MŠMT), RVO (FNBr, 65269705, MZ ČR) a Bridge Fund (20/21, CEITEC MU).

## P24. VLIV BUSULFANU NA OXIDAČNÍ STRES V PŘÍPRAVNÉM REŽIMU PACIENTŮ S MDS A AML PŘED TRANSPLANTACÍ.

Suttnar J., Vydra J., Hlaváčková A.

Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

**Cíl:** Busulfan, používaný v přípravném režimu před transplantací, snižuje koncentraci glutathionu v plné krvi [1] a proto by měl zvyšovat oxidační stres (OS). Cílem práce je objasnit, zda busulfan způsobuje zvýšení OS.

**Metody:** 25 pacientům s MDS a AML byl během čtyř dnů podáván busulfan v přípravném režimu před transplantací a odebrána krev do EDTA. Jako kontroly sloužily vzorky EDTA plazmy 25 zdravých dárců. Před zahájením (vzorky A) a po ukončení terapie (vzorky B) byly v plazmě stanoveny látky se vztahem k OS: malondialdehyd (MDA, marker OS), allantoin, urát a taurin (potenciální markery OS) a redukované a celkové thiohy (tj. redukované + oxidované, vč. is. vázaných na bílkoviny: Cys, CysGly, homocystein a glutathion). Ke stanovení analytů byly použity metody kapalinové chromatografie s připojeným hmotnostním spektrometrem nebo fluorescenčním detektorem. Výsledky byly vyhodnoceny pomocí statistického programu R.

**Výsledky:** Koncentrace MDA ve vzorcích A i B byla signifikantně vyšší vzhledem ke kontrolám ( $p < 0,001$ ); koncentrace MDA ve vzorcích B byla pouze nesignifikantně vyšší vzhledem ke vzorkům A ( $p = 0,158$ ). Koncentrace urátu je u vzorků A vyšší vzhledem ke kontrolám a ke vzorkům B ( $p < 0,01$ ;  $p = 0,038$ ). Koncentrace celkového glutathionu i CysGly byla u vzorků A i B signifikantně nižší vzhledem ke kontrolám ( $p < 0,001$ ); mezi vzorky A, B se vzájemně nelišila. Celková koncentrace Cys ve vzorcích A byla nižší vzhledem ke vzorkům B ( $p < 0,001$ ). Koncentrace redukovaných thiolů kromě glutathionu byla ve vzorcích B nižší vzhledem ke vzorkům A ( $p < 0,001$ ).

**Závěr:** Busulfan během předtransplantační přípravy pacientů nezpůsobil zvýšení OS ani depleci GSH v plazmě. Významně snížil plazmatické koncentrace redukovaného i oxidovaného Cys.

### Literatura

1. Almog S, et al. Linearity and stability of intravenous busulfan pharmacokinetics and the role of glutathione in busulfan elimination. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 2011;17:117–123.

Projekt byl podpořen MZČR – RVO ÚHK 00023736 a ERDF projekt AIIHHP: CZ.02.1.01/0.0/0.0/16\_025/0007428, OP RDE, MŠMT ČR.

## P25. VYUŽITÍ FUNKČNÍ ANALÝZY JAKO DOPLŇKOVÉHO NÁSTROJE PŘI ANALÝZE GENU *TP53* U PACIENTŮ S CHRONICKOU LYMFOCYTÁRNÍ LEUKÉMIÍ

Gombíková J.<sup>1,2</sup>, Pavlová Š.<sup>1,2</sup>, Malčíková J.<sup>1,2</sup>, Dvořáčková B.<sup>1</sup>, Plevová K.<sup>1,2</sup>, Kotašková J.<sup>1,2</sup>, Pešová M.<sup>2</sup>, Ženatová M.<sup>1</sup>, Panovská A.<sup>1</sup>, Brychtová Y.<sup>1</sup>, Mayer J.<sup>1,2</sup>, Doubek M.<sup>1,2</sup>, Pospíšilová Š.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>FN Brno

<sup>2</sup>MU Brno

**Úvod:** Defekty genu *TP53* jsou významným prognostickým markerem pacientů s chronickou lymfocytární leukémií (CLL). Status *TP53* je důležitý pro volbu léčby, pacienti s nefunkčním p53 profitují z léčby novými inhibitory. Interpretace variant nalezených u CLL je založena na *TP53*-specifických databázích, v ojedinělých případech je třeba dalších metod k dořešení funkce variantního proteinu.

**Cíl:** Ověření schopnosti proteinu p53 aktivovat transkripci cílových genů u variant s nejasným významem (VUS) a/nebo nepopsaných v *TP53*-databázích, které byly nalezeny v rámci rutinní diagnostiky CLL pacientů.

**Metody:** Funkční analýza v kvasinkách (FASAY) umožňuje odlišit varianty proteinu s narušenou schopností aktivovat transkripci, které tvoří červené kolonie. Přítomnost variant p53 v červených (nefunkční p53) a bílých (funkční p53) koloniích byla ověřena Sangerovým sekvenováním.

**Výsledky:** Metodou FASAY jsme testovali: (1) tři varianty typu inserce/delece se zachováním čtecího rámce (in-frame), (2) dvě varianty s možným vlivem na sestřih RNA, (3) tři germinální varianty označované jako VUS.

(1) In-frame inserce/delece p.Met160\_Ala161dup, p.Glu171\_Val172-delinsAsp i p.Arg110\_Phe113delinsLeu vedly ke vzniku červených kolonií, eliminují transaktivační funkci p53 a jsou patogenní.

(2) Varianta c.559+5G>A p.? způsobuje aberantní sestřih. Varianta c.993G>T p.(Gln331His) mění poslední nukleotid exonu 9 nebyla nalezena v bílých ani červených koloniích, pravděpodobně vede k defektu sestřihu a je odbourávána na úrovni RNA mechanismem nonsense-mediated mRNA decay.

(3) Germinální varianty p.Arg283Cys a p.Ile254Val vedly ke vzniku bílých kolonií, nenarušují tedy transaktivační funkci p53. Varianta p.Arg158Cys dala vznik růžovým koloniím, funkce p53 je narušena částečně.

**Závěr:** Přestože naprostou většinu variant *TP53* nalezených u CLL pacientů lze interpretovat pouze na základě *TP53*-specifických databází, funkční test v kvasinkách představuje užitečný nástroj pro obtížně interpretovatelné varianty. Naše výsledky potvrzují, že zatímco somatické varianty nalezené u CLL jsou obvykle patogenní, germinální varianty mohou být funkční nebo mohou mít částečně zachovanou transaktivační schopnost.

Podpořeno MZCR-RVO 65269705, MUNI/A/1595/2020.

## CHRONICKÁ MYELOIDNÍ LEUKÉMIE / / MYELOPROLIFERATIVNÍ CHOROBY

### P26. PROGNÓZA NEMOCNÝCH S CML, KTEŘÍ NA LÉČBĚ INHIBITOREM TYROSINOVÉ KINÁZY (TKI) NEDOSÁHLI OPTIMÁLNÍ ODPOVĚDI PODLE KRITÉRIÍ EUROPEAN LEUKEMIA NET (ELN)

Vráblová L.<sup>1</sup>, Fürst T.<sup>2</sup>, Mayer J.<sup>3</sup>, Žáčková D.<sup>3</sup>, Stejskal L.<sup>4</sup>, Karas M.<sup>5</sup>, Bělohávková P.<sup>6</sup>, Klamová H.<sup>7</sup>, Černá O.<sup>8</sup>, Cmunt E.<sup>9</sup>, Faber E.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Hemato-onkologická klinika LF UP a FN Olomouc

<sup>2</sup>Katedra matematické analýzy a aplikací matematiky, Přírodovědecká fakulta Univerzity Palackého v Olomouci

<sup>3</sup>Interní hematologická a onkologická klinika LF MU a FN Brno

<sup>4</sup>Klinika hematologické LF OU a FN Ostrava

<sup>5</sup>Hematoonkologická klinika LF UK a FN Plzeň

<sup>6</sup>IV. Interní hematologická klinika LF UK a FN Hradec Králové

<sup>7</sup>Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

<sup>8</sup>Interní hematologická klinika 3. LF UK a FN Královské Vinohrady, Praha

<sup>9</sup>1. Interní klinika – klinika hematologie 1. LF UK a VFN v Praze

**Cíl:** Retrospektivní analýza má stratifikovat nemocné s CML z registru INFINITY s rozdílnou prognózou po nedosažení optimální odpovědi (OptR) podle ELN.

**Metody:** Pacienty jsme analyzovali podle odpovědi v 3., 6. a 12. měsíci terapie TKI (< 10 %; < 1 % a < 0,1 % BCR/ABL1 v Q-PCR, resp.) a její asociace s časem do velké molekulární odpovědi (MMR) a úmrtím na CML pomocí vizualizace a standardní statistiky. Hladina BCR/ABL1 ve 3., 6. a 12. měsíci byla stanovena exponenciální interpolací dvou časově nejbližších měření.

**Výsledky:** Bylo zařazeno 956 pacientů v chronické fázi CML léčených iniciálně imatinibem v letech 2005–2017. Srovnáním skupin: 338 s OptR ve všech termínech, 94 se selháním ve všech třech termínech a zbylých 524 pacientů, bez OptR alespoň v jednom termínu jsme potvrdili významné rozdíly v skóre podle Sokala, Hasforda i EUTOS a v proporcí úmrtí (11 %, 30 % a 25 % resp.) (všechna p < 0,0001). Pomocí vizualizačních metod jsme zkoumali vztah dosažení odpovědi v 3., 6. a 12. měsíci podle ELN s dobou do dosažení MMR. Dosažení OptR ve 12. měsíci se jeví důležitější než dosažení OptR ve 3. a 6. měsíci. U pacientů s OptR ve 3., 6. i 12. měsíci (n = 336) byl medián doby do dosažení MMR 166 dnů, zatímco u pacientů s OptR pouze ve 12. měsíci 280 a u pacientů s OptR ve 3. a 6. ale ne ve 12. měsíci 460 dnů (všechna p = 0,0001). Pacienti, kteří selhali ve 3. měsíci, ale později už nikoliv, měli významně vyšší počáteční hladinu transkriptu, což nepřímou ukazuje na význam sledování rychlosti

poklesu transkriptu. Vizualizace ukazují, že dosáhnout MMR je možné bez změny TKI přibližně do 3 let od zahájení léčby, poté je to již nepravděpodobné.

**Závěr:** Prognózu pacientů s CML nejvíc ovlivňuje dosažení MMR ve 12. měsíci. Plánujeme identifikovat faktory asociované s dlouhodobým přežitím přes časné selhání podle ELN.

Podpořeno grantem IGA\_LF\_2020\_002

## P27. INCIDENCE A VÝZNAM MUTACÍ V BCR-ABL1 KINÁZOVÉ DOMÉNĚ U PACIENTŮ S CHRONICKOU MYELOIDNÍ LEUKÉMIÍ LÉČENÝCH TYROZINKINÁZOVÝMI INHIBITORY – 20 LET ZKUŠENOSTÍ FN BRNO

Jurček T., Kubešová B., Semerád L., Čičátková P., Horňák T., Nováková Z., Minařík R., Procházková J., Mayer J., Ježišková I., Žáčková D.

Interní hematologická a onkologická klinika LF MU a FN Brno

**Cíl:** Zhodnocení incidence a významu mutací v kinázové doméně (KD) fúzního genu *BCR-ABL1* v rámci 20 let zkušeností s léčbou chronické myeloidní leukémie (CML) pomocí tyrozinkinázových inhibitorů (TKI).

Typ mutace	Nukleotidová		N
	záměna	Lokalizace	
D233G	A/G		1
M244V	A/G	p-loop	5
G250E	G/A	p-loop	5
Q252H	G/T	p-loop	1
Y253H	T/C	p-loop	5
E255K	G/A	p-loop	6
E255V	A/T	p-loop	1
E279K	G/A	aktivní místo	2
E282G	A/G	aktivní místo	1
V299L	G/T	aktivní místo	2
<b>T315I</b>	<b>C/T</b>	<b>aktivní místo</b>	<b>14</b>
F317L	C/G	aktivní místo	2
F317L	C/A	aktivní místo	1
Y326H	T/C	aktivní místo	1
M351T	T/C	SH2 kontakt	4
E355G	A/G	SH2 kontakt	1
F359C	T/G	aktivní místo	1
F359I	T/A	aktivní místo	2
F359V	T/G	aktivní místo	1
L387M	T/A	a-loop	1
H396R	A/G	a-loop	1
K419E	A/G	a-loop	1
E459K	G/A	C- terminální konec	3
F486S	T/C	C- terminální konec	1
# pacienta	2 a více mutací současně u jednoho pacienta		
1	Y253H+H396R D233G+G250E Y326H+H396R		
2	M244V+Y253H M244V+F317L		
3	G250E+T315I		
4	M244V+E255K		
5	E255K+E255V+T315I		
6	Q252H+T315I		
7	T315I+F317L T315I+F359C V299L+T315I+F317L		

**Metody:** Mutace v *BCR-ABL1* KD (kodony aminokyselin 210–500) byly detekovány pomocí metody nested RT-PCR s následným Sangerovým sekvenováním.

**Výsledky:** V období let 2002–2021 byla provedena mutační analýza celkem u 184 CML pacientů, kdy u 25,5 % pacientů (n = 47) byla detekována mutace. U těchto pacientů bylo zachyceno celkem 63 mutací v 21 různých aminokyselinových kodonech, přičemž u 7 pacientů byly detekovány dvě a více mutací současně (tabulka). V době detekce mutace bylo 64 % pacientů (n = 30) v chronické fázi, 17 % (n = 8) v akcelerované fázi a 19 % (n = 9) v blastickém zvratu. Pacienti byli t.č. léčeni: 25 imatinibem, 15 dasatinibem, 6 nilotinibem a 1 bosutinibem. V době stanovení mutace bylo 60 % pacientů v progresi onemocnění. Reakce na detekovanou mutaci ve smyslu terapeutické intervence byla následující: u 2 pacientů navýšení dávky imatinibu, u 16 změna na dasatinib, 9 na nilotinib, 3 na ponatinib, 6 allogenní transplantace, 5 nasazena hydroxyurea a u 5 jiná změna. Po změně léčby byli 4 pacienti v kompletní hematologické remisi (CHR), 2 v parciální cytogenetické remisi (CyR), 6 v kompletní CyR, 12 ve velké molekulární remisi (MMR), 7 v hluboké MR (DMR), 12 v progresi a u 4 nebyla stanovena žádná odpověď. Celkem u 9 pacientů se po změně léčby vyvinula nová mutace. Z celkem 47 pacientů s mutací dosud přežívá 36 % pacientů (n = 17). Tito pacienti jsou léčeni: 1 imatinibem, 5 dasatinibem, 3 nilotinibem, 2 bosutinibem a 6 ponatinibem, kdy 6 % (n = 1) těchto pacientů je v CHR, 23,5 % (n = 4) v MMR a 70,5 % (n = 12) v DMR.

**Závěr:** Výsledky analýz potvrzují, že v současné době dostupná škála TKI umožňuje úspěšně ovlivnit tento nejčastější mechanismus rezistence na léčbu CML.

Podpořeno MZ ČR 15-25809A.

## P28. ÚČINNOST A BEZPEČNOST REDUKOVANÝCH DÁVEK PONATINIBU U PACIENTŮ S CHRONICKOU MYELOIDNÍ LEUKÉMIÍ REZISTENTNÍCH ČI NESNÁŠEJÍCÍCH PŘEDCHOZÍ TERAPII – ZKUŠENOSTI JEDNOHO CENTRA

Kvetková A.<sup>1</sup>, Čičátková P.<sup>1</sup>, Horňák T.<sup>1</sup>, Semerád L.<sup>1</sup>, Minařík R.<sup>1</sup>, Procházková J.<sup>1</sup>, Mayer J.<sup>1,2</sup>, Žáčková D.<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup> Středoevropský technologický institut (CEITEC Masarykova univerzita), Brno

**Cíl:** Rozšířit poznatky o účinnosti, bezpečnosti a optimalizaci dávkování ponatinibu v terapii CML pacientů s intolerancí, nebo rezistencí na předchozí terapii v jakékoli fázi onemocnění. Metody: Retrospektivní hodnocení terapeutické odpovědi a nežádoucích účinků (NÚ) ponatinibu v souboru vysoce předlčených pacientů. Důraz byl kladen na incidenci cévních NÚ.

**Výsledky:** V období 01/2014–5/2021 byla na našem pracovišti zahájena terapie ponatinibem u 20 pacientů. Celkem 16 pacientů (80 %) bylo v době zahájení v chronické fázi (CP), 4 (20 %) ve fázích pokročilých. Hlavním důvodem k nasazení ponatinibu bylo selhání

předchozí terapie (13 pacientů, 65 %), z čehož byla u 4 pacientů (31 %) prokázána mutace T315I. U zbývajících 7 pacientů (35 %) byla důvodem k zahájení terapie intolerance předchozích TKI. U pacientů indikovaných k terapii ponatinibem z důvodu intolerance a dobrou léčebnou odpovědí na předchozí terapii byla léčba zahájena nižší dávkou ponatinibu 15–30 mg/den, i s ohledem na anamnézu a možná rizika cévních NÚ. Úvodní dávka 45 mg/den byla podávána jen v 5 případech (25 %), výhradně u pacientů s fulminantní progresí nemoci, nebo s *de novo* prokázanou mutací T315I. Dávka ponatinibu byla po dobu léčby dále upravována dle dosažené léčebné odpovědi a tolerance. Závažné vaskulární NÚ (periferní cévní uzávěry gr. IV) se vyskytly u 2 pacientů (10 %). Při mediánu terapie 16 měsíců je k 5/2021 na našem pracovišti ponatinibem aktivně léčených 12 pacientů, ze kterých 9 (75 %) dosáhlo léčebnou odpověď na úrovni MR 3.0 a lepší. Tři pacienti (25 %) navzdory suboptimální odpovědi (CHR, PCyR) jednoznačně z terapie ponatinibem profitují.

**Závěr:** Ponatinib je častokrát poslední terapeutickou nadějí vysoce předléčených pacientů s CML. Jeho účinnost, bezpečnost a optimální dávkování je nutno dále vyhodnocovat, čemuž obecně brání nízký počet pacientů indikovaných k této terapii. I proto jsou veškerá data z klinické praxe velmi cenná.

## P29. INDIKACE, ÚČINNOST A TOLERANCE BOSUTINIBU U NEMOCNÝCH S CHRONICKOU MYELOIDNÍ LEUKÉMIÍ – KLINICKÉ ZKUŠENOSTI Z FN BRNO

Semerád L., Čičátková P., Horňák T., Minařík R., Žáčková D.

*Interní hematologická a onkologická klinika FN Brno*

**Cíl:** Zmapovat klinické zkušenosti s indikací, tolerancí a účinností tyrozinkinázového inhibitoru (TKI) bosutinibu v léčbě Ph-pozitivní chronické myeloidní leukémie (CML).

**Metody:** Případová studie nemocných s CML, kteří byli v letech 2014–2021 léčeni ve FN Brno bosutinibem.

**Výsledky:** Ve FN Brno bylo léčeno bosutinibem celkem 13 nemocných s CML; 10 mužů a 3 ženy. Medián věku byl 64 let (25–80); medián délky podávání bosutinibu 20 měsíců (2–70). Zastoupení chronické a akcelerované fáze CML bylo 11 : 2. U 2 nemocných byl bosutinib podáván v první linii v rámci studie; ve druhé, třetí a čtvrté linii u 1, 5 a 5 nemocných po schválení na tzv. § 16. Ve vyšších liniích byl podáván u 4 pacientů pro ztrátu účinnosti a u 6 pro toxicitu předchozího TKI, u 1 pacienta pro relaps po alogenní HSCT. Zahajovací dávka v první linii byla 400 mg, ve vyšších liniích 150–500 mg denně. U 11 nemocných byla dávka bosutinibu redukována nebo dočasně přerušena; u 3 kvůli hematologické toxicitě grade  $\geq 3$ , u 4 pro pleurální výpotek grade 2, u 3 pro bolesti břicha a nevolnost grade 3 a u 1 kvůli průjmu grade 2. Elevace jaterních transamináz grade 1–2 byla pozorována u 5 nemocných; průjem grade 1–2 se objevil u 5 nemocných. Podávání bosutinibu bylo ukončeno u 6 nemocných; u 3 pro recidivující toxicitu, u 2 pro progresi onemocnění; 1 nemocný v průběhu léčby zemřel. V prvním roce léčby udrželo nebo dosáhlo

MMR, respektive DMR celkem 8 a 4 pacienti; další 2 dosáhli DMR po 1. roce léčby. K selhání efektu terapie dle definice ELN došlo u 2 pacientů.

**Závěr:** U nemocných s vysokým kardiovaskulárním rizikem, pro které není vhodné podávání nilotinibu a ponatinibu a došlo u nich k selhání/intoleranci imatinibu a dasatinibu, představuje bosutinib efektivní léčebnou možnost. Toxicita bosutinibu je poměrně častá, avšak dobře zvládnutelná úpravou dávky.

## P30. METABOLIZMUS SVALOVÝCH BUNĚK JE OVLIVNĚN SNÍŽENOU KONCENTRACÍ INTRACELULÁRNÍHO KARNITINU V DŮSLEDKU LÉČBY IMATINIBEM.

Burda P.<sup>1,2</sup>, Hlaváčková A.<sup>1</sup>, Polívková V.<sup>1</sup>, Čuřík N.<sup>1,2</sup>, Klamová H.<sup>1,3</sup>, Koblíhová J.<sup>1</sup>, Suttner J.<sup>1</sup>, Machová Poláková K.<sup>1,2</sup>

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

<sup>2</sup>Ústav patologické fyziologie, 1. LF UK, Praha

<sup>3</sup>Institut klinické a experimentální hematologie 1. LF UK a Ústavu hematologie a krevní transfúze, Praha

**Úvod:** Transmembránový transportér OCTN2 (SLC22A5) je pro karnitin výhradní cestou příjmu do intracelulárního prostoru. Již dříve jsme ukázali, že imatinib je též transportován skrze tuto molekulu a jeho příjem buňkou CML či svalové tkáni vede ke snížení intracelulárního přísunu karnitinu do buněk (Burda et al. ESH 2020). Dále víme, že ani vysoké dávky karnitinu v preinkubaci neovlivňují účinnost transportu imatinibu skrze OCTN2. Inhibice aktivity OCTN2 alkaloidem vinorelbinem zablokuje intracelulární tok karnitinu, zatímco vstup imatinibu do buněk výrazně neomezí (snížení o 13–30 %). To je v souladu se znalostí, že imatinib využívá též jiné transportéry rodiny SLC. Naše práce ukazuje, že nerovnovážná kompetice mezi imatinibem a karnitinem vede k významnému poklesu intracelulární koncentrace karnitinu, což může významně ovlivnit metabolické děje uvnitř mitochondrií a u pacientů vyústit v projevy nežádoucích účinků léčby imatinibem, jako je bolest svalů, únava a křeče (až 80 % pacientů).

**Metody:** Buněčné linie (experimenty *in vitro*): KCL-22 (CML, DSMZ ACC 519) a HTB-153 (human rhabdomyosarcoma, ATCC HS 729). Intracelulární koncentrace imatinibu, karnitinu a metabolitů: chromatografická separace (XBridge Amide column (50 × 2,1 mm, 3,5 μm; Waters, Milford (MA)), USA) a ZIC-pHILIC (50 × 2,1 mm, 5 μm; Merck, Darmstadt, Germany) tandemově s hmotnostním spektrometrem (QTRAP 4000; Sciex, USA).

**Výsledky:** Karnitin, resp. L-karnitin slouží k transportu mastných kyselin s dlouhým řetězcem skrze membránu mitochondrií, které jsou důležitým zdrojem energie především u energeticky náročných tkání, jakými jsou kosterní a srdeční svalstvo. Koncentrace metabolitů Krebsova cyklu (KC) (citrát, malát, alfa-ketoglutarát, sukcinát, fumarát, 2-hydroxyglutarát, cis-akonitát), glykolýzy (fosfoenolpyruvát, 3-fosfoglycerát, laktát) a hladiny ATP, ADP a AMP byly měřeny v buňkách HTB-153 v časech 3 h a 24 h po vystavení imatinibu *in vitro*. Bylo pozorováno snížení koncentrace malátu (KC), laktátu (glykolýza) a hladiny ATP v obou časových bodech

inkubace s imatinibem. Stejné výsledky byly pozorovány i v experimentu s linií KCL-22 (použita jako BCR-ABL1 pozitivní kultura), kde bylo navíc pozorováno snížení sukcinátu a 2-hydroxyglutarátu. Jakmile byla linie HTB-153 inkubována 24 h s imatinibem a na poslední tři hodiny byl přidán karnitin (8  $\mu$ M), nebyly pozorovány změny v hladinách metabolitů Krebsova cyklu, glykolýzy, ani tvorby ATP, ADP a AMP.

**Závěr:** Buněčné linie CML a svalové tkáně (rabdomyosarkom) mají po vystavení imatinibu sníženou intracelulární koncentraci karnitinu. Signifikantní snížení hladin ATP a řady metabolitů Krebsova cyklu a glykolýzy poukazuje na snížení produkce energie z mitochondriálních dějů po přidání imatinibu. K tomu nedochází, pokud v experimentu na poslední 3 hodiny 24hodinové inkubace s imatinibem je dodána dostatečná dávka karnitinu. Naše data plně podporují hypotézu, že snížený příjem karnitinu do svalových buněk (vlivem kompetice s imatinibem na OCTN2) snižuje produkci energeticky bohatých molekul v rámci mitochondriálního metabolismu. Pilotní výsledky klinické studie NCT03426722 (Chae H et al. 2019) navíc ukazují, jak L-karnitin dokáže efektivně potlačovat výše zmiňované vedlejší účinky léčby imatinibem u pacientů s pokročilým stádiem gastrointestinálního stromálního tumoru.

Podpořeno GACR18-18407S, MZCR00023736.

### P31. PROGNÓZA NEMOCNÝCH S CML, KTEŘÍ NA LÉČBĚ INHIBITOREM TYROSINOVÉ KINÁZY (TKI) NEDOSÁHLI OPTIMÁLNÍ ODPOVĚDI PODLE KRITÉRIÍ EUROPEAN LEUKEMIA NET (ELN)

Vráblová L.<sup>1</sup>, Fürst T.<sup>2</sup>, Mayer J.<sup>3</sup>, Žáčková D.<sup>3</sup>, Stejskal L.<sup>4</sup>, Karas M.<sup>5</sup>, Bělohávková P.<sup>6</sup>, Klamová H.<sup>7</sup>, Černá O.<sup>8</sup>, Cmunt E.<sup>9</sup>, Faber E.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Hemato-onkologická klinika LF UP a FN Olomouc

<sup>2</sup> Katedra matematické analýzy a aplikací matematiky, Přírodovědecká fakulta Univerzity Palackého v Olomouci

<sup>3</sup> Interní hematologická a onkologická klinika LF MU a FN Brno

<sup>4</sup> Klinika hematologické LF OU a FN Ostrava

<sup>5</sup> Hemato-onkologická klinika LF UK a FN Plzeň

<sup>6</sup> IV. Interní hematologická klinika LF UK a FN Hradec Králové

<sup>7</sup> Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

<sup>8</sup> Interní hematologická klinika 3. LF UK a FN Královské Vinohrady, Praha

<sup>9</sup> 1. Interní klinika – klinika hematologie 1. LF UK a VFN c Praze

**Cíl:** Retrospektivní analýza má stratifikovat nemocné s CML z registru INFINITY s rozdílnou prognózou po nedosažení optimální odpovědi (OptR) podle ELN.

**Metody:** Pacienty jsme analyzovali podle odpovědi v 3., 6. a 12. měsíci terapie TKI (< 10 %; < 1 % a < 0,1 % BCR/ABL1 v Q-PCR, resp.) a její asociace s časem do velké molekulární odpovědi (MMR) a úmrtím na CML pomocí vizualizace a standardní statistiky. Hladina BCR/ABL1 ve 3., 6. a 12. měsíci byla stanovena exponenciální interpolací dvou časově nejbližších měření.

**Výsledky:** Bylo zařazeno 956 pacientů v chronické fázi CML léčených iniciálně imatinibem v letech 2005–2017. Srovnáním skupin: 338 s OptR

ve všech termínech, 94 se selháním ve všech třech termínech a zbylých 524 pacientů, bez OptR alespoň v jednom termínu jsme potvrdili významné rozdíly v skóre podle Sokala, Hasforda i EUTOS a v proporci úmrtí (11 %, 30 % a 25 % resp.) (všechna  $p < 0,0001$ ). Pomocí vizualizačních metod jsme zkoumali vztah dosažení odpovědi v 3., 6. a 12. měsíci podle ELN s dobou do dosažení MMR. Dosažení OptR ve 12. měsíci se jeví důležitější než dosažení OptR ve 3. a 6. měsíci. U pacientů s OptR ve 3., 6. i 12. měsíci ( $n = 336$ ) byl medián doby do dosažení MMR 166 dnů, zatímco u pacientů s OptR pouze ve 12. měsíci 280 a u pacientů s OptR ve 3. a 6. ale ne v 12. měsíci 460 dnů (všechna  $p = 0,0001$ ). Pacienti, kteří selhali ve 3. měsíci, ale později už nikoliv, měli významně vyšší počáteční hladinu transkriptu, což nepřímo ukazuje na význam sledování rychlosti poklesu transkriptu. Vizualizace ukazují, že dosáhnout MMR je možné bez změny TKI přibližně do 3 let od zahájení léčby, poté je to již nepravděpodobné.

**Závěr:** Prognózu pacientů s CML nejvíce ovlivňuje dosažení MMR ve 12. měsíci. Plánujeme identifikovat faktory asociované s dlouhodobým přežitím přes časné selhání podle ELN.

Podpořeno grantem IGA\_LF\_2020\_002.

### P32. STANOVENÍ BODOVÝCH MUTACÍ BCR-ABL1 KINÁZOVÉ DOMÉNY METODOU HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE MASSARRAY.

Grohmann J., Hlawiczková N., Urbánková H., Faber E., Skoumalová I., Papajík T., Divoká M.

Hemato-onkologická klinika LF UP a FN Olomouc

**Cíl:** Cílem této práce byla analýza mutací v BCR-ABL1 kinázové doméně metodami Sangerova sekvenování a MassArray u 25 pacientů s chronickou lymfocytární leukémií (CML) s narůstající hodnotou BCR-ABL1 transkriptu, která značí snižující se odpověď na podávanou biologickou léčbu. Výsledky byly následně porovnány mezi těmito dvěma metodami.

**Metody:** Zlatým standardem se pro sekvenování BCR-ABL1 kinázové domény bylo použito Sangerovo sekvenování s účinností zachycení mutací s frekvencí nad 15–20 %. V současnosti se začínají používat nové citlivější metody dosahující citlivosti kolem 1 %, např. digital droplet PCR (ddPCR) a masivní paralelní sekvenování (NGS). K těmto moderním metodám se řadí také hmotnostní spektrometrie MassArray® (MALDI-TOF – matrix assisted laser desorption/ionization-time of flight). Metoda MassArray® (Agena BioSciences) je založena na nefluorescenční detekci PCR ampliconů podle jejich molekulové hmotnosti.

**Výsledky:** V souboru pacientů 25 pacientů byly detekovány mutace u 7 pacientů, výsledky jsem uvedené v tab. 1. Metoda MassArray dokázala spolehlivě detekovat všechny mutace zachycené Sangerovým sekvenováním. Porovnáním citlivosti obou metod jsme zjistili, že metoda MassArray je schopna detekovat mutace s minimálně 5 % frekvencí.

**Závěr:** Metoda MassArray umožňuje přesnou a rychlou analýzu bodových mutací BCR-ABL1 kinázové domény s vyšší citlivostí, než je tomu u Sangerova sekvenování. Metoda MassArray tak může



být využita jako alternativní metoda k metodám ddPCR a NGS. Nevýhodou metody je nutnost znát cílové SNP, nelze ji tedy využít na detekci neznámých/nepopsaných mutací.

Práce je podporována granty: IGA-LF-2021-001 a MZ ČR – RVO (FNOL, 00098892)

Tab. 1. Přehled detekovaných mutací v kinázové doméně genu *BCR-ABL1* Sangerovým sekvenováním a MassArray metodou

Pohlaví (věk)	Mutace v kinázové doméně genu <i>BCR-ABL1</i>	
	Sangerovo sekvenování	MassArray analýza
Muž (75)	T315I	T315I
Žena (53)	T315I, Y253H	T315I, Y253H
Žena (65)	F359V	F359V
Žena (60)	L248V	L248V
Muž (69)	Y253H, M244V	Y253H, G250E, M244V
Žena (69)	M351T, F317L	M351T, F317L
Muž (31)	T315I, E255K	T315I, E255K

### P33. INTERFERON ALFA V TERAPII PH-NEG MYELOPROLIFERACÍ, VLASTNÍ ZKUŠENOSTI

Hluší A., Palová M., Faber E., Indrák K., Navrátilová J., Papajík T.

Hemato-onkologická klinika LF UP a FN Olomouc

**Úvod:** Interferon alfa (IFN- $\alpha$ ) představuje jednu z léčebných modalit pro pacienty s Ph negativním myeloproliferativním onemocněním (Ph-MPN). Zájem o využití této terapeutické možnosti se v posledních letech zintenzivnil s vývojem nové generace pegylovaných přípravků.

**Cíl:** zhodnocení efektivity a tolerance léčby IFN- $\alpha$  v klinické praxi u pacientů s Ph-MPN léčených na našem pracovišti.

**Metody:** retrospektivní analýza souboru 33 pacientů s Ph-MPN typu PV, ET a OMF, kteří jsou/byli léčeni v období let 2003-2020. Analýza je zaměřena na léčebnou odpověď (ELN kritéria) a toleranci léčby.

**Výsledky:** Hodnoceno je 33 pacientů (18 žen a 15 mužů) léčených IFN- $\alpha$ , dg. PV – 18, ET 6, PMF 9 (pre-PMF 5), prům. věk při zahájení terapie 42,9 roku. Zastoupení driver mutací: 79 % JAK2, 15 % CALR, 6 % MPL. Ve většině případů šlo o léčbu konvenčním IFN- $\alpha$ , u 10 % pak Peg-IFN- $\alpha$ , medián doby zahájení terapie IFN- $\alpha$  od diagnózy činil 22 měsíců (1–278). Při hodnocení klinického efektu terapie byla kompletní hematologická odpověď potvrzena v 10 (30 %), parciální odpověď v 6 (18 %) případech, 1 pacient při terapii progredoval, u 46 % nemocných kritéria pro úplnou/parciální klinickou odpověď splněna nebyla. Hodnocení molekulární odpovědi bylo realizováno u 15 JAK2 poz. léčených déle než 12 měsíců, z nichž u 12 pacientů byl zaznamenán pokles alelické nálože (medián 51,6 %), jeden pacient dosáhl kompletní molekulární odpovědi. Odpověď se s délkou léčby prohlubovala. Hodnocení tolerance léčby prokázalo významný počet nežádoucích účinků, pro které byla terapie ukončena (39 %), převažoval flu-like syndrom, u 2 pacientů došlo v době léčby k TEN komplikaci, 2x byla důvodem hepatopatie, u další části léčených se vyskytly tolerovatelné NÚ.

**Závěr:** Naše zkušenosti potvrzují terapeutický potenciál IFN- $\alpha$  u pacientů s MPN, zvláště PV a ET. Významným omezením v použití je výskyt NÚ konvenčních přípravků. Nově zavedené preparáty mohou tuto limitaci překonat a umožnit širší terapeutické využití interferonu.

Práce podpořena grantem IGA-LF-2021-001.

### P34. KLINICKÝ VPLYV DÁVKOVANIA KYSELINY ACETYLOSALICYLOVEJ U PACIENTOV S MYELOPROLIFERATÍVNÝMI NEOPLÁZIAMI

Wild A.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Hematologické oddelenie, FNŠP F.D.Roosevelta, Banská Bystrica, Slovensko

<sup>2</sup>Lekárska Fakulta, Slovenská zdravotnícka univerzita, Bratislava, Slovensko

**Ciel:** Bcr/abl – negatívne myeloproliferatívne neoplázie (MPN) sú spojené s vyšším výskytom trombóz. Bolo publikované, že laboratórna odpoveď na kyselinu acetylosalicylovú (ASA) u väčšiny pacientov s MPN netrvá 24 hodín a skoro u všetkých sa koriguje dávkovaním dvakrát denne. Cieľom práce bolo porovnať výskyt trombóz, mortalitu a bezpečnosť u pacientov s primeranou a nedostatočnou odpoveďou na ASA.

**Metódy:** Odpoveď na ASA bola stanovená agregáciou po indukcii kyselinou arachidónovou, primeraná odpoveď bola definovaná maximálnou amplitúdou do 20 % pred užitím nasledujúcej dávky ASA. V prípade nedostatočnej odpovede sa upravilo dávkovanie na 2x 50–100–150 mg tak, aby k supresii došlo. Sledovali a porovnali sa výskyt trombózy, mortalita a bezpečnosť u pacientov s potrebou úpravy, bez nej a bez dostatočnej odpovede, ktorí dávkovanie nezmenili.

**Výsledky:** Odpoveď na ASA sa vyšetrila u 69 pacientov. Primeranú reaktivitu trombocytov malo 57 (83 %), skupina 1. Vysokú reaktivitu malo 12 (17 %), z nich sa odpoveď upravila (skupina 2) na 2x 50 mg u štyroch, 2x100 mg u jedného, u siedmich ostala neupravená (skupina 3). Medzi skupinami neboli rozdiely v zastúpení rizikových faktorov okrem vyššieho zastúpenia diabetes mellitus v skupine 3 oproti skupine 1 ( $p = 0,021$ ). Počas sledovania s mediánom 36,8 mesiaca sa v skupine 3 zistila vyššia mortalita ( $p = 0,009$ ), ale nie vyšší výskyt trombóz v porovnaní so skupinou 1. V skupine 2 sa nezistil odlišný výskyt trombóz a úmrtí oproti skupine 1. Nevyskytli sa proximálne gastrointestinálne krvácania, gastropatie. Nezistila sa krvácajúca epizóda na dávke ASA 2x 50 mg denne. Pozorovalo sa jedno nezávažné krvácanie závislé na dávke ASA.

**Záver:** Zastúpenie neprímerane vysokej reaktivity trombocytov na ASA bolo vo vyšetrovanom súbore pacientov s MPN nižšie ako udáva väčšina publikovaných prác. Z výsledkov práce vyplýva, že ak indikovaní pacienti dodržiavajú dávkovanie ASA dvakrát denne, zníži sa ich mortalita, čo je potrebné overiť dlhodobým sledovaním väčšieho súboru. Dávka 2x50 mg denne imponuje ako účinná a bezpečnejšia ako vyššie dávkovanie.

### P35. KLONÁLNÍ EVOLUCE V PRŮBĚHU PH NEGATIVNÍCH MYELOPROLIFERATIVNÍCH ONEMOCNĚNÍ

Ehlová K.<sup>1</sup>, Marečková A.<sup>1</sup>, Bohúnová M.<sup>1</sup>, Hynšt J.<sup>2</sup>, Ženatová M.<sup>1</sup>, Pospíšilová Š.<sup>1,2</sup>, Weinbergerová B.<sup>3</sup>, Doubek M.<sup>2,3</sup>, Kotsáková J.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Centrum molekulární biologie a genetiky, Interní hematologická a onkologická klinika LF MU a FN Brno

<sup>2</sup>Středoevropský technologický institut (CEITEC, Masarykova Univerzita), Brno

<sup>3</sup>Interní hematologická a onkologická klinika LF MU a FN Brno

**Cíl:** Podobně jako u ostatních hematologických malignit nacházíme u Ph negativních myeloproliferací (MPN) mutace v řadě genů. Mezi

nejčastěji postižené geny patří *JAK2* a *CALR*, které jsou detekovány u většiny pacientů, avšak velmi vzácně společně. U části pacientů jsou pak detekovány i mutace v dalších genech. Spektrum postižených genů je do jisté míry podobné jako u ostatních myeloproliferací, kumulace aberací souvisí s progresí onemocnění. V naší práci jsme se zaměřili na sledování klonálního vývoje onemocnění v čase u pacientů, kteří progredovali do AML.

**Metody:** U souboru pěti pacientů byla provedena opakovaná NGS analýza DNA leukocytů periferní krve. U každého pacienta jsme vyšetřili minimálně čtyři odběry s rozestupem minimálně jednoho roku. Mutace jsme vyšetřovali pomocí panelu 37 genů (Archer VariantPlex® Core Myeloid Kit, ArcherDX). Knihovny byly sekvenovány na přístroji NextSeq (Illumina).

**Výsledky:** U testovaných pacientů jsme pozorovali kumulaci mutací v průběhu onemocnění, která akcelerovala při progresi do AML. Progrese byla spojena s přítomností většího počtu mutací v dalších genech mimo *JAK2* a *CALR*. Některé aberace zůstávaly v čase neměnné (*TET2*, *SRSF2*), další se objevovaly až v progresi (*RUNX1*, *BCOR*, *TP53*), jiné průběžně narůstaly nebo klesaly (*JAK2*, *TP53*) a některé dokonce zanikaly (*TET2*).

**Závěr:** Sledování klonálního vývoje pacientů pomocí genových panelů umožňuje monitorovat aktivitu onemocnění, nicméně je zatím spojeno se značnými náklady.

Podpořeno MZ ČR – RVO (FNBr, 65269705),  
MUNI/A/1595/2020 a CEITEC2020 LQ1601.

## MYELOYDYSPLASTICKÝ SYNDROM

### P36. VÝZNAM POUŽITIA PANELOVÉHO NGS TESTOVANIA U MYELOYDYSPLASTICKÉHO SYNDRÓMU

Bohúnová M.<sup>1</sup>, Marečková A.<sup>1</sup>, Bryjová L.<sup>1</sup>, Hynšt J.<sup>2</sup>, Ženatová M.<sup>1</sup>, Pospíšilová Š.<sup>1,2</sup>, Doubek M.<sup>2,3</sup>, Červinek L.<sup>3</sup>, Jarošová M.<sup>1,2</sup>, Kotašková J.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Centrum molekulární biologie a genetiky, Interní hematologická a onkologická klinika LF MU a FN Brno

<sup>2</sup>Středoevropský technologický institut (CEITEC), MU, Brno

<sup>3</sup>Interní hematologická a onkologická klinika LF MU a FN Brno

U myelodysplastického syndrómu (MDS) je základním nástrojem pro detekci klonality vyšetření karyotypu. U 40–50 % pacientů je stanovený normální karyotyp, je proto vhodné využít další metodu kanályze klonální populace, například cílené NGS vyšetření. Podľa medzinárodných doporučení sa v špecifických prípadoch vyšetrujú mutácie génov *TP53* a *SF3B1*. S prognózou ochorenia však súvisí prítomnosť mutácií v ďalších génoch, mutácie sú prítomné > 80 % pacientov s MDS. Spektrum relevantných génov je čiastočne podobné mutačnému profilu iných myeloproliferácií, možno preto využiť optimalizovaný panel génov a overiť tak prítomnosť klonálnej populácie pri negatívnom výsledku klasickej cytogenetiky.

Analýzovaným materiálom bola DNA izolovaná z leukocytov kostnej drene pacientov s MDS. Mutácie boli vyšetřované pomocou NGS panelu cieliaceho na 37 génov spojených s myeloproliferáciami (Archer VariantPlex® Core Myeloid Kit, ArcherDX). Knižnice boli sekvenované na přístroji NextSeq (Illumina).

NGS panelom bolo vyšetřených 120 vzorkov, u 8 % z nich sme našli mutáciu v žiadnom z testovaných génov. V ostatných vzorkoch s prítomnými mutáciami boli tieto pozorované v 32 z 37 vyšetřovaných génov, rozsah používaného panelu sa teda javí ako dostačujúci. Najčastejšie boli mutácie génov *TET2* (42 %), *ASXL1* (36 %), *RUNX1* (36 %) a *SRSF2* (28 %). U väčšiny pacientov (87,5 %) sa vyskytli 2 a viac mutácií súčasne. Cytogenetické vyšetřenie bolo prevedené u všetkých

120 vzorkov; normálny karyotyp bol určený u 38 % (45/120), panelové vyšetřenie odhalilo mutácie u 80 % z nich (36/45).

Testovanie pomocou NGS panelu u MDS môže slúžiť ako doplnkové vyšetřenie pri stanovení klonality, v našom súbore boli vo väčšine odberov s normálnym karyotypom nájdené mutácie identifikujúce patologický klon. U 8 % vzorkov nebola nájdená žiadna mutácia ani cytogenetická aberácia; to môže byť dané nízkym stupňom rizika u týchto pacientov alebo prítomnosťou aberácií v génoch, ktoré nie sú zahrnuté v paneli.

Podporené MZ ČR – RVO (FNBr, 65269705),  
MUNI/A/1595/2020 a CEITEC2020 LQ1601.

### P37. FREKVENCE A KLINICKÝ VÝZNAM CHROMOTHRIPSIS U VYSOCE RIZIKOVÝCH MDS A JEJÍ VLIV NA PŘEŽITÍ PACIENTŮ LÉČENÝCH AZACYTIDINEM

Zemanová Z.<sup>1</sup>, Svobodová K.<sup>1</sup>, Lhotská H.<sup>1</sup>, Lizcová L.<sup>1</sup>, Mendlíková I.<sup>2</sup>, Izáková S.<sup>1</sup>, Hodaňová L.<sup>1</sup>, Vidláková D.<sup>1</sup>, Pavlišťová L.<sup>1</sup>, Aghová T.<sup>1</sup>, Ransdorfová Š.<sup>2</sup>, Beličková M.<sup>2</sup>, Veselá J.<sup>2</sup>, Paláčková H.<sup>3</sup>, Minařík L.<sup>3</sup>, Šišková M.<sup>3</sup>, Michalová K.<sup>1</sup>, Neuwirtová R.<sup>3</sup>, Čermák J.<sup>2</sup>, Stopka T.<sup>3</sup>, Jonášová A.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Centrum nádorové cytogenetiky, Ústav lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky, 1. LF UK a VFN v Praze

<sup>2</sup>Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

<sup>3</sup>1. Interní klinika 1. LF UK a VFN v Praze

Chromothripsis (CHT) je relativně nedávno popsáný fenomén, který se podílí na patogenezi maligních onemocnění. Jedná se o jednostupňovou katastrofickou událost, která vede k mnohočetným chromosomovým zlomům a následným chaotickým opravám poškozené DNA. U nemocných s MDS je CHT spojena s komplexními karyotypy a velmi špatnou prognózou. Cílem studie

bylo stanovit frekvenci a klinický význam CHT v homogenní skupině pacientů s nově diagnostikovaným vysoce rizikovým MDS (HR-MDS) a posoudit vliv CHT na přežití pacientů léčených azacytidinem (AZA). Provedli jsme detailní celogenomovou analýzu buněk kostní dřeně pacientů s HR-MDS a komplexním karyotypem ( $\geq 3$  aberace) za použití kombinace cytogenomických metod: FISH (Abbott, MetaSystems), mFISH/mBAND (MetaSystems) a array CGH (Illumina, Agilent). U vybraných nemocných jsme rovněž provedli mutační analýzu genu *TP53* metodou NGS (Roche, Illumina).

Vyšetřili jsme celkem 265 pacientů (131 žen, 134 mužů; medián věku 70 let). Znaky CHT jsme pozorovali u 67,7 % nemocných. Pacienti s prokázanou CHT měli vyšší frekvenci aberací 17p (LOH, cnLOH, mutace *TP53*) ( $p = 0,05$ ) a významně horší OS (medián 3 měsíce). Posuzovali jsme také vliv CHT na přežití 183 pacientů léčených AZA. Pacienti s CHT měli medián OS 10,1 měsíce a pozorovali jsme tendenci k nižšímu OS u pacientů s mutací *TP53*. Medián OS pacientů bez CHT byl 17,3 měsíce.

Naše výsledky ukazují, že CHT je u pacientů s HR-MDS častou genomovou aberací, která ovlivňuje biologii onemocnění a prognózu pacientů. V této studii byla CHT spojena s vyšší frekvencí LOH/cnLOH 17p, rychlou progresí onemocnění a krátkým přežitím. Nepříznivou prognózu lze přičíst vlivu CHT na funkci mnoha důležitých genů. Přestože léčba AZA prodlužuje OS pacientů s CHT, jejich prognóza stále zůstává velmi špatná. Lepší pochopení jevů spojených s CHT by mohlo vést k vývoji nových léčebných strategií založených na léčích přímo cílících na geny lokalizované v amplifikovaných nebo deletovaných genomových oblastech a/nebo na dráhy reparace poškozené DNA.

Podpořeno RVO-VFN64165, RVO-ÚHK00023736.

### P38. ALELICKÁ KOMPOZÍCIA GÉNU *BCOR* U PACIENTOV S MYELODYSPLASTICKÝM SYNDRÓMOM

Bohúnová M.<sup>1</sup>, Marečková A.<sup>1</sup>, Bryjová L.<sup>1</sup>, Hynšt J.<sup>2</sup>, Ženatová M.<sup>1</sup>, Pospíšilová Š.<sup>1,2</sup>, Doubek M.<sup>2,3</sup>, Červinek L.<sup>3</sup>, Jarošová M.<sup>1,2</sup>, Kotašková J.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Centrum molekulární biologie a genetiky, Interní hematologická a onkologická klinika LF MU a FN Brno

<sup>2</sup>Středoevropský technologický institut (CEITEC), MU, Brno

<sup>3</sup>Interní hematologická a onkologická klinika LF MU a FN Brno

Gén *BCOR* kóduje korepresor proteínu BCL6 a funguje tiež ako korepresor transkripcie. Vzhľadom k polohe na chromozóme X vedú aberácie génu u mužov k čiastočnej či úplnej inaktivácii jeho funkcie. U žien sú k vyradeniu funkcie génu potrebné dva zásahy; mutácia jednej alely a delécia druhej alely. Aberácie v géne *BCOR* sa vyskytujú u rôznych hematologických malignít, vrátane AML, CMML či T-lymfómom. U myelodysplastického syndrómu (MDS) sa vyskytujú s frekvenciou < 5 % s preukázaným negatívnym vplyvom na celkové prežitie pacientov.

Mutácie v géne *BCOR* boli vyšetřované z DNA leukocytov kostnej drene pacientov s MDS pomocou NGS (panel 37 génov, Archer

VariantPlex® Core Myeloid Kit, ArcherDX). Knižnice boli sekvenované na prístroji NextSeq (Illumina). Časť pacientov bola paralelne vyšetřovaná metódou aCGH (SurePrint G3 Cancer CGH + SNP Microarray Kit 4x180K, Agilent).

U 10 zo 94 vyšetřovaných sme identifikovali 11 mutácií génu *BCOR* (11 %). U všetkých 10 pacientov boli prítomné mutácie v ďalších testovaných génoch, najčastejšie sa jednalo o mutáciu génu *RUNX1* (7/10). U 33/94 pacientov bolo prevedené vyšetřenie metódou aCGH vrátane pacientov s mutáciou. U dvoch pacientiek s mutáciou v *BCOR* bola zistená strata heterozygotnosti (cnLOH) v oblasti daného génu pravdepodobne vedúca k inaktivácii funkcie oboch alel. U jedného mužského pacienta bez mutácie bola zistená submikroskopická delécia pokrývajúca *BCOR*.

Výsledky našej práce sú prvými v rámci komplexnej genetickej analýzy génu *BCOR* u MDS. U pacientov s MDS sme v géne *BCOR* pozorovali viacero typov aberácií. U mužov boli detekované mutácie s pravdepodobným dopadom na jeho funkciu i delécia celého génu. U žien sme popri mutáciách nezaznamenali delécii druhej alely iba cnLOH. Aberácie génu *BCOR* boli vo väčšine prípadov (8/11) spojené s vyšším percentom blastov až rýchlou progresiou do AML. Napriek tomu bol u väčšiny pacientov stanovený normálny karyotyp.

Podporené MZ ČR – RVO (FNBr, 65269705),

MUNI/A/1595/2020 a CEITEC2020 LQ1601.

### P39. MONITORING OF MYELODYSPLASTIC SYNDROME PROGRESSION BASED ON LECTIN ARRAY AND SURFACE PLASMON RESONANCE SENSOR

Chrastinová L.<sup>1</sup>, Pastva O.<sup>1</sup>, Bocková M.<sup>2</sup>, Homola J.<sup>2</sup>, Čermák J.<sup>3</sup>, Suttner J.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Biochemie, ÚHKT, Praha

<sup>2</sup>Optické biosenzory, ÚFE, Praha

<sup>3</sup>ÚHKT, Praha

**Background:** Myelodysplastic syndromes (MDS) are a heterogeneous group of hematological malignancies with high risk of progression into acute myeloid leukemia. In a majority of cancers, the fucosylation and sialylation expression are found to be significantly modified. Therefore, using selected lectins these aberrations in glycan structures can be utilized as targets to improve existing cancer biomarkers. Surface plasmon resonance (SPR) method is an optical label-free technique that allows observing and quantifying the target biomolecules in real time.

**Objective:** The aim of this study was to develop lectin chip for discrimination among different MDS patient subgroups and healthy controls using SPR biosensor.

**Methods:** The protein interactions were studied using protein chips comprising selected lectins and an SPR biosensor. Ten lectins with specific binding affinities for different sugars were used. The blood plasma of healthy controls and MDS patients was analyzed. Patients were divided into four subgroups: refractory anemia with ringed

sideroblasts (RARS), refractory cytopenia with multilineage dysplasia (RCMD), refractory anemia with excess blasts (RAEB), and patients who progressed to acute myeloid leukemia (AML). The interacting plasma proteins were eluted from chip and identified by mass spectrometry.

**Results:** The differences of SPR responses were statistically significant for one third of tested lectins. Using these lectins, the RARS and RCMD subgroups were distinguished from healthy controls. The dependences among responses to lectins in individual groups vary and correlate with disease progression. Responses to six lectins belong to one component of factor analysis for RAEB and AML patient groups; in the other groups these dependencies were not observed.

**Conclusion:** This study demonstrates that even a small lectin array allows the SPR method to discriminate among different MDS subgroups.

*This work was supported by the Ministry of Health, Czech Republic (00023736), the Czech Science Foundation (P205/12/G118 and 19-02739S), and by OP RDE (CZ.02.1.01/0.0/0.0/16\_025/0007428).*

#### P40. NEKÓDUJÍCÍ RNA V PATOGENEZI MYELOYDYSPLASTICKÉHO SYNDROMU A JEJICH POTENCIÁL PRO PREDIKCI ODPOVĚDI NA AZACITIDIN

Dostálová Merkerová M.<sup>1</sup>, Kléma J.<sup>2</sup>, Kundrát D.<sup>1</sup>, Krejčík Z.<sup>1</sup>, Hruštincová A.<sup>1</sup>, Trsová I.<sup>1</sup>, Čermák J.<sup>1</sup>, Jonášová A.<sup>3</sup>, Beličková M.<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup> České vysoké učení technické, Praha

<sup>3</sup> Všeobecná fakultní nemocnice, Praha

**Úvod:** Predikce odpovědi na azacitidin je důležitou výzvou aplikovaného výzkumu myelodysplastického syndromu (MDS). Účinnost azacitidinu je ovlivněna alteracemi v mnoha protein-kódujících genech (PCG). Nicméně, svou roli ve schopnosti odpovědět na léčbu mohou hrát také různé druhy nekódujících RNA (ncRNA). Cílem této studie bylo získat nové poznatky o významu ncRNA v procesu léčby azacitidinem a navrhnout takové ncRNA, jejichž změněná míra transkripce by mohla sloužit jako nový prediktivní marker odpovědi léčbu.

**Metody:** Sekvenováním nové generace (RNA-seq) jsme analyzovali transkriptom CD34+ buněk kostní dřeně 10 zdravých dárců a 26 pacientů s MDS vyššího rizika případně s akutní myeloidní leukémií s myelodysplastickými změnami (AML-MRC) před léčbou azacitidinem. Spolu s PCG jsme bioinformaticky analyzovali transkripci dlouhých ncRNA (lncRNA), cirkulárních RNA (circRNA) a transpozibilních elementů (TE).

**Výsledky:** Komparativní analýzou transkripce čtyř kategorií transkriptů (PCG, lncRNA, circRNA a TE) jsme zjistili, že nejsilnější prediktivní potenciál mají překvapivě lncRNA, které dokonce překonávají predikční sílu PCG. Na druhou stranu, circRNA a TE neposkytují významný potenciál pro předpověď odpovědi na azacitidin. Pomocí tzv. machine learning metod jsme sestavili kombinovaný set nejlepších prediktorů odpovědi, který zahrnoval

19 transkriptů (14 lncRNA, 4 PCG, 1 circRNA a žádný TE). Analýzou buněčných procesů (tzv. gene set enrichment analysis) jsme definovali epigenetickou regulaci genové exprese a rekombinační opravu DNA jako dva mechanismy klíčové pro příznivou odpověď MDS/AML-MRC pacientů na azacitidin. Výpočetní modelování koexpresních sítí mezi PCG a ncRNA nakonec definovalo tři deregulované lncRNA (CTC-482H14.5, RP11-419K12.2 a RP11-736I24.4) jako asociované s těmito dvěma procesy, a tudíž také s odpovědí na azacitidin.

**Závěr:** Ukázali jsme, že léčba azacitidinem ovlivňuje transkripci ncRNA, což podstatně přispívá ke klinickým účinkům tohoto léčiva, a navrhli jsme nové potenciální biomarkery schopné předpovědět odpověď na azacitidin.

*Podpořeno AZV ČR (17-31398A a NU20-03-00412), GA ČR (N20-19162S) a MZ ČR - RVO (UHKT, 00023736).*

#### P41. CIRKULÁRNÍ RNA U MYELOYDYSPLASTICKÉHO SYNDROMU A VLIV MUTACE SF3B1 NA JEJICH PRODUKCI

Trsová I.<sup>1</sup>, Hruštincová A.<sup>1</sup>, Krejčík Z.<sup>1</sup>, Kundrát D.<sup>1</sup>, Kléma J.<sup>2</sup>, Kaisrlíková M.<sup>1</sup>, Veselá J.<sup>1</sup>, Beličková M.<sup>1</sup>, Čermák J.<sup>1</sup>, Dostálová Merkerová M.<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup> České vysoké učení technické, Praha

**Úvod:** Myelodysplastický syndrom (MDS) je heterogenní onemocnění s rizikem transformace do akutní myeloidní leukémie (AML). Jedním z doprovodných procesů vzniku MDS je porucha sestřihu RNA způsobená mutacemi v genech sestřihových faktorů. Mutace v sestřihovém genu *SF3B1* je dokonce nejčastější mutací u MDS vůbec. Cirkulární RNA (circRNA) jsou kovalentně uzavřené RNA, které jsou produkovány tzv. „backsplicingem“ a vykazují různé regulační funkce. Tato studie vychází z hypotézy, že poruchy sestřihu RNA ovlivňují mimo jiné i produkci circRNA. Přestože deregulace circRNA může přispívat k rozvoji MDS, o jejich funkci v patogenezi tohoto onemocnění není dosud nic známo. Naším cílem bylo porovnat hladiny circRNA u zdravých dárců, MDS pacientů s různou prognózou a pacientů s mutací v genu *SF3B1*.

**Metody:** Sekvenováním nové generace (RNA-seq) jsme stanovili transkriptom v CD34+ buňkách kostní dřeně získaných od 78 pacientů s MDS, 7 pacientů s AML a 13 zdravých dárců. Sekvenační data byla dále bioinformaticky zpracována.

**Výsledky:** Expresní analýza identifikovala 204 circRNA deregulovaných mezi MDS pacienty a zdravými dárci a 246 circRNA deregulovaných mezi pacienty s různou prognózou. Většina circRNA (n = 234) měla zvýšenou hladinu u pacientů s vyšším rizikem progresu. Další 40 circRNA bylo deregulováno u MDS pacientů s mutací *SF3B1*. Jako potenciálně významné ve vztahu k patogenezi MDS předpokládáme např. circRNA odvozené od genů *ZEB1* (hsa\_circ\_0000228 a hsa\_circ\_0003793) a *ATM* (hsa\_circ\_0007694). Tyto circRNA jsme vybrali pro navazující funkční analýzy.

**Závěr:** Výsledky ukazují, že hladiny circRNA jsou zvýšené u MDS pacientů s vyšším rizikem progresu onemocnění. Dále jsme

identifikovali deregulované circRNA mezi pacienty s mutací a bez mutace v genu SF3B1, což naznačuje že tato mutace má vliv na produkci circRNA. Na základě našich dat lze předpokládat, že circRNA mají potenciál coby molekulární markery přispívající k určení prognózy pacientů a individualizaci jejich léčby.

Podpořeno GA ČR (N20-19162S) a MZ ČR - RVO (UHKT, 00023736).

## P42. PROTEOSTASIS MAPPING IN MYELODYSPLASTIC SYNDROMES BY ANALYSIS OF ABERRANT SUBPROTEOME OF BLOOD PLASMA

Pastva O.<sup>1</sup>, Chrastinová L.<sup>1</sup>, Beličková M.<sup>2</sup>, Suttar J.<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup>Genomiky, Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

**Background:** Combinations of genetic mutations, oxidative stress, and inflammation form the basis of pathogenesis in myelodysplastic syndromes (MDS). Such inhospitable conditions have an immense impact on the cellular proteome. Although traces of MDS pathogenesis in the form of modified proteins and protein aggregates are observed inside and outside the cells, the aberrant subproteome in the blood plasma of MDS has not been studied yet.

**Objective:** The aim is the detection of aberrant subproteome leaked into the MDS blood plasma and investigation of his informative potential.

**Methods:** Surface plasmon resonance (SPR) biosensor employing 5 subcellular chaperones (that bind only misfolded, near-native, and aggregated proteins) was performed on the depleted plasma of MDS patients (N = 16) divided into three risk subgroups. Obtained data on this heterogeneous cohort have been compared with each other and with the group of age-matched controls (N = 5). A teaser of mass spectrometry identification of proteins detected by chaperone from endoplasmic reticulum (ER) in one low-risk patient was performed.

**Results:** The levels of aberrant proteins were significantly different between low-risk and high-risk groups in 4 from 5 used chaperones. Among identified proteins there were found 8 chaperones and 34 ubiquitin proteins participating in ER function, 3 mRNA splicing factors and 9 S100A alarmins that promote inflammation environment in MDS. Interestingly, ASC protein whose aggregated form was previously demonstrated as a marker of medullary pyroptotic cell death in low-risk MDS patients were found (Basiorka et al. Lancet Haematol., 2018).

**Conclusion:** Our data indicate the potential of aberrant subproteome to reflect affected proteostasis in MDS; its revelation could help bridge the gap between known genetic abnormalities and MDS phenotypes and highlight particular molecular processes. In addition, a recurrent group of proteins detected in the plasma of MDS patients could create a specific „signature“ that correlate with a particular diagnosis of MDS.

## LYMFOMY

### P43. PARALELY A ROZDÍLY V LÉČBĚ NEMOCNÝCH S HIGH-GRADE B-LYMFOMEM NOS A DIFUZNÍM VELKOBUNĚČNÝM B-LYMFOMEM NOS

Michalka J.<sup>1</sup>, Janíková A.<sup>1</sup>, Chloupková R.<sup>2</sup>, Křen L.<sup>3</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 patologické anatomie, LF MU a FN Brno

**Úvod:** High-grade B-lymfom, blíže nespecifikovaný (HGBCL NOS) představuje heterogenní skupinu agresivních B-lymfomů bez prokázané translokace MYC a BCL2 a/nebo BCL6, a taky bez jasně doporučených léčebných postupů. Jeho klinické charakteristiky jsou velmi podobné Difuznímu velkobuněčnému B-lymfomu NOS (DLBCL NOS), ale léčebné postupy, výsledky a prognóza se mohou lišit.

**Metody:** retrospektivní analýza základních klinicko-laboratorních parametrů 58 pacientů s nově dg. HGBCL NOS a 505 pacientů s DLBCL NOS diagnostikovaných mezi lety 2010 a 2016 na našem pracovišti. U HGBCL NOS zhodnocení léčebných výsledků podskupiny 16 pacientů léčených intenzivnějšími chemoterapeutickými protokoly, obsahujícími 2–4 cykly R-CODOX-M a/nebo R-IVAC

a podskupiny 40 pacientů léčené standardním režimem R-CHOP. Srovnání léčebných odpovědí a základních ukazatelů přežití (PFS, OS)

**Tabulka. Základní klinicko-laboratorní charakteristiky 48 pacientů s HGBCL NOS a 505 pacientů s DLBCL NOS diagnostikovaných mezi lety 2010 a 2016.**

		% HGBCL NOS (n)	% DLBCL NOS (n)
pohlaví	muži	45 (26)	48 (242)
	ženy	55 (32)	52 (263)
věk	< 60 let	29 (17)	28 (141)
	≥ 60 let	71 (41)	72 (364)
klinické stadium	I/II	45 (26)	49 (248)
	III/IV	55 (32)	51 (257)
ECOG	< 2	74 (43)	70 (352)
	≥ 2	26 (15)	30 (153)
serová LDH	zvýšená	76 (44)	72 (366)
	nezvýšená	24 (14)	28 (129)
extranodální postižení	0–1	64 (37)	67 (340)
	≥ 2	36 (21)	33 (165)

u 40 pacientů s HGBCL NOS léčených R-CHOP s analogickou skupinou 1 063 pacientů s DLBCL podle dat z databáze NiHiL.

**Výsledky:** nebyly zjištěny signifikantní rozdíly v základních klinicko-laboratorních parametrech mezi pacienty s HGBCL NOS a DLBCL NOS (tabulka). U 16 pacientů (28,6 %) s HGBCL NOS byly součástí první linie 2-4 cykly intenzivnější chemoterapie R-CODOX-M a/nebo R-IVAC a celková léčebná odpověď (ORR) byla 88 % (13× CR, 1× PR), všichni tito pacienti přežili více než 5 let od diagnózy. Čtyřicet pacientů (71,4 %) bylo léčených R-CHOP chemoterapií, ORR byla 80 % (26× CR, 2× PR), 5leté celkové přežití bylo 42,5 %, medián PFS 3,2 roku a medián OS 3,9 let. Srovnání těchto 40 pacientů s analogickou skupinou DLBCL NOS léčených R-CHOP ukázalo signifikantně lepší medián PFS 6,9 roku i medián OS 9,1 let ve prospěch DLBCL NOS ( $p = 0,005$ ).

**Závěr:** analyzovaná data ukazují signifikantní horší výsledky PFS a OS při použití chemoterapie R-CHOP v primoléčbě pacientů s HGBCL NOS oproti pacientům s DLBCL NOS. U mladších pacientů s HGBCL NOS doporučujeme zakomponovat 2–4 intenzivnější chemoterapeutické režimy R-CODOX-M a/nebo R-IVAC.

#### P44. EXTERNÍ VALIDACE MEZINÁRODNÍHO PROGNOSTICKÉHO INDEXU PRO BURKITTŮV LYMFOM (BL-IPI) NA SOUBORU NEMOCNÝCH Z REGISTRU NIHIL KOOPERATIVNÍ LYMFOMOVÉ SKUPINY KLS

Sýkorová A.<sup>1</sup>, Procházková V.<sup>2</sup>, Mócíková H.<sup>3</sup>, Janíková A.<sup>4</sup>, Pytlík R.<sup>5,6</sup>, Smolej L.<sup>1</sup>, Belada D.<sup>1</sup>, Benešová K.<sup>6</sup>, Klener Jr. P.<sup>6</sup>, Ďuraš J.<sup>7</sup>, Campř V.<sup>8</sup>, Blahovcová P.<sup>9</sup>, Trněný M.<sup>6</sup>

<sup>1</sup>IV. interní hematologická klinika LF UK a FN Hradec Králové

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

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

<sup>4</sup>Interní hematologická a onkologická klinika LF MU a FN Brno

<sup>5</sup>Ústav hematologie a krevní transfuze (ÚHK, ÚHK), Praha

<sup>6</sup>I. interní klinika – klinika hematologie, 1. LF UK a VFN v Praze

<sup>7</sup>Klinika hematoonkologie FN Ostrava

<sup>8</sup>Ústav patologie a molekulární medicíny, 2. LF UK a FN Motol, Praha

<sup>9</sup>Datacentrum Kooperativní lymfomové skupiny, I. interní klinika – klinika hematologie 1. LF UK a VFN v Praze

**Úvod:** Burkittův lymfom (BL) je vzácná B-lymfoproliferace s agresivním průběhem. Pacienti jsou rozděleni do skupin s nízkým/vysokým rizikem dle hodnot laktátdehydrogenázy (LDH) a rozsahu onemocnění, přičemž tato historická definice se mezi studii liší a > 80–90 % pacientů zůstává v kategorii s vysokým rizikem. Pro upřesnění prognózy BL byl vytvořen mezinárodní prognostický index BL-IPI, kdy multivariátní analýzou byly vyhodnoceny 4 rizikové faktory (RF): věk  $\geq 40$  let, LDH  $> 3 \times$  horní mez, PS ECOG  $\geq 2$  a CNS postižení. Dle modelu jsou rozlišovány 3 skupiny: nízké (bez RF; 18 % pacientů), střední (1 RF; 36 % pacientů) a vysoké riziko (2–4 RF; 46 % pacientů) s 3letým PFS 92 %/72 %/53 % ( $p < 0,001$ ) a se signifikantním rozdílem OS mezi skupinami v experimentálním datasetu.

**Cíl:** Ověřit prognostický význam indexu BL-IPI na externím retrospektivním souboru nemocných s BL.

**Metody:** Analyzovali jsme 101 pacientů s BL diagnostikované 1999–2016 z registru KLS, s mediánem věku 45 let, s převahou mladších nemocných (78%  $\leq 60$  let).

**Výsledky:** 82 % pacientů bylo léčeno chemoterapií s rituximabem, intenzivní chemoterapii dostávalo 84 % pacientů. Medián sledování byl 4,2 roky. Kritéria nízkého/středního/vysokého rizika dle BL-IPI splňovalo v našem souboru 21 %;35 %;45 % pacientů, rozdělení dle RF bylo shodné s experimentálním datasetem. OS a PFS u nemocných s nízkým vs. středním rizikem nebylo významně odlišné; ostatní data prokázala statistickou signifikanci (nízké vs. vysoké riziko; střední vs. vysoké riziko). Pravděpodobnost 3letého OS byla dle nízkého/středního/vysokého rizika dle BL-IPI v experimentálním datasetu vs. v našem validačním datasetu 96 %/76 %/59 % vs. 95 %/85 %/45 %.

**Závěr:** V analýze se pomocí BL-IPI indexu dobře oddělili nemocní s vysokým rizikem, kteří mají špatnou prognózu a je pro ně nutné hledat nové léčebné přístupy. U skupiny pacientů nízkého rizika je možné zacílit na budoucí strategie s deeskalací léčby.

Podpořeno PROGRES Q40/08, grant MZČR-RVO (FNHK, 00179906), grant AZV 2021-2024 NU21-03-00411.

#### P45. PREDIKTIVNÍ VÝZNAM ČASNÉHO INTERIM FDG-PET/CT U PRIMÁRNÍHO MEDIASTINÁLNÍHO VELKOBUNĚČNÉHO LYMFOMU

Hanáčková V.<sup>1</sup>, Procházková V.<sup>1</sup>, Henzlová L.<sup>2</sup>, Buriánková E.<sup>2</sup>, Ptáček J.<sup>2</sup>, Papajik T.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Hematoonkologická klinika FN Olomouc

<sup>2</sup>Klinika nukleární medicíny FN Olomouc

**Úvod:** Primární mediastinální velkobuněčný B-lymfom je charakteristický rychlým nárůstem nádorové masy v předním mediastinu. Standardní terapií je na antracyclinech založená imunochemoterapie. Přes vysoké celkové přežití, jsou nemocní, kteří neodpovídají na terapii a jejich osud je velmi nepříznivý. Význam časného FDG-PET/CT po 2 cyklech terapie (iPET-2) pro detekci časně relabujících/progredujících pacientů je nejasný.

**Cíl:** Posouzení prediktivní hodnoty iPET-2 jako nástroje pro časně rozpoznání chemorefrakterních PMBCL.

**Metody:** Do analýzy bylo zařazeno 53 pacientů s diagnostikovaným PMBCL v letech 2005–2019. U 45 pacientů bylo provedeno PET/CT vyšetření při diagnóze, pod 2 cykly terapie a po léčbě nebo při progresi, a to s použitím akreditovaných přístrojů Siemens Biograph 16 HI-REZ (2008–2015) a Siemens mCT 40 (2015–2017) ve stejném centru, snímky popisovali dva nezávislí odborníci.

**Výsledky:** V kohortě bylo 18 mužů a 27 žen s mediánem věku 33 let. Všichni pacienti byli léčeni imunochemoterapií, 30 z nich podstoupilo autologní TKB a 4 radioterapii. Finální PET bylo u všech kromě dvou pacientů: 33 pacientů (73,3 %) dosáhlo CR, 6 (13,3 %) PR a u 4 (8,8 %)

došlo k progresi choroby. Interim PET-2 s použitím Deauvillské škály bylo negativní (D1-3) u 17 pacientů (37,8 %) a pozitivní (D4-5) u 28 pacientů (62,2 %). U pacientů s negativním iPET-2 nedošlo k žádnému relapsu, mezi pacienty s pozitivním iPET-2 zrelabovalo 8 pacientů s mediánem doby do progresu 9 měsíců. Dle analýzy bylo 5leté PFS 75 % a 100 % pro D4-5 a D1-3, 5leté OS pak 78,2 % a 100 %. Pozitivní a negativní prediktivní hodnota pro PFS-event byla 28,6 % a 100 %.

**Závěr:** Negativní interim PET-2 je suverénní pro identifikaci chemosenzitivních pacientů, ale vzhledem k nízké pozitivní prediktivní hodnotě jsou k rozpoznání chemorefrakterních jedinců potřebné další nástroje, jako například stanovení metabolické heterogenity tumoru či hladiny volné nádorové DNA.

Podpořeno granty IGA-LF-2021-001 a MZ ČR – RVO (FNOL, 00098892).

## P46. ČASNÉ SELHÁNÍ 1. LINIE LÉČBY JE VÝZNAMNÝ PREDIKTOR DÉLKY PŘEŽITÍ NEMOCNÝCH S LYMFOMEM Z BUNĚK PLÁŠŤOVÉ ZÓNY

Jirkuvová A., Obr A., Urbánková H., Vatalíková M., Papajík T.

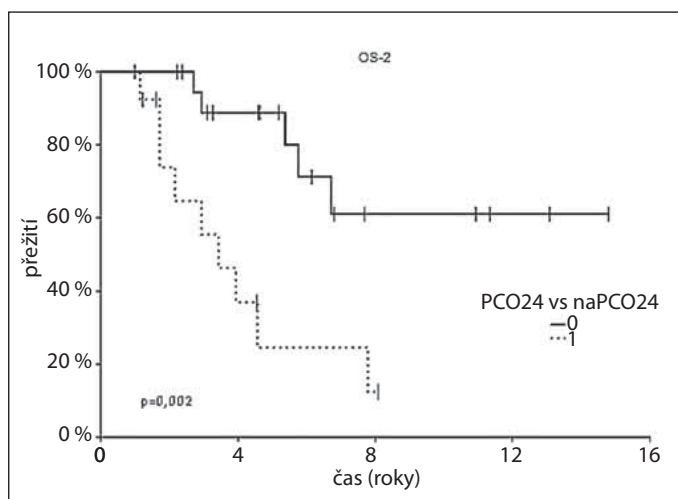
Hemato-onkologická klinika LF UP a FN Olomouc

**Cíl:** Určení vlivu trvání odpovědi po 1. linii léčby (DoR) na přežití pacientů s MCL.

**Metody:** Analyzovali jsme data 34 pacientů s diagnostikovaným lymfomem z buněk pláštěvé zóny (MCL) v období 4/2005–4/2019 na Hemato-onkologické klinice FN Olomouc léčených v 1. linii R-CHT s udržovací terapií rituximabem.

DoR bylo definováno jako čas od ukončení léčby 1. linie do relapsu / progresu / data posledního sledování. Dle mediánu DoR celého souboru (2,6 roku) byli pacienti rozděleni do dvou skupin: s časným selháním léčby do 2 let (POD-24) a bez časného selhání (noPOD-24). OS-2 bylo počítáno od data ukončení léčby.

**Výsledky:** Medián věku v době dg. byl 66,1 roku. Medián doby sledování celého souboru byl 4,8 roku. Kohorta POD-24 čítala – 14 (41 %), kohorta noPOD-24 – 20 (59 %) pacientů. Ve skupině POD-24



byli 3 (21 %) pacienti léčení intenzivně, 9 (64 %) pacientů léčených R-CHOP/R-CHOP-like ICHT a 2 (15 %) léčení jinou ICHT. Ve skupině noPOD-24 bylo 9 (45 %) pacientů léčených primárně intenzivně, 10 (50 %) pacientů léčeno CHOP/CHOP-like protokolem a 1 pacient léčen jinou ICHT. Pětileté OS-2 bylo v POD-24 skupině 24,6 % (95% CI 0–0,52), u noPOD-24 bylo 80,0 % (95% CI 0,59–1,00). POD-24 souviselo s 4,7× vyšším rizikem časně smrti u analyzovaných nemocných ( $p = 0,002$ ).

**Závěr:** Časně selhání léčby je extrémně nepříznivým prediktorem délky přežití a rizika předčasného úmrtí u pacientů s MCL léčených konvenční imunochemoterapií s udržovací terapií rituximabem. K validaci našich výsledků je potřebná analýza robustnějšího souboru pacientů a identifikace klinických, laboratorních a biologických faktorů souvisejících se selháním léčby 1. linie.

Práce byla podpořena grantem IGA\_LF\_2021\_001, MZ ČR – RVO (FNOL, 00098892).

## P47. VYSOKODÁVKOVANÁ CHEMOTERAPIE TEAM VERSUS BEAM V LÉČBĚ MALIGNÍCH LYMFOMŮ – NAŠE ZKUŠENOSTI

Đuraš J.<sup>1,2</sup>, Navrátil M.<sup>1,2</sup>, Kořístek Z.<sup>1,2</sup>, Kaščák M.<sup>1,2</sup>, Tvrďá I.<sup>1</sup>, Hájek R.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Klinika hematologie, FN Ostrava

<sup>2</sup> LF OU, Ostrava

**Úvod:** Standardním přípravným režimem vysokodávkované chemoterapie s autologní transplantací (ASCT) u maligních lymfomů je režim BEAM. Přechodný výpadek carmustinu v roce 2018 a ekonomické aspekty terapie vedly k využití alternativních režimů.

**Cíl:** Zhodnocení parametrů přihojení a toxicity po vysokodávkované chemoterapii TEAM ve srovnání s režimem BEAM u pacientů s maligními lymfomy indikovanými k ASCT.

**Metody:** Retrospektivně bylo analyzováno 19 pacientů s ASCT po chemoterapii TEAM a 41 pacientů po BEAM. Medián věku byl 58 vs. 61 let, ECOG > 1 u 5 vs. 7%, medián počtu předešlých linií 3 vs. 2 ve skupině TEAM vs. BEAM. Průměrná buněčnost převedeného štěpu byla 4,54 vs. 3,80×10<sup>6</sup> CD34+ buněk/kg hmotnosti. K podpoře přihojení byl podáván filgrastim nebo pegfilgrastim. Výskyt toxicity (hodnoceno dle CTCAE 5.0) byl srovnáván použitím Fischerova exaktního testu.

**Výsledky:** Medián nástupu přihojení v granulocytech byl u obou režimů den +10, medián doby vzestupu trombocytů nad 20×10<sup>9</sup>/l den +12 u TEAM a den +10 u BEAM.

Transplantační mortalita do dne +100 byla 5 % (1× náhlá kardiální smrt den +9) vs. 0 % ( $p = 0,3167$ ). Režim TEAM byl ve srovnání s režimem BEAM spojen se signifikantně vyšším výskytem grade 3–4 orální i aborální mukositivity (68 vs. 19 % ( $p = 0,0004$ ) a 42 vs. 24 % ( $p = 0,0251$ )), potřebou analgetizace opiáty (47 vs. 7 % ( $p = 0,0008$ )) a parenterální nutrice (53 vs. 32 % ( $p = 0,0455$ )).

Výskyt febrilní neutropenie byl 68 vs. 54 % ( $p = 0,3997$ ), sepse 11 vs. 10 % ( $p = 1,0$ ), grade 3–4 plicní toxicity 16 vs. 7 % ( $p = 0,3697$ ),

grade 3–4 kardiální toxicity 11 vs. 7 % ( $p = 0,6682$ ), exantému 11 vs. 26 % ( $p = 0,1938$ ).

**Závěr:** Parametry příhojení byly u obou přípravných režimů podobné, třebaže pacienti s TEAM byli více předlčení. Ve srovnání s režimem BEAM je léčba vysokodávkovanou chemoterapií TEAM zatížena vyšší mírou orgánové, zejména slizniční toxicity. Zhodnocení rozdílů efektivity léčby nebylo možné pro heterogenní složení souboru.

## P48. KOMPLEXNÍ KARYOTYP U PACIENTŮ S LYMFOMEM Z BUNĚK PLÁŠŤOVÉ ZÓNY

Urbánková H., Jirkuvová A., Hvalčáková T., Vatošíková M., Čudová B., Kasalová N., Holzerová M., Balcárková J., Papajík T., Obr A.

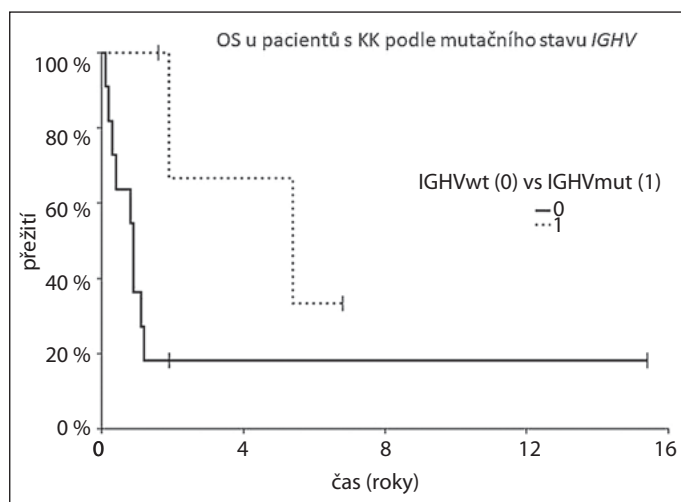
Hemato-onkologická klinika LF UP a FN Olomouc

MCL je charakterizován přítomností  $t(11;14)(q13;q32)$ , která vede k deregulaci cyklinu D1. Ve většině případů se jedná o antigen-naivní buňky, které neprošly germinálním centrem a mají nemutovaný stav genu *IGHV* (nemut/*IGHV*). Kolonizují plášťovou zónu lymfatické uzliny, jsou geneticky nestabilní a rychle hromadí další aberace. V 15–40 % případů však buňky podstoupí somatické hypermutace (mut/*IGHV*) v germinálních centrech a vznikají geneticky stabilnější subtypy MCL. Nález komplexního karyotypu u MCL (KK; přítomnost  $\geq 3$  klonálních aberací) predikuje agresivní průběh onemocnění a kratší celkové přežití (OS). Prognostická role mutačního stavu genu *IGHV* v kontextu KK není zcela vyjasněna.

Cílem práce bylo zjistit, zda má mutační stav *IGHV* zahrnutý do KK vliv na OS nemocných.

PK, KD a lymfatické uzliny byly vyšetřeny metodami klasické cytogenetiky, FISH, mnohobarevnou FISH a arrayCGH. Mutační stav *IGHV* byl určen Sangerovým sekvenováním a následným porovnáním se zárodečnou sekvencí (homologie  $> 98\%$ ).

V souboru 81 pacientů s MCL vyšetřených na HOK FNOL v letech 2006–2019 byl detekován KK u 16 (20 %) nemocných s mediánem věku při diagnóze 70 let. Nejčastěji byly do KK zapojeny chromozomy 11, 14, 9, 13, 3, 17, 8 a 15. Mutační stav *IGHV* byl vyšetřen celkem u 15 pacientů. Tříleté OS u jedenácti (69%) pacientů s nemut/*IGHV* bylo



18 % (95% CI 0,0–0,41), u čtyř (27 %) nemocných s mut/*IGHV* se jednalo o 67% (95% CI 0,13–1,00) ( $p = 0,09$ ) (Obr.1). U pacientů s nemut/*IGHV* bylo prokázáno 3,4× vyšší riziko časného úmrtí ve srovnání s mut/*IGHV*. V průměru měli tito nemocní 10,5 chromozomových aberací na pacienta, zatímco u mut/*IGHV* se jednalo pouze o 5 aberací u pacienta.

Pacienti s KK a současně mut/*IGHV* měli v průměru méně chromozomových aberací a delší přežití ve srovnání s pacienty s KK s nemut/*IGHV*. Statistický význam tohoto zjištění je třeba potvrdit na rozsáhlejší souboru pacientů.

Grantová podpora: IGA\_LF\_2021\_001 a MZ ČR\_RVO (FNOL, 00098892).

## P49. ROLA LONGITUDINÁLNEHO VYŠETROVANIA HLADINY CTDNA U PACIENTOV LIEČENÝCH MONOKLONÁLNOU PROTILÁTKOU

Kredátusová A., Procházka V., Grohmann J., Hanáčková V.

Hemato-onkologická klinika, Fakultní nemocnice Olomouc, Olomouc

**Úvod:** V súčasnej dobe sa na hodnotenie liečebnej odpovede pacientov s HL a ALCL využíva vyšetrenie PET/CT. V súvislosti s liečbou protilátkami sa však stretávame s fenoménom tzv. pseudoprogresie, teda imunitnou odpoveďou organizmu v mieste účinku protilátok, ktorá vedie k falošnej pozitívite PET/CT vyšetrenia a predčasnému ukončeniu efektívnej liečby. Zmeny koncentrácie ctDNA odrážajú odpoveď na liečbu už v jej priebehu, preto má potenciál byť pomocným biomarkerom účinnosti liečby a naviesť klinika na voľbu správneho terapeutického prístupu.

**Ciel:** Zhodnotiť význam longitudinálneho sledovania hladín ctDNA ako doplnku PET/CT pri liečbe protilátkami.

**Metódy:** Analyzovali sme celkovo 4 pacientov s HL a 4 pacientov s ALCL, ktorí boli liečení protilátkou Brentuximab-Vedotin (anti CD30), 5 (63 %) pacientov ako salvage pri relapse/progresii choroby, 3 (37 %) pacienti dostávali B-V ako udržiavaciu liečbu po ASCT. Medián veku bol 43 rokov. Medián sledovania 14,5 mesiaca. U 5 pacientov sa realizovalo interim PET/CT vyšetrenie po 4 cykloch B-V.

**Výsledky:** U 2 pacientov (25 %) interim PET/CT po 4 cykloch B-V vyhovovalo kritériám indeterminate response 2 (IR2) podľa LYRIC kritérií. Hodnotili sme dynamiku ctDNA v priebehu doterajšej liečby. U jednej pacientky (13 %) bola hladina ctDNA v čase iPET4 5-násobne nižšia ako pred zahájením liečby B-V (5 030 ng/l vs. 754 ng/l). Konštatovali sme tzv. pseudoprogresiu a pacientka naďalej pokračovala v terapii B-V s klinickým efektom. U druhého pacienta s IR2 naopak došlo k nárastu hladín ctDNA (3 320 ng/l vs. 6 220 ng/l), bola konštatovaná neúčinnosť B-V, čo sa následne potvrdilo zhoršením klinického stavu i laboratórneho nálezu a smrťou pacienta. U jednej pacientky iPET4 vyšetrenie preukázalo progresiu choroby, v terapii B-V sme nepokračovali, pacientka bola indikovaná k radioterapii postihnutej oblasti. Účinnosť liečby bola zjavná po celú dobu sledovania aj v zmenách hladín ctDNA (2 140 ng/l pri diagnóze, 6 720 ng/l po 3 cykloch chemoterapie s iPET nálezom hodnoteným ako PR, 8 760 ng/l po 4 cykloch B-V s iPET nálezom PD, 1 340 ng/l po úspešnej radioterapii).



**Závěr:** Výsledek PET/CT vyšetření může být při léčbě monoklonální protilátkou skreslené a může pacienta diskvalifikovat z pokračování v této léčbě navzdory jej klinické účinnosti. Důležité místo při rozhodování o dalším postupu by mohla zaujmout právě volná nádorová DNA.

## P50. PROGNOSTICKÝ VÝZNAM EXPRESE CD30 U PACIENTŮ S PTCL. ANALÝZA DATABÁZE NIHL/KLS

Janíková A.<sup>1</sup>, Chloupková R.<sup>2</sup>, Kopálová N.<sup>1</sup>, Campr V.<sup>3</sup>, Belada D.<sup>4</sup>, Benešová K.<sup>5</sup>, Dlouhá J.<sup>5</sup>, Klener P.<sup>5</sup>, Ďuraš J.<sup>6</sup>, Móciková H.<sup>7</sup>, Procházka V.<sup>5,8</sup>

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

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

<sup>3</sup> Ústav patologie a molekulární medicíny, 2. LF UK a FN Motol, Praha

<sup>4</sup> IV. interní hematologická klinika, FN Hradec Králové

<sup>5</sup> 1. interní klinika, 1. LF UK a VFN v Praze

<sup>6</sup> Klinika hematonekologie LF OU a FN Ostrava

<sup>7</sup> Interní hematologická klinika FN Královské Vinohrady, Praha

<sup>8</sup> Hemato-onkologická klinika FN Olomouc

**Úvod:** Periferní T-lymfomy jsou vzácnou heterogenní skupinou hematologických malignit, která je z hlediska diagnostiky i léčby velmi problematickou skupinou. Na rozdíl od B-lymfomů, není k dispozici konstantní diagnostický a terapeutický marker, který by mohl být využit podobně jako CD20. Určitou výjimkou tvoří struktura CD30, který je přítomen na nádorových buňkách některých T-lymfomů, jeho biologický stejně jako prognostický význam není jasný.

**Metody:** Jako výchozí soubor bylo využito 732 pacientů s nově diagnostikovaným AITL/ALCL/PTCL (2000–2017) z databáze KLS. Výběr pacientů pro analýzu podle CD30 exprese byl proveden na základě patologických reportů (zpravidla 2. čtení na referenčním pracovišti). ALCL jsou konstantně silně CD30+, pro AITL a PTCL-NOS byla využita hranice  $\geq 10$  % CD30+ buněk, pokud nebyla vyčíslena kvantita, bylo použito slovního popisu (silná exprese, většina buněk...) nebo semikvantitativního hodnocení (+++/++). V případech, kdy nebylo možno rozhodnout, byly vzorky hodnoceny CD30+/- (n = 50) nebo CD30 vyšetření nebylo k dispozici (n = 121) v obou případech nebyli tito pacienti uvažováni v analýze. Skupiny CD30+ vs. CD30- byly porovnány z hlediska klinicko laboratorních parametrů a přežití.

**Výsledky:** Do analýzy CD30+ vs. CD30- tedy vstoupilo celkem 437 pacientů (61 AITL, 238 PTCL-NOS a 138 ALK-ALCL). Výchozí demografické parametry skupin CD30+ a CD30- byly bez významných rozdílů, AITL se vyznačoval výraznější expresí CD30+ 44/61 (72,1 %) vs. PTCL-NOS 120/238 (50,4 %) (p = 0,02). Celkové 5leté přežití (OS) CD30+ vs. CD30- bylo 37,9 % (29,6–46,2; 95% CI) vs. 37 % (28,4–45,6; 95% CI; p = 0,287). Separátní analýzy OS a PFS (progression-free survival) pro AITL a PTCL-NOS rovněž neprokázali žádný rozdíl podle exprese CD30.

**Závěr:** CD30 antigen nepředstavuje patrně sám o sobě žádný zásadní prognostický marker, je však důležitý jako léčebný cíl pro konjugát brentuximab vedotin.

## P51. SCREENING MUTACÍ VE VYBRANÝCH GENECH NA ÚROVNI VOLNÉ NÁDOROVÉ DNA U PACIENTŮ S HODGKINOVÝM LYMFOMEM S TECHNOLOGIÍ MASIVNĚ PARALELNÍHO SEKVENOVÁNÍ

Grohmann J., Navrátilová J., Hanáčková V., Kredátusová A., Papajík T., Procházka V., Urbánková H.

Hemato-onkologická klinika LF UP a FN Olomouc

**Úvod:** Hodgkinův lymfom (HL) je maligní lymfoproliferativní onemocnění postihující zejména mladší pacienty s incidencí v ČR 2,7/100 000 obyvatel za rok. Až u 20–30 % pacientů dochází v průběhu léčby k relapsu po podání první linie léčiv. Z tohoto důvodu je předmětem zájmu identifikovat nové neinvazivní markery pro sledování minimálního reziduálního onemocnění, které by v kombinaci s PET/CT lépe popisovaly aktuální stav onemocnění u pacienta.

**Cíle:** Cílem práce bylo stanovit mutační profil 10 genů podílejících se na patogenezi klasického Hodgkinova lymfomu na materiálu volné nádorové DNA (cfDNA) získané z periferní krve.

**Metody:** Pro přípravu knihovny jsme zvolili technologii SureSelect XT HS2 založenou na principu „target enrichment“ v kombinaci s molekulárním barkódováním. Panel pokrývá kódující oblasti (CDS) 10 vybraných genů: *B2M*, *CD36*, *CIITA*, *GNA13*, *HIST1H1E*, *ITPKB*, *SPEN*, *STAT6*, *TNFAIP3* a *XPO1*. Sekvence probíhala na přístroji NovaSeq6000 (Illumina).

**Výsledky:** Analýza byla provedena na 24 vzorcích cfDNA z doby diagnózy a 3 vzorcích z relapsu onemocnění. Mutace byly detekovány u 9/24 diagnostických vzorků a u 2/3 relapsů. Nejčastěji se vyskytovaly mutace v genu *STAT6* (N417Y, Q286K, N421K, D519N) a posunové inserční/deleční mutace v genu *TNFAIP3*. Ve třech vzorcích byla zachycena mutace v hotspotu E571K v genu pro exportin 1. Mutace se nejčastěji vyskytovaly v kombinacích. Pět pacientů mělo kombinaci dvou mutací, jeden pacient tří mutací a v jednom vzorku relapsu jsme detekovali čtyři mutace.

**Závěr:** Pomocí technologie masivně paralelního sekvenování je možné detekovat mutace v genech zapojených v patogenezi Hodgkinova lymfomu na úrovni cfDNA. Mutace se nám podařilo detekovat u 40 % vzorků. Tyto mohou být v korelaci s klinickými daty a výsledky PET-CT následně použity jako markery pro neinvazivní sledování průběhu onemocnění pomocí citlivějších metod např. digitální PCR.

Práce je podporována granty IGA-LF-2021-001, MZ ČR – RVO (FNOI, 00098892) a granty společností Amgen a Takeda.

## P52. VYUŽITÍ FLUORESCENČNÍ *IN-SITU* HYBRIDIZACE A SEKVENOVÁNÍ NOVÉ GENERACE V DIAGNOSTICE AGRESIVNÍCH TYPŮ B-LYMFOMŮ

Vatolíková M.<sup>1</sup>, Čudová B.<sup>1</sup>, Flodr P.<sup>2</sup>, Procházka V.<sup>1</sup>, Hvalčáková T.<sup>1</sup>, Papajík T.<sup>1</sup>, Urbánková H.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Hemato-onkologická klinika LF UP a FN Olomouc

<sup>2</sup>Ústav klinické a molekulární patologie, LF UP a FN Olomouc

K diagnostické a prognostické stratifikaci agresivních B-lymfomů dnes běžně přispívá vyšetření pomocí fluorescenční *in-situ* hybridizace (FISH). S vývojem nových metod jako je sekvenování nové generace (NGS) vzniká otázka, jaký mají tyto metody přínos a jakou další informační hodnotu přináší.

Cílem práce bylo porovnat výsledky metod FISH a komplexního genomového profilování u 7 pacientů s agresivním B-lymfomem.

Výchozím materiálem byly ultratenké řezy parafinových bločků biopované nádorové tkáně. Pomocí FISH byly vyšetřeny aberace genů *MYC*, *BCL2* a *BCL6* (ZytoVision). U 2 pacientů s dostupným nativním materiálem bylo provedeno i cytogenetické vyšetření a mnohobarevná FISH (MetaSystems). Metodou F1Heme (v rámci Patient Experience programu, Roche) byly sekvenovány kódující oblasti 406 vybraných genů a 31 intronů, na úrovni RNA bylo vyšetřeno 265 fúzních genů.

Pomocí FISH jsme prokázali početní/strukturní změny u 6/7 pacientů: přestavbu genu *MYC* (2/7 pacientů), přestavbu genu *BCL6* (2/7 pacientů), z toho v jednom případě se jednalo o přestavbu obou genů současně (double hit). Přestavbu genu *BCL2* jsme nedetekovali. Metodou NGS bylo identifikováno celkem 41 genových variant (4-9 variant/pac). Nejčastější prokázanou změnou byla mutace genu *TP53* (4/7 pacientů). Dalšími nalezenými změnami opakujícími se alespoň ve 2 případech byly mutace genů *SPEN*, *CCND3* a *TNFAIP3*. Dále byly identifikovány přestavby genů *IgH/BCL6* (2/7 pacientů) a nerekiproké fúze *IGH/MYC* (1/7 pacientů) a *IgH/BCL2* (1/7 pacientů).

Metoda FISH je dobře dostupnou, spolehlivou a finančně nenáročnou technikou, kterou lze v krátkém čase detekovat přestavby genů klíčových pro upřesnění diagnózy. Zachytí variabilitu mezi jednotlivými buňkami, ale je schopna hodnotit jen malé množství buněk a lokusů. Naproti tomu NGS generuje velké množství dat, které porovnává s referenční sekvencí, nereflektuje však jednotlivé nádorové klony, ale pracuje s populačním průměrem. Umožňuje detekci variant, které mohou mít význam z hlediska volby cílené léčby a mohou případně sloužit jako markery pro sledování průběhu onemocnění. Jako ideální se proto jeví kombinace obou přístupů.

Práce byla podporována granty IGA-LF-2021-001 a MZ ČR – RVO (FNOL, 00098892).

# CHRONICKÁ LYMFOCYTÁRNÍ LEUKÉMIE

## P53. PI3K INHIBITOR IDELALISIB SNIŽUJE HLADINY CD20 U CHRONICKÉ LYMFOCYTÁRNÍ LEUKÉMIE INHIBICÍ IL4-STAT6 SIGNÁLNÍ DRÁHY

Šandová V.<sup>1</sup>, Mladonická Pavlasová G.<sup>2</sup>, Šeda V.<sup>1,2</sup>, Sharma S.<sup>2</sup>, Palušová V.<sup>2</sup>, Brychtová Y.<sup>1</sup>, Pospíšilová Š.<sup>1</sup>, Fernandes S. M.<sup>3</sup>, Panovská A.<sup>1</sup>, Doubek M.<sup>1</sup>, Davids M. S.<sup>3</sup>, Brown J. R.<sup>3</sup>, Mayer J.<sup>1</sup>, Mráz M.<sup>1,2</sup>

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

<sup>2</sup>CEITEC, MU, Brno

<sup>3</sup>Oddělení lékařské onkologie, Dana-Farber Cancer Institute, Boston, USA

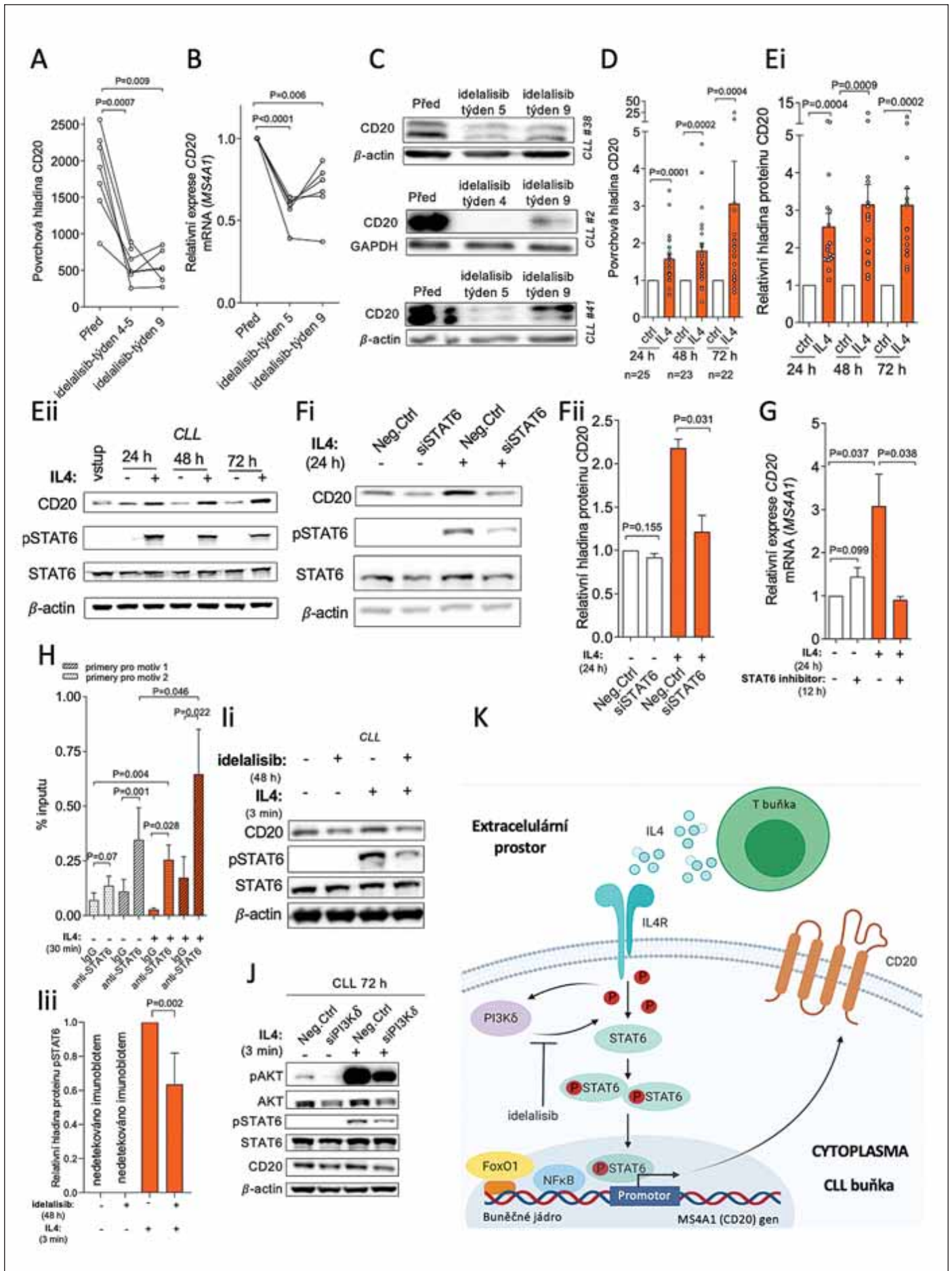
**Cíl:** Kombinace ibrutinibu s rituximabem nepřináší u CLL klinický prospěch ve srovnání s ibrutinibem samotným (Burger et al. 2019) pravděpodobně proto, že ibrutinib snižuje hladiny CD20 (Pavlasova et al. 2016; Skarzynski et al. 2016). Cílem práce bylo popsat efekt idelalisibu na hladiny CD20 u CLL, neboť byl schválen v kombinaci s anti-CD20 protilátkami (Furman et al. 2014), ale jeho vliv na hladiny či funkci CD20 je neznámý.

**Metody a výsledky:** Při léčbě idelalisibem *in vivo* dochází u CLL v průběhu několika týdnů k výraznému snížení hladin CD20 na buněčném povrchu a na úrovni mRNA a celkového proteinu (obr. 1A–C;

n = 7, analyzováno před, 4/5 a 9 týdnů po léčbě; p < 0,01). Popsali jsme, že toto snížení souvisí s interferencí idelalisibu s indukcí CD20 závislou na zde nově popsaném regulačním mechanismu prostřednictvím IL4 produkovaného T lymfocyty (obr. 1D–E, n = 25; p < 0,001). IL4 indukuje STAT6 a ten přímo reguluje transkripci CD20 u CLL buněk (obr. 1E), což bylo ověřeno utlumením STAT6 pomocí siRNA, použitím STAT6 inhibitoru (AS1517499) a chromatinovou imunoprecipitací prokazující vazbu STAT6 na CD20 promotor (obr. 1F–H; p < 0,05). *In vitro* idelalisib (2 μM) snižuje fosforylaci STAT6 (P=0,002) po IL4 a brání indukcí CD20 (obr. 1I). Idelalisib má přímý tzv. „on-target“ efekt na IL4-STAT6 dráhu, jelikož snížení hladiny PI3K $\delta$  pomocí siRNA vede k poklesu aktivace STAT6 po IL4 a snížení CD20 hladin (obr. 1J).

**Závěr:** Poprvé jsme ukázali, že léčba samotným idelalisibem u CLL vede k poklesu CD20 *in vivo* tím, že zasahuje do nově popsaného mechanismu transkripční regulace CD20 prostřednictvím IL4-STAT6 dráhy (obr. 1K), což má potenciální důsledky pro kombinační léčbu s rituximabem.

Podpořeno Ministerstvem zdravotnictví ČR (grant NU20-03-00292); Evropskou radou pro výzkum (ERC) pod H2020 – 8. rámcovým programem EU pro výzkum a inovace (grantová dohoda č. 802644); MH CZ-DRO (FNBr,65269705); MUNI/A/1595/2020.



## P54. DYNAMIKA MUTACÍ A CHROMOZOMÁLNÍCH ABERACÍ V ZÁVISLOSTI NA AKTIVITĚ CLL U NELÉČENÝCH PACIENTŮ

Navrkalová V.<sup>1,2</sup>, Kotašková J.<sup>1,2</sup>, Vališová M.<sup>1</sup>, Ženatová M.<sup>1</sup>, Panovská A.<sup>1</sup>, Doubek M.<sup>1-3</sup>, Pospíšilová Š.<sup>1-3</sup>

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

<sup>2</sup> Lékařská genomika, CEITEC MU, Brno

<sup>3</sup> Ústav lékařské genetiky a genomiky, LF MU a FN Brno

**Cíl:** Pomocí cílené NGS analýzy párových vzorků získaných od neléčených pacientů s chronickou lymfocytární leukémií (CLL) jsme chtěli zjistit, jaké genové a chromozomové aberace se u nich vyskytují a zda se dynamicky vyvíjí bez selekčního tlaku terapie.

**Metody:** NGS analýza pomocí panelu LYNX byla provedena u 10 pacientů s CLL při diagnóze (TP1) a před první terapií (TP2). Vstupním materiálem byla DNA z B-lymfocytů periferní krve, NGS knihovna byla připravena pomocí kitu SureSelect XT HS (Agilent) a sekvenována na přístroji NextSeq (Illumina). Vlastním bioinformatickým postupem jsme analyzovali varianty v 70 testovaných genech a chromozomální aberace (CNVs) napříč celým genomem.

**Výsledky:** Doba sledování mezi dvěma odběry byla u všech pacientů delší než 4 roky (medián 71 měsíců). Celkový průběh nemoci a spektrum detekovaných aberací shrnuje Tabulka 1. Aberace byly definovány jako dynamické (nárůst/pokles nebo vznik/ztráta), pokud došlo ke změně v jejich proporcí alespoň  $\pm 10\%$  pro genové varianty a  $\pm 20\%$  pro CNVs z hodnoty v TP1. Bez ohledu na aktivitu CLL čtyři pacienti (P1, P2, P6, P10) vykazovali stabilní sestavu aberací. U dalších čtyř pacientů (P3, P5, P7, P9) jsme pozorovali nárůst v proporcí aberací nebo vznik nových. U pacientů P4 a P8 jsme dokonce zaznamenali pokles nebo úplnou ztrátu defektů. U indolentních pacientů (5/10) byly pozorovány dva případy (P3, P5), u kterých došlo k nárůstu existujících nebo ke vzniku nových aberací, a u pacientů s progresí (5/10) to byly rovněž dva případy (P7, P9). Zajímavý je indolentní případ P8, kde došlo dokonce ke spontánní regresi TP53 defektů.

**Závěr:** U pacientů s progresí CLL nemusí nutně docházet k expanzi aberací a na druhou stranu u indolentní nemoci nejsou aberace vždy stabilní, jak by se dalo očekávat. Genomické defekty u neléčených CLL pacientů jsou tedy poměrně dynamické bez ohledu na aktivitu nemoci.

Podpořeno granty AZV NV19-03-00091 a MZCR-RVO 65269705.

Pacient	Gen	HGVSc	HGVSp	VAF TP1 (%)	VAF TP2 (%)	Dynamika aberace	Průběh choroby
P1	ATM	c.4362A>C	p.Lys1454Asn	44,3	40	stabilní	progrese (s terapií)
P1	NOTCH1	c.7541_7542del	p.Pro2514Argfs	46,8	47,6	stabilní	
P2	CHD2	c.1545G>C	p.Lys515Asn	48,7	45,7	stabilní	progrese (s terapií)
P3	ATM	c.7522G>A	p.Gly2508Arg	44,4	45,7	stabilní	indolentní (bez terapie)
P3	TP53	c.743G>A	p.Arg248Gln	25,3	43	nárůst	
P3	IKZF3	c.485T>G	p.Leu162Arg	6,3	3	pokles	
P4	MYD88	c.818T>C	p.Leu273Pro	47,6	36,5	pokles	progrese (bez terapie)
P4	JAK2	c.259T>G	p.Leu87Val	48,6	49,7	stabilní	
P5	NOTCH1	c.7541_7542del	p.Pro2514Argfs	není	17,2	vznik	indolentní (bez terapie)
P6	SAMHD1	c.1593G>C	p.Arg531Ser	99,8	99,8	stabilní	indolentní (bez terapie)
P7	XPO1	c.1871A>G	p.Asp624Gly	47,4	47	stabilní	progrese (bez terapie)
P8	TP53	c.731G>A	p.Gly244Asp	24,2	1,7	pokles	indolentní (bez terapie)
P9	XPO1	c.1871A>G	p.Asp624Gly	18,9	12,5	pokles	progrese (s terapií)
P9	SF3B1	c.1998G>C	p.Lys666Asn	3,1	11,1	nárůst	
P10	KMT2D	c.12194T>C	p.Val4065Ala	48	52	stabilní	indolentní (bez terapie)
P10	CD79A	c.597T>A	p.Tyr199Ter	52,3	50	stabilní	

Pacient	Chrom.	Typ aberace	Velikost (Mb)	Proporce TP1 (%)	Proporce TP2 (%)	Dynamika aberace	Průběh choroby
P1	3	delece	8,4	100	100	stabilní	progrese (s terapií)
P1	12	zisk	130,7	50	40–50	stabilní	
P2	13	delece	3	90	100	stabilní	progrese (s terapií)
P3	3	zisk	73,9	50–60	70	stabilní	indolentní (bez terapie)
P3	15	delece	9,6	100	100	stabilní	
P3	9	delece	2,6	30	35	stabilní	
P3	6	delece	8,3	není	25	vznik	

Pacient	Chrom.	Typ aberace	Velikost (Mb)	Proporce TP1 (%)	Proporce TP2 (%)	Dynamika aberace	Průběh choroby
P4	13	delece (bialel.)	0,9	100	100	stabilní	progrese (bez terapie)
P4	13	cnLOH	114,3	85	80	stabilní	
P5	13	delece	18,3	není	40	vznik	indolentní (bez terapie)
P6	3	cnLOH	65	100	100	stabilní	indolentní (bez terapie)
P6	13	cnLOH	150	100	100	stabilní	
P6	13	delece	1	200	200	stabilní	
P7	12	zisk	130,7	30–40	není	ztráta	progrese (bez terapie)
P7	13	delece	2	100	100	stabilní	
P7	13	delece	3,3	100	100	stabilní	
P7	4	delece	7,4	90	90	stabilní	
P7	1	delece	25,1	není	30–40	vznik	
P7	13	delece	114,3	85	80	stabilní	
P8	17	delece	26,9	30	není	ztráta	indolentní (bez terapie)
P8	17	zisk	55,9	30	není	ztráta	
P9	10	delece	14,7	35	50	nárůst	progrese (s terapií)
P9	11	delece	36,1	45	90–100	nárůst	
P10	13	delece	2,7	60–70	50	stabilní	indolentní (bez terapie)

## P55. ZMĚNY PARAMETRŮ IMUNITNÍHO SYSTÉMU U NEMOCNÝCH S CHRONICKOU LYMFOCYTÁRNÍ LEUKÉMIÍ.

Vodárek P.<sup>1</sup>, Andrýs C.<sup>2</sup>, ěsiová D.<sup>1</sup>, Řezáčová V.<sup>2</sup>, Souček O.<sup>2</sup>, Šimkovič M.<sup>1</sup>, Vokurková D.<sup>2</sup>, Belada D.<sup>1</sup>, Žák P.<sup>1</sup>, Smolej L.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>IV. interní hematologická klinika LF UK a FN Hradec Králové

<sup>2</sup>Ústav klinické imunologie a alergologie, LF UK a FN Hradec Králové

**Úvod:** Chronická lymfocytární leukémie (CLL) je provázána řadou poruch buněčné i humorální imunity. Důsledkem je zvýšený výskyt infekcí i progrese základního onemocnění. K dalším změnám dochází v průběhu léčby.

**Cíl:** Komplexní zhodnocení buněčné a humorální imunity u nemocných se stabilní a progredující CLL, vč. změn po léčbě.

**Metody:** Imunitní funkce byly prospektivně hodnoceny u 46 nemocných se stabilní chorobou (medián věku 65 let, nízké/střední/vysoké modifikované riziko dle Raie u 59/37/4 % nemocných) a u 87 pacientů indikovaných k léčbě (medián věku 68 let, nízké/střední/vysoké modifikované riziko dle Raie u 1/38/61 %). Dále byly srovnány parametry 55 nemocných před a po léčbě (17× FCR, 18× BR, 9× G-CLB, 11× R-CLB). Kontrolní skupinu tvořilo 46 dárců krve. Absolutní a relativní počty pomocných a cytotoxických

lymfocytů (Th-ly a Tc-ly) a jejich subsetů a NK buněk byly hodnoceny průtokovou cytometrií, sérové koncentrace cytokinů (IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-17A, IL-17F, IL-33, IFN- $\gamma$ ) metodou X-MAP (Luminex), koncentrace imunoglobulinů (IgG1-4, IgM, IgA1-2) imunonefelometricky (Image Immunochemistry System, Beckman Coulter) a aktivace komplementu metodou ELISA (Wieslab Complement System Screen, Euro Diagnostica).

**Výsledky:** Nemocní se stabilní CLL měli vůči kontrolám statisticky významně vyšší koncentrace interleukinů i hlavních subsetů T-lymfocytů. Progredující CLL byla spojena se snížením koncentrací IgG, IgA i IgM a dalším zvýšením absolutních počtů T-lymfocytů a jejich subsetů. Sérové IgA a aktivace komplementu klasickou i alternativní cestou se po léčbě zvýšily, absolutní počty hlavních subsetů lymfocytů naopak poklesly, v případě celkových T-ly a Th-ly až pod úroveň zdravých kontrol. Nejzajímavější statisticky významné výsledky jsou shrnuty v tabulce.

**Závěr:** Naše výsledky prokázaly zřetelné defekty buněčné i humorální imunity u CLL, výraznější u progredující choroby. K dalšímu zhoršení buněčné imunity došlo v důsledku léčby, zatímco některé parametry humorální imunity se naopak zlepšily. Budou prezentována aktualizovaná a rozšířená data.

Podpořeno programem PROGRES Q40/08.

**Tabulka. Souhrn výsledků. Jsou uváděny mediány naměřených hodnot**

Měřený parametr	Stabilní pacienti	Kontroly	p – hodnota
IL-4 (pg/ml)	4,2	2,3	< 0,0001
IL-6 (pg/ml)	10,1	3,4	< 0,0001
IL-10 (pg/ml)	11,2	6,2	< 0,0001
Absolutní počet celkových T-ly ( $\times 10 \log_3/\mu\text{l}$ )	2,17	1,38	0,0004
Absolutní počet Th-ly ( $\times 10 \log_3/\mu\text{l}$ )	1,08	0,88	0,0343
Absolutní počet Tc-ly ( $\times 10 \log_3/\mu\text{l}$ )	0,72	0,44	0,0013
Absolutní počet NK buněk ( $\times 10 \log_3/\mu\text{l}$ )	0,5	0,29	< 0,0001

	Stabilní pacienti	Progredující pacienti	p – hodnota
IgG (g/l)	9,9	7,4	0,0012
IgA (g/l)	1,5	0,6	< 0,0001
IgM (g/l)	0,58	0,39	0,027
Klasická cesta aktivace komplementu (%)	101	93	0,016
IL-6 (pg/ml)	10,1	14	0,03
IFN- $\gamma$ (pg/ml)	8,5	11,5	< 0,0001
Absolutní počet celkových T-ly ( $\times 10 \log_3/\mu\text{l}$ )	2,17	3,53	< 0,0001
Absolutní počet Th-ly ( $\times 10 \log_3/\mu\text{l}$ )	1,08	1,99	0,0001
Absolutní počet Tc-ly ( $\times 10 \log_3/\mu\text{l}$ )	0,71	1,27	< 0,0001

	Nemocní před léčbou	Nemocní po léčbě	p – hodnota
IgA (g/l)	0,59	0,75	0,048
Klasická cesta aktivace komplementu (%)	81	100	0,0002
Alternativní cesta aktivace komplementu (%)	76	91	0,0017
Absolutní počet celkových T-ly ( $\times 10 \log_3/\mu\text{l}$ )	3,53	0,95	< 0,0001
Absolutní počet Th-ly ( $\times 10 \log_3/\mu\text{l}$ )	2,9	0,32	< 0,0001
Absolutní počet Tc-ly ( $\times 10 \log_3/\mu\text{l}$ )	1,22	0,52	< 0,0001
Absolutní počet NK buněk ( $\times 10 \log_3/\mu\text{l}$ )	0,6	0,23	< 0,0001

## P56. DRUG REPOSITIONING IN GENETICALLY DEFINED CLL CASES REVEALS A POTENTIAL NOVEL THERAPEUTIC USE FOR APPROVED DRUGS.

Ladungová A.<sup>1,2</sup>, Peschelová H.<sup>1,2</sup>, Kozlová V.<sup>1</sup>, Šmída M.<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Central European Institute of Technology (CEITEC) Masaryk University, Brno

<sup>2</sup>National Centre for Biomolecular Research, Faculty of Science, Masaryk University, Brno

<sup>3</sup>Department of Internal Medicine – Hematology and Oncology, Medical Faculty of Masaryk University and University Hospital, Brno

**Introduction:** Drug repositioning combined with high-throughput screening of clinically approved drugs offers an unconventional strategy to identify novel drugs for CLL treatment outside the scope of their initial medical indication. This research project aims to identify novel personalized treatment options for CLL patients stratified to

major genetic subtypes with the different mutational status of IGHV, ATM, TP53, SF3B1, NOTCH1, or MYD88.

**Methods:** CLL patient samples were cultured in the presence of Interleukin-2 and NF $\kappa$ B activator Resiquimod to mimic the protective tissue microenvironment. These primed cells were incubated with the library of 859 approved drugs for 72 hours, followed by cell viability determination via Cell-titer Glo assay. Data from these screens were normalized to DMSO and hierarchically clustered in a heatmap by using the R software. The primary drug screens revealed the most effective compounds, which were further validated on a 10-point dose-response curve to assess the reproducibility and the magnitude of the effect.

**Results:** Up to date, we performed drug screens on 29 primary patient samples. We demonstrated that all patient samples share the common sensitivity to the group of proteasome and histone-deacetylase inhibitors. These compounds were highly efficient

independently of the chosen mutational status. Drug screening also revealed interesting compounds with a significant sensitivity for specific CLL genetic subtypes. These top hits showed higher efficacy than the standard targeted therapies represented by ibrutinib, venetoclax, or idelalisib.

**Conclusion:** The outcomes of this research project point out the importance of personalized treatment for a heterogeneous disease like CLL. Further validations and investigation of the molecular mechanisms are required for the top-performing drugs to strengthen the translational potential for CLL therapy.

## P57. PŘÍMÁ MUTAČNÍ ANALÝZA GENU TP53 BEZ NUTNOSTI IZOLACE DNA U VZORKŮ PERIFERNÍ KRVE A KOSTNÍ DŘEŇĚ HEMATOONKOLOGICKÝCH PACIENTŮ

Dvořáčková B.<sup>1</sup>, Ženatová M.<sup>1</sup>, Hynšt J.<sup>2</sup>, Pavlová Š.<sup>1,2</sup>, Hrabčáková V.<sup>1</sup>, Malčíková J.<sup>1,2</sup>, Pardy F.<sup>2</sup>, Marečková A.<sup>1</sup>, Kotašková J.<sup>1,2</sup>, Doubek M.<sup>1,2</sup>, Mayer J.<sup>1,2</sup>, Pospíšilová Š.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Centrum molekulární biologie a genetiky, Interní hematologická a onkologická klinika FN Brno

<sup>2</sup>Středoevropský technologický institut (CEITEC), MU, Brno

**Úvod:** Mutace genu *TP53* jsou u řady hematoonkologických malignit spojeny s nepříznivou prognózou a rezistencí na standardně podávanou chemoimunoterapii. Běžným templátem pro mutační analýzu je DNA izolovaná z pacientských buněk. Pro molekulární detekci je však možné využít také primární biologický materiál, kdy je malé množství nesrážlivé krve nebo kostní dřeň inkubováno

s enzymem proteázou bez následné izolace DNA. Cílem naší práce bylo stanovit vhodnost použití tohoto prvotního zdroje genetického materiálu pro analýzu *TP53* mutací.

**Metody:** Do studie bylo zahrnuto celkem 27 pacientů indikovaných k rutinnímu vyšetření kódující oblasti genu *TP53* pomocí sekvenování nové generace s vysokým pokrytím ( $\geq 10\,000$ , platforma NextSeq; Illumina). Mutační analýza byla nejprve provedena u DNA standardně izolované ze separovaných nádorových pacientských buněk popřípadě celkových leukocytů. Na základě získaných výsledků byla následně vyšetřena příslušná zamražená periferní krev nebo kostní dřeň (doba skladování před analýzou 6 dní až 21 měsíců).

**Výsledky:** U všech 27 pacientů byla bez ohledu na souhrnné množství nádorových buněk úspěšně amplifikována celá studovaná oblast genu *TP53*, a to jak v případě klasické izolace DNA, tak také při přímé analýze biologického materiálu. Mutace byly prokázány celkem u 12 pacientů (limit detekce 1 % variantních alel). Počet nalezených patogenních variant stejně jako jejich procentuální zastoupení bylo u obou typů templátů srovnatelné. Výjimku tvořily pouze vzorky s nízkým podílem nádorových buněk v primárním materiálu, kde ve srovnání s DNA byly mutace pozorovány v nižším procentu, přičemž jedna minoritní *TP53* varianta nebyla u periferní krve detekována. Charakteristika pacientů vč. výsledků mutační analýzy je shrnuta v tabulce.

**Závěr:** Přímá analýza genu *TP53* vycházející z periferní krve a kostní dřeň pacientů bez nutnosti standardní izolace DNA je při dostatečném množství nádorových buněk ve vzorku vhodným přístupem pro rychlé statimové vyšetření mutací stejně jako pro ověření přítomnosti detekovaných variant ze zamraženého materiálu.

Projekt podpořen MZ ČR – RVO (FNBr, 65269705).

Pacient č.	Diagnóza	Materiál	Procento nádorových buněk	TP53 mutace (cDNA a proteinová úroveň)		PK/KD	DNA
1	C91.1	periferní krev	PK 73 % vs. DNA 99 %	c.817C>T	p.(Arg273Cys)	9,20%	17,30%
2	C91.1	periferní krev	PK 60 % vs. DNA 99 %	c.731G>A	p.(Gly244Asp)	4,30%	5,30%
				c.701A>G	p.(Tyr234Cys)	2,50%	6,40%
				c.838A>G	p.(Arg280Gly)	1%	1,30%
				c.659A>G	p.(Tyr220Cys)	0,70%	1%
3	C91.1	periferní krev	srovnatelné	ND	ND	ND	ND
				ND	ND	ND	ND
4	C91.1	periferní krev	srovnatelné	ND	ND	ND	ND
5	C91.1	periferní krev	srovnatelné	c.714T>A	p.(Cys238Ter)	0,70%	1%
6	C91.1	periferní krev	PK 14 % vs. DNA 99 %	ND	ND	ND	ND
7	C91.1	periferní krev	srovnatelné	ND	ND	ND	ND
8	C91.1	periferní krev	srovnatelné	ND	ND	ND	ND
9	C91.1	periferní krev	srovnatelné	ND	ND	ND	ND
10	C91.1	periferní krev	srovnatelné	ND	ND	ND	ND
11	C91.1	periferní krev	PK 4 % vs. DNA 99 %	c.742C>T	p.(Arg248Trp)	1,40%	86,30%
				c.532dup	p.(His178ProfsTer3)	ND	1,80%
12	C91.1	periferní krev	srovnatelné	ND	ND	ND	ND
13	C91.1	periferní krev	srovnatelné	ND	ND	ND	ND

14	C91.1	periferní krev	srovnatelné	c.251_254del	p.(Ala84ValfsTer38)	79,7 %SEQ	91,50%
15	C91.1	periferní krev	srovnatelné	ND	ND	ND	ND
16	C91.1	periferní krev	srovnatelné	c.596G>A	p.(Gly199Glu)	1,10%	0,90%
17	C91.1	periferní krev	srovnatelné	c.524G>A	p.(Arg175His)	2,10%	2%
18	C91.1	periferní krev	srovnatelné	ND	ND	ND	ND
19	C91.1	periferní krev	srovnatelné	c.400T>C	p.(Phe134Leu)	1,40%	1%
				c.537_539dup- pTGA	p.(His179_Glu180in- sAsp)	1%	0,90%
20	C91.1	periferní krev	PK 29 % vs. DNA 88 %	ND	ND	ND	ND
21	C91.1	periferní krev	srovnatelné	ND	ND	ND	ND
22	C91.1	periferní krev	PK 73 % vs. DNA 98 %	c.626_627del	p.(Arg209LysfsTer6)	1,20%	1,20%
23	C91.1	periferní krev	PK 76 % vs. DNA 98 %	ND	ND	ND	ND
24	C85.9	periferní krev	PK 29 % vs. DNA 95 %	ND	ND	ND	ND
25	C83.1	kostní dřeň	KD 13 % vs. DNA 25 %	c.832C>G	p.(Pro278Ala)	2,80%	4,30%
26	C83.1	kostní dřeň	srovnatelné	c.821T>G	p.(Val274Gly)	25 %SEQ	25%
27	D46.6	kostní dřeň	stejně (neseparované buňky)	c.734G>A c.395A>G	p.(Gly245Asp) p.(Lys132Arg)	19,1 %SEQ 1,90%	22,90% 2,20%

## P58. DUPLIKACE 8Q24 V CHRONICKÉ LYMFOCYTÁRNÍ LEUKÉMII: CYTOGENETICKÁ A MOLEKULÁRNĚ-BIOLOGICKÁ ANALÝZA ABERACÍ GENU MYC

Ondroušková E.<sup>1</sup>, Bohúnová M.<sup>1</sup>, Závacká K.<sup>1,2</sup>, Čech P.<sup>1</sup>, Šmuhařová P.<sup>1</sup>, Plevová K.<sup>1,3</sup>, Boudný M.<sup>2</sup>, Panovská A.<sup>1</sup>, Radová L.<sup>2</sup>, Doubek M.<sup>1,3</sup>, Jarošová M.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Interní hematologická a onkologická klinika, CMBG, FN Brno

<sup>2</sup> Středoevropský technologický institut, MU, Brno

<sup>3</sup> Ústav lékařské genetiky a genomiky, MU, Brno

**Cíle:** Chronická lymfocytární leukemie (CLL) je onemocněním charakterizované vysokou mírou diverzity jak klinických projevů, tak cytogenetických nálezů pacientů. Se špatnou prognózou jsou spojeny cytogenetické nálezy delecí *TP53* a *ATM*, nebo vysoce komplexní karyotyp ( $\geq 5$  cytogenetických změn). V rámci komplexního karyotypu (KK) se vyskytují aberace, které k agresivitě onemocnění přispívají různou mírou. Jednou z těchto kandidátních aberací je zisk části q-ramene chromosomu 8 (+8q), zahrnující gen *MYC*. Zaměřili jsme se na detailní cytogenetickou analýzu komplexních karyotypů s touto aberací, na určení místa zlomů a minimální duplikované oblasti 8q, na analýzu exprese *MYC* a na vztah k délce přežití pacientů.

**Metody:** K vyšetření CLL pacientů byl použit panel FISH sond (*ATM*, *TP53*, *CEP12*, *13q*, *8q24*) a byl sestaven karyotyp na základě G-pruhování. U pacientů s *KK/delATM* a/nebo *delTP53* společně s +8q byl karyotyp detailněji analyzován metodou m-FISH a m-BAND. Hladina mRNA *MYC* byla stanovena metodou qRT-PCR, hladina proteinu metodou western blot.

**Výsledky:** Na základě skríningu pacientů metodami FISH a karyotypování jsme zjistili, že oblast 8q je častěji zmnožena u pacientů s *KK/delATM* a/nebo *delTP53* (26,7 %) oproti neselektovaným CLL pacientům (6,3 %). Minimální duplikovaná oblast byla určena jako 8q23-8qter, v rámci *KK* byla duplikovaná oblast u různých pacientů translokována na různé chromozomy. Zjistili jsme mírné zvýšení hladiny mRNA a proteinu *MYC* u pacientů s +8q, a zkrácení celkového přežití u pacientů s +8q, ale tyto výsledky nedosáhly statistické významnosti.

**Závěr:** Zmnožení části ramene 8q (minimální duplikovaná oblast 8q23-8qter) je častěji spojeno s *KK* a s delecí *ATM* a/nebo *TP53*, mírným zvýšením hladin mRNA a proteinu *MYC*, a mírným zkrácením celkové doby přežití. Jednoznačnější závěry by mohlo přinést rozšíření studovaného souboru.

Podpořeno granty RVO FNBr 65269705, AZV projekt NU21-08-00237 (Ministerstvo zdravotnictví ČR), projekty MUNI/A/1595/2020 a MUNI/IGA/1640/2020 (Ministerstvo školství, mládeže a tělovýchovy ČR).

## P59. VZÁCNÉ NEBO BĚŽNÉ KOMPLIKACE INHIBITORŮ B-BUNĚČNÉHO RECEPTORU?

Mihályová J.<sup>1,2</sup>, Zuchnická J.<sup>1</sup>, Kaščák M.<sup>1,2</sup>, Ďuraš J.<sup>1,2</sup>, Muroňová L.<sup>1</sup>, Dluhošová B.<sup>1</sup>, Jelínek T.<sup>1,2</sup>, Gumulec J.<sup>1,2</sup>, Hájek R.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Klinika hematologie FN Ostrava

<sup>2</sup> LF OU, Ostrava

**Cíl:** Ibrutinib je první z inhibitorů B-buněčného receptoru (iBCR), které se vážou na cysteinové residuum Brutonovy tyrozinkinázy. Nejedná



se o zcela selektivní vazbu, inhibiční efekt byl pozorován na několika dalších kinázách [1]. Blokovány jsou např. kinázy signalizačních drah receptoru epidermálního růstového faktoru (EGFR) [1], což se v praxi může projevit kožní toxicitou podobně jako u jiných inhibitorů EGFR [2]. Kožní nežádoucí účinky (ve formě exantému) byly v registrační studii RESONATE pozorovány u 8 % (16/191) pacientů [3]. Hnisavé záněty kůže a podkoží jsou v literatuře popsány jen v jednotkách případů [4,5].

**Metody:** V retrospektivní analýze jsme hodnotili kožní toxicitu (exantém, hnisavé záněty kůže a podkoží) u pacientů léčených ibrutinibem od roku 2015 do dubna 2021. Kožní projevy byly hodnoceny dle kritérií CTCAE (Common Terminology Criteria for Adverse Events) v5.0. Do hodnocení bylo zařazeno 42 nemocných s B-lymfoproliferativním onemocněním, nejčastěji s chronickou B-lymfocytární leukémií (viz. tabulka). Medián věku byl 71let (47–93 let), medián předchozích léčebných linií byl 2 (1–4).

**Výsledky:** Kožní komplikace jakéhokoliv stupně se objevily u 16,6 % (7/42) nemocných, všichni byli léčeni pro CLL. Exantém 1.–2. stupně se vyskytl u 7 % (3/42), exantém 3. stupně u 2,3 % (1/42) pacientů. Hnisavé paronychie nebo jiné hnisavé záněty kůže a podkoží 2–4. stupně se objevily u 14,28 % (6/42). Medián vzniku komplikací byl

6 měsíců (1,6–33,5 měsíce). Záněty se nejčastěji objevovaly v okolí nehtových lůžek prstů horních (12 % – 5/42) a dolních končetin (5 % – 2/42), méně často v oblasti obličeje (2,3 % – 1/42), zápěstí (2,3 % – 1/42) a paty (2,3 % – 1/42). Pro nehojící se paronychie byla u jednoho pacienta indikována amputace dvou článků prstu ruky, u dalšího vedla purulentní tendovaginitida k resekci flexorů třetího prstu pravé horní končetiny. Léčba ibrutinibem byla z důvodu kožní toxicity ukončena u 7 % (3/42) pacientů, u 2,3 % (1/42) byla přerušena a následně redukována na dávku 280 mg/den.

**Závěr:** Hnisavé záněty kůže a podkoží vyvolané ibrutinibem se v klinické praxi vyskytují pravděpodobně častěji, než je popisováno v literatuře. Na našem pracovišti jsme tento typ toxicity pozorovali i u pacientky léčené acalabrutinibem. Lze tedy očekávat, že i generace více selektivních iBCR bude u části nemocných způsobovat kožní komplikace.

#### Literatura

1. Advani, R. H. et al., J. Clin. Oncol. 2013, doi: 10.1200/JCO.2012.42.7906.
2. Kozuki et al., Jpn. J. Clin. Oncol. 2016, doi: 10.1093/jjco/hyv207.
3. Byrd, J. C. et al. N. Engl. J. Med. 2014, doi: 10.1056/NEJMoa1400376.
4. Desiree M. et al. PHARMACOLOGY 2016, doi.org/10.1016/j.jaad.2016.02.874.
5. Yorulmaz. et al. Skin Appendage Disord. 2020, doi: 10.1159/000502986.

**Tabulka. Kožní toxicita inhibitorů B-buněčného receptoru.**

Diagnóza	Režim	n	Věk medián (rok)	Linie léčby medián (počet)	Kožní toxicita
		42			16 % (7/42)
CLL	Ibrutinib	30	71 (47–93)	2 (1–4)	16 % (7/42)
MCL		9			0%
SMZL		1			0%
WM		2			0%
B-PLL		1			0%
CLL	Acala/Ven	1	78	1	100%
CLL	Zanubrutinib	7	70 (55–78)	2 (2–4)	0%

#### Ibrutinib – kožní toxicita

Typ toxicity	Doba do prvních příznaků medián (měsíce)	Stupeň 1–2	Stupeň 3–4
exantém	11,28 (1,6–33,5)	7 % (3/42)	2,3 % (1/42)
hnisavé záněty kůže a podkoží	4,4 (1,6–11,28)	14,28 % (6/42)*	
		(počet pacientů)	(počet pacientů)
paronychie HK		2	0
paronychie s amputací článků prstu HK		0	1
paronychie s flegmonou prstu HK		0	1
purulentní tendovaginitida flexorů prstu HK		0	1
paronychie prstů DK		1	1
jiné (obličej, zápěstí, dolní končetiny)		3	0

\* 6 pacientů s hnisavými záněty kůže a podkoží, 2 pacienti měli vícečetné postižení

# MNOHOČETNÝ MYELOM

## P61. DLOUHODOBÉ VÝSLEDKY PRVNÍCH AUTOLOGNÍCH TRANSPLANTACÍ U MNOHOČETNÉHO MYELOMU V SOUBORU 407 PACIENTŮ: ZKUŠENOST JEDNOHO CENTRA

Krejčí M., Pour L., Sandecká V., Štork M., Adam Z., Král Z., Mayer J.

*Interní hematologická a onkologická klinika FN Brno*

**Úvod a cíl:** Autologní transplantace krvetvorných buněk (auto-HCT) je standardní součástí terapie symptomatického mnohočetného myelomu (MM) a je indikována v rámci první léčebné linie u vhodných pacientů s MM do 65–70 let věku. Cílem sdělení je vyhodnocení efektivity auto-HCT v souboru 407 pacientů s MM a definování faktorů důležitých pro prodloužení doby do progresu (TTP) a celkového přežití (OS).

**Metody:** Bylo vyhodnoceno 407 pacientů s MM, kteří byli léčeni auto-HCT v rámci terapie první linie v období 1995–2016, medián sledování byl 7,5 let. Jako přípravný režim byl podán melfalan 200 mg/m<sup>2</sup> u 90 % pacientů a melfalan 100–140 mg/m<sup>2</sup> u 10 % pacientů s renální insuficiencí. K hodnocení léčebných odpovědí byla použita standardní kritéria.

**Výsledky:** Medián věku byl 57 let, ISS stádia 1,2,3 byla následující: 49 %, 35 %, 16 %. Celková léčebná odpověď (ORR) po auto-HCT byla 89 %, 32 % pac. dosáhlo kompletní remise (CR), 37 % VGPR, 20 % PR. Medián TTP od auto-HCT byl 31,3 měsíce, medián OS 100,7 měsíce. Přežití bez progresu/relapsu MM v 12 letech od auto-HCT bylo v různých kategoriích léčebných odpovědí následující: CR 41 %, VGPR 11 %, PR 10 %. Dosažení CR je nejvýznamnější prognostický faktor pro TTP ( $p < 0,001$ ) i OS ( $p < 0,001$ ), pacienti v CR mají mediány TTP 61 měsíců a OS 153 měsíců. Dle univariační analýzy jsou další faktory významné pro delší TTP věk pod 60 let, nepřítomnost delece 17p13 či translokace t(4;14), terapie potransplantačního relapsu novými léky. Podle výsledků multivariační analýzy jsou faktory významné pro prodloužení OS ISS stadium jiné než 3 ( $p < 0,001$ ), věk pod 60 let v době auto-HCT ( $p = 0,001$ ) a léčba lenalidomidem v rámci potransplantačního relapsu ( $p < 0,001$ ).

**Závěr:** Autologní HCT spolu s novými léky je dlouhodobě efektivní léčebná strategie u vhodných MM pacientů s ORR 89 %, mediány TTP a OS jsou 31 a 100 měsíců. Nejdůležitější prognostický faktor pro TTP i OS je dosažení CR.

## P62. EXTRAMEDULÁRNÍ EXPANZE MYELOMOVÝCH PLAZMOCYTŮ DO CNS

Říhová L.<sup>1</sup>, Bezděková R.<sup>1</sup>, Poláčková P.<sup>1</sup>, Suská R.<sup>1</sup>, Sandecká V.<sup>2</sup>, Štork M.<sup>2</sup>, Pour L.<sup>2</sup>, Penka M.<sup>1</sup>, Ševčíková S.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Oddělení klinické hematologie, FN Brno

<sup>2</sup> Interní hematologická a onkologická klinika FN Brno

<sup>3</sup> Babákova myelomová skupina, LF MU, Brno

**Úvod:** Mnohočetný myelom (MM) je charakterizován přítomností klonálních plazmocytů (PC) lokalizovaných zpravidla v kostní dřeni (BM).

U pacientů může dojít ke ztrátě závislosti na mikroprostředí a vycestování PC mimo BM. Cirkulující plazmocyty (cPC) jsou detekovány v periferní krvi naprosté většiny MM pacientů, u mnoha pacientů může být detekováno primární či sekundární extramedulární postižení. Přítomnost myelomových PC v mozkomíšním moku (CSF) je poměrně vzácná.

**Cíl:** Detekce myelomových PC v CSF a srovnání jejich fenotypu s PC z jiných kompartmentů s cílem identifikace patologického „cestujícího“ subklonu.

**Pacienti a metody:** Bylo analyzováno 24 vzorků CSF od MM pacientů. Vzorky byly bezprostředně po doručení zkoncentrovány, inkubovány s monoklonálními protilátkami CD38/CD138/CD45/CD19/CD56/CD27/CD14/CD5, a po lýze NH<sub>4</sub>Cl analyzovány na průtokovém cytometru.

**Výsledky:** Medián počtu leukocytů byl 335 buněk (rozsah 19–6013), dominovaly lymfocyty s mediánem 74 % (20–100). Infiltrace myelomovými PC byla zjištěna u 33,3 % vzorků (8/24) s mediánem 22,8 % PC (1,2–70,0) či 103 PC (22–2985). Byly detekovány pouze myelomové PC, které neexprimovaly CD19, exprese CD56 byla zjištěna u 62,5 % (5/8) pacientů. Fenotyp PC v CSF, BM, periferní krvi a tumoru (které byly u vybraných MM pacientů dostupné) byl shodný v rámci CD19/CD56. Vzhledem k tomu, že u těchto nízců buněčných vzorků musí být provedena též základní diagnostika, je 8barevná průtoková cytometrie pro detailnější popis PC nedostatečná. Vesměs všichni pacienti s pozitivním nálezem v CSF byli refrakterní na léčbu, v periferní krvi měli cPC (2 pacienti s primární a 1 se sekundární plazmocelulární leukémií), a u 2 pacientů byl zjištěn extramedulární relaps MM.

**Závěr:** Průtoková cytometrie je efektivní metoda pro detekci myelomových PC, zejména při jejich nefrekventním zastoupení ve vybraných biologických materiálech. Správná analýza nízců buněčných vzorků CSF je klíčová, jelikož prognóza pacientů s infiltrací CNS je špatná. Analýza základního fenotypového profilu PC není dostatečná pro záchyt potenciálního subklonu.

*Podpořeno grantem MZČR AZV NV18-03-00203.*

## P63. SEKUNDÁRNÍ EXTRAMEDULÁRNÍ MNOHOČETNÝ MYELOM – RIZIKOVÉ FAKTORY A PROGNÓZA

Štork M.<sup>1</sup>, Ševčíková S.<sup>2</sup>, Minařík J.<sup>3</sup>, Radocha J.<sup>4</sup>, Špička I.<sup>5</sup>, Pavlíček P.<sup>6</sup>, Jungová A.<sup>7</sup>, Hájek R.<sup>8</sup>, Pour L.<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup> Babákova myelomová skupina, Ústav patologické fyziologie, LF MU, Brno

<sup>3</sup> Hemato-onkologická klinika LF UP a FN Olomouc

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

<sup>5</sup> I. interní klinika – klinika hematologie 1. LF UK a VFN v Praze

<sup>6</sup> Interní hematologická klinika 3. LF UK a FN Královské Vinohrady, Praha

<sup>7</sup> Hematologicko onkologické oddělení, LF UK a FN Plzeň

<sup>8</sup> Klinika hematoonkologie LF OU a FN Ostrava

**Cíl:** Extramedulární mnohočetný myelom (EM) je charakterizován výskytem plazmatických buněk mimo kostní dřev. V případě

sekundárního EM je první manifestace EM ve fázi relabovaného či refrakterního mnohočetného myelomu (RRMM). Tato forma EM je spjata s nepříznivou prognózou, proto jsme analyzovali rizikové a prognostické faktory na základě klinických či laboratorních charakteristik.

**Metody:** Z celkem 4 985 pacientů s mnohočetným myelomem (MM) diagnostikovaných v celé ČR v letech 2005–2017 bylo nalezeno 234 pacientů se sekundárním EM. Jako kontrolní skupina bylo analyzováno 2092 pacientů s MM bez anamnézy EM. Při analýze rizikových faktorů vzniku sekundárního EM byla analyzována klinická a laboratorní data v době diagnózy MM.

**Výsledky:** Mladší věk (< 65let, HR 4,38 [95% CI: 2,46–7,80];  $p < 0,001$ ), vyšší hladina LDH (> 5  $\mu\text{kat/l}$ ) (HR 2,07 [95% CI: 1,51–2,84];  $p < 0,001$ ), více než 2 osteolytická ložiska (HR 2,21 [95% CI: 1,54–3,15];  $p < 0,001$ ) a IgA (HR 1,53 [95% CI: 1,11–2,11];  $p = 0,009$ ) nebo nesekreční typ MM (HR 2,83 [95% CI: 1,32–6,04];  $p = 0,007$ ) v době diagnózy MM byly zjištěny jako hlavní rizikové faktory pro budoucí rozvoj sekundárního EM. Bylo potvrzeno, že sekundární EM je nezávislým rizikovým faktorem pro špatnou prognózu MM (PFS: HR 1,39 [95% CI: 1,06–1,81];  $p = 0,016$  a OS: HR 1,61 [95% CI: 1,20–2,15];  $p = 0,001$ ). Pacienti s RRMM a budoucím vývojem EM mají před rozvojem EM srovnatelnou prognózu jako pacienti s RRMM bez budoucího vývoje EM (medián PFS 10,1 měsíce [95% CI: 8,1–12,0] vs. 12,1 měsíce [95% CI: 11,3–12,8];  $p = 0,558$ ).

**Závěr:** Pacienti s MM se specifickými rizikovými faktory spojenými s vývojem sekundárního EM mají normální průběh onemocnění do doby rozvoje sekundárního EM. Po rozvoji EM je prognóza těchto pacientů špatná.

Podpořeno grantem AZV 17-29343A.

## P64. MASS SPECTROMETRY COUPLED WITH ARTIFICIAL NEURAL NETWORKS FOR DISCRIMINATION OF EXTRAMEDULLARY MULTIPLE MYELOMA

Gregorová J.<sup>1,2</sup>, Adamová S.<sup>1</sup>, Pečinka L.<sup>3,4</sup>, Moráň L.<sup>1,5</sup>, Porokh V.<sup>1,6</sup>, Štork M.<sup>7</sup>, Pour L.<sup>7</sup>, Havel J.<sup>3,4</sup>, Vaňhara P.<sup>1,6</sup>, Ševčíková S.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Babákova myelomová skupina, LF MU, Brno

<sup>2</sup>Oddělení klinické hematologie, FN Brno

<sup>3</sup>ICRC, FN USA, Brno

<sup>4</sup>Ústav chemie, PŘF MU, Brno

<sup>5</sup>RECAMO, MOU, Brno

<sup>6</sup>Ústav histologie a embryologie, LF MU, Brno

<sup>7</sup>Interní hematologická a onkologická klinika FN Brno

**Introduction:** Multiple myeloma (MM) is the second most common hematological malignancy of the elderly. The bone marrow is infiltrated by malignant plasma cells. MM may progress into so-called extramedullary disease (EMD). EMD occurs when a subclone of clonal plasma cells migrates out of the bone marrow and infiltrates soft tissues.

**Aim:** We focused on the analysis of low molecular weight molecules in peripheral blood of 20 MM and 20 EMD patients using MALDI-TOF

mass spectrometry to create a diagnostic tool based on prediction by artificial neural network, which should distinguish different groups of diseases.

**Methods:** Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF MS) has become an indispensable research tool, which is used for analysis of biomolecules and various organic molecules. Artificial Neural Networks (ANN) are components of artificial intelligence inspired by biological neural networks. Using ANN, we can model complex non-linear systems, as previously published. In our previous study, we recorded mass spectra of MM and healthy donor samples. ANN specifically predicted MM samples with high sensitivity, specificity and accuracy.

**Results:** The RStudio was used for statistical analysis, where the data were evaluated using Principal Component Analysis (PCA) and Partial least squares discriminant analysis (PLS-DA). Using MALDI-TOF MS, it was possible to distinguish between samples of MM patients and healthy donors, as well as MM and EMD patients. Informative patterns in mass spectra served as inputs for ANN that specifically distinguished between healthy donors and patients.

**Conclusion:** We demonstrated that using MALDI-TOF MS coupled with ANN is a useful tool that can distinguish between healthy donors and patients. Thus, it can be used as a fast alternative to conventional analyses.

*This study was supported by grants of the Ministry of Health of the Czech Republic, grant nr. NV18-08-00299, AZV 18-03-00203, and Masaryk University (project no. MUNI/A/1421/2019).*

## P65. DYSREGULACE MIKRORNA U PACIENTŮ S MNOHOČETNÝM MYELOMEM A EXTRAMEDULÁRNÍM ONEMOCNĚNÍM

Gregorová J.<sup>1,2</sup>, Radová L.<sup>3</sup>, Brožová L.<sup>4</sup>, Jarkovský J.<sup>4</sup>, Bezděková R.<sup>2</sup>, Říhová L.<sup>2</sup>, Almáši M.<sup>2</sup>, Štork M.<sup>5</sup>, Minařík J.<sup>6</sup>, Jelínek T.<sup>7</sup>, Hájek R.<sup>7</sup>, Pour L.<sup>5</sup>, Ševčíková S.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Babákova myelomová skupina, LF MU, Brno

<sup>2</sup>Oddělení klinické hematologie, FN Brno

<sup>3</sup>Ceitec, LF MU, Brno

<sup>4</sup>IBA, LF MU, Brno

<sup>5</sup>Interní hematologická a onkologická klinika, FN Brno

<sup>6</sup>Hemato-onkologická klinika, FN Olomouc

<sup>7</sup>Klinika hematoonkologie, FN Ostrava

**Úvod:** Mnohočetný myelom (MM) je druhé nejčastější hematoonkologické onemocnění charakterizované infiltrací kostní dřevě maligními plazmatickými buňkami. V ojedinělých případech může dojít k migraci těchto buněk mimo kostní dřeň a ztrátě závislosti na mikroprostředí kostní dřevě a vzniku tzv. extramedulárního onemocnění (EMD).

**Cíl:** Cílem tohoto projektu byla analýza profilu mikroRNA (miRNA) v plazmatických buňkách kostní dřevě u pacientů s MM vs EMD.

**Metody:** V explorativní fázi studie bylo použito sekvenování nové generace (NGS) k analýze dysregulovaných molekul miRNA.

V této fázi bylo použito 31 MM a 13 EM pacientů. Vybrané miRNA byly poté validovány s využitím RT-qPCR, za použití kitu Taqman Advanced miRNA Assay. Ve validační fázi bylo zahrnuto 31 MM a 8 EM pacientů.

**Výsledky:** V explorativní fázi bylo celkově osekvenováno 2278 miRNA, přičemž do následné analýzy bylo vzato 632 miRNA s minimálně 1 readem na milión v alespoň 20 vzorcích. Analýza prokázala 43 odlišně exprimovaných miRNA ( $p < 0,025$ ) mezi MM a EMD pacienty. Pro validační fázi bylo vybráno 7 miRNA, které byly statisticky nejvýznamnější.

**Závěr:** Tato analýza prokázala odlišně exprimované miRNA mezi MM a EM pacienty, které by mohly usnadnit vycestování plazmatických buněk z mikroprostředí kostní dřeně a způsobovat tak vznik EM.

*Tato práce byla podpořena grantem MZ ČR NV18-003-00203.*

## P66. DEREGULACE EXPRESE DLOUHÝCH NEKÓDUJÍCÍCH MOLEKUL RNA U PLAZMOCELULÁRNÍ LEUKEMIE

Gregorová J.<sup>1,2</sup>, Bútová R.<sup>1</sup>, Radová L.<sup>3</sup>, Brožová L.<sup>4</sup>, Jarkovský J.<sup>4</sup>, Bezděková R.<sup>2</sup>, Říhová L.<sup>2</sup>, Almáši M.<sup>2</sup>, Štork M.<sup>5</sup>, Pour L.<sup>5</sup>, Ševčíková S.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Babákova myelomová skupina, LF MU, Brno

<sup>2</sup>Oddělení klinické hematologie, FN Brno

<sup>3</sup>Ceitec, LF MU, Brno

<sup>4</sup>IBA, LF MU, Brno

<sup>5</sup>Interní hematologická a onkologická klinika FN Brno

**Úvod:** Mnohočetný myelom (MM) je druhé nejčastější hemato-onkologické onemocnění starších lidí charakterizované infiltrací kostní dřeně maligními plazmatickými buňkami. V ojedinělých případech může dojít k migraci těchto buněk do periferní krve a ztrátě jejich závislosti na mikroprostředí kostní dřeně. Tyto klonální buňky migrují do periferní krve a dávají vznik plasmocelulární leukemii (PCL).

**Cíl:** Cílem této práce bylo analyzovat dysregulaci exprese dlouhých nekódujících molekul RNA (lncRNA) u pacientů s MM vs PCL a objasnit jejich zapojení do progresu MM do PCL.

**Metody:** lncRNA byly izolovány z CD138+ buněk separovaných z kostní dřeně 11 PCL a 6 MM pacientů a bylo provedeno sekvenování nové generace (NGS) a qRT-PCR pro validaci. V explorativní fázi byla využita metoda NGS – ribosomální RNA byla depletována pomocí Ribo-Zero-Gold rRNA Removal Kit (Illumina, USA). Knihovny cDNA byly připraveny pomocí NEBNext Ultra II Directional RNA Library Prep Kit a NEBNext Multiplex Oligos (Illumina, USA). Knihovny byly sekvenovány na NextSeq 500 Sequencing System pomocí NextSeq 500/550 High Output Kit v.2 (Illumina, USA).

**Výsledky:** Bylo nalezeno celkem 58 dysregulovaných molekul lncRNA. Ve validační fázi byla ověřena deregulace 4 lncRNA na nezávislém souboru 28 MM a 12 PCL. U dvou lncRNA molekul se potvrdila jejich statistická významnost.

**Závěr:** Tato studie prokázala, že existují rozdílně exprimované lncRNA, které mohou být zapojeny do patogeneze PCL.

*Tato práce byla podpořena grantem MZ ČR NV18-003-00203.*

## P67. DEREGULOVANÁ EXPRESE EXOZOMÁLNÍCH MIKRORNA V MIKROPROSTŘEDÍ KOSTNÍ DŘENĚ PACIENTŮ S MNOHOČETNÝM MYELOMEM, EXTRAMEDULÁRNÍM ONEMOCNĚNÍM A PLAZMOCELULÁRNÍ LEUKEMIÍ

Gregorová J.<sup>1,2</sup>, Žárská M.<sup>1</sup>, Vlachová M.<sup>1</sup>, Radová L.<sup>3</sup>, Brožová L.<sup>4</sup>, Bezděková R.<sup>2</sup>, Říhová L.<sup>2</sup>, Almáši M.<sup>2</sup>, Štork M.<sup>5</sup>, Pour L.<sup>5</sup>, Ševčíková S.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Babákova myelomová skupina, LF MU, Brno

<sup>2</sup>Oddělení klinické hematologie, FN Brno

<sup>3</sup>Ceitec, LF MU, Brno

<sup>4</sup>IBA, LF MU, Brno

<sup>5</sup>Interní hematologická a onkologická klinika FN Brno

**Úvod:** Mnohočetný myelom (MM) je druhé nejčastější hemato-onkologické onemocnění starších lidí. Je charakterizováno infiltrací kostní dřeně maligními plazmatickými buňkami. V ojedinělých případech tyto maligní buňky ztrácejí závislost na mikroprostředí kostní dřeně a migrují buď do periferní krve v případě plasmocelulární leukemie (PCL) nebo do měkkých tkání v případě extramedulárního onemocnění (EMD). Právě mikroprostředí kostní dřeně podporuje vznik jak PCL, tak EMD.

**Cíl:** Cílem této práce bylo analyzovat expresi exozomálních mikroRNA (miRNA) v plazmě kostní dřeně u pacientů s MM, EMD a PCL.

**Metody:** Exozomy byly izolovány pomocí exkluzní chromatografie, která využívá rozdělení molekul na základě jejich velikosti. pomocí qEV kolonek. MiRNA byly izolovány z exozomů za použití miRNeasy Micro Kitu. V explorativní fázi byla využita metoda sekvenování nové generace (NGS) – knihovny byly připraveny pomocí CleanTag Small RNA Library Preparation Kit. Sekvenování proběhlo na přístroji NextSeq 500, s využitím platformy Illumina. Pro tuto fázi bylo použito 8 MM, 6 EMD a 8 PCL vzorků. Pro validační fázi byla zvolena metoda RT-qPCT pomocí kitu Taqman Advanced miRNA Assay a použito bylo 30 MM, 10 PCL a 20 EM vzorků.

**Výsledky:** V explorativní fázi bylo celkově osekvenováno 1 128 miRNA, přičemž do následné analýzy bylo vzato 222 miRNA s minimálně 1 readem na milión v alespoň 8 vzorcích. Analýza prokázala 6 odlišně exprimovaných miRNA ( $p < 0,095$ ) mezi třemi skupinami pacientů. Všechny tyto miRNA byly použity ve validační fázi studie. Validační fáze je v současné době analyzována.

**Závěr:** Tato studie prokázala, že existují rozdílně exprimované exozomální miRNA mezi MM, EMD a PCL pacienty. Tyto miRNA mohou podporovat maligní změny v mikroprostředí kostní dřeně a napomáhat tak růstu a invazivitě EMD a PCL buněk.

*Tato práce byla podpořena grantem MZ ČR NV18-003-00203.*

## P68. REŽIM IRD V LÉČBĚ RELABOVANÉHO A REFRAKTERNÍHO MYELOMU: ANALÝZA PODSKUPIN

Minařík J.<sup>1</sup>, Radocha J.<sup>2</sup>, Jungová A.<sup>3</sup>, Straub J.<sup>4</sup>, Jelínek T.<sup>5</sup>, Pika T.<sup>1</sup>, Pour L.<sup>6</sup>, Pavlíček P.<sup>7</sup>, Mistrík M.<sup>8</sup>, Brožová L.<sup>9</sup>, Krhovská P.<sup>1</sup>, Maisnar V.<sup>2</sup>, Hájek R.<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Hemat-onkologická klinika LF UP a FN Olomouc

<sup>2</sup>IV. interní hematologická klinika LF UK a FN Hradec Králové

<sup>3</sup>Hemato-onkologické oddělení, FN Plzeň

<sup>4</sup>I. Interní klinika – klinika hematologie, VFN v Praze

<sup>5</sup>Klinika hematologie FN Ostrava

<sup>6</sup>Interní hematologická a onkologická klinika FN Brno

<sup>7</sup>Interní hematologická klinika FN Královské Vinohrady, Praha

<sup>8</sup>Klinika hematologie a transfuziologie, Univerzitní nemocnice Bratislava, Bratislava, Slovensko

<sup>9</sup>Institut Biostatistiky a Analýz, s.r.o., Brno

**Úvod:** Naše nedávná analýza potvrdila efektivitu režimu ixazomib, lenalidomid a dexametazon (IRD) v léčbě relabovaného a refrakterního mnohočetného myelomu (RRMM) v rutinní klinické praxi. Cílem sdělení je posoudit podskupiny nemocných, které z léčby IRD neměly dostatečný prospěch.

**Metody:** Hodnocen byl soubor 127 nemocných s RRMM léčených režimem IRD a 217 pacientů léčených dvojkombinací RD bez ixazomibu. Analyzované ukazatele ve vztahu k době do progresu (PFS) byly: věk ( $\leq 65$ ,  $66-75$ ,  $> 75$  let), ISS stádium, cytogenetický profil, extramedulární onemocnění (EM), linie léčby, léčebná odezva, předléčenost inhibitory proteasomu (PI), imunomodulačními léky (IMiD), autologní transplantací krvetvorných buněk (ASCT), stav onemocnění před léčbou (relabující vs relabující a refrakterní).

**Výsledky:** Dřívější analýza prokázala u režimu IRD oproti RD lepší výsledky PFS (17,5 vs. 11,5 měsíců) i OS (36,6 vs. 26,0 měsíců). Negativní vliv na medián PFS byl zjištěn v rameni IRD u: EM, ve vyšších liniích léčby, s vyšším věkem, vyšším stádiem. Předchozí ASCT neměla negativní dopad na prognózu. Současná analýza navíc zjistila: negativní dopad rizikové cytogenetiky (medián PFS 7,3 měsíců, limitováno nízkým počtem pacientů). Předléčenost PI nevedla k horším výsledkům, na rozdíl od předchozí léčby IMiDy, u níž byl nižší medián PFS (11,3 měsíců vs nedosažen). Relabování a refrakterní nemocní měli horší výsledky než ti, kteří byli pouze relabováni (medián PFS 9,7 měsíců vs nedosažen).

**Závěr:** Většina podskupin, které neprofitovaly z žádné léčby, odpovídá buď celkové kondici nemocného nebo agresivitě onemocnění. Skupiny s horšími parametry přežití byly následující: pozdní relaps ( $\geq 4$ ), vyšší věk ( $\geq 75$  let), přítomnost rizikových faktorů – extramedulární choroba, riziková cytogenetika, vyšší stádium onemocnění (ISS 3) a refrakterita k předešlé léčebné linii. Předchozí léčba PI nebo ASCT nevedla k horším výsledkům, ale nemocní předléčení IMiDy měli celkově horší výsledky v obou zkoumaných ramenech.

Za podpory AZV 17-29343A, NV18-03-00500, MH CZ – DRO (FNOI, 00098892), IGA-LF-2020-002.

## P69. LIMITED EFFICACY OF DARATUMUMAB IN MULTIPLE MYELOMA WITH EXTRAMEDULLARY DISEASE

Jelinek T.<sup>1</sup>, Sevcikova T.<sup>1</sup>, Zihala D.<sup>1</sup>, Popkova T.<sup>1</sup>, Kapustova V.<sup>1,2</sup>, Broskevickova L.<sup>1</sup>, Capkova L.<sup>3</sup>, Rihova L.<sup>4</sup>, Bezdekova R.<sup>4</sup>, Sevcikova S.<sup>5</sup>, Zidlik V.<sup>6</sup>, Havel M.<sup>7</sup>, Plonkova H.<sup>1</sup>, Jungova A.<sup>8</sup>, Minarik J.<sup>9</sup>, Pour L.<sup>10</sup>, Pavlicek P.<sup>11</sup>, Spicka I.<sup>12</sup>, Maisnar V.<sup>13</sup>, Radocha J.<sup>13</sup>, Simicek M.<sup>1</sup>, Hajek R.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Hematooncology, University Hospital Ostrava and Faculty of Medicine, University of Ostrava,

<sup>2</sup>Department of Biology and Ecology, Faculty of Science, University of Ostrava, Ostrava

<sup>3</sup>Institute of Biostatistics and Analyses, Ltd., Brno

<sup>4</sup>Department of Clinical Hematology, University Hospital Brno

<sup>5</sup>Babak Myeloma Group, Department of Pathophysiology, Faculty of Medicine, Masaryk University, Brno

<sup>6</sup>Department of Pathology, University Hospital Ostrava

<sup>7</sup>Department of Nuclear Medicine, University Hospital Ostrava

<sup>8</sup>Hematology and Oncology Department, Charles University Hospital Pilsen, Pilsen

<sup>9</sup>Department of Hematooncology, University Hospital Olomouc and Faculty of Medicine and Dentistry, Palacky University Olomouc

<sup>10</sup>Department of Internal Medicine, Hematology and Oncology, University Hospital Brno and Faculty of Medicine, Masaryk University, Brno

<sup>11</sup>Department of Internal Medicine and Hematology, University Hospital Kralovske Vinohrady, Prague

<sup>12</sup>1st Medical Department – Clinical Department of Haematology, First Faculty of Medicine and General Teaching Hospital Charles University, Prague

<sup>13</sup>34th Department of Internal Medicine – Hematology, University Hospital Hradec Kralove, Charles University, Faculty of Medicine in Hradec Kralove

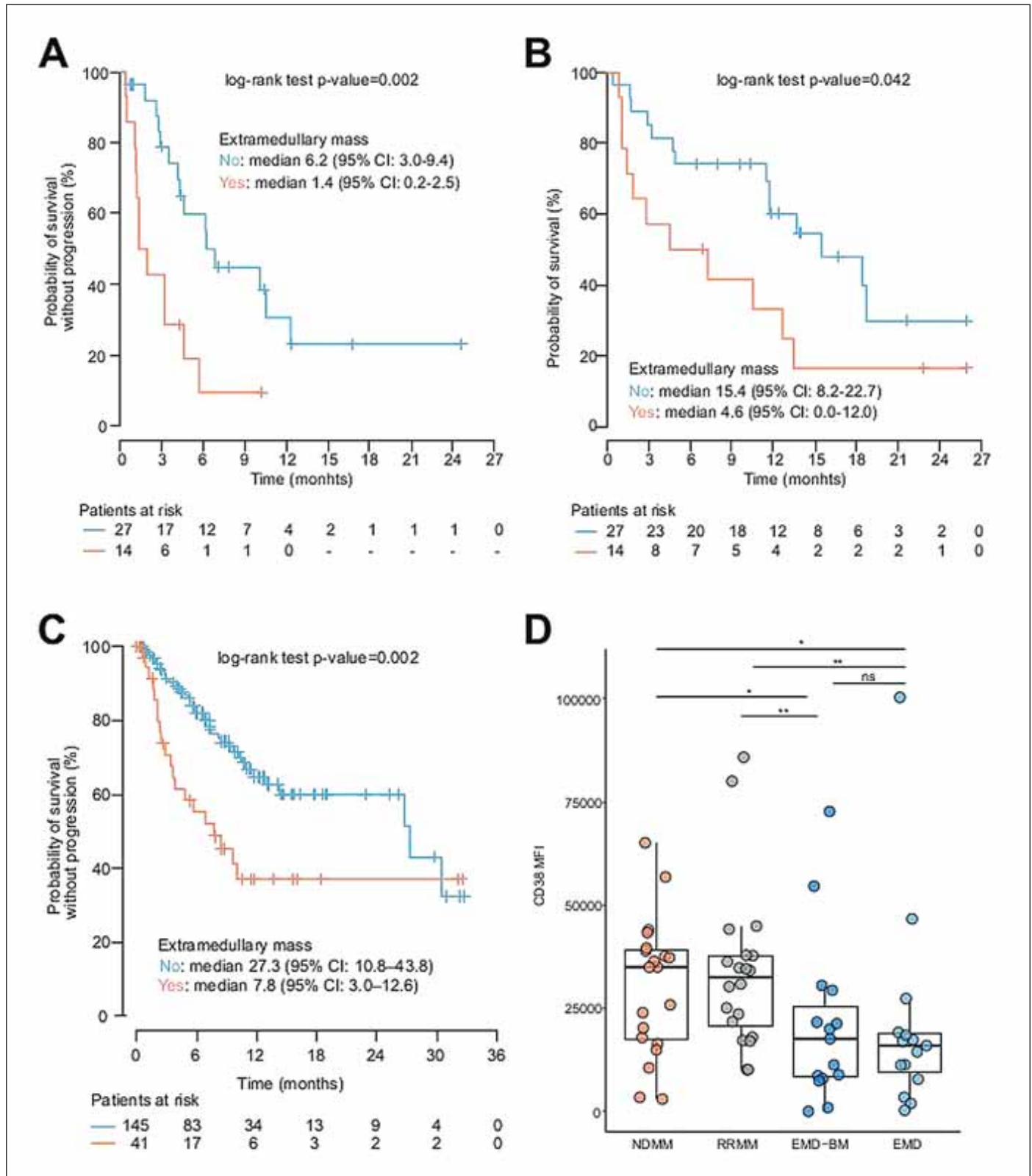
**Aim:** Although novel agents have been incorporated into therapeutic strategies of multiple myeloma (MM), the treatment options for patients with extramedullary myeloma disease (EMD) remain undefined and unsatisfactory. Daratumumab, monoclonal antibody targeting CD38 antigen, has been rapidly implemented as a backbone agent of the standard of care regimens due to its unprecedented efficacy. No data regarding its activity in EMD are currently available; therefore, we aimed to shed light on its efficacy in this setting.

**Methods:** Relapsed-refractory myeloma (RRMM) patients both with and without EMD treated with daratumumab were retrospectively analyzed. After demonstrating agent's lower efficacy in EMD, we decided to use multicolor flow cytometry and RNAseq to quantify the expression of CD38 antigen.

**Results:** The therapeutic outcome of patients with EMD was significantly worse compared to the ones without EMD when treated with daratumumab monotherapy (N = 41) – ORR 21.4% vs. 50.0%, mPFS 1.4 months vs. 6.2 months (P = 0.002) (A), mOS 4.6 months vs. 15.4 months (P = 0.042) (B) as well as with combined regimen of daratumumab, lenalidomide and dexamethasone (N = 186) – ORR 57.7 vs. 85.4% (P = 0.0048), mPFS 7.8 months vs. 27.3 months

( $P = 0.002$ ) (C). The underlying mechanism of lower efficacy is unknown but we observed decreased expression of CD38 on PCs isolated from EM tissue ( $N = 15$ ) compared with the bone marrow (BM) PCs from unpaired newly diagnosed myeloma ( $N = 20$ ) and RRMM patients ( $N = 20$ ) where median mean fluorescence intensity counted 15 946 vs. 34 958 ( $P = 0.03$ ) and 15 946 vs. 32 500 ( $P = 0.0068$ ),

respectively. These results were confirmed on five EMD samples and their paired BM samples from the time of MM diagnosis where normalized read count median was 716.5 and 1525.1, respectively (D). **Conclusion:** We demonstrated that daratumumab is significantly less active in patients with EMD which can be, at least in part, explained by decreased CD38 expression on EM PCs.



## P70. IMMUNOPHENOTYPIC PROFILE AND CLINICAL CHARACTERISTICS OF PRIMARY AND SECONDARY PLASMA CELL LEUKEMIA

Bezděková R.<sup>1,2</sup>, Jelínek T.<sup>3</sup>, Králová R.<sup>1</sup>, Štork M.<sup>2,4</sup>, Poláčková P.<sup>1,2</sup>, Všíanská P.<sup>1,2</sup>, Brožová L.<sup>5</sup>, Almáši M.<sup>1,2</sup>, Boichuk I.<sup>2,4</sup>, Knechtová Z.<sup>4</sup>, Penka M.<sup>1</sup>, Pour L.<sup>2,4</sup>, Ševčíková S.<sup>1,2</sup>, Říhová L.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>OKH, FN Brno, Brno

<sup>2</sup>BMG, LF MU, Brno

<sup>3</sup>KHO, FN Ostrava a LF OU, Ostrava

<sup>4</sup>IHOK, FN Brno, Brno

<sup>5</sup>IBA, LF MU, Brno

**Background:** Plasma cell leukemia (PCL) is a rare and very aggressive plasma cell disorder characterized by the presence of circulating plasma cells (cPC) in peripheral blood (PB). Dismal outcome of PCL requires early diagnosis with appropriate analytical tools. Development of flow cytometry together with some newly analysed antigens may reveal some marker affecting the prognosis of PCL patients.

**Aim:** Analysis of phenotypic profile of cPC/PCs to find association with clinical outcomes and to evaluate the prognostic value of analyzed markers.

**Methods:** Total of 33 primary and secondary PCL patients were investigated and circulating plasma cells (PCs) quantity and phenotype profile was analysed by polychromatic flow cytometry.

**Results:** Flow cytometry is an excellent method for circulating PCs identification as a significantly higher number was identified by flow cytometry than by morphology (26.7 vs 13.5%;  $P = 0.02$ ). None of secondary PCL cases expressed CD19 or CD20. Low level of expression with similar positivity of CD27, CD28, CD81, and CD117 were found in both PCLs. Decrease of CD44 expression was detected only in secondary PCL. Expression of CD56 was present in more than half of PCL cases as well as cytoplasmic nestin. Decreased level of platelets, ECOG score 2–3 and lack of CD20+ PC were associated with higher risk of death.

**Summary/Conclusion:** Flow cytometry should be incorporated in PCL diagnostics as not only providing number of circulating PCs, which is in addition overcoming morphology assessment. Moreover, PCL phenotype profile could be connected to patient's diagnosis and possible prognosis.

Supported by grant AZV NV18-03-00203.

## P71. KLINICKÝ VÝZNAM CHROMOZOMOVÝCH ABERACÍ TYPICKÝCH PRO MDS U NEMOCNÝCH S MNOHOČETNÝM MYELOMEM

Pavlišťová L.<sup>1</sup>, Berková A.<sup>1</sup>, Lizcová L.<sup>1</sup>, Svobodová K.<sup>1</sup>, Hodaňová L.<sup>1</sup>, Vidláková D.<sup>1</sup>, Izáková S.<sup>1</sup>, Straub J.<sup>2</sup>, Špička I.<sup>2</sup>, Stopka T.<sup>2</sup>, Jonášová A.<sup>2</sup>, Zemanová Z.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centrum nádorové cytogenomiky, Ústav lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky, 1. LF UK a VFN v Praze

<sup>2</sup>1. interní klinika-klinika hematologie 1. LF UK a VFN v Praze

**Úvod a cíl:** U léčených nemocných s mnohočetným myelomem (MM) bylo prokázáno vyšší riziko vzniku sekundárních myeloidních malignit, zejména myelodysplastických syndromů (MDS). Rekurentní chromozomové aberace jsou u obou diagnóz dobře charakterizovány a cytogenomické vyšetření je v obou případech důležitou součástí prognostické stratifikace nemocných. Nález klonu s aberacemi typickými pro MDS se u nemocných s MM nemusí projevit klinicky, byla však zjištěna jejich asociace s kratším přežitím. Cílem studie bylo provést retrospektivní analýzu velké skupiny pacientů s MM, identifikovat nemocné se současným nálezem klonálních MDS aberací a posoudit jejich vliv na prognózu nemocných.

**Metody:** V letech 2005–2020 jsme kombinací cytogenomických metod (G-pruhy, clg-FISH, mFISH/mBAND) vyšetřili karyotyp 1 415 pacientů s MM. Přítomnost myeloidních aberací jsme ověřili interfázni FISH na plné kostní dřeni.

**Výsledky:** Zachytili jsme celkem 13 případů se současným výskytem MM a myeloidní aberace. U čtyř dosud neléčených pacientů jsme již při prvním diagnostickém odběru detekovali klonální aberace charakteristické pro MDS [2x del(20q), 1x del(7q), 1x del(5q) současně s trisomií 8]. MDS byl potvrzen u dvou z nich, u dalších dvou byly popsány mírné dysplastické změny. U devíti pacientů jsme myeloidní buněčný klon detekovali až při opakovaném vyšetření v průběhu léčby [1x del(20q), 2x del(5q), 1x trisomie 8, 1x del(11q), 4x komplexní karyotyp], MDS byl potvrzen u šesti z nich. V celém souboru v současné době čtyři pacienti žijí a devět zemřelo (medián OS od vzniku MDS aberace 7 měsíců).

**Závěr:** Zachytili jsme čtyři případy vzácné primární koincidence MM a myeloidních aberací u neléčených pacientů a devět případů sekundárního výskytu myeloidních změn. Tento nález byl asociován se zhoršenou prognózou, ačkoli MDS nebyl potvrzen u všech nemocných. Nález klonu s myeloidními aberacemi může identifikovat

pacienty se zvýšeným rizikem rozvoje sekundárního MDS. Zejména u déle léčených pacientů s MM je proto důležité zaměřit se při cytogenomické analýze i na tyto aberace.

Podpořeno RVO-64165, ProgresQ28.

## P72. LOW DOSE LENALIDOMIDE AND LOW DOSE DEXAMETHASONE – LESS IS MORE

Kotoucek P.<sup>1</sup>, Chowdhury V.<sup>1</sup>, Dayley D.<sup>1</sup>, Fowler E.<sup>1</sup>, Joyce J.<sup>2</sup>, Khurshid M.<sup>1</sup>, McEwan L.<sup>3</sup>, Nightingill J.<sup>1</sup>, Tetucci A.<sup>4</sup>, Wade A.<sup>1</sup>, Nagi W.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Clinical Haematology, Broomfield Hospital, Mid and South Essex Hospitals, Chelmsford, UK

<sup>2</sup>Haematology and Oncology Pharmacy, Southend Hospital, Mid and South Essex Hospitals, Westcliff-on-Sea, UK

<sup>3</sup>Haematology and Oncology Pharmacy, Broomfield Hospital, Mid and South Essex Hospitals, Chelmsford, UK

<sup>4</sup>Biochemistry, Broomfield Hospital, Mid and South Essex Hospitals, Chelmsford, UK

**Introduction:** Immunomodulatory treatments with Lenalidomide and Dexamethasone are effective in controlling myeloma in the long term mainly by restoring the balance of the patient immune cancer surveillance. Its long-term use is known to impact bone marrow cellularity and also increases the risk of secondary cancers. Mike Katz, patient with myeloma and Prof. Rajkumar published in The Lancet 2010 randomized trial showing better outcomes with low dose dexamethasone. Prof. Larocca et al published in Blood 2021 data from randomized controlled trial which compared lenalidomide dexamethasone (LenDex) in the long-term full dose (Len 25mg, Dex 20mg) with only 9 cycles of the full dose reduced from cycle 10 to lenalidomide 10 mg and stopping dexamethasone completely. The outcome was surprisingly better in all parameters including OS in the low dose arm. Defining the well-balanced dose and duration of LenDex is critical to maintain the best efficacy whilst also minimising toxicity.

**Methods:** We collected retrospective data of all patients on active lenalidomide based regimes in our center and provided an analysis of dosing LenDex beyond cycle 9 based on patient tolerance.

**Results:** All patients = 41, female = 15, male = 26, median age = 74, range 48–88. Median of number of cycles per patient was 9, range 1–88. Number of patients on LenDex beyond cycle 9 was 20 patients. Dose of lenalidomide beyond cycle 9 was 10 mg (median), 12.26 mg (average). Dose of dexamethasone beyond cycle 9 was 0 mg (median), 4.3 mg (average).

**Conclusion:** We observed physicians intentionally reduce the dose of lenalidomide in the long term and discontinued dexamethasone due to their toxicity. The median dose of lenalidomide was 10 mg and median dose of dexamethasone was 0 mg beyond cycle 9, similar to the outcomes of prospective RCT by Larocca 2021. We propose to implement the results of this RCT into clinical practice.

## P73. ELOTUZUMAB V KOMBINACI S DEXAMETHASONEM A LENALIDOMIDEM V LÉČBĚ RELABUJÍCÍHO/REFRAKTERNÍHO MNOHOČETNÉHO MYELOMU: SOUBOR 19 PACIENTŮ

Krejčí M., Adam Z., Krejčí M., Štork M., Sandecká V., Král Z., Mayer J., Pour L.

FN Brno

**Úvod a cíl:** Elotuzumab je humanizovaná IgG1 monoklonální protilátka cílená proti membránovému glykoproteinu CS1 (SLAMF7), který je vysoce exprimován na plazmocyttech, mechanismus účinku spočívá v protilátkou zprostředkované buněčné cytotoxicitě. Elotuzumab v kombinaci s lenalidomidem a dexamethasonem (ERD) je používán v terapii pacientů s relabujícím či refrakterním mnohočetným myelomem (RRMM) na základě schválení Evropskou lékovou agenturou (EMA). Následně jsou vyhodnocena data z reálné klinické praxe v rámci LHOK. Primární cíl byl zhodnocení přežití bez progresu (PFS), sekundární cíle byly následující: léčebná odpověď, celkové přežití (OS) a bezpečnost léčby.

**Metody:** Bylo retrospektivně zhodnoceno 19 pacientů s RRMM, léčených v období 2018–2020 režimem ERD. Elotuzumab byl použit ve standardním dávkování 10 mg/kg, medián délky sledování od zahájení léčby ERD je 7,6 měsíců.

**Výsledky:** Jednalo se o pacienty s RRMM, medián věku byl 67 let, většina pacientů (15) byla již značně předléčena (3. a další linie léčby), další 4 pacienti léčení ERD v rámci druhé linie měli nepříznivou cytogenetiku. Medián délky léčby ERD byl 4,6 měsíce, léčba ERD byla ukončena u 15 pacientů pro progresi MM. Léčebná odpověď alespoň PR (parciální remise) byla dosažena u 80 % pacientů. Medián PFS byl 6,3 měsíce. Medián OS byl 17,1 měsíce. U všech pacientů byl přítomen alespoň jeden nežádoucí účinek, nejvyšších stupňů dosahovala toxicita hematologická (neutropenie a trombocytopenie stupeň 3, průměrně 30 % případů).

**Závěr:** Režim ERD se jeví jako efektivní v rámci léčby 3. či 4. linie RRMM s celkovou léčebnou odpovědí 80 % a mediány PFS 6,3 měsíce a OS 17,1 měsíce. Nejčastější toxicitou je hematologická toxicita, většinou stupně 2–3. Limitací je malá velikost souboru.

## P74. VZTAH MEZI SÉROVÝMI HLADINAMI SEMAFORINU 4D A ROZSAHEM KOSTNÍHO ONEMOCNĚNÍ U PACIENTŮ S MNOHOČETNÝM MYELOMEM

Prošková J.<sup>1</sup>, Minařík J.<sup>2</sup>, Krhovská P.<sup>2</sup>, Petrová P.<sup>1</sup>, Bačovský J.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Oddělení klinické biochemie, FN Olomouc

<sup>2</sup>Hemato-onkologická klinika FN Olomouc

**Úvod:** Mnohočetný myelom (MM) je maligní onemocnění způsobené transformací terminálně diferencovaných B-lymfocytů a je spojeno s řadou sekundárních klinických projevů, např. myelomovou kostní



nemocí. Semaforin 4D (CD100, Sema4D) je exprimován osteoklasty, váže se na jeho receptor Plexin-B1 a působí jako mediátor interakce osteoklast - osteoblast, který inhibuje tvorbu osteoblastické kosti. Literární údaje naznačují, že dráha Sema4D/Plexin-B1 je zapojena do kostního onemocnění vyvolaného MM.

**Cíl:** Zjistit korelaci mezi sérovými koncentracemi Semaforinu 4D a závažností postižení skeletu u pacientů s MM.

**Metody:** Retrospektivně jsme analyzovali kohortu 55 pacientů s MM a kontrolní soubor 21 pacientů s monoklonální gamapatií nejistého významu (MGUS) nebo s doutnajícím mnohočetným myelomem (SMM). Pacienti s MM byli zařazeni do skupin podle klinického stádia onemocnění dle Durieho a Salmona (D-S), dle ISS (International Staging System) a podle počtu kostních ložisek zjištěných zobrazovacími metodami. V souboru byl medián věku 68 let (36–93), poměr M/Ž 1,2 : 1, pacienti měli obvyklou distribuci jednotlivých typů monoklonálních imunoglobulinů. Pacientům s MM i kontrolní skupině byla stanovena koncentrace Semaforinu 4D (ELISA, RayBio® Human Semaphorin 4D). Ke statistickému zpracování byl použit software R (R 3.6.0, www.R-project.org).

**Výsledky:** Koncentrace Semaforinu 4D byly porovnány mezi skupinami pacientů a mezi stádii onemocnění dle D-S, ISS a počty kostních lézí.

Při porovnání skupin MGUS, SMM a MM pomocí analýzy rozptylu nebyl nalezen statisticky významný rozdíl u Semaforinu 4D ( $p = 0,28$ , med(MGUS) = 17,3, med(SMM) = 17,7, med(MM) = 18,4). Ve skupině MM také nebyla nalezena významná korelace mezi hladinou Semaforinu 4D a úrovní postižení skeletu ( $r = 0,28$ ), DS ( $r = -0,01$ ) a ISS ( $r = -0,21$ ).

**Závěr:** Analýza neprokázala statisticky významný rozdíl koncentrace Semaforinu 4D mezi jednotlivými skupinami pacientů, rozdíl mezi pacienty s různým postižením skeletu ani různými stádii onemocnění. Nepodařilo se tedy potvrdit hypotézu, že Semaforin 4D bude zvýšen u pacientů se závažnějším postižením skeletu.

*S podporou grantů NV18-03-00500, IGA-LF-2021-001.*

## P75. MOBILIZACE PBSC U PACIENTŮ S MNOHOČETNÝM MYELOMEM V ZÁVISLOSTI NA INDUKČNÍM REŽIMU A VĚKU

Jungová A.<sup>1</sup>, Lysák D.<sup>1</sup>, Karas M.<sup>1</sup>, Hrabětová M.<sup>1</sup>, Dekojová T.<sup>1</sup>, Jindra P.<sup>1</sup>, Havlová E.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Hematologicko onkologické oddělení, FN Plzeň

<sup>2</sup>Ústav klinické biochemie a hematologie, FN Plzeň

**Úvod:** Základním pilířem léčby mnohočetného myelomu (MM) je stále autologní transplantace. Proto je velmi důležitá volba vhodného indukčního protokolu tak, aby byla zachována maximální efektivita na myelomové buňky, ale zároveň, aby došlo k dostatečnému vyplavení CD34 buněk k provedení následné autologní transplantace. Podobně důležitá je i navazující mobilizační procedura.

**Cíle:** Srovnání vlivu různých indukčních a mobilizačních režimů, klinických faktorů na straně pacienta a mnohočetného myelomu na úspěšnost odběru periferních krvetvorných buněk (PBSC).

**Metody:** Retrospektivní, univariální a multivariální analýza 284 konsekutivních pacientů s MM léčených ve FN Plzeň mezi roky 2013–2019, kteří podstoupili mobilizaci PBSC. Medián věku 64 let (35–75), muži 55 %, použity indukční režimy- „bortezomib + thalidomid“ u 50,4 %, „IMiD based“ – 25,4 %, „PI based“– 18 % a chemo based s doxorubicinem – 5,3 %. V době mobilizace: PR – 40,1 %, VGPR – 38 %, CR – 15,5 %, primary induction failure – 6,3 % pacientů. Úspěšná mobilizace definována jako  $\geq 5 \times 10^6$  CD34/kg.

**Dávka CPA – 1–2 g/m<sup>2</sup> – 16,2 %, 2,5 g/m<sup>2</sup> – 73,6 % a 3 g/m<sup>2</sup> – 10,2 %.**

**Výsledky:** Multivariální analýza prokázala nepříznivý vliv podání thalidomidu v indukci bez bortezomibu (HR 2,42, 95%CI 1,27– 4,64,  $p=0,01$ ), dále příznivý vliv doxorubicinu v indukci oproti IMiD based ( $p=0,001$ ), oproti všem ostatním režimům pak  $p = 0,08$ . Nedosažení CR a VGPR zhoršují výtěžnost mobilizace (HR 1,38, 95% CI 0,74–2,55;  $p = 0,0099$ ).

Nejvhodnější dávkou mobilizačního CPA je 2,5 g/m<sup>2</sup>, vyšší i nižší dávky zhoršovaly efektivitu odběru PBSC (HR 4,69, 95% CI 2,23–9,85;  $p < 0,0001$ ).

Věk > 70 let signifikantně zhoršoval úspěšnost odběru (HR 2,77, 95% CI 1,38–5,56;  $p = 0,0067$ ).

**Závěr:** Faktory ovlivňující úspěšnost mobilizace jsou komplexní a řadu z nich nelze předem ovlivnit (věk pacienta, indukční režim, odpověď na léčbu). Na druhé straně vhodně zvoleným, mobilizačním režimem je možné efektivitu mobilizace cíleně příznivě ovlivnit.

## P76. WHOLE-GENOME OPTICAL MAPPING OF BONE-MARROW MYELOMA CELLS FOR REFINING THE COMPLEX GENOMIC ARCHITECTURE IN MULTIPLE MYELOMA AND ITS PHENOTYPES

Manakova J.<sup>1</sup>, Minarik J.<sup>2</sup>, Fillerova R.<sup>1</sup>, Savara J.<sup>1</sup>, Dihel M.<sup>1</sup>, Petrackova A.<sup>1</sup>, Balcarikova J.<sup>2</sup>, Krhovska P.<sup>2</sup>, Pika T.<sup>2</sup>, Gajdos P.<sup>3</sup>, Behalek M.<sup>3</sup>, Vasinek M.<sup>3</sup>, Papajik T.<sup>2</sup>, Kriegova E.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Immunology, Faculty of Medicine and Dentistry, Palacky University Olomouc, Czech Republic, Olomouc

<sup>2</sup>Department of Hemato-Oncology, Faculty of Medicine and Dentistry, Palacky University and University Hospital, Olomouc

<sup>3</sup>Department of Computer Science, Faculty of Electrical Engineering and Computer Science, Technical University of Ostrava

**Background:** Extramedullary disease (EMM) represents a rare, aggressive and mostly resistant phenotype of multiple myeloma (MM). EMM is frequently associated with high-risk cytogenetics, but their complex genomic architecture is largely unexplored.

**Methods:** We used whole-genome optical mapping (Saphyr, Bionano Genomics) to analyse the genomic architecture of CD138+ cells isolated from bone-marrow aspirates from an unselected cohort of 11 newly diagnosed patients with bone-related EMM (n=4) and MM (N = 7).

**Results:** Large intrachromosomal rearrangements (> 5 Mbp) within chromosome 1 were detected in all EMM samples. These

rearrangements, predominantly deletions with/without inversions, encompassed hundreds of genes and led to changes in the copy number of genes on large regions of chromosome 1. Compared with intramedullary MM, EMM was characterised by more deletions (size range of 500 bp to 50 kb) and fewer interchromosomal translocations, and two EMM samples had copy-number loss in the 17p13 region. Widespread genomic heterogeneity and novel aberrations in the high-risk IGH/IGK/IGL, 8q24 and 13q14 regions were detected in individual patients but were not specific to EMM/MM.

**Conclusions:** Our pilot study revealed an association of chromosome 1 abnormalities in bone-marrow myeloma cells with extramedullary progression. Optical mapping showed the potential for refining the complex genomic architecture in MM and its phenotypes.

Supported by IGA\_LFUP\_2021\_015, MH CZ-DRO-FNOL(00098892).

## P77. COMPARISON OF OPTICAL MAPPING AND LONG-READ NEXT-GENERATION SEQUENCING FOR REFINEMENT OF GENOMIC ARCHITECTURE IN HEMATO-ONCOLOGY

Savara J.<sup>1,2</sup>, Novosád T.<sup>1</sup>, Minařík J.<sup>3</sup>, Gajdoš P.<sup>1</sup>, Maňáková J.<sup>2</sup>, Kriegová E.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Computer Science, Faculty of Electrical Engineering and Computer Science, VŠB-Technical University of Ostrava

<sup>2</sup>Department of Immunology, Faculty of Medicine and Dentistry, Palacký University and University Hospital Olomouc

<sup>3</sup>Department of Hemato-oncology, Faculty of Medicine and Dentistry, Palacký University and University Hospital Olomouc

**Background:** Recent studies have shown the potential of long-read whole-genome sequencing (WGS) approaches (Pacific Biosciences-PacBio, Oxford Nanopore Technologies-ONT, 10× Genomics/Tell-Seq) and optical mapping (OM) for the detection of clinically relevant structural variants (SVs) in cancer research and diagnostics. Questions remain about the accuracy of long-read next-generation sequencing platforms, how comparable/interchangeable they are and to what extent they can be replaced/supplemented by OM. Our aim was to introduce software tool for effective comparison of SVs obtained by OM and WGS and apply this approach for cancer samples.

**Methods and results:** In this study, novel software tool enabling comparison of OM with AnnotSV outputs from WGS platforms was validated on breast cancer cell-line SKBR3. The majority of translocations and deletions found by OM were confirmed by all WGS platforms, long deletions (> 100 kbp) were detected only by 10× Genomics. Regarding insertions, 74% was confirmed by PacBio and ONT, but none by 10× Genomics' LongRanger SV caller. Next, our tool was applied on Bionano OM (350X) and Tell-Seq WGS (30X) data from CD138+ myeloma cells isolated from bone marrow aspirate from multiple myeloma patient (female, 40yrs, IgG-lambda, stage-IIIa, ISS2). Comparison of OM and WGS confirmed 59% deletions and 43% translocations, affecting many cancer-associated

genes. Intrachromosomal-translocations (t(1;1), t(6;6)), insertions, inversions and duplications detected by OM were not confirmed by WGS.

**Conclusions:** This novel software tool enables comparison of OM and WGS data. The analysis revealed that several SVs (intrachromosomal-translocations, insertions, inversions and duplications) detected by OM were not confirmed by WGS, highlighting the need for improvement of SV caller algorithms as well as WGS coverages to detect SVs present at lower variant allele frequencies. OM and long-read WGS show a high potential for refining the genomic architecture in haemato-oncology malignancies.

Supported by NU20-06-00269, MH CZ-DRO-FNOL(00098892), IGA\_LF\_2021\_015.

## P78. EXPRESNÍ PROFIL DNA METHYLTRANSFERÁZ U BUNĚK MNOHOČETNÉHO MYELOMU

Ondrušková K.<sup>1</sup>, Flodrová P.<sup>1</sup>, Krhovská P.<sup>2</sup>, Frydrych I.<sup>3</sup>, Minařík J.<sup>2</sup>, Smešný Trtková K.<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Ústav klinické a molekulární patologie, UP, Olomouc

<sup>2</sup>Hemato-onkologická klinika FN Olomouc

<sup>3</sup>Ústav molekulární a translační medicíny, UP, Olomouc

**Cíl:** Stanovení expresního profilu DNA methyltransferáz DNMT1, DNMT3A a DNMT3B u dvou skupin pacientů s mnohočetným myelomem – nově diagnostikovaných a pacientů v relabovaném stadiu, a u neovlivněných buněk myelomových buněčných linií.

**Metody:** RNA pro cDNA expresní analýzu genů DNMT1, DNMT3A a DNMT3B byla izolována ze sortované populace (CD19+, CD38+, CD45+ a CD56+) plazmatických buněk 5 nově diagnostikovaných pacientů, 4 pacientů v relabujícím stadiu, a z neovlivněných buněk 6 myelomových linií: U266, RPMI8226, KMS12-BM, KMS12-PE, MM.1S a OPM2. Expresní profily byly stanoveny ze tří nezávislých opakování metodou kvantitativní real-time PCR a analyzovány jako relativní/normalizované hodnoty exprese a hodnoty 2-ΔΔCt sledovaných genů.

**Výsledky a závěr:** Hodnoty 2-ΔΔCt sledovaných genů u nově diagnostikovaných pacientů, pacientů v relabujícím stadiu a u neovlivněných buněk myelomových buněčných linií vykazují podobný expresní profil sledovaných genů. Hodnoty 2-ΔΔCt genu DNMT1 dosahují vyšších hodnot ve srovnání s hodnotami 2-ΔΔCt genů DNMT3A a DNMT3B. U buněk všech testovaných myelomových buněčných linií jsou 2-ΔΔCt hodnoty *de novo* DNA methyltransferáz DNMT3A a DNMT3B takřka nedetekovatelné oproti hodnotám 2-ΔΔCt ve skupinám analyzovaných pacientů. Naproti tomu, pacienti s nově diagnostikovaným mnohočetným myelomem mají zvýšenou relativní hodnotu exprese genu DNMT3A ve srovnání s relativními hodnotami expresí genů DNMT1 a DNMT3B. Pacienti v relabujícím stadiu mají relativní hodnoty expresí genů DNMT3A a DNMT3B nižší, než byla relativní hodnota exprese genu DNMT1 ve srovnání s hodnotami u nově diagnostikovaných pacientů. Snížené hodnoty

*de novo* DNA methyltransferáz DNMT3A a DNMT3B by tak mohly být důsledkem absolvované léčby u skupiny pacientů v relabovaném stadiu mnohočetného myelomu.

*This study was supported in part by NV18-03-00500 from the Ministry of Health of the Czech Republic, the European Regional Development Fund – Project ENOCH (No. CZ.02.1.01/0.0/0.0/16\_019/0000868) and LF\_2021\_005 from Palacky University Olomouc.*

## P79. CELLULAR BACKGROUND IN AMYLOID DEPOSITS

Navrátilová M.<sup>1</sup>, Flodr P.<sup>1</sup>, Flodrová P.<sup>1</sup>, Holub D.<sup>2</sup>, Pika T.<sup>3</sup>, Džubák P.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>DCMP FMD Palacký University and FH Olomouc

<sup>2</sup>DMTM FMD Palacký University Olomouc

<sup>3</sup>Dept. of Hematooncology FH Olomouc

**Introduction:** Amyloidosis is a disease associated with the deposition of insoluble amyloid in the extracellular spaces of tissues and organs leading to their damage. Currently, 36 different amyloidogenic proteins are known. The extent and locoregional tissue cellular background and response is very variable.

**Methods:** Our file contents 67 patients (46 men, 21 women) with amyloid deposits in variable tissues and organs. The available samples were subsequently examined by special histological staining (Congo red and/or Saturn red) and immunohistochemistry, and part of the file was also analyzed by proteomic analysis with the use of LMD-LC/MS.

**Results:** 114 tissue samples (bone marrow, lymph node, soft tissue, kidney, liver, gallbladder, large and small bowel, stomach, tongue, striated muscle, myocardium) with amyloid deposits were examined from 67 patients. A total of 67, 32, 6, 4, 5 samples contained amyloid deposits IHC positive for lambda, kappa, TTR and SAA, TTR, AH resp., proteomic analysis - LMD-LC/MS was performed on 23 samples. Cellular background was variable and divided on malignant and non-malignant, malignant one into close and distant type, non-malignant type according to the extent (non-cellular, poor cellular, dense cellular) and type (lymphoid, histiocytic, mixed, other) of cellular response. Clear cut background response was detected in 34 tissue samples. Amyloid deposits within vessels, basal membrane, lamina propria, mesangium, Disse space usually produced zero or very subtle cellular response, the extent of cellular response was increased in large/bulk deposits, and the content and particular density was variable.

**Conclusions:** Morphologic cellular and non-cellular content in samples with amyloid deposits are non-only a clue for correct diagnosis (diagnostic and typing steps), but may reveal pathogenesis, evolution and life cycle of amyloid deposits in local/systemic amyloidosis.

*Supported by AZV-16-31156A and LF\_2021\_005 from Palacky University Olomouc.*

## P80. DIAGNOSTIC APPROACH IN AMYLOID DEPOSITS

Flodr P.<sup>1</sup>, Flodrová P.<sup>1</sup>, Navrátilová M.<sup>1</sup>, Holub D.<sup>2</sup>, Pika T.<sup>3</sup>, Džubák P.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>DCMP FMD Palacký University and FH Olomouc

<sup>2</sup>DMTM FMD Palacký University Olomouc

<sup>3</sup>Dept. of Hematooncology FH Olomouc

**Introduction:** Amyloidosis is a heterogeneous acquired or hereditary disease that results from the abnormal and insoluble deposition of beta-sheet fibrillar protein aggregates in various tissues with variable distribution in extracellular space. Nomenclature classification distinguishes 36 amyloidogenic proteins and more are expected (ISA 2018).

**Methods:** Our file contains 329 specimens with amyloid deposits diagnosed between the years 2007–2021 in variable tissues and organs stained with Congo red and/or Saturn red with consequent immunohistochemistry analysis (IHC), and part of the file was also analyzed by proteomic analysis with the use of laser microdissection-liquid chromatography/mass spectrometry (LMD-LC/MS).

**Results:** Analysis of tissue samples with amyloid deposits over the above-mentioned years was improved by consequent application of more accurate special diagnostic staining, by more robust IF a IHC typing with adding LMD-LC/MS as at first experimental equipment and finally diagnostic tool. More complex and multidisciplinary approach in the amyloid diagnostic process opened a new view on pathogenesis of local or systemic amyloidosis with new challenges and difficulties in classification. Current workflow will be presented.

**Conclusions:** Analysis of amyloid deposits irrespective of origin and localization is appealing for diagnostic and experimental precisizing which brings new insights not only particular pathogenesis but also in classification nomenclature, and more non-invasive procedures are being searched.

*Supported by AZV-16-31156A and LF\_2021\_005 from Palacky University Olomouc.*

## P81. CHROMOZOMÁLNÍ ABERACE V PLAZMATICKÝCH BUŇKÁCH U PACIENTŮ S AL AMYLOIDÓZOU

Balcárková J., Křivánková T., Kasalová N., Dostálová L., Mnacakanová E., Pika T., Krhovská P., Urbánková H., Papajík T., Minařík J.  
*Hemato-onkologická klinika LF UP a FN Olomouc*

**Úvod:** AL amyloidóza je vzácné onemocnění způsobené maligním klonem plazmatických buněk, pro které je charakteristické extracelulární ukládání konformačně pozmeněných lehkých řetězců imunoglobulinu ve formě amyloidu do různých orgánů. Stejně jako u mnohočetného myelomu se v plazmatických buňkách vyskytují cytogenetické změny. Nejčastější abnormalitou je translokace t(11;14)(q13;q32) zahrnující geny *CCND1* a *IGH*, dále delece 13q/monosomie chromozomu 13 a hyperdiploidie (trisomie lichých chromozomů), méně často duplikace 1q, delece 1p a 17p.

**Cíl:** Cílem této práce bylo analyzovat chromozomové aberace v plazmatických buňkách kostní dřeně pacientů s AL amyloidózou.

**Metody:** Soubor 45 pacientů byl vyšetřen metodou FICTION (fluorescenční imunofenotypizace a interfázní fluorescenční in situ hybridizace). Pomocí metody array komparativní genomové hybridizace (arrayCGH) bylo vyšetřeno 7 pacientů.

**Výsledky:** Metodou FICTION byly cytogenetické změny odhaleny u 42/45 (93 %) pacientů. Nejčastější aberací byla abnormalita v IGH genu (přestavba, delece, duplikace) u 33/45 (73 %) pacientů, z toho byla prokázána t(11;14) u 19 (42 %) nemocných. Hyperdiploidie byla zjištěna u 11 (24 %) pacientů. Delece RB1 genu byla detekována u 15/45 (33 %) a zmožnění 1q21 u 12/45 (27 %) pacientů. Pomocí arrayCGH byly zjištěny změny u všech vyšetřených pacientů, hyperdiploidie byla prokázána u 3/7 nemocných, u 3 nemocných s t(11;14) byly prokázány další delece a duplikace, u posledního pacienta byla detekována monosomie chromozomů X a 13 a trisomie chromozomu 18.

**Závěr:** V souboru pacientů s AL amyloidózou byla metodou FICTION prokázána vysoká četnost chromozomových aberací (93 %). Pomocí metody arrayCGH je možné odhalit méně časté nebo pacient specifické abnormality v plazmatických buňkách.

*Práce je podporována grantem IGA\_LF\_2021\_001.*

## P82. AMYLOID A SYNDROM KARPÁLNÍHO TUNELU

Flodrová P.<sup>1</sup>, Krhovská P.<sup>2</sup>, Flodr P.<sup>1</sup>, Holub D.<sup>3</sup>, Pika T.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Ústav klinické a molekulární patologie, LF UP, Olomouc

<sup>2</sup> Hemato-onkologická klinika FN Olomouc

<sup>3</sup> Ústav molekulární a translační medicíny, LF UP, Olomouc

**Úvod:** Amyloidóza je onemocnění spojené s ukládáním nerozpustného amyloidu v intercelulárních prostorech tkání a orgánů

vedoucí k jejich poškození. V současnosti je známo 36 různých amyloidogenních proteinů. Syndrom karpálního tunelu (SKT) může být přítomen u pacientů s různými stavy či nemocemi, kromě vzácné amyloidózy to může být také diabetes mellitus, dysfunkce štítné žlázy, tenosynovitida, dna či těhotenství. Obvykle oboustranný SKT je v případě amyloidózy nejčastěji spojen se systémovým onemocněním na podkladě transthyretinu (mutovaný i wild-type) či lehkých řetězců imunoglobulinů. Projevy SKT u nemocných se systémovou amyloidózou mohou předcházet charakteristické orgánové postižení až o několik let.

**Metody:** Sledovaný soubor tvořilo 321 pacientů (115 mužů, 206 žen), u kterých bylo během rutinního neurochirurgického zákroku pro SKT odebrána drobná částka vazivové tkáně. Vzorky byly následně vyšetřeny metodami speciálního histologického barvení a imunohistochemie, u části souboru byla provedena také proteomická analýza metodou LMD-LC/MS.

**Výsledky:** Počet vyšetřených vzorků činil 375, někteří pacienti podstoupili zákrok na obou stranách. Celkem 49 vzorků obsahovalo amyloidová depozita, čtyři pacienti měli bilaterální postižení. V 56 % pozitivních vzorků se jednalo o muže. V rámci skupiny vyšetřených mužů byl amyloid přítomen ve 22 % vzorků. Imunohistochemicky byla ve všech 49 případech zjištěna pozitivita transthyretinu. Proteomická analýza metodou LMD-LC/MS byla provedena u sedmi náhodně vybraných imunohistochemicky pozitivních vzorků a ve všech případech potvrdila diagnózu amyloidu transthyretinového typu.

**Závěr:** Správná a včasná diagnostika vč. typizace amyloidu je velmi důležitějším faktorem pro adekvátní léčbu nemocných s amyloidózou. Vyšetření vzorku měkkých tkání z karpální oblasti u pacientů se SKT se jeví jako jedna z efektivních možností detekce přítomnosti amyloidových depozit v raných fázích systémové depozice amyloidu.

# ANÉMIE, CYTOPENIE A VZÁCNÁ ONEMOCNĚNÍ

## P83. ANAKINRA – LÉK VOLBY U SYNDROMU SCHNITZLEROVÉ. ZKUŠENOSTI JEDNOHO CENTRA

Boichuk I., Adam Z., Krejčí M., Štork M., Sandecká V., Král Z., Mayer J., Pour L.

IHOK, FN Brno

Syndrom Schnitzlerové (SSch) je vzácné získané onemocnění, ve světě je popsáno pouze několik stovek případů. Dominantními znaky tohoto syndromu jsou chronická recidivující kopřivka a přítomnost monoklonálního imunoglobulinu typu IgM v séru. První případ byl popsán v roce 1972 francouzskou dermatoložkou Liliane Schnitzler a nese tak její jméno.

Pro diagnostiku SSch jsou nejčastěji používána Štrasburská kritéria. 1) velká (obligátní) kritéria což je chronický urtikariální raš a monoklonální IgM; 2) malá kritéria: recidivující horečky, leukocytóza, elevace CRP, abnormální nález při vyšetření kostní morfologie. Diagnóza SSch splněna, pokud jsou přítomna obě obligátní kritéria a nejméně další 2 malá kritéria.

Četnost symptomů u SSch, dle analýzy 281 případů publikovaných ve světě do roku 2014 v tabulce.

Práce popisuje léčbu šesti pacientů se SSch léčených na IHOK FN Brno. Jako lék první linie v léčbě těchto pacientů byl volen antagonist humánního receptoru pro interleukin-1 Anakinra (Kineret). Všichni pacienti zahájili léčbu podkožní aplikací 100 mg anakinry denně. U všech pacientů ihned (do 60 minut) po aplikaci první dávky došlo

k vymizení kožních projevů SSch. U všech pacientů probíhá léčba dlouhodobě, medián trvání léčby je 96 (48–156) měsíců. Léčba anakinrou je u všech stále účinná, u žádného pacienta se neobjevila recidiva kožních projevů SSch. U všech pacientů došlo v průběhu léčby k poklesu hladiny zánětlivých parametrů a monoklonálního IgM, a též ústupu všech obtíží spojených se SSch. Nebylo pozorováno zhoršení kostního nálezu. Nebyly pozorovány nežádoucí účinky související s podáváním Anakinry.

Léčba anakinrou je účinnou a bezpečnou variantou pro léčbu SSch. Dlouhodobá léčba je exkluzivně tolerována a vede k trvalému vymizení symptomů nemoci. V našem centru je tak první volbou pro léčbu SSch.

Urtika, kožní raš	100 %
Monoklonální IgM komponenta	100 %
Zvýšená sedimentace, leukocytóza	97 %
Horečky	72 %
Kappa lehké řetězce	89 %
Artralgie/artritidy	68 %
Abnormální morfologie kosti	62 %
Pruritus	21 %

## P84. MOLEKULÁRNĚ-GENETICKÁ DIAGNOSTIKA HEREDITÁRNÍ HEMORAGICKÉ TELEANGIEKTÁZIE

Vinohradská J.<sup>1,2</sup>, Valášková I.<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Centrum molekulární biologie a genetiky, IHOK LF MU a FN Brno

<sup>2</sup>Ústav experimentální biologie, Přírodovědecká fakulta MU, Brno

<sup>3</sup>Ústav lékařské genetiky a genomiky, LF MU a FN Brno

**Úvodací:** Hereditární hemoragická teleangiektázie (HHT) je onemocněním charakterizované přítomností teleangiektázií a arteriovenózních malformací kůže, sliznic a vnitřních orgánů s prevalencí mezi 1 : 5 000 až 1 : 8 000. Z genetického hlediska se jedná o heterogenní onemocnění, jehož primární příčinou jsou defekty v genech, jejichž proteinové produkty jsou zapojeny do signální dráhy TGF $\beta$ , vedoucí k abnormální angiogenezi. Naším cílem bylo zavedení molekulárně genetické diagnostiky tohoto onemocnění a také posouzení množství záchytů kauzálních variant v kontextu s klinickými příznaky pacientů.

**Metody:** Molekulárně genetická diagnostika je na našem pracovišti prováděna sekvenací kódujících oblastí genů *ACVRL1*, *ENG*, *SMAD4*, *GDF2* a *RASA1* pomocí masivně paralelního sekvenování. U genů *ACVRL1* a *ENG* rovněž provádíme detekci exonových delecí/duplikací metodou MLPA.

**Výsledky:** Na našem pracovišti bylo od počátku zavedení diagnostiky HHT vyšetřeno téměř 100 probandů. Patogenní či pravděpodobně patogenní změnu, která byla označena za kauzální, se podařilo detekovat u necelých 40 % z nich. Všechny patogenní varianty byly detekovány v genech *ACVRL1* nebo *ENG*.

U pacientů bez nalezené kauzální varianty, u nichž bylo možné dohledat data a o klinických projevech, bylo zhodnoceno splnění tzv. Curaçao kritérií pro klinickou diagnózu HHT. Až na výjimky splňovali tito pacienti pouze 1 nebo 2 kritéria, přičemž literární zdroje udávají, že HHT je při splnění méně jak 2 kritérií nepravděpodobná.

**Závěr:** Molekulárně genetická diagnostika HHT umožňuje laboratorní potvrzení klinicky stanovené diagnózy a je také cestou k nalezení osob v riziku mezi příbuznými probanda, které by měly být sledovány. V literatuře je uváděno, že u 15–20 % pacientů s klinickou diagnózou HHT není kauzální mutace nalezena, avšak v souboru našich probandů je toto číslo výrazně vyšší. Z našich zkušeností vyplývá, že splnění diagnostických Curaçao kritérií vysoce predikuje záchyt kauzální změny. Vyšetření však může také poskytnout pomoc při diferenciální diagnostice v případech nejasných fenotypových projevu.

## P85. MOLEKULÁRNĚ GENETICKÁ DIAGNOSTIKA HEMOGLOBINOPATIÍ NA ÚHKT

Vostrý M.<sup>1</sup>, Mucksová K.<sup>1</sup>, Veselá J.<sup>1</sup>, Kaisrlíková M.<sup>1</sup>, Čermák J.<sup>2</sup>, Beličková M.<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup>Laboratoř anémií, Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

**Cíl:** Hemoglobinopatie patří mezi jedny z nejčastějších dědičných onemocnění celosvětově. Příčinou jejich vzniku je široká škála možných mutací v genech kódujících globinové podjednotky hemoglobinu. Tato skutečnost způsobuje jejich variabilitu v klinických projevech u pacientů, od asymptomatických přenašečů k závažným formám hemolytické anémie, až k formám neslučitelným se životem. Ačkoli tato onemocnění nejsou typická pro Českou republiku, s narůstající globální migrací populace se u nás jejich výskyt zvyšuje. Naším cílem bylo zhodnotit výskyt hemoglobinopatií v ČR.

**Metody:** Od roku 2015 do konce května roku 2021 jsme vyšetřili celkem 714 vzorků pacientů s podezřením na některý typ hemoglobinopatie. Vyšetřovaným materiálem byla celková DNA izolovaná z periferní krve. Přítomnost mutací v genu *HBB* byla zjišťována metodou Sangerova sekvenování ve 480 vzorcích. Pro detekci mutací v genech *HBA1* a *HBA2* ve 384 vzorcích jsme použili kit  $\alpha$ -Globin StripAssay (ViennaLab) využívající metodu reverzní hybridizace.

**Výsledky:** Mutaci v genu *HBB* jsme zachytili v 259 vyšetřovaných vzorcích (54 %), pouze v 5 případech se jednalo o homozygotní formu mutace (dvakrát HbSS forma srpkovité anémie, dvakrát HbE onemocnění a jednou talasémie intermedia) a v 5 případech šlo o kombinaci dvou různých heterozygotních mutací, tzv. složený heterozygot (z toho jednou HbSC forma srpkovité anémie). Ostatní záchyty představovaly heterozygotní formu strukturních hemoglobinopatií či beta talasémii minor. V genech *HBA1* a *HBA2* byl pozitivní záchyt mutací u 154 vzorků (40 %). Ve 14 případech se jednalo o tzv. HbH onemocnění a v 6 případech byla identifikována abnormální hemoglobinová varianta. Nejčastěji detekovanou mutací byla dlouhá delece obou  $\alpha$ -globinových genů s označením --SEA (91 případů).

**Závěr:** V námi vyšetřených vzorcích pacientů suspektních na hemoglobinopatii jsme potvrdili toto onemocnění u 58 %. Přestože se většinou jednalo o asymptomatické formy, je s výhodou brát na zřetel možnou míru rizika pro potomky přistěhovalců z oblastí typických pro výskyt hemoglobinopatií, případně s pozitivní rodinnou anamnézou.

## P86. VÝSKYT VROZENÝCH CHROMOZOMOVÝCH ZMĚN U PACIENTŮ S HEMATOLOGICKÝM ONEMOCNĚNÍM

Valeriánová M.<sup>1</sup>, Mendlíková I.<sup>1</sup>, Zemanová Z.<sup>2</sup>, Onderková M.<sup>1</sup>, Izáková S.<sup>2</sup>, Jonášová A.<sup>3</sup>, Čermák J.<sup>4</sup>, Ransdorfová Š.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Oddělení cytogenetiky, ÚHKT, Praha 2

<sup>2</sup> CNC, ÚLBDL VFN a 1.LF UK, Praha 2

<sup>3</sup> I. interní klinika, VFN a 1.LF UK, Praha 2

<sup>4</sup> ÚHKT, Praha 2

**Úvod a cíl:** Při cytogenetickém vyšetření nádorových buněk mohou být náhodně nalezeny chromozomové aberace potenciálně konstitučního původu. Současná přítomnost konstituční aberace a hematologického onemocnění byla popsána u značného počtu klinických případů, ale význam této spojitosti není dostatečně objasněn. Cílem retrospektivní studie bylo zjistit frekvenci výskytu vrozených chromozomových změn u pacientů s hematologickým/hematoonkologickým onemocněním. Do sledovaného souboru jsme zahrnuli pacienty, u kterých byla provedena analýza karyotypu na našem pracovišti v letech 1998–2020. Zjištěné údaje jsme porovnali s incidencí chromozomových aberací uváděnou v publikovaných studiích.

**Metody:** K analýze karyotypů jsme použili kombinaci cytogenetických metod (G-pruhování, FISH, mFISH, mBAND). Suspektní konstituční abnormality jsme následně ověřili na stimulovaných lymfocytech periferní krve. Pacienti s Downovým syndromem, u kterého je prokázána spojitost s akutní leukémií, byli posuzováni jako samostatná skupina.

**Výsledky:** Konstituční chromozomové aberace jsme našli u 110/24 031 pacientů (0,46 %). Odchyly autosomů (71) byly zastoupeny ve vyšším počtu než abnormality gonosomů (39). Z autosomových aberací jsme nejčastěji zachytili trisomii 21 (26), balancované reciproké translokace (20) a Robertsonské translokace (20). Ve skupině pacientů s aneuploidii gonosomů byli častěji zastoupeni pacienti s mužským (25) než s ženským fenotypem (14), u obou pohlaví byly zjištěny i mozaikové varianty karyotypu. K cytogenetickému vyšetření byli častěji indikováni pacienti s myeloproliferativním než lymfoproliferativním onemocněním. Z nemaligních onemocnění byly nejčastějším důvodem k vyšetření karyotypu anémie. Neprokázali jsme vyšší incidenci specifického hematologického onemocnění ve skupině pacientů se stejným typem konstituční změny, s výjimkou trisomie 21.

**Závěr:** Výskyt vrozených chromozomových změn v našem souboru pacientů odpovídá četnosti jejich výskytu v populaci. Tyto změny zahrnují různé typy chromozomových aberací – trisomii chromozomu

21, balancované i nebalancované přestavby chromozomového materiálu a aneuploidie pohlavních chromozomů. Naše výsledky v souladu s publikovanými studiemi naznačují, že asociace hematologické malignity s vrozenou chromozomovou odchylkou se jeví jako náhodná, s výjimkou akutní leukémie a konstituční trisomie 21.

Podpořeno granty MZČR00023736, RVO-VFN64165.

## P87. A NOVEL STUDY DESIGN USED IN CASTLEMAN DISEASE CLINICAL RESEARCH REGISTRY

Lukac M.<sup>1</sup>, Khor J. S.<sup>2</sup>, Coren F.<sup>2</sup>, Williams R.<sup>2</sup>, Pierson S. K.<sup>2</sup>, Fajgenbaum D. C.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Castleman Disease Collaborative Network, Philadelphia, USA

<sup>2</sup> Department of Medicine, University of Pennsylvania, Philadelphia, USA

**Introduction:** Castleman disease (CD) is group of rare lymphadenopathy disorders with substantial variability in symptomatology. Fragmentation of data and treatment variability present challenges to describe natural history of CD and new treatment strategies.

**Objectives:** Innovative study design was created to advance the understanding of natural history and real-world treatment in CD.

**Methods:** ACCELERATE registry consists of novel patient-powered arm (PPA) in the US, and traditional physician-directed arm (PDA), at 9 sites in six EU countries. In the PDA, site physician confirms inclusion criteria (CD pathology report) and patients provide informed consent to extract their medical data. In the PPA, patients provide informed consent electronically and enroll themselves via web-based portal. After CD eligibility is confirmed, the ACCELERATE Team requests medical records from institutions providing CD-related care. A trained data analyst manually extracts all data elements from medical records into central database. Each case is then reviewed with study's principal investigator.

**Results:** During initial 42 months of enrollment, 468 patients had enrolled (PPA: 372, PDA: 96), 365 were eligible (PPA: 271, PDA: 94). Mean age at diagnosis is 40.2 years (range: 1–80), with females composing 55% (201/365). Of the 271 PPA eligible patients, 59 self-uploaded pathology reports during enrollment (22%). For the rest, median (interquartile range [IQR]) time to receive pathology report was 25 (3–67) days. The median (IQR) length of patient's medical record is 531 (274–1,041) pages. Patients in PPA have median (IQR) of 683 (323–1334) data elements entered, compared to 37 (19–69) in PDA. We have identified 62 unique CD treating medications used in real-life practice, with prednisone, rituximab and siltuximab being the most frequently collected.

**Conclusion:** Novel design of ACCELERATE has improved collection of patient data, which have been used in clinical studies and treatment guidelines. Further details are available in manuscript Pierson et al., Cell Reports Medicine

# TRANSPLANTACE A BUNĚČNÁ TERAPIE

## P88. *IN VIVO* ANTIGEN-NEGATIVE ESCAPE TO CART-19 CAUSED BY CD19 PROMOTOR HYPERMETHYLATION

Dostalova L.<sup>1,2</sup>, Ledererova A.<sup>1,3</sup>, Kozlova V.<sup>1,3</sup>, Peschelova H.<sup>1,4</sup>, Ladungova A.<sup>1,4</sup>, Loja T.<sup>1</sup>, Verner J.<sup>1,3</sup>, Pospisilova S.<sup>1,3</sup>, Mancikova V.<sup>1,3</sup>, Smida M.<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Central European Institute of Technology (CEITEC, Masaryk University), Brno

<sup>2</sup>Department of Biology, Faculty of Medicine, Masaryk University, Brno

<sup>3</sup>Department of Internal Medicine - Hematology and Oncology, University Hospital Brno and Faculty of Medicine, Masaryk University, Brno

<sup>4</sup>National Centre for Biomolecular Research, Faculty of Science, Masaryk University, Brno

**Background:** Anti-CD19 Chimeric Antigen Receptor T cells (CAR-T19) represent the most advanced personalized cell-based immunotherapeutic approach. However, after an initial positive response, 30-60% of CAR-treated hemato-oncological patients relapse. Mechanisms responsible for CD19 antigen-negative recurrence still remain unclear.

**Methods:** NSG mice were injected with CLL cell line HG3 to establish *in vivo* CLL disease model and subsequently treated with CART-19 or control T cells. When CART-19 treated mice recurred, tissue from recurring tumors was sorted to CD19-negative and CD19-positive cells. These cells were analyzed by *in vitro* culture, flow cytometry, gene expression or promoter methylation analyses and treated with 5-aza-2'-deoxycytidine. Multiple B cell lines were used for *in vitro* target assay with CAR/control T cells.

**Results:** In our CLL disease model, CART-19 treatment initially led to leukemia remission, however, a few weeks later, 70% of mice recurred with subcutaneous tumors. We detected prominent downregulation of both CD19 mRNA and protein expression in B cells from these tumors. Importantly, when we sorted CD19-negative cells, both mRNA and CD19 surface expression were reconstituted after several weeks of *in vitro* culture. Bisulfite sequencing of CD19 promoter revealed that the entire region was affected by hypermethylation in CD19-negative cells. Hence, we treated CD19-negative tumor cells with demethylating agent 5-aza-2'-deoxycytidine. Indeed, treated cells increased CD19 expression on their surface, concurrent with a decreased CpG methylation within CD19 promoter. To confirm our findings, we cultured several malignant B-cell lines and primary CLL cells with CAR/control T cells for 24h *in vitro* and sorted out CD19-negative and -positive cells. Importantly, all tested samples employed the same epigenetic downregulation of target antigen through hypermethylation of their CD19 promoter.

**Conclusion:** Our results reveal a novel means of escape to CD19 targeting through epigenetic silencing, which could be reversed using demethylating agents.

*This project was supported by grant MUNI/A/1595/2020.*

## P89. IMUNOMONITORING CD19 CAR-T LYMFOCYTŮ U PACIENTŮ LÉČENÝCH PŘÍPRAVKEM KYMRIAH

Otáhal P.<sup>1</sup>, Koladiya A.<sup>1</sup>, Pytlík R.<sup>1</sup>, Petráčková M.<sup>1</sup>, Štach M.<sup>1</sup>, Rychlá J.<sup>1</sup>, Mucha M.<sup>1</sup>, Šmilauerová K.<sup>1</sup>, Kaštánková I.<sup>1</sup>, Musil J.<sup>1</sup>, Šrámková L.<sup>2</sup>, Trněný M.<sup>3</sup>, Lesný P.<sup>1</sup>, Vydra J.<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup>FN Motol, Praha

<sup>3</sup>VFN v Praze

CD19-specifické CAR-T lymfocyty tisagenlecleucel (tisa-cel) jsou schválené pro léčbu relabovaného/refrakterního (r/r) DLBCL nebo B-ALL.

Prezentovaná data ukazují výsledky léčby tímto přípravkem (Kymriah) v souboru 20 pacientů, kteří byli indikováni k této léčbě v Ústavu hematologie krevní transfúze. Současně se sledováním klinického efektu terapie byl prováděn imunomonitoring aplikovaných CAR-T buněk pomocí mnohobarevné průtokové cytometrie (FACS). Předmětem FACS analýz byla charakterizace vstupního materiálu (aferézy), vyrobených CAR-T buněk před aplikací a kvantifikace expanze CAR-T buněk po aplikaci. CAR-T buňky byly detekovány pomocí mAb specifické na CAR protein (anti-FMC63

Ab) v periferní krvi krátce po podání (2–4 dny), v období očekávané maximální expanze (D10–14) a v období retrakce imunitní odpovědi (D30–60). Současně byla sledována exprese znaků určujících paměťový fenotyp CD4/CD8 CAR T lymfocytů (CD45RA, CD62L, CD27, CD28, CD57) a byla sledována exprese imunoinhibičních proteinů PD-1, TIM-3, TIGIT, LAG-3.

Tato měření byla prováděna z důvodů monitorace účinnosti terapie a z důvodů sledování faktorů, které by mohly predikovat možné selhání léčby, neboť CAR-T léčba (dle současných indikací) je účinná pouze u cca 30 % pacientů s DLBCL, kteří tuto léčbu podstoupili. Příčiny selhání jsou jednak pozdní relapsy např. v důsledku ztráty exprese antigenu CD19, ale také dochází u části pacientů k primárnímu selhání terapie (tj. non-responders). V našem studovaném souboru 20 pacientů došlo u 4 pacientů k tomuto časnému selhání CAR-T léčby, a současně u těchto pacientů nedošlo k detekovatelné expanzi CAR-T buněk. Výsledky FACS analýzy CAR-T buněk neukázaly korelaci žádného specifického imunofenotypu asociovaného se selháním terapie. Tyto data naznačují, že monitorace expanze CAR-T buněk je snadno a rychle proveditelná pomocí průtokové cytometrie s dostatečnou senzitivitou k odhalení poruchy expanze CAR-T buněk po aplikaci a může částečně predikovat časný selhání terapie.

## P90. EX VIVO FENOTYPIZACE A MONITORING CD19 CAR-T LYMFOCYTŮ: ZKUŠENOSTI JEDNOHO CENTRA

Hrabčáková V.<sup>1</sup>, Folber F.<sup>2</sup>, Vališová M.<sup>1</sup>, Kotašková J.<sup>1</sup>, Mayer J.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Centrum molekulární biologie a genetiky,

LF MU a FN Brno

<sup>2</sup>Interní hematologická a onkologická klinika

LF MU a FN Brno

**Cíle:** Adoptivní imunoterapie je terapeutickým přístupem, kdy se využívá geneticky modifikovaný produkt pacientových T-lymfocytů. Klinická relevance a celková efektivita závisí na mnoha faktorech, mj. na schopnosti CD19 CAR-T produktu expandovat a persistovat *in vivo*. Jednou z možností sledování CAR-T v organismu je využití detekce CAR antigenu na povrchu lymfocytů pomocí průtokové cytometrie. Cílem práce bylo zavést spolehlivý protokol pro detekci CAR T-lymfocytů z periferní krve pomocí průtokové cytometrie, jako i standardní sledování zastoupení vybraných T-lymfocytárních subsetů, NK linie a míry deplece B linie v rámci sledování.

**Metody:** Z periferní krve 21 pacientů byly izolovány leukocyty, které byly nejdříve primárně značeny CD19 CAR biotinem, sekundárně pak směsí specifických monoklonálních protilátek anti-CD3, anti-CD4, anti-CD8, anti-CD45, streptavidin-Alexa647. T, B a NK linie ve vybraných časových rámcích byla detekována pomocí monoklonálních protilátek proti povrchovým antigenům CD3, CD4, CD8, CD19, CD20, CD16/56, CD45. Imunoregulační index byl vypočítán jako poměr relativního zastoupení CD3+ T lymfocytů CD4+/CD8+. Vhodná gatovací strategie cílových populací byla optimalizována za využití negativních kontrol a odfiltrováním dalších možných falešně pozitivních interferencí (autofluorescence buněk, apoptické/nekrotické buňky, debris). Koncentrace CAR-T lymfocytů byla vyhodnocena z leukocytů jako počet buněk/ $\mu$ l.

**Výsledky:** U pacientů se po podání CAR-T buněk mění zastoupení lymfocytárních subsetů CD4/CD8 v závislosti na čase od infuze. Nejvyšší expanze modifikovaných T-lymfocytů nastala dne 10–14 od podání, ale u části pacientů nebylo možné relevantní hodnocení (nízká buněčnost, hodnoty pod limitem detekce metody apod.). Nežádoucí účinky CAR-T terapie byly během hospitalizace hodnoceny dvakrát denně. Úspěšnost CAR-T terapie je hodnocena pomocí PET/CT. Výsledky budou publikovány ve finálním sdělení.

**Závěr:** Metoda průtokové cytometrie je rychlou a efektivní metodou pro monitoraci expanze a persistence CAR T-lymfocytů v periferní krvi. Ve vhodně zvolených časových rámcích může být také jedním z nástrojů predikce nežádoucích účinků a efektu terapie.

Podpořeno MZ ČR – RVO (FNBr, 65269705).

## P91. REDUKOVANÝ PŘÍPRAVNÝ REŽIM NA BÁZI TREOSULFANU PŘED DRUHOU ALOGENNÍ TRANSPLANTACÍ U PACIENTŮ S AML NEBO MDS (ZKUŠENOSTI CENTRA)

Števková J., Víšek B., Radocha J., Lánská M., Zavřelová A., Doskočilová K., Žák P.

IV. interní hematologická klinika LF UK a FN Králové

**Úvod:** Provedení 2. alogenní transplantace periferních kmenových buněk (aloTPKB) je zatíženo významnou peri- a potransplantační mortalitou. Zde volíme redukováné přípravné režimy (RIC), obvykle založené na bázi busulfanu a fludarabinu (Bu-Flu). V naší skupině byl aplikován RIC na bázi treosulfanu (Treo). Cílem bylo zhodnocení účinku a toxicity uvedeného režimu.

**Metody:** Celkem bylo zařazeno 15 pacientů (9 žen, 6 mužů), z toho 12 pacientů s AML (5 *de novo*, 7 z MDS/MPL), 2 pacienti s MDS, 1 pacient s CMML. Medián věku byl 50 let. U 3 pacientů bylo před aloTPKB dosaženo CR, u 9 byla provedena transplantace v sekvenčním režimu z důvodu aktivity základní choroby. Všichni pacienti podstoupili druhou nepříbuzeneckou aloTPKB s RIC ve složení Thymoglobulin-Treo-Flu, imunosupresní terapie byla u všech FK 506 + MMF. HLA shoda byla u 73 % 10/10, u 27 % 9/10. 14 pacientů mělo comorbiditý index (HCT-CI) 0-1, 1 pacient měl HCT-CI 3.

**Výsledky:** Engraftment v neutrofilech byl dosažen u 86 % (medián 14. den), v trombocytech u 100 % (medián 11. den). Dárcovský chimérismus 99–100 % v den + 30 byl dosažen u všech pacientů, D+100 byl 100 % chimérismus u 86 % pacientů (u 2 pacientů došlo k časnému relapsu). Akutní GvHD mělo 40 % pacientů (gr. 3–4 13 %), extenzivní chronickou GVHD (gr. 4) 6 %. K úmrtí došlo u 10 pacientů (67 %) – v 7 případech z důvodu relapsu, ve 2 případech došlo k závažné formě PTLD, 1 pacient zemřel na akutní GvHD. GRFS (GvHD-free, relaps-free survival) v 1 roce byl 33 %. Medián celkového přežití byl 13,6 měsíců. Transplantační mortalita v prvních 100 dnech byla 0 %.

**Závěr:** Uvedená data poukazují na příznivý bezpečnostní profil a vysokou efektivitu přípravného režimu na bázi treosulfanu u selektované skupiny pacientů podstupujících 2. aloTPKB. V našem souboru dominuje nízká peri- a časná potransplantační mortalita a schopnost navození 100% chimérismu časně po aloTPKB. (podpořeno Progres Q40/08)

## P92. 2 618 TRANSPLANTACÍ KRVETVORNÝCH BUNĚK ZA OBDOBÍ 1993–2020: ZKUŠENOST JEDNOHO CENTRA

Krejčí M., Folber F., Weinbergerová B., Doubek M., Pour L., Janíková A., Semerád L., Král Z., Mayer J.

Interní hematologická a onkologická klinika FN Brno

**Úvod a cíl:** Transplantace krvetvorných buněk (HCT) dlouhodobě představují významnou terapeutickou modalitu, zejména pro



pacienty s hematologickými malignitami. Cílem sdělení je představit transplantační aktivity na Interní hematologické a onkologické klinice (IHOK) FN Brno za období 1993–2020.

**Metody:** Bylo provedeno celkem 2 618 HCT, z toho bylo 1 932 autologních a 686 alogenních. Prvních HCT bylo 2 138 (82 %), následných HCT 480 (18 %). Mediány ročních počtů HCT za posledních 5 let na IHOK jsou 85 pro auto-HCT a 35 pro alo-HCT. Dále jsou prezentovány dlouhodobé výsledky léčby prvních HCT za období 1996–2016, alo-HCT ve skupině 533 pacientů, auto-HCT ve skupině 459 pacientů, jedná se o retrospektivní analýzu.

**Výsledky:** Indikacemi pro alo-HCT byly následující diagnózy: AML (35 %), ALL (14 %), lymfomy (12 %), MDS + MPN (11 %), CML (14 %), CLL (8 %), ostatní (6 %). Indikacemi pro auto-HCT byly diagnózy mnohočetný myelom (61 %), lymfomy (35 %), ostatní (4 %).

**Soubor 533 pacientů po první alo-HCT:** medián sledování byl 83 měsíců, celková léčebná odpověď (ORR) 82 %. Mortalita bez souvislosti s relapsem (NRM) a incidence relapsů v 1 a 4 letech po alo-HCT byly 18 %, 20 % a 22 %, 31 %. Mediány PFS a OS byly 31,5 a 85,6 měsíců. Signifikantní parametry pro kratší OS dle multivariační analýzy byly: diagnóza AML versus ostatní ( $p < 0,001$ ), aktivní nemoc v době alo-HCT versus remise ( $p < 0,001$ ).

**Soubor 459 pacientů po první auto-HCT:** medián sledování byl 88 měsíců, ORR byla 90 %, NRM v 1 roce 1 %. Mediány PFS a OS byly

30,8 a 89,9 měsíce. Signifikantní faktory pro delší přežití po auto-HCT: věk pod 60 let ( $p = 0,001$ ) a dosažení kompletní remise ( $p < 0,001$ ).

**Závěr:** HCT dlouhodobě zůstává standardní léčebnou možností pro různé hematologické malignity (pro alo-HCT zejména AML+ALL+MDS+MPN, pro auto-HCT MM+lymfomy). Typ diagnózy a stav onemocnění v době transplantace jsou důležité prognostické faktory pro celkové přežití, nejlepších výsledků dosahují nemocní v remisi.

### P93. TRANSCRIPTOME ANALYSIS OF HAEMATOPOIETIC STEM CELLS AFTER MOBILIZATION WITH CYTARABINE AND CYCLOPHOSPHAMIDE

Huvarová L.<sup>1,2</sup>, Ševčíková T.<sup>2,3</sup>, Žihala D.<sup>2,3</sup>, Černá L.<sup>2</sup>, Vrána J.<sup>2,3</sup>, Kapustová V.<sup>2</sup>, Venglář O.<sup>1,2</sup>, Jelínek T.<sup>2,3</sup>, Hájek R.<sup>2,3</sup>, Kořístek Z.<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup> Faculty of Science, University of Ostrava

<sup>2</sup> Department of Hematooncology, University Hospital Ostrava

<sup>3</sup> Faculty of Medicine, University of Ostrava

**Aim:** Autologous haematopoietic stem cell transplantation (ASCT) represents a standard of care for patients with multiple myeloma. Most transplant centers use for mobilization combination of cyclophosphamide (Cy) and granulocyte-colony stimulating factor

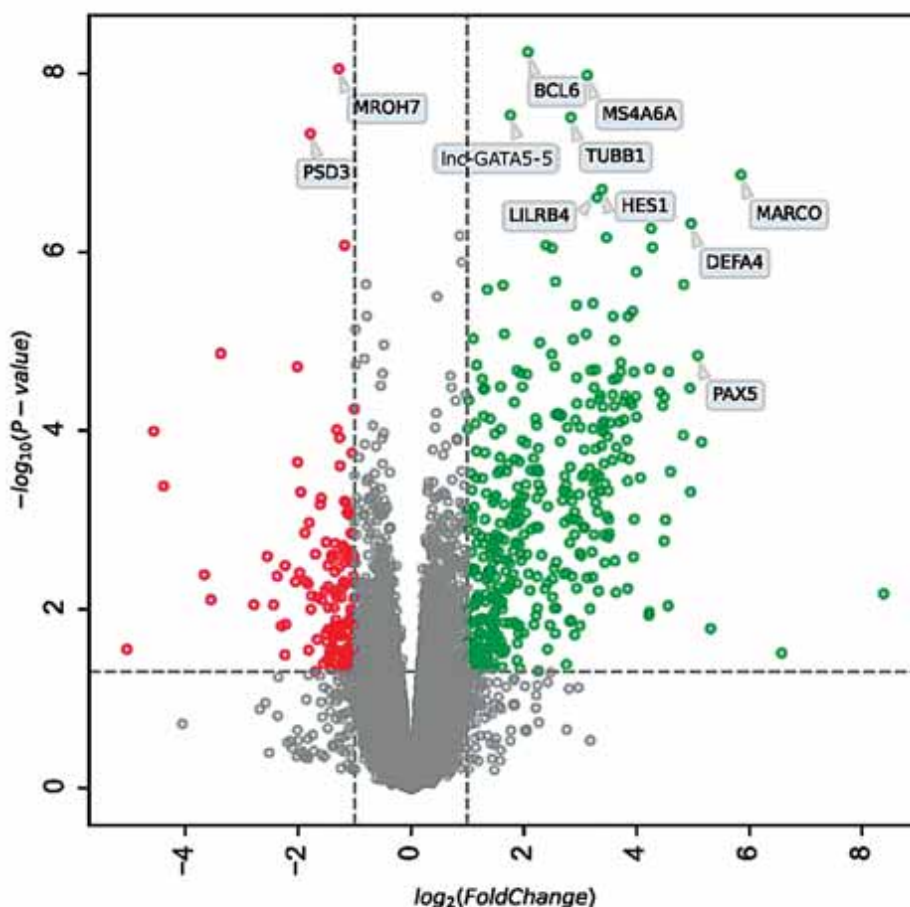


Figure 1: Volcano plot showing distribution of differentially expressed genes with depicted 10 most deregulated genes according to fold change and PAX5. Green colour indicate genes upregulated in Cy group.

(G-CSF). Recently it has been demonstrated that alternative mobilization regimen with cytarabine (AraC) is safe and more effective (Jelinek et al., 2018). We aimed to explain the differences between Cy or AraC mobilization regimens by comparative transcriptomic analysis of haematopoietic stem cells (HSCs) in newly diagnosed multiple myeloma.

**Methods:** Sorted CD34+ HSCs from 14 MM patients were used for the analysis (9 mobilized with AraC and 5 with cyclophosphamide). Total RNA was sequenced aiming at 30 M reads per sample. Ribosomal RNA reads were filtered by sortmerna and the rest mapped and quantified by Salmon. Differential gene expression was evaluated using Deseq2.

**Results:** We have identified 190 significantly deregulated genes with more than 2 fold-change between groups of haematopoietic stem cells (HSC) samples mobilized by AraC or Cy (Figure 1). Unsupervised clustering showed distinct cluster including 3 Cy samples and second cluster with all AraC and 2 Cy samples. Down-regulation of integrins (ITGB3, ITGAM, ITGA7) and chemokine receptors and ligands (CXCR2, CXCL16, CCR2, CCR1) suggest decreased cell homing in AraC group, however, the expression of some of the main molecules was not altered. E.g. CXCR4 was not markedly downregulated (FDR 0,09), chemokine ligand CXCL12 was not expressed at all.

**Conclusion:** Our analysis focuses on the alteration of transcriptome after application of different mobilization agents (AraC and Cy) on HSC. Down-regulation of a number of genes involved in homing could explain increased mobilization efficacy after AraC regimen. On the other hand, pathways important for the haematopoietic stem cell function and metabolism were not deregulated and also their potential to differentiate into mature cell types was not significantly altered.

## P94. HLA LOSS RELAPS – SPECIFICKÁ KOMPLIKACE PO HAPLOIDENTICKÝCH TRANSPLANTACÍCH KRVETVORNÝCH BUNĚK

Vraná M., Čechová H., Vydra J.

Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

V posledních letech je zaznamenáván narůstající trend v počtu provedených transplantací krvinek od haploidentických příbuzných dárců (haplo-HSCT). Takový dárců se s pacientem shoduje pouze v jednom HLA haplotypu (minimální shoda 5/10). V případě relapsu choroby může dojít v důsledku genetické přestavby ke ztrátě neshodného specifického HLA haplotypu pacienta. Tento stav je označován jako HLA loss relaps.

Od roku 2014 do konce roku 2019 bylo provedeno v Ústavu hematologie a krevní transfuze celkem 98 haplo-HSCT, u 26 z nich byl detekován návrat původní krvinek/relaps onemocnění. Medián vzniku relapsu byl 118 dní.

Pro detekci HLA loss relapsu byla retrospektivně použita metoda kvantitativní real-time PCR s využitím komerčního kitu,

který testuje HLA specifické markery. Ty jsou využitelné pouze pro určité kombinace HLA genotypu pacienta a dárce. V našem souboru byl HLA marker dostupný pro 15 pacientů (z celkového počtu 26 relapsů). U všech 15 pacientů s vhodným HLA markerem bylo provedeno celkově 61 kvantitativních analýz porovnávajících zastoupení HLA a non-HLA markerů. Na základě jejich vyhodnocení byl detekován HLA loss relaps pouze u jednoho z pacientů. Tomuto pacientovi byla při původní detekci relapsu podána infuze dárcovských lymfocytů (informace o HLA-loss relapsu nebyla v té době známa). Infuze dárcovských lymfocytů (DLI) neměla terapeutický účinek a pacient zemřel na relaps choroby. U ostatních pacientů z testovaného souboru kvantifikace HLA markerů potvrdila přítomnost klasického relapsu bez ztráty neshodného HLA haplotypu.

Odlišit HLA loss relaps od klasického relapsu je důležité pro určení následné strategie léčby. V případě HLA loss relapsu je podání DLI neefektivní, naopak v důsledku ztráty heterozygoty je leukemickým buňkám poskytována selektivní výhoda, díky které uniknou imunologickému tlaku aloreaktivních dárcovských T-buněk. Ty pak napadají zdravé tkáně pacienta a mohou vést k reakci štěpu proti hostiteli.

Podpořeno projektem (Ministerstva zdravotnictví ČR) koncepčního rozvoje výzkumné organizace (00023736, ÚHK).

## P95. EFFECT OF DARATUMUMAB-CONTAINING INDUCTION ON CD34+ HAEMATOPOIETIC STEM CELL SUBSETS BEFORE AUTOLOGOUS STEM CELL TRANSPLANTATION IN MULTIPLE MYELOMA

Venglář O.<sup>1-3</sup>, Huvarová L.<sup>1,2</sup>, Ševčíková T.<sup>1,2</sup>, Vrána J.<sup>1,2</sup>, Kapustová V.<sup>1,2</sup>, Žihala D.<sup>1,2</sup>, Broskevičová L.<sup>1</sup>, Kořístek Z.<sup>1,2</sup>, Hájek R.<sup>1,2</sup>, Jelínek T.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Klinika hematologie FN Ostrava

<sup>2</sup> LF OU, Ostrava

<sup>3</sup> Katedra biologie a ekologie, Přírodovědecká fakulta, OU, Ostrava

**Background:** Daratumumab is an anti-CD38 monoclonal antibody representing a novel treatment approach for multiple myeloma (MM). Unfortunately, impairment of CD34+ hematopoietic stem cell (HSC) mobilisation was reported, including lower yields of CD34+ cells after the therapy (Hulin et al., 2021). Impact of anti-CD38 treatment on the mobilisation process remains poorly understood even though it is a crucial step for a successful HSC transplantation.

**Aim:** To compare the effect of anti-CD38 (Daratumumab-Bortezomib-Dexamethasone [D-VCd]) and conventional (Bortezomib-Thalidomide-Dexamethasone [VTd]) treatment on CD34+ HSCs.

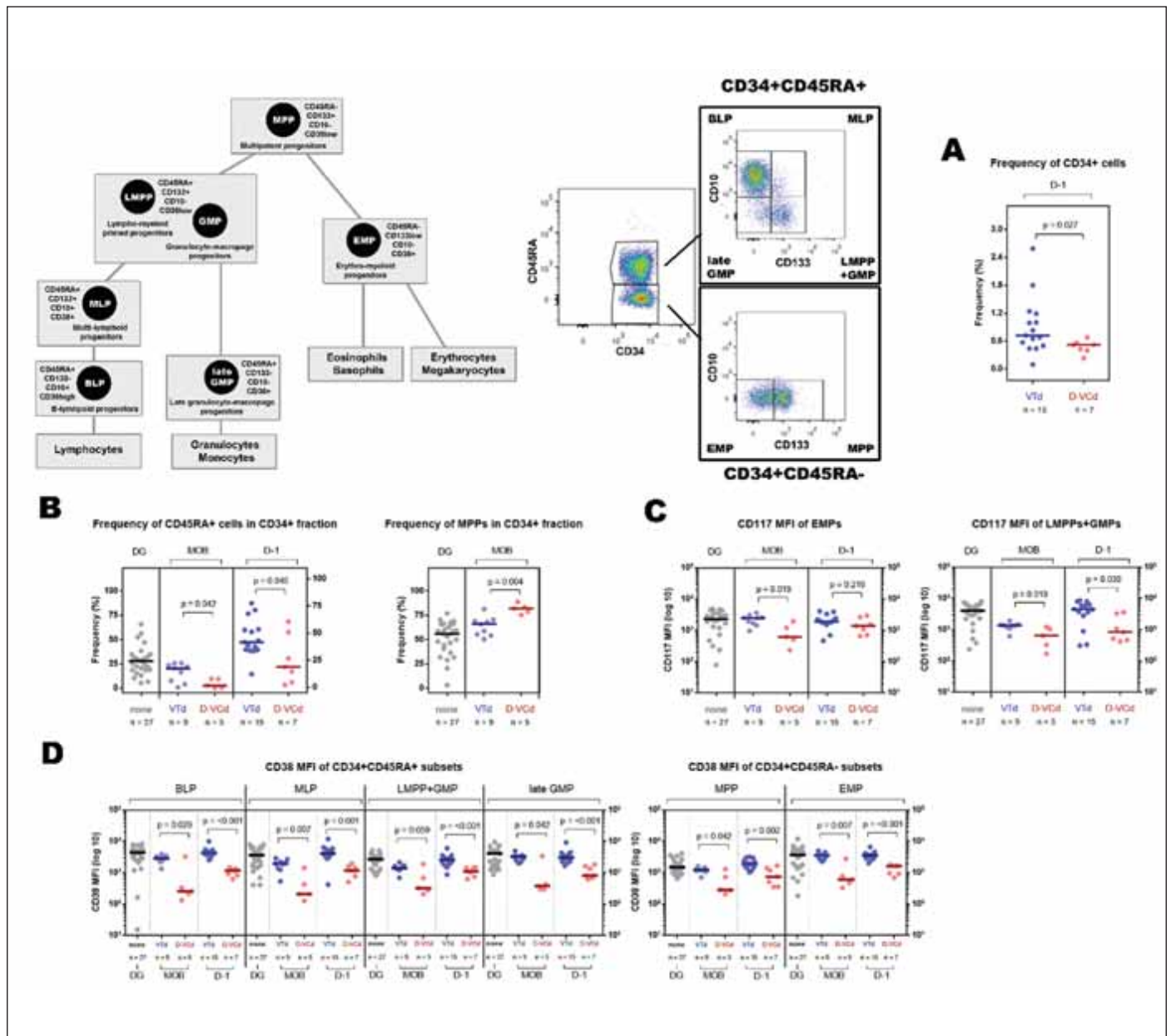
**Methods:** An 8-color panel (CD10, CD34, CD38, CD44, CD45RA, CD117, CD133, CD184) was designed for a flow cytometry screening of CD34+ subsets at three different time points (diagnosis [DG], mobilisation [MOB] and a day prior to transplantation [D-1]), either in

the bone marrow (BM) at DG and D-1 or in the apheretic product (AP) of mobilised HSCs.

**Results:** Overall DG N = 27, AP VTd N = 9 vs. D-VCd N = 5 and D-1 BM VTd N = 15 vs. D-VCd N = 7 were compared. Frequency of CD34+ cells in cell fraction (figure 1 A) was decreased in D-VCd D-1 BMs (P = 0.027). Changes in the subset distribution were detected in the CD34+ pool (figure 1 B), including diminution of CD34+CD45RA+ lympho-myeloid compartment in both D-VCd APs (P = 0.042) and D-1 BMs (P = 0.045), together with greater frequencies of CD45RA-

CD133+CD10- multipotent progenitors (MPPs) in D-VCd APs (P = 0.004). Median fluorescence intensity (MFI) of CD117 (figure 1 C) decreased in D-VCd AP EMPs (P = 0.019) and in the LMPP+GMP pool of both D-VCd APs (P = 0.019) and D-1 BMs (P = 0.030). CD38 MFI was diminished in all CD34+ subsets in D-VCd APs and D-1 BMs (figure 1 D).

**Conclusion:** Our study provides first insights into the mechanistic impact of daratumumab on CD34+ HSCs and on the mobilisation process.



## P96. VYSOKODÁVKOVANÝ ACIKLOVIR V PROFYLAXI CMV INFEKCE U HEMATOLOGICKÝCH PACIENTŮ PO ALOGENNÍ TRANSPLANTACI KRVETVORNÝCH BUNĚK – RETROSPEKTIVNÍ ANALÝZA DAT.

Kabut T., Weinbergerová B., Lengerová M., Kováčsová F., Folber F., Krejčí M., Tomiška M., Mayer J.

*Interní hematologická a onkologická klinika LF MU a FN Brno*

**Cíl:** Infekce lidským cytomegalovirem (CMV) po alogenní transplantaci krvetvorných buněk (HSCT) je významnou komplikací s vysokou morbiditou a mortalitou. Cílem práce je zhodnocení reálných klinických zkušeností s užitím vysokodávkovaného acikloviru v kombinaci s preemptivní léčbou CMV reaktivace po HSCT.

**Metody:** Provedli jsme retrospektivní analýzu dat týkajících se reaktivace a onemocnění CMV u pacientů po alogenní HSCT transplantovaných na našem pracovišti v letech 2015–2019 s profylaxi vysokodávkovaným aciklovirem v kombinaci s preemptivní léčbou CMV.

**Výsledky:** V letech 2015–2019 bylo provedeno 179 alogenních HSCT, 44 (25 %) pacientů bylo transplantováno od HLA identického sourozence, 45 (25 %) od nepříbuzného dárce se shodou 10/10 a 89 (50 %) se shodou 9/10, u 1 pacienta byla provedena haploidentická transplantace. CMV disparita byla u 62 (35 %) pacientů, kombinace séropozitivního příjemce a negativního dárce byla u 40 (22 %) případů. K reaktivaci CMV došlo celkem u 56 pacientů (31 %), medián rozvoje reaktivace od HSCT byl 49 dní (min 25, max 147 dní). Signifikantně častěji docházelo k reaktivaci CMV u skupiny séropozitivních příjemců se séronegativním dárce ve srovnání s ostatními kombinacemi, kde reaktivovalo 29 (73 %) vs. 27 (20 %) pacientů ( $p < 0,01$ ). Mírně častější byla reaktivace u pacientů s HLA neshodou (39 vs. 29 %;  $P = 0,251$ ) a u pacientů s akutními leukémiemi a MDS ve srovnání s ostatními diagnózami (35 vs. 20 %;  $p = 0,084$ ), rozdíly ale nebyly statisticky signifikantní. U většiny pacientů byl k preemptivní léčbě reaktivace použit v 1. linii valganciclovir (93 %). CMV choroba se rozvinula u 3 pacientů (2 %), z toho 2 pacienti v jejím důsledku zemřeli.

**Závěr:** Kombinace vysokodávkovaného acikloviru s preemptivní terapií reaktivace je efektivním způsobem prevence rozvoje vážné CMV infekce. Riziko reaktivace je nejvyšší u séropozitivních pacientů se séronegativními dárce, kteří tak mohou profitovat z dalších možností prevence.

## P97. QUANTIFERON-MONITOR JAKO MOŽNÝ PREDIKTOR VÝSKYTU INFEKČNÍCH KOMPLIKACÍ U PACIENTŮ PO ALOGENNÍ TRANSPLANTACI KRVETVORNÝCH BUNĚK

Žibřidová K.<sup>1</sup>, Souček O.<sup>2</sup>, Vrbáčý F.<sup>1</sup>, Sejkorová I.<sup>2</sup>, Lánská M.<sup>1</sup>, Víšek B.<sup>1</sup>, Radocha J.<sup>1</sup>, Žák P.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>IV. interní hematologická klinika FN Hradec Králové

<sup>2</sup>Ústav klinické imunologie a alergologie, FN Hradec Králové

**Úvod:** Transplantace krvetvorných buněk je součástí léčby řady hematologických malignit, mezi její rizika patří zejména závažné

infekční komplikace. QuantiFERON-monitor (QFM) je metoda určená ke zjištění míry nespecifické buněčné imunitní odpovědi založená na stanovení hladiny interferonu gamma ( $IFN\gamma$ ) v plazmě po předchozí stimulaci vrozené i získané buněčné imunity.

**Cíl:** Práce zkoumá vztah dynamiky hodnoty QFM u pacientů léčených alogenní transplantací PKB pro hematologickou malignitu a výskytu závažných infekčních epizod časně po transplantaci.

**Metody:** Pomocí testu QuantiFERON-Monitor (QIAGEN, Hilden, Německo) byly vyšetřovány vzorky nesrážlivé krve dle manuálu a následně stanovovány plazmatické hodnoty  $IFN\gamma$  metodou ELISA (norma 15–1 000 IU/ml).

**Výsledky:** 11 subjektům byl odebrán QFM před zahájením přípravného režimu (medián 63,2 IU/ml) a 3 měsíce po transplantaci (medián 65 IU/ml). V druhém souboru 17 nemocných byl QFM stanovován před (medián 187,1 IU/ml) a 6–9 měsíců po transplantaci (medián 42,95 IU/ml). Hodnotili jsme změnu  $IFN\gamma$  oproti počáteční hodnotě s hypotézou nárůstu/stacionární produkce při absenci závažné infekce. U pacientů měřených po 3 měsících byla, resp. nebyla infekce s vyšším/stejným QFM u 4, resp. 1 osob/y. Při poklesu QFM rozvinuli infekci 4 pacienti a bez infekce byli 2 z 11 nemocných ( $p = 0,79$ ). Ve skupině sledované 6–9 měsíců se u nemocných s vyšším/stejným QFM vyskytla infekce u 2 a nebyla u 4 z 17 sledovaných. Z pacientů s poklesem QFM byla, resp. nebyla infekce u 6, resp. 5 osob ( $p = 0,37$ ). Nebyla potvrzena souvislost mezi vzestupem QFM a snížením výskytu infekcí při 3 – měsíčním sledování, ve skupině sledované 6–9 měsíců nelze potvrdit ani vyvrátit snížení výskytu infekce u pacientů bez poklesu QFM, nicméně výsledky nejsou statisticky významné.

**Závěr:** Na daném souboru nemocných po alogenní transplantaci PKB nebyla prokázána prediktivní hodnota QFM ve spojitosti s výskytem infekcí, vzhledem k širokému rozmezí normálních hodnot jde o obtížně interpretovatelný parametr.

## P98. NUTRIČNÍ A METABOLICKÁ PÉČE U ALOGENNÍ TRANSPLANTACE KRVETVORNÝCH BUNĚK

Tomáška M., Minaříková D., Lužák A., Folber F., Mayer J.

*Interní hematologická a onkologická klinika LF MU a FN Brno*

**Cíl:** Práce shrnuje výsledky systematicky prováděné nutriční a metabolické podpory při alogenní transplantaci krvetvorných buněk u 50 nemocných s hematologickými maligními chorobami v období roků 2017 a 2018.

**Metody:** Před zahájením přípravného režimu byl klinickým vyšetřením zhodnocen nutriční stav pacientů s vyjádřením nutričního rizika, index komorbidity HCT-CI, vyšetřeny vstupní hladiny albuminu a prealbuminu v séru ve vztahu k CRP, fibrinogenu a ferritinu, dále koncentrace cholesterolu a triacylglycerolů, vybraných mikronutrientů (vitamin D, folát, zinek, selén) a plazmatické hladiny aminokyselin glutaminu a citrulinu.

Po zahájení přípravného režimu byl monitorován příjem stravy, doplňků ve formě sippingu a podávání parenterální výživy,

vše s ohledem na nutriční potřebu (energie 1,3\*ZEV, základní energetický výdej z Harris-Benediktovy rovnice; bílkoviny 1,5 g/kg aktuální hmotnosti/den, u obézních na kg korigované hmotnosti). Monitorován byl také vývoj vybraných laboratorních parametrů.

Retrospektivně byla zhodnocena toxicita přípravného režimu, stupeň mukozitidy zažívacího traktu, výskyt komplikací, doba hospitalizace a celkový stav pacienta ke dni +100, vše s ohledem na stav hematologického maligního onemocnění.

**Výsledky:** budou prezentovány na sjezdu.

**Závěr:** Výstupem této práce je zhodnocení možného vlivu vstupních nutričních parametrů a způsobu nutriční podpory po transplantaci na výskyt komplikací a na celkový výsledek léčby ke dni +100. Na základě prezentovaných výsledků dávají autoři návrh k rutinnímu vstupnímu nutričnímu rizikovému screeningu, k indikaci nutriční přípravy před zahájením transplantační terapie a k nutriční a metabolické podpoře po transplantaci.

## PODPŮRNÁ A PALIATIVNÍ PÉČE

### P99. PROGRAM ČASNÉ INTEGRACE PALIATIVNÍ PÉČE O NEKURATIVNĚ LÉČENÉ PACIENTY S AML – PILOTNÍ PROJEKT

Klejnová M., Kouba M., Hisemová M., Rajchmanová E., Hladíková M., Fenclová T., Hájek M., Polívka J., Šimková A., Ráčil Z.

Ústav hematologie a krevní transfúze, Praha

**Úvod:** Časná integrace paliativní péče v hematologii není dosud standardním přístupem, ale evidence o jejím efektu na zvýšení kvality života, úlevu od psychických symptomů a lepší péči v závěru života těchto těžce nemocných pacientů narůstá. Zdá se, že časná integrace paliativní péče v hematologii je stejně významná jako v onkologii solidních tumorů, kde je již pevně zakotvená v respektovaných doporučeních. Jedním z úskalí časně integrované paliativní péče bývá stigmatizace paliativní péče ve smyslu „terminální péče“ jak pacienty, tak zdravotníky.

**Cíl:** Ověření proveditelnosti programu strukturované časně integrované paliativní péče o pacienty s AML v ambulantních podmínkách hematologického centra.

**Metody:** Retrospektivní analýza souboru 29 konsekutivních pacientů AML, kteří byli v období od 2/2020 do 5/2021 kromě specializované AML ambulance sledováni podpůrným týmem ÚHKT v programu inspirovaném „1-2-3 projektem“ převzatým z Memorial Sloan Kettering Cancer Center, NY, USA.

**Výsledky:** Ve skupině 29 konsekutivních AML pacientů léčených hydroxyureou, nízkodávkovaným cytosin arabinosidem, 5-azacytidinem, venetoclaxem nebo gilteritinibem průměrného věku 70 let proběhl první kontakt se sestrou podpůrného týmu v průměru 6. den po stanovení diagnózy. Konzilium lékařů podpůrného týmu proběhlo v průměru dvakrát u každého pacienta. Kvalitní osobní kontakt s rodinou pacienta proběhl u 20 pacientů. Délka sdílené péče byla v průměru 90 dní. 12 pacientů zemřelo, 4 z nich v domácí péči. V 8 případech proběhla pozůstalostní péče. Pouze v jednom případě jsme pozorovali u pacienta významný distress a nepohodu v souvislosti s konziliem podpůrného týmu.

**Závěr:** Sdílení ambulantní péče o nekurativně léčené AML pacienty hematologem a sestrou a podpůrným týmem vzdělaným v paliativní medicíně je z naší zkušenosti funkčním, pacienty vstřícně přijímaným

a efektivním přístupem. Umožňuje věnovat se komplexním potřebám pacientů s nekurativně léčenou AML. Centrální je koordinační role sestry podpůrného týmu. Stigma podpůrného týmu se nerozvíjí, je-li do péče integrován ihned v době diagnózy. Program vyžaduje intenzivní spolupráci hematologa a podpůrného týmu založenou na vzájemném respektu.

### P100. INFEKČNÍ KOMPLIKACE INDUKČNÍ LÉČBY AKUTNÍ MYELOIDNÍ LEUKEMIE – 15 LET ZKUŠENOSTÍ JEDNOHO CENTRA

Čerňan M.<sup>1</sup>, Szotkowski T.<sup>1</sup>, Kolář M.<sup>2</sup>, Hubáček J.<sup>1</sup>, Faber E.<sup>1</sup>, Indrák K.<sup>1</sup>, Papajík T.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Hemato-onkologická klinika LF UP a FN Olomouc

<sup>2</sup> Ústav mikrobiologie, LF UP a FN Olomouc

**Cíle:** Práce je retrospektivní analýzou infekčních komplikací v průběhu prvního cyklu indukční chemoterapie u nemocných s akutní myeloidní leukemií (AML).

**Metody:** Soubor představuje 242 nemocných s non-M3 AML léčených na Hemato-onkologické klinice LF UP a FN Olomouc v období 1. 1. 2006 až 31. 12. 2020. Primární antibiotická profylaxe byla použita jen u 2 nemocných. Febrilní epizoda (FE) byla definována jako období začínající prvním dnem se záchytem horečky nad 38 °C a končící dnem, kdy teploty byly nejméně 3 po sobě následující dny pod 37,5 °C bez medikace antipyretik či kortikosteroidů.

**Výsledky:** Celkem bylo dokumentováno 363 FE. Z 242 pacientů mělo 229 (94,6 %) v průběhu indukční chemoterapie febrilní epizodu, přičemž jedna FE byla zaznamenána u 119, dvě FE u 88, tři a čtyři FE u 20, resp. 2 nemocných. Klinicky a/nebo mikrobiologicky dokumentovaná infekce byla příčinou 194 (53,4 %) FE. Infekce cévního řečiště byla zjištěna u 69 (19,0 %) FE a v kombinaci s jinou klinicky definovanou infekcí byla přítomna u 29 (8,0 %) FE. G+ agens bylo zachyceno v hemokultuře u 61/98 (62,2 %) infekcí cévního řečiště. Klinicky definované infekce byly příčinou 96 (26,4 %) FE. Pneumonie byla nejčastější klinicky definovanou infekcí. Jako febrilní neutropenie bylo uzavřeno 169 (46,6 %) FE. Bez známek infekce proběhla indukční chemoterapie u 13 (5,4 %) pacientů. Infekční komplikace byly příčinou

úmrtí u 18 (7,4 %) nemocných. Dosažení hematologické remise onemocnění mělo pozitivní vliv na délku neutropenie (24 vs. 27 dní), počet FE (1,4 vs. 1,6 FE) a celkovou délku trvání febrilních epizod (6 vs. 9 dní). Data budou dále kompletizována a analyzována.

**Závěr:** Indukční léčba představuje jednu z nejrizikovějších fází terapie AML. Podání indukční chemoterapie bez antibiotické profylaxe obecně vede k nižšímu selekčnímu tlaku a pomalejšímu vývoji antibiotické rezistence se zachováním účinnosti iniciální antibiotické terapie febrilní neutropenie.

Podpořeno MZ ČR – RVO (FNOL, 00098892) a IGA\_LF\_2021\_001.

## P101. UPLATNĚNÍ TELEMEDICÍNY V HEMATOONKOLOGICKÉ PÉČI

Hradská K.<sup>1,2</sup>, Popková T.<sup>1,2</sup>, Skořupová M.<sup>1,2</sup>, Mihályová J.<sup>2</sup>, Lančová J.<sup>3</sup>, Schellong N.<sup>3</sup>, Hájek R.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Přirodovědecká fakulta, Ostravská univerzita, Ostrava

<sup>2</sup>Klinika hematologie FN Ostrava

<sup>3</sup>Národní dohledové centrum, Ostrava

**Cíl:** Infekční komplikace, zejména febrilní neutropenie, jsou u aktivně léčených hematoonkologických pacientů spojeny se značnou morbiditou, mortalitou a v neposlední řadě i nezanedbatelnými finančními náklady na péči. Jejich brzkou detekcí a promptním nasazením antiinfektiv lze předejít závažným život ohrožujícím stavům jako je septický šok, multiorgánové selhání nebo předčasnému úmrtí. Monitorování fyziologických funkcí pacientů na dálku se jeví jako vhodná metoda k odhalení infekce včasné fázi.

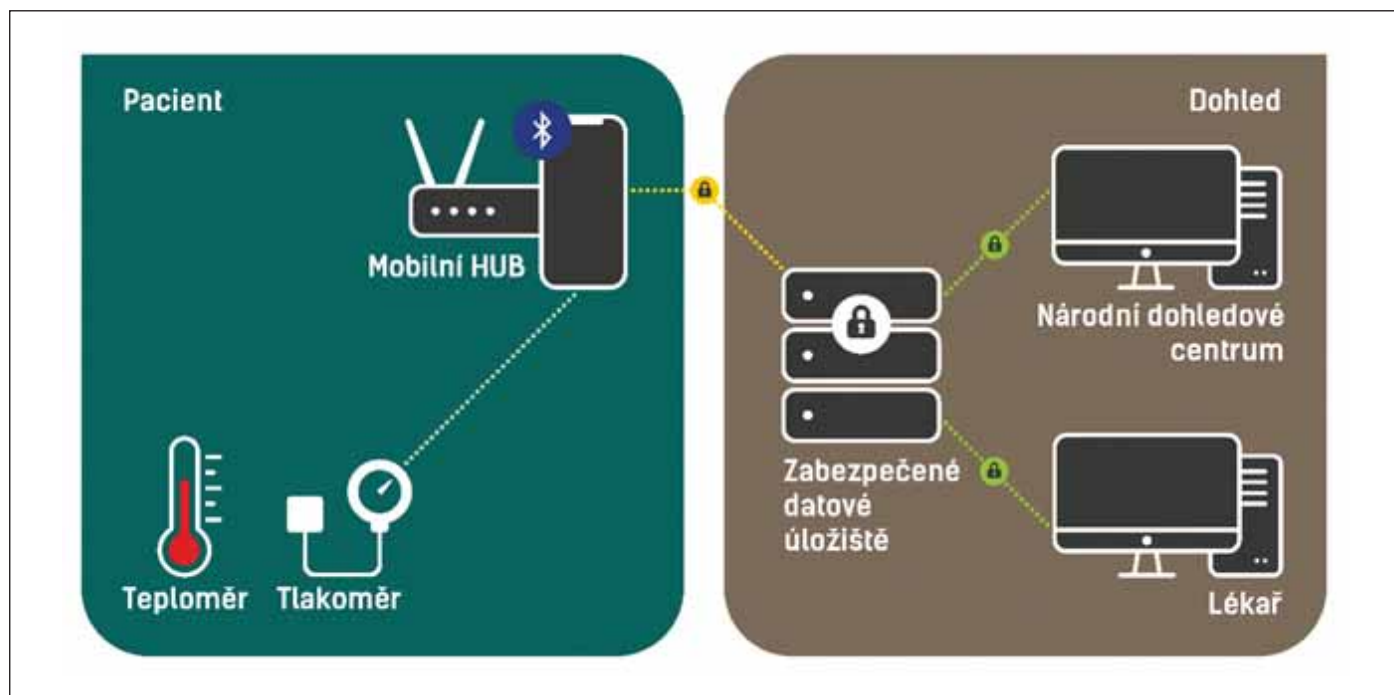
**Metody:** Do tohoto projektu jsou zařazeni aktivně léčení pacienti s vysokým rizikem vzniku infekčních komplikací. Každý účastník je

vybaven digitálním tlakoměrem a bezkontaktním infračerveným teploměrem, které jsou připojeny k mobilnímu hubu (mobilní telefon) pomocí bluetooth. Pacienti si v pohodlí domova kontrolují krevní tlak, puls a tělesnou teplotu pravidelně a navíc v případě subjektivního zhoršení stavu. Naměřené hodnoty jsou odeslány na zabezpečený server, ke kterému má přístup pověřený zdravotnický personál z jakéhokoliv zařízení s připojením k internetu. Na hodnoty mimo stanovený rozptyl je okamžitě upozorněno formou SMS zprávy, což umožňuje pohotovou reakci odpovědného lékaře.

**Výsledky:** Od 1. března 2018 do 31. března 2021 bylo zařazeno 74 pacientů napříč onkologickými i neonkologickými diagnózami (akutní leukemie 40 %, mnohočetný myelom 28 %, lymfomy 22 %, chronické leukemie 8 %, myelodysplastický syndrom 1 %, aplastická anémie 1 %). Medián délky monitorace byl 5 měsíců (1 den až 27 měsíců). Za dané období bylo zaznamenáno celkem 780 alarmů tělesné teploty a 988 alarmů krevního tlaku, které byly ve 124 případech řešeny SMS zprávou a v 78 případech telefonátem. O počínající infekci se jednalo 15x, přičemž 9 pacientů vyžadovalo hospitalizaci, u ostatních byla antibiotická léčba vedena v ambulantním režimu. V žádném ze zachycených případů nedošlo k progresi stavu do septického šoku nebo k úmrtí.

**Závěr:** V dnešní době je preferována ambulantní péče a kladen důraz na udržení dobré kvality života. Vzdálenou monitorací fyziologických funkcí jsme schopni zajistit tyto požadavky při zachování dostatečné bezpečnosti léčby.

Podpořeno z Evropského fondu pro regionální rozvoj – projekt „SMART technologie pro zvyšování kvality života ve městech a regionech (reg. č.: CZ.02.1.01/0.0/0.0/17\_049/0008452).



## P102. SLEDOVÁNÍ VZNIKU A DYNAMIKY CMV KMENŮ REZISTENTNÍCH NA LETERMOVIR A DALŠÍ ANTIVIROTIKA U PACIENTŮ PO ALOGENNÍ TRANSPLANTACI KRVETVORNÝCH BUNĚK

Volfová P., Lengerová M., Pantůčková D., Pospíšilová J., Kabut T., Weinbergerová B., Krejčí M., Mayer J.

Interní hematologická a onkologická klinika LF MU a FN Brno

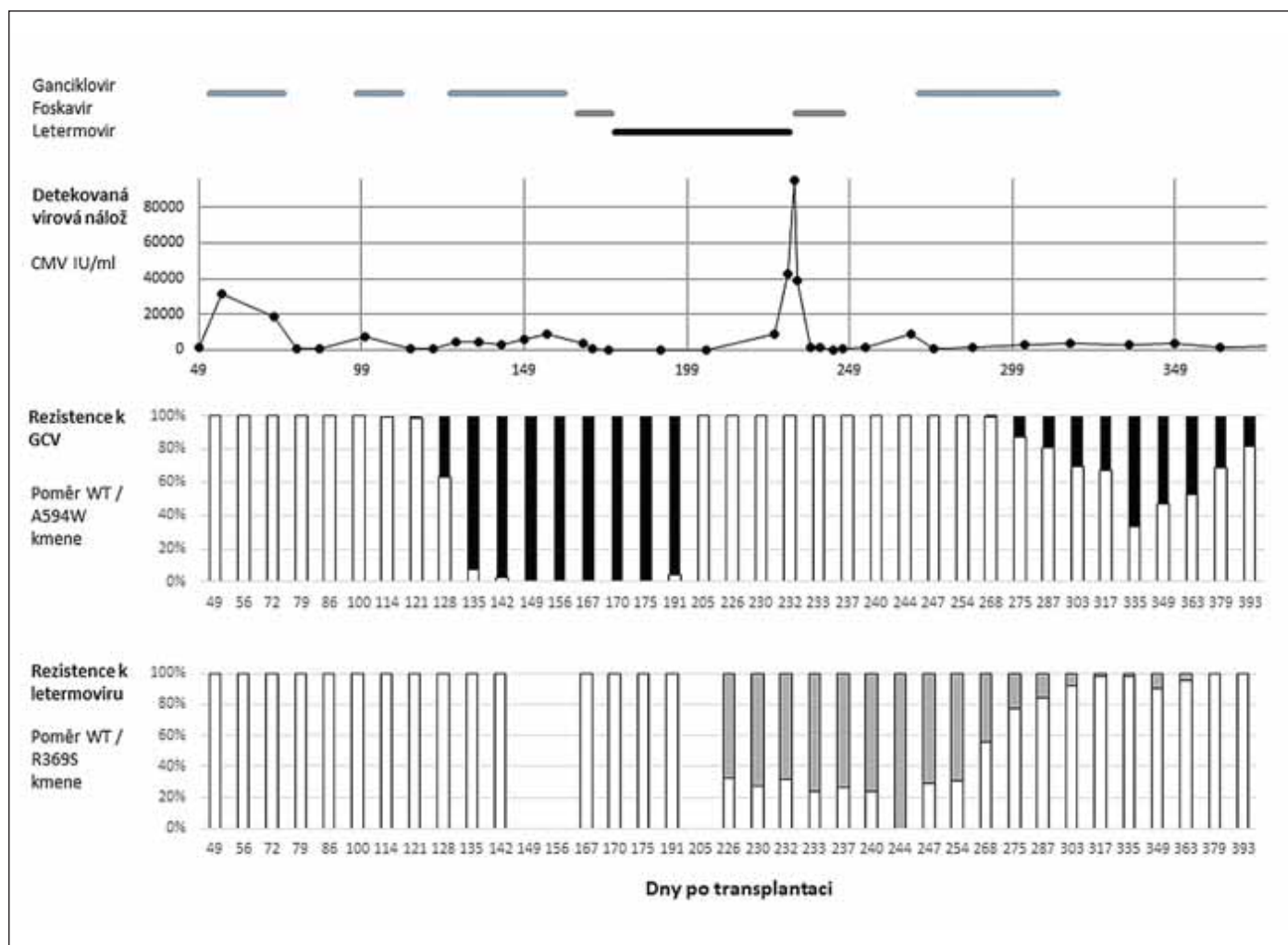
**Cíl:** Letermovir je novým antivirotikem používaným k profylaxi CMV infekcí u CMV-séro pozitivních pacientů po transplantaci krvetvorné tkáně. Rozšiřuje spektrum používaných léčiv – gancikloviru/valgancikloviru (CGV/VGCV), foskaviru (FOS) a cidofoviru (CID). Také při podávání letermoviru nastává riziko vzniku rezistence v důsledku mutací viru vedoucích k selhání léčby. Cílem práce je mutace detekovat a kvantitativními PCR sledovat kinetiku citlivých (WT) a rezistentních (MUT) variant CMV v závislosti na změnách léčby.

**Metody:** Mutace v CMV genech *UL97*, *UL54* a *UL56* jsme u pacientů se selháním/nedostatečnou léčebnou odpovědí identifikovali sekvenací. Pro nejčastěji se vyskytující mutace – A594V, A594T a L595S (UL 97) a pro R369S (UL56) jsme zavedli SNP-specifické real time PCR

systemy stanovující poměr WT/MUT kmenů během reaktivačních epizod.

**Výsledky:** V letech 2004–2021 jsme sekvenovali UL97 u 41 pacientů léčených antivirotiky, z nichž u 11 jsme detekovali mutaci způsobující rezistenci na GCV. U 23 z 41 jsme testovali také mutace v UL54, pouze u 1 byla nalezena mutace vedoucí k rezistenci na FOS. U ostatních nebyla mutace prokázána a nedostatečná odpověď byla dána nejčastěji redukcí dávkou antivirotika. V roce 2021 jsme u 1 pacienta nově zavedenou metodou detekovali mutaci genu *UL56* spojenou s rezistencí na letermovir. K rozvoji rezistence došlo již po 54 dnech léčby. U tohoto pacienta došlo během léčby CMV reaktivece různými antivirotiky k selekci dvou rezistentních CMV kmenů. Jeden s mutací A594V (rezistence ke GCV) byl po terapii FOS a profylaxi letermovirem eliminován a nahrazen kmenem s mutací R369S rezistentní na letermovir (viz obrázek).

**Závěr:** Sekvence UL97, UL54 a UL56 umožňuje sledovat výskyt rezistentních mutací na všechny v současnosti podávané CMV antivirotika. Vlivem selekčního tlaku antivirotik se výskyt WT/MUT variant rychle mění a k reaktivaci rezistentních kmenů dochází často po krátké době podávání. Prospektivní monitorování dynamiky může přispět ke zvyšování efektivity léčby prováděním adekvátních změn v léčebných postupech.



# COVID-19

## P103. VYUŽITÍ HEMATOLOGICKÝCH VYŠETŘENÍ V DIAGNOSTICE COVID-19 INFEKČÍ

Slavík L.<sup>1</sup>, Adamovská S.<sup>2</sup>, Úlehlová J.<sup>1</sup>, Grohmann J.<sup>1</sup>, Juráňová J.<sup>1</sup>, Novák M.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Hemato-onkologická klinika LF UP a FN Olomouc

<sup>2</sup>Laboratoře Spea, Laboratoře Spea Olomouc s.r.o., Olomouc

**Úvod:** Základním projevem infekce COVID-19 je stejně jako SARS a MERS respirační selhávání. Závažný průběh onemocnění vyžadující hospitalizaci má přibližně 20 % pacientů. U těžce nemocných jedinců jsou nejzávažnějšími komplikacemi syndrom akutní respirační tísně způsobený difúzním alveolárním poškozením. Na základě vyšetření těchto pacientů bylo zjištěno několik rizikových faktorů, které predisponují pacienty k těžkému průběhu onemocnění, mezi nimiž je z hematologického hlediska na prvním místě D-dimer vyšší než 750–1 000 ng/ml při přijetí, ale i lymfopenie v důsledku defektní imunitní odpovědi, leukocytóza jako předzvěst bakteriální infekce, resp. superinfekce, ale také neutrofilie jako projev cytokinové bouře a některé markery sepsse, jako je širší distribuce monocytů (MDW). U závažných stavů pak pozorujeme také trombocytopenie a defekty v koagulačním systému včetně deficitu ADAMTS 13 jako možné příčiny manifestace trombembolie u COVID-19 indukovaných sepsí.

**Cíle:** Cílem naší studie bylo ověřit přínos hematologických vyšetření pro triážování pacientů přicházejících na urgentní příjem s příznaky virového onemocnění pro identifikaci závažnosti klinické manifestace virového onemocnění s ohledem na potřebu zajištění plicní podpory.

**Výsledky:** V souboru 78 pacientů bylo jako základní kritérium pro triážování využito D-Dimeru s cut-off 750 ng/ml, kdy jak u COVID-19 pozitivních tak negativních vidíme vysoké procento pozitivitu (40,3, resp. 45,2 % pacientů). Při doplnění markeru systémového zánětu jako je MDW pak pozorujeme, ale zásadní rozdíly (82,1 % COVID-19 pozitivních pacientů má zvýšenou hodnotu MDW oproti 27,5 % COVID-19 negativních).

Tento obraz dokresluje průkaz příčiny infektu, kdy u 38 % pacientů máme zvýšenou hodnotu CD 64 exprese jako typický znak sekundární bakteriální infekce.

**Závěr:** V triážování pacientů s podezřením na příznaky virového onemocnění v důsledku COVID – 19 je klíčová pozice pozitivitu D-Dimeru v důsledku alveolárního poškození virovou infekcí. Jako velice přínosná se jeví jeho kombinace s MDW pro závažnost sepsse, resp. CD64 pro bakteriální příčinu sepsse.

Podpořeno grantem LF-2021-001 a MZ ČR – RVO (FNOI, 00098892).

## P104. KLINICKÝ PŘEBEH A KOMPLIKÁCIE OCHORENIA COVID-19 U PACIENTOV S CHRONICKOU MYELOCYTOVOU LEUKÉMIOU

Slezáková K., Rohoň P., Mistrík M., Bátorová A.

Klinika hematológie a transfuziológie LF UK a Univerzitná nemocnica Bratislava, Bratislava, Slovensko

**Ciel:** Cieľom príspevku je zdieľať prvé skúsenosti s manažmentom infekcie vírusom SARS-CoV-2 u pacientov s BCR/ABL pozitívnou chronickou myelocytovou leukémiou.

**Metódy:** Retrospektívna analýza súboru pacientov liečených na pracovisku Kliniky hematológie a transfuziológie LFUK a Univerzitetnej nemocnice Bratislava pre diagnózu BCR/ABL pozitívnej CML, ktorí prekonalí infekciu spôsobenú vírusom SARS-CoV-2 v období 1. 3. 2020–30. 4. 2021. Infekcia bola potvrdená PCR diagnostickým testom pre vírus SARS-CoV-2. Závažnosť infekcie sme posudzovali podľa klasifikácie WHO.

**Výsledky:** V sledovanom období prekonalo infekciu SARS-CoV-2 25 pacientov; 13 mužov a 12 žien. Priemerný vek v čase infekcie bol 49,9 rokov (23–77). V čase infekcie bolo imatinibom liečených 13 pacientov, nilotinibom 7, dasatinibom 2 pacientky a ponatinibom 1 pacient. U 2 pacientov sa infekcia prejavila v čase diagnostikovania CML. Všetci pacienti liečení TKI boli v období infekcie v optimálnej liečebnej odpovedi. Pridružené ochorenia malo 16 pacientov, najčastejšie artériovú hypertenziu a diabetes melitus. Žijú všetci pacienti. 4 pacienti boli asymptomatickí. Ľahký priebeh infekcie sme pozorovali u 13 a stredne závažný priebeh u 6 pacientov. Ťažký priebeh ochorenia COVID-19 s nutnosťou hospitalizácie mal 1 pacient a 1 pacient bol v kritickom stave na umelej pľúcnej ventilácii. U žiadneho pacienta sa neskompikoval priebeh infekcie pľúcnou embóliou. Obe pacientky liečené dasatinibom mali pneumóniu a liečba TKI bola u nich počas infekcie prerušená.

**Záver:** Pacienti s hematologickými malignitami predstavujú zraniteľnú skupinu chorých na ochorenie COVID-19. Ich stav sa môže skompikovať bakteriálnym zápalom pľúc, trombózou, respiračným zlyhaním a inými vážnymi komplikáciami. Medzi rizikové faktory závažného priebehu patrí vek nad 65 rokov, závažné komorbidity, typ nádorového ochorenia, jeho štádium a spôsob terapie. U väčšiny našich pacientov s CML sme pozorovali ľahký priebeh ochorenia COVID-19. Pri jeho manažmente u pacientov liečených TKI treba zohľadňovať aj bezpečnostný profil TKI, možný nástup cypopénie pri infekcii ako aj liekové interakcie.



## P105. COVID-19 U PACIENTŮ S FOLIKULÁRNÍM LYMFOMEM INCIDENCE A MORTALITA VE FN BRNO

Janíková A., Michalka J., Šálek D., Hřebíčková H., Cyprianová H., Nováková E., Mayer J.

*Interní hematologická a onkologická klinika  
LF MU a FN Brno*

**Úvod:** Folikulární lymfom (FL) je indolentní malignita s přežitím většiny pacientů v řádu desítek let. Základem moderní léčby je podání antiCD20 protilátky a to často opakovaně a po velmi dlouhou dobu. AntiCD20 léčba navozuje různě významný B-lymfocytární deficit prakticky u všech nemocných. V období pandemie COVID vyvstává otázka, jak velkým rizikem je podání léčby antiCD20 pro pacienty s FL.

**Metody:** Do retrospektivní analýzy bylo zařazeno 242 pacientů s FL, kteří měli nejdéle 5 let od poslední dávky léčby. Pacienti nebo jejich lékaři byli kontaktováni a dotázáni, zda v období 01. 03. 2020 až 01. 04. 2021 měli prokázanou infekci COVID19. Zaznamenáno bylo datum záchytu infekce, nutnost hospitalizace, hospitalizace na JIP/ARO a další osud.

**Výsledky:** Celkem bylo identifikováno 41/242 (16,9 %) pacientů se současným výskytem FL a COVID 19. Medián věku v době výskytu COVID byl 63 let (30–87) a 16/41 (39 %) tvořili muži. Léčbu s antiCD20 dostalo 38/41 (92,7 %) nemocných a 19/41 (46,3 %) pacientů bylo léčeno RCHOP + R-maintenance (RM). Medián od poslední dávky léčby do infekce byl 162 dní (5–2169), medián sledování od dg. COVID byl 114 dní (31–230), hospitalizováno bylo 15/41 (36,6 %), na JIP bylo 5/41 (12 %) pacientů a 5/41 (12 %) pacientů zemřelo s mediánem věku 66 let (41–79). Tři pacienti zemřeli v remisi (dva pacienti na RM, 1 pacientka věku 80 let > 2 roky po léčbě), jeden pacient zemřel s progresí chemorezistentního onemocnění a 1 pacient bezprostředně po posledním cyklu indukce. Pacienti s léčbou ukončenou před  $\geq 162$  dny měli 1/20 (5 %) úmrtí oproti FL s léčbou < 162 dní, kde zemřelo 4/19 (21 %) nemocných.

**Závěr:** Celková mortalita na COVID 19 u FL byla 12 %, u pacientů současně léčených až 21 %. Medián věku zemřelých s FL a COVID byl 66 let, mortalita COVID19 v obecné populaci se uvádí pro věkovou skupinu 60–69 let mezi 4,8–21,3 % (medián 9,5 %; Bonanad 2020).

## P106. PŘIROZENÝ PRŮBĚH COVID-19 U PRIMÁRNĚ AMBULANTNĚ SLEDOVANÝCH PACIENTŮ V JMK – ANALÝZA DAT PILOTNÍHO PROJEKTU

Weinbergerová B.<sup>1</sup>, Mayer J.<sup>1</sup>, Hrabovský Š.<sup>1</sup>, Nováková Z.<sup>1</sup>, Pospíšil Z.<sup>2</sup>, Martykánová L.<sup>3</sup>, Mandelová L.<sup>3</sup>, Hejduk K.<sup>4</sup>, Chloupková R.<sup>4</sup>, Pospíšil M.<sup>5</sup>, Doubková M.<sup>6</sup>, Marek V.<sup>7</sup>, Novotná R.<sup>8</sup>, Doleček M.<sup>9</sup>, Matějovská Kubešová H.<sup>7</sup>, Brat K.<sup>6</sup>, Pařízková R.<sup>6,10</sup>, Husa P.<sup>10</sup>, Mechl M.<sup>11</sup>, Král Z.<sup>1</sup>, Lengerová M.<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup> Ústav matematiky a statistiky, PF MU, Brno

<sup>3</sup> Ústav zdravotnických informací a statistiky České republiky, Praha

<sup>4</sup> Ústav zdravotnických informací a statistiky České republiky, Praha; Institut biostatistiky a analýz LF MU, Brno

<sup>5</sup> Katedra ošetřovatelství a porodní asistence, LF MU, Brno

<sup>6</sup> Klinika nemocí plicních a tuberkulózy LF MU a FN Brno

<sup>7</sup> Klinika interní, geriatrické a praktického lékařství LF MU a FN Brno

<sup>8</sup> Ordinance praktického lékaře, Berkova 2390/107, 61200, Brno

<sup>9</sup> Klinika anesteziologie, resuscitace a intenzivní medicíny LF MU a FN Brno

<sup>10</sup> Klinika infekčních chorob LF MU a FN Brno

<sup>11</sup> Klinika radiologie a nukleární medicíny LF MU a FN Brno

**Cíle:** Projekt měl za cíl podrobně popsat přirozený průběh COVID-19 ve vztahu k virové náloži v české populaci.

**Metody:** Prospektivní detailní dotazníková telemonitorovací studie hodnotila průběh COVID-19 u 105 primárně ambulantních pacientů. V souladu s vládními požadavky na ukončení karantény byli pacienti rozděleni do „kohorty se dvěma negativními testy“ (40 pacientů) a „kohorty s novým algoritmem“ (65 pacientů) se čtrnáctidenní karanténou.

**Výsledky:** Medián sledování se mezi kohortami významně lišil (23 vs. 16 dní). Pouze 6 % pacientů bylo celou dobu bez příznaků. Dalších 13 % pacientů bylo diagnostikováno jako asymptomatické suspektní kontakty s následným rozvojem příznaků, zatímco zbývajících 81 % bylo diagnostikováno jako symptomatických v průměru 6 dní po nástupu příznaků. Nejčastěji hlášené příznaky byly horečka, dýchací potíže a anosmie. Šest pacientů bylo nakonec hospitalizováno pro časně odhalené komplikace díky rutinního telemonitoringu. V prodlouženém „follow-up“ (medián 181 dní) přetrvávala anosmie u 26 % pacientů. Signifikantně více pacientů v „kohortě s novým algoritmem“ (79 %) nehlásilo 11. den již žádné příznaky

oproti „kohortě s dvěma negativními testy“ (56 %) v době prvního negativního testu a to později s mediánem 19. den. Nejvyšší virová zátěž byla zaznamenána 0–2 dny po nástupu příznaků. Jak výše virové nálože detekované PCR, tak doba do dosažení konsektivní dvojice PCR negativit vykazovaly vysokou interindividuální variabilitu s překvapivě kolísajícím průběhem vyklesávání až u 43 % pacientů.

**Závěr:** Studie neprokázala žádné definitivní příznaky COVID-19 nebo soubor příznaků kromě anosmie (59 %) a / nebo ageusie (47 %). Komorbidity ani jiné charakteristiky neměly zásadní vliv na průběh onemocnění. Pacienti bez požadavku na dvojí PCR negativitu pravděpodobně přiznávali méně příznaků. Naše studie zdůraznila naléhavou potřebu rutinního telemonitoringu s cílem včasného odhalení komplikací, intenzivní plošné edukace a zejména nutnost přehodnotit a upravit karanténní předpisy pro lepší kontrolu šíření SARS-CoV-2.

Práce byla podpořena grantem MZ ČR – RVO (FNBr 65269705).

### P107. COVID-19 U 96 NEMOCNÝCH S ONEMOCNĚNÍM KRVETVORBY: PRVNÍ ZKUŠENOSTI JEDNOHO CENTRA Z ČESKÉ REPUBLIKY.

Čerňan M.<sup>1</sup>, Szotkowski T.<sup>1</sup>, Obr A.<sup>1</sup>, Látal V.<sup>2</sup>, Hluší A.<sup>1</sup>, Krhovská P.<sup>1</sup>, Klementová O.<sup>3</sup>, Kolář M.<sup>4</sup>, Sauer P.<sup>4</sup>, Faber E.<sup>1</sup>, Fürst T.<sup>5</sup>, Papajík T.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Hemato-onkologická klinika LF UP a FN Olomouc

<sup>2</sup>Lékařská fakulta, UP, Olomouc

<sup>3</sup>Klinika anesteziologie, resuscitace a intenzivní medicíny, FN Olomouc

<sup>4</sup>Ústav mikrobiologie, FN Olomouc

<sup>5</sup>Katedra matematické analýzy a aplikací matematiky, Přírodovědecká fakulta UP, Olomouc

**Cíle:** COVID-19 představuje významnou infekční komplikaci s vysokou mortalitou u nemocných s onemocněním krvetvorby. Cílem práce je prezentovat zkušenosti jednoho centra specializované hematologické péče provozujícího vlastní infekční oddělení v průběhu pandemie SARS-CoV-2.

**Metody:** Práce je retrospektivní popisnou analýzou souboru nemocných s hematologickou malignitou a syndromy selhání kostní dřeně léčených na Hemato-onkologické klinice LF UP a FN Olomouc od 1. 3. do 31. 12. 2020, s prokázanou infekcí COVID-19. Vyhodnoceny byly demografické údaje, komorbidity, stav základní choroby a její léčba, laboratorní nálezy, klinický obraz a terapie COVID-19 infekce.

**Výsledky:** Soubor tvořilo 96 nemocných ve věku 26–84 let (medián 66,0 let). Lymfoproliferativní neoplázie byly základním onemocněním u 65 (67,7 %) nemocných. Léčbu pro základní hematologické onemocnění dostávalo v době zjištění infekce 75 (78,1 %) nemocných. Celkem 27 (28,1 %) pacientů v souboru bylo v kompletní remisi základního onemocnění. Pacienti v kompletní remisi měli nevýznamně častěji asymptomatický až středně závažný průběh infekce COVID-19 ve srovnání s těmi, kteří kompletní remisi nedosáhli (74,1 vs. 56,5 %;  $p = 0,06$ ). Závažnost průběhu COVID-19 infekce byla signifikantně asociovaná s vyšším věkem nemocných

( $p = 0,047$ ). Nesignifikantně častější plicní postižení bylo ve skupině pacientů nedosahujících kompletní remisi (49,3 vs. 33,3 %;  $p = 0,32$ ) a u pacientů starších 60 let (50,0 vs. 34,4 %;  $p = 0,1$ ). Plicní postižení bylo statisticky významně asociovaná s vyšším věkem nemocných ( $p = 0,045$ ). Celkem 15 (15,6 %) nemocných ve sledovaném období zemřelo. Věk nad 60 let byl významně asociován s mortalitou na COVID-19 infekci ( $p = 0,036$ ), avšak nedosažení kompletní remise mělo jen statisticky nevýznamný vliv na mortalitu ( $p = 0,22$ ).

**Závěr:** Výsledky práce potvrzují prognostický význam věku na dosažení léčebné odpovědi základního onemocnění, závažnost průběhu a mortalitu COVID-19 u nemocných s onemocněním krvetvorby.

Podpořeno MZ ČR – RVO (FNOI, 00098892) a IGA\_LF\_2021\_001.

### P108. PRŮBĚH INFEKCE COVID-19 V SOUBORU 50 PACIENTŮ S MNOHOČETNÝM MYELOMEM LÉČENÝCH NOVÝMI LÉKY: ZKUŠENOST JEDNOHO CENTRA

Krejčí M., Pour L., Adam Z., Štork M., Krejčí M., Sandecká V., Král Z., Mayer J.

Interní hematologická a onkologická klinika FN Brno

**Úvod a cíl:** Infekce jsou primární příčinou morbidity a mortality u pacientů (pac) s mnohočetným myelomem (MM). Cílem retrospektivní analýzy bylo zhodnotit průběh infekce COVID-19 v souboru 50 pac léčených ambulantně novými léky a definovat parametry, které jsou signifikantní pro hospitalizaci či úmrtí na COVID-19.

**Metody:** Jednalo se o 50 pac s MM léčených v období 10/2020–2/2021, žádný z pacientů nebyl vakcinován. Medián věku byl 68 let, medián léčebných linií byl 2. Pohlaví, ISS stádia a typ poslední léčebné linie byly následující: muži 32, ženy 18; ISS-I 19, ISS-II 20, ISS-III 11, režim založený na daratumumabu 15x, na lenalidomidu 12x, na bortezomibu 17x, jiný režim 6x. U všech pacientů byl při stanovení diagnózy COVID-19 pozitivní PCR test a byla přerušena léčba MM. Byla analyzována řada laboratorních i klinických proměnných.

**Výsledky:** Hospitalizace pro COVID-19 pneumonii byly nutné u 28 pac (56 %), 18 pac (36 %) na standardním oddělení (SO), 10 pac (20 %) na jednotce intenzivní péče (JIP), 9 pac (18 %) zemřelo. Statisticky významné parametry pro hospitalizaci byly následující: rezpozivní versus aktivní onemocnění ( $p = 0,027$ ), ECOG performance status 0–2 vs.  $\geq 3$  ( $p = 0,014$ ), přítomnost komorbidit (0–1 vs.  $\geq 2$ ;  $p = 0,043$ ). Faktory statisticky významné pro úmrtí na COVID-19 byly: ECOG  $\geq 3$  ( $p = 0,001$ ), přítomnost komorbidit (0–1 vs.  $\geq 2$ ;  $p = 0,007$ ), typ hospitalizačního oddělení (SO vs. JIP;  $p = 0,001$ ), nutnost umělé plicní ventilace (UPV) ( $p = 0,001$ ). U následujících parametrů nebyl prokázán signifikantní vliv na incidenci hospitalizací a úmrtí na COVID-19: věk, pohlaví, ISS stádium, typ a linie léčby novými léky, parametry krevního obrazu. Plně zotavení z infekce COVID-19 bylo

pozorováno u 41 pac (82 %) při mediánu 32 dní, všichni pokračovali v léčbě MM.

**Závěr:** U pacientů s MM je průběh infekce COVID často závažný s nutností hospitalizace v 56 % případů a s 18 % úmrtí. Faktory nejvýznamnější pro kratší přežití jsou ECOG  $\geq 3$  a nutnost UPV.

## P109. NEOBVYKLÝ PRŮBĚH IMUNITNÍ TROMBOCYTOPENIE V SOUVISLOSTI S INFEKČÍ COVID-19

Červinek L.

*Interní hematologická a onkologická klinika FN Brno, IHOK, Brno*

V souvislosti s infekcí virem COVID-19 jsme na našem pracovišti zaznamenali několik pacientů s imunitní trombocytopenií s atypickou odpovědí na standardní léčbu.

Soubor pacientů můžeme rozčlenit na skupinu pacientů s akutní a perzistentní imunitní trombocytopenií v souvislosti s prokázanou infekcí COVID-19 (5 pacientů) a pacienty s chronickou ITP léčených agonisty TPO receptoru (6 pacientů).

V souboru pacientů s akutní a perzistentní ITP při infekci COVID-19 byl opakovaně prokázán nedostatečný léčebný efekt monoterapie kortikoidem s nutností opakovaného podání intravenozních imunoglobulinů. U 2 pacientů pro zcela nedostatečný efekt léčby kortikoidy a IVIG bylo nutno do léčby přidat z vitální indikace i agonisty trombopoetického receptoru.

Ve skupině pacientů s chronickou imunitní trombocytopenií léčených agonisty trombopoetického receptoru po průkazu infekce virem COVID-19 jsme u 6 pacientů zaznamenali výrazný nárůst hladiny trombocytů s nutností snížení dávky agonisty TPO receptoru až přerušeni léčby. Po odeznění infekce došlo v souboru pacientů k poklesu hladiny trombocytů na velmi nízké hodnoty s nutností dočasného navýšení dávky agonisty TPO receptoru. Po cca 1 měsíci od prodělané infekce COVID-19 se většina pacientů vrátila k původnímu dávkování agonistu TPO receptoru.

V souboru pacientů s ITP v rámci jednoho pracoviště jsme zaznamenali atypický průběh na léčbu při infekci COVID-19. Zajímavé je vysoké zastoupení klinické rezistence na léčbu kortikoidy s nutností léčby intravenozními imunoglobuliny či agonisty trombopoetického receptoru.

## P110. PRŮBĚH COVID-19 U PACIENTŮ PO TRANSPLANTACI KRVETVORNÝCH BUNĚK A BUNĚČNÉ TERAPII: ZKUŠENOSTI JEDNOHO PRACOVIŠTĚ

Kováčsová F., Kabut T., Weinbergerová B., Krejčí M., Folber F., Mayer J.

*Interní hematologická a onkologická klinika LF MU a FN Brno*

**Cíl:** Od března 2020 probíhá pandemie koronavirové infekce způsobené novým typem koronaviru, který byl poprvé identifikovaný v prosinci 2019. Průběh i smrtelnost onemocnění jsou odlišné

u imunokompromitovaných pacientů v porovnání s běžnou populací. Cílem práce bylo sledování průběhu infekce SARS-CoV-2 u pacientů po předchozí alogenní nebo autologní transplantaci kostní dřeně či léčby CAR-T na IHOK.

**Metody:** Do sledování byli zařazeni pacienti SARS-CoV-2 pozitivní v období od 10/2020 do 4/2021 po předchozí alogenní nebo autologní transplantaci kostní dřeně či léčbě CAR-T, se zaměřením na výskyt infekce v časové souvislosti od předchozí transplantace nebo CAR-T léčby, nutnost a délku hospitalizace, použití umělé plicní ventilace, protivirové léčby a dopad infekce.

**Výsledky:** Do analýzy bylo zařazeno celkem 34 pacientů (věkový průměr 55 let), 10 po alogenní transplantaci, 21 po autologní transplantaci krvetvorných buněk a 3 po léčbě CAR-T. Průměrný počet dní od transplantace či léčby CAR-T do výskytu positivity infekce byl 1 324 dní, maximum 7 799 dní, minimum 2 dny před transplantací (infekce za přípravného režimu). Hospitalizováno bylo 25 (73 %) pacientů, z toho 10 se léčilo na JIP, 3 vyžadovali umělou plicní ventilaci. V průměru trvala hospitalizace 17 dní (maximum 44, minimum 3), z toho na JIP trvala hospitalizace průměrně 16 dní (maximum 38, minimum 7). Z hospitalizovaných pacientů bylo 60 % léčeno rekonvalescentní plazmou, 52 % i antivirotickou léčbou remdesivirem, 3 pacienti dostali pro protražovanou pozitivitu remdesivir a plazmu opakovaně, 1 pacient monoklonální protilátku (bamlanivimab). Z infekce se 24 pacientů vyléčilo, 10 pacientů zemřelo (29 %, všichni za hospitalizace).

**Závěr:** Smrtnost COVID-19 je celosvětově zhruba 2 %, u transplantovaných dosahuje 20–25 %, což přibližně odpovídá smrtnosti v našem souboru sledovaných pacientů. Zásadní je prevence, očkování, léčba pomocí protilátek u vysoce rizikových pacientů po kontaktu s COVID-19 a u pacientů na začátku infekce s lehkým průběhem.

## P111. VYUŽITÍ MULTIPLEX PCR SYSTÉMŮ V DETEKCI PŮVODCŮ PNEUMONIÍ U PACIENTŮ NEJEN S COVID-19

Lengerová M.<sup>1,2</sup>, Volfová P.<sup>1</sup>, Pantůčková D.<sup>1</sup>, Pospíšilová J.<sup>1</sup>, Kocmanová I.<sup>3</sup>, Kabut T.<sup>1</sup>, Weinbergerová B.<sup>1,2</sup>, Maláška J.<sup>4</sup>, Múdry P.<sup>5</sup>, Mayer J.<sup>1,2</sup>

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

<sup>2</sup> LF MU, Brno

<sup>3</sup> Oddělení klinické mikrobiologie a imunologie, FN Brno

<sup>4</sup> Klinika anesteziologie, resuscitace a intenzivní medicíny FN Brno

<sup>5</sup> Klinika dětské onkologie FN Brno

**Úvod:** Pneumonie jsou jednou z nejčastějších infekčních komplikací a u imunokompromitovaných pacientů. Cílem této studie je posoudit přínos multiplexní tandemové PCR (MT-PCR) pro rychlou identifikaci původců infekcí bronchoalveolárních vzorků (BAL). Soubor pacientů s hematologickými malignitami byl vzhledem k aktuální epidemiologické situaci doplněn o pacienty hospitalizované se závažným průběhem onemocnění Covid-19, u kterých bylo podezření na sekundární infekci.

**Metody:** Mezi 01/2019 a 5/2021 bylo odebráno 287 vzorků BAL od 232 pacientů léčených na onkologických odděleních (n = 120) a oddělení intenzivní medicíny (n = 167), které byly rutinně testovány metodami „zlatého standardu“ (kultivace, sérologie, real-time PCR) indikovanými cíleně podle klinických příznaků, nálezu na RTG/HRCT, předchozí profylaxe atd. Všechny vzorky byly testovány také pomocí 4 MT-PCR testů, které společně detekují 5 bakteriálních rodů, 20 bakteriálních druhů, 7 druhů kvasinek a plísní a 18 různých virů.

**Výsledky:** Signifikantní záchyt patogena (nad 50 000 kopií/ml BAL) byl zaznamenán ve 165 vzorcích, včetně významné nálože SARS-CoV-2 ve 46 vzorcích. Nejčastěji (kromě SARS-CoV-2) byla detekována tato agens: enterobakterie (21x), H. influenzae (15x), S. aureus (9x), A. fumigatus (9x) a HSV-1 (9x). Mezi neobvyklé detekované patogeny patřil metapneumovirus (4x), M. tuberculosis (2x), C. neoformans (2x), M. pneumoniae (2x). Pro posouzení významnosti nálezu pro stanovení diagnózy budou výsledky detekce korelovány s kultivací a detekcí sérologických markerů a prezentovány.

**Závěr:** Včasná zahájení účinné antimikrobiální terapie je zásadní pro prognózu pacientů s pneumonií. Dobrá korelace výsledků MT-PCR se standardními mikrobiologickými metodami ukazuje, že diagnostika založená na MT-PCR je velmi přesná a může být použita jako rychlý screeningový test pro široké spektrum potenciálních infekčních agens. Přestože cílem MT-PCR není poskytnout kvantitativní výsledky, pozorovali jsme dobrou korelaci detekované nálože patogenů s rutinně používanou (RQ) -RT-PCR.

*Tuto studii podpořilo Ministerstvo zdravotnictví České republiky – koncepční rozvoj výzkumné organizace (FNBr, 65269705).*

## P112. EFEKTIVITA ČASNÉ LÉČBY COVID-19 KOMBINUJÍCÍ REMDESIVIR A REKONVALESCENTNÍ PLAZMU S VYSOKÝM TITREM U HEMATOLOGICKÝCH PACIENTŮ

Weinbergerová B.<sup>1</sup>, Mayer J.<sup>1</sup>, Kabut T.<sup>1</sup>, Hrabovský Š.<sup>1</sup>, Procházková J.<sup>1</sup>, Král Z.<sup>1</sup>, Herout V.<sup>2</sup>, Pacasová R.<sup>3</sup>, Zdražilová-Dubská L.<sup>4</sup>, Husa P.<sup>5</sup>, Bednář P.<sup>6</sup>, Růžek D.<sup>7</sup>, Lengerová M.<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup> Klinika nemocí plicních a tuberkulózy LF MU a FN Brno

<sup>3</sup> Transfúzní a tkáňové oddělení, LF MU a FN Brno

<sup>4</sup> Oddělení klinické mikrobiologie a imunologie, FN Brno

<sup>5</sup> Klinika infekčních chorob LF MU a FN Brno

<sup>6</sup> Výzkumný ústav veterinárního lékařství v Brně a Přírodovědecká fakulta Jihočeské Univerzity, České Budějovice

<sup>7</sup> Výzkumný ústav veterinárního lékařství v Brně a Parazitologický ústav Biologického centra AV ČR, České Budějovice, Brno

**Cíl:** Infekce COVID-19 představuje vysoké riziko morbidit a mortality u hematoonkologických pacientů ve srovnání s běžnou populací.

Naše retrospektivní studie analyzovala účinnost časně podané kombinace remdesiviru a rekonvalescentní plazmy (RP) s vysokým titrem u SARS-CoV-2 pozitivních hematologických pacientů.

**Metody:** Retrospektivní analýza zahrnuje hematologické pacienty infikované COVID-19 rozdělené do dvou skupin – „kohorta s pneumonií“ (56 %) vs. „kohorta bez pneumonie“ (44 %) na základě přítomnosti plicních infiltrátů v době zahájení kombinované léčby. CP s vysokým titrem byla vyrobena z plazmy dárců se SARS-CoV-2 anti-S hladinami aspoň 200 U/ml v době odběru.

**Výsledky:** Celkem bylo hodnoceno 32 hematologických pacientů (75 % s aktivním onemocněním) s akutní leukémií, lymfomem a myelomem jako nejčastějšími základními diagnózami (81 %). Medián sledování byl 36 dní. V obou kohortách byl medián času od positivity SARS-CoV-2 do začátku léčby 1 den. Kortikosteroidy a LMWH byly použity u 47 % a 91 % pacientů, bez podstatného rozdílu mezi oběma kohortami. „Kohorta s pneumonií“ vykazovala vyšší zastoupení komorbidit ve srovnání s „kohortou bez pneumonie“, avšak bez signifikance. Signifikantně vyšší podíl pacientů v „kohortě s pneumonií“ vyvinul závažný nebo kritický COVID-19 ve srovnání s „kohortou bez pneumonie“ (89 vs. 29 %; p < 0,001). Devět pacientů (28 %) dostalo celkem 12 cyklů „retreatmentu“ převážně z důvodu protražované positivity SARS-CoV-2 (66 %), u části z nich podpořené pozitivní kultivací viru (63 %), u ostatních pro opakovanou pozitivitu SARS-CoV-2 (17 %). V souboru byly zaznamenány tři úmrtí (9 %), všechna v „kohortě s pneumonií“ a v souvislosti s kritickým stupněm COVID-19. Mezi kohortami nebyly identifikovány žádné jiné signifikantní rozdíly.

**Závěr:** Naše studie prokázala efektivitu časně podané kombinace remdesiviru a CP s vysokým titrem u hematologických pacientů s nově diagnostikovaným COVID-19, a to bez ohledu na současnou pneumonii.

*Práce byla podpořena grantem MUNI/A/1595/2020 a grantem MZ ČR – RVO (FNBr 65269705).*

# TRANSFUZIOLOGIE

## P113. ZMĚNA METODIKY VÝBĚRU DÁRCŮ PRO ODBĚR REKONVALESCENTNÍ PLAZMY NA PRACOVIŠTI TRANSFUZNÍHO ODDĚLENÍ FAKULTNÍ NEMOCNICE OLOMOUC

Entrová A.<sup>1</sup>, Smital J.<sup>1</sup>, Azeem K.<sup>2</sup>, Hlavinková J.<sup>1</sup>, Galuszková D.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Transfuzní oddělení, FN Olomouc

<sup>2</sup> Ústav veřejného zdravotnictví, LF UP, Olomouc

**Úvod:** Na TO FNOL je od 4/2020 nastaven režim odběru rekonvalescentní plazmy (RP) a krevních vzorků (vyšetření anti-SARS-CoV-2) v rámci jedné návštěvy. 4/2020-4/2021 bylo provedeno 946 odběrů RP z toho 592 (63 %) splnilo požadavek na výši titru virus neutralizačních protilátek (VNT)  $\geq 160$ .

Cílem projektu je zefektivnit výběr dárců RP, optimalizovat krevně skupinové zastoupení a minimalizovat procento odebraných RP s nevyhovujícími hladinami anti-SARS-CoV-2 a virus neutralizačních protilátek.

**Postup:** Potenciálním dárcům RP byly v první fázi vyšetřeny titry anti-SARS-CoV-2 IgM a IgG protilátek. K odběru RP byli pozváni pouze dárči s vhodnými parametry – anti-SARS-Cov-2 IgG  $> 50$  (AU/ml) a/nebo anti-SARS-Cov-2 IgM  $> 30$  (AU/ml).

**Metoda:** Do projektu byli vybráni potenciální dárči rekonvalescentní plazmy, kteří prodělali onemocnění COVID-19 v únoru až dubnu 2021. Dárči museli splňovat obecné podmínky pro darování krve a jejich složek dle platné legislativy i kritéria pro snížené riziko reakce TRALI.

**Výsledky:** Do projektu bylo zařazeno 70 potenciálních dárců rekonvalescentní plazmy. Dárči byli pozváni nejprve na odběr krevního vzorku. K odběru se dostavilo 64/70 (91,5 %) dárců. Na vzorek nepřišlo 6/70 (8,5 %) – 1 byl očkován, 1 prodělal CMP, 4 noncompliance.

Vyšetření krevní skupiny bylo provedeno u 9/64 (14 %), u ostatních 55/64 (86 %) byla krevní skupiny známá. Kritéria hladiny protilátek nastavená studií splnilo 32/64 (50 %) potenciálních dárců – izolovaně ve třídě IgG 29/64 (45 %), izolovaně ve třídě IgM 1/64 (1,5 %), IgG +IgM 2/64 (3 %) dárců. K plazmaferéze se dostavilo 26/32 (81 %) vhodných dárců. 6/32 dárců k odběru nedorazilo (3 $\times$  noncompliance, 1 $\times$  odmítnuta aferéza, 1 $\times$  blok LB, 1 $\times$  alergii na léky). Aktuálně jsou k dispozici výsledky VNT od 18/26 dárců, 17/18 (94,5 %) dárců mělo VNT  $\geq 160$ .

**Závěr:** Změna metodiky se jeví jako efektivní, počet odebraných RP s nevyhovujícími hodnotami VNT výrazně poklesl z 37 % na 5,5 %. Z důvodu noncompliance bylo ze studie vyřazeno 7/70 (10 %) dárců. Projekt byl podpořen grantem IGA\_LF\_2021\_036 Univerzity Palackého v Olomouci.

## P114. PŘEDTRANSPLANTAČNÍ VYŠETŘENÍ KADAVERÓZNÍHO DÁRCE ORGÁNŮ A TKÁNÍ NA TRANSFUZNÍM ODDĚLENÍ FN PLZEŇ

Sudová T., Šlechtová P., Korandová V., Nová J., Sklenářová L.

Transfuzní oddělení, FN Plzeň

**Cíl:** Kadaverózní dárce může pomoci zvýšit životní úroveň až zachránit život pacientům s poškozením orgánů zejména ledvin, jater, plic, srdce ale i dalších orgánů či tkání. V ČR platí předpokládaný souhlas s posmrtným darováním, pokud dotyčný nevyjádří nesouhlas s posmrtným odběrem tkání a orgánů. Transfuzní oddělení FN Plzeň (TO) je součástí transplantačního programu v ČR a jsou zde prováděny transplantace ledvin, výběr čekatelů na transplantaci ledvin – příjemců ledvin probíhá ve spolupráci s KST Praha (Koordinační středisko transplantací) a IKEM Praha (Institut klinické a experimentální medicíny).

**Metody:** V laboratoři virologie jsou vyšetřeny krví přenosné virové markery (HIV Ag/Ab, HCV Ag/Ab, Syfilis, HBsAg, anti-HBc, CMV) na imunochemických analyzátoch. V HLA laboratoři je provedena HLA typizace I. a II. třídy metodou PCR-SSP. Poté se izolují lymfocyty kadaverózního dárce, nejčastěji z uzliny, pro provedení celorepublikových crossmatch testů čekatelů na waiting listu dle požadavků (krevní skupina, HLA antigeny, přítomnost příp. specifita anti-HLA protilátek (%) příjemce). Před transplantací se provádí aktuální crossmatch test s vybranými čekateli na transplantaci ledvin. Část izolovaných buněk dárce zůstává v HLA laboratoři pro opakování aktuálního crossmatch testu. Druhá část buněk se kryokonzervuje v Ústavu imunologie a alergologie FN Plzeň.

**Výsledky:** Za rok 2020 TO provedlo celkem u 20 kadaverózních dárců vyšetření virových markerů a HLA typizaci I. a II. třídy, v mnoha případech odběr orgánů pokračoval provedením celorepublikových a aktuálních crossmatch testů. Běžné je také oznámení aktuálního crossmatch testu, kdy jsou HLA typizace a celorepublikové crossmatch testy provedeny v jiném transplantačním centru. V laboratořích HLA a virologie je zajištěn provoz 24/7 pohotovostními příslužbami.

**Závěr:** Laboratorní vyšetření jsou nedílnou součástí organizace odběru orgánů. Ke všem vyšetřením na TO dává svolení transplantační koordinátor FN Plzeň. Vyšetření virových markerů chrání potenciální příjemce orgánů či tkání před krví přenosnými chorobami a vyšetření v HLA laboratoři jsou důležité z hlediska alokace orgánů, které provádí KST Praha.

## P115. PREVALENCE PROTILÁTEK PROTI COVID-19 U DÁRCŮ KREVŇÍ PLAZMY

Wallenfels Alferyová L., Šafářová M.

EUROPLASMA s.r.o., Praha

**Cíl:** Zjistit prevalenci protilátek proti COVID-19 u dárců krevní plazmy v závislosti na věku, pohlaví dárců a prodělaném onemocnění COVID-19. Zjistit možnou závislost hladiny protilátek proti COVID-19 na body mass indexu (BMI) dárců (proti COVID-19 neočkovaných i očkovaných) a doby od onemocnění COVID-19.

**Metody:** Údaje o věku, pohlaví, váze, výšce, zemi narození, prodělání onemocnění COVID-19 a datu prvních příznaků a očkování proti COVID-19 byly zjišťovány dotazníkovým šetřením mezi dárci krevní plazmy v dárcovských centrech Europlasma na Černém Mostě a Chodově v Praze v období únor–březen 2021. Protilátky proti COVID-19 byly vyšetřeny v březnu – dubnu 2021 v certifikované laboratoři testy Elecsys Anti-SARS-CoV-2 a Elecsys Anti-SARS-CoV-2 S (Roche).

**Výsledky:** Prevalence protilátek proti COVID-19 u 1 935 neočkovaných dárců činila 28 % (u mužů 28 %, u žen 27 %). Ve věkových skupinách 18–19, 20–29, 30–39, 40–49, 50–59 a 60+ let se prevalence pohybovala v rozmezí 22 % (60+ let) až 33 % (20–29 let). Mezi dárci, kteří uvedli, že prodělali laboratorně potvrzené onemocnění COVID-19, činila prevalence protilátek 91 %, zatím co mezi těmi, kteří uvedli, že COVID-19 asi neprodělali, 17 %. Nebyla zjištěna korelace hladiny protilátek a BMI ani u proti COVID-19 neočkovaných, ani u očkovaných dárců. Bylo pozorována tendence k častějšímu zastoupení vyšších hladin protilátek u dárců, kteří prodělali COVID-19 v posledním půlroce.

**Závěr:** Infekce COVID-19 postihla rovnoměrně obě pohlaví a všechny věkové skupiny produktivního věku s o něco vyšší prevalencí ve věkové skupině 20–29 let. Prevalence protilátek COVID-19 těsně koreluje s údajem o prodělaném onemocnění, i když pozitivita protilátek zřejmě není výjimečná ani u asymptomatických průběhů onemocnění. Nebyl prokázán vliv BMI na tvorbu protilátek proti COVID-19. Hladina protilátek po onemocnění COVID-19 s časem klesá.

## P116. PRVNÍ ZKUŠENOSTI S VYŠETŘENÍM ANTI-HBC U DÁRCŮ KRVE NA TO FN PLZEŇ

Korandová V., Šlechtová P., Sudová T., Hájková V.

Transfuzní Oddělení, FN Plzeň

**Cíl:** V současné době stále existuje riziko přenosu infekce hepatitidy B transfuzními přípravky (TP). Testováním anti-HBc u dárců krve a krevních složek je snaha snížit riziko přenosu HBV od infikovaných dárců krve (HBsAg negativní) a zvýšit bezpečnost vyráběných transfuzních přípravků. Cílem screeningu anti-HBc je zachytit okultní infekce HBV (OBI), u kterých je HBsAg negativní, ale replikuje se virus. Anti-HBc mohou být jediným sérologickým markerem infekce HBV a potenciálně infekční krve.

**Metody:** Chemiluminiscenční dvoukroková imunoanalýza na mikročásticích (CMIA) ke kvalitativní detekci protilátek proti

core antigenu hepatitidy B (anti-HBc) v lidském séru a plazmě na analyzátoru Alinity i. Výsledná chemiluminiscenční reakce se měří v relativních světelných jednotkách (RLU) a existuje přímá úměrnost mezi množstvím anti-HBc ve vzorku a signálem RLU detekovaným optikou systému. Analyzátor vypočítá výsledek na základě poměru hodnoty vzorku (RLU) k hodnotě cutoff (RLU) S/CO pro každý vzorek a kontrolu.

Prezentace bude vykazovat statistická data za prvních 100 dní.

**Výsledky:** Od 18. 5. 2021 zahájilo Transfuzní oddělení (TO) FN Plzeň mimo povinných vyšetření infekčních markerů i rutinní vyšetřování dárců krve na anti-HBc při každém odběru. Zachycené pozitivní anti-HBc vzorky dárců krve jsou odesílány do Národní referenční laboratoře pro virové hepatitidy k vyšetření HBV DNA. Dárci pozitivní na anti-HBc jsou hlášeni do Národního registru vyřazených dárců. Dále spolupracujeme s Klinikou infekčních nemocí a cestovní medicíny FN Plzeň, kam předáváme naše dárci s pozitivitou anti-HBc k další péči.

**Závěr:** Po zavedení vyšetřování anti-HBc jistě dojde k úbytku dárců krve, ale předpokládáme, že se bude pohybovat cca 0,5–1,5 % vyšetřených dárců, stejně jako u ZTS v ČR, která v minulosti již zavedla vyšetřování anti-HBc v rámci pravidelného testování.

## P117. HLÁŠENÉ POTRANSFUZNÍ REAKCE VE FN PLZEŇ V OBDOBÍ 2016–2020 V ZÁVISLOSTI NA INOVACÍCH PŘI PŘÍPRAVĚ TRANSFUZNÍCH PŘÍPRAVKŮ NA TO FN PLZEŇ

Šlechtová P., Korandová V., Sudová T., Ticháčková J.

Transfuzní oddělení, FN Plzeň

**Cíl:** Hemovigilance je souborem systematických postupů, které zahrnují sledování nežádoucích účinků a reakcí u dárců krve a příjemců transfuze a dále epidemiologické sledování dárců krve. Zaváděné nové postupy při výrobě transfuzních přípravků (TP) zvyšují jejich kvalitu a mají příznivý vliv na zajištění bezpečné hemoterapie. Prezentace poukazuje na vývoj počtu potransfuzních reakcí (PR) a získanými výsledky se snaží o potvrzení výše uvedeného.

**Metody:** Statistika hlášených PR reakcí ve FN Plzeň za uplynulých 5 let, komparace s počty podaných TP dle typu a počty příjemců transfuze. Analýza jednotlivých období v souvislosti se změnami ve výrobě a přípravě TP na Transfuzním oddělení (TO) FN Plzeň.

**Výsledky:** V roce 2016 bylo pacientům podáno 28 924 T.U., nahlášeno bylo 40 PR, tj. 0,14 %. V roce 2017 pak 28 048 T.U., hlášeno 39 PR (0,14 %). V roce 2018 transfundováno 27 573 T.U., vyšetřeno bylo 26 PR (0,10 %), % je shodné se statistickými údaji za celou ČR v tomto roce, kdy bylo transfundováno 398 175 T.U. a nahlášeno 402 PR. V roce 2019 podáno 27 527 T.U., PR bylo 24 (0,10 %) a v roce 2020 podáno 26 118 T.U., PR bylo nahlášených 25 (0,10 %). Nejčastější PR v daném období byla alergická reakce, nejčastějším TP – EBR a plazma. Počty PR vztažené k příjemcům korelovaly s % PR dle počtů podaných TP –

nejvyšší (0,6 %) v letech 2016 a 2017. Množství podaných erytrocytů a trombocytů bylo po celé sledované období obdobné, k výraznému poklesu vydaných plazem došlo v roce 2020. Přenos infekce nebyl hlášen. Závažná PR nebyla od 2018 hlášena.

**Závěr:** Změny ve výrobě (postupná deleukotizace 2017–2020 a náhradní roztoky) vedly ke snížení potransfuzních reakcí, zejména u erytrocytárních TP a trombocytů. Výběr plazmy od neimunizovaných dárců od 1. 1. 2019 není relevantní, protože takto připravené TP budou vydávány až v roce 2022.

## P118. ODBĚR A VÝDEJ REKONVALESCENTNÍ ANTI-SARS COV-2 PLAZMY

Smital J., Entrová A.

*Transfuzní oddělení, Fakultní nemocnice Olomouc, Olomouc*

**Úvod:** Využití krevní plazmy odebrané od pacientů po prodělaném infekčním onemocnění (tzv. rekonvalescentní plazma) je postup známý již desetiletí. Při absenci jiné specifické protinfekční terapie se může opět stát využitelnou léčebnou metodou. Pandemie COVID-19 se pro své charakteristiky stala dočasně modelovým příkladem tohoto stavu. Na Transfuzním oddělení FNOL byla zahájena výroba transfuzního přípravku Plazma z aferézy rekonvalescentní anti-SARS Cov-2 od dubna 2020.

**Metody:** Příprava rekonvalescentní plazmy je v souladu s Evropským doporučením z 8. 4. 2020. Potenciální dárci byli osloveni výzvou ve sdělovacích prostředcích. Každý potenciální dárci musí vyplnit vstupní dotazník s detaily o prodělaném onemocnění. Všichni dárci musí splnit klasické podmínky pro darování krevní plazmy, u všech dárců je navíc odebrán vzorek pro vyšetření hladiny protilátek. Pro klinické použití musí každý přípravek obsahovat virus neutralizační protilátky (VNT) v titru alespoň 160. V případě zájmu jsou dárci s dostatečným množstvím protilátek zváni na odběr opakovaně v běžných intervalech (nejméně 14 dní od předchozího odběru plazmy). Při jednom odběru se dárci odeberou 3 až 4 transfuzní jednotky plazmy.

**Výsledky:** Od dubna 2020 do dubna 2021 bylo na Transfuzním oddělení FNOL provedeno 946 odběrů rekonvalescentní plazmy s maximem na přelomu roků, z toho byl minimální titr virus neutralizačních protilátek splněn u 592 odběrů (63 %). Ve stejném období bylo na Transfuzním oddělení FNOL vydáno celkem 1376 transfuzních jednotek rekonvalescentní plazmy. Jako terapeutické množství se pro jednoho pacienta počítají většinou 2 transfuzní jednotky. Nejvíce byla rekonvalescentní plazma indikována od listopadu 2020 do března 2021.

**Závěr:** Rekonvalescentní plazma je rychle dostupným terapeutickým přípravkem pro pacienty s onemocněním COVID-19. Odběry nejsou pro dárci příliš zatěžující a dají se provádět opakovaně. Plazmu lze uchovávat po dobu 3 let a je takto možné mít přípravky k dispozici do budoucna. Hlavní nevýhodou je nejistý výsledný klinický efekt, ale v prvním období pandemie COVID-19 šlo o jedinou dostupnou specifickou terapeutickou možnost.

## P119. POTRANSFUZNÍ REAKCE V ČESKÉ REPUBLICE ZA ROK 2020

Galuszková D., Hanslíánová G. H.

*Transfuzní oddělení, FN Olomouc*

**Úvod:** Nedílnou součástí hemovigilance je analýza nežádoucích reakcí po aplikaci transfuzních přípravků (TP). Prezentace předkládá počty potransfuzních reakcí (PR) za rok 2020.

**Metody:** Za rok 2020 poslalo hlášení 70 pracovišť. Bylo vyhodnoceno 415 455 aplikovaných TP, 354 nahlášených potransfuzních reakcí (0,085 %), z toho 12 těžkých (stupeň přisuzovatelnosti 2 a 3). Mezi těžké potransfuzní reakce patřila hemolýza časná imunní ABO 3x, potransfuzní purpura 1x, TRALI 2x, anafylaxe 4x, přenos HCV 1x, oběhové přetížení 1x.

**Výsledky:** Incidence PR podle typů aplikovaných TP: Erytrocytární přípravky: 279 122 aplikací, 221 potransfuzních reakcí (62 % z 354), (FNHTR 132x, alergie 51x, hemolýza časná imunní ABO 2x, hemolýza pozdní imunní 2x, přenos HCV 1x, potransfuzní purpura 1x, oběhové přetížení 1x, oběhová reakce kombinovaná 15x, TRALI 2x, jiné 14x). Trombocyty: 33 712 aplikací, z toho 27 PR (7,6 % z 354), (alergie 18x, FNHTR 9x). Granulocyty: 98 aplikací, bez nahlášených PR. Plazma: 95 165 aplikací, nahlášeno 96 PR (27 % z 354), (anafylaxe 4x, alergie 81x, FNHTR 8x, hemolýza časná imunní ABO 1x, akutní oběhová kombinovaná 2x). Plazma COVID: 3 146 aplikací, 8 PR (2 % z 354), (alergie 6x, oběhová kombinovaná 1x, jiná 1x). Plná krev: 525 aplikací, 1 PR (hemolýza pozdní imunní).

**Závěr:** v roce 2020 byl nahlášen jeden přenos infekčního onemocnění (HCV). Nejčastějšími PR jsou reakce alergické (157x, tj. 44 % z 354), následované febrilními nehemolytickými (149x, tj. 42 % z 354), akutní oběhové kombinované (18x) a oběhové přetížení (1x). Mezi nejzávažnější reakce uplynulého roku patří 3x hemolýza imunní časná ABO, 2x pozdní hemolýza, 4x anafylaktická reakce a 2x TRALI, 1x potransfuzní purpura.

Tato retrospektivní data, která jsou významná k nastavení správných výrobních procesů, ovlivňují i kvalitu a bezpečnost hemoterapie.

## P120. ZAJÍMAVÉ IMUNOHEMATOLOGICKÉ NÁLEZY NA TRANSFUZNÍM ODDĚLENÍ FNOL – VYBRANÉ KAZUISTIKY

Šianská J., Holusková I., Galuszková D.

*Transfuzní oddělení, FN Olomouc*

**Úvod:** V loňském a letošním roce bylo na Transfuzním oddělení FN Olomouc řešeno několik zajímavých nálezů, které často vyžadovaly vícestupňové přešetřování a spolupráci s Ústavem hematologie a krevní transfuze (ÚHKT) jakožto referenční laboratoří pro imunohematologii v ČR.

**Cíl:** Cílem práce je prostřednictvím uvedených kazuistik seznámit posluchače se složitějšími imunohematologickými nálezy, se kterými se mohou v rutinní imunohematologii setkat, a představit postup jejich došetření.

**Metody:** Jako materiál slouží krevní vzorek odebraný do zkumavky s K3EDTA. Základní imunohematologická vyšetření krevní skupiny v ABO RhD a screeningu antierytrocytárních protilátek jsou rutinně

prováděna metodou sloupcové aglutinace na analyzátoru IH-500 System nebo IH-1000 System f. BioRad. K dalším sérologickým vyšetřením jsou používána diagnostika f. BioRad, Grifols, ImmucorGamma či Sanquin.

**Výsledky:** Kazuistiky:

- 1) Pac. R. Š., nar. 1993, na TO FNOL poprvé vyšetřen 07/2020 – sérologicky neurčitelná krevní skupina; pomocí PCR-SSP (ÚHKT) určena krevní skupina A2B a zjištěno výrazné zeslabení až vymizení antigenu B na erythrocytech; bude došetřeno sekvenační technikou.
- 2) Pac. J. K., nar. 1965, na TO FNOL poprvé vyšetřen 10/2020 – sérologicky neurčitelná krevní skupina; provedeno PCR-SSP (ÚHKT) – geneticky krevní skupina A, raritní podskupina Aw.30 s výrazným zeslabením antigenu A.

3) Pac. J. H., nar. 1960, na TO FNOL poprvé vyšetřena v r. 1994, podezření na vzácnou protilátku anti-Di(a), 04/2021 tato protilátka potvrzena reakcí se vzácnými erythrocyty Di(a)+.

4) Pac. J. B., nar. 1950, na TO FNOL poprvé vyšetřen 09/2004, v r. 2006 prokázána aloprotilátka anti-K, 04/2021 nově zjištěná vzácná aloprotilátka anti-Co(b).

**Závěr:** Ačkoliv pracoviště TO FNOL disponuje širokou škálou sérologických imunohematologických technik, některé nálezy nelze objasnit bez pomoci referenční laboratoře, ať už se jedná o provedení genetických vyšetření či poskytnutí erythrocytů se vzácným fenotypem. Výsledkem oboustranné spolupráce je kromě edukační hodnoty i nastavení optimální hemoterapie pro tyto pacienty.

## SESTERSKÁ SEKCE

### P121. OPATŘENÍ PROTI SARS-COV-2 AMBULANCE KHO

Ramiková P., Bestová D.

*Klinika hematologické FN Ostrava*

Onemocnění respiračním virem SARS-CoV-2 se stalo v současné době celosvětovým problémem. Riziko těžkého průběhu tohoto onemocnění se týká zejména rizikových skupin pacientů, ke kterým patří také hematologičtí pacienti.

V době covidové pandemie jsme opatření rozšířili o ještě větší ochranu pacientů, ať již výbavou ochrannými pomůckami či pravidelnými stěry. Personál je pravidelně testován na SARS-CoV-2. v případě positivity je okamžitě zařazen do karantény. Personál je neustále edukován o předcházení šíření SARS-CoV-2, je plně vybaven ochrannými pomůckami. Prostory ambulancí jsou kromě standardního úklidu denně dezinfikovány speciálními přístroji na bázi peroxidu kyslíku. K prevenci šíření přispívají také tři čističky vzduchu NOCOSPAY 2. Při výše uvedené ochraně našich nemocných, ale i personálu, je bezpečnost na Klinice hematologické Fakultní nemocnice Ostrava nastavena na maximální možnou úroveň v reálném čase, přičemž je zachován standardní provoz ambulancí, lůžkové části i jednotky intenzivní péče a tím i léčba nemocných s krevními nádory.

### P122. SPECIFIKA LÉČBY BOLESTI PŘI MUKOZITIDĚ U PACIENTKY PO AUTOLOGNÍ TRANSPLANTACI

Brusová L.

*Hematologická JIP, FN Ostrava*

Mukozitida dutiny ústní je klinicky významné postižení sliznic a podslizniční tkáně v souvislosti s chemoterapií [1].

Projevy mukozitidy po chemoterapii nastupují nejčastěji za 4 až 8 dní a přetrvávají zhruba 7 až 14 dní. Nejčastěji bývá postižen jazyk

a bukalní (tvářová) sliznice. Pacienti trpí pocitem nepohody až bolestí v dutině ústní nebo hltanu při kousání nebo polykání, poruchou vnímání chuti, sníženou suchostí sliznic. Silné bolesti někdy vyžadují až podávání opiátů [1].

V naší kazuistice prezentujeme projevy mukozitidy u pacientky po autologní transplantaci. Obsahem prezentace je průběh a léčba mukozitidy u ženy, které byl diagnostikován primární lymfom CNS. Mukozitida se rozvinula po čtyřech cyklech režimu MATRIX s podporou autologní transplantace. V průběhu léčby měla potíže s perorálním příjmem, byla nasazena parenterální výživa, zvýšená péče o dutinu ústní a do medikace přidány opioidy. Po 16 dnech hospitalizace pacientka byla zcela bez potíží, s téměř plně obnoveným perorálním příjmem. Domů byla propuštěna ve stabilizovaném stavu.

#### Literatura

1. Vokurka S. Mukozitida dutiny ústní po chemoterapii a aktinoterapii v běžné praxi. *Interní medicína pro praxi*. 2009;11(2):77–79.

### 123. REHABILITACE U PACIENTA S MYELOMEM PO PŘEVODU CAR-T CELL

Brusová L., Žitníková V., Kunstová O.

*Hematologická JIP, FN Ostrava*

Tato prezentace je o 52letém pacientovi s mnohočetným myelomem v částečné remisi, který byl přijat 16.11.2020 k podání CAR-T cell v rámci studie „Eurocart“. Chceme zdůraznit význam rehabilitace, která vede ke snížení celkové i místní inaktivity. Rehabilitace v hematologii je zvláštní v tom, že se neustále přizpůsobuje aktuálnímu stavu pacienta. Náš pacient mohl rehabilitovat, jakmile se upravil počet trombocytů v krevním obrazu. Přednáška popisuje i různé rehabilitační pomůcky, které pacient mohl využívat během hospitalizace. Na konci přednášky je rozhovor s pacientem o jeho pocitech, které vnímal a prožíval během rehabilitace na JIP.



# POUZE K PUBLIKACI

## PARANEOPLASTICKÁ CEREBELÁRNÍ DEGENERACE ASOCIOVANÁ S HODGKINOVÝM LYMFOMEM

Maco M., Krčméryová M., Jančárková T., Móciková H., Kozák T.

Hematologická klinika 3. LF UK a FN Královské Vinohrady, Praha

**Úvod:** Paraneoplastická cerebelární degenerace (PCD) je vzácný neurologický paraneoplastický syndrom s pozitivitou protilátek namířených proti antigenům cerebelárních Purkyňových buněk, který se projevuje mozečkovou symptomatologií a může se vyskytnout u Hodgkina lymfomu (HL).

**Metody:** Kazuistika ilustruje případ 49letého pacienta s poruchou chůze, rovnováhy, rozmazaného vidění, s nystagmem a poruchou řeči. Klinicky byla přítomna pravostranná axilární lymfadenopatie a histologické vyšetření lymfatické uzliny potvrdilo HL, podtyp smíšenou celularitu. Vyšetření mozkomíšního moku prokázalo pozitivitu anti Tr/DNER((Delta/notch-like epidermal growth factor related receptor) protilátek, která je typická pro PCD a současně vyloučilo jinou etiologii neurologické symptomatologie. Vstupní zobrazovací vyšetření potvrdilo klinické stádium IA a v nepřítomnosti rizikových faktorů byl pacient léčen dvěma cykly chemoterapie ABVD (doxorubicin, bleomycin, vinblastin, dacarbazin) a radioterapií 20 Gy „involved site“.

**Výsledky:** Po ukončení chemoterapie a radioterapie bylo dosaženo kompletní remise, která trvá i dle aktuálního vyšetření 10 měsíců po ukončení léčbě. Neurologická symptomatologie se přechodně zlepšila, ale po ukončení chemoradioterapie se znovu zhoršila dysartrie a stabilita chůze. Těžká PCD v dalším průběhu byla stacionární bez výhledu dalšího zlepšení. Titr onkoneurálních protilátek typicky po podání chemoterapie poklesne nebo úplně vymizí jako u našeho pacienta, laboratorní nález ale nekoreluje se zlepšením neurologické symptomatologie a prognózy pacienta.

**Závěr:** Nález onkoneurálních protilátek v likvoru má vést k pátrání po malignitě a k okamžité léčbě, než dojde k ireverzibilnímu poškození mozečku a úbytku Purkyňových buněk. Prognóza pacientů s PCD je i po dosažení kompletní remise HL velmi špatná.

## ZÍSKANÁ TROMBOTICKÁ TROMBOCYTOPENICKÁ PURPURA V GRAVIDITĚ – POPIS PŘÍPADU

Gumulec J.<sup>1,2</sup>, Kořístek Z.<sup>1,2</sup>, Zuchnická J.<sup>1,2</sup>, Mihályová J.<sup>1,2</sup>, Demel I.<sup>1,2</sup>, Notari K.<sup>1</sup>, Tvrďá I.<sup>1</sup>, Škořupová M.<sup>1</sup>, Šoustková A.<sup>2,3</sup>, Klimas P.<sup>2,3</sup>, Miřatská P.<sup>2,3</sup>, Kovářová P.<sup>4</sup>, Šimětka O.<sup>2,3</sup>, Hájek R.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Klinika hematologické FN Ostrava

<sup>2</sup> LF OU, Ostrava

<sup>3</sup> Gynekologicko-porodnická klinika FN Ostrava

<sup>4</sup> Krevní centrum, FN Ostrava

**Cíl:** Trombotická trombocytopenická purpura (TTP) je vzácná život ohrožující trombotická mikroangiopatie (TMA) způsobená

nedostatkem metaloproteázy ADAMTS13. Těhotenství může spouštět akutní ataky TTP. Odlišení od ostatních TMA asociovaných s graviditou je obtížné zvláště u první ataky TTP. Správná diagnóza je zásadní pro volbu terapie. V práci prezentujeme případ pacientky s atakou TTP v graviditě.

**Metody:** 25letá žena přijatá do nemocnice ve 31. týdnu 3. gravidity pro únavu a nově zjištěnou mikroangiopatickou hemolytickou anémii s trombocytopenií (MAHAT) – hemoglobin 70 g/l, schistocyty 2,1 %, trombocyty 27×10<sup>9</sup>/l, LDH 8,83 μkat/l, haptoglobin pod 0,08 g/l, negativní přímý antiglobulinový test s obvyklou aktivací koagulace gravidních a lehkou elevací aktivity transamináz bez jiných pozoruhodností vč. sFIT-1/PIGF i PCR na SARS-CoV-2. Doposud nebyla vážně nemocná, těhotenství probíhalo fyziologicky a kromě ojedinělých petechií na kůži dolních končetin byl fyzikální nález bez pozoruhodností. Bezprostředně po průkazu MAHAT byl odebrán vzorek krve k vyšetření aktivity ADAMTS13, po 21 hodinách od přijetí byl prokázán deficit ADAMTS13 pod 5,0 % a 27 hodin od přijetí nastartována série výměnných plazmaferéz (PEX) a kortikoterapie.

**Výsledky:** Průkaz anti-ADAMTS13 protilátek (61,0 U/ml) potvrdil získanou TTP a oprávněnost kortikoterapie (methylprednisolon 250 mg/den celkem 3×, dále prednison 1 mg/kg, po dosažení klinické odpovědi redukce denní dávky prednisonu na 20 mg/den). Klinické odpovědi bylo dosaženo po 6 PEX, částečné ADAMTS13 remise 24 dnů po zahájení léčby, anti-ADAMTS13 přestaly být detekovatelné po 10. dnech terapie. Po 8. PEX byla PEX prováděna 2× týdně do porodu celkem 17×. V běžícím 36. gestačním týdnu po indukci proběhl nekomplikovaný vaginální porod plodu mužského pohlaví A 7-8 se zhoršenou poporodní adaptací.

**Závěr:** Akutní TTP je život ohrožující příhoda vyžadující bezodkladný multidisciplinární přístup, zvláště když se objeví během těhotenství nebo v období po porodu. Klinický úsudek a vyšetření ADAMTS13 jsou rozhodující pro správnou diagnózu a vhodný terapeutický přístup.

## ZÁCHYT PACIENTA S HEMOGLOBINEM C – KAZUISTIKA

Pilnáčková M., Dytrychová V., Kieslichová S., Fátorová I.

IV. interní hematologická klinika – laboratoř, FN Hradec Králové

**Úvod:** Hemoglobinopatie C je autozomálně recesivní dědičná hemolytická choroba, jejíž příčinou je mutace genu kódující β-globinový řetězec.

HbC je variantní hemoglobin se záměnou kyseliny glutamové za lysin v pozici 6 β-globinu. Může být přítomen v heterozygotní formě (genotyp AC), v homozygotní formě (CC) nebo ve složených heterozygotních formách (C/β tal., SC genotyp). V nátěru periferní krve je popisována mikrocytóza, leptocyty. Klinické projevy mohou být asymptomatické (AC), přes mírnou až středně těžkou anémii (CC), až po těžkou anémii se splenomegálií (C/β tal.). SC forma vede

k poruše podobné srpkovité anémii. HbC stejně jako HbS chrání před malárií. Původní oblastí výskytu genu pro HbC je západní Afrika s prevalencí 40–50 %. Střední Afrika s prevalencí < 1 %. Ve východní Africe se nevyskytuje. Významný výskyt je také v severní Africe (až 10 %) a jižní Evropě (Itálie, Turecko).

**Kazuistika:** U pacienta ročník 1990 bylo v 4/2021 v hematologické laboratoři provedeno vyšetření ELFO Hb z důvodu záchytu mikrocytózy erytrocytů v KO (RBC 6,08×10<sup>12</sup>/l, Hb 152 g/l, MCV 74,7 fl, MCH 25,0 pg) s pozitivním nálezem. V alkalické elektroforóze (f. Sebia) byla detekována abnormální frakce hemoglobinu (39,6 %) v oblasti výskytu HbA<sub>2</sub>, hladina HbA byla snižena (60,4 %). Výsledek vyšetření jsme uzavřeli jako suspektní variantu HbC, příp. HbE. Doporučili jsme doplnit genetické vyšetření pro potvrzení nálezu. Pacient s dg. Jiné hemoglobinopatie byl vyšetřen v hematologické poradně. Jedná se o 31letého muže, pocházejícího z Konga, s RA bezvýznamnou, bez medikace a klinických příznaků.

**Závěr:** Laboratorní vyšetření z ÚHKT Praha metodou kapilární elektroforózy (f. Sebia) potvrdilo přítomnost HbC (30,9 %). S předběžným závěrem mikrocytóza při hemoglobinopatii C nyní čekáme na výsledek molekulární genetiky. Ač se jedná u nás na pracovišti o neobvyklý nález, prevalence hemoglobinopatií v ČR stoupá s vlnou migrace obyvatel do Evropy.

Podpořeno programem PROGRES Q40/08 a MZ ČR-RVO (FNHK, 00179906).

## THROMBOSIS-ASSOCIATED HYPOFIBRINOGENEMIA: NOVEL ABNORMAL FIBRINOGEN VARIANT FGG C.8G>A WITH OXIDATIVE POST-TRANSLATIONAL MODIFICATIONS

Ceznerová E.<sup>1, 2</sup>, Kaufmanová J.<sup>2</sup>, Štikarová J.<sup>1</sup>, Suttnar J.<sup>1</sup>, Kotlín R.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Biochemistry, Institute of Hematology and Blood Transfusion, Prague

<sup>2</sup>Biochemistry and Microbiology, University of Chemistry and Technology Prague

**Aim:** Here, we present what appears to be the first case of fibrinogen variant FGG c.8G>A, fibrinogen Predmerice. This study aims to understand the behavior of this mutated fibrinogen in blood coagulation.

**Methods:** We investigated this mutation using a wide range of biochemical procedures, including fibrin polymerization, fibrinolysis, fibrinopeptides release measurement, mass spectrometry, and scanning electron microscopy.

**Results:** The case was identified by routine coagulation testing of a 34-year-old male diagnosed with phlebitis and thrombophlebitis of a deep venous in the lower limbs. Initial genetic analysis of his fibrinogen genes revealed a heterozygous mutation in exon 1 of the FGG gene encoding gamma chain signal peptide, resulting in the formation of a premature termination codon. Measurement of fibrin polymerization by thrombin and reptilase showed the normal formation of the fibrin clot. However, maximal absorbance within

polymerization was lower and fibrinolysis had a longer degradation phase than was observed for healthy control. Scanning electron microscopy revealed a significant difference in clot structure of the patient and, interestingly, mass spectrometry detected several post-translational oxidations of fibrinogen.

**Conclusion:** The data suggest that the mutation FGG c.8G>A with the combination of the effect of post-translational modifications causes a novel case of hypofibrinogenemia associated with thrombosis.

The project was supported by MZČR – RVO ÚHKT 00023736.

## POTVRZENÍ ETIOLOGICKÉ SOUVISLOSTI MEZI MONOKLONÁLNÍM IMUNOGLOBULINEM A NEKROBIOTICKÝM XANTOGRANULOMEM

Boichuk I., Adam Z., Krejčí M., Štork M., Sandecká V., Král Z., Mayer J., Pour L.

IHO, FN Brno, Brno

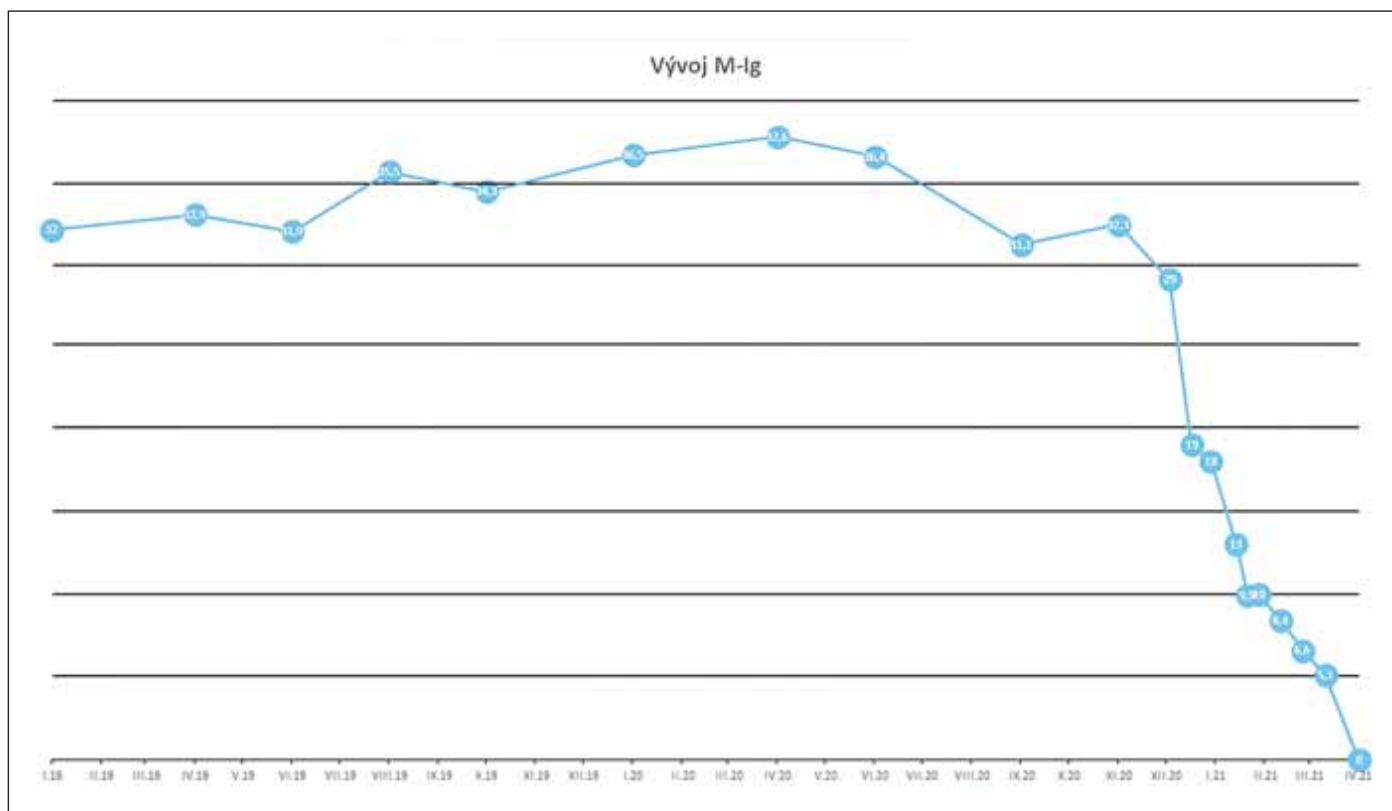
Nekrobiotický xantogranulom (NXG) vzácné chronické onemocnění skupiny non-Langerhans cell histiocytóz. Přítomnost monoklonálního imunoglobulinu (M-Ig) je popsána u většiny nemocných, ale přesná etiopatogenetická souvislost M-Ig s tímto onemocněním není známa, předpokládá se však, že vazba M-Ig na některé autoantigeny (lipoproteiny) vede ke vzniku NXG. Souvislost mezi NXG a M-Ig potvrzuje případ našeho pacienta.

**Popis případu:** 62letý muž, v průběhu posledních 2 měsíců měl vleže tlak v oblasti pravé podžeberní krajiny. Dále si všiml kožních lézí odpovídajících xantogranulomu, ty mu však nevadily. 04/2019 dg. uzavřena jako asymptomatický mnohočetný myelom (koncentrace M-IgG kappa – 32 g/l, v kostní dřeni 20 % klonálních plazmocytů, bez přítomnosti CRAB). FDG-PET/CT 6/2019 - popsána pouze mírně zvýšená akumulace fluorodeoxyglukózy (FDG) v retromandibulární uzlině vpravo a v podkoží pravého stehna, avšak pouze subcentimetrové velikosti, původně hodnocena jako kožní zánětlivá reakce.

PET/CT 5/2020 - ukazuje zvětšení jugulární uzliny vpravo, několik ložisek s patologickou akumulací FDG v obou lalocích jater. Izolovaně aktivní ložisko laterálně na pravém stehně intenzivně akumulovalo FDG. Proto provedena histologická verifikace podkožního ložiska, se závěrem: NXG bez pěníých buněk.

PET/CT 10/2020 potvrdilo zvětšení počtu patologických ložisek v játrech a podkožně. Zvýšila se v nich i akumulace FDG, tenkojehlová biopsie z jater byla nevytěžná, zvažoval se operační odběr vzorků, ale chirurgie výkon vyhodnocen jako extrémně rizikový. Proto v 11/2020 zahájena léčba kombinací lenalidomid, bortezomib, dexametazon.

Po čtvrtém cyklu 03/2021 provedeno kontrolní PET/CT kde patrná parciální regrese ložiska v játrech, prakticky úplná morfometabolická regrese minule aktivní jugulární uzliny a úplná morfometabolická regrese všech patologických infiltrátů kůže a podkoží. Tedy velmi rychlá léčebná odpověď, podobně rychlá jako pokles M-Ig (viz graf).



V 4/2021 nebyl M-Ig detekovatelný, takže navozena kompletní biochemická odpověď.

**Závěr:** náš případ dokumentuje s pomocí FDG PET/CT zobrazení, že vymizení M-Ig vede k ústupu ložisek NXG. Proto jsou oprávněné léčebné postupy s cílem potlačit tvorbu M-Ig.

## LÉČBA SYMPTOMATICKÉ FORMY WALDENSTRÖMOVY MAKROGLOBULINÉMIE POMOCÍ INTRAVENÓZNÍ FORMY ŽELEZA – KAZUISTIKA

Kaščík M.

*Klinika hematologie FN Ostrava*

**Úvod:** Waldenströmova makroglobulinémie (WM) je vzácným onemocněním charakterizovaným infiltrací kostní dřeně lymfoplasmocytárním lymfomem (LPL) s produkcí monoklonálního imunoglobulinu (MIg) třídy IgM. Anémie je častým důvodem k zahájení léčby. Etiologie anémie je široká – od infiltrace kostní dřeně, přes autoimunitní hemolýzu až po poruchu metabolismu železa. Není korelace mezi mírou infiltrace kostní a tíží anémie. U WM je zvýšená produkce hepcidinu a ten jako klíčový regulátor homeostázy železa vede k omezení jeho dostupnosti erytronu. Snížená saturace transferinu (SAT)  $\leq 20\%$  je citlivým ukazatelem sideropenie. Podle práce Treon et al. 2013, byla u pacientů s WM s anémií a SAT  $\leq 10\%$ ,

úspěšnost parenterální léčby železem až 88 %. Přitom bylo až 60 % pacientů refrakterních na předchozí perorální léčbu.

**Metody:** V říjnu 2020 jsme na Klinice hematologie FN Ostrava diagnostikovali u 84letého pacienta WM. Důvodem vyšetřování byli projevy anemického syndromu. Vstupně byla zjištěná normocytová, hypoproliferativní anémie s hemoglobinem (Hg) 100 g/l a feritinem 84  $\mu\text{g/l}$ . Saturace transferinu 0,09 (9 %). Ostatní parametry krevního obrazu byly v normě. Kyselina listová a vitamín B12 byl v normě. Byla vyloučená hemolýza. Endoskopické vyšetření zažívacího traktu bez zdroje krvácení. Celkový imunoglobulin IgM byl 20,5 g/l s imunofixačním průkazem mIgM kappa. Vyšetření kostní dřeně ukázalo cytologicky normocelulární dřeň s červenou řadou početně v normě (17 % lymfocytů vč. lymfoplasmocytů), Průtoková cytometrie ze všech jaderných buněk 11 % lymfocytů, z toho 20 % klonálních B-lymfocytů. Histologicky 10% infiltrace buňkami LPL.

**Výsledky:** Anémie byla jedinou indikací k zahájení léčby WM. Na perorální léčbě železem došlo k dalšímu poklesu Hg na 97 g/l. Proto byla 11/2020 jednorázově podána infuze karmoxymaltózy železa v dávce 1 000 mg, po které došlo k pozvolnému vzestupu Hg  $> 110\text{ g/l}$ . Podle posledního kontrolního vyšetření 04/2021 je při hodnotě Hg 116 g/l pacient zcela bez projevů anemického syndromu či klinických známek aktivity lymfomu.

**Závěr:** Léčba anémie se sníženou saturací transferinu pomocí intravenózní formy železa u pacientů s WM je účinná a umožňuje odložit zahájení imunochemoterapie nebo cílené terapie.

## BIOBANKA A JEJÍ VÝZNAM V HEMATOONKOLOGII

Broskevičová L.<sup>1</sup>, Panáčková E.<sup>1</sup>, Trlifajová N.<sup>1</sup>, Hájek R.<sup>1, 2</sup>

<sup>1</sup>Klinika hematologie FN Ostrava

<sup>2</sup>LF OU, Ostrava

**Úvod:** Biobankování znamená archivace biologického materiálu pacientů pro výzkumné účely. Biobanka ve Fakultní nemocnici Ostrava (FNO) byla založena ve spolupráci s Lékařskou fakultou Ostravské univerzity v roce 2012. Specializuje se na odběr vzorků od pacientů s hematologickými diagnózami, zejména monoklonálními gamapatiemi, ale i dalšími, jako jsou lymfomy či leukémie. V kooperaci s národními a mezinárodními centry probíhá také sběr vzorků raritních onemocnění, především Waldenströmovy makroglobulinémie a AL amyloidózy.

**Cíl:** Cílem biobanky je vytvořit komplexní základnu patientských vzorků pro budoucí dlouhodobý výzkum nebo dle konkrétních požadavků projektu.

**Metody:** Odebraný biologický materiál (krev, kostní dřeň, tkáň atd.) se po podepsání informovaného souhlasu zpracovává dle standardních provozních postupů, což zajišťuje vysokou kvalitu vzorků, a tedy i reprodukovatelnost výsledků. Krev se využívá především pro získání plazmy, séra a DNA. Z kostní dřene jsou dále separovány různé typy buněk dle konkrétní diagnózy. Všechny vzorky jsou poté zamrazeny a skladovány po dlouhou dobu v monitorovaných podmínkách. Vzorky jsou archivovány pod unikátním kódem a průběh zpracování je zaznamenán ve speciálních formulářích.

**Výsledky:** V Biobance FNO bylo ke konci roku 2020 archivováno celkem 49 968 vzorků (tabulka) od téměř 3 000 pacientů. Dále se Biobanka zapojila do více než 30 projektů na národní i mezinárodní úrovni a funguje jako centrální laboratoř pro klinické studie České myelomové skupiny. Celkem bylo z Biobanky vydáno již téměř 4 000 vzorků, zejména ve spolupráci s výzkumnou skupinou Blood Cancer Research Group.

**Závěr:** Biobanka se za dobu fungování stala nedílnou součástí výzkumné činnosti kliniky hematologie, a to především aktivním zapojením do výzkumných projektů formou archivace a výdeje vzorků. Podpořeno MZ ČR – RVO – FNOs/2020.

### Tabulka. Stav vzorků v Biobance k 8. 12. 2020.

Typ vzorku	Počet alikvotů
sérum periferní krve	14 982
plazma periferní krve	11 902
plazma kostní dřene	11 775
buňky z krve a kostní dřene	8 820
DNA	2 309
likvor	118
extramedulární ložisko u mnohočetného myelomu	62
celkem	49 968

## COMPREHENSIVE IMMUNOMONITORING OF PATIENTS AFTER HEMATOPOIETIC STEM CELL TRANSPLANTATION

Vaníková Š., Koladiya A., Musil J.

Department of Immunomonitoring and Flow Cytometry, Institute of Hematology and Blood Transfusion, Prague

Hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) represents the standard curative treatment for a variety of haematological malignancies, i.e. AML and MDS. However, it is still associated with high treatment-related mortality, caused mainly by a relapse of the original disease and infectious complications. All these complications are caused by improper immune system function. To further deepen the understanding of the underlying post-HSCT immune dysfunction we developed an optimized 29-colour immunophenotyping panel allowing us to monitor the reconstitution of NK cell and T cell subpopulations as these represent major drivers of anti-leukaemia and anti-pathogen responses as well as gatekeepers of tissue tolerance. Our project aims to determine immune signatures of high-risk patients, that could in the future be used for the identification of individuals requiring more intensive post-HSCT care or would be suitable for immunotherapeutic interventions.

Our panel includes markers for all major NK cell and T cell subsets and for analysis of their quantitative and qualitative properties. In the NK cell compartment, we focus mainly on the expression of activating (NKG2D, DNAM-1) and inhibitory receptors (NKG2A, TIGIT). Regarding T cells, we analyze the emergence and properties of major T cell populations with a particular interest in CD8, Th1, ThCTL and Treg subsets. Besides that, we use the detection of CD4+ recent thymic emigrants as a marker of thymus function.

In conclusion, we have established a comprehensive immune system monitoring project with the aim to identify predictive risk factors on transplant outcomes that would allow us to suggest potential immunotherapeutic interventions.

Supported by MH CZ - DRO (Institute of Hematology and Blood Transfusion - IHBT, IN 00023736) and European Regional Development Fund and the state budget of the Czech Republic (project AIIHHP: CZ.02.1.01/0.0/0.0/16\_025/0007428, OP RDE, MEYS).

## REMISE AUTOIMUNITNÍ HEMOLYTICKÉ ANÉMIE PŘI LÉČBĚ RUXOLITINIBEM U NEMOCNÉHO S VROZENOU KANDIDÓZOU – POPIS PŘÍPADU

Lavičková A.<sup>1</sup>, Hanzlíková J.<sup>2</sup>, Janoušková M.<sup>1</sup>, Hajšmanová Z.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ÚKBH, FN Plzeň

<sup>2</sup>ÚIA, FN Plzeň

**Úvod:** Autoimunitní hemolytické anémie (AIHA) jsou vyvolány autoprotilátkami proti povrchovým antigenům vlastních erytrocytů. Může se jednat o samostatné onemocnění (idiopatická AIHA) nebo

se může AIHA rozvinout v rámci jiných autoimunitních, nádorových a infekčních onemocnění (sekundární AIHA).

Vrozená mukokutánní kandidóza (CMC) je způsobena vrozeným defektem buněčné imunity. Trvalé užívání antimykotik a antibiotik je pro tyto nemocné pouze symptomatickou léčbou. U části nemocných byla díky moderním diagnostickým metodám zjištěna kauzální mutace v genu pro intracelulární signální protein STAT1, zodpovědná za poruchu vývoje subpopulace T lymfocytů Th17 a obranu organismu proti kvasinkovým infekcím. Nemocní mají také zvýšené riziko autoimunitních komplikací a malignit.

Ruxolitinib je selektivní inhibitor Janusových kináz  $1/2$ , který zamezuje aktivaci STAT proteinů. Doposud byl schválen pouze pro léčbu primární myelofibrózy a pravé polycytemie.

**Metody:** V našem sdělení popisujeme případ 46letého muže s vrozeným imunitním defektem. Od dětství trpěl recidivujícím

soorem, infekty dýchacích cest, blepharitidami, abscesy hýžděvé krajiny. Postupně se u něho rozvinula celiakie, autoimunitní hepatitida, autoimunitní thyreoiditida a kožní forma lupus erytematodes. Poslední autoimunitní komplikací byla r. 2015 těžká AIHA s tepelnými protilátkami, recidivující po léčbě kortikoidy i rituximabem. V r. 2019 byla u nemocného zjištěna CMC s kauzální mutací STAT 1. V literatuře bylo popsáno několik případů (zejména dětí) s dobrou léčebnou odpovědí na ruxolitinib. Měsíc po zahájení léčby u našeho nemocného došlo ke kompletní remisi AIHA. Navíc ustoupily i další chronické klinické projevy vrozeného imunodeficitu – soor, únava, polyartralgie a torpidní kašel při chronické pansinusitidě a bronchiektazích.

**Závěr:** Cílem genetického vyšetření somatických a germinálních mutací je odhalení kauzální mutace, která by umožnila efektivní cílenou léčbu. Mezioborová spolupráce vedla k upřesnění diagnózy a cílené léčbě s významným zlepšením kvality života nemocného.

# Rejstřík autorů

## A

Adam Z. .... 2S39, 2S98, 2S104, 2S108, 2S122, 2S130  
 Adamová S. .... 2S99  
 Adamcová M. .... 2S62  
 Adamovská S. .... 2S120  
 Aghová T. .... 2S82  
 Almáši M. .... 2S99, 2S100, 2S103  
 Andrýs C. .... 2S93  
 Anilkumar Sithara A. .... 2S41  
 Aswad M. H. .... 2S7  
 Azeem K. .... 2S125

## B

Bačovský J. .... 2S34, 2S104  
 Balcárková J. .... 2S23, 2S88, 2S105, 2S107  
 Baloun J. .... 2S76  
 Bago J. R. .... 2S40, 2S41  
 Baranová J. .... 2S11, 2S18, 2S22, 2S71  
 Bártek J. .... 2S34  
 Bátorová A. .... 2S34, 2S120  
 Bednář P. .... 2S124  
 Bednářová J. .... 2S62  
 Běhálek M. .... 2S105  
 Belada D. .... 2S25, 2S86, 2S89, 2S93  
 Belíčková M. .... 2S15, 2S23, 2S82, 2S84, 2S85, 2S109  
 Bělohávková P. .... 2S17–2S20, 2S22, 2S77, 2S80  
 Benešová A. .... 2S21  
 Benešová K. .... 2S25, 2S86, 2S89  
 Benková K. .... 2S52  
 Bérešová Z. .... 2S62  
 Bergerová V. .... 2S71  
 Bestová D. .... 2S128  
 Bezděková L. .... 2S29, 2S30, 2S44, 2S51  
 Bezděková R. .... 2S38, 2S39, 2S98–2S101, 2S103  
 Bílá A. .... 2S58  
 Blaháková I. .... 2S44  
 Blaháková P. .... 2S60  
 Blahovcová P. .... 2S86  
 Blahutová M. .... 2S54  
 Blahutová Š. .... 2S55, 2S61  
 Blatný J. .... 2S68  
 Blažková P. .... 2S68  
 Bocková M. .... 2S83  
 Boichuk I. .... 2S39, 2S103, 2S108, 2S130  
 Bohoněk M. .... 2S54  
 Bohúnová M. .... 2S13, 2S81–2S83, 2S96  
 Borský M. .... 2S17  
 Boudný M. .... 2S96  
 Bourková L. .... 2S65

Bradáčová P. .... 2S6, 2S64  
 Brat K. .... 2S121  
 Brejcha M. .... 2S17, 2S29, 2S30  
 Brojáčová D. .... 2S58  
 Broskevičová L. .... 2S41, 2S101, 2S114, 2S132  
 Brown J. R. .... 2S90  
 Brožová L. .... 2S99–2S101, 2S103  
 Brusová L. .... 2S128  
 Brychtová S. .... 2S48  
 Brychtová Y. .... 2S17, 2S29–2S31, 2S44, 2S51, 2S77, 2S90  
 Bryjová L. .... 2S82, 2S83  
 Buffa D. .... 2S52  
 Buchtová T. .... 2S34  
 Bultasová L. .... 2S66  
 Burda P. .... 2S79  
 Burešová P. .... 2S54  
 Buriánková E. .... 2S26, 2S86  
 Buša D. .... 2S70  
 Bútová R. .... 2S100

## C

Caletková M. .... 2S57  
 Campr V. .... 2S25, 2S86, 2S89  
 Carbolová M. .... 2S61  
 Cerovská E. .... 2S13, 2S73  
 Cetkovský P. .... 2S11, 2S12, 2S15, 2S47, 2S51, 2S69, 2S71  
 Ceznerová E. .... 2S68, 2S130  
 Cinek O. .... 2S42  
 Cingelová S. .... 2S50  
 Cmunt E. .... 2S17, 2S19, 2S20, 2S77, 2S80  
 Coren F. .... 2S110  
 Cyprianová H. .... 2S121

## Č

Čábelová K. .... 2S44  
 Čápková L. .... 2S36, 2S38, 2S101  
 Čech P. .... 2S96  
 Čechová H. .... 2S114  
 Čermák J. .... 2S22, 2S23, 2S66, 2S82–2S84, 2S109, 2S110  
 Čermáková Z. .... 2S55  
 Černá L. .... 2S113  
 Černá O. .... 2S17, 2S19, 2S20, 2S77, 2S80  
 Čerňan M. .... 2S47, 2S51, 2S57, 2S64, 2S117, 2S122  
 Červinek L. .... 2S13, 2S17, 2S22, 2S82, 2S83, 2S123  
 Češpivová D. .... 2S65  
 Čičátková P. .... 2S17–2S19, 2S78, 2S79  
 Čudová B. .... 2S88, 2S90  
 Čulen M. .... 2S70  
 Čuřík N. .... 2S79

- D**
- Daňková L. ....2558  
 Darzentas N. ....2542  
 Dašková V. ....2558  
 Davids M. S. ....2590  
 Dayley D. .... 2S104  
 Dekojová T. ....2536, 2S105  
 Demel I. .... 2S6, 2S51, 2S52, 2S129  
 Demlová R. ....2517  
 Díhel M. .... 2S105  
 Divoká M. ....2580  
 Dlouhá J. ....2525, 2S89  
 Dluhošová B. ....2552, 2S96  
 Doleček M. .... 2S121  
 Domanský J. ....2546  
 Dostálová L. .... 2S107, 2S111  
 Dostálová Merkerová M. ....2523, 2S84  
 Doubek M. .... 2S9, 2S10, 2S13, 2S14, 2S16, 2S17,  
 2S29–2S32, 2S44, 2S51, 2S69, 2S76, 2S77,  
 2S81–2S83, 2S90, 2S92, 2S95, 2S96, 2S112  
 Doubková M. .... 2S121  
 Drahošová R. ....2559  
 Drgoňa L. ....2550  
 Dudová L. ....2552  
 Durech M. ....2540  
 Dvořáčková B. ....2529, 2S77, 2S95  
 Dvořák J. ....2575  
 Dyr J. E. ....2564  
 Dytrychová V. .... 2S129  
 Džubák P. .... 2S107
- Ď**
- Ďuraš J. .... 2S25, 2S52, 2S86, 2S87, 2S89, 2S96
- E**
- Écsiová D. ....2530, 2S51, 2S93  
 Ehlová K. ....2581  
 Ehrlichová L. ....2528  
 Entrová A. .... 2S125, 2S127
- F**
- Faber E. .... 2S17, 2S19, 2S20, 2S47, 2S77, 2S80, 2S81,  
 2S117, 2S122  
 Fabri O. ....2542  
 Fajfr M. ....2552  
 Fajgenbaum D. C. .... 2S110  
 Fátorová I. ....2550, 2S129  
 Fava C. ....2521  
 Fedorco M. ....2558  
 Feglarová T. ....2575  
 Fenclová T. ....2565, 2S117  
 Felklová B. ....2562  
 Fernandes S. M. ....2590
- Fillerová R. .... 2S105  
 Fínová L. ....2560  
 Flodr P. ....2590, 2S107, 2S108  
 Flodrová P. .... 2S40, 2S106–2S108  
 Folber F. .... 2S9, 2S46, 2S48, 2S69, 2S112, 2S116, 2S123  
 Folta A. ....2570, 2S72  
 Fowler E. .... 2S104  
 Frič J. ....2575  
 Friedecký D. .... 2S8  
 Froňková E. ....2542, 2S69  
 Frydrych I. ....2540, 2S106  
 Furková J. ....2555  
 Fürst T. ....2577, 2S80, 2S122
- G**
- Gajdoš P. ....2516, 2S105, 2S106  
 Galuszková D. ....2555, 2S62, 2S125, 2S127  
 Genský M. ....2530  
 Gilarová B. ....2557  
 Gombíková J. ....2577  
 Gottardi E. M. ....2521  
 Gregorová J. ....2599, 2S100  
 Greksák R. ....2526  
 Grohmann J. ....2580, 2S88, 2S89, 2S120  
 Gumulec J. .... 2S6, 2S52, 2S96, 2S129  
 Gurský J. ....2534
- H**
- Hašová K. ....2557  
 Hadrabová M. ....2528  
 Hájek R. ....2535–2538, 2S40, 2S41, 2S51, 2S52, 2S87,  
 2S96, 2S98, 2S99, 2S101, 2S113, 2S114, 2S118,  
 2S129, 2S132  
 Hájková B. ....2552  
 Hájková V. .... 2S126  
 Hajšmanová Z. ....2566, 2S67, 2S132  
 Hanáčková V. ....2526, 2S86, 2S88, 2S89  
 Hansliánová G. H. .... 2S127  
 Hanzlíková J. .... 2S132  
 Harvanová L. ....2534  
 Havel J. ....2599  
 Havel M. .... 2S101  
 Havlová E. .... 2S105  
 Hejduk K. .... 2S121  
 Hejret V. ....2516  
 Hejsková I. ....2561  
 Helma R. ....2516  
 Henzlová L. ....2526, 2S86  
 Herout V. .... 2S124  
 Hisemová M. ....2515, 2S117  
 Hladilová J. ....2562  
 Hladká J. ....2562  
 Hlaváčková A. ....2564, 2S75, 2S76, 2S79

Hlavinková J. .... 2S125  
 Hlawiczková N. .... 2S80  
 Hluší A. .... 2S6, 2S8, 2S17, 2S64, 2S81, 2S122  
 Hodaňová L. .... 2S82, 2S103  
 Holusková I. .... 2S55, 2S62, 2S127  
 Holzerová M. .... 2S23, 2S88  
 Homola J. .... 2S83  
 Horáček J. M. .... 2S9, 2S69, 2S74  
 Horáčková M. .... 2S17  
 Horák D. .... 2S76  
 Horáková K. .... 2S57  
 Horňák T. .... 2S17–2S19, 2S78, 2S79  
 Hrabčáková V. .... 2S95, 2S112  
 Hrabětová M. .... 2S35, 2S46, 2S71, 2S105  
 Hrabovský Š. .... 2S10, 2S121, 2S124  
 Hradská K. .... 2S52, 2S118  
 Hrachovinová I. .... 2S65  
 Hrdinka M. .... 2S40  
 Hrdličková A. .... 2S75  
 Hrdličková R. .... 2S55  
 Hrnčířová K. .... 2S50  
 Hrušák O. .... 2S42, 2S46, 2S73  
 Hruštinová A. .... 2S84  
 Hřebíčková H. .... 2S121  
 Hubáček J. .... 2S47, 2S117  
 Hübnerová P. .... 2S39  
 Hurdálková K. .... 2S17  
 Husa P. .... 2S121, 2S124  
 Hušková M. .... 2S59  
 Huvarová L. .... 2S113, 2S114  
 Hvalčáková T. .... 2S88, 2S90  
 Hynčicová Klimková K. .... 2S59  
 Hynšt J. .... 2S14, 2S29, 2S81–2S83, 2S95

**CH**

Chasáková K. .... 2S66  
 Chemweno R. K. .... 2S42  
 Chloupková R. .... 2S25, 2S85, 2S89, 2S121  
 Chowdhury V. .... 2S104  
 Chrastinová L. .... 2S64, 2S83, 2S85  
 Chromá K. .... 2S34  
 Chytrá D. .... 2S7

**I**

Indrác K. .... 2S47, 2S81, 2S117  
 Ivanovová E. .... 2S8  
 Izáková S. .... 2S72, 2S82, 2S103, 2S110

**J**

Jačová J. .... 2S8  
 Jančárková T. .... 2S129  
 Janíková A. .... 2S14, 2S25, 2S28, 2S85, 2S86, 2S89,  
 2S112, 2S121

Janušková M. .... 2S52  
 Jarošová M. .... 2S10, 2S19, 2S44, 2S72, 2S82, 2S83, 2S96  
 Jebavý L. .... 2S74  
 Jedlička M. .... 2S75  
 Jelínek T. .... 2S36–2S38, 2S40, 2S41, 2S52, 2S96, 2S99,  
 2S101, 2S103, 2S113, 2S114  
 Jelínková H. .... 2S10, 2S13, 2S14  
 Jelínková M. .... 2S68  
 Ježíšková I. .... 2S13, 2S17, 2S44, 2S70, 2S72, 2S78  
 Jindra P. .... 2S9, 2S11, 2S12, 2S15, 2S35, 2S46, 2S51,  
 2S71, 2S105  
 Jirkuvová A. .... 2S87, 2S88  
 Jonášová A. .... 2S22, 2S23, 2S72, 2S82, 2S84, 2S103, 2S110  
 Joyce J. .... 2S104  
 Jungová A. .... 2S35–2S37, 2S46, 2S52, 2S58, 2S98, 2S101,  
 2S105  
 Juráňová J. .... 2S120  
 Jurček T. .... 2S17, 2S78  
 Jurková T. .... 2S20

**K**

Kabát M. .... 2S32  
 Kabátová-Maxová K. .... 2S58  
 Kabut T. .... 2S48, 2S51, 2S71, 2S116, 2S119, 2S123, 2S124  
 Kaisrlíková M. .... 2S23, 2S84, 2S109  
 Kalina T. .... 2S46  
 Kalinová L. .... 2S65  
 Kalmanová P. .... 2S62  
 Kalodová Hadačová J. .... 2S60  
 Kalužová N. .... 2S61  
 Kamarádová K. .... 2S25  
 Kapustová V. .... 2S41, 2S101, 2S113, 2S114  
 Karas M. .... 2S17, 2S20, 2S35, 2S46, 2S71, 2S77, 2S80, 2S105  
 Karasová L. .... 2S58  
 Karban J. .... 2S66  
 Karhanová M. .... 2S39  
 Kasalová N. .... 2S88, 2S107  
 Kašánková I. .... 2S111  
 Kaufmanová J. .... 2S64, 2S130  
 Kaščák M. .... 2S52, 2S87, 2S96, 2S131  
 Kašperová B. .... 2S50  
 Khor J. S. .... 2S110  
 Khurshid M. .... 2S104  
 Kiboa S. .... 2S42  
 Kieslichová S. .... 2S129  
 Kisošová J. .... 2S7  
 Klamová H. .... 2S17–2S21, 2S66, 2S77, 2S79, 2S80  
 Klásková K. .... 2S30  
 Kleinová R. .... 2S54  
 Klejnová M. .... 2S117  
 Kléma J. .... 2S84  
 Klementová O. .... 2S122  
 Klemešová I. .... 2S72



- Klener P. .... 2S25, 2S89  
 Klener Jr. P. .... 2S86  
 Klimas P. .... 2S129  
 Klinerová J. .... 2S65  
 Knechtová Z. .... 2S38, 2S39, 2S103  
 Koblihová J. .... 2S21, 2S79  
 Kocmanová I. .... 2S123  
 Kočí J. .... 2S54  
 Kočí M. .... 2S52  
 Koladiya A. .... 2S111, 2S132  
 Kolář M. .... 2S117, 2S122  
 Kolenová A. .... 2S46  
 Koňářík M. .... 2S57  
 Kopálová N. .... 2S89  
 Kopčík M. .... 2S28  
 Kopečková K. .... 2S61  
 Korandová V. .... 2S125, 2S126  
 Kořánová T. .... 2S75  
 Kořístek Z. .... 2S9, 2S11, 2S12, 2S52, 2S71,  
 2S87, 2S113, 2S114, 2S129  
 Kořístka M. .... 2S55  
 Kostrouchová B. .... 2S54  
 Kostrouchová H. .... 2S55  
 Košková S. .... 2S62  
 Košťálová L. .... 2S31  
 Kotašková J. .... 2S13, 2S16, 2S29, 2S77,  
 2S81–2S83, 2S92, 2S95, 2S112  
 Kotlín R. .... 2S68, 2S130  
 Koutouček P. .... 2S104  
 Kouba M. .... 2S23, 2S117  
 Kováčsová F. .... 2S48, 2S51, 2S116, 2S123  
 Kovářová P. .... 2S129  
 Kozlová V. .... 2S94, 2S111  
 Kračunová M. .... 2S62  
 Král Z. .... 2S17, 2S98, 2S104, 2S108, 2S112, 2S121,  
 2S122, 2S124, 2S130  
 Králíčková P. .... 2S52  
 Králová R. .... 2S39, 2S103  
 Kramná L. .... 2S42  
 Krčméry V. .... 2S42  
 Krčméryová M. .... 2S30, 2S129  
 Kredátusová A. .... 2S26, 2S88, 2S89  
 Krejčí M. .... 2S36, 2S39, 2S48, 2S98, 2S104, 2S108, 2S112,  
 2S116, 2S119, 2S122, 2S123, 2S130  
 Krejčík Z. .... 2S84  
 Krhovská P. .... 2S39, 2S101, 2S104–2S108, 2S122  
 Kriegová E. .... 2S16, 2S48, 2S105, 2S106  
 Krůzová L. .... 2S23  
 Krzyžánková M. .... 2S13  
 Křen L. .... 2S85  
 Křístková Z. .... 2S11, 2S17, 2S18, 2S20, 2S29, 2S30, 2S71  
 Křivánková J. .... 2S59  
 Křivánková T. .... 2S107  
 Křívová H. .... 2S61  
 Kříž T. .... 2S35  
 Křížová E. .... 2S55  
 Kuba A. .... 2S47, 2S48  
 Kubová Z. .... 2S16, 2S30  
 Kubešová B. .... 2S78  
 Kubešová H. .... 2S121  
 Kundrát D. .... 2S13, 2S23, 2S73, 2S84  
 Kunstová O. .... 2S128  
 Kunt Vonková B. .... 2S29  
 Kupsa T. .... 2S22, 2S74  
 Kutáč D. .... 2S54  
 Kuželová K. .... 2S75  
 Kvasnička A. .... 2S8  
 Kvetková A. .... 2S17–2S19, 2S78
- L**
- Labudíková M. .... 2S57  
 Ladická M. .... 2S27  
 Ladungová A. .... 2S94, 2S111  
 Lakotová O. .... 2S61  
 Lančová J. .... 2S118  
 Landová L. .... 2S54  
 Langová K. .... 2S47  
 Langová M. .... 2S62  
 Lánská M. .... 2S22, 2S112, 2S116  
 Látal V. .... 2S122  
 Látalová J. .... 2S57  
 Lauermannová M. .... 2S23  
 Lavičková A. .... 2S132  
 Lazarová K. .... 2S62  
 Ledererová A. .... 2S111  
 Lejdarová H. .... 2S55  
 Lekaa M. .... 2S51  
 Lengerová M. .... 2S116, 2S119, 2S121, 2S123, 2S124  
 Lesný P. .... 2S111  
 Lhotská H. .... 2S82  
 Lizcová L. .... 2S72, 2S82, 2S103  
 Loja T. .... 2S13, 2S31, 2S70, 2S111  
 Loužil J. .... 2S68  
 Lovecký J. .... 2S54  
 Lukac M. .... 2S110  
 Lužák A. .... 2S116  
 Lysák D. .... 2S29, 2S30, 2S35, 2S46, 2S51, 2S71, 2S105
- M**
- Maco M. .... 2S51, 2S129  
 Mačalová J. .... 2S62  
 Machová R. .... 2S23  
 Machová Poláková K. .... 2S17, 2S21, 2S79  
 Maisnar V. .... 2S36, 2S37, 2S101  
 Majdyšová H. .... 2S59  
 Malá M. .... 2S50

Maláska J. ....	2S123
Malčíková J. ....	2S16, 2S29, 2S32, 2S77, 2S95
Malíková I. ....	2S67
Malušková A. ....	2S55
Malý M. ....	2S64
Mamedov I. ....	2S13
Maňáková J. ....	2S105, 2S106
Mančíková V. ....	2S16, 2S111
Mandelová L. ....	2S121
Mányová S. ....	2S26
Marcalíková J. ....	2S55
Mareček F. ....	2S65
Marečková A. ....	2S14, 2S81–2S83, 2S95
Marek V. ....	2S121
Marková J. ....	2S72
Martykánová L. ....	2S121
Mašatová M. ....	2S54
Mašínová E. ....	2S75
Mašlejová S. ....	2S29, 2S30, 2S44, 2S51
Matějovská Kubešová H. ....	2S121
Matušová M. ....	2S59
Mayer J. ....	2S9, 2S11–2S13, 2S15–2S20, 2S28–2S31, 2S37, 2S44, 2S48, 2S51, 2S69–2S72, 2S77, 2S78, 2S80, 2S90, 2S95, 2S98, 2S104, 2S108, 2S112, 2S116, 2S119, 2S121–2S124, 2S130
Mazalová M. ....	2S19
McEwan L. ....	2S104
Mechl M. ....	2S121
Mejstříková E. ....	2S42
Mendlíková I. ....	2S72, 2S82, 2S110
Mertová J. ....	2S23, 2S72
Mihályová J. ....	2S6, 2S30, 2S51, 2S52, 2S96, 2S118, 2S129
Michalka J. ....	2S25, 2S28, 2S85, 2S121
Michalová K. ....	2S82
Mikulenková D. ....	2S66
Mikušková E. ....	2S50
Minařík J. ....	2S35–2S37, 2S39, 2S40, 2S52, 2S98, 2S99, 2S101, 2S104–2S107
Minařík L. ....	2S82
Minařík R. ....	2S18, 2S78, 2S79
Minaříková D. ....	2S116
Miřatská P. ....	2S129
Mistrík M. ....	2S34, 2S101, 2S120
Mladonická Pavlasová G. ....	2S90
Mlčák P. ....	2S39
Mnacakanová E. ....	2S107
Móciková H. ....	2S25, 2S30, 2S51, 2S86, 2S89, 2S129
Mohammad L. ....	2S30, 2S71
Molinský J. ....	2S30
Moráň L. ....	2S99
Motlová E. ....	2S21
Moudrý P. ....	2S34
Mráz M. ....	2S31, 2S90
Mrázek F. ....	2S48
Mucksová K. ....	2S109
Múdry P. ....	2S123
Mucha M. ....	2S111
Muroňová L. ....	2S52, 2S96
Musil J. ....	2S111, 2S132
N. ....	
Nagi W. ....	2S104
Navrátil M. ....	2S52, 2S87
Navrátilová J. ....	2S15, 2S81, 2S89
Navrátilová M. ....	2S107
Navrkalová V. ....	2S10, 2S14, 2S92
Nečasová T. ....	2S17, 2S71
Nekvindová L. ....	2S29, 2S30
Němcová J. ....	2S65
Neuwirtová R. ....	2S82
Nightingill J. ....	2S104
Notari K. ....	2S129
Nová J. ....	2S125
Novák J. ....	2S9, 2S11, 2S12, 2S15, 2S29, 2S30, 2S51, 2S71
Novák M. ....	2S120
Nováková D. ....	2S52
Nováková E. ....	2S121
Nováková L. ....	2S23, 2S47
Nováková M. ....	2S42, 2S73
Nováková Z. ....	2S11, 2S12, 2S71, 2S78, 2S121
Novosád T. ....	2S106
Novotná R. ....	2S121
<b>O</b>	
Obr A. ....	2S87, 2S88, 2S122
Obtřílková P. ....	2S30
Oltová A. ....	2S44
Onderková M. ....	2S72, 2S110
Ondřišová L. ....	2S31
Ondroušková E. ....	2S29, 2S96
Ondroušková K. ....	2S106
Oršulová M. ....	2S30
Otáhal P. ....	2S111
Otevřelová P. ....	2S66
Ovesná P. ....	2S7
<b>P</b>	
Pacasová R. ....	2S55, 2S62, 2S124
Pál K. ....	2S14, 2S29, 2S32
Palátová J. ....	2S67
Palová M. ....	2S17, 2S81
Palušová V. ....	2S90
Panáčová E. ....	2S132
Panovská A. ....	2S17, 2S29–2S32, 2S44, 2S51, 2S77, 2S90, 2S92, 2S96
Pantůčková D. ....	2S119, 2S123

- Papajík T. .... 2S16, 2S23, 2S26, 2S30, 2S47,  
2S48, 2S51, 2S66, 2S80, 2S81, 2S86–2S90,  
2S105, 2S107, 2S117, 2S122
- Pardy F. .... 2S95
- Pařízková R. .... 2S121
- Pastva O. .... 2S83, 2S85
- Pavlíček P. .... 2S35–2S37, 2S98, 2S101
- Pavlík T. .... 2S19, 2S19
- Pavlišťová L. .... 2S72, 2S82, 2S103
- Pavlová Š. .... 2S13, 2S16, 2S29, 2S32, 2S77, 2S95
- Pečinka L. .... 2S99
- Pecherková P. .... 2S15
- Penka M. .... 2S7, 2S38, 2S65, 2S98, 2S103
- Peschelová H. .... 2S94, 2S111
- Pešová M. .... 2S16, 2S77
- Petiti J. .... 2S21
- Petráček A. .... 2S16, 2S48, 2S105
- Petráček M. .... 2S111
- Petrová P. .... 2S104
- Pierson S. K. .... 2S110
- Pika T. .... 2S36, 2S101, 2S105, 2S107, 2S108
- Pilnáčková M. .... 2S129
- Pisklák B. .... 2S8
- Plevová K. .... 2S13, 2S14, 2S16, 2S29, 2S32, 2S77, 2S96
- Plichta Z. .... 2S76
- Plonková H. .... 2S41, 2S52, 2S101
- Podstavková N. .... 2S11, 2S17, 2S71
- Poláčková P. .... 2S38, 2S98, 2S103
- Polanská A. .... 2S57
- Polívka J. .... 2S66, 2S117
- Polívková V. .... 2S79
- Poloková N. .... 2S55
- Popková T. .... 2S36, 2S40, 2S41, 2S52, 2S101, 2S118
- Porc J. .... 2S14
- Porokh V. .... 2S99
- Pospíšil M. .... 2S121
- Pospíšil Z. .... 2S11, 2S12, 2S121
- Pospíšilová D. .... 2S42
- Pospíšilová J. .... 2S119, 2S123
- Pospíšilová Š. .... 2S13, 2S14, 2S16, 2S29–2S32, 2S44, 2S76,  
2S77, 2S81–2S83, 2S90, 2S92, 2S95, 2S111
- Poul H. .... 2S30, 2S51
- Pour L. .... 2S35–2S39, 2S98–2S101, 2S103, 2S104, 2S108,  
2S112, 2S122, 2S130
- Prchlíková A. .... 2S51
- Procházka T. .... 2S71
- Procházka V. .... 2S25, 2S26, 2S86, 2S88–2S90
- Procházková J. .... 2S6, 2S8, 2S17–2S19, 2S51, 2S64,  
2S78, 2S124
- Proks V. .... 2S76
- Prošková J. .... 2S104
- Provazník D. .... 2S65
- Prudková M. .... 2S7
- Ptáček J. .... 2S26, 2S86
- Pytlík R. .... 2S25, 2S46, 2S86, 2S111
- R**
- Ráčil Z. .... 2S11–2S13, 2S15, 2S42, 2S71–2S73, 2S117
- Radocha J. .... 2S22, 2S35, 2S36, 2S52, 2S98, 2S101, 2S112,  
2S116
- Radová L. .... 2S29, 2S44, 2S96, 2S99, 2S100
- Radovská A. .... 2S65
- Raida L. .... 2S47, 2S48
- Rajchmanová E. .... 2S117
- Ramiková P. .... 2S57, 2S128
- Ransdorfová Š. .... 2S19, 2S72, 2S82, 2S110
- Reigl T. .... 2S14
- Remešová H. .... 2S13, 2S73
- Rohan V. .... 2S66
- Rohoň P. .... 2S120
- Rubešová A. .... 2S23
- Rusiňáková Z. .... 2S50
- Růžek D. .... 2S124
- Rychlá J. .... 2S111
- Rychlíčková J. .... 2S17
- Ryznerová P. .... 2S30, 2S51
- Ř**
- Řeháček V. .... 2S54
- Řezáčová V. .... 2S93
- Říha P. .... 2S46, 2S73
- Říhová L. .... 2S38, 2S39, 2S98–2S101, 2S103
- S**
- Sahinbegovic H. .... 2S40
- Saglio G. .... 2S21
- Salaj P. .... 2S68
- Sandecá V. .... 2S37, 2S39, 2S98, 2S104, 2S108, 2S122, 2S130
- Sauer ..... 2S122
- Savara J. .... 2S16, 2S105, 2S106
- Sedláček P. .... 2S46
- Sedlák F. .... 2S52
- Sejkorová I. .... 2S116
- Semerád L. .... 2S11, 2S12, 2S17–2S19, 2S71, 2S78,  
2S79, 2S112
- Sharma S. .... 2S31, 2S90
- Schellong N. .... 2S118
- Simančíková I. .... 2S34
- Skalníková M. .... 2S44
- Sklenářová L. .... 2S125
- Skořupová M. .... 2S118, 2S129
- Skotnicová A. .... 2S42
- Skoumalová A. .... 2S8
- Skoumalová I. .... 2S47, 2S80
- Sládková L. .... 2S75
- Slavík L. .... 2S6, 2S8, 2S64, 2S66, 2S120

- Slezáková K. .... 2S120  
 Smejkal P. .... 2S7  
 Smešný Trtková K. .... 2S40, 2S106  
 Smetana K. .... 2S66  
 Smíšek P. .... 2S43  
 Smital J. .... 2S125, 2S127  
 Smitalová D. .... 2S72  
 Smolej L. .... 2S22, 2S29, 2S30, 2S51, 2S86, 2S93  
 Souček O. .... 2S93, 2S116  
 Soukup J. .... 2S36  
 Soukupová Maaloufová J. .... 2S23  
 Srbová D. .... 2S21  
 Staňo Kozubík K. .... 2S44  
 Starostka D. .... 2S66  
 Starý J. .... 2S42, 2S46, 2S73  
 Stašková E. .... 2S54  
 Steinerová K. .... 2S25, 2S46, 2S71  
 Stejskal L. .... 2S17–2S20, 2S51, 2S52, 2S77, 2S80  
 Stránská K. .... 2S32  
 Straub J. .... 2S36, 2S101, 2S103  
 Strnadová B. .... 2S59  
 Stopka T. .... 2S82, 2S103  
 Studená R. .... 2S76  
 Sudová T. .... 2S125, 2S126  
 Suková M. .... 2S42, 2S43  
 Suská R. .... 2S98  
 Suttner J. .... 2S64, 2S68, 2S75, 2S76, 2S79,  
 2S83, 2S85, 2S130  
 Svatoň M. .... 2S42  
 Svobodník A. .... 2S17  
 Svobodová K. .... 2S72, 2S82, 2S103  
 Svozilová H. .... 2S76  
 Sýkorová A. .... 2S25, 2S86  
 Synáčková H. .... 2S13  
 Szeligová L. .... 2S52  
 Sotkowská R. .... 2S47  
 Sotkowski T. .... 2S9, 2S11, 2S12, 2S15, 2S47, 2S51, 2S71,  
 2S117, 2S122
- Š**  
 Šafářová M. .... 2S126  
 Šálek C. .... 2S9, 2S13, 2S46, 2S69, 2S72, 2S73  
 Šálek D. .... 2S28, 2S121  
 Šandová V. .... 2S90  
 Šašinková M. .... 2S72  
 Šeda V. .... 2S31, 2S90  
 Šestáková Š. .... 2S13  
 Ševčíková S. .... 2S35, 2S38, 2S39, 2S98–2S101, 2S103  
 Ševčíková T. .... 2S38, 2S40, 2S41, 2S101, 2S113, 2S114  
 Šianská J. .... 2S127  
 Šigutová P. .... 2S66  
 Šilhárová B. .... 2S42  
 Šimetka O. .... 2S129
- Šimíček M. .... 2S40, 2S41, 2S101  
 Šimíčková K. .... 2S65  
 Šimková A. .... 2S117  
 Šimková K. .... 2S44  
 Šimkovič M. .... 2S29, 2S30, 2S51, 2S93  
 Šimoníková M. .... 2S65  
 Šín M. .... 2S39  
 Šínová I. .... 2S39  
 Šišková M. .... 2S82  
 Škabrahová H. .... 2S30  
 Škrott Z. .... 2S34  
 Šlechtová P. .... 2S125, 2S126  
 Šmída M. .... 2S94, 2S111  
 Šmilauerová K. .... 2S111  
 Šmuhařová P. .... 2S44, 2S96  
 Šnaurová R. .... 2S40  
 Šoustková A. .... 2S129  
 Špaček M. .... 2S29, 2S30, 2S51, 2S67  
 Špička I. .... 2S35–2S37, 2S98, 2S101,  
 2S103  
 Šrámek J. .... 2S15, 2S35, 2S46, 2S71  
 Šrámková L. .... 2S46, 2S73, 2S111  
 Štaffová M. .... 2S61  
 Štach M. .... 2S111  
 Šťastná Marková M. .... 2S23, 2S47  
 Štefániková Z. .... 2S34  
 Štěpánová R. .... 2S17  
 Števková J. .... 2S112  
 Štika J. .... 2S10, 2S44  
 Štikarová J. .... 2S64, 2S68, 2S130  
 Štork M. .... 2S35, 2S38, 2S39, 2S98–2S100, 2S103, 2S104,  
 2S108, 2S122, 2S130  
 Šulcová T. .... 2S58  
 Šušol O. .... 2S52  
 Švec P. .... 2S42
- T**  
 Tan Z. .... 2S31  
 Tauš P. .... 2S16, 2S32  
 Tetucci A. .... 2S104  
 Ticháčková J. .... 2S126  
 Tichý B. .... 2S29  
 Tom N. .... 2S29  
 Tomíška M. .... 2S28, 2S48, 2S116  
 Trampotová I. .... 2S59  
 Trizuljak J. .... 2S44  
 Trka J. .... 2S42, 2S46, 2S69  
 Trlifajová N. .... 2S132  
 Trněný M. .... 2S25, 2S30, 2S66, 2S86, 2S111  
 Trsová I. .... 2S84  
 Truhlář A. .... 2S54  
 Tříletá J. .... 2S58  
 Turcsányi P. .... 2S16, 2S30, 2S51, 2S66

Tvrdá I. ....2S87, 2S129  
 Tylečková J. ....2S55

**U**

Úlehlová J. ....2S6, 2S8, 2S64, 2S66, 2S120  
 Ullrychová J. ....2S6, 2S64  
 Urbánková H. ....2S23, 2S80, 2S87–2S90, 2S107  
 Urbanová R. ....2S29, 2S30, 2S51, 2S66

**V**

Vajnerová R. ....2S21  
 Vakrmanová B. ....2S73  
 Valášková I. ....2S109  
 Valeriánová M. ....2S72, 2S110  
 Vališová M. ....2S92, 2S112  
 Válka J. ....2S51  
 Válková V. ....2S23, 2S47  
 Vaněk J. ....2S74  
 Vaníková Š. ....2S132  
 Vaňhara P. ....2S99  
 Vašíčková R. ....2S50  
 Vašíková A. ....2S44, 2S72  
 Vašínek M. ....2S105  
 Vášová V. ....2S67  
 Vatolíková M. ....2S87, 2S88, 2S90  
 Vdovin A. ....2S40  
 Veitová M. ....2S30  
 Venglář O. ....2S38, 2S113, 2S114  
 Verner J. ....2S31, 2S111  
 Veselá J. ....2S15, 2S23, 2S82, 2S84, 2S109  
 Vidláková D. ....2S82, 2S103  
 Vinohradská J. ....2S109  
 Víšek B. ....2S11, 2S22, 2S51, 2S71, 2S112, 2S116  
 Vítek A. ....2S23, 2S47  
 Vlachová M. ....2S100  
 Vodárek P. ....2S30, 2S51, 2S93  
 Vodičková M. ....2S62  
 Vodičková P. ....2S58  
 Vojákůvá E. ....2S31  
 Vojákůvá P. ....2S55  
 Vojtová L. ....2S76  
 Vokurková D. ....2S93  
 Volakhava A. ....2S13  
 Volfová P. ....2S119, 2S123  
 Vostrý M. ....2S23, 2S109  
 Votavová H. ....2S23  
 Vrábek L. ....2S68  
 Vráblová L. ....2S77, 2S80

Vrána J. ....2S41, 2S113, 2S114  
 Vraná M. ....2S114  
 Vranovský A. ....2S50  
 Vrbacký F. ....2S22, 2S50, 2S116  
 Vrzalová Z. ....2S10, 2S44  
 Všianská P. ....2S103  
 Vydra J. ....2S23, 2S46, 2S47, 2S75, 2S76,  
 2S111, 2S114  
 Vytisková S. ....2S65

**W**

Wade A. ....2S104  
 Wallenfels Alferyová L. ....2S126  
 Weinbergerová B. ....2S11, 2S12, 2S15, 2S17, 2S48,  
 2S51, 2S71, 2S72, 2S81, 2S112, 2S116,  
 2S119, 2S121, 2S123, 2S124  
 Weiser Drozdková D. ....2S40  
 Wiewiorka O. ....2S17  
 Wild A. ....2S81  
 Williams R. ....2S110

**Z**

Závacká K. ....2S29, 2S32, 2S96  
 Zavadová Ž. ....2S46  
 Zavřelová A. ....2S22, 2S112  
 Zavřelová J. ....2S7  
 Zdražilová-Dubská L. ....2S124  
 Zelená H. ....2S52  
 Zemanová Z. ....2S23, 2S72, 2S82, 2S103, 2S110  
 Zhang S. ....2S31  
 Zicha D. ....2S31  
 Zuchnická J. ....2S29, 2S30, 2S51, 2S52, 2S96, 2S129

**Ž**

Žáčková D. ....2S17–2S20, 2S77–2S80  
 Žák P. ....2S11, 2S12, 2S17, 2S20, 2S22, 2S50, 2S51,  
 2S71, 2S74, 2S93, 2S112, 2S116  
 Žaliová M. ....2S46, 2S73  
 Žárská M. ....2S100  
 Ženatová M. ....2S13, 2S16, 2S29, 2S77, 2S81–2S83,  
 2S92, 2S95  
 Žibřidová K. ....2S116  
 Židlík M. ....2S42  
 Židlík V. ....2S101  
 Židlíková V. ....2S42  
 Žihala D. ....2S38, 2S40, 2S41, 2S101, 2S113, 2S114  
 Žitníková D. ....2S52, 2S128  
 Žižková H. ....2S21

# Transfuze a hematologie *dnes*

## VEDOUcí REDAKTOR

**prof. MUDr. Edgar Faber, CSc.**

Hemato-onkologická klinika FN Olomouc  
edgar.faber@fnol.cz

## REDAKCE

### ZA SPOLEČNOST PRO TRANFUZNÍ LÉKAŘSTVÍ

**MUDr. Renata Procházková, Ph.D.**

Transfuzní oddělení, Krajská nemocnice,  
Liberec

**MUDr. Petr Turek, CSc.**

Transfuzní oddělení, Thomayerova nemocnice,  
Praha

### ZA ČESKOU HEMATOLOGICKOU SPOLEČNOST

**doc. MUDr. Jan Blatný, Ph.D.**

Oddělení dětské hematologie, FN Brno

**doc. MUDr. Ľuboš Drgoňa, CSc.**

Klinika onkohematologie, Národní  
onkologický ústav, Bratislava

**MUDr. Zdeněk Kořístek, Ph.D.**

Klinika hematooonkologie FN Ostrava

**prof. MUDr. Marta Krejčí, Ph.D.**

Interní hematologická a onkologická klinika  
FN Brno

**doc. MUDr. Daniel Lysák, Ph.D.**

Hematoonkologické oddělení, FN Plzeň

**doc. Mgr. Kateřina Machová Poláková, Ph.D.**

Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

**MUDr. Martin Šimkovič, Ph.D.**

IV. interní hematologická klinika  
FN Hradec Králové

## REDAKČNÍ RADA

### ZA SPOLEČNOST PRO TRANFUZNÍ LÉKAŘSTVÍ

**plk. MUDr. Miloš Bohoněk, Ph.D.**

Oddělení hematologie a krevní transfuze,  
ÚVN – VFN Praha

**MUDr. Dana Galuszková, Ph.D., MBA**

Transfuzní oddělení, FN Olomouc

**doc. MUDr. Zdenka Gašová, Ph.D.**

Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

**MUDr. Hana Lejdarová**

Transfuzní a tkáňové oddělení, FN Brno

**MUDr. Jiří Masopust**

Transfuzní oddělení, Krajská zdravotní a.s. –  
Masarykova nemocnice Ústí nad Labem, o.z.

**MUDr. Martin Písačka**

Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

**MUDr. Vít Řeháček**

Transfuzní oddělení, FN Hradec Králové

### ZA ČESKOU HEMATOLOGICKOU SPOLEČNOST

**prof. MUDr. Angelika Bátorová, CSc.**

Klinika hematologie a transfúziologie,  
Univerzitná nemocnica  
Bratislava

**prof. MUDr. Jaroslav Čermák, CSc.**

Ústav hematologie a krevní transfuze,  
Praha

**prof. MUDr. Tomáš Kozák, Ph.D., MBA**

Interní hematologická klinika  
FN Královské Vinohrady,  
Praha

**prof. MUDr. Jiří Mayer, CSc.**

Interní hematologická a onkologická klinika  
FN Brno

**prof. MUDr. Tomáš Papajík, CSc.**

Hemato-onkologická klinika  
FN Olomouc

**prof. MUDr. Jan Starý, CSc.**

Klinika dětské hematologie a onkologie  
FN Motol, Praha

**prof. MUDr. Marek Trněný, CSc.**

I. interní klinika – klinika hematologie  
VFN v Praze

**prof. MUDr. Pavel Žák, Ph.D.**

IV. interní hematologická klinika  
FN Hradec Králové

© Česká lékařská společnost J. E. Purkyně, Praha 2021

## Transfuze a hematologie dnes

**Vydavatel:** Česká lékařská společnost  
Jana Evangelisty Purkyně, z. s., Sokolská 31,  
120 26 Praha 2

**Nakladatel:** Care Comm s.r.o.,  
Klicperova 604/8, 150 00 Praha 5

### Vedoucí redaktor:

prof. MUDr. Edgar Faber, CSc.

### Odpovědný redaktor:

Mgr. Lucie Simonidesová

**Grafická úprava:** Karel Zlevor

### Jazyková korektura:

Bc. Eliška Škorpíková

Vychází 4x ročně.

Předplatné na rok pro ČR je 550 Kč + poštovné  
a pro SK je 26 € + poštovné

Objednávka předplatného ČR na adrese:  
předplatne@carecomm.cz

On-line verze časopisu je přístupná na adrese  
<https://www.prolekare.cz/casopisy/transfuze-hematologie-dnes>.

### Informace o podmínkách inzerce poskytuje a objednávky přijímá:

Jan Laitl, e-mail: [jan.laitl@carecomm.cz](mailto:jan.laitl@carecomm.cz),  
+420 725 778 001.

Rukopisy nahrávejte přes redakční  
systém Open Journal System na adrese  
<https://redakce.carecomm.cz/tahd/>.  
Zaslané příspěvky se nevracejí.

Vydavatel získá otištěním příspěvku výlučné  
nakladatelské právo k jeho užití.

Otištěné příspěvky autorů nejsou honorovány,  
autoři obdrží bezplatně jeden výtisk časopisu.  
Vydavatel a redakční rada upozorňují, že  
za obsah a jazykové zpracování inzerátů  
a reklam odpovídá výhradně inzerent. Žádná  
část tohoto časopisu nesmí být kopírována  
a rozmnožována za účelem dalšího rozšiřování  
v jakékoli formě či jakýmkoli způsobem, ať již  
mechanickým nebo elektronickým, včetně  
pořizování fotokopii, nahrávek, informačních  
databází na magnetických nosičích bez  
písemného souhlasu vlastníka autorských práv  
a vydavatelského oprávnění.

Toto číslo vychází 12. 9. 2021



