

PROGRAM KONFERENCE A SBORNÍK ABSTRAKTŮ



20. PRAŽSKÉ HEMATOLOGICKÉ DNY

Hematologie 2020 Post-ASH

22.–23. 1. 2020

Clarion Congress Hotel Prague
(Freyova 33, Praha 9 – Vysočany)

Pořadatel:

SPOLEK ČESKÝCH LÉKAŘŮ
V PRAZE ČLS JEP



pod záštitou:

České hematologické společnosti ČLS JEP

České společnosti pro trombózu a hemostázu ČLS JEP

ve spolupráci s:

I. interní klinikou - klinikou hematologie VFN
a 1. lékařské fakulty UK v Praze

Ústavem hematologie a krevní transfuze

Klinikou dětské hematologie a onkologie FN Motol
a 2. lékařské fakulty UK v Praze

Interní hematologickou klinikou FN Královské Vinohrady
a 3. lékařské fakulty UK v Praze



OBSAH

ÚVODNÍ SLOVO	3
VŠEOBECNÉ INFORMACE	6
SCHÉMA ODBORNÉHO PROGRAMU	12
PODROBNÝ PROGRAM KONFERENCE	14
SATELITNÍ SYMPOZIA	30
SBORNÍK ABSTRAKTŮ	35
ABECEDNÍ REJSTŘÍK AUTORŮ	152
PLÁN PROSTOR A VÝSTAVY	156
PŘEHLED SPONZORŮ A VYSTAVOVATELŮ	159

20. PRAŽSKÉ HEMATOLOGICKÉ DNY

Hematologie 2020 Post-ASH

22.–23. 1. 2020

Clarion Congress Hotel Prague
(Freyova 33, Praha 9 – Vysočany)

ÚVODNÍ SLOVO

Vážené kolegyně, vážení kolegové,

dovolujeme si vás přivítat na 20. pražských hematologických dnech – Hematologie 2020 zaměřených na současný pokrok v jednotlivých oblastech hematologie se zdůrazněním novinek z nedávného výročního sjezdu Americké hematologické společnosti (post-ASH). Snažili jsme se také vytvořit prostor pro prezentaci prací z České republiky, které uspěly v soutěži abstraktů na ASH. Oslovili jsme také ošetrovatelské týmy, neboť jejich práce je pro péči o naše pacienty zásadní. V poslední době stále více do popředí vystupuje paliativní péče v nejširším smyslu slova a tentokrát jsme se zaměřili na úlohu ošetrovatelského personálu. Již po patnácté je součástí konference Sekce mladých hematologů.

Vážení přátelé, jedná se o nový formát a naší snahou je dosáhnout co nejživější a nejvíce neformální diskuse nad všemi otázkami hematologie, které se nás a našich pacientů dotýkají. Přejeme si proto, abyste našli odpovědi na Vaše otázky, nové otázky si položili a zejména, abyste toto vše nalézali společně.

Přejeme vám krásné dva dny.

Petr Cetkovský
prezident

Marek Trněný
předseda organizačního a vědeckého výboru



POŘADATEL

SPOLEK ČESKÝCH LÉKAŘŮ V PRAZE ČLS JEP

pod záštitou:

České hematologické společnosti ČLS JEP

České společnosti pro trombózu a hemostázu ČLS JEP

ve spolupráci s:

I. interní klinikou - klinikou hematologie VFN a 1. lékařské fakulty UK v Praze

Ústavem hematologie a krevní transfuze

Klinikou dětské hematologie a onkologie FN Motol

a 2. lékařské fakulty UK v Praze

Interní hematologickou klinikou FN Královské Vinohrady a 3. lékařské fakulty UK v Praze

Prezident konference:

Petr Cetkovský

Emeritní prezident:

Pavel Klener

Předseda organizačního a vědeckého výboru:

Marek Trněný

Organizační a vědecký výbor, členové:

Jaroslav Čermák

Jan Evangelista Dyr

Ondřej Hrušák

Anna Jonášová

Pavel Klener jr.

Tomáš Kozák

Peter Salaj

Jan Starý

Tomáš Stopka

Jan Trka

Garanti ošetrovatelského programu:

Darja Hrabánková

Lucie Vylitová

Lenka Turková

Jitka Wintnerová

Garanti paliativního workshopu:

Centrum podpůrné a paliativní péče VFN

Tým dětské podpůrné a paliativní péče

FN Motol

Tým podpůrné a paliativní péče ÚHK

Kateřina Rusinová

Michal Kouba

Lucie Hrdličková

HODNOTITELÉ ABSTRAKTŮ

Jan Evangelista Dyr
Anna Jonášová
Pavel Klener jr.
Tomáš Kozák

Jan Starý
Tomáš Stopka
Jan Trka
Marek Trněný

Organizační zajištění konference

Meritis, s.r.o.

Obrovského 644
141 00 Praha 4

e-mail: phd2020@meritis.cz

tel.: 272 774 065

fax: 272 767 597

www.phd2020.cz

Alžběta Matějovská
organizace konference
tel.: 731 109 563
matejovska@meritis.cz

Dita Bílková
sponzoring, vystavovatelé
tel.: 739 571 536
bilkova@meritis.cz

Tereza Donátová
registrace, ubytování
tel.: 737 282 842
donatova@meritis.cz

VŠEOBECNÉ INFORMACE

MÍSTO KONÁNÍ KONFERENCE

20. pražské hematologické dny: Hematologie 2020 – Post-ASH

se konají v hotelu Clarion Congress Hotel Prague.

Adresa:

Freyova 33

190 00 Praha 9

www.clarioncongresshotelprague.com/cs

Čtyřhvězdičkový Clarion Congress Hotel Prague se nachází na Praze 9 ve Vysočanech, přímo na trase linky B Vysočanská. Od historického centra Prahy je vzdálen pouhých 15 minut jízdy městskou hromadnou dopravou. Hotel je výborně dostupný jak MHD, tak i automobilem, který je možné zaparkovat na hotelovém parkovišti.



REGISTRACE

Po celou dobu konference je registrace umístěna ve vstupním foyer ve 3 patře hotelu. Registrační přepážka bude otevřena v následujících časech:

Středa 22. 1. 2020	7:30 - 19:00 hodin
Čtvrtek 23. 1. 2020	8:00 - 16:00 hodin

Registrační poplatky na místě:

Lékař, VŠ	1 000 Kč
NLZP (všeobecná sestra, laborant)	600 Kč
Student, důchodce	500 Kč
Aktivní účastníci, autoři prezentující ASH abstrakty	zdarma
VIP host, člen výboru, čestný člen ČHS	zdarma

Účast na Meet the expert workshopu a ostatních workshopech je zdarma.

Veškeré platby na místě bude možné provést pouze v českých korunách.

Registrační poplatek zahrnuje:

- * vstup na odborný program během celé konference
- * kongresovou tašku s materiály, program a sborník abstraktů
- * volný vstup na výstavu firem
- * občerstvení během přestávek a obědy

CERTIFIKÁTY

Akreditovaná akce systému celoživotního vzdělávání je garantována ČLK a hodnocena kreditními body. Vzdělávací akce je pořádána dle Stavovského předpisu ČLK č. 16. NLZP obdrží certifikát s daným počtem kreditů podle vyhlášky MZČR č. 423/2004 v platném znění.

Potvrzení o účasti a certifikáty ČLK budou vydávány u registrace po skončení odborného programu.

STRAVOVÁNÍ

Přestávky na kávu, lehké občerstvení - foyer konferenčních sálů, prostor firemních expozic.

Obědy – hotelová restaurace Veduta (2. patro) / sál Meridian (3. kongresové patro)

Obědy budou vydávány v těchto časech:

středa 22. 1. 2020 od 12:30 – 14:00 hodin

(restaurace Veduta, 2. patro) - formou teplého buffetu

čtvrtek 23. 1. 2020 od 13:00 – 14:00 hodin

(sál Meridian) - formou obědových balíčků

JMENOVKY

Každý účastník konference včetně vystavovatelů obdrží při registraci jmenovku, která ho opravňuje ke vstupu do daných prostor.

Barvy jmenovek:

Červená	Modrá	Žlutá	Hnědá	Fialová
lékař, VŠ	NLZP (všeobecná sestra, laborant)	VIP, čestní členové, hosté kongresu	vystavovatelé	organizační tým

Bez jmenovky nebude vstup povolen – při ztrátě bude vystavena kopie jmenovky proti úhradě 300 Kč.

DOPRAVA

Clarion Congress Hotel je snadno dostupný linkou B metra (žlutá linka) do **stanice Vysočanská**.

Bližší informace o dopravě v Praze najdete na www.dpp.cz

PARKOVÁNÍ

Parkování není zahrnuto v registračním poplatku a náklady na něj si hradí každý účastník sám. Nákupní galerie Fenix disponuje 600 místy. Parkování zdarma: 3 hodiny během týdne a 5 hodin o víkendu.

K parkování je možné využít hotelové garáže v -3. patře hotelu. Bližší informace na lobby baru Tempus (3. Kongresové patro), vedle sálu Meridian.

INFORMACE K AKTIVNÍ ÚČASTI

Jednací jazyk

Jednacím jazykem konference je čeština, slovenština a angličtina (bez simultánního překladu).

Informace pro přednášející

Přednášky prezentované přes PC (dataprojektor) je nezbytné předat na USB flash. Přednášky můžete předávat technikům ve vašem přednáškovém sále **od středy 22. 1. 2020 od 8:00 hodin, nejpozději 60 minut před zahájením programu vašeho přednáškového bloku**, jinak nemůžeme garantovat bezproblémový průběh Vaší prezentace.

Média si, prosím, vyzvedněte po ukončení vašeho programového bloku.

POSTERY

Postery budou umístěny na panelech o rozměru **180 cm (šířka) × 120 cm (výška)**, **v sále Meridian (3. patro)**.

Posterové tabule budou označeny čísly, které odpovídají posterové části programu (P01 – P31).

Postery budou vystaveny od 22. 1. 2020 do 23. 1. 2020 po dobu konání konference.

Instalace posterů: středa 22. 1. 2020 od 8:00 do 11:00 hod.

Deinstalace posterů: čtvrtek 23. 1. 2020 po 16:00 hod.

Pomůcky k instalaci budou k dispozici v prostoru posterové sekce.

V rámci posterové sekce nebude organizována řízená diskuse.

Program bude probíhat formou **volné diskuse u posterů**.

Žádáme autory, aby byli přítomni u svého posteru ve středu 22. 1. 2020 od 17:15 do 18:15 hodin (sál Meridian).

SBORNÍK ABSTRAKTŮ

Sborník neprošel jazykovou úpravou.

Autoři odpovídají za obsahovou i formální stránku svého příspěvku.

SPOLEČENSKÝ PROGRAM

Středa 22. ledna 2020

20:00 **Společenský večer v rytmu swingu**

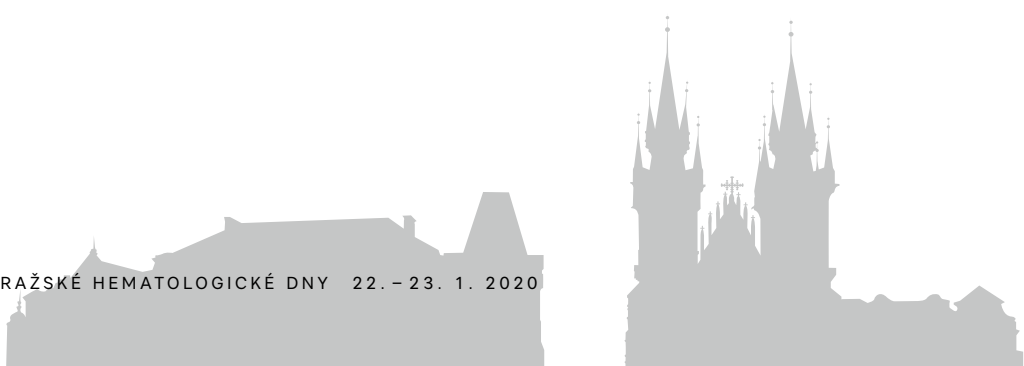
Místo konání: **Česká národní banka**
(Senovážné náměstí 866/30, 110 00 Praha 1)

Cena vstupenky 480 Kč na osobu. Vstupenky k zakoupení u registrace.

Veškeré náklady na konání společenského večera budou hrazeny výhradně z prostředků získaných prodejem vstupenek na tuto akci, nikoli ze sponzorství partnerů konference.

Doprava do místa konání nebude organizována. Z hotelu Clarion se do České národní banky dostanete rychle a pohodlně metrem trasy B. Upozorňujeme, že hlavní vstup do reprezentačních prostor ČNB je ze Senovážného náměstí.

 Vysočanská →  Náměstí Republiky



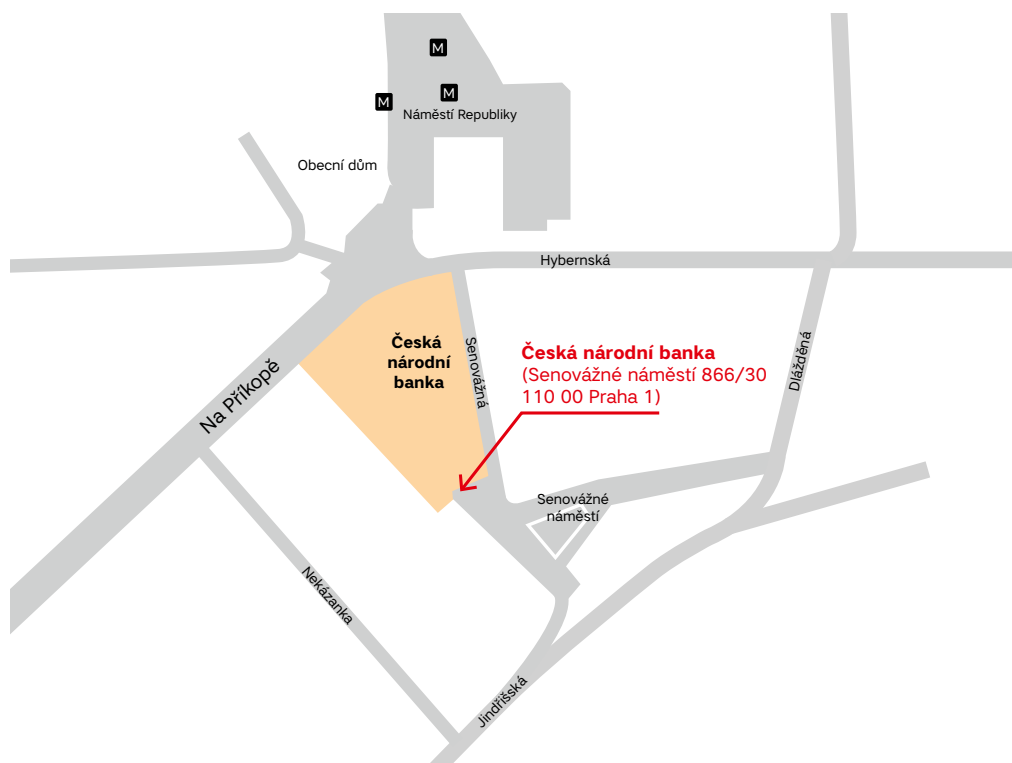


SCHÉMA ODBORNÉHO PROGRAMU

středa 22.1. 2020

	sál ZENIT - Lékařský program	sál NADIR - Ošetrovatelský program
07:00	07:30 - 19:00 Registrace	
08:00		
09:00	8:45 - 9:45 (salónek Quadrant) Meet the expert workshop - Minimální reziduální nemoc	
10:00	10:00 - 10:45 Satelitní sympozium Gilead Sciences	10:00 - 10:45 Satelitní sympozium BMS & Celgene
	10:45 - 11:05 Přestávka	
11:00	11:05 - 12:25 State of Art - Post-ASH 1	11:05 - 12:25 Bezpečná péče v hematologii I.
12:00		
	12:30 - 14:00 Oběd	
13:00	13:00-13:45 Satelitní sympozium Janssen-Cilag	13:00-13:45 Satelitní sympozium Novartis
14:00	14:00 - 15:30 SLAVNOSTNÍ ZAHÁJENÍ	
15:00	15:30 - 15:45 Přestávka	
16:00	15:45 - 17:15 Přednášková sdělení	15:45 - 17:15 Bezpečná péče v hematologii II.
17:00	17:15 - 18:15 Posterová sekce (sál Meridian)	
18:00		
19:00		
20:00	Společenský večer (Česká národní banka)	

čtvrtek 23. 1. 2020

	sál ZENIT - Lékařský program	sál NADIR - Ošetrovatelský program
07:00		
08:00	08:00 - 16:00 Registrace	
09:00	8:45 - 9:30 Satelitní sympozium ROCHE	8:45 - 9:30 Satelitní sympozium sanofi-aventis
10:00	9:40 - 11:00 State of Art - Post-ASH 2	9:40 - 11:00 Paliativní péče I. Konzilium paliativního týmu
11:00	11:00 - 11:20 Přestávka	
12:00	11:20 - 12:50 Přednášková sdělení <i>Oceněná sdělení mladých hematologů</i>	11:20 - 12:50 Paliativní péče II. Sdělování nepříznivé zprávy
13:00	13:00 - 14:00 Satelitní sympozium AbbVie	13:00 - 14:00 Oběd
14:00		13:30 - 14:00 Satelitní sympozium Gedeon Richter
15:00	14:15 - 15:35 State of Art - Post-ASH 3	14:15 - 15:35 Paliativní péče III. Specifika paliativní péče v hematologii
16:00	15:40 Zakončení konference	

Legenda:

Edukační program (Přednášky E01 - E12)	Přednášková sdělení (Přednášky O01 - O12)	Ošetrovatelský program	Satelitní sympozia
---	--	---------------------------	--------------------

PODROBNÝ
PROGRAM
KONFERENCE



SALONEK QUADRANT

8:45–9:45

Meet the expert workshop – Minimální reziduální nemoc

Froňková E. (Praha), Hrušák O. (Praha), Klener P. jr. (Praha)

Ve workshopu budou diskutovány výhody a nevýhody jednotlivých metod pro stanovování minimální reziduální nemoci včetně nových postupů a klinické interpretace výsledků.

SÁL ZENIT

11:05–12:25

Edukační program: State of Art – Post-ASH 1

Předsedající: Faber E. (Olomouc), Vydra J. (Praha), Zuna J. (Praha)

E01 11:05 – 11:25

AKUTNÍ MYELOBLASTOVÁ LEUKÉMIE

Žák P. (Hradec Králové)

E02 11:25 – 11:45

CHRONICKÁ MYELOIDNÍ LEUKÉMIE

Mayer J. (Brno)

E03 11:45 – 12:05

AKUTNÍ LYMFOBLASTOVÁ LEUKÉMIE

Trka J. (Praha)

E04 12:05 – 12:25

TRANSPLANTACE KRVETVORNÝCH BUNĚK

Jindra P. (Plzeň)

12:30–14:00 Oběd (hotelová restaurace Veduta, 2. patro)

14:00–15:30

Slavnostní zahájení konference

Předsednictvo: Cetkovský P. (Praha), Dyr J.E. (Praha), Mayer J. (Brno), Kozák T. (Praha), Kvasnička J. (Praha), Starý J. (Praha), Trněný M. (Praha), Hrabánková D. (Praha)

14:00 – 14:15

ZAHÁJENÍ KONFERENCE

14:15 – 14:45

NEUWIRTOVA PŘEDNÁŠKA:

DYSPLASTIC JOURNEY

G. MUFTI (LONDON, UK)

14:45–15:15

HEŘMANSKÉHO PŘEDNÁŠKA:

NOVEL INSIGHTS INTO THE MOLECULAR PATHOGENESIS OF AGGRESSIVE LYMPHOMA SUBTYPES AND THEIR CLINICAL IMPLICATIONS

G. LENZ (MÜNSTER, GERMANY)

15:30–15:45 Přestávka

15:45–17:15

Přednášková sdělení

Předsedající: O. Hrušák (Praha), T. Stopka (Praha), M. Šimíček (Ostrava)

O01 15:45 – 16:00

PLATELET DESIALYLATION AS A PREDICTIVE MARKER IN CHILDHOOD IMMUNE THROMBOCYTOPENIA (ITP)

Volejníková J. (Olomouc) a spol.

O02 16:00 – 16:15

DEEP IMMUNOPROFILING BY FLOW CYTOMETRY AND NGS REVEALS DISTINCT T CELL PROFILE IN PEDIATRIC HEPATITIS-ASSOCIATED APLASTIC ANEMIA

Nováková M. (Praha) a spol.

O03 16:15 – 16:30

RANDOMIZED OPEN-LABELED ACADEMIC TRIAL COMPARING STANDARD AZA THERAPY WITH COMBINATION OF G-CSF WITH AZA IN HIGH RISK MDS PATIENTS – INTERIM ANALYSIS

Jonášová A. (Praha) a spol.

004 16:30 – 16:45

CHARACTERIZATION OF A NOVEL JAK1 PSEUDOKINASE MUTATION IN THE FIRST CASE OF TRISOMY 21-INDEPENDENT GATA1-MUTATED TRANSIENT ABNORMAL MYELOPOIESIS

Lukeš jr. J. (Praha) a spol.

005 16:45 – 17:00

GENOTYPES OF THE GENE ENCODING THE MEMBRANE TRANSPORTER SLC22A4 ARE ASSOCIATED WITH MOLECULAR RELAPSE-FREE SURVIVAL AFTER DISCONTINUATION OF IMATINIB THERAPY IN PATIENTS WITH CHRONIC MYELOID LEUKEMIA

Machová Poláková K. (Praha) a spol.

006 17:00 – 17:15

CHARACTERIZATION OF PATHOGENIC VARIANTS ASSOCIATED WITH HEREDITARY THROMBOCYTOPENIAS IN FAMILIES FROM THE CZECH REPUBLIC

Doubek M. (Brno) a spol.

17:15–18:15 Posterová sekce (sál Meridian)

POSTEROVÁ SEKCE

- **Diskuse u posterů: středa 22. 1. 2020 od 17:15 do 18:15 hod., sál Meridian**
- Postery budou vystaveny po celou dobu konání konference.

LYMFOIDNÍ NÁDORY (POSTERY P01 – P10)

P01

→ PŘEDNÁŠKA Č. 008

HIGH TP53 MUTATION LOAD PREDICTS PRIMARY REFRACTORY MANTLE CELL LYMPHOMA

Obr A. (Olomouc) a spol.

P02

→ PŘEDNÁŠKA Č. 007

ANALYSIS MUTATIONAL LANDSCAPE IN SYSTEMIC ANAPLASTIC LARGE CELL LYMPHOMA IDENTIFIES NOVEL PROGNOSTIC MARKERS

Lobello C. (Brno) a spol.

P03

→ PŘEDNÁŠKA Č. 012

OVERALL SURVIVAL BENEFIT OF IXAZOMIB, LENALIDOMIDE AND DEXAMETHASONE (IRD) OVER LENALIDOMIDE AND DEXAMETHASONE (RD)

Minařík J. (Olomouc) a spol.

P04

→ PŘEDNÁŠKA Č. 010

SEPARATE ROLES OF ASPARAGINE AND GLUTAMINE IN CYTOSTATIC EFFECT OF L-ASPARAGINASE - STABLE ISOTOPE TRACING APPROACH

Hložková K. (Praha) a spol.

P05

→ PŘEDNÁŠKA Č. 002

DEEP IMMUNOPROFILING BY FLOW CYTOMETRY AND NGS REVEALS DISTINCT T CELL PROFILE IN PEDIATRIC HEPATITIS-ASSOCIATED APLASTIC ANEMIA

Nováková M. (Praha) a spol.

P06

EARLY FOLLICULAR LYMPHOMA PROGRESSION IN PATIENTS TREATED WITH FRONTLINE IMMUNOCHEMOTHERAPY WITH/WITHOUT RITUXIMAB MAINTENANCE: CLINICALLY MEANINGFUL EVEN IN CHEMOSENSITIVE INDIVIDUALS

Procházka V. (Olomouc) a spol.

P07

TOWARDS HIGHER SAFETY OF HAEMATO-ONCOLOGICAL PATIENTS UNDERGOING TREATMENT

Popkova T. (Ostrava) a spol.

P08

DYNAMIKA VÝVOJE MUTACÍ TP53 U PACIENTŮ S CHRONICKOU LYMFOCYTÁRNÍ LEUKEMIÍ BĚHEM LÉČBY BCR INHIBITORY

Vonková B. (Brno) a spol.

P09

LYNX (LYMPHOID NGS): KOMPLEXNÍ NGS PANEL PRO ANALÝZU PROGNOSTICKÝCH A PREDIKTIVNÍCH MARKERŮ B-BUNĚČNÝCH LYMFOPROLIFERACÍ

Navrkalová V. (Brno) a spol.

P10

MOŽNOSTI UŽITÍ PROTONOVÉ RADIOTERAPIE V LÉČBĚ HEMATOLOGICKÝCH MALIGNIT

Dědečková K. (Praha) a spol.

MYELOIDNÍ NÁDORY (POSTERY P11 – P28)

P11

→ PŘEDNÁŠKA 003

RANDOMIZED OPEN-LABELED ACADEMIC TRIAL COMPARING STANDARD AZA THERAPY WITH COMBINATION OF G-CSF WITH AZA IN HIGH RISK MDS PATIENTS – INTERIM ANALYSIS

Jonášová A. (Praha) a spol.

P12

→ PŘEDNÁŠKA 005

GENOTYPES OF THE GENE ENCODING THE MEMBRANE TRANSPORTER SLC22A4 ARE ASSOCIATED WITH MOLECULAR RELAPSE-FREE SURVIVAL AFTER DISCONTINUATION OF IMATINIB THERAPY IN PATIENTS WITH CHRONIC MYELOID LEUKEMIA

Machová Poláková K. (Praha) a spol.

P13

→ PŘEDNÁŠKA 004

CHARACTERIZATION OF A NOVEL JAK1 PSEUDOKINASE MUTATION IN THE FIRST CASE OF TRISOMY 21-INDEPENDENT GATA1-MUTATED TRANSIENT ABNORMAL MYELOPOIESIS

Lukeš Jr. J. (Praha) a spol.

P14

ABERRANTLY ELEVATED SUPRABASIN IN THE BONE MARROW AS A CANDIDATE BIOMARKER OF ADVANCED DISEASE STATE IN MYELODYSPLASTIC SYNDROME

Příbyl M. (Praha) a spol.

P15

GENOMICKÁ ANALÝZA BCR-ABL1 POSKYTUJE STRATIFIKAČNÍ MODEL "SEMAFORU" S MOŽNÝM UPLATNĚNÍM PRO PŘEDPOVĚĎ PŘEŽITÍ BEZ LÉČBY U PACIENTŮ S CHRONICKOU MYELOIDNÍ LEUKÉMIÍ

Motlová E. (Praha) a spol.

P16

RUNX1 MUTATION ACCOMPANIED WITH DYSREGULATED CELLULAR SENESCENCE IN LOWER-RISK MYELODYSPLASTIC SYNDROME PATIENTS IS ASSOCIATED WITH DISEASE PROGRESSION

Hrubá M. (Praha) a spol.

P17

THE INSPIRE STUDY IN HIGHER-RISK MYELODYSPLASTIC SYNDROME (HR-MDS): A NOVEL PHASE 3 STUDY ADAPTIVE DESIGN FOR HEMATOLOGICAL MALIGNANCIES IN ADULTS

Jonášová A. (Praha) a spol.

P18

A COMPARISON OF TWO STANDARDIZED QUANTITATIVE RT-PCRs WITH CE IVD KIT FOR DIGITAL PCR IN CML PATIENTS WITH DIFFERENT LEVEL OF BCR-ABL1 TRANSCRIPTS

Folta A. (Brno) a spol.

P19

MULTICOLOR IMMUNO-PHENOTYPING OF CANDIDATE LEUKEMIC STEM CELL MARKERS IN CD34+CD38- CHRONIC MYELOID LEUKEMIA STEM CELLS

Čulen M. (Brno) a spol.

P20

KOMPLEXNÍ ANALÝZA PROGNOSTICKY RELEVANTNÍCH ZMĚN V METYLACI DNA U PACIENTŮ S AKUTNÍ MYELOIDNÍ LEUKÉMIÍ POMOCÍ DNA METYLAČNÍHO SEKVENAČNÍHO PANELU

Šestáková Š. (Praha) a spol.

P21

CIRCULATING SMALL NONCODING RNAs AS NOVEL SEMI-INVASIVE MARKERS OF PATIENT SURVIVAL IN MYELOYDYSPLASTIC SYNDROMES

Hruštinová A. (Praha) a spol.

P22

MUTACE ZODPOVĚDNÉ ZA REZISTENCI BUNĚK CHRONICKÉ MYELOIDNÍ LEUKÉMIE NA LÉČBU JSOU ZÍSKÁVÁNY DE NOVO BĚHEM PŮSOBNÍ IMATINIBU PŘI AKTIVACI CHYBUJÍCÍ ALT-NHEJ DRÁHY

Čuřík N. (Praha) a spol.

P23

PONATINIB TREATMENT IN CML AND Ph+ ALL PATIENTS: REAL-LIFE DATA FROM THE CZECH REGISTRIES

Bělohávková P. (Hradec Králové) a spol.

P24

SPOLEHLIVÉ HODNOCENÍ „LOW-LEVEL“ MUTACÍ V KINÁZOVÉ DOMÉNĚ BCR-ABL1 V OBDOBÍ NESTABILNÍ VELKÉ MOLEKULÁRNÍ ODPOVĚDI NA LÉČBU U PACIENTŮ S CHRONICKOU MYELOIDNÍ LEUKÉMIÍ

Benešová A. (Praha) a spol.

P25

**SOUVISÍ HORŠÍ PRŮBĚH CML U MLADÉ „AYA“ GENERACE PACIENTŮ
S MUTACEMI V GENECH DŮLEŽITÝCH PRO MYELOIDNÍ VYZRÁVÁNÍ BUNĚK?**

Koblihová J. (Praha) a spol.

P26

**VÝSLEDKY LÉČBY AML ZRELABOVANÝCH PO ALLOGENNÍ TRANSPLANTACI,
ZKUŠENOSTI ÚHKT**

Marková M. (Praha) a spol.

P27

**ARSENIC TRIOXIDE UPREGULATES CEREBLON mRNA EXPRESSION
AND POTENTIATES SENSITIVITY OF SKM-1 AND MDS-L CELLS TO LENALIDOMIDE**

Fuchs O. (Praha) a spol.

P28

**β -CATENIN-TCF/LEF SIGNALING PROMOTES STEADY-STATE AND EMERGENCY
GRANULOPOIESIS THROUGH G-CSF RECEPTOR UPREGULATION**

Daněk P. (Praha) a spol.

NENÁDOROVÁ HEMATOLOGIE (POSTERY P29 – P31)

P29

→ PŘEDNÁŠKA 006

**CHARACTERIZATION OF PATHOGENIC VARIANTS ASSOCIATED WITH
HEREDITARY THROMBOCYTOPENIAS IN FAMILIES FROM THE CZECH REPUBLIC**

Doubek M. (Brno) a spol.

P30

FUNCTIONAL TESTING OF GENE VARIANTS IN INHERITED THROMBOCYTOPENIAS

Skalníková M. (Brno) a spol.

P31

OPTIMÁLNÍ VÝBĚR JEDNOTEK PRO MĚŘENÍ D-DIMERŮ V PLAZMĚ

Mašková V. (Praha) a spol.

SÁL ZENIT

09:40–11:00

Edukační program: State of Art – Post-ASH 2

Předsedající: Klener P. jr. (Praha), Maisnar V. (Hradec Králové), Mráz M. (Brno)

E05 09:40 – 10:05

NON-HODGKINOVY LYMFOMY

Trněný M. (Praha)

E06 10:05 – 10:20

HODGKINŮV LYMFOM

Procházka V. (Olomouc)

E07 10:20 – 10:40

CHRONICKÁ LYMFOCYTÁRNÍ LEUKÉMIE

Doubek M. (Brno)

E08 10:40 – 11:00

MNOHOČETNÝ MYELOM

Hájek R. (Ostrava)

11:00–11:20 Přestávka na kávu

11:20–12:50

Přednášková sdělení

Předsedající: Cetkovský P. (Praha), Janíková A. (Brno), Papajík T. (Olomouc)

OCENĚNÁ SDĚLENÍ MLADÝCH HEMATOLOGŮ

O07 11:20 – 11:35

ANALYSIS MUTATIONAL LANDSCAPE IN SYSTEMIC ANAPLASTIC LARGE CELL LYMPHOMA IDENTIFIES NOVEL PROGNOSTIC MARKERS

Lobello C. (Brno) a spol.

OCENĚNÁ SDĚLENÍ MLADÝCH HEMATOLOGŮ

O08 11:35 – 11:50

HIGH TP53 MUTATION LOAD PREDICTS PRIMARY REFRACTORY MANTLE CELL LYMPHOMA

Obr A. (Olomouc) a spol.

O09 11:50 – 12:05

SUBGROUP ANALYSES OF ELDERLY PATIENTS AGED ≥ 70 YEARS IN AUGMENT: A PHASE III RANDOMIZED STUDY OF LENALIDOMIDE PLUS RITUXIMAB (R²) VS RITUXIMAB PLUS PLACEBO (R-PLACEBO) IN PATIENTS WITH RELAPSED/REFRACTORY (R/R) INDOLENT NON-HODGKIN LYMPHOMA (iNHL)

Trněný M. (Praha) a spol.

O10 12:05 – 12:20

SEPARATE ROLES OF ASPARAGINE AND GLUTAMINE IN CYTOSTATIC EFFECT OF L-ASPARAGINASE - STABLE ISOTOPE TRACING APPROACH

Hložková K. (Praha) a spol.

O11 12:20 – 12:35

AN EXPLORATORY ANALYSIS OF BRENTUXIMAB VEDOTIN PLUS CHP (A+CHP) IN THE FRONTLINE TREATMENT OF PATIENTS WITH CD30+ PERIPHERAL T-CELL LYMPHOMAS (ECHELON-2): IMPACT OF CONSOLIDATIVE STEM CELL TRANSPLANT

Trněný M. (Praha) a spol.

O12 12:35 – 12:50

OVERALL SURVIVAL BENEFIT OF IXAZOMIB, LENALIDOMIDE AND DEXAMETHASONE (IRD) OVER LENALIDOMIDE AND DEXAMETHASONE (RD)

Minařík J. (Olomouc) a spol.

13:00–14:00 Oběd (sál Meridian, 3. patro)

14:15–15:35

Edukační program: State of Art – Post-ASH 3

Předsedající: Dyr J.E. (Praha), Pospíšilová D. (Olomouc), Zemanová Z. (Praha)

E09 14:15 – 14:35

MYELOYDYSPLASTICKÝ SYNDROM

Jonášová A. (Praha)

E10 14:35 – 14:55

ANÉMIE

Čermák J. (Praha)

E11 14:55 – 15:15

KOAGULACE A HEMOSTÁZA

Salaj P. (Praha)

E12 15:15 – 15:35

IMUNITNÍ TROMBOCYTOPENIE

Kozák T. (Praha)

15:40 ZAKONČENÍ KONFERENCE

Save the date!

Srdečně vás zveme na

21. pražské hematologické dny - HEMATOLOGIE 2021 - Post-ASH

28. – 29. 1. 2021

OŠETŘOVATELSKÝ PROGRAM

SÁL NADIR

11:05–12:25

Ošetřovatelský program – Bezpečná péče v hematologii I.

Předsedající: Hrabánková D. (Praha), Vylitová L. (Praha)

S01

ASPEKTY KVALITY V HEMATOONKOLOGII

Mlatečková L. (Praha)

S02

ZÁSADY BEZPEČNÉHO PODÁVÁNÍ KREVNÍCH PŘÍPRAVKŮ U HEMATOLOGICKÝCH PACIENTŮ

Bičkošová M. (Praha) a spol.

S03

JE OCHRANA PERSONÁLU PŘI PODÁVÁNÍ CYTOSTATIK DOSTATEČNĚ BEZPEČNÁ?

Straková K. (Praha) a spol.

S04

BEZPEČNÁ OŠETŘOVATELSKÁ PÉČE O PACIENTA LÉČENÉHO CAR – T BUŇKAMI

Vydrželová E. (Brno) a spol.

S05

PROŽILY JSME MIMOŘÁDNOU UDÁLOST - CO NÁM DALA, CO NÁM VZALA?

Svobodová K. (Praha) a spol.

12:30–14:00 Oběd (hotelová restaurace Veduta, 2. patro)

14:00–15:30

Slavnostní zahájení (sál Zenit)

15:30–15:45 Přestávka

15:45–17:15

Ošetrovatelský program – Bezpečná péče v hematologii II.

Předsedající: Turková L. (Praha), Wintnerová J. (Praha)

S06

BEZPEČNOST PACIENTŮ V KLINICKÉM ZKOUŠENÍ POHLEDEM STUDIJNÍ SESTRY

Kajaba V. (Olomouc)

S07

BEZPEČNÁ PÉČE O DLOUHODOBÉ CENTRÁLNÍ ŽILNÍ KATÉTRY U DĚTÍ PO TRANSPLANTACI KRVETVORNÝCH BUNĚK V DOMÁCÍM PROSTŘEDÍ

Čepeláková V. (Praha) a spol.

S08

NAŠE ZKUŠENOSTI S PICC U PACIENTŮ PODSTUPUJÍCÍCH TRANSPLANTACI KRVETVORNÝCH BUNĚK

Marxová M. (Plzeň) a spol.

S09

SPECIFIKA PSYCHICKÉ ZÁTĚŽE SESTER NA HEMATOONKOLOGII

Koňářík M. (Ostrava)

SÁL NADIR

09:40–11:00

Paliativní péče I. - Konzilium nemocničního paliativního týmu a dokumentace - interaktivní workshop

Rusinová K. (Praha), Láťová M. (Praha)

NEMOCNIČNÍ PALIATIVNÍ PÉČE - ODLÍŠNOSTI MEZI LAICKOU PŘEDSTAVOU A MEDICÍNSKÝMI DATY. PRAKTICKÁ DEMONSTRACE KONZILIA PALIATIVNÍHO TÝMU. ZÁPIS V DOKUMENTACI A ÚLOHA SESTRY V TÝMU.

11:00–11:20 Přestávka

11:20–12:50

Paliativní péče II. - Sdělování nepříznivé zprávy - interaktivní workshop

Hrdličková L. (Praha)

DOPORUČENÉ POSTUPY PRO SDĚLOVÁNÍ ZÁVAŽNÉ ZPRÁVY A GUIDELINES PRO PRÁCI S EMOCEMI, KTERÉ SITUACE PŘI SDĚLOVÁNÍ NEPŘÍZNIVÉ ZPRÁVY OBVYKLE DOPROVÁZÍ.

13:00–14:00 Oběd (sál Meridian, 3. patro)

14:15–15:35

Paliativní péče III. – Paliativní péče v hematologii - edukační seminář

Kouba M. (Praha), Klejnová M. (Praha)

KOMUNIKACE PRIMÁRNÍHO HEMATOLOGICKÉHO A PALIATIVNÍHO TÝMU, KOMUNIKACE S PACIENTEM A PŘÍBUZNÝMI. SPECIFICKÉ ASPEKTY PÉČE NA KONCI ŽIVOTA V HEMATOLOGII.

15:40 Zakončení konference

**Save the date! Srdečně vás zveme na 21. pražské hematologické dny
- HEMATOLOGIE 2021 - Post-ASH 28. – 29. 1. 2021**

SATELITNÍ SYMPOZIA

STŘEDA 22. 1. 2020



GILEAD

Advancing Therapeutics.
Improving Lives.

10:00-10:45 SÁL ZENIT

LÉČBA 1. PACIENTA PŘÍPRAVKEM YESCARTA (CAR-T) V ČESKÉ REPUBLICCE

**LÉČBA PRVNÍHO PACIENTA
PŘÍPRAVKEM YESCARTA
V ČESKÉ REPUBLICCE**

MUDr. František Folber, Ph.D.

**SOUČASNÁ LÉČBA DLBCL
V ČESKÉ REPUBLICCE**

Doc. MUDr. Andrea Janíková, Ph.D.

STŘEDA 22. 1. 2020



Bristol-Myers Squibb



A Bristol-Myers Squibb Company

10:00-10:45 SÁL NADIR

NOVINKY V PORTFOLIU BMS & CELGENE

**ELOTUZUMAB PLUS
POMALIDOMIDE/DEXAMETHASONE
(EPd) – NOVÁ IMUNOTERAPEUTICKÁ
KOMBINACE PRO LÉČBU
RELABUJÍCÍHO/REFRAKTERNÍHO
MNOHOČETNÉHO MYELOMU**

Prof. MUDr. Ivan Špička, CSc.

**R² PRO PACIENTY S RELABUJÍCÍM
FOLIKULÁRNÍM LYMFOMEM**

Prof. MUDr. Marek Trněný, CSc.

SHRNUTÍ A DISKUZE

Prof. MUDr. Marek Trněný, CSc.

STŘEDA 22. 1. 2020



13:00-13:45 SÁL ZENIT

TAKE CONTROL

Panelová diskuse na téma:

**JAK LÉČIT CLL V ÉŘE ROZVOJE
CÍLENÉ TERAPIE?**

Moderují:

Prof. MUDr. Michael Doubek, Ph.D.

Doc. MUDr. Lukáš Smolej, Ph.D.

STŘEDA 22. 1. 2020



13:00-13:45 SÁL NADIR

MŮŽEME POSKYTNOUT LEPŠÍ PÉČI NAŠIM PACIENTŮM?

**POSTAVENÍ AGONISTŮ
TROMBOPOETINOVÉHO RECEPTORU
V LÉČBĚ ITP VE SVĚTLE NOVÝCH
DOPORUČENÍ**

MUDr. Eva Konířová
(VFN Praha)

**RYDAPT JAKO NOVÝ STANDARD
V LÉČBĚ PACIENTŮ S FLT3+ AML?
PRVNÍ KLINICKÉ ZKUŠENOSTI
Z NAŠEHO PRACOVISTĚ**

MUDr. Jan Válka, Ph.D.
MUDr. Petr Soukup, MHA
(ÚHKT Praha)

CO PŘINESE LÉČBA POMOCÍ CAR-T?

MUDr. Jan Vydra
(ÚHKT Praha)



8:45-9:30 SÁL ZENIT

VYHLÍDKY PACIENTŮ S R/R DLBCL - LÉČBA MÍSTO PALIACE

8:45 - 9:15

EXISTUJE NADĚJE PRO PACIENTA S RELABUJÍCÍM/REFRAKTERNÍM DLBCL?

Prof. MUDr. Marek Trněný, CSc.
(I. interní klinika – klinika hematologie,
VFN Praha)

9:15 - 9:30

PRAKTICKÝ POHLED NA VYUŽITÍ NOVÝCH LÉČEBNÝCH MODALIT V LÉČBĚ R/R DLBCL PACIENTŮ

MUDr. David Belada, Ph.D.
(IV. interní hematologická klinika,
FN Hradec Králové)



8:45-9:30 SÁL NADIR

Předsedající:

Prof. MUDr. Vladimír Maisnar, Ph.D., MBA
Doc. MUDr. Tomáš Kvasnička, CSc.
MUDr. Jaromír Gumulec

JAK DÁVKOVAT ENOXAPARIN U VELMI OBÉZNÍCH PACIENTŮ?

Doc. MUDr. Tomáš Kvasnička, CSc.
(Trombotické centrum, VFN Praha)

GAUCHEROVA NEMOC A MONOKLONÁLNÍ GAMAPATIE

Prof. MUDr. Vladimír Maisnar, Ph.D., MBA
(4. interní hematologická klinika,
FN Hradec Králové)

STANDARDNÍ A NOVÉ MOŽNOSTI PÉČE O PACIENTY S TROMBOTICKOU TROMBOCYTOPENICKOU PURPUROU

MUDr. Jaromír Gumulec
(Klinika hematoonkologie, FN Ostrava)

abbvie

13:00-14:00 SÁL ZENIT

Satelitní sympozium s pohoštěním

**VENCLYXTO™
NOVÁ NADĚJE PRO
PACIENTY S RELABUJÍCÍ
CHRONICKOU
LYMFOCYTÁRNÍ LEUKEMIÍ**

**NOVINKY V LÉČBĚ RELABUJÍCÍ /
REFRAKTERNÍ CLL**

Doc. MUDr. Lukáš Smolej, Ph.D.

**POSTAVENÍ VENETOKLAXU V LÉČBĚ
CLL – VLIV MRD A PRAKTICKÉ
ZKUŠENOSTI**

Prim. MUDr. Martin Špaček, Ph.D.

**KONCEPT FIXNÍ DÉLKY LÉČBY
VENETOKLAXEM**

Prof. MUDr. Marek Trněný, CSc.

 GEDEON RICHTER

13:30-14:00 SÁL NADIR

**GLOBIFER FORTE V TERAPII
SIDEROPENIE A ANEMIE
U PACIENTŮ
S IDIOPATICKÝMI
STŘEVNÍMI ZÁNĚTY**

Prof. MUDr. Milan Lukáš, CSc.

MUDr. Martin Vašátko

(Klinické a výzkumné centrum pro střevní
záněty ISCare I.V.F., Praha)

**SBORNÍK
ABSTRAKTŮ**



EDUKAČNÍ PROGRAM

(Abstrakty E01 – E12)

E 01**NOVÉ LÉKY V TERAPII AKUTNÍ MYELOIDNÍ LEUKÉMIE – POST ASH 2019**

Žák P.

IV. interní hematologická klinika, FN Hradec Králové a LF Hradec Králové UK Praha

Akutní myeloidní leukémie (AML) je velmi heterogenní onemocnění, které je charakterizováno specifickými genetickými, epigenetickými a metabolickými abnormalitami. Nové znalosti biologické povahy AML a především možnost jejich rychlého určení přispělo k rozvoji cílené terapie. Na schématu č.1. je uveden optimální diagnostický přístup vedoucí k důkladnému vyšetření leukemického klonu. Tyto informace otevřely pole pro vývoj a použití cílené terapie. V posledních 5 letech byla ověřena vysoká účinnost přípravků ze skupiny tzv „malých molekul“ jak v monoterapii tak kombinované terapii. Druhým intenzivně zkoumaným přístupem jsou přístupy založené na imunitních mechanismech. Použití malých molekul a protilátek v klinických studiích/ klinické praxi dokumentuje schéma č.2.

Optimální zařazení nových přípravků do indukční terapie, udržovací terapie nebo v terapii relaps/refrakterní AML je nyní ověřováno a hodnoceno. Mezi nejvýznamnější přípravky, které byly nebo brzy budou zavedeny do klinické praxe patří:

- a) BCL2 inhibitory (venetoclax)
- b) inhibitory „hedghog pathway signaling“ (glasdegib)
- c) liposomální kombinace daunorubicinu a cytarabinu (CPX – 351)
- d) mutace genu pro IDH1 a IDH2 (ivosidenib a enasidenib)
- e) anti CD33 (gentuzumab ozogamicin) a léčba na podkladě imunitních mechanismů
- f) FLT 3 inhibitory (midostaurin, quizartinib, sorafenib, gilteritinib)

a) Venetoklax v léčbě AML

Selektivní inhibice BCL-2 (anti-apoptotického proteinu) venetoklaxem (V) vede ke zvýšené citlivosti leukemických buněk k oxidativnímu stresu a obnovení apoptotických mechanismů. Současně byl prokázán synergický efekt s hypometylačními léky (HMA) a cytarabinem.

Di Nardo et al prokázali v souboru 145 pacientů starších 65 let s nově diagnostikovanou AML, kde byla použita kombinace V a decitabinu (HMA-D) nebo LDAC (cytarabin v nízkých dávkách) vysokou účinnost a dobrou toleranci. Byla dosažena u 67% pacientů CR/CRi (u pacientů s mutací NPM1 91%) a ve skupině s CR/CRi byla u 29% dosažena MRD negativita. Ve skupině pacientů s nepříznivou prognózou pak 60% a při současné mutaci TP53 47% CR/CRi). *Wei et al* v podobné studii při kombinaci V+LDAC dosáhl celkově 54% CR/CRi. Nejhorší výsledky byly pozorovány ve skupině s nepříznivou cytogenetikou a u sekundárních

AML (CR/CRi 42% a 35%). Zajímavý byl údaj výrazně nízké odpovědi ve skupině nemocných u nichž předcházela terapie HMA. *Pratz et al* (ASH 2019, # 264) vyhodnotil soubor pacientů, u kterých nebyla možná intenzivní indukční léčba a CR/CRi byla navozena V+ LDAC/HMA, a u kterých byla provedena SCT s velmi dobrými výsledky. Jakou odpověď lze očekávat po terapii v kombinaci s V hodnotil *Maiti et al* (ASH2019, # 2637) - CR/CRi u nově diagnostikovaných pacientů byla 95%, neléčených s AML 67%, předléčených sAML 37% a u R/R AML 27%.

b) Glasdegib

Glasdegib (Gla) vede k inhibici hedgehog receptoru, který narušuje systém onkogenních enzymů, který je aberantně exprimován na různých hematologických malignitách včetně AML. *Cortes et al* (Leukemia 2019) dokumentoval u nově diagnostikovaných pacientů s AML starších 55 let léčených kombinací Gla + LDAC vs LDAC zvýšené počtu CR a prodloužení OS ve skupině s Gla (17% vs 2,3% a median OS 8,8 vs 4,9 měsíce). Gla byl schválen FDA pro léčbu nově diagnostikovaných AML v kombinaci s LDAC u pacientů starších 75 let.

c) CPX-351

Jedná se o liposomální formu cytarabinu a daunorubicinu v poměru 5:1. Na výjimečnost léku upozornila výrazně lepší odpověď ve skupině pacientů se sekundární AML nebo nepříznivou cytogenetikou. Následně provedené studie potvrdily v těchto skupinách navození vyššího počtu CR/CRi a prodloužení OS ve srovnání se skupinou léčenou režimem 7+3. Prozatím nejsou k dispozici data, která by porovnála CPX-351 se skupinou standardně léčených HD-AraC v konsolidaci, případně s jinými salvage režimem. *Lindsley et al* (ASH2019, #15) neprokázal lepší výsledky CPX – 351 vs 7+3 v dosažení CR/CRi nebo OS (5,7 vs 5,1 měsíce) ve skupině nově diagnostikovaných starších pacientů s nepříznivou AML + mutací TP53.

d) Ivosidenib a enasidenib

Mutace v isocytrát-dehydrogenázovém enzymatickém komplexu (IDH 1/2) jsou dokumentovány v 15-25% a často jsou přítomny u nemocných se středním cytogenetickým rizikem, asociovány s NPM1 mutací a DNTMT3A. Narušení této funkce vede k blokáde diferenciaci blastů. Enasidenib (Ena) je selektivní blokátor IDH2 mutovaného enzymu, Ivosidenib (Ivo) je blokátor IDH1 mutovaného enzymu. Oba léky navozují diferenciaci a nevedou k myelosupresi. Z nežádoucích účinků je u Ena přítomna hepatotoxicita u Ivo prodloužení QTc intervalu.

V monoterapii ve skupině R/R AML byla u Ena navozena CR u 19% u Ivo 21,6% s celkovým mediánem OS 8,8 měsíce u obou blokátorů. Diferenční syndrom se objevuje později ve srovnání s ATRA syndromem u APL (u Ena medián výskytu 48 a u Ivo 29. den).

Ivosidenib byl schválen FDA v monoterapii pro pacienty s AML IDH1+ vyššího věku, kteří nejsou indikováni k intenzivní chemoterapii. Ve fázi 3 probíhají studie u nově diagnostikovaných „fit“ pacientů s AML: intenzivní chemoterapie + Ivo (NCT0263708) a ve skupině „unfit“ starších pacientů: azacitidin + Ivo/placebo (NCT02577406).

e) anti CD33 (gentuzumab ozogamicin, GO) a léčba na podkladě imunitních mechanismů
Využití konjugátu protilátky antiCD33 a calicheamicinu se v průběhu posledních 10 let zásadně změnilo. Zásadní změnu přinesly závěry publikované studie Hills et al (Lancet Oncol 2014). GO v dávce 3mg/m² v kombinaci s intenzivní chemoterapií signifikantně snížilo riziko relapsu a prodloužila OS ve skupině s příznivým cytogenetickým rizikem.

Nelze opomenout velký vývoj v oblasti terapie AML na podkladě imunitních mechanismů, které lze rozdělit do dvou základních přístupů. Tvorba protilátky s konjugáty (GO) a aktivace T lymfocytů (bispecifické protilátky CD3-AML antigen (3/ 123/70/ 47/ MCLA117); CAR-T nebo CAR-NK; vakcinace; ovlivnění checkpoint receptorů).

f) FLT 3 inhibitory

Efekt inhibitorů FLT3 ITD/TKD mutace byl prokázán:

- ve studii RATIFY u nově diagnostikovaných AML FLT3+ pro midostaurin, který byl kombinován se standardní chemoterapií
- pro R/R AML byl dokumentován efekt quizartinibu ve studii QUANTUM-R a gilteritinibu ve studii ADMIRAL.

Na základě výsledků těchto studií byl FDA schválen midostaurin v terapii nově diagnostikovaných AML FLT3+ v kombinaci s chemoterapií pro indukční a konsolidační léčbu a gilteritinib pro terapii R/R AML. Aktuálně je studován význam podání FLT3 inhibitorů v udržovací léčbě. Je blíže analyzován význam léčby inhibitory při různé velikosti leukemické FLT3+ populace. Existence více mutačních variant FLT3 a různých variant kinázové domény může částečně vysvětlovat rezistenci k inhibitorům FLT3.

Závěr:

Vývoj nových cílených léků někdy nazývaných „biologika“ nebo „malé molekuly“ významně zasahuje do návrhu léčebného postupu jak u nově diagnostikovaných tak u R/R AML. Léčba na bási imunitních mechanismů je předmětem intenzivního rozvoje a testování v klinických studiích I a II. fáze. V ČR je možné na přelomu 2019/20 standardně užívat v léčebných algoritmech midostaurin a GO, ve specifickém léčebném programu pak venetoclax a gilteritinib. Nicméně lze očekávat brzké zavedení dalších cílených preparátů ze skupiny malých molekul dále CPX-315 a imunoterapie do standardní léčby AML.

Jako modelový příklad vedení léčby AML v roce 2020 uvádím schéma č.3, které bylo prezentováno Courtney DiNardo v edukačním bloku ASH 2019.

Schéma 1

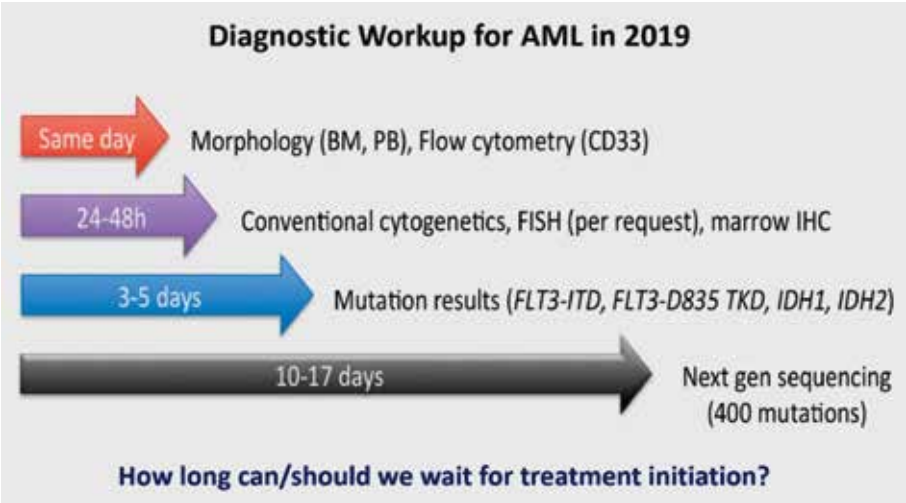
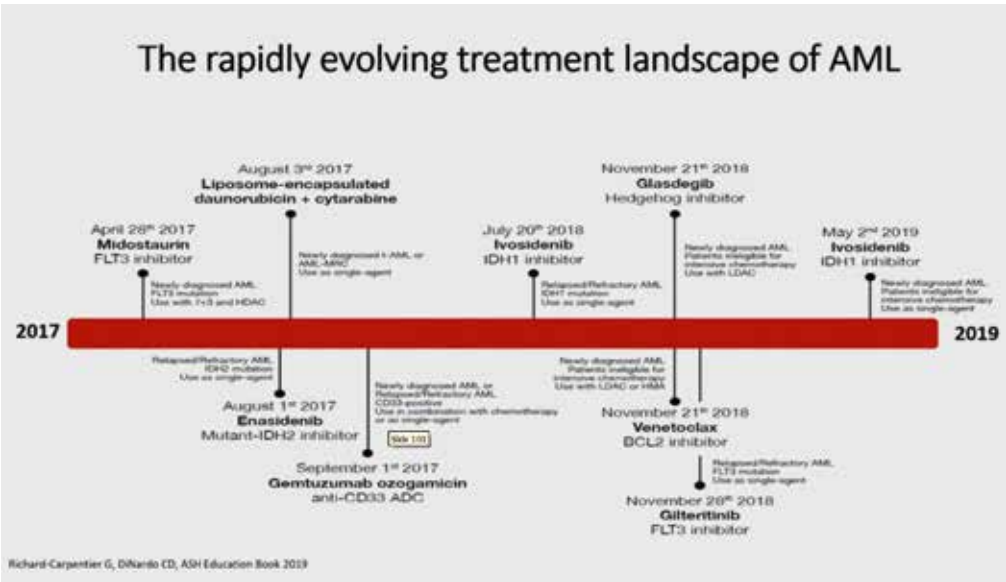
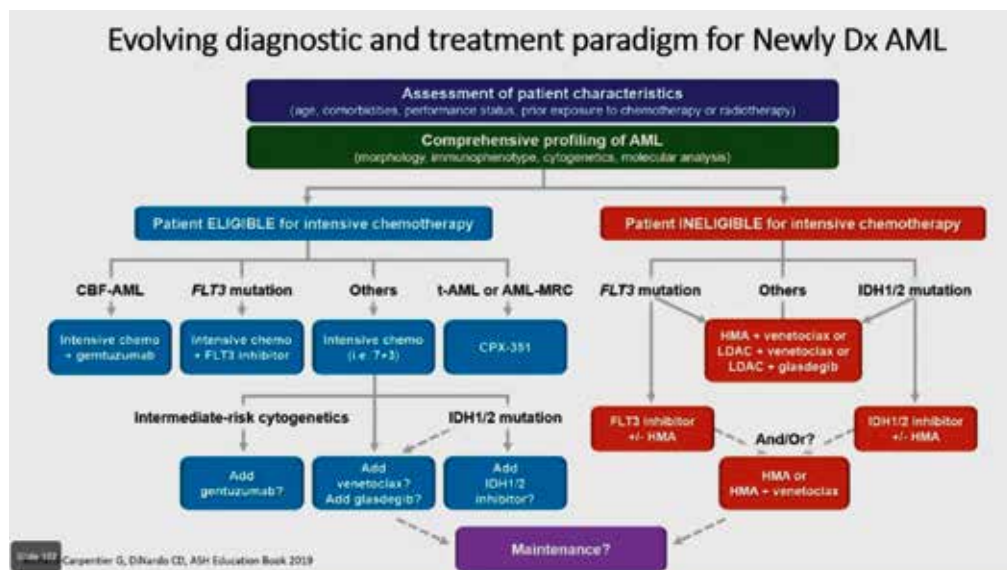


Schéma 2



**E 02****CML A ASH 2019**

Mayer J.

Interní hematologická a onkologická klinika FN Brno a LF Masarykovy univerzity Brno

Na konferenci ASH 2019 zaznělo celkem 24 přednášek a bylo prezentováno celkem 113 posterů. Z České republiky se jednalo o 1 spoluúčast na přednášce a o 4 postery. CML se nyní stala poměrně dobře léčitelnou chorobou s dlouhodobým přežitím blízcím se populaci bez této choroby. Hlavními okruhy zájmu nyní zůstávají mj. tyto oblasti:

- pokročilá stádia, blastická krize
- vedlejší účinky terapie, snaha o její vysazení (tzv. TFR, treatment-free remission)
- biologie choroby s cílem využít poznatky k vyléčení nemoci

Převážně z těchto oblastí jsou nyní vybrány názvy zajímavých abstrakt a citovány jejich závěry. Místo je doplněn krátký komentář.

25 Discontinuation of Tyrosine Kinase Inhibitor in Children with Chronic Myeloid Leukemia (JPLSG STKI-14 study)

Conclusion: These data indicate that as in adults, TKI may be safely discontinued also in children younger than 15 years of age at diagnosis, treated with TKI for ≥ 3 years, and sustained MR4.0 for ≥ 2 years, including patients who relapsed after HSCT. We suggest that plasma trough concentration level of imatinib may predict TFR for children with CML and

sustained MR4.0 with imatinib. Further study of TKI discontinuation in children with CML is expected.

Pozoruhodná práce s vysazováním terapie i u dětí.

27 A Report on 114 Patients Who Experienced Treatment Free Remission in a Single Institution during a 15 Years Period: Long Term Follow-up, Late Molecular Relapses and Second Attempts

Conclusion. Based on a 15 years' experience we were able to report on long term follow-up in TFR1 and in TFR2. Among patients experiencing molecular relapses, we observed 14% and 17% late relapses after more than 2 years after TFR1 and TFR2 respectively, suggesting that a long-term molecular follow-up is mandatory for CML patients in TFR.

Jedna z nemnoha prací, ukazujících, že riziko relapsu choroby přetrvává dlouhodobě po vysazení.

30 Prognostication of Molecular Relapses after Dasatinib or Nilotinib Discontinuation in Chronic Myeloid Leukemia (CML): A FI-LMC STOP 2G-TKI Study Update

Conclusion: 2G-TKI may be successfully stopped in CML pts with long-lasting MR4.5. Those without a history of suboptimal response or resistance have greatest chances of success. Sudden blast crisis is rare but unpredictable. Post-TKI discontinuation estimates of TFR change overtime. Together with that of molecular response type at specific time points, they represent important dynamic prognostic measures of outcome. They may also help individualizing molecular monitoring programs after TKI cessation.

Můj osobní komentář je, že o vysazování by se mělo uvažovat jen u nemocných s nízkým rizikem choroby a s excelentní léčebnou odpovědí.

188 Combining the Allosteric ABL1 Inhibitor Asciminib (ABL001) with Ponatinib Suppresses Emergence of and Restores Efficacy Against Highly Resistant BCR-ABL1 Compound Mutants Taken together, our findings support combining asciminib with ponatinib as a treatment strategy for improved management and mitigating the emergence of highly resistant BCR-ABL1 compound mutations in patients with Ph+ leukemia.

192 Optimum Imatinib Exposure Have Possibility of Leading to Appropriate Immune Response after Imatinib Discontinuation in CML Patients

Conclusion: Treg population and Treg / CD8+ T cells ratio in PBMCs elevated after stopping imatinib in non-retreatment groups of CML patients. Population of CD8+ T cells showed no differences in two groups but CD8+ T cells were tending to activate after stopping imatinib in non-retreatment groups. These data indicate that the kinetics of Treg after stopping imatinib connect with the immune response of imatinib discontinued CML patients. In vitro data indicate that Treg were more sensitive for imatinib treatment than CD8+ T cells, so kinetics of Treg may possibly become the biomarker of ability of immune responses. Our data suggested that optimum imatinib exposure induce appropriate immune responses

leading good prognosis, and excess imatinib exposure induce exhaust immune responses leading poor prognosis.

Velmi zajímavá, ojedinělá páce dávající do souvislostí imunologické aspekty TFR s koncentracemi TKI během terapie.

495 Nilotinib Vs Nilotinib Plus Pegylated Interferon α (Peg-IFN) Induction and Nilotinib or Peg-IFN Maintenance Therapy for Newly Diagnosed BCR-ABL1 Positive Chronic Myeloid Leukemia Patients in Chronic Phase (TIGER Study): The Addition of Peg-IFN Is Associated with Higher Rates of Deep Molecular Response

Conclusions: This per protocol interim analysis demonstrates feasibility of the first-line treatment with NIL 2*300 mg/d combined with PEG-IFN 30-50 μ g/week. Peg-IFN, when added upfront to NIL further increases the rates of MR4 and MR4.5, which may translate into higher rates of treatment free remission.

První nadějně větší výsledky rozsáhlé mezinárodní studie s českou účastí (Brno, J Mayer, D Žáčková) s kombinací nilotinibu a interferonu.

497 FLAG-IDA and Ponatinib in Patients with Blast Phase Chronic Myeloid Leukaemia: Results from the Phase I/II UK Trials Acceleration Programme Matchpoint Trial

Summary/Conclusion: We report the first prospective trial of ponatinib and conventional chemotherapy for blast phase CML. The EffTox model combined Phase I and II, and delivered efficiency in determining the trial's optimal dose. This innovative statistical model has the potential to be applied in other rare malignancies. We confirm that FLAG-IDA + ponatinib 30mg, is a tolerable combination in blast phase CML, with promising response and survival. Post-transplant ponatinib was well tolerated and no excess toxicity was observed when ponatinib was used both pre- and post alloSCT. The combination of ponatinib and FLAG-IDA represents a potentially important advance in the treatment of blast phase CML, a rare complication which currently has a very poor outcome.

Ojedinělá studie s kombinací léků pro prognosticky velmi nepříznivou skupinu nemocných.

1646 A Comparison of Two Standardized Quantitative RT-PCRs with CE IVD Kit for Digital PCR in CML Patients with Different Level of BCR-ABL1 Transcripts

We showed that the results of quantitative detection of BCR-ABL1 transcripts (% IS) obtained by the CE IVD RT-dPCR kit are in good correlation with the results of both standardized RT-qPCR methods and all three methods provide comparable sensitivity. RT-qPCR method yielded higher number of copies of control ABL gene per sample compared to RT-dPCR although the input amount of RNA into the RT reaction was the same. The MR level evaluation of RT-dPCR vs. both RT-qPCR methods was identical to the level MR3.0 (category $>0.01\%$ IS), while for samples in deep MR (category $\leq 0.01\%$ IS, MR4.0 and below) revealed partial difference in categorization into the individual MR levels.

Zajímavá data srovnávající různé metody pro rutinní detekci BCR-ABL.

1647 Genotypes of the Gene Encoding the Membrane Transporter SLC22A4 Are Associated with Molecular Relapse-Free Survival after Discontinuation of Imatinib Therapy in Patients with Chronic Myeloid Leukemia

Conclusions: Based on observed data we suppose that the GC genotype of the SNP rs460089 is associated with sufficient intracellular concentration of imatinib allowing more efficient targeting of CML cells during the treatment. This resulted in a higher proportion of patients who sustained MMR after imatinib stop as compared with patients with GG. Longer duration of imatinib treatment increased the probability of MMR maintenance after imatinib cessation also in patients with GG. The frequency of CC was low and outcome in between GC and GG. The SNP rs460089 may provide an independent prognostic factor for molecular response maintenance after imatinib cessation.

Pokud bude tento náález potvrzen v prospektivní studii, bude se jednat o mimořádně jednoduchý a užitečný marker predikce TFR.

2922 Multicolor Immunophenotyping of Candidate Leukemic Stem Cell Markers in CD34+CD38- Chronic Myeloid Leukemia Stem Cells

Conclusions: We show an overlap in surface expression of three previously reported CML LSC markers – IL1-RAP, CD25 and CD26. Nevertheless, a combination of these markers can detect more positive cells than any of the markers alone. Moreover, we demonstrate that CD69 identifies the same cells within the CD34+CD38- compartment as the combination of three above mentioned markers, which makes CD69 the best candidate for routine CML LSC quantification.

Flowcytometrická charakterizace leukemických kmenových buněk umožní jejich separaci a další studium.

2924 Long-Term Outcomes in Patients with Chronic Myeloid Leukemia in Chronic Phase Receiving Frontline Nilotinib Versus Imatinib: Enestnd 10-Year Analysis

Among patients assigned to NIL300, NIL400, and IMA, a total of 11, 7, and 24 patients, respectively, progressed to AP/BC by the data cutoff (including 1, 1, and 5, respectively, after 5 y) (Table). A total of 32, 23, and 29 deaths on study from any cause were reported in the NIL300, NIL400, and IMA arms, respectively; the most common causes were CML (6, 5, and 15 patients, respectively) and infections/infestations (5, 3, and 8, respectively). Of all deaths on study, 16, 14, and 11 in the NIL300, NIL400, and IMA arms, respectively, occurred after 5 y; almost all (37/41) were not CML related (including 10 due to general disorders, 9 due to infections/infestations, 8 due to neoplasms, and 7 due to cardiac or vascular disorders). Kaplan-Meier-estimated 10-y rates of event-free survival and overall survival (OS) are shown in the Table.

Adverse events (AEs) leading to discontinuation of study treatment occurred in 67 (24.0%), 98 (35.4%), and 56 (20.0%) patients assigned to NIL300, NIL400, and IMA, respectively; serious AEs occurred in 112 (40.1%), 127 (45.8%), and 97 (34.6%) patients, respectively. Safety profiles of NIL and IMA remained consistent with previous analyses (nonhematologic AEs in $\geq 30\%$ of patients: NIL [either dose], rash, headache, nausea; IMA, diarrhea, nausea,

muscle spasms). In each arm, CVE rates in the first 5 y of study treatment were similar to the rates beyond 5 y (Table).

Conclusions: NIL showed better long-term efficacy than IMA, with fewer progressions to AP/BC during both the early and later years of the study, and fewer CML-related deaths. MMR and deep molecular response rates were higher with NIL than with IMA throughout the follow-up period. However, CVEs were more frequent with NIL than with IMA in the first 5 y and continued to occur at similar rates beyond 5 y. While the study was not powered for OS, observed 10-year OS rates were similar between NIL and IMA. Overall, these results suggest that the superior efficacy but higher vascular toxicity observed early on with frontline NIL treatment is maintained with long-term treatment.

Table. Long-Term Outcomes

	NIL300 n = 282	NIL400 n = 281	IMA n = 283
Kaplan-Meier–estimated 10-year rate, % (95% CI)			
EFS on core treatment	92.0 (88.1–96.0)	96.2 (93.5–98.8)	90.3 (86.2–94.4)
Overall survival on study	87.6 (83.5–91.7)	90.3 (86.5–94.1)	88.3 (84.2–92.4)
Progressions to AP/BC according to time since randomization, n			
0 to 5 years	10	6	19
> 5 years	1	1	5
Deaths according to study treatment time interval, n^{a,b}			
0 to 5 years	16	9	18
> 5 years	16	14	11
CVEs regardless of study drug relationship^b			
Exposure-adjusted overall incidence, n (incidence rate per 10 patient-years)	53 (0.30)	65 (0.38)	14 (0.08)
Frequency by study treatment time interval, n (%) ^a			
0 to 5 years	24 (8.6)	32 (11.6)	7 (2.5)
> 5 years	29 (10.4)	33 (11.9)	7 (2.5)

EFS, event-free survival.

^a Time intervals are based on each patient's individual treatment exposure.

^b Based on the safety set (NIL300, n = 279; NIL400, n = 277; IMA, n = 280).

Bohužel, celkové přežití se ukázalo stejné a potvrdil se daleko vyšší výskyt kardiovaskulární vedlejších efektů u nilotinibu, což tuto jinak velmi účinnou a celkem dobře snášenou látku limituje.

E 03

AKUTNÍ LYMFBLASTOVÁ LEUKEMIE: ANEB CO JSME SE MOHLI DOZVĚDĚT NA #ASH19, POKUD JSME TAM BYLI, VŠECHNO STIHLI, DÁVALI POZOR A NAVÍC TO POCHOPILI

Trka J.

CLIP, Klinika dětské hematologie a onkologie 2.LF UK a FN v Motole

Rozdělme si novinky a „novinky“, které jsme se o akutní lymfoblastové leukemii (ALL) na #ASH19 dozvěděli, do několika kategorií. Zprv na nové informace o biologii nemoci

a jejím vlivu na stratifikaci a určování prognosy pacientů, dále na novinky v metodice diagnostických postupů, pak na zhodnocení dosavadních léčebných přístupů a návrhy nových, a potom na vše, co se týká *CAR-T cells* a případně bispecifických protilátek. Protože na každém meetingu ASH se najde jedno téma, které vládne všem a které všechny svazuje, a letos to nepochybně byly nejrůznější modality imunoterapie.

Začněme novými poznatky ve stratifikaci pacientů. Výsledky britské studie UKALL14 ukazují, že u dospělých si udržují prognostický význam primární chromosomální abnormality (BCR/ABL1, ABL-*class* fúze a JAK-STAT) oproti nověji objeveným sekundárním delecím; a že u nich nefungují prognostické genotypy UK-CNA nebo IKZF1^{plus} popsané a klinicky využívané u dětských pacientů (Moorman et al, abstrakt 288). Na obří kohortě (n=2755) skupina COG a SJCRH ukázala prohlubující se znalosti genomické různorodosti dětských ALL pomocí kombinace sekvenančních metod – nově do klasifikace zařazovanými jsou aberace ovlivňující SUMOylaci a ubikvitinaci a role nekódujících variant v genomu ALL blastů (Roberts, Brady et al, abstrakt 649). Metaanalýza genomických asociačních studií (GWAS) potvrdila existenci 14 lokusů (zejména v genech odpovědných za vývoj B řady) spojených se vznikem ALL u dětí – jejich kombinace zvyšuje riziko ALL u jednoho dítěte ze sta až 4,7 krát (Yang et al, abstrakt 650).

Vliv minimální residuální nemoci (MRN) – nebo chcete-li pod stejnou zkratkou raději používat módní americký termín měřitelná residuální nemoc – na výsledek léčby je nezpochybnitelný u Ph negativních (Advani, edukační program) i Ph+ ALL (Samar et al, abstrakt 287). U Ph+ ALL je pak třeba odlišit „CML-like“ ALL s multiliniovým postižením od „čisté“ ALL, kde je fúzní gen BCR/ABL1 přítomen jen v lymfoidní linii. O zásluhu na zlepšení prognosy Ph+ ALL se dělí tyrosin kinasové inhibitory s vyšším počtem a zlepšenými výsledky transplantací (Fielding, edukační program).

Metodicky zaměřené přednášky (jak z oblasti preklinického, tak klinického výzkumu resp. diagnostiky) ukázaly trend k sekvenování RNA, případně sekvenování celogenomovému, a sekvenování genomu/transkriptomu jednotlivých buněk (*single-cell sequencing*). Celotranskriptomové sekvenování rozřadilo singapurské dětské pacienty s ALL do 20 definovaných skupin a spolu s detekcí MRN umožnilo klasifikaci do tříd nízkého, středního a vysokého rizika relapsu – navíc s kýženým signifikantním zmenšením prostřední kategorie (Yeoh et al, abstrakt 651). Zajímavou kuriozitou bylo efektivní využití sekvenování pomocí přístroje *Nanopore*, ale to už si odskakují k AML (Kautto et al, abstrakt 374). Kombinace jednobuněčného transkriptomového sekvenování a genotypování elegantně popisuje klonální vývoj (nejen) lymfoidních malignit (Meade, edukační program).

Léčíte-li mladé (i „mladé“) dospělé s ALL, měli byste to dělat podle pediatrických nebo pediatricky inspirovaných protokolů, které přinášejí významné zlepšení léčebných výsledků na současných 60-80% (Muffly, edukační program). A to přesto, že již adolescenti starší 15 let mají odlišné spektrum genetických aberací a horší odpověď na léčbu v podobě vyšší MRN než mladší děti (Burke et al, abstrakt 286). Zdůrazněna (a doložena) byla i zdánlivá samozřejmost – nutnost zařazování mladých dospělých do klinických studií (Muffly, edukační program).

Šancí pro pacienty s těžce předléčenou nebo zcela resistantní ALL (jak z B, tak i T řady) je inhibitor BCL-2 Venetoclax, ideálně v kombinaci s inhibitorem BCL-XL Navitoclaxem. Léčba je dobře tolerována a představuje v současnosti jedinou šanci na dosažení remise např. pro pacienty s relapsem po léčbě *CAR-T cells* nebo transplantaci (Lacayo et al, abstrakt 285).

Jak už jsem naznačil, imunoterapie dominovala novým léčebným strategiím. Bispecifická protilátka Blinatumomab se dostává v pediatrických protokolech v randomisované podobě do léčby pacientů středního rizika jak ve Spojených státech, tak i Evropě (Gore, edukační program). Novými léčebnými možnostmi v iniciační léčbě T-ALL jsou Nelarabine nebo inhibitory NOTCH (Advani, edukační program).

Zastavení randomisace amerického protokolu AALL1331 skupiny COG do ramene se standardní léčbou ještě v průběhu klinické studie ve prospěch Blinatumomabu potvrzuje výhodu imunoterapie u relabujících pacientů s B-ALL (Brown et al, *late breaking* abstrakt).

Důležitosti tedy nabývá predikce možného selhání imunoterapie. Predikční známky úspěšnosti imunoterapií zahrnují v případě Blinatumomabu např. hladiny T regulačních lymfocytů či přítomnost exprese PDL-1 na leukemických blastech; pro efektivitu *CAR-T cells* se jeví jako kritické jejich dlouhodobé přežívání, případně funkční vyčerpání a (ne)dostatečná antigenní stimulace. Nových postupů léčby pomocí *CAR-T cells* (které by měly překonat některé z těchto limitací) se objevuje řada – od různých variant koadministrace antiCD19 a antiCD22 buněk, bicistronních *CAR-T cells* až k buňkám s duální protilátkou (Gardner, edukační program). Duální *CAR-T cells* (zaměřené na CD19 a CD22) vykazují u dětských pacientů s relabující či refrakterní ALL předběžně vynikající výsledky (včetně vysokého procenta negativy MRN) s velmi nízkou toxicitou (Lu et al, abstrakt 284). Problémem jsou CD19 negativní relapsy po terapii *CAR-T cells*, které mohou vznikat dvěma způsoby – jednak adaptací, tedy potlačením exprese, a za druhé selekcí primárně níže exprimujících buněk; a že tento vývoj lze u pacientů predikovat (Domizi et al, abstrakt 749).

Závěrem je třeba podotknout, že jste možná na #ASH19 viděli a slyšeli zajímavější či důležitější příspěvky – výše zmíněné je časovou dostupností a subjektivním výběrem omezený výřez z programu zaměřeného a akutní lymfoblastovou leukémií.

E 04

TRANSPLANTACE KRVETVORNÝCH BUNĚK

Jindra P.

Hematologicko-onkologické oddělení, FN Plzeň

Sjezd americké hematologické společnosti (ASH) potvrdil, že alogenní transplantace krvetvorných buněk (TKB) je dnes již standardní léčebnou metodou hematologických maligních i nemaligních nemocí, u některých (především akutní leukémie, MDS, myeloproliferativní onemocnění) dokonce jedinou s kurativním potenciálem. V současnosti je vcelku konsenzus, pokud jde o hierarchii dárců. Za zlatý standard je považován HLA identický sourozenec (/MSD – matched sibling donor), který je však dostupný jen pro malou část pacientů, a proto pro většinu nemocných musíme hledat jako tzv. 2. volbu dárce plně

shodného nepříbuzného (matched unrelated donor – MUD), popřípadě tzv. alternativního dárce. Za ty jsou považováni haploidentičtí příbuzní dárce v rodině (dále HID) a nepříbuzní částečně shodní dárce. Je stále zřejmější, že HID mají lepší výsledky než částečně shodní MUD, dokonce je zvažována případná preference HID před MUD. Přestože přímou odpověď na tuto otázku ASH nedal, byla problematika HID zastoupena velmi výrazně. Úspěch transplantací s HID je totiž založen na využití odlišné platformy imunosuprese (IS), kdy na rozdíl od klasické GVHD profylaxe kalcineurinovými inhibitory (CNI) a metotrexátem (MTX), je podán tzv. potransplantační cyklofosfamid (PT-CY). Proto je již několik let široce diskutováno případné použití této platformy i u MUD a MSD, nicméně prospektivní randomizované studie dosud chyběly. Zcela oprávněně tedy byly výsledky první randomizované prospektivní studie fáze 3, srovnávající u MUD a MSD imunosupresi založenou na PT-Cy s imunosupresí klasickou (CNI+MTX) (1), prezentovány na plenárním zasedání. Tato studie HOVON-96 randomizovala celkem 160 pacientů (69% s MUD, 99% RIC) v poměru 1:2 mezi CNI a PT-CY. Pacienti ve větvi PT-Cy měli signifikantně nižší kumulativní incidenci aGVHD st II-IV (32% vs. 48%, HR 0.52, 95%CI: 0.31-0.87, $p=0.01$), extenzivní cGVHD (19% vs. 50%, HR 0.38, 95%CI 0.21-0.67, $p=0.001$), přičemž PFS byl srovnatelný (58% vs. 60%, $p=ns.$). Nižší incidence aGVHD a cGVHD při nezvýšené incidenci relapsů zapříčinila signifikantně lepší GRFS (GVHD-, Relapse-Free Survival) u pacientů ve větvi s PT-CY. Tato profylaxe by tedy měla být preferovaná i u pacientů transplantovaných s MUD či MSD po přípravě RIC. Relativní slabinou této studie je však podle mě absence ATG ve větvi s klasickou IS, protože přidání ATG signifikantně snižuje incidenci GVHD všech forem (opakovaně doloženo randomizovanými studiemi), takže je možné, že jeho použitím by nebyl rozdíl ve prospěch PT-CY patrný. Dokladem jsou i další prezentované práce jak u transplantací s MSD tak s MUD (2,3). Například retrospektivní analýza EBMT ALWP (2) u pacientů s AML transplantovaných v remisi periferními krvetvornými buňkami od MSD srovnávala profylaxi GVHD založenou na klasickém ATG s PT-CY profylaxí. V incidenci aGVHD II-IV.st nebyl zaznamenán rozdíl, na druhé straně incidence cGVHD byla signifikantně vyšší u PT-CY kohorty (celkově 37% versus 30%, $p<0.02$, respektive 16% versus 12%, $p<0.01$ u extenzivní cGVHD). Nicméně v hlavních transplantačních výsledcích (OS, LFS, GRFS) nebyl mezi oběma skupinami rozdíl a zdá se tedy, že u AML pacientů transplantovaných s MSD mají obě platformy (tj. ATG a PT-CY) srovnatelné výsledky, pouze snad s lepší protekcí před cGVHD u ATG. Význam ATG jednoznačně podtrhla i prezentace zralých dat kanadské randomizované multicentrické studie (3). Pacienti transplantovaní s MUD a s imunosupresí založenou na CNI byli randomizováni do větve s ATG a bez ATG. Kumulativní incidence cGVHD byla signifikantně nižší u ATG kohorty (26.3% versus 41.2%, $p=0.032$). ATG nevedlo k vyšší incidenci relapsů ať u myelo- či nemyeloablativně transplantovaných a co je nejpodstatnější – výše uvedené výhody se projevíly signifikantně lepším přežitím u skupiny s ATG ve 12 měsících: 74.8% versus 64.9% (HR 0.56, 95% CI: 0.35-0.90; $p=0.017$). Tento benefit přetrvával i ve 24 měsících kdy přežívalo 70.7% pacientů v ATG skupině ve srovnání s 53.6% ve skupině kontrolní ($p=0.018$). Stejně významné ve prospěch ATG bylo i přežití bez relapsu a GVHD (GRFS). Tato studie jako první demonstrovala jak lepší přežití, tak zlepšení

kvality života u pacientů, kteří dostali ATG jako GVHD profylaxi a jednoznačně podporuje vnímání ATG jako standardní součást klasické IS u transplantací s MUD.

Podobným zdrojem diskuzí a kontroverzí jako GVHD profylaxe je i otázka intenzity přípravného režimu (conditioning) u specifické diagnózy a pacienta. Byla prezentována řada prací s potenciálem poskytnout solidní data umožňující individualizovat (personalizovat) přípravný režim. Zajímavá práce testující hypotézu nižší toxicity myeloablativního busulfanu podávaného frakcionovaně (3-týdenní perioda v kombinaci s fludarabinem) u kohorty spíše starších a komorbidních, prokázala slibný potenciál tohoto režimu (4).

Japonští autoři zase na velkém souboru uvedli data dokládající excelentní účinnost režimu Flu/Bu4/Mel, kdy je ke standardnímu myeloblativnímu režimu fludarabin+ busulfan 4 dny přidán melfalan (5). Adjustované HR bylo 0.73 (95% CI: 0.62-0.85) pro Flu/Bu4/Mel skupinu ve srovnání s Flu/Bu4 kohortou ($p < 0.001$), přičemž benefit Flu/Bu4/Mel byl nejvíce vyjádřen u vysoce rizikových nemocných (5-let OS 29.5% (95% CI: 23.0-36.4%) vs. 20.8% (95% CI: 17.3-24.6%, $p < 0.001$).

Srovnání 2 nejrozšířenějších režimů s redukovanou intenzitou (RIC) u pacientů s MDS >60let bylo cílem retrospektivní analýzy CIBMTR (6). Analýza prokázala superiorní DFS u režimu Flu/Mel (48% vs. 41% v 1 roce, $p = 0.030$, a 38% vs 28% ve 3 letech, $p = 0.0030$) a to především díky nižší incidenci relapsů, která převážila jeho částečně vyšší transplantační mortalitu. Na druhé straně je zajímavé, že podobná CIBMTR analýza taktéž srovnávající RIC/ nemyeloablativní režimy, ale u pacientů s NHL, prokázala naopak horší výsledky s Flu/Mel140 oproti jiným režimům (Flu/Bu, Flu/Cy) (7). Flu/Mel 140 měl totiž oproti Flu/Bu vyšší NRM (HR 1.78, 95% CI 1.37-2.31; $p < 0.001$), a přestože riziko relapsu bylo nižší (HR 0.79, 95% CI 0.66-0.94); $p = 0.007$), nevedlo to ke zlepšení přežití (4-letý OS byl 58% pro Flu/Bu, 67% pro Flu/Cy/TBI, 49% for Flu/Mel 140 a 63% for Flu/Cy, $p < 0.001$).

Nezastupitelná role TBI v přípravném režimu je obecně uznávána u lymfatických malignit a byla na kongresu doložena EBMT retrospektivní analýzou i u haploidentických transplantací (viz abstrakt 320), nicméně u myeloidních malignit je případný význam TBI stále diskutován. Bezzera et. al u AML pacientů myeloablativně transplantovaných v 1. či 2. morfologické CR hodnotil vliv TBI a non-TBI přípravných režimů v kontextu positivity /negativity MRD v době transplantace (8). V klíčových transplantačních výsledcích (OS, RFS, NRM, RI) autoři nezaznamenali rozdíl mezi TBI a non-TBI režimy, podobně srovnatelné výsledky byly i při stratifikaci do skupin MRDpoz a MRDneg nemocných. S ohledem na dlouhodobé nežádoucí účinky TBI režimů pak logicky uzavírají, že u AML transplantovaných v remisi je preferovanou přípravou non-TBI režim.

Komplexitu problematiky alogenní TKB krvetvorných buněk a množství faktorů, které ji ovlivňují dokazuje recentně popsáný význam střevního mikrobiomu příjemce pro její výsledek. Existují stále silnější důkazy, že kompozice střevního mikrobiomu příjemce a její ovlivnění širokospektrými antibiotiky ovlivňuje imunitu, incidenci a tíži GVHD a dokonce i riziko relapsu. Velmi zajímavým příspěvkem v této oblasti byla společná retrospektivní analýza CIBMTR a PHIS (Pediatric Health Information System). U velké ($n = 2501$), multicentrické kohorty dětí transplantovaných pro akutní leukémii zkoumala asociaci 3 skupin širokospektrých antibiotik (antipseudomonální cefalosporiny, peniciliny

a karbapenemy) podávaných v období mezi transplantací a d+7, s incidencí aGVHD gr. II-IV. Přestože statisticky signifikantní obecná asociace mezi podáváním antibiotik a výskytem aGVHD nebyla zaznamenána, analýza adjustovaná na zásadní proměnné (typ štěpu a dárce, conditioning apod.) ukázala, že expozice karbapenemům může nést zvýšené riziko GVHD. Závěrem bych chtěl upozornit na práci, která je zajímavá především v kontextu rostoucího věku transplantovaných a v důsledku toho logicky i vyššímu věku dárců. Výskyt klonální hematopoézy neurčitelného potenciálu (Clonal hematopoiesis of indeterminate potential - CHIP) stoupá s věkem a je spojen s vyšším rizikem myeloidních malignit a kardiovaskulárních komplikací. Autoři z MD Anderson Cancer Center zkoumali asociaci mezi CHIP u dárce a výsledkem transplantace u AML/MDS pacientů transplantovaných s dárce staršími 55 let (10). Z 363 dárců mělo 71 (20%) CHIP, přičemž nejčastěji mutované geny byly DNMT3A (32/71, 45%), TET2 (18/71, 25%), PPM1D (8/71, 11%), a SXL1 (7/71, 10%). Při srovnatelných charakteristikách mezi CHIP a non-CHIP skupinou nebyl zaznamenán rozdíl v příhojení, PFS a OS. Ve skupině dárců s CHIP však byla zaznamenána signifikantně vyšší kumulativní incidence aGVHD gr. 2-4 a 3-4 (HR=2.1, 95%CI=1.4-3.3, p<0.001 a HR=2.9, 95%CI=1.3-6.3, p=0.009). U této skupiny je tedy zjevně potřeba dalších studií k objasnění molekulárního mechanismu tohoto jevu u dárců s CHIP.

Literatura

1. De Jong CN et al. Post-Transplantation Cyclophosphamide after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation: Results of the Prospective Randomized HOVON-96 Trial in Recipients of Matched Related and Unrelated Donors. Abstract 1
2. Battipaglia et al. Post-Transplant Cyclophosphamide Versus Antithymocyte Globulin in Patients with Acute Myeloid Leukemia Undergoing Allogeneic Stem Cell Transplantation from HLA-Identical Sibling Donors: A Retrospective Analysis from the Acute Leukemia Working Party of the EBMT. Abstrakt 148
3. Roy J et al. Less Chronic Graft-Versus-Host Disease, Immunosuppressive Therapy and Better Survival after Anti-Thymocyte Globulin in Unrelated Donor Stem Cell Transplant Recipients: Longer Follow-up of a Multicentre Cell Therapy Transplant Canada Randomized Trial. Abstrakt 875
4. Popat U et al. Myeloablative Fractionated Busulfan Conditioning Regimen in Older Patients: Results of a Phase II Study. Abstrakt 256
5. Shimomura I. Impact of Adding Melphalan to Fludarabine and a Myeloablative Dose of Intravenous Busulfan for Patients Who Received Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation. Abstrakt 254
6. Oran B et al. Fludarabine and Melphalan Compared with Reduced Doses of Busulfan and Flurabine Improves Transplant Outcomes in Older MDS Patients. Abstrakt 253
7. Ghosh N et al. Comparison of Reduced-Intensity Conditioning (RIC) Regimens for Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation (alloHCT) in Non-Hodgkin Lymphomas (NHL)-a Center for International Blood & Marrow Transplant Research (CIBMTR) Analysis. Abstrakt 319

8. *Comparative Analysis of Total Body Irradiation (TBI)-Based and Non-TBI-Based Myeloablative Conditioning for Acute Myeloid Leukemia in Remission with and without Measurable Residual Disease. Abstrakt 321*
9. *Elgarten CW et al. Early Broad-Spectrum Antibiotics and Risk of Acute Graft-Versus-Host Disease in Children: An Analysis from the Center for International Blood and Marrow Transplantation Research (CIBMTR) and the Pediatric Health Information System (PHIS). Abstrak Mikrobiom. Abstrakt 599*
10. *Donor Clonal Hematopoiesis Increases Risk of Acute Graft Versus Host Disease after Matched Related Transplantation in AML and MDS Patients. Abstrakt 47*

E 05**NON-HODGKINOVY LYMFOMY V ROCE 2020 – POHLED Z ASH 2019**

Trněný M.

I.interní klinika 1.LF UK a VFN Praha

V současné době je vývoj na poli lymfomů rámován snahou o prohloubení znalostí molekulárně biologických změn odpovědných za vznik, progresi a vývoj lymfomů, jejich citlivosti či rezistenci k terapii. Zde je velmi atraktivním využitím cirkulující nádorové DNA (ctDNA). Stále více do praxe uplatňující se otázky využití interakce imunitního systému s nádorem.

Na právě proběhlém výročním sjezdu Americké hematologické společnosti (ASH) v prosinci 2019 se neobjevila žádná přelomová práce, která by bezprostředně ovlivnila terapeutický algoritmus. Nicméně řada z níže vyjmenovaných má potenciál posunout naše algoritmy v budoucnu a v důsledku měnit stávající praxi. Výběr je jistě subjektivní, vždyť, zadá-li člověk do vyhledávače ASH 2019 klíčové slovo „lymphoma“, ukáže se 1369 výsledků. Snažil jsem se pouze upozornit na to, co mě zaujalo. V některých případech se výsledky (počty pacientů, vyšetření atd) mohou lišit od toho, co je abstraktu.

Folikulární lymfom (FL)

Skupina norských vědců **(1)** ukázala na skupině FL transformovaných (tFL) a bez transformace (nFL), že již při diagnóze je v lymfomové progenitorové buňce (CPC) přítomna výrazně větší mutační zátěž. Nejčastěji časně mutované geny v CPC jsou CREBBP a KMT2D. Ve skupině tFL to jsou proti nFL také TNFRSF14 a EZH2. Při pokusu o validaci prognostického indexu m7-FLIPI v souboru pacientů léčeného s FL v rámci studie Gallium **(2)** se ukázalo, že tento index nemá prognostickou hodnotu ve skupině léčených bendamustinem. Nadto bylo učiněno překvapivé pozorování, že mutace EZH2 byla spojena s lepší prognózou ve skupině pacientů léčených chemoterapií CHOP nebo CVP, zatímco ve skupině léčených bendamustinem tato mutace nehrála žádnou roli.

Aktualizace výsledků studie s tazemetostatem na 99 nemocných s FL, ukázala, že u pacientů s mutovaným EZH2 genem je celková odpověď (ORR) 78% s 9% kompletních remisí (CR), zatímco u skupiny s nemutovaným EZH2 genem je ORR 33% a CR 6%. **(3)** Bylo prezentováno několik studií u pacientů s FL léčených lenalidomidem s rituximabem (R²) či obinutuzumabem (OLen) v primoterapii nebo v relapsu. Loreta Nastoupil **(4)** ukázala na skupině 90 pacientů, že kombinace OLen vede v první linii k 96% pravděpodobnosti být ve dvou letech naživu a bez známek progresu. Je otázkou však do jaké míry mohou být tyto studie fáze II z MD Anderson informativní a do budoucna měnící terapii. Podobných výsledků bylo v minulosti

dosaženo s kombinací R² a tato kombinace se nakonec neukázala být lepší ve srovnání s imunochemoterapií v randomizované fázi III studie (5). Kombinace R² však vede u relabovaných a refrakterních indolentních lymfomů ve srovnání s retuximabem k signifikantnímu zlepšení doby do progresu a u FL i celkového přežití (6), v analýze podskupiny pacientů starších 70 let (7) se potvrdil trend a ukázalo, se že i tito starší pacienti z léčby profitují a kombinace rituximab a lenalidomid má šanci stát se jednou z terapií volby u relabujícího folikulárního lymfomu. Vysokodávkovaná terapie s autologní transplantací (ASCT) je stále považována za standardní postup u části relabujících pacientů s folikulárním lymfomem (mladých s časným relapsem). Alogenní transplantace (AloSCT) je indikována zřídka, i když retrospektivní data ukazují na její efektivitu. Khouri a spol. (8) v retrospektivní analýze 96 pacientů s ASCT a 98 s AloSCT (s nemyeloablativním režimem) ukázali, že AloSCT má hraničně lepší celkové přežití a její výhoda se začíná projevovat zhruba 5 let od provedení transplantace.

Lymfom z pláštěvých buněk (MCL)

Při sledování klinického vývoje ve skupině pacientů s MCL (9) se ukázalo, že tento vychází z geneticky definovaných klonů přítomných již při diagnóze a nikoli klonů vznikajících v průběhu nemoci. Zdá se, že mutace genu BIRC3 je spojena s dobrou prognózou.

V aktualizaci výsledků dříve publikované studie kombinující ibrutinib a venetoclax (10), bylo ukázáno, že s mediánem sledování 3 roky je medián přežití bez progresu či úmrtí (PFS) 29 měsíců a medián celkového přežití (OS) 32 měsíců. (11) Jsou to slibné výsledky, ale ukazují, že pokud u nemocných dojde k selhání kombinace venetoclax a ibrutinib je jejich osud velmi špatný.

Difúzní velkobuněčný lymfom z B lymfocytů (DLBCL)

V loňském roce byly publikovány dva návrhy genetické klasifikace DLBCL, jeden skupinou Staudta (12), druhý skupinou Shippové (13). Chapuy a spol. (14) přednesli srovnání obou systémů, i když vycházeli ze svého publikovaného, validovali jej nezávislou kohortou. Velmi zajímavou práci zabývající se klonálním vývojem u DLBCL prezentovala Morinova skupina (15). Ukázali, že klonální mutace TP53 a KMT2D jsou stabilní v průběhu terapie, nově popsali mutace v genu MS4A1, který kóduje CD20, tyto mutace vznikají v průběhu terapie rituximabem a vedou k rezistenci nádoru.

Celá řada prezentací se zabývala ctDNA, největší množství výsledků bylo prezentováno skupinou, již vede Ash Alizadeh. Ukázali mimo jiné, že hladina ctDNA koreluje s dobou od stanovení diagnózy k zahájení léčby (16). Biologická (genetická) charakterizace DLBCL je možná nejen z nádoru ale i ze ctDNA (17), ctDNA je možné využít k predikci výsledku léčby, její monitoraci, charakterizaci mechanismu rezistence na CAR T-cell (axi-cel) terapii. (18)

Ve francouzské randomizované studii (19) snažící se zlepšit výsledky léčby u DLBCL pacientů starších 80ti let byly srovnávány režimy R-miniCHOP a kombinací R-miniCHOP + lenalidomid (R²-miniChOP). Výsledky léčby byly prakticky identické s dvouletým přežitím 66% v obou ramenech.

Burkittův lymfom (BL)

V rozsáhlé multicentrické retrospektivní analýze 557 pacientů s BL ukázali Evens a spol. **(20)**, že výsledky v reálné praxi jsou horší než v menších prospektivních studiích. Intenzivní terapie a použití rituximabu je spojeno s lepším osudem nemocných. Na stejné kohortě byla provedena analýza CNS postižení **(21)**. Ukázalo se, že horší stav zdatnosti (PS) a přítomnost CNS postižení při diagnóze je spojena se signifikantně vyšším rizikem následného CNS postižení. Mezi použitými intenzivními režimy je DA-EPOCH spojen s výrazně vyšším rizikem CNS postižení.

Periferní T lymfomy (PTCL)

Studie ECHELON 2 demonstrovala, že výměna vincristinu brentuximabem vedotinem: A-CHP vede při srovnání s režimem CHOP u CD30 pozitivních lymfomů (zejména ALCL) k signifikantnímu prodloužení nejen PFS, ale i OS **(22)**. Vzhledem k tomu, že ASCT v terapii první linie PTCL je stále kontroverzním tématem a že v rámci studie ECHELON 2 byla předem plánovaná transplantace umožněna, byla provedena analýza pacientů, kteří dosáhli CR a byli dále sledováni či transplantováni **(23)**. Konsolidační ASCT byla spojena se signifikantním snížením rizika progresu či úmrtí o 62% (HR 0,38). Výsledek je však nutné brát s rezervou, neboť skupina zařazená do studie byla selektována - musela být CD30 pozitivní.

Zajímavou molekulou je cerdulatinib, duální SYK/JAK inhibitor. Jeho použití u 60 relabovaných či refrakterních PTCL vedlo k ORR 35% s nejvyšším ORR u angioimunoblastického lymfomu (55%) **(24)**.

Bispecifické protilátky

Do sekce plenárních přednášek byla jako jedna ze šesti vybrána studie s mosunetuzumabem (bispecifická antiCD20 a antiCD3 protilátka). Schuster a spol. **(25)** demonstrovali výsledky na skupině 270 pacientů. U 124 hodnotitelných pacientů s agresivním lymfomem bylo dosaženo ORR 37% a 19% CR. Ve skupině 67 hodnotitelných pacientů s indolentním lymfomem byla ORR 63% a CR 43%.

Z dalších bispecifických protilátek byly prezentovány výsledky s CD20-TCB v kombinaci s anti PD-L1 inhibitorem atezolizumabem, kdy bylo dosaženo 36% celkových odpovědí a 17% kompletních remisí **(26)**. Kombinace téže protilátky s obinutuzumabem vedla k dosažení 48% celkových odpovědí a 43% kompletních remisí **(27)**. Bispecifická protilátka antiCD20 a antiCD3 REGN1979 dosáhla ve vyšších dávkách 5 CR z osmi pacientů s DLBCL.

CAR T-cell

Rozsáhlý soubor pacientů s DLBCL léčených lisocabtagenem maraleucelem v rámci studie TRANSCEND 001 prezentoval J. Abramson **(28)**. Z celkového počtu 344 pacientů, kteří podstoupili leukaferézu, dostalo CAR T-cell produkt 294 (85,5%), hlavním důvodem, proč nebyl lék podán bylo úmrtí (33 pac, 10 %), produkt splňující všechna kritéria dostalo 269 pacientů (78%). U hodnocených pacientů bylo dosaženo ORR 73% a CR 53%. Křivky trvání odpovědi, PFS a OS byly podobné jako u již schválených přípravků. Neurotoxická a syndrom uvolnění cytokinů stupně 3 a více se vyskytl u 10% a 2% resp.

Předběžné výsledky fáze II studie s novou formou CAR T-cell KTE-X19 u relabujícího/refrakterního MCL) – studie ZUMA-2 - jsou velmi slibné. U 20 hodnotitelných pacientů byla zaznamenána ORR 86% a CR 57%. **(29)**

Několik prací analyzovalo rozsáhlý soubor 300 pacientů léčených axicabtagenem ciloleucelem (axi-cel), z nichž 23 (7,7%) nedostalo převod léku. První **(30)** se zabývala srovnáním osudu pacientů s přemostující terapií (53%) a těch, kteří tuto terapii nedostali (47%). Celkem nepřekvapivě byl osud pacientů s přemostující terapií signifikantně horší než srovnávané skupiny. Tito pacienti také měli výrazně horší prognostické charakteristiky, jinými slovy byli to pacienti, kteří vyžadovali terapii okamžitě, což je samo o sobě spojeno s horší prognózou. CAR T-cell se zatím standardně nepoužívají u pacientů s postižením CNS. Bennani a spol. **(31)** prezentovali zatím nejrozsáhlejší soubor pacientů se sekundárním CNS postižením. Z celkového počtu 300 pacientů bylo v době leukaferézy identifikováno CNS postižení u 17 (6%). Toxicita, odpověď i křivky přežití byly podobné jako u pacientů bez CNS postižení.

Otázkou ambulantního podávání CAR T-Cell se zabývalo několik retrospektivních analýz. Skupina z Pennsylvanie **(32)** podala ze 30 pacientů tisagenlecleucel (tisa-cel) ambulantně 28 a z nich muselo být přijato 9 (32%). Zemřel jediný pacient na progresi lymfomu. Ze 37 pacientů ambulantně léčených v různých studiích přípravkem lisocabtagene maraleucel (liso-cel) **(33)** bylo nutno přijmout 22 (59%).

Na závěr nelze nezmínit českou stopu v lymfomové problematice na ASH 2019, ať již to bylo spoluúčastí na řadě orálních sdělení včetně prvoautorského **(7)**, posterů Kooperativní lymfomové skupiny zabývající se významem mutací a cytogenetických aberací u MCL **(34)**, časnými relapsy u FL **(35)** a posterem brněnské skupiny studujícího mutační charakteristiku ALCL **(36)**.

Odkazy:

1. Bai B, Vodák D, Nakken S, Wise JF, Blaker YN, et al. 2019. *Blood* 134: 20; **2.** Jurinovic V, Passerini V, Oestergaard MZ, Knapp A, Mundt K, et al. 2019. *Blood* 134: 122; **3.** Morschhauser F, Tilly H, Chaidos A, Phillips TJ, Ribrag V, et al. 2019. *Blood* 134: 123; **4.** Nastoupil LJ, Westin JR, Hagemeister FB, Lee HJ, Fayad L, et al. 2019. *Blood* 134: 125; **5.** Morschhauser F, Fowler NH, Feugier P, Bouabdallah R, Tilly H, et al. 2018. *N Engl J Med* 379: 934-47; **6.** Leonard JP, Trnety M, Izutsu K, Fowler NH, Hong X, et al. 2019. *J Clin Oncol* 37: 1188-99; **7.** Trněný M, Leonard JP, Zhang H, Nowakowski G, Izutsu K, et al. 2019. *Blood* 134: 347; **8.** Khouri IF, Milton DR, Ledesma C, Nastoupil LJ, Jabbour E, et al. 2019. *Blood* 134: 322; **9.** Joffe E, Kumar A, Zheng S, Uppal M, Bantilan KS, et al. 2019. *Blood* 134: 22; **10.** Tam CS, Anderson MA, Pott C, Agarwal R, Handunnetti S, et al. 2018. *N Engl J Med* 378: 1211-23; **11.** Handunnetti SM, Anderson MA, Burbury K, Hicks RJ, Birbisa B, et al. 2019. *Blood* 134: 756; **12.** Schmitz R, Wright GW, Huang DW, Johnson CA, Phelan JD, et al. 2018. *N Engl J Med* 378: 1396-407; **13.** Chapuy B, Stewart C, Dunford AJ, Kim J, Kamburov A, et al. 2018. *Nat Med* 24: 679-90; **14.** Chapuy B, Stewart C, Wood T, Dunford A, Wienand K, et al. 2019. *Blood* 134: 920; **15.** Rushton C,

Arthur SE, Alcaide M, Cheung M, Thomas N, et al. 2019. *Blood* 134: 921; **16.** Alig S, Macaulay C, Kurtz DM, Dührsen U, Hüttmann A, et al. 2019. *Blood* 134: 491; **17.** Esfahani MS, Alig S, Kurtz DM, Soo J, Jin MC, et al. 2019. *Blood* 134: 551; **18.** Sworder B, Kurtz DM, Macaulay C, Frank MJ, Alig S, et al. 2019. *Blood* 134: 550; **19.** Oberic L, Puyade M, Peyrade F, Maisonneuve H, Abraham J, et al. 2019. *Blood* 134: 352; **20.** Evens AM, Danilov A, Jagadeesh D, Sperling A, Kim S-H, et al. 2019. *Blood* 134: 397; **21.** Zayac A, Evens AM, Stadnik A, Smith SD, Jagadeesh D, et al. 2019. *Blood* 134: 402; **22.** Horwitz S, O'Connor OA, Pro B, Illidge T, Fanale M, et al. 2019. *Lancet* 393: 229-40 **23.** Savage KJ, Horwitz SM, Advani RH, Christensen JH, Domingo-Domenech E, et al. 2019. *Blood* 134: 464; **24.** Horwitz SM, Feldman TA, Hess BT, Khodadoust MS, Kim YH, et al. 2019. *Blood* 134: 466; **25.** Schuster SJ, Bartlett NL, Assouline S, Yoon S-S, Bosch F, et al. 2019. *Blood* 134: 6; **26.** Hutchings M, Gritti G, Sureda A, Terol MJ, Dyer MJ, et al. 2019. *Blood* 134: 2871; **27.** Morschhauser F, Carlo-Stella C, Offner F, Salles GA, Hutchings M, et al. 2019. *Blood* 134: 1584; **28.** Abramson JS, Palomba ML, Gordon LI, Lunning MA, Wang ML, et al. 2019. *Blood* 134: 241; **29.** Wang ML, Munoz J, Goy A, Locke FL, Jacobson CA, et al. 2019. *Blood* 134: 754; **30.** Jain MD, Jacobs MT, Nastoupil LJ, Spiegel JY, Feng G, et al. 2019. *Blood* 134: 245; **31.** Bannani NN, Maurer MJ, Nastoupil LJ, Jain MD, Chavez JC, et al. 2019. *Blood* 134: 763; **32.** Dwivedy Nasta S, Namoglu EC, Hughes ME, Chong EA, Svoboda J, et al. 2019. *Blood* 134: 3240; **33.** Bachier CR, Palomba ML, Abramson JS, Andreadis C, Sehgal AR, et al. 2019. *Blood* 134: 2868; **34.** Obr A, Kleiner P, Jr., Kriegova E, Zemanova Z, Urbankova H, et al. 2019. *Blood* 134: 3995; **35.** Prochazka VK, Belada D, Janikova A, Benesova K, Mocikova H, et al. 2019. *Blood* 134: 3983 **36.** Lobello C, Tichý B, Bystrý V, Radova L, Filip D, et al. 2019. *Blood* 134: 1490-

E 06

HODGKINŮV LYMFOM 2020: OD CHEMOTERAPIE K IMUNOTERAPII

Procházka V.

Hemato-onkologická klinika FN a LF UP v Olomouci

Úvod

Soubor informací, které přinesl 61. kongres ASH na poli výzkumu Hodgkinova lymfomu (HL) se dá shrnout do tří základních okruhů: [1] pokroků na poli poznání biologie HRS buňky, jejího mikroprostředí a prognostických faktorů nemoci [2] zavádění imunoterapie do léčby [3] nákladová efektivita (udržitelnost) moderní terapie.

Všechna tato témata rezonovala na úvodním edukačním sympoziu (1). Dr. Andrew Evens (Rutgers Cancer Institute of New Jersey, New Brunswick) shrnul obtížné téma HL u starších nemocných počínaje incidencí, tolerancí a efektivitou konvenční léčby, důležitost geriatrických prognostických systémů až po naději v podobě integrace nových molekul do úvodní terapie starších HL. Dr. Ann LaCasce (Dana Farber Cancer Institute, Boston) podala vyčerpávající přehled poznatků na poli mikroprostředí a jejich významu pro design nových terapeutických přístupů. Pochopení imunitních interakcí mezi HRS buňkou, její imunitním milieu

a organismem nemocného je klíčové také pro pochopení efektivity imunoterapie a to jak v první linii léčby, tak u relabovaných nemocných. Dr. Scott Huntington (Yale University, New Haven) demonstroval na příkladu úvodní léčby HL nákladovou efektivitu léčby konvenční terapií a diskutoval postupy, kterými bychom měli hodnotit přínos moderní léčby ve vztahu k nákladům tak, aby byl zajištěn rovný přístup k moderní léčbě, ale také její finanční udržitelnost.

Biologie HRS buňky a prognostické faktory

Výzkumu poznatků na poli biologie HRS a vztahu k mikroprostředí byla věnována celá sekce: „Hodgkin Lymphoma: Genes to Microenvironment to Immunotherapy“ (2). Ralf Küppers (University of Duisburg-Essen, Essen) prezentoval poznatky na poli genomu HRS buňky získané pomocí mikrodisekčních studií a vyšetření volné nádorové DNA (cell free DNA, cfDNA). Techniky celoexomového sekvenování přinášejí hlubší vhled od genomu HRS. Maher K. Gandhi (University of Queensland, Brisbane) se zaměřil na funkční dopad genetických změn (JAK-STAT, NFkB) nádorové buňky na složení a funkci buněk mikroprostředí. Translační sdělení, které ukazuje na praktické implikace výše uvedených poznatků na poli imunoterapie shrnula Barbara Savoldo (University of North Carolina at Chapel Hill) – zejména možnosti nových CAR-T cell zaměřených proti CD30 antigenu a současně receptoru CCR4. V éře moderní imunoterapie nabývají na důležitosti prediktory odpovědi na tuto terapii – v tomto kontextu je zajímavá práce monitorující mutační nálož kandidátních genů jednotlivých signálních drah (např. JAK-STAT, NF- κ B, PI3K-AKT, NOTCH) technikami metod sekvenování nové generace z vzorků cfDNA z periferní krve (3). Uvedená technologie umožňuje přesné sledování odpovědi i případné klonální evoluce nemocných léčených PD-1 inhibitory. Velmi robustním prognostickým faktorem se ukazuje být stanovení objemu metabolicky aktivní tkáně. Poolovaná data dvou studií EORTC/LYSA/FIL H10 a AHL2011 LYSA na nemocných se středním, respektive pokročilým HL jasně prokázala, že objem tumoru při diagnóze a odpověď po 2 cyklech léčby (PET2) jsou hlavními determinantami pro léčebnou odpověď (4).

Úvodní terapie HL

Sarah Gillesen prezentovala výsledky dlouhodobého sledování nemocných ve studii HD14 (5). Mladší nemocní s časným, nepříznivým HL byli randomizováni mezi rameno 4 ABVD a 2xBEACOPPesc + 2 ABVD (2+2). Při mediánu doby sledování 97 měsíců vykazovali nemocní v rameni 4 ABVD třikrát více progresí/relapsů (10,2 %) ve srovnání s 2+2 (3,4 %), což vedlo v šesti-procentním rozdílu v 10-letém PFS (85,6 % vs 91,2 %). Pozdní toxicita ani přežití se významně nelišilo.

Velmi zajímavý koncept, jak snížit riziko toxicity kombinací brentuximab-vedotinu (BV), rituximabu (R) s redukovanou chemoterapií (AVD+prednison) u velmi mladých nemocných prezentovala Jessica C. Hochberg (New York Medical College, Valhalla, NY) (6). Nemocní byli na základě stádia, přítomnosti bulk a případného extranodálního postižení rozděleni na časná stádium (3 cykly BV-AVD-prednison), střední a pokročilé stádium (4 nebo 6 cyklů BV-AVD-prednison s podáním 4 dávek rituximabu). Dle časného hodnocení PET (po 2 cyklech, iPET-2) byli nemocní s časnou CMR léčeni dalšími 2 cykly BV-AVD-prednison (střední stádium), případně 2 cykly vinorelbin/ifosfamid (vysoké riziko). Z celkem 33 zahrnutých nemocných (medián věku 15 let) dosáhlo 100 % CR, z nichž 58 % časnou CMR dle iPET-2

umožňující redukci intenzity léčby. Akutní toxicita byla tolerovatelná s pouze 4 epizodami stupně III dle WHO. Při mediánu sledování 44 měsíců je EFS zatím 100 %.

Kombinaci nivolumabu (nivo) s chemoterapií testovala prospektivní, německá randomizovaná studie II fáze NIVAHL (7). Nemocní časného stádia HL byli léčeni buď kombinací nivo-AVD celkem 4 cykly co 28 dní (nivo byl podáván den 1 a 15 každého cyklu) [rameno A], nebo byla identická léčba podána sekvenčně – se 4 dávkami nivo v úvodu, poté 2*nivo-AVD a 2 AVD [rameno B]. Obě skupiny byly konsolidovány involved-site radioterapií (IS-RT) v dávce 30Gy. Zatím bylo zařazeno 109 nemocných, z nichž při časném hodnocení odpovědi dosáhlo celkovou odpověď (overall response rate, ORR) 100 % [rameno A] a 96 % [rameno B] nemocných. Po dokončení terapie bylo procento celkových remisí (CR) 81 % [A] a 86 % [B].

Terapie relapsu HL

Nadějí v terapii relabovaných nemocných je uplatnění nových molekul v kombinaci s chemoterapií. Aspasia Stamatoullas (Centre Henri Becquerel, Rouen) prezentovala data studie fáze I/II testující podání salvage BV-ICE s následnou ASCT (8). Po druhém cyklu terapie byl prováděn PET, odpovídající nemocní byli léčeni 3. cyklem BV-ICE. Celkem byla hodnotitelná odpověď u 39 nemocných, všichni pacienti byli léčeni prvními 2 cykly, 78,6 % i 3. cyklem, 20 nemocných absolvovalo ASCT. Po 2 cyklech 27 (69,2 %) nemocných dosáhlo kompletní metabolickou odpověď a jen tři nemocní na terapii progredovali. PFS v jednom roce dosáhlo 69 %. Toxicita byla tolerovatelná a sběr periferních kmenových buněk úspěšný (medián $7,2 \cdot 10^6$ /kg CD34+ buněk).

Alison J. Moskowitz (Memorial Sloan Kettering Cancer Center, New York) prezentovala zralá data studie I/II fáze kombinující BV-nivo v relapsu HL. Nemocní byli léčeni až 4 cykly BV (1,8mg /kg) a 4 cykly nivo (3,0 mg/kg). Celkem 86 (92 %) nemocných absolvovalo všechny 4 cykly léčby, ORR dosáhlo 85 %, s tím, že 67 % nemocných osáhlo CR. Celkem 67 nemocných následně absolvovalo ASCT. PFS ve 2 letech dosáhl 78 % v celé populaci a 91 % u nemocných, kteří absolvovali ASCT (9).

Závěr

Trendem poslední doby je uplatnění poznatků biologie nádorové buňky a imunitního vztahu mezi nádorem a hostitelem do klinické praxe. Nové léčiva jako inhibitory dráhy programované buněčné smrti a konjugáty protilátky a toxinu nacházejí své místo v časnějších liniích léčby. Cizelují se chemoterapeutické postupy s cílem adresné léčby, zde má nezastupitelnou úlohu metrický PET. Novou nadějí pro relabované nemocné, představují nové protokoly, kombinující imunoterapii a chemoterapii, ale také rozvíjející se třída cílené CD30-CAR-T-cell terapie.

Reference:

1. *Hodgkin Lymphoma: Celebrating 200 Years Since Thomas Hodgkin Entered Medicine. Educational Program.*
2. *Hodgkin Lymphoma: Genes to Microenvironment to Immunotherapy. Scientific program.*
3. *Longitudinal Assessment of Circulating Tumor Mutational Burden Using a Next-Generation Sequencing Cancer Gene Panel: A Potential Biomarker of Response to Programmed Cell Death 1 (PD-1) Blockade in Patients with Relapsed/Refractory Classical Hodgkin Lymphoma*

4. *Stage IIb High Risk Hodgkin Lymphoma Treated in the H10 and AHL2011 Trials: Similar Efficacy of Both Strategies and Prognostic Impact of Baseline Tmtv and PET2 Response*
5. *Dose-Intensification in Early Unfavorable Hodgkin Lymphoma: Long-Term Follow up of the German Hodgkin Study Group (GHSG) HD14 Trial,*
6. *Reducing the Burden of Chemoradiotherapy with the Combination of Brentuximab Vedotin and Rituximab with Reduced Toxicity Chemotherapy in Children, Adolescents and Young Adults with Newly Diagnosed Hodgkin Lymphoma*
7. *Nivolumab and AVD for Early-Stage Unfavorable Hodgkin Lymphoma (NIV AHL)*
8. *Brentuximab Vedotin in First Refractory/Relapsed Classical Hodgkin Lymphoma Patients Treated By Chemotherapy (ICE) before Autologous Transplantation. Final Analysis of Phase II Study*
9. *Brentuximab Vedotin and Nivolumab for Relapsed or Refractory Classic Hodgkin Lymphoma: Long-Term Follow-up Results from the Single-Arm Phase 1/2 Study*

E07

CHRONICKÁ LYMFOCYTÁRNÍ LEUKEMIE V ROCE 2020

Doubek M.

Interní hematologická a onkologická klinika LF MU a FN Brno

Poslední roky přinášejí stále více poznatků o molekulárních změnách, které hrají zásadní roli v patogenezi chronické lymfocytární leukemie (CLL). Stále lepší poznání podstaty onemocnění se pak odráží v pokrocích v určování prognózy i léčbě nemoci (1).

Pokud jde o diagnostiku nemoci, ta se se nemění. Vyšetření zobrazovacími metodami není stále u CLL při diagnostice nezbytné.

Na prognózu nemoci i v éře nových léčiv má stále největší vliv gen TP53 a jeho defekty. Velice přesným parametrem je mezinárodní prognostický index CLL-IPI (2), který ale dle našich i zahraničních zkušeností není plně začleněn do běžné hematologické praxe.

Největší změny tak nastávají v oblasti terapie CLL. Indikace k léčbě se sice stále nemění, i nyní platí, že léčba není u asymptomatických forem CLL indikována, ale významně se rozšiřuje spektrum léčebných možností. Začíná být patrný ústup chemoimunitarie ve prospěch nové cílené léčby CLL.

Kromě terapie CLL se mění i přístup k hodnocení léčebné odpovědi, kde se stále více uplatňuje měření minimální zbytkové nemoci (MRD) jak pomocí průtokové cytometrie tak pomocí molekulárně genetických metod.

Z nových léčiv, která se dostávají do terapie CLL, hrají a blízké budoucnosti budou hrát klíčovou roli nové monoklonální protilátky (obinutuzumab), inhibitory B buněčného receptoru (ibrutinib) a Bcl-2 inhibitory (venetoklax). Lze rovněž předpokládat, že se budou užívat kombinace těchto léčiv.

Inhibitory B-buněčného receptoru

Aktivace B buněčného receptoru (BCR) hraje klíčovou roli v patogenezi CLL. Inhibice Brutonovy tyrosinkinázy, zapojené do BCR signalizace, se ukázala jako velice potentní léčebná metoda u pacientů s CLL ať už v první linii, tak i u relabované a refrakterní CLL (R/R CLL).

Ibrutinib je orální, selektivní a ireverzibilní inhibitor Brutonovy tyrosinkinázy. V jedné z prvních studií provedené Byrdem et al. byla popsána účinnost léčby ibrutinibem u 101 pacientů s R/R CLL (3). Medián věku byl 64 let (rozsah 37–82). Celková léčebná odpověď (ORR) dosahovala až 90 %, z toho 7 % byly kompletní remise (CR) a 65 % parciální remise (PR). Odhadované přežití bez progresu (PFS) ve 30 měsících léčby činilo 69 %. PFS vysoce rizikových skupin (defekty *TP53*) a del (11q) bylo horší než u pacientů bez těchto změn, ale výrazně lepší než u pacientů léčených chemoimunoterapií. Účinnost ibrutinibu potvrdila studie RESONATE u pacientů s R/R CLL (4). Díky jejím povzbuzivým výsledkům získal ibrutinib schválení FDA v USA. Studie RESONATE-2 potvrdila úspěšnost i v léčbě starších pacientů bez předchozí léčby (5). Přes tyto úspěchy je problémem vznik rezistence na ibrutinib, což je předmětem intenzivního zkoumání včetně pracovišť v ČR. V současnosti také probíhají klinické studie zkoumající použití ibrutinibu v kombinovaných režimech – například s rituximabem (6,7).

Lze předpokládat, že brzy se do klinické praxe dostanou další inhibitory BCR, například acalabrutinib či zanubrutinib (8).

Na ASH 2019 byly představeny výsledky studie ELEVATE TN, která srovnávala acalabrutinib plus obinutuzumab versus acalabrutinib versus chlorambucil plus obinutuzumab. Výsledky ukazují jasnou výhodu kombinace acalabrutinibu s obinutuzumabem (Sharman et al., abstrakt 31). Rovněž kombinace acalabrutinib venetoclax a obinutuzumab se jeví jako velice účinná (Lampson et al., abstrakt 32). Vysoce účinná je i kombinace ibrutinib a venetoklax (Jain et al., abstrakt 33). Zanubrutinib je velice účinný v monoterapii v léčbě první linie i u R/R CLL (Tam et al., abstrakt 499; Cull et al., abstrakt 500).

Inhibitory PI3 kinázy

PI3K-δ je nezbytná pro aktivaci, proliferaci a přežití B buněk a je zvýšeně exprimována u mnohých B-buněčných malignit včetně CLL. Idelalisib je selektivní a reverzibilní inhibitor PI3K-δ. Ve studii na u pacientů s R/R CLL a nevhodnými pro chemoterapii byla testována účinnost kombinace rituximabu s idelalisibem. Celkem 220 pacientů dostávalo idelalisib a rituximab. Kombinace byla srovnávána s rituximabem plus placebo (9). Tato studie demonstrovala jasně lepší účinnost kombinace idelalisibu s rituximabem. Na základě výsledků této studie byl idelalisib schválen FDA k léčbě R/R CLL.

Dalším testovaným inhibitorem PI3 kinázy je například duvelisib (10). Kombinace duvelisibu s venetoklaxem byla představena na ASH 2019 (Crombie et al., abstrakt 1763).

Inhibice Bcl-2

CLL buňky produkují velké množství antiapoptotických proteinů, mezi něž se řadí Bcl-2. Z inhibitorů Bcl-2 do léčby CLL jako první zasahuje venetoklax. Venetoklax (ABT-199) je

vysoce účinný u pacientů s R/R CLL. Celková léčebná odpověď (ORR) dosahuje až 77 % včetně velkého počtu CR (11, 12).

Kombinační terapie nových léčiv s monoklonálními protilátkami a jejich kombinace navzájem

Pro léčbu CLL v blízké budoucnosti bude zásadní omezení podávání chemoterapie a narůstající používání kombinací nových léčiv s monoklonálními protilátkami, případně v delším časovém horizontu používání kombinací nových léčiv navzájem. Důležitý je také trend k omezení podávání kombinované terapie na 1-2 roky, tedy nikoliv podávání trvalé, s měřením léčebné odpovědi podle hladiny MRD.

Běžnou praxi v roce 2020 pozmění především dvě léčebné kombinace: venetokax plus rituximab pro R/R CLL a venetoklax plus obinutuzumab pro léčbu CLL v první linii.

Kombinace venetoklaxu s rituximabem byla testována u 49 pacientů s R/R CLL s výbornými výsledky (13). ORR byla 86 %, počet CR byl 51 %. PFS ve dvou letech bylo 82 %. Negativita MRD v kostní dřeni byla zjištěna u 80 % pacientů v CR a 57 % všech nemocných.

V randomizované otevřené studii fáze 3 (MURANO) dostalo 389 nemocných buď venetoklax (léčba 2 roky) doplněný o rituximab v prvních 6 měsících (VR), nebo bendamustin s rituximabem (BR) (14). Medián sledování byl 23,8 měsíců. PFS ve dvou letech bylo 84,9 % ve skupině VR a jen 36,3 % ve skupině BR. Benefit kombinace VR byl patrný u všech prognostických skupin CLL včetně defektů genu *TP53*. Kombinace VR byla častěji provázena neutropeniemi, ale incidence febrilních neutropenií byla vyšší v rameni BR. Je třeba také vyzdvihnout vysoké procento pacientů, kteří dosáhli při léčbě VR MRD negativitu (62 % MRD negativit v periferní krvi). Na základě výsledků této studie se stala kombinace VR další z možností léčby pacientů s R/R CLL.

Kombinace venetoklax a obinutuzumab podávaná po časově omezenou dobu 1 roku byla poprvé zkoušena u 12 nemocných s dříve neléčenou CLL a komorbiditami (skóre CIRS nad 6 nebo kreatininová clearance pod 70 ml/min). Šlo o tzv. „run-in“ fázi studie CLL14. Během této úvodní fáze bylo dosaženo povzbudivých výsledků (ORR 100 %, nedetekovatelná MRD u 11 z 12 nemocných) (15), takže studie pokračovala jako randomizovaná studie fáze 3, v níž byla kombinace venetoklax s obinutuzumabem (ObiV) srovnávána s kombinací chlorambucil s obinutuzumabem (ObiClb). Každá skupina měla 216 pacientů (16). Medián sledování byl 28,1 měsíce. V tomto mediánu bylo dosaženo PFS ve dvou letech 8,2 % ve skupině ObiV a 64,1 % ve skupině ObiClb. Kombinace ObiV byla výrazně účinnější i u pacientů s defektem *TP53* nebo nemutovaným genem pro těžký řetězec imunoglobulinů. Infekční komplikace a počty neutropenií byly lehce vyšší ve skupině ObiV. K nejvýznamnějším výsledkům této studie patří zjištění, že kombinace ObiV navozuje velmi vysoké procento MRD negativit (76 % v periferní krvi a 57 % v kostní dřeni). Dosažení MRD negativity je silným prediktorem dlouhého PFS (Fischer et al., ASH 2019, abstrakt 36).

Kromě těchto studií se možná v brzké době v běžné praxi dočkáme i dalších léčebných kombinací. Studie fáze 2 s názvem CLARITY testuje kombinaci venetoklax s ibrutinibem u R/R CLL (17). Primárním endpointem je eradikace MRD po 12 měsících terapie. Po 12 měsících kombinované léčby bylo dosažení MRD negativity 53 % v periferní krvi

a 36 % v kostní dřeni. ORR byla 89 % a procento CR bylo 51 %. Jiná studie fáze 2 kombinující venetoklax s ibrutinibem u dosud neléčených starších pacientů s CLL (18) vedla k navození 61 % MRD negativit.

Venetoklax nebo idelalisib lze kombinovat i s anti-CD19 protilátkou tafasitamabem (Staber et al., ASH 2019, abstrakt 1754) či cirmtuzumabem (anti-ROR protilátkou; Choi et al., ASH 2019, abstrakt 1755). Některá další léčiva a jejich kombinace, která jsou nyní u CLL testována, ukazuje tabulka 1. Nelze ani opomenout léčebný potenciál CAR T lymfocytů u R/R CLL (Siddiqui et al., ASH 2019, abstrakt 503).

Závěr

Léčba CLL už ani zdaleka není založena na chemoimunoetapii. Ta bude postupně vytlačována novými léčivy a jejich kombinacemi, které se budou podávat po omezenou dobu, tedy nikoliv trvale. Zejména půjde o kombinace venetoklaxu s rituximabem a venetoklaxu s obinutuzumabem. Léčebná odpověď bude stále více založena na analýze MRD. Zatím ale zůstává nezodpovězena řada otázek, především to, která z nových léčiv použít pro které pacienta, která dát v první linii a která naopak spíše u R/R CLL.

Literatura

1. Hallek, M. *Chronic lymphocytic leukemia: 2020 update on diagnosis, risk stratification and treatment*. Am. J. Hematol. 2019; 94(11):1266-1287
2. International CLL IPI working group. *An international prognostic index for patients with chronic lymphocytic leukaemia (CLL-IPI): a meta-analysis of individual patient data*. Lancet Oncol. 2016; 17: 779-790.
3. Byrd JC, Furman RR, Coutre SE et al. *Targeting BTK with ibrutinib in relapsed chronic lymphocytic leukemia*. N. Engl. J. Med. 2013; 369: 32-42.
4. Byrd JC, Brown JR, O'Brien S et al. *Ibrutinib versus ofatumumab in previously treated chronic lymphoid leukemia*. N. Engl. J. Med. 2014; 371: 213-223.
5. O'Brien SM, Byrd JC, Hillmen P. et al. *Outcomes with ibrutinib by line of therapy and post-ibrutinib discontinuation in patients with chronic lymphocytic leukemia: Phase 3 analysis*. Am. J. Hematol. 2019; 94: 554-562.
6. Burger JA, Keating MJ, Wierda WG et al. *Safety and activity of ibrutinib plus rituximab for patients with high-risk chronic lymphocytic leukaemia: a single-arm, phase 2 study*. Lancet Oncol, 2014; 15:1090-1099.
7. Jaglowski SM, Jones JA, Nagar V, et al. *Safety and activity of BTK inhibitor ibrutinib combined with ofatumumab in chronic lymphocytic leukemia: a phase 1b/2 study*. Blood 2015; 126: 842-850.
8. Byrd JC, Harrington B, O'Brien S et al.: *Acalabrutinib (ACP-196) in relapsed chronic lymphocytic leukemia*. N. Engl. J. Med. 2016; 374: 323-332.
9. Furman, R. R. – Sharman, J. P. – Coutre, S. E., et al.: *Idelalisib and rituximab in relapsed chronic lymphocytic leukemia*. N. Engl. J. Med. 2014; 370: 997-1007.

10. O'Brien S, Patel M, Kahl BS et al. Duvelisib (IPI-145), a PI3K- δ,γ inhibitor, is clinically active in patients with relapsed/refractory chronic lymphocytic leukemia. *ASH Annual Meeting 2014*, abstract p. 3334.
11. Roberts AW, Davids MS, Pagel JM et al. Targeting BCL2 with venetoclax in relapsed chronic lymphocytic leukemia. *N. Engl. J. Med.* 2016; 374: 311-322.
12. Stilgenbauer S, Eichhorst B, Schetelig J et al. Venetoclax in relapsed or refractory chronic lymphocytic leukaemia with 17p deletion: a multicentre, open-label, phase 2 study. *Lancet Oncol.* 2016; 17: 768-778.
13. Seymour JF, Ma S, Brander DM et al. Venetoclax plus rituximab in relapsed or refractory chronic lymphocytic leukaemia: a phase 1b study. *Lancet Oncol.* 2017;18:230-240.
14. Seymour JF, Kipps TJ, Eichhorst B et al. Venetoclax-Rituximab in Relapsed or Refractory Chronic Lymphocytic Leukemia. *N. Engl. J. Med.* 2018; 378: 1107-1120.
15. Fischer K, Al-Sawaf O, Fink AM et al. Venetoclax and obinutuzumab in chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2017; 129: 2702-2705.
16. Fischer K, Al-Sawaf O, Bahlo J et al. Venetoclax and Obinutuzumab in Patients with CLL and Coexisting Conditions. *N. Engl. J. Med.* 2019; 380: 2225-2236.
17. Hillmen P, Rawstron AC, Brock K et al. Ibrutinib Plus Venetoclax in Relapsed/Refractory Chronic Lymphocytic Leukemia: The CLARITY Study. *J. Clin. Oncol.* 2019: JCO1900894.
18. Jain N, Keating M, Thompson P et al. Ibrutinib and Venetoclax for First-Line Treatment of CLL. *N. Engl. J. Med.* 2019; 380: 2095-2103.
19. Flinn IW, Hillmen P, Montillo M et al. The phase 3 DUO trial: duvelisib versus ofatumumab in relapsed and refractory CLL/SLL. *Blood* 2018; 132(23):2446-2455.
20. Shanafelt TD, Wang V, Kay NE et al. A Randomized Phase III Study of Ibrutinib (PCI-32765)-Based Therapy Vs. Standard Fludarabine, Cyclophosphamide, and Rituximab (FCR) Chemoimmunotherapy in Untreated Younger Patients with Chronic Lymphocytic Leukemia (CLL): A Trial of the ECOG-ACRIN Cancer Research Group (E1912). *ASH Annual Meeting 2018*; LBA-4.
21. Rogers KA, Huang Y, Ruppert AS et al. Phase 1b study of obinutuzumab, ibrutinib, and venetoclax in relapsed and refractory chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2018; 132(15): 1568-1572.
22. Turtle CJ, Hay KA, Hanafi L-A et al. Durable Molecular Remissions in Chronic Lymphocytic Leukemia Treated With CD19-Specific Chimeric Antigen Receptor-Modified T Cells After Failure of Ibrutinib. *J. Clin. Oncol.* 2017; 35(26): 3010-3020.

Tabulka 1. Nová léčiva a léčebné kombinace testované u chronické lymfocytární leukemie (CLL). BCRi – inhibitory signalizace B buněčného receptoru; R/R – relabovaný/refrakterní.

Léčivo, kombinace léčiv	Indikace	Studie	Odkaz <i>in extenso</i>
Duvelisib	R/R CLL	DUO; fáze 3	(19)
Ibrutinib+rituximab	1. linie léčby CLL	E1912; fáze 3	Předběžné výsledky (20)
Ibrutinib+obinutuzumab+venetoklax	R/R CLL	OSU-14266; fáze 1b	(21)
Venetoklax+ibrutinib	1. linie léčby CLL	GLOW; fáze 2; první výsledky 2020	Identifikátor na ClinicalTrials.gov: NCT02910583
Acalabrutinib	R/R CLL	ACE-CL-309; fáze 3; první výsledky 2020	Identifikátor na ClinicalTrials.gov: NCT02970318
Zanubrutinib	1. linie léčby CLL	BGB-3111-304; fáze 3; první výsledky 2020	Identifikátor na ClinicalTrials.gov: NCT03336333
Zanubrutinib	R/R CLL	BGB-3111-305; fáze 3; první výsledky 2021	Identifikátor na ClinicalTrials.gov: NCT03734016
T lymfocyty s chimerickým antigenním receptorem (CAR-T)	R/R CLL	NCI-2013-00073; fáze 1/2	Předběžné výsledky (22)

E 09**MDS - PROGNÓZA A TERAPIE (ASH 2019)**

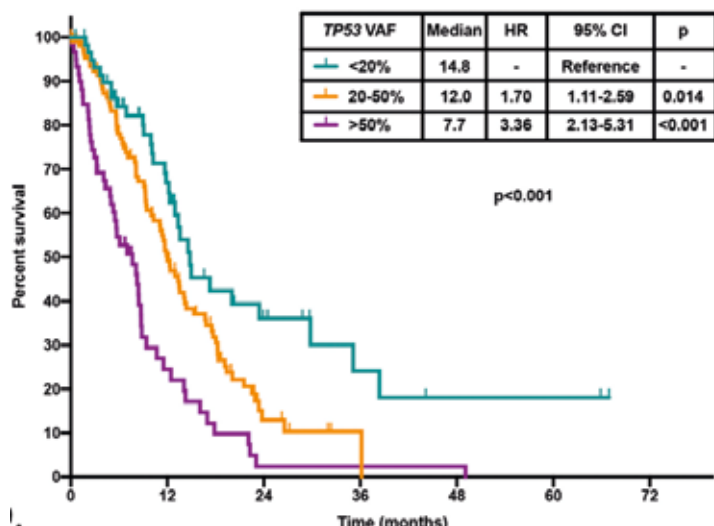
Jonášová A.

I.interní klinika, klinika hematologie

Všeobecná fakultní nemocnice a I. Lékařská fakulta University Karlovy

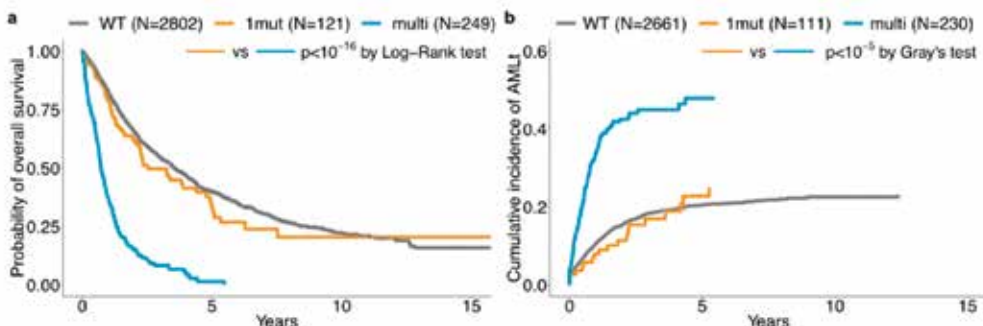
Ačkoli myelodysplastický syndrom (MDS) je závažné onemocnění známé několik dekad, jeho molekulární patogeneze a otázka proč dochází k vývoji do AML zůstávají více méně neznámé. V patogenezi MDS hrají roli genetické faktory, epigenetické a imunopatologické mechanismy. Nově se věnuje řada prací studiím vlivu prozánětlivého prostředí dřene (inflammasom) a zánětem způsobené buněčné smrti (nekroptosa, pyroptosa) a jejich vlivu na vznik či progresi onemocnění. Sekvenování nové generace „next generation sequencing“ (NGS) odhalilo sadu mutací, které mohou hrát roli ve vzniku onemocnění. Zajímavé právě u MDS je, že mnoho často mutovaných genů kóduje proteiny, které jsou důležité v epigenetických mechanismech, což naznačuje specifický vztah genetických a epigenetických změn, které pak využíváme terapeuticky. U MDS nalezneme minimálně jednu z mnoha známých onkogenních mutací u zhruba 70-90% nemocných. Studium mutací stojí v posledních letech ve středu zájmu výzkumu týkajícího se nejen patogeneze MDS ale i stanovení prognózy a identifikace respondentů na specifickou terapii. Jde například o geny: *TP53*, *ASXL1*, *EZH2*, *TET 2*, *SF3B1*, *RUNX1*, *CBL*, *NRAS*, *IDH1*, *IDH2*). Krucální stran prognózy je například mutace tumor supresorického genu *TP53*. A právě u tohoto genu byly ptresentovány 2 nové velmi důležité práce. Práce Montalban-Bravo et al. dokládá v multivariantní analýze 938 nemocných s MDS vysoký význam sledování nikoli samotné mutace *TP53*, ale její alelické frekvence jako prognosticky významného faktoru použitelného i pro modifikaci IPSS – R (revidovaný mezinárodní prognostický systém) viz obrázek 1 (1).

Obrázek 1 Kaplan-Meier křivky přežívání v závislosti na alelické frekvenci mutace *TP53*



TP53 mutace se týká také práce Elsy Bernard et al., v které bylo analyzováno 1200 vzorků od 450 nemocných. Tito byli následně rozděleni do 2 skupin: jedna s mono-alelickou mutací *TP53* a jedna s mnohočetným postižením genu (mutacemi, delecí či cnLOH). Obě skupiny se významně lišily v klinice, prognóze a četnosti transformací do AML. Co je velmi důležité v hodnocení přítomnosti mutace *TP53*, že nemocní s mono-alelickou mutací mají stejnou prognózu jako nemocní s WT mutací (obrázek 2). I tato práce doporučuje zařazení stavu *TP53* do IPSS systému (2).

Obrázek 2. Kaplan-Meier křivky přežívání nemocných s MDS s rozličným typem mutace *TP53*

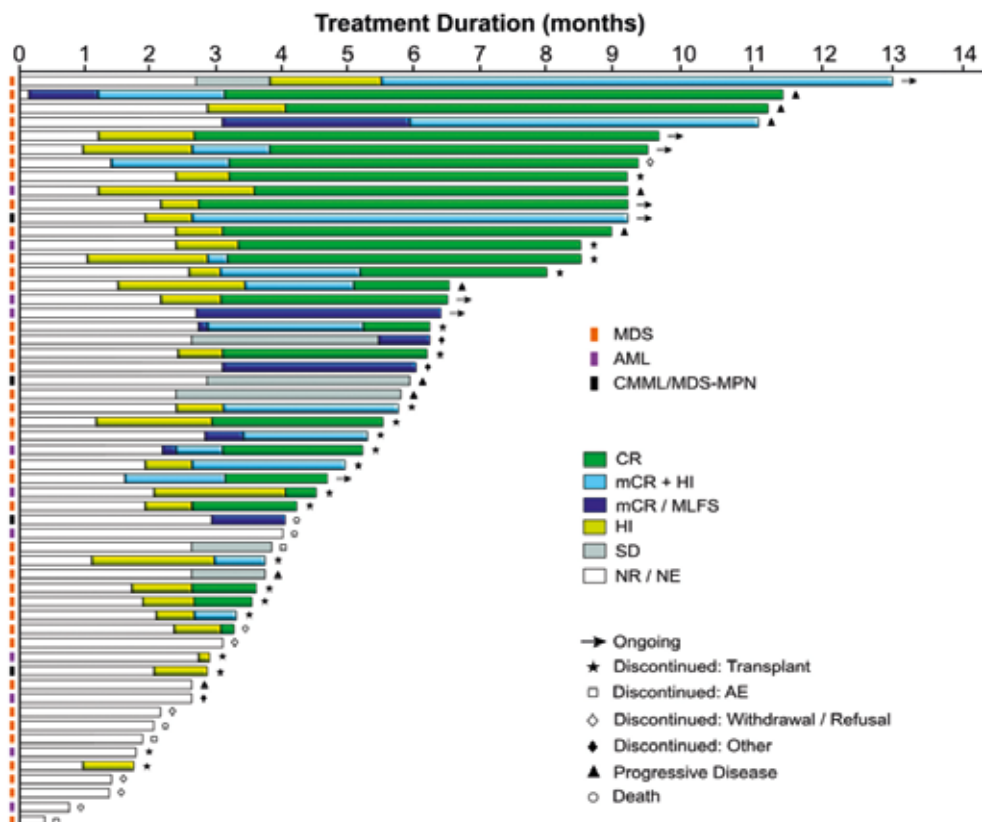


MDS je i přes stálý intenzivní výzkum jednou z nejobtížněji řešitelných hematologických malignit. MDS je onemocnění staršího věku. Dnešní starší nemocní jsou ale často relativně fit, žijí aktivní život, a proto roste i počet kandidátů intenzivnější a cílené terapie. Největší zlom v terapii MDS jsme zažili v prvních letech druhého tisíciletí. Bylo to zavedení demetylačních látek, a to především azacitidinu do terapie vysoce rizikových nemocných

nebo lenalidomidu v terapii anemie nízké rizikových MDS nemocných s del(5q). Následovalo jistě aspoň desetiletí k posouzení dlouhodobější efektivity těchto preparátů. V terapii nízké rizikových nemocných je dominujícím problémem léčba anemie, asi 90% nemocných je anemických a 60% vyžaduje dříve nebo později transfuze. Lenalidomid je vysoce efektivní (cca 70% dosažení transfuzní nezávislosti TI), ale jeho aktivita je převážně vázána na nemocné s del(5q). Na letošním ASH byla prezentována studie demonstrující zvýšení jinak malé efektivity lenalidomidu u „non5q-“ nemocných použitím kombinace lenalidomidu s erythropoetinem a to u nemocných již refrakterních na erythropoetin v primoterapii. K dosažení velké erytrocytární odpovědi došlo u 38% nemocných (3). Kombinační terapie u anemických nemocných bude asi budoucností léčby anemie, problémem bude jistě finanční zátěž pro pojišťovny. V kombinaci se bude nejspíše uplatňovat i další relativně úspěšný nový preparát a to luspatercept, který byl letos povolen FDA v léčbě anemie u talasemie a který vede k TI u 47% anemických nemocných s MDS s nižším rizikem. Zcela recentní práce Garcia Menero et al. ukazuje, že luspatercept má pravděpodobně i trilineární aktivitu (4). Je také efektivní i u primárně na erythropoetin refrakterních nemocných. Pro tuto skupinu nemocných se zdá též perspektivní inhibitor telomeráz imetelstat (5). Významným problémem MDS nemocných je trombocytopenie. Trombocytopenie se vyskytuje až u 65% a je příčinou úmrtí asi u 14-24% nemocných s MDS. Perspektivní se v terapii trombocytopenie zdají 2 preparáty romiplostim a eltrombopag. Oba shodně působí přes aktivaci trombopoetinového receptoru. Průběžná analýza účinnosti romiplostimu v akademické studii Europe, prezentovaná na letošním ASH meetingu udává až 45% odpovědí a a to je velmi zajímavé též trilineární aktivitu (6). Obdobné výsledky má i studie fáze II se 47% odpovědí v terapii eltrombopagem (odpovědi: HI-P) (7).

Jak ukazují mnohé výsledky recentních studií v terapii vysoce rizikových nemocných není dosud překonán azacitidin (AZA). Tvoří základ terapie na jedné straně, na druhé straně je jasné, že v monoterapii nedosahujeme dlouhodobých odpovědí a prodloužení přežívání a zvýšení procenta odpovědí bude dosaženo jenom dobře vytvořenou kombinační terapií. Sem patří například kombinace AZA s venetoclaxem (BCL-2 inhibitor). V současné době probíhá několik studií. Na ASH meetingu byly prezentovány především výsledky fází I a II. Za všechny uvádím studii 42 léčených nemocných s vysokým rizikem a též nemocných se selháním na monoterapii AZA s relativně vysokou efektivitu této kombinace (ORR a mCR = 55% v celé skupině, u primoterapie 73% mCR, u nemocných po selhání AZA 47% mCR) (8). S identifikací specifických mutací u nemocných s MDS se rozvíjí též možnost terapeutického využití inhibitorů těchto mutací. Sem patří kombinace AZA s IDH1, 2 inhibitory (IDH1 - ivosidenib, IDH2 - enasidenib). Z dosud raných fází menších klinických studií u MDS jsou pozoruhodné výsledky studie fáze II s použitím enasinebu v kombinaci s AZA u nemocných s IDH2 mutací s ORR 67% a u AZA naivních nemocných se 100% (6/6) dosažením CR (9). Téměř provokativní jsou též výsledky inovativní terapie s použitím APR-246, který selektivně indukuje apoptózu buněk TP53 pozitivních stabilizací p53 proteinu. Ve studii fáze 1b/2 se zařazením 45 nemocných bylo dosaženo 87% ORR s 53% CR s 67% CR u nemocných s izolovanou mutací TP53 (10) obrázek 3.

Obrázek 3. Aktuální stav 45 nemocných léčených APR-246 v kombinaci s AZA v době hodnocení



Perspektivní kombinací pravděpodobně bude též kombinace azacitidnu s perorálním rigosertibem, multikinasovým inhibítozem (inhibice PLK a PI3K kináz, a inhibice RAS dráhy), který zatím byl a je ve studiích u nemocných, kteří přestali odpovídat nebo byli primárně refrakterní na azacitidin. Z mnoha dalších nových terapií je třeba v neposlední řadě zmínit optimistické výsledky průběžné analýzy naší akademické, randomizované studie AZA-G (kombinace AZA s G-CSF versus AZA), která dokládá efektivitu před léčením G-CSF vyšším ORR a delším přežíváním u nemocných léčených kombinační terapií (11).

Reference.

1. Guillermo Montalban-Bravo et al. *Genomic Context and TP53 Allele Frequency Define Prognostic Subgroups and Response Outcomes in TP53 Mutated Myelodysplastic Syndromes*, abstract No. 711
2. Elsa Bernard et al. *TP53 State Dictates Genome Stability, Clinical Presentation and Outcomes in Myelodysplastic Syndromes*, abstract No. 675

3. Alan F. List, Zhuoxin Sun, Amit Verma et al. Combined Treatment with Lenalidomide and Epoetin Alfa Leads to Durable Responses in Patients with Epo-Refractory, Lower Risk Non-Deletion 5q [Del(5q)] MDS: Final Results of the E2905 Intergroup Phase III Study - an ECOG-ACRIN Cancer Research Group Study, abstract No 842
4. Guillermo Garcia-Manero, Ghulam J. Mufti, Pierre Fenaux et al. Hematologic Improvement–Neutrophil and –Platelet in the MEDALIST Trial: Multilineage Data from a Phase 3, Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Study of Luspatercept to Treat Anemia in Patients with Very Low-, Low-, or Intermediate-Risk Myelodysplastic Syndromes (MDS) with Ring Sideroblasts (RS) Who Require Red Blood Cell (RBC) Transfusions, abstract No 4243
5. Uwe Platzbecker, David P. Steensma, Koen Van Eygen et al. Imerge: A Study to Evaluate Imetelstat (GRN163L) in Transfusion-Dependent Subjects with IPSS Low or Intermediate-1 Risk Myelodysplastic Syndromes (MDS) That Is Relapsed/Refractory to Erythropoiesis-Stimulating Agent (ESA) Treatment, abstract No 4248.
6. Uwe Platzbecker, Anne Sophie Kubasch, Aristoteles Giagounidis et al. Biomarkers of Response to Romiplostim in Patients with Lower-Risk Myelodysplastic Syndrome (MDS) and Thrombocytopenia - Results of the Europe Trial By the Emsco Network, abstract No 2998
7. Esther Natalie Oliva, Caterina Alati, Valeria Santini et al. 3000 Long Term Effects of Eltrombopag Treatment Versus Placebo for Low-Risk Myelodysplastic Syndromes with Thrombocytopenia (EQoL-MDS): Interim Results of a Single-Blind, Randomised, Controlled, Phase 2 Superiority Trial, abstract No 3000.
8. Brian J Ball, Christopher Famulare, Rami S. Komrokji et al. Combined Venetoclax and Hypomethylating Agent (HMA) Therapy Induces High Response Rates in Patients with Myelodysplastic Syndrome Including Patients Previously Failing HMA, abstract No 4241
9. Guillaume Richard-Carpentier, Amy E. DeZern, Courtney D. DiNardo et al. Preliminary Results from the Phase II Study of the IDH2-Inhibitor Enasidenib in Patients with High-Risk IDH2-Mutated Myelodysplastic Syndromes (MDS), abstract No 678
10. David A Sallman, Amy E. DeZern, Guillermo Garcia-Manero et al. Phase 2 Results of APR-246 and Azacitidine (AZA) in Patients with TP53 mutant Myelodysplastic Syndromes (MDS) and Oligoblastic Acute Myeloid Leukemia (AML) , abstract No 676
11. Anna Jonasova, Lubomir Minarik, Tomas Stopka et al. Randomized Open-Labeled Academic Trial Comparing Standard AZA Therapy with Combination of G-CSF with AZA in High Risk MDS Patients - Interim Analysis, abstract No 1729

Čermák J.

Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

Během 61. výroční konference American Society of Hematology byla na rozdíl od minulých sjezdů prezentována řada novinek týkajících se i červené krevní řady. Tento přehled se zaměřuje zejména na preklinické a klinické studie.

Značná pozornost je v současnosti věnována léčbě nemocných s deficitem enzymu **pyruvát kináza (PK)**. Vzhledem k tomu, že se jedná o jeden z klíčových enzymů anaerobní glykolýzy, jež slouží erytrocytu k získání ATP, energetický deficit vede obdobně jako u sférocytózy k poruše plasticity krvinky a extravaskulární hemolýze ve slezině. Deficit pyruvátkinázy postihuje kritické místo tvorby makroergních fosfátů a jde většinou o autozomálně recesivní onemocnění, kdy mutace tzv. PKLR genu postihuje 2 ze 4 izoenzymu PK (izoenzymy R a L), příznaky choroby mají buď heterozygoti pro mutace 2 různých variant enzymů či homozygoti pro 1 variantu enzymu. V současnosti probíhá dlouhodobá mezinárodní studie průběhu choroby u nemocných s deficitem PK (PEAK), na níž se podílí i 2 česká centra (ÚHKT a Dětská klinika FN Olomouc). O výsledcích studie informovali **Grace et al. (abstr. 2223)**. Během 7 let bylo do studie zařazeno 524 nemocných ze 60 center ve 20 zemích, současnosti je aktivních 43 center sledující nemocné po dobu více než 2 let. **Boscoe et al. (abstr. 2175)** přednesli analýzu 122 nemocných z PEAK registru, ať již regulérně či příležitostně transfundovaných, či netransfundovaných. Při srovnání s kontrolní skupinou zdravé populace měli nemocní s deficitem PK vyšší incidenci splenektomie, cholecystektomie, osteoporózy, jaterní cirhózy, plicní hypertenze a profylaktického podávání antibiotik a antikoagulancií. Nebyl přítomen rozdíl mezi transfundovanými a netransfundovanými nemocnými v přítomnosti jaterní cirhózy na rozdíl od přetížení železem, jež bylo významnější u regulérně a příležitostně transfundovaných nemocných (83.1% a 50.0%) než u skupiny netransfundovaných nemocných (25.9%).

Mitapivat (AG-348) představuje alosterický aktivátor PK, jenž zvyšuje aktivitu nemutovaných i mutovaných PK enzymů. **Grace et al. (abstr.3512)** analyzovali výsledky dlouhodobého podávání Mitapivatu nemocným s deficitem PK. Do studie bylo zahrnuto 52 nemocných s deficitem PK s hodnotami Hb ≤ 120 g/l u mužů a ≤ 110 g/l u žen, kteří nedostali více než 3 TU erytrocytů během posledních 12 měsíců a žádnou transfuzi během posledních 3 měsíců. Nemocní dostávali buď 50mg nebo 300mg přípravku 2x denně po dobu 6 měsíců a nemocní odpovídající na léčbu byli zahrnuti do prodloužené fáze studie. Jako efektivní odpověď na léčbu bylo považováno dosažení vzestupu Hb o ≥ 10 g/l při 3 ze 4 po sobě jdoucích měření. Udržovací dávka byla upravena ve výši umožňující trvalé udržení hladiny Hb ≤ 100 g/l. 43 nemocných (83%) dokončilo iniciační fázi a 36 nemocných (69%) bylo indikováno k prodloužené fázi, kterou dokončilo 18 nemocných (34.5%), prodloužená fáze trvala u všech nemocných ≥ 29 měsíců. U odpovídajících nemocných byl vzestup Hb trvalý, stejně jako pokles markerů hemolýzy (počet retikulocytů, hodnota haptoglobinu a nepřímého bilirubinu). V současné době probíhá celosvětová studie podávání Mitapivatu jednak

nemocným s deficitem PK s hodnotou Hb 80-100 g/l bez potřeby transfuzí, jednak u nemocných s hodnotami Hb < 80 g/l dependentních na transfuzích.

Přetížení železem je jedním z klíčových faktorů, hrajících roli v morbiditě a mortalitě nemocných s **thalasemií**. Kombinace inefektivní erytropoezy a periferní hemolýzy vede k anemii, hypoxii a zvýšené tvorbě erythropoetinu (EPO). Vzestup hladiny EPO vede ke zvýšené tvorbě erytroferonu (ERFE), jenž inhibuje tvorbu hepcidinu. Zvýšená tvorba růstového diferenciacního faktoru 15 (GDF 15) indukovaná inefektivní erytropoezou rovněž inhibuje tvorbu hepcidinu. Důsledkem je zvýšený výdej železa do cirkulace a jeho zvýšené vstřebávání z GIT. Výrazně je hladina hepcidinu snížena zejména u formy thalassemia intermedia bez potřeby transfuzí, u thalassemia major brání výraznému zvýšení zpětnovazebné tlumení tvorby EPO při korekci hypoxie transfuzemi, naopak ale dodané transfuze zvyšují stupeň přetížení železem.

GDF 11 (růstový diferenciacní faktor 11) patří do skupiny TGF β proteinů a stimuluje defektní proliferaci a diferenciaci erytroidní řady. Vysoká hladina GDF 11 byla popsána jak u myelodysplastického syndromu, tak u anémií s vysokým stupněm inefektivní erytropoezy.

Luspatercept inhibuje stimulační efekt GDF 11 na defektní proliferaci, snižuje tvorbu toxických volných kyslíkových radikálů a upravuje porušenou diferenciaci červené řady.

Porter et al. (abstr. 2245) shrnuli výsledky studie BELIEVE, v níž byl podáván luspatercept oproti placebu 332 nemocným s beta-thalassemií vyžadujících podání 6-20 TU erytrocytů po dobu 24 týdnů před randomizací, 93.7% nemocných v rameni s luspaterceptem a 95.4% nemocných s placebem mělo laboratorní známky přetížení železem. Luspatercept byl podáván v dávce 1.0 – 1.25 mg/kg s.c. každé 3 týdny nejméně po dobu 48 týdnů., nemocní mohli dostávat během léčby transfuze erytrocytů a chelatační léčbu. Podávání luspaterceptu vedlo k poklesu hladiny feritinu v séru v průměru o 248.02 μ g/l na rozdíl od vzestupu hladiny feritinu v séru o 106.62 μ g/l u nemocných léčených placebem. Luspatercept snížil počet podávaných transfuzí a jednu třetinu, u 70.5% nemocných vs. 29.5% u nemocných léčených placebem a ke snížení obsahu Fe v myokardu, ale nikoli v játrech, Iniciální stupeň přetížení železem neměl vliv na efekt luspaterceptu (**Viprakis et al. (abstr.3545)**). **Arezes et al. (abstr. 964)** referovali o prvních úspěšných výsledcích použití protilátky proti N-koncové doméně erytroferonu k prevenci suprese hepcidinu a zlepšení thalasemie na myším modelu.

Fosfatinib je perorální přípravek, jenž svým účinkem inhibuje splenickou tyrosin kinázovou aktivitu. Jeho efekt byl prokázán u chorob s tvorbou imunních komplexů, revmatoidní artritidy, protilátkami zprostředkované glomerulonefritidy a v hematologii u autoimunní trombocytopenické purpury (ITP). Výsledky studií u ITP prokázaly dlouhodobý efekt u cca 20% nemocných po 2-12 týdnech léčby. Došlo k významnému vzestupu počtu trombocytů a snížení počtu krvácivých komplikací o více než 50%, V současnosti se ukazuje, že tlumivý účinek fosfatinibu na aktivitu splenické tyrosin kinázy může cestou inhibice signálních drah uplatňujících se ve fagocytoze erytrocytu blokovat destrukce erytrocytů ve slezině u nemocných s autoimunní hemolytickou anémií (AIHA).

Rogers et al. prezentovali výsledky prodloužené fáze 2 studie podávání fosfamatinu nemocným s AIHA tepelnými protilátkami **/abstr. 3518/**. Ve studii bylo léčeno 25 nemocných s primárním či sekundární AIHA s tepelnými protilátkami s pozitivním přímým Coombsovým testem kteří neodpověděli na 1 či více léčených přístupů k AIHA, s hodnotou Hb < 100g/l, hodnotou haptoglobinu < 100 mg/l a hodnotou LDH vyšší než horní hranice limitu. Iničiální dávka fosfamatinu činila 150mg 2 x denně s event. snížením dávky dle tolerance léku. Vlastní léčebný protokol trval byl 24 týdnů, primárním cílem bylo dosažení hladiny Hb ≥ 100 g/l se vzestupem o ≥ 20 g/l z původní hodnoty bez podání transfuzí či jiné léčby ovlivňující chorobu. U nemocných, kteří dosáhli odpovědi následovala dlouhodobá prodloužená fáze léčby.

Medián trvání choroby byl 2 roky (1-26 let), medián hodnoty Hb byl 90 g/l a předchozí léčba zahrnovala kortikosteroidy, podání rituximabu či splenektomii. 11 nemocných (44%) dosáhlo po 24 týdnech léčby požadované odpovědi (+ další nemocný po 30 týdnech léčby), medián vzestupu Hb o 20 g/l byl pozorován po 4 týdnech léčby. Extendovanou fází léčby začalo 13 nemocných, u 2 z nich došlo během této léčby k relapsu choroby. Nejčastější vedlejšími příznaky léčby byl průjem, únava, zvýšení krevního tlaku a hučení v uších. V současné době probíhá randomizovaná studie fáze 3 podávání přípravku u AIHA, které se účastní i česká centra.

Pro léčbu anemie s chladovými protilátkami (CAD) byl představen **Sutimlimab** (BIVV009), humanizovaná monoklonální protilátka proti C1q složce komplementu, jež selektivně inhibuje aktivaci komplementu cestou C1 složky bez ovlivnění alternativní a lektinové dráhy. Studie Cardinal, již prezentoval **Roeth et al. /late breaking abstract-2/** byla pilotní studií fáze 3, v níž 24 nemocných dostalo 6.5g či 7.5g léku (dle hmotnosti) v den 0 a 7 a následně každé 2 týdny. Cílem studie bylo dosažení hladiny Hb ≥ 120 g/l či vzestupu hodnot Hb o ≥ 2 g/l. Kriteria pro vstup do studie byla hodnota Hb ≤ 100 g/l, zvýšená hladina bilirubinu nad horní hranici normy a podání ≥ 1 TU erytrocytů během posledních 6 týdnů. Jako efektivní bylo hodnoceno zvýšení hodnot Hb o ≥ 20 g/l či dosažení hladiny Hb ≥ 120 g/l (po 23.-26.týdnu léčby) a nezávislost na podání transfuzí od 5.týdne léčby. Všichni nemocní odpověděli na podání prvé dávky sutilimabu vzestupem hodnot Hb v průměru o 12 g/l a po 3.týdnech léčby vzestupem o 23 g/l. U 20 nemocných (83%) došlo k vzestupu hodnot Hb o ≥ 10 g/l a průměrná dosažená hodnota Hb během následné léčby byla 110 g/l. 17 nemocných (70.8%) dosáhlo transfuzní nezávislosti a u všech nemocných došlo k normalizaci hodnot C4 složky komplementu. Infekční komplikace (ale nikoli meningokokového původu) byly nejčastějším vedlejším účinkem léčby.

Efekt přidání **eltrombopagu** ke standardní léčbě **aplastické anémie** kombinovanou imunosupresí sledovala **Groarke et al. (abstr. 454)** na skupině 39 nemocných mladších 18 let, 28 nemocných (78%) dosáhlo po 6 měsících odpovědi na léčbu. Při srovnání výsledku s komparativní skupinou dospělých nemocných byl pozorován lepší efekt eltrombopagu u dětí při srovnání s imunosupresivní léčbou dospělých, ale nikoli při srovnání výsledků léčby dětí imunosupresí s léčbou eltrombopagem u dospělých. Relaps byl pozorován u 43%

nemocných léčených eltrombopagem vs. 28% nemocných léčených imunosupresí. Nebyl pozorován signifikantní rozdíl v přežití mezi oběma skupinami.

Ravulizumab představuje díky modifikaci molekuly eculizumabu přípravek s prolongovaným uvolňováním účinné látky při jeho snížené degradaci, poločas takového inhibitoru C5 složky komplementu je dvakrát delší než poločas eculizumabu. **Kulasekararaj et al. (abstr. 2231)** prezentovali výsledky podávání ravulizumabu u nemocných s PNH, kteří odpověděli na podání eculizumabu (stabilní choroba > 6 měsíců a pokles LDH pod 1.5 násobek normy). Nemocní byli randomizováni do větve s trvajícím podáváním eculizumabu (1x za 2 týdny) a do větve s podáním ravulizumabu (1x za 2 měsíce), po 26. týdnech léčby byli všichni nemocní převedeni na ravulizumab. Při hodnocení efektu po celkově 52 týdnech léčby nebyl mezi oběma skupinami rozdíl v závislosti na transfuzích (83% nemocných bylo na transfuzi nezávislých v obou skupinách), byl pozorován mírný nárůst LDH (8.8%) u skupiny léčené od počátku ravulizumabem, všichni nemocní léčení pouze ravulizumabem měli nulové hodnoty C5, u druhé skupin došlo po převedení na ravulizumab k poklesu hodnot C5 na $\leq 5 \mu\text{g/ml}$. Bolesti hlavy a infekce HCD (nasopharyngitis), byly nejčastějšími vedlejšími účinky léčby. **Hill et al. se** věnovali přítomnosti tzv. „breakthrough“ hemolýzy ve výše uvedené studii (**abstr. 952**). Tento typ hemolýzy byl pozorován u 4 nemocných léčených pouze ravulizumabem během prvních 26 týdnů léčby a u 3 nemocných během následujících 26 týdnů léčby. U nemocných léčených eculizumabem byl pozorován 1 případ hemolýzy v prvních 26 týdnech a 2 případy po převedení na ravulizumab. Žádná epizoda hemolýzy nebyla spojena se vzestupem hodnot C5 složky komplementu, příčinou bylo zřejmě nahromadění složek komplementu v předchozích etážích.

LITERATURA

Grace RF, Bianchi, P, Glader, B et al.: An Ongoing Global, Longitudinal, Observational Study of Patients with Pyruvate Kinase Deficiency: The PEAK Registry. *Blood* 132; 2019, supl.1, abstr. 2223.

Boscoe AN, Yan Y, Hergeman E et al.: Comorbidities and Complications in Adults with Pyruvate Kinase Deficiency. *Blood* 132; 2019, supl.1, abstr. 2175.

Grace, RF, Layton M, Galactéros F et al.: Long-Term Safety and Efficacy of Mitapivat (AG-348), a Pyruvate Kinase Activator, in Patients with Pyruvate Kinase Deficiency: The DRIVE PK Study. *Blood* 132; 2019, supl.1, abstr. 3512.

Porter J, Cappellini, MD, Coates T et al.: Effects of Luspatercept on Iron Overload and Impact on Responders to Luspatercept: Results from the BELIEVE Trial. *Blood* 132; 2019, supl.1, abstr. 2245.

Viprakasit V, Taher A, Hermine O et al.: 3545 Evaluating Luspatercept Responders in the Phase 3, Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled BELIEVE Trial of Luspatercept in Adult Beta-Thalassemia Patients (Pts) Who Require Regular Red Blood Cell (RBC) Transfusions *Blood* 132;2019, supl.1, abstr. 3545.

Arezes J, Foy N, Benar S et al.: Antibodies Against the Erythroferrone N-Terminal Domain Prevent Hepcidin Suppression and Ameliorate Murine Thalassemia. *Blood* 132;2019, supl.1, abstr.964.

Rogers, KA, Boxer MA, Choi MY et al.: Fostamatinib, a Spleen Tyrosine Kinase (SYK) Inhibitor, for the Treatment of Warm Antibody Autoimmune Hemolytic Anemia (wAIHA): Final Results of the Phase 2, Multicenter, Open-Label Study. *Blood* 132; 2019, suppl.1, abstr. 3518.

Roeth A, Barcellini W, D'Sa S et al.: Inhibition of Complement C1s with Sutimlimab in Patients with Cold Agglutinin Disease (CAD): Results from the Phase 3 Cardinal Study. *Blood* 132; 2019, suppl.1, LBA-2.

Groarke, EM, Patel, BA, Diamond C et al.: Outcomes in Pediatric Patients with Severe Aplastic Anemia Treated with Standard Immunosuppression and Eltrombopag. *Blood* 132; 2019, suppl.1, abstr. 454.

Kulasekararaj A, Hill A, Langemeijer S et al.: One-Year Efficacy and Safety from a Phase 3 Trial of Ravulizumab in Adult Patients with Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria Receiving Prior Eculizumab Treatment. *Blood* 132; 2019, suppl.1, abstr. 2231.

Hill A, Piatek C, Peffault de Latour R et al.: Breakthrough Hemolysis in Adult Patients with Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria Treated with Ravulizumab: Results of a 52-Week Extension from Two Phase 3 Studies. *Blood* 132; 2019, suppl.1, abstr. 952.

E 12

IMUNITNÍ TROMBOCYTOPENIE

Kozák T.

Interní hematologická klinika 3. LF UK a FN Královské Vinohrady

Imunitní trombocytopenie (ITP) je definována izolovaným snížením počtu krevních destiček pod $100 \times 10^9/l$ a následným zvýšeným rizikem krvácení.¹ Incidence ITP v populaci jako celku je 2-5/100.000. U dětí bílé populace je ITP zhruba dvakrát častější než u Afroameričanů, nicméně u černých dětí je častější chronická forma ITP.²

Patogeneze ITP zahrnuje předčasnou destrukci trombocytů v oběhu na imunitním podkladě, podílí se na ní také nedostatečná aktivita megakaryocytů. Novinkou posledních let, která byla také prezentována českými autory na sjezdu ASH 2019, je že protilátky namířené proti glykoproteinu Ib (GP Ib) působí destrukci trombocytu mechanismem nezávislým na Fcγ receptoru makrofágu. Protilátky anti-Ib vedou k desialylaci glykoproteinů destičkové membrány a tyto trombocyty jsou vychytávány tzv. Ashwell – Morellovými receptory hepatocytu.^{3,4} Tento mechanismus také vysvětluje slabou odpověď na léčbu kortikosteroidy a/nebo intravenózní imunoglobuliny (IVIg) u některých pacientů s ITP. Sialydázy produkuje řada bakterií a virů. Syntetickým inhibitorem sialydáz je mimo jiné oseltamivir fosfát, užívaný primárně k léčbě infekce chřipkovým virem A a B, existuje již také několik kasuistik o efektu oseltamiviru v léčbě refrakterní ITP. Na výročním sjezdu Americké hematologické asociace v roce 2019 (ASH 2019) byly poprvé prezentovány výsledky randomizované studie u nově diagnostikovaných dospělých pacientů s ITP léčených buďto kombinací vysokodávkovaného dexamethasonu (HD Dex) s oseltamivirem nebo jen HD Dex. Studie potvrdila vyšší počet odpovědí a delší dobu trvání odpovědi pro rameno HD Dex + oseltamivir.⁵ Trombocyty

opsonizované protilátkami jsou vychytávány fagocyty monocytomakrofágového systému prostřednictvím Fc receptoru a předčasně odstraňovány z oběhu. Ovlivnění Fc receptorů makrofágů je cílem terapeutických snah (intravenózní imunoglobuliny – IVIG), cílem specifického inhibitoru fostamatinibu je makrofágová splenická tyrozinkináza (Syk) zajišťující destrukci trombocytů v makrofágu.⁶

Racionální stanovení diagnózy ITP

V současnosti není k dispozici jednoznačný klinický či laboratorní parametr, který by určoval diagnózu ITP, proto je diagnóza i nadále stanovována **per exclusionem**. V tabulce 1 jsou uvedena laboratorní a další vyšetření užívaná při diagnostice ITP.

Tab 1. Přehled vyšetření při diagnóze ITP

Vyšetření nutná v době diagnózy ITP	Vhodná doplňková vyšetření	Vyšetření vhodná ve specifických případech
KO + retikulocyty + kontrola nátěru krve pod mikroskopem. PT, APTT, fibrinogen	IPF (frakce nezralých trombocytů)	Protilátky proti trombocytům (nejlépe MAIPA)
KS + PAT	ANA, anti-ENA, RF, antikardiolipinové protilátky, L. anticoagulans	Histologické a cytologické vyšetření kostní dřeně
Základní biochemický profil (jaterní a renální soubor, CRP)	Průkaz <i>H. Pylori</i> (dechový test nebo antigen ve stolici)	Přežívání trombocytů (zánik nad slezinou a játry)
FW, IgG, IgM, IgA, elektroforéza bílkovin séra	CMV PCR, parvovirus B12 IgG a IgM	FVIII a von Willebrandův faktor
TSH, Hladina vit B12, folátu, ferritin a saturace transferinu	Flow cytometrie krve k průkazu event. klonální lymfoproliferace (MBL, CLL, LGL aj.)	
Serologie HBV, HCV, HIV, EBV a CMV	Vyšetření kostní dřeně u pacientů >60 let	
RTG P+S, USG epigastria		

Terapie ITP

Názory na léčbu pacientů s ITP se vyvíjejí, na sjezdu ASH 2019 byla prezentovaná nová doporučení Americké hematologické asociace.⁷ Zahájení léčby u dospělých pacientů s ITP je doporučováno při počtu krevních destiček (PLT) $<30 \times 10^9/l$, přitom léčba nově diagnostikovaných pacientů s PLT $<20 \times 10^9/l$ by měla být zahájena za hospitalizace. V první linii léčby ITP jsou standardem stále kortikosteroidy. Iniciálně lze použít prednison v postupně snižujících se dávkách (úvodní dávka 0,5 – 2 mg/kg/den) po dobu maximálně 6 týdnů. Odpověď je vysoká, ovšem dospělých pacientů, kteří po terapii kortikoidy dosáhnou dlouhodobé remise, je pouze 25 - 29 %. Pulzní podání vysokých dávek dexamethasonu (40mg po dobu 4 dnů) je dle ASH 2019 indikováno při nutnosti rychlejšího nástupu účinku.

V případě život ohrožujícího krvácení doplňují i.v. kortikosteroidy IVIG a též transfuze trombocytů.

Léčba ITP ve druhé a dalších liniích a léčba refrakterní ITP

V léčbě druhé linie ITP není mezi pracovišti a mezi experty konsensus. Zatímco v léčbě chronické refrakterní ITP se etablovaly agonisté trombopoetinového receptoru (TPO-RA), u perzistující ITP jednoznačný názor chybí. Dle doporučení ASH 2019 existují pro tuto fázi ITP u dospělých pacientů tři modalita: TPO-RA (romiplostim nebo eltrombopag), splenektomie a rituximab s tím, že by se měla respektovat očekávání pacienta. Pacienti, kteří upřednostňují jednorázový výkon s velkou nadějí na dlouhodobý efekt, mohou inklinovat ke splenektomii, pacienti, kteří preferují krátký nechirurgický zákrok, mohou volit rituximab, pro pacienty, kteří požadují vysokou pravděpodobnost účinku i za cenu nutnosti dlouhodobé terapie, jsou optimální TPO-RA. Doporučení ASH 2019 dále upozorňují na vhodnost odložit splenektomii na minimálně 12 měsíců od stanovení diagnózy z důvodu určité možnosti navození spontánní remise. Zároveň tato doporučení preferují TPO-RA před rituximabem a rituximab před splenektomií, toto vše na stejné relativně nízké úrovni důkazů. *De facto* se tím splenektomie odsouvá minimálně do 3. linie léčby. Doporučení ASH 2019 se týkají také léčby dětských pacientů. Mimo jiné, u dětí s ITP, které nemají život ohrožující krvácení a jsou indikovány k medikamentózní léčbě, se upřednostňuje p.o. prednison oproti dexamethasonu. Pro americké dětské pacienty je pro léčbu ITP stále dostupný anti-D imunoglobulin.

V doporučení ASH 2019 jsou také zmíněny možnosti medikamentózní léčby ITP po selhání výše uvedených modalit. Jde o déle známé „konvenční“ látky s omezeným množstvím dat o efektivitě a tedy s obtížnou predikcí účinku: azathioprin, cyklofosfamid, cyklosporin A, danazol, mykofenolát mofetil. Kromě nejistého efektu s dlouhotrvajícím nástupem jsou tyto přípravky spojeny s množstvím nežádoucích vedlejších účinků.⁷

Nadějí do budoucna pro pacienty refrakterní i na TPO-RA je fostamatinib, inhibitor Syk (viz výše), který v těchto případech prokázal svou účinnost. Ve vývoji a v různém stupni klinického zkoušení jsou další perspektivní látky pro léčbu ITP: protilátky proti ligandu CD40, sialylované imunoglobuliny, inhibitory neonatálních Fc receptorů (Rozanolixizumab), stradomery, inhibitory Brutonovy kinázy (BTKi), inhibitory C1s složky komplementu, TPO-RA další generace (lusotrombopag, avatrombopag). Na sjezdu ASH 2019 byly kromě výše uvedené studie s oseltamivirem prezentovány formou přednášky také výsledky dvou klinických studií s novými molekulami. První z nich byla eskalační fáze I/II studie s inhibitorem BTK PRN1008, již se účastnila i česká pracoviště. Do studie byli zahrnuti pacienti s relabující/refrakterní ITP, kteří měli vyčerpané možnosti standardní terapie, medián předchozích linií léčby byl 4. V této studii dosáhla primárního cíle ($PLT > 50 \times 10^9/l$ a vzestup o $20 \times 10^9/l$ ve dvou měřeních) jedna třetina pacientů. Léčba nebyla zatížena vyšším počtem krvácivých komplikací, trombotické komplikace se nevyskytly, studie pokračuje další fází s pevně stanovenou počáteční dávkou 800mg/den.⁸ Ve druhé studii, otevřené, fáze II, byl pacientům s perzistující a chronickou ITP (medián trvání onemocnění 5.8 roku, medián počtu předchozích linií léčby 4) podáván podkožně Rozanolixizumab v různých dávkovacích schématech. Největší odpověď (55, resp. 67%) měli pacienti s jednorázovým podáním vyšší dávky (15, resp.

20mg/kg) než pacienti s opakovaným podáním nižší dávky. Nejčastějším vedlejším účinkem byla bolest hlavy, vážnější nežádoucí účinky nebyly zaznamenány.⁹

Literatura

1. Rodeghiero F, Stasi R. Standardization of terminology, definitions and outcome criteria in immune thrombocytopenic purpura of adults and children: report from an international working group. *Blood* 2009;113:2386–93.
2. Walker LA, Kim TO, Bell Grimes A, et al. Racial Variation in ITP Prevalence and Rate of Chronic Disease Suggests Biological Differences. 61st ASH Annual Meeting and Exposition 2019; Abstract 387.
3. Grozovsky R, Begonja AJ, Liu K, et al. The Ashwell-Morell receptor regulates hepatic thrombopoietin production via JAK2-STAT3 signaling. *Nat Med* 2015;21:47-54.
4. Raskova Kafkova L, Brokesova D, Novak, Z, et al. Platelet Desialylation As a Predictive Marker in Childhood Immune Thrombocytopenia (ITP) ASH 2019, Abstract 221.
5. Sun L, Liu X, Zhou H, et al. High-Dose Dexamethasone (HD-DXM) Plus Oseltamivir Versus High-Dose Dexamethasone for Treatment of Adult Primary Immune Thrombocytopenia: Interim Analysis of a Prospective, Multicenter, Randomized, Controlled Trial. 61st ASH Annual Meeting and Exposition 2019; Abstract 990.
6. Bussel J, Arnold DM, Grossbard E, et al. Fostamatinib for the treatment of adult persistent and chronic immune thrombocytopenia: Results of two phase 3, randomized, placebo-controlled trials. *Am J Hematol* 2018;93:921–930.
7. Neunert C, Terrell DR, Arnold DM, et al. American Society of Hematology 2019 guidelines for immune thrombocytopenia *Blood Adv* 2019;3(23):3829-3866.
8. Kuter DJ, Boccia RV, Lee EJ, et al. Phase I/II, Open-Label, Adaptive Study of Oral Bruton Tyrosine Kinase Inhibitor PRN1008 in Patients with Relapsed/Refractory Primary or Secondary Immune Thrombocytopenia. 61st ASH Annual Meeting and Exposition 2019; Abstract 87.
9. Robak T, Kaźmierczak M, Jarque I, et al. Rozanolixizumab, an Anti-FcRn Antibody: Final Results from a Phase II, Multiple-Dose Study in Patients with Primary Immune Thrombocytopenia. 61st ASH Annual Meeting and Exposition 2019; Abstract 897.

PŘEDNÁŠKOVÁ SDĚLENÍ

(Abstrakty O01 – O12)

O01**PLATELET DESIALYLATION AS A PREDICTIVE MARKER IN CHILDHOOD IMMUNE THROMBOCYTOPENIA (ITP)**

Raskova Kafkova L.¹, Brokesova D.¹, Novak Z.², Raska M.¹, Pospisilova D.², Volejnikova J.²

¹*Department of Immunology, Palacky University and University Hospital Olomouc*

²*Department of Pediatrics, Faculty of Medicine and Dentistry, Palacky University and University Hospital Olomouc*

Background and aim: Immune thrombocytopenia (ITP) is the most common bleeding condition in children. Its prognosis is mostly superior, however, severe refractory disease remains diagnostic and therapeutic challenge. Low platelet counts ($<100 \times 10^9/L$) are associated with increased platelet clearance by two parallel mechanisms: classical antibody-mediated pathway and a novel lectin-carbohydrate mediated pathway. The latter is based on platelet desialylation, where terminal sialic acids are cleaved from glycoconjugates, mainly glycoproteins (GPs), on the platelet surface. The loss of sialic acid enhances bond of the penultimate β -galactose to asialoglycoprotein receptors (ASGPRs, also called Ashwell-Morell receptors) on hepatocytes. Desialylated platelets are then captured and phagocytosed by ASGPR-expressing hepatocytes. Desialylation has been shown to be responsible for platelet destruction in many contexts, e.g., infection-related thrombocytopenia or clearance of senescent platelets. Loss of T-cell tolerance is another underlying mechanism in ITP; CD8⁺ regulatory T cells (Tregs) are able to inhibit overactive immune response and maintain immune homeostasis.

Forkhead box P3 (FOXP3) and GATA3 are transcription factors crucial for development and proper function of Tregs limiting the Th2-type inflammatory response. Our aims were to distinguish contribution of the mentioned processes to ITP development and to characterize immune response in children with ITP during the course of disease (diagnosis, ongoing therapy, remission, refractory/persistent ITP).

Patients and Methods: We examined 30 samples from 20 children with ITP (12 males, 8 females, age 3-17 years; 3 acute ITP, 17 chronic ITP) and 10 healthy controls (age 4-15). The degree of desialylation was determined by flow cytometry using FITC-labeled Ricinus communis agglutinin (RCA-I) specific for terminal galactose or N-acetylgalactosamine. Expression of platelet surface markers was given quantitatively as mean fluorescence intensity (MFI). Presence of platelet surface-bond antibodies (IgG, IgA and IgM) was examined by flow cytometry. Subpopulations of CD4⁺ and CD8⁺ T-cells were characterized based on intracellular expression of transcription factors T-bet (Th1 cells), GATA3 (Th2 cells), ROR gamma T (Th17 cells) and FOXP3 (for Tregs) using multicolor flow cytometry.

Results: Patients with ITP showed significant increase in RCA-I reactivity in comparison with healthy controls ($p < 0.001$). Patients with newly diagnosed ITP showed the most aberrant

sialylation (i.e., maximum desialylation) of platelet surface proteins. A decrease in desialylation intensity was noticeable as soon as at three days after therapy initiation. Sialylation levels returned to normal after one month of successful treatment and were similar to healthy controls in children with ITP remission. Platelet surface-bound immunoglobulins were increased in 10 (50%) patients independently on their sialylation level. We observed significant changes in T-cell subpopulations in ITP: T lymphocytes producing T-bet were decreased within both CD4+ and CD8+ populations. Percentage of CD4+ cells expressing ROR gamma T was also reduced. Proportions of cells expressing FOXP3 and GATA3 were decreased within the CD8+ but not within the CD4+ population. Conclusion: Our results highlight the importance of Fc-independent hepatic platelet clearance in ITP. Interindividual differences in ITP pathophysiology are reflected by treatment response and may improve therapeutic management and prognostication. E.g., intravenous immunoglobulins or splenectomy will be ineffective in patients with prevalent Fc-independent mechanisms, and contrarily, possibilities for novel targeted treatment (neuraminidase inhibitors) arise. Better understanding of immune-mediated processes involved in ITP pathogenesis may reduce adverse effects of immunosuppressive therapy and considerably improve quality of life in patients with ITP.

Supported by: MH CZ – DRO (FNOL, 00098892), Project ENOCH (No. CZ.02.1.01/0.0/0.0/16_019/0000868) and Ministry of Education, Youth and Sports OPVVV CEREBIT CZ.02.1.01/0.0/0.0/16_025/0007397.

O02

DEEP IMMUNOPROFILING BY FLOW CYTOMETRY AND NGS REVEALS DISTINCT T CELL PROFILE IN PEDIATRIC HEPATITIS-ASSOCIATED APLASTIC ANEMIA

Novakova M.¹#, Svaton M.¹#, Sukova M.², Kanderova V.¹, Darzentas N.^{3,4}, Kramna L.⁵, Cinek O.⁵, Pospisilova D.⁶, Trka J.¹, Hrusak O.¹, Stary J.², Mejstrikova E.¹#, Fronkova E.¹#
(# These authors contributed equally)

¹CLIP - Childhood Leukaemia Investigation Prague, Department of Paediatric Haematology and Oncology, Second Faculty of Medicine, Charles University and University Hospital Motol, Prague, Czech Republic;

²Department of Paediatric Haematology and Oncology, Second Faculty of Medicine, Charles University and University Hospital Motol, Prague, Czech Republic;

³Department of Hematology, University Hospital Schleswig-Holstein, Kiel, Germany;

⁴Central European Institute of Technology, Masaryk University, Brno, Czech Republic;

⁵Department of Paediatrics, Second Faculty of Medicine, Charles University and University Hospital Motol, Prague, Czech Republic;

⁶Department of Pediatrics, Palacky University and University Hospital Olomouc

Hepatitis-associated aplastic anemia (HAAA) is a rare variant of bone marrow (BM) failure that is typically diagnosed 2-3 months after an acute attack of hepatitis in patients that are seronegative for known hepatitis viruses. Although very little is known about its etiology, an

autoimmune mechanism is presumed based on clinical response to immunosuppressive therapy (IST) and reports of oligoclonal T lymphocyte expansion and skewing of CDR3 region length. However due to the rareness of this disease, the published evidence is still limited.

We analyzed 18 pediatric patients consecutively diagnosed with HAAA in the Czech Republic between 2004-2019. Based on BM biopsy examination, 14 patients had aplastic anemia (AA) and interestingly 4 patients were histologically consistent with refractory cytopenia of childhood (RCC). Median age of these patients was 6.6 years (range 1-18) with a male to female ratio of 2:1. The prevalence of HAAA in our cohort of pediatric patients with BM failure (n=107; excluding patients with known genetic cause) was 17%. The presence of a paroxysmal nocturnal hemoglobinuria clone was excluded and cytogenetic evaluation showed no abnormalities.

We examined both the diagnostic BM and peripheral blood by flow cytometry in all patients (with the exception of one peripheral blood sample) and performed deep immunophenotyping of T cells in 7 of them. Ten patients were selected for T cell receptor beta (TRB) repertoire and whole-exome sequencing (WES) based on the availability of DNA samples isolated from the BM before the start of the treatment. TRB sequencing was performed following the SOP developed by the EuroClonality- NGS working group with DNA input normalized to the equivalent of 20 000 CD3+ cells per sample based on flow cytometry data. Bioinformatic analysis was performed with ARResT/Interrogate. WES was performed on Illumina NextSeq 500 and libraries prepared using the Agilent SureSelectXT Human All Exon V6+UTRs kit. Vertebrate virus detection was performed using the VirCapSeq-VERT probe capture enrichment set and massive parallel sequencing from 8 BM DNA samples taken at the time of diagnosis.

We found significant activation of CD8 positive T cells based on the expression of HLA-DR compared to non-HAAA RCC and AA patients (n=20 and n=21 respectively, Mann-Whitney $p < 0.0001$). Three out of 7 patients with deep T cell immunophenotype available showed a decrease of naive CD27pos45RAposCD8pos T cells. From TRB repertoire analysis we were able to identify a total of 5 private immunodominant clones in 3 patients with relative abundance of up to 11% from all productive TRB sequences. These clones were not found in any previous publications or clonotype databases based on their CDR3 sequence. We detected 5 clones shared by 3 or more patients; these were previously published in other cohorts and are not specific for HAAA. WES analysis did not reveal any previously published variant in genes associated with immune dysregulation or immunodeficiency, or any candidate variant for functional validation. No relevant vertebrate virus signal was detected in the 8 samples.

Out of all 18 patients, 3 patients underwent MSD-HSCT without preceding immunotherapy. Fifteen patients were treated according to standard European Working Group on MDS/SAA protocols with anti-thymocyte globulin (horse n=6; rabbit n=9), corticosteroids and

cyclosporin A. In total, 7 patients reached complete remission on IST by day 120 and 7 patients with insufficient response underwent MUD-HSCT. One patient died shortly after MUD-HSCT because of toxicity. We did not observe any correlation of T cell populations at diagnosis or day 120 of IST (activated and exhausted T cells) and clinical response. Similarly, the presence of an immunodominant clone or oligoclonal TRB repertoire with lower diversity at diagnosis had no significant impact on the outcome of these patients in our cohort.

In conclusion, we present the biggest cohort of pediatric patients with HAAA analyzed by next-generation sequencing and flow cytometry so far. Even though our results show significantly increased activation of CD8 positive T cells and presence of expanded clones, we did not confirm that these factors would be useful and significant for the prediction of treatment outcome. Large number of our patients did not fully respond to IST, requiring HSCT.

Supported by AZV 18-07-00430, 16-32568A and PRIMUS/17/MED/11.

O03

RANDOMIZED OPEN-LABELED ACADEMIC TRIAL COMPARING STANDARD AZA THERAPY WITH COMBINATION OF G-CSF WITH AZA IN HIGH RISK MDS PATIENTS – INTERIM ANALYSIS

Jonasova A.¹, Minarik L.^{1,2}, Kulvait V.², Pesta M.³, Schaffartzikova A.^{1,2}, Kislik G.⁴, Dusilkova N.², Zemanova Z.⁵ and Stopka T.^{1,2}

¹1st Medical Department - Hematology, General Hospital, Prague;

²First Faculty of Medicine, Charles University, BIOCEV, Vestec;

³Faculty of Mathematics and Physics, Charles University, Prague;

⁴Faculty of Science, Charles University, BIOCEV, Vestec;

⁵Center for Oncocytogenetics, Institute of Medical Biochemistry and Laboratory Diagnostics, General University Hospital and 1st Faculty of Medicine, Prague

Introduction

Myelodysplastic syndrome (MDS) is characterized by differentiation blockade, cytopenias with commontransfusion dependency and immune defects. Upon progression the myeloblasts accumulate and the patients become vulnerable to severe infection complications. Based on the Prague Charles University General Hospital registry (N=164, median age 73), the AZA therapy in higher-risk MDS patients results in median OS 13.8 Mo with ORR 48.5%. We also noted from our retrospective data that AZA-treated patients with higher G-CSF consumption had significantly reduced occurrence of Grade 4 neutropenias and longer OS (19 vs 16 Mo, p value 0.039).

Rationale

To improve poor clinical outcomes we initiated a randomized open labeled academic trial that compares standard AZA therapy (A) with novel AZA-based therapy combination

involving use of G-CSF added prior AZA (GA). Both AZA and also decitabine were preclinically shown to induce myeloid differentiation upon G-CSF preincubation. G-CSF binds its receptor in granulocytic precursors and neutrophils to stimulate their survival, proliferation, and differentiation via myeloid master regulator transcription factor and leukemia-suppressor PU.1. We also have previously shown that AZA increases PU.1. expression.

Study design & Methods

GA/MDS-2013 (EudraCT No 2013-001639-38). Expected for enrollment are 134 patients, currently enrolled 53 patients (GA arm N=29, A arm N=24) with median age 74 years, M:F ratio 32:21 (GA 16:16, A 13:8), median IPSS-R 6, median follow up 11.2 Mo, median cycles of therapy 6. Diagnosis included: MDS (EB1, EB 2) with IPSS int-2/high (75%), MDS/AML<30% MB (22.5%), and CMML II (2.5%). Transplant candidates were excluded. Randomization is 2:1 for GA vs A arm. Primary endpoints: OS, PFS, time to AML transformation, ORR, infections & QoL. Secondary endpoints: biomarkers. Therapy schedule: 75mg/m² of AZA 5-2-2, in GA: G-CSF s.c. injected 48 hrs before dose 1 and dose 6. G-CSF is measured in patient sera (prior therapy), myeloid surface markers are determined by flow cytometry (day -2, day 1, and day 9 of cycle 1). Genomic libraries from whole bone marrow are prepared by NEBNext Direct Kit involving 33 gene panel, sequencing runs are performed on Illumina platform. Statistics involved longitudinal multivariate data analysis including the joint models for the OS and response.

Results

The presented data include 2.5 years since the beginning of the trial. Median survival for GA arm was 11 vs 6 Mo in the A arm. ORR (CR, CRm, PR, HI) was 56% in GA arm vs 33% in the A arm. Transformation to AML for both arms was comparable. The stratified longitudinal Cox proportional hazards model containing time-varying covariates together with the ordinal multilevel logistic mixed model were utilized. From this joint fitted model, a negative coefficient for the G-AZA treatment (significant p-value 0.0442) can be noticed in the case of the Cox Proportional Hazard part of the model. This means that G-AZA treatment improves patient survival. The estimated odds for the GA arm that responded to the therapy with remission rather than progression is 12.4x higher than for the A arm, controlling for the remaining patients' characteristics (p-value 0.0016). Both the GA and A arms are comparably tolerated. Data on serious infections and neutropenia gr4 were not yet available. The levels of G-CSF in sera prior the study in both arms (GA vs A) were comparable. Flow cytometry revealed G-CSF mediated upregulation of FCgRI (CD64) in the GA but not in the A arm. Multivariate analysis indicates the following: mutated genes: DNMT3A (p-value 0.0157), EZH2 (p-value 0.0091), TP53 (borderline p-value 0.0510), & CSF3R (p-value 0.0057) shorten the overall survival. The significant negative effects on response was noted for mutated EZH2 (p-value 0.0208) and CSF3R (p-value 0.0424) genes.

Conclusions

The current results supported by different methods and statistics indicates a beneficial effect of G-CSF pre-treatment to standard AZA therapy in higher risk MDS patients. G-CSF pre-treatment to AZA increases OS and ORR. In addition, we identified biomarkers that are negatively associated with patient survival and response including EZH2, DNMT3A, TP53, & CSF3R.

Grant Support: Ministry of Health, #16-27790A. Institutional resources: Progres Q49 & Q26, UNCE/MED/016, LQ1604, SVV 260374/2017, RVO-64165

O04

CHARACTERIZATION OF A NOVEL JAK1 PSEUDOKINASE MUTATION IN THE FIRST CASE OF TRISOMY 21-INDEPENDENT GATA1-MUTATED TRANSIENT ABNORMAL MYELOPOIESIS

Lukes jr.J.^{1,2}, Danek P.⁴, Alejo O.⁶, Potuckova E.^{1,2}, Gahura O.⁵, Heckl D.⁶, Starkova J.^{1,2}, Stary J.^{2,3}, Zuna J.^{1,2,3}, Trka J.^{1,2,3}, Klusmann J-H.⁶, Zaliava M.^{1,2,3}

¹CLIP - Childhood Leukaemia Investigation Prague, Czech Republic;

²Department of Paediatric Haematology and Oncology, Second Faculty of Medicine, Charles University, Prague, Czech Republic;

³University Hospital Motol, Prague, Czech Republic;

⁴Department of Hemato-Oncology, Institute of Molecular Genetics, Czech Academy of Sciences, Prague, Czech Republic;

⁵Institute of Parasitology, Biology Center, Czech Academy of Sciences, Ceske Budejovice, Czech Republic;

⁶Pediatric Hematology and Oncology, Martin-Luther-University Halle-Wittenberg, Halle, Germany

Clonal proliferation of megakaryoblasts, called transient abnormal myelopoiesis (TAM), is a rare disease of newborns triggered by trisomy 21 (constitutional or somatic) together with acquired mutations of GATA1 resulting in the exclusive production of its short variant - GATA1s. No other TAM drivers have been described so far. We have diagnosed a unique TAM case with a typical clinical and laboratory manifestation but without the gain (or any other aberration) of chromosome 21.

Thorough genomic profiling revealed 4 somatic mutations: GATA1 D65_C228del, JAK1 F636del, FN1 R2420C and SPIRE2 R471W. With respect to the generally accepted 2-hit theory, we hypothesized that this TAM arose from a collaboration of the atypical GATA1 mutation (not inducing GATA1s) with (at least) one of the other identified mutations. Unlike SPIRE2 and FN1 aberrations, various mutations of the JAK1 kinase have been previously described as leukemia drivers, suggesting JAK1 F636del as a top candidate for the second hit. Moreover, JAK1 mutations have been associated with the transformation of TAM into acute megakaryoblastic leukemia (Nikolaev et al., Blood, 2013). The aim of our project was to functionally characterize this novel JAK1 mutation. Phenylalanine 636 belongs to a phylogenetically conserved triad of amino acids suggested to control catalytic activity of

JAK1 via mediating a switch between the supposedly active and inactive conformations (Toms et al., Nat Struct Mol Biol, 2013). Hence, F636 seems to be essential for JAK1 function.

Surprisingly, homology modeling showed that loss of F636 is compatible with both functionally opposite conformations. Indeed, Western blot analysis of JAK/STAT signaling in transiently transformed HEK293T cells showed that catalytic activity is preserved in JAK1 F636del. However, we observed lower levels of auto- and STATs phosphorylation compared to wild-type (wt) JAK1 suggesting decreased kinase activity of JAK1 F636del. Subsequently, we tested the oncogenic potential of JAK1 F636del in the Ba/F3 cell assay; unlike the known oncogenic JAK1 variant (JAK1 V658I), JAK1 F636del did not induce IL3-independent growth. To further assess phenotypic impact of F636del, we introduced JAK1 F636del into murine bone marrow and fetal liver hematopoietic stem and progenitor cells (HSPCs) using lentiviruses and performed colony forming assays. The number and morphology of colonies did not differ in JAK1 F636del compared to wt JAK1. Furthermore, we assessed the impact of JAK1 F636del in the context of mutated GATA1. We utilized the *in-vitro* model recently described by Labuhn et al. (Cancer Cell, 2019), in which the CRISPR/Cas9-mediated induction of Gata1s expression leads to the expansion and sustained proliferation of fetal liver HSPCs from embryonic day 13.5 ROSA26:Cas9-EGFPki/wt mice. Similar to wt JAK1, lentivirally introduced JAK1 F636del had no impact on the proliferation and maturation status of such Gata1-edited HPSCs irrespective of the timing of its introduction (simultaneously with Gata1 editing versus into fully established Gata1-edited culture) or of culturing conditions (fully cytokinesupplemented growth-supportive versus cytokine-depleted growth-restrictive medium). Altogether, we show that unlike known oncogenic variants, F636del identified in the first case of trisomy 21-independent TAM attenuates JAK1 kinase activity. The results of our phenotypic studies question the potential contribution of this mutation to TAM development. Interestingly, Labuhn et al. (2019) recently showed that non-activating JAK mutations occur at higher than random frequency in trisomy 21-dependent TAM. This tempts us to speculate that JAK1 mutations may still play a role in TAM. Yet, this role may significantly differ from that of known oncogenic mutations; it may result from attenuation/modulation instead of activation of downstream signaling and it may remain unrevealed utilizing the currently available sophisticated, yet still imperfect experimental models.

Support: GAUK 86218, EHA Research Mobility Grant

GENOTYPES OF THE GENE ENCODING THE MEMBRANE TRANSPORTER SLC22A4 ARE ASSOCIATED WITH MOLECULAR RELAPSE-FREE SURVIVAL AFTER DISCONTINUATION OF IMATINIB THERAPY IN PATIENTS WITH CHRONIC MYELOID LEUKEMIA

Machova Polakova K.¹, Albeer A.², Polivkova V.¹, Vlcanova K.¹, Fabarius A.³, Klamová H.¹, Spiess B.⁴, Waller C.⁵, Brümmendorf T.⁶, Dengler J.⁷, Kunzmann V.⁸, Burchert A.⁹, Bělohávková P.¹⁰, Mustjoki S.¹¹, Faber E.¹², Mayer J.^{13,14}, Žáčková D.^{13,14}, Panayiotidis P.¹⁵, Richter J.¹⁶, Hansen H.H.¹⁷, Saussele S.¹⁸ and Pfirrmann M.¹⁹

¹*Institute of Hematology and Blood Transfusion, Prague, Czech Republic;*

²*Institut für Medizinische Informationsverarbeitung, Biometrie und Epidemiologie, Ludwig-Maximilians-Universität, Munich, Germany;*

³*III. Medizinische Klinik, Hämatologie und Onkologie, Universitätsmedizin Mannheim, Mannheim, Germany;*

⁴*University Hospital Mannheim, Heidelberg University, Department of Hematology and Oncology, Mannheim, Germany;*

⁵*Freiburg University Medical Center, Freiburg, DEU;*

⁶*Universitätsklinikum RWTH Aachen, Aachen, Germany;*

⁷*Onkologische Praxis Heilbronn, Heilbronn, Germany;*

⁸*Medizinische Klinik und Poliklinik II, Universitätsklinikum Würzburg, Würzburg, Germany;*

⁹*University Hospital Marburg, Marburg, Germany;*

¹⁰*4th Department of Internal Medicine - Hematology, University Hospital Hradec Králové, Hradec Králové, Czech Republic;*

¹¹*Department of Clinical Chemistry and Hematology, University of Helsinki, Helsinki, Finland;*

¹²*Department of Hemato-Oncology, Palacký University Olomouc, Faculty of Medicine and Dentistry, Olomouc, Czech Republic;*

¹³*Internal Hematology and Oncology Clinic, University Hospital Brno, Brno, Czech Republic;*

¹⁴*Faculty of Medicine, Masaryk University, Brno, Czech Republic;*

¹⁵*First Department of Propedeutic Medicine, Laikon General Hospital, National and Kapodistrian University of Athens, Athens, Greece, Athens, Greece;*

¹⁶*Department of Hematology, Oncology and Radiation Physics, Skåne University Hospital, Lund, Sweden;*

¹⁷*Department of Hematology, St Olavs Hospital, Trondheim, Norway;*

¹⁸*Department of Hematology and Oncology, University Hospital Mannheim, Heidelberg, Germany;*

¹⁹*Institut für medizinische Informationsverarbeitung, Biometrie und Epidemiologie, Ludwig-Maximilians-Universität, München, Germany*

Introduction

The single nucleotide polymorphism (SNP) rs460089 (G/C) located in the promotor of SLC22A4 (transporter hOCTN1) was identified as a prognostic factor for the outcome of chronic myeloid leukaemia patients treated with imatinib first line (Jaruskova et al. JECCR

2017). Patients with GC genotype had significantly higher probability of achievement of sustained major molecular response (MMR, BCRABL $\leq$ 0.1% IS) as compared with patients with GG. We investigated differences in the outcome after imatinib cessation in EURO-SKI patients according to the genotypes of the SNP rs460089.

Methods

DNA analysis was performed by TaqMan SNP genotyping assay using StepOnePlus RQ-PCR System (ThermoFisher Scientific). In addition to the inclusion criteria defined for prognostic analysis in Saussele et al. (Lancet Oncology 2018), all patients with interferon pre-treatment were excluded. Data on sex, duration of IM treatment, of deep molecular response and age at time of imatinib discontinuation as well as molecular status at 6 months thereafter were available for 178 patients. Logistic regression was used to investigate factors affecting MMR maintenance at 6 months. Level of significance was 0.05.

Results

Of 178 patients, 106 (60%) maintained MMR 6 months after imatinib stop. GC genotype was identified in 64 patients, GG in 96 and CC in 18. Most beneficial for MMR maintenance was genotype GC (72%, 95% confidence interval (CI): 60-82%), followed by CC (61%, CI: 38-80%) and GG (51%, CI: 41-61%). Overall, the SNP rs460089 was associated with MMR maintenance ($p=0.0335$) with a significantly higher odds ratio (OR) for maintenance for GC genotype vs. GG (2.451, CI: 1.247-4.819, $p=0.0093$) but not for CC vs. GG (1.507, CI: 0.539-4.216, $p=0.4343$). Only duration of TKI treatment was significant (OR: 1.157, CI: 1.014-1.319, $p=0.0303$) when added to genotypes in multiple regression. The OR of GC vs. GG was slightly modified to 2.311 (1.164-4.588, $p=0.0166$).

Conclusions

Based on observed data we suppose that the GC genotype of the SNP rs460089 is associated with sufficient intracellular concentration of imatinib allowing more efficient targeting of CML cells during the treatment. This resulted in a higher proportion of patients who sustained MMR after imatinib stop as compared with patients with GG. Longer duration of imatinib treatment increased the probability of MMR maintenance after imatinib cessation also in patients with GG. The frequency of CC was low and outcome in between GC and GG. The SNP rs460089 may provide an independent prognostic factor for molecular response maintenance after imatinib cessation.

Supported by MZCR 00023736 and TACR gama TG03010035

CHARACTERIZATION OF PATHOGENIC VARIANTS ASSOCIATED WITH HEREDITARY THROMBOCYTOPENIAS IN FAMILIES FROM THE CZECH REPUBLIC

Vrzalova Z.^{1,2*}, Kozubik K.S.^{1,2*}, Radova L.^{2*}, Trizuljak J.^{2,3*}, Pospisilova S.^{1,4*} and Dousek M.^{2,3}

¹*Department of Internal Medicine - Hematology and Oncology / Center of Molecular Biology and Gene Therapy, University Hospital Brno and Faculty of Medicine, Brno, Czech Republic;*

²*Central European Institute of Technology (CEITEC), Masaryk University, Brno, Czech Republic;*

³*Department of Internal Medicine - Hematology and Oncology, University Hospital Brno and Faculty of Medicine, Brno, Czech Republic;*

⁴*Central European Institute of Technology, Masaryk University, Brno, Czech Republic*

Introduction

Inherited thrombocytopenias (IT) are a heterogeneous group of 33 different forms of monogenic disorders caused by molecular defects affecting 40 genes at least. The pathogenic germline variants play an important role in the development and maintenance of hematopoietic system (megakaryopoiesis and thrombopoiesis). These changes lead to disruption of these processes and are presented as the thrombocytopenia phenotype (low platelet count, blood-examination). However, patients are occasionally misdiagnosed with the immune thrombocytopenia and unsuccessfully treated with steroid therapy and splenectomy. In some patients, accurate diagnosis of IT can only be established based on the results of molecular genetic testing. Furthermore, it has also been shown that some hematological conditions with Mendelian type of heritability precede the development of hematological disease.

Patients and Methods

DNA samples from peripheral blood or buccal swabs of four unrelated families were isolated. The whole exome sequencing (WES) was performed using the NextSeq 500 Illumina instrument with adequate chemistry and sequencing libraries were prepared according to the SeqCap EZ Human Exome Probes v3 protocol. The generated data were processed using in-house bioinformatics pipelines. The detected pathogenic variants were confirmed by Sanger sequencing. Moreover, the novel variant was analyzed *in silico* using analytical procedures including protein modelling, too. Germline DNA analysis was performed on all available samples and somatic DNA analysis was done for the oncological patient. Within each family, the obtained pathogenic variants were compared between the individuals with IT phenotype and their disease-free relatives.

Results

The pathogenic variants were characterized in four families with different forms of IT. Moreover, the additional genetic variants were detected in three of them which predispose to the development of hematological malignancies. In the first family, a novel heterozygous variant c.320C>T; p.(Thr107Met) in *TUBB1* gene is probably responsible for essential thrombocytopenia disease because all rare *TUBB1* variants until now have been detected in

patients with macrothrombocytopenia. The known pathogenic variant c.1402G>T; p.(Val468Phe) in *JAK2* gene (10.9% frequency) was identified in a family member suffering from the myeloproliferative disease. In the second family, heterozygous pathogenic variants c.3076C>T; p.(Arg1026Trp) in *ITGA2B* gene and c.3188G>A; p.(Arg1063His) in *JAK2* gene were detected, associated with platelet-type bleeding disorders and hereditary erythrocytosis with megakaryocytic atypia and predisposition for hematological malignancy, respectively. It is known that stomach tumor occurred in patient's family before. In the third family, heterozygous pathogenic variant c.3493C>T; p.(Arg1165Cys) in *MYH9* gene was identified in a patient with macrothrombocytopenia. This variant was associated with Sebastian syndrome, macrothrombocytopenia and granulocyte inclusions and predisposition to kidney failure, hearing loss, and cataracts. In the fourth family, *ANKRD26*-related thrombocytopenia with predisposition to myeloid malignancy was probably identified in a patient with detected heterogeneous known variant c.-140C>G in 5' UTR of *ANKRD26* gene. Moreover, the novel c.682C>T; p.(Arg228Trp) variant in *SYTL3* gene with uncertain significance was detected in this patient.

Conclusions

The pathogenic variants were detected in unrelated affected families with macrothrombocytopenia, platelet-type bleeding disorders and hereditary erythrocytosis with megakaryocytic atypia, Sebastian syndrome, and *ANKRD26*-related thrombocytopenia. Moreover, the genetic variants predispose to myeloid malignancy were identified. Molecular genetic testing helped the clinicians to determine the correct diagnosis in these patients.

This study was supported by Ministry of Health of the Czech Republic (grant No 16-29447A), and TA CR (TE02000058).

007**ANALYSIS MUTATIONAL LANDSCAPE IN SYSTEMIC ANAPLASTIC LARGE CELL LYMPHOMA IDENTIFIES NOVEL PROGNOSTIC MARKERS**

Lobello C.¹, Boris T.¹, Bystry V.¹, Radova L.¹, Filip D.^{1,7}, Mraz M.^{1,7}, Montes-Mojarro I.A.², Fend F.², Prokoph N.³, Larose H.³, Turner S.D.³, Liang H.C.⁴, Merkel O.⁴, Kamaradova K.⁵, Belada D.⁵, Sharma G.G.⁶, Mologni L.⁶, Gambacorti-Passerini C.⁶, Janikova A.⁷, Pospisilova S.^{1,7}

¹*Central European Institute of Technology (CEITEC), Masaryk University, Brno, Czech Republic;*

²*Institute of Pathology and Neuropathology and Comprehensive Cancer Center Tübingen, Eberhard-Karls-University, Tübingen, Germany;*

³*Division of Cellular and Molecular Pathology, Department of Pathology, University of Cambridge, Cambridge, UK;*

⁴*Clinical Institute of Pathology, Medical University of Vienna, Vienna, Austria;*

⁵*4th Department of Internal Medicine-Hematology, Charles University Hospital and Faculty of Medicine, Hradec Králové, Czech Republic.*

⁶*Department of Medicine and Surgery, University of Milano-Bicocca, Monza 20900, Italy.*

⁷*Department of Internal Medicine—Hematology and Oncology, University Hospital Brno, Brno, Czech Republic*

BACKGROUND

Systemic Anaplastic Large Cell Lymphoma (sALCL) is comprised of two distinct T-cell non-Hodgkin lymphoma entities: ALK-positive (ALK+) ALCL and ALK-negative (ALK-) ALCL. These entities are characterised by either the presence or absence of an ALK-translocation. It has been reported that ALK+ ALCL has a better prognosis compared to ALK- ALCL, with a 5-year overall survival (OS) of 70-80% versus 15-45%, respectively. Furthermore, more than 25% of ALK+ ALCL patients undergo relapse. sALCL is a genetically heterogeneous disease whose genomic characterisation has been improved through the implementation of high-throughput technologies. Despite this, the prognostic value of somatic mutations has been poorly described. Here we present the analysis of genetic aberrations of sALCL, shedding light on disease pathogenesis, novel diagnostic biomarkers and prognostic markers for the detection of refractory and/or relapsed patients which could hold clinical implications.

METHODS

Formalin-fixed paraffin-embedded (FFPE) and/or fresh frozen tissue and related clinical information for 82 sALCL patients (47 ALK+ and 35 ALK-) were obtained after written informed consent from 5 centres across Europe. Using deep targeted DNA sequencing, the entire coding region of 275 selected genes (QIAseq Targeted DNA – Human Comprehensive

Cancer Panel, Qiagen, Germany) was investigated in our retrospective cohort of patient samples as well as 6 ALCL cell lines (Karpas-299, SU-DHL-1, DEL, SR786, FEPD and MAC2a). The average depth achieved across all the sequenced samples was approximately 2000x allowing the detection of aberrations with low allele frequencies (<10%) not usually detectable by other methods (e.g. Sanger sequencing or Whole Exome Sequencing). Moreover, we explored the clonal expansion in sALCL relapsed patients comparing the mutational status in matched samples at both diagnosis and relapse (n=4).

RESULTS

ALK⁻ patients in our cohort have a worse prognosis than ALK⁺, whereby the 7y-OS was 45.1% and 73.2%, respectively, although the 7 year progression free survival (PFS) was comparable at 57.1% for ALK⁺ and 42.4% for ALK⁻ patients. As previously reported, ALK⁺ patients were significantly younger in our series than ALK⁻ patients with an average age of 23.5 and 55.2 years, respectively. Among the 275 genes sequenced, 148 (53.8%) genes harbour at least one mutation throughout the entire patient and cell line cohort; almost 1/3 of mutated genes were shared between ALK⁻ and ALK⁺ ALCL patients. On average 4.2 mutations per patient were detected in ALK⁻ ALCL, a higher level than observed in ALK⁺ samples (2.7), most likely due to the oncogenic-driving role of the ALK-translocation in this group. Seventy-two out of 82 (88%) patients carried at least one single mutation within the genes analysed in our panel. The most recurrent genes mutated were *TP53* in both sALCL categories (16% of sALCL patients), followed by *LRP1B* being prevalently mutated in ALK⁺ disease (15% of sALCL patients). As expected, *STAT3* and *JAK1* were mutated solely in the ALK⁻ ALCL cohort and represent the most commonly mutated genes in this group. Prognostically, the most recurrent genes mutated in patients with a dismal outcome (dead and/or relapsed patients) were *TP53*, *STAT3*, *EPHA5*, *JAK1*, *LRP1B*, *KMT2D*, *PRDM1* and *SOCS1*. Comparing samples at diagnosis *versus* relapse highlighted two key findings: firstly, the clonal expansion of *TP53* mutated clones in relapsed ALCL patients and secondly, the acquired mutations in *EPHA5* which were only detected at relapse. These data suggest their possible use as biomarkers associated with clonal evolution.

CONCLUSION

This study provides information regarding the genetic landscape in sALCL across 275 select genes. We have confirmed the importance of known frequently mutated genes (*STAT3* and *JAK1*) and describe novel recurrently mutated genes (*LRP1B*, *EPHA5* and *KMT2D*). Mutations in *STAT3* were more recurrent in ALK⁻ ALCL patients with shorter OS, and clones harbouring mutated *TP53* and *EPHA5* were detectable more often in relapsed sALCL thereby suggesting a possible driving role.

This project has received funding from the European Union's Horizon 2020 Marie Skłodowska – Curie (ITN - ETN) grant no. 675712, from the Czech Science Foundation (GA ČR), project

no. 19-23424Y and the project CEITEC 2020 (LQ1601) with financial support from the MEYS of the Czech Republic under the National Sustainability Programme II.

We acknowledge the CF Genomics CEITEC MU supported by the NCMG research infrastructure (LM2015091 funded by MEYS CR) and Core Facility Bioinformatics of CEITEC MU for their support with scientific data analysis presented here.

O08

HIGH TP53 MUTATION LOAD PREDICTS PRIMARY REFRACTORY MANTLE CELL LYMPHOMA

Obr A.¹, Klener P. jr.², Prochazka V.¹, Kriegova E.³, Zemanova Z.⁴, Urbankova H.¹, Jirkuvova A.¹, Petrackova A.³, Cudova B.¹, Sedlarikova L.³, Papajik T.¹, and Trneny M.²

¹Department of Hemato-Oncology, Palacký University and University Hospital, Olomouc, Czech Republic;

²First Dept. of Medicine- Hematology, Charles University General Hospital and First Faculty of Medicine, Praha 2, Czech Republic;

³Department of Immunology, Faculty of Medicine and Dentistry, Palacky University and University Hospital Olomouc, Olomouc, Czech Republic;

⁴Center for Oncocytogenetics, Institute of Medical Biochemistry and Laboratory Diagnostics, General University Hospital and 1st Faculty of Medicine, Prague 2, Czech Republic;

⁵Department of Hemato-Oncology, Faculty of Medicine and Dentistry, Palacky University and University Hospital Olomouc, Olomouc, Czech Republic;

⁶Department of Hemato-Oncology, Palacky University and University Hospital Olomouc, Olomouc, Czech Republic;

⁷Department of Immunology, Faculty of Medicine and Dentistry, Palacky University Olomouc and University Hospital Olomouc, Olomouc, Czech Republic;

⁸Dept. of Hemato-Oncology, University Hospital Olomouc, Olomouc, Czech Republic

Introduction

Mantle cell lymphoma (MCL) is rare B-cell lymphoma subtype with usually aggressive behavior. Mutations of *TP53* gene and complex karyotype (CK) were described to be poor prognostic factors (Obr A et al, 2018), but their impact on primary resistance to induction has not been investigated.

Methods

We analyzed 115 MCL patients (pts) treated in two Czech university centers from 4/2006 to 10/2016. Both classical cytogenetics and next generation sequencing (NGS, MiSeq, Illumina) for *TP53* mutation detection were performed on tumoral tissue (peripheral blood, bone marrow) in all patients. Cut-off for *TP53* mutation was 1% variant allele frequency (VAF). CK was defined as 3 and more cytogenetic aberrations in one cell population. Pts with stable or progressive disease (SD/PD) during induction or with relapse within 6 months after induction completion were considered as primary refractory (PrR). Variables were compared by chisquared test. T-test was used to compare the difference between means

of *TP53* mutation load in PrR+ and PrR- subgroup. Cut-off for *TP53* mutation load (27%) was established as median VAF. Overall and progression free survival (OS, PFS) were calculated from the date of diagnosis.

Result

The median age at diagnosis was 66 (40-87) years. Ninety-six percent of pts had advanced disease (III and IV). MIPI score was low, intermediate and high in 19.1%, 27.8% and 53.0% pts, respectively. Induction regimens used were as follows: R-CHOP/R-CHOP-like in 47.8%, intensive R-HDAC-containing in 38.3% and nonanthracycline regimen in 9.6% pts. Complete and partial response was achieved in 53.0% and 27.0% pts, resp. SD/PD was observed in 11.3% pts. Overall, 27 (23.5%) pts were considered as primary refractory. *TP53* mutation and CK were present in 37 (32.3%) and 15 (13.0%) pts, respectively. Age, disease stage, ECOG score, MIPI, HDAC therapy and CK did not correlate with PrR status. Significantly higher *TP53* mutation load was observed in the PrR+ (42%), compared to PrR- subgroup (25%, $p=0.03$). After median follow-up of 4.6 years, 3- year overall survival (3-y OS) and 3-year progression free survival (3-y PFS) in all pts was 65.8% and 50.9%, resp. Median OS in PrR+ and PrR- pts was 9.2 months, and 4.5 years, resp. Survival analysis stratified according to the *TP53* mutation status/mutation load showed 3-y OS and 3-y PFS for wild type (*TP53*-WT), low mutation load (*TP53*-low load), high mutation load (*TP53*-high load) 74.2%, 47.6%, 33.3% and 56.0%, 37.0%, 27.8%, respectively ($p=0.001$ both).

Conclusions

High *TP53* mutation load (>27% VAF), but not CK, has significantly correlated with refractory disease in MCL pts. Pts with high mutation load of *TP53* gene should be considered to an innovative treatment.

Acknowledgement: Supported by IGA_LF_2019_001, MH CZ – DRO (FNOI, 00098892), AZV16-32339A and AZV16-31092A grants

SUBGROUP ANALYSES OF ELDERLY PATIENTS AGED ≥ 70 YEARS IN AUGMENT: A PHASE III RANDOMIZED STUDY OF LENALIDOMIDE PLUS RITUXIMAB (R²) VS RITUXIMAB PLUS PLACEBO (R-PLACEBO) IN PATIENTS WITH RELAPSED/REFRACTORY (R/R) INDOLENT NON-HODGKIN LYMPHOMA (iNHL)

Trneny M.,¹ Leonard J.P.,² Zhang J.,³ Nowakowski G.,⁴ Izutsu K.,⁵ Fowler N.H.,⁶ Thieblemont C.,⁷ Zinzani P.L.,⁸ Kalambakas S.,⁹ Czuczman M.,⁹ Fustier P.,¹⁰ Wu Ch.,⁹ and Gribben J.,¹¹ on behalf of the AUGMENT study investigators.

¹Charles University Hospital, Prague, Czech Republic

²Meyer Cancer Center, Weill Cornell Medicine and New York Presbyterian Hospital, New York, NY

³Tianjin Medical University Cancer Institute and Hospital, Tianjin, China

⁴Mayo Clinic, Rochester, MN

⁵National Cancer Center Hospital, Tokyo, Japan

⁶The University of Texas MD Anderson Cancer Center, Houston, TX

⁷APHP, Hôpital Saint-Louis, Hemato-oncology, Paris, France

⁸Institute of Hematology "Seràgnoli," University of Bologna, Bologna, Italy

⁹Celgene Corporation, Summit, NJ

¹⁰Celgene Corporation, Boudry, Switzerland

¹¹Centre for Haemato-Oncology, Barts Cancer Institute, London, United Kingdom

Background:

The combination of lenalidomide+rituximab (R²) recently showed superior efficacy vs R-placebo in patients (pts) with R/R iNHL (Leonard et al. *J Clin Oncol* 2019). Based on these AUGMENT study results, R² was approved by the US FDA for treatment of adult pts with previously treated follicular lymphoma (FL) or marginal zone lymphoma (MZL). Advanced age at diagnosis is a risk factor in pts with iNHL. We performed post-hoc subgroup analyses by age from AUGMENT and data here focus on pts age ≥ 70 y.

Methods:

AUGMENT (NCT01938001) is a multicenter, double-blind, randomized phase III study of R² vs R-placebo in pts with FL grade 1-3a or MZL previously treated with ≥ 1 systemic therapy with R/R disease but not refractory to rituximab. Pts were randomized 1:1 to R² or R-placebo. R² was oral lenalidomide 20 mg/d, d1-21/28 for 12c plus rituximab IV 375 mg/m² weekly in c1 and d1 of c2-5. R-placebo was rituximab+placebo on the same schedule. The primary endpoint was progression-free survival (PFS) per 2007 IWG response criteria (without PET) as assessed by IRC (central review). Secondary endpoints included overall response rate (ORR), complete response (CR), time to next anti-lymphoma treatment (TTNLT) and safety. Post-hoc analyses were performed by dividing pts into age < 70 y and ≥ 70 y subgroups, the latter group considered unfit for chemotherapy.

Results:

Of 358 pts randomized (R^2 , $n = 178$; R-placebo, $n = 180$), 267 pts were age < 70 y (R^2 , $n = 131$; R-placebo, $n = 136$), and 91 pts were age ≥ 70 y (R^2 , $n = 47$; R-placebo, $n = 44$). Baseline characteristics including histology, disease status, and prior treatments are shown in the table and were similar across treatment arms in pts ≥ 70 y. At a median follow-up of 28.3 mo, the study met its primary endpoint of PFS, with a hazard ratio (HR) of 0.46 (95% CI, 0.34-0.62; $P < 0.0001$) in the overall population. R^2 had superior PFS vs R-placebo in both < 70 and ≥ 70 y subgroups, with HR of 0.41 (95% CI, 0.29-0.59) and HR of 0.66 (95% CI, 0.37-1.18), respectively. In pts ≥ 70 y, median PFS with R^2 vs R-placebo was 24.9 vs 14.3 mo; ORR/CR was 81%/26% vs 59%/16%; and TTNLT was not reached in either arm. Efficacy results for all pts and those < 70 y are reported in the table; notably in pts receiving R^2 , mPFS was longer in pts < 70 y vs ≥ 70 y (39.4 mo [95% CI, 22.9-NE] vs 24.9 mo [95% CI, 16.4-NE]). In pts ≥ 70 y, any-grade adverse events (AEs) with a $\geq 10\%$ difference between R^2 vs R-placebo included neutropenia (63% vs 11%), constipation (33% vs 16%), cough (33% vs 16%), leukopenia (26% vs 2%), anemia (24% vs 9%), pyrexia (24% vs 9%), pruritus/pruritus generalized (24% vs 2%), muscle spasms (22% vs 11%), rash/rash maculopapular (22% vs 5%), headache (20% vs 9%), thrombocytopenia (17% vs 2%), dyspepsia (13% vs 2%), influenza (13% vs 2%), back pain (7% vs 18%), and nasopharyngitis (4% vs 16%). Also, tumor flare was reported in 9% vs 0% of pts, respectively. In pts ≥ 70 y, 75% of R^2 pts vs 36% of R-placebo pts had ≥ 1 grade 3/4 AE, mainly due to neutropenia (50% vs 7%). All other grade 3/4 AEs occurred in < 10% of pts ≥ 70 y in both treatment arms. One grade 5 AE occurred in pts ≥ 70 y (R-placebo arm). In the R^2 arm, the median number of treatment cycles was 12 for both the < 70 y vs ≥ 70 y subgroups; however, fewer older pts completed 12 cycles of lenalidomide (76% vs 57%), and more started lenalidomide at the lower dose of 10 mg (6% vs 35%) because of low creatinine clearance, respectively. In the R^2 < 70 y and ≥ 70 y subgroups, the average daily dose of lenalidomide was 17.9 mg/d (range, 5.6-20.0) and 14.4 mg/d (range 4.2-20.0), and median relative dose intensity was 95% and 86%, respectively.

Conclusions:

Similar to the results in the original population, R^2 showed superior efficacy vs rituximab monotherapy (plus placebo) as measured by the primary end point of PFS and secondary end points of ORR and CR in pts with R/R FL grade 1-3a and MZL irrespective of age. The efficacy and safety profiles of R^2 and R-placebo in pts ≥ 70 y were similar to those reported in the overall population. Older pts treated with R^2 vs R-placebo had superior mPFS (24.9 vs 14.3 mo). They were more likely to start lenalidomide at a lower dose and had lower median dose intensity which may have contributed to their shorter mPFS vs younger pts receiving R^2 . These data show that R^2 maintained efficacy improvements vs R-placebo in pts ≥ 70 y, despite higher unfit status and lower overall lenalidomide treatment/exposure. Thus, R^2 is an effective and available treatment option for pts with iNHL, including those with advanced age.

Table. AUGMENT: Baseline Characteristics and Efficacy by Age Group

	< 70 y		≥ 70 y		Total	
	R ² (n = 131)	R-Placebo (n = 136)	R ² (n = 47)	R-Placebo (n = 44)	R ² (n = 178)	R-Placebo (n = 180)
Baseline characteristics, n (%)						
FL	113 (86)	116 (85)	34 (72)	32 (73)	147 (83)	148 (82)
MZL	18 (14)	20 (15)	13 (28)	12 (27)	31 (17)	32 (18)
Ann Arbor stage III-IV	105 (80)	96 (71)	32 (68)	28 (63)	137 (77)	124 (69)
FLIPI score ≥ 3	45 (34)	33 (24)	24 (51)	21 (48)	69 (39)	54 (30)
ECOG PS 0-1	130 (99)	135 (99)	46 (99)	43 (98)	176 (99)	178 (99)
Bulky disease	32 (24)	40 (29)	13 (28)	9 (20)	45 (25)	49 (27)
> 1 Prior systemic antilymphoma regimen	51 (39)	66 (49)	25 (53)	17 (39)	76 (43)	83 (46)
Unfit for chemotherapy*	7 (5)	5 (4)	47 (100)	44 (100)	54 (30)	49 (27)
Efficacy						
mPFS, mo (95% CI)	39.4 (22.9-NE)	13.9 (9.6-16.7)	24.9 (16.4-NE)	14.3 (11.3-27.7)	39.4 (22.9-NE)	14.1 (11.4-16.7)
ORR, n (%)	100 (76)	70 (51)	38 (81)	26 (59)	138 (78)	96 (53)
CR, n (%)	48 (37)	26 (19)	12 (26)	7 (16)	60 (34)	33 (18)
mTTNLT, mo (95% CI)	NE (NE-NE)	28.2 (21.5-NE)	NE (22.9-NE)	NE (20.8-NE)	NE (NE-NE)	32.2 (23.2-NE)

CR, complete response; ECOG PS, Eastern Cooperative Oncology Group performance status; FL, follicular lymphoma; FLIPI, FL International Prognostic Index; mPFS, median progression-free survival; mTTNLT, median time to next antilymphoma treatment; MZL, marginal zone lymphoma; NE, not evaluable; ORR, overall response rate.

*Defined as age ≥ 70 y, or age 60-69 y with creatinine clearance < 60 mL/min or ECOG PS ≥ 2.

SEPARATE ROLES OF ASPARAGINE AND GLUTAMINE IN CYTOSTATIC EFFECT OF L-ASPARAGINASE - STABLE ISOTOPE TRACING APPROACH

Hložková K.¹, Thakker A.³, Alquézar-Artieda N.¹, Žaliová M.¹, Trka J.^{1,2}, Tennant A.D.³, Starková J.¹

¹CLIP—Childhood Leukaemia Investigation, Prague, Department of Paediatric Haematology and Oncology, Second Faculty of Medicine, Charles University, Prague;

²University Hospital Motol, Prague;

³Institute of Metabolism and Systems Research, University of Birmingham, Birmingham, UK

L-asparaginase (ASNase) is one of the crucial components of acute lymphoblastic leukemia (ALL) therapy. Although we have previously shown that ASNase triggers metabolic reprogramming of leukemic cells, the significance and interconnections of the changes have not yet been elucidated. Metabolic reprogramming is an accompanying feature in therapy response and is also triggered by commonly used cytostatic drugs. ASNase hydrolyzes two non-essential amino acids asparagine (Asn) and glutamine (Gln). Therapeutic ASNase concentration used *in vitro* transforms all Asn and Gln to aspartate (Asp) and glutamate (Glu), respectively.

We employed stable isotope tracing to understand the complexity and interconnection of metabolic processes altered in leukemia cells exposed to ASNase. Stable isotope tracing is a unique method enabling the quantification of metabolic flux. When substrate with ¹³C is metabolized by cells, enzymatic reactions rearrange ¹³C atoms resulting in specific labeling patterns in downstream metabolites. Therefore, this method allows us to determine exact pathways which are used to metabolize labeled nutrient. Glucose and Gln media concentrations were adjusted to 8mM and 1mM, respectively, to more resemble physiological conditions. All experiments were done with 0.8 IU/ml ASNase which is close to the plasma ASNase level in the induction phase of ALL treatment.

We studied the effect of ASNase on two B-ALL cell lines with different sensitivity to this cytostatic drug: REH (IC₅₀=0.000231 IU/ml) and NALM6 (IC₅₀=0.328894 IU/ml). U¹³C glucose tracing revealed that although pyruvate and lactate intracellular concentrations are not changed after ASNase treatment, the relative flux from glucose to these metabolites (expressed as M+3 which represents 3 ¹³C atoms in 1 molecule) is lowered (e.g. lactate (M+3): NALM6 – (0.5898±0.0026) vs (0.4473±0.0031), p<0.0001; REH – (0.3417±0.0023) vs (0.2411±0.0024), p<0.0001). Unlike glycolytic intermediates, the levels of tricarboxylic acid (TCA) cycle intermediates are lowered after ASNase administration (e.g. relative quantification of malate: NALM6 – (1.6120±0.1202) vs (0.4358±0.0247), p<0.0001; REH – (0.8231±0.0689) vs (0.2484±0.0573), p<0.0001). Interestingly, the relative flux from glucose to TCA cycle (expressed as e.g. malate (M+1-M+4) which represents at least 1 ¹³C atom in a malate molecule) is increased in NALM6 ((0.0947±0.0021) vs (0.3605±0.0070), p<0.0001) and lowered in REH cells ((0.3109±0.0100) vs (0.1449±0.0185), p<0.0001) after ASNase.

Since in our setting ASNase depletes both Asn and Gln, we tested what are the separate roles of Asn and Gln depletion in ASNase treatment. We discovered that omitting Gln from the media caused that TCA cycle intermediates are lowered in both cell lines to the same extent as after ASNase. Moreover, the flux from glucose to TCA cycle resembles the one after ASNase in both cell lines. In contrast the results of Asn withdrawal showed that level of TCA cycle intermediates are unchanged. The relative flux from glucose to TCA cycle is mildly downregulated without Asn in the media in both cell lines (e.g. malate (M+1-M+4): NALM6 – (0.1485 ± 0.0014) vs (0.1158 ± 0.0004) , $p < 0.0001$; REH – (0.2662 ± 0.0031) vs (0.2024 ± 0.0015) , $p < 0.0001$).

Many studies emerged that highlight TCA cycle importance in Asp production and hence in sustaining cell viability and proliferation. Although TCA cycle is diminished after ASNase treatment, our results showed that both NALM6 and REH cells are able to maintain Asp and Glu levels. Using U13C Asp and U13C Glu, we discovered that, unexpectedly, both cell lines are able to import Asp and Glu from the media in a dose-dependent manner.

Altogether, our results demonstrate different consequences of Asn and Gln depletion during ASNase treatment. According previous studies it is probably only Asn that is completely depleted after ASNase administration in ALL therapy with unchanged or lowered Gln concentration. Therefore, this fact should be considered in *in vitro* studies where Gln depletion could blur the effect of Asn depletion. Above that, we showed that leukemia cells are able to uptake Asp and Glu. This indicates the possible way how leukemic cells could cope with ASNase treatment.

This work is supported by NV18-07-00129 and Charles University Grant agency 79421.

AN EXPLORATORY ANALYSIS OF BRENTUXIMAB VEDOTIN PLUS CHP (A+CHP) IN THE FRONTLINE TREATMENT OF PATIENTS WITH CD30+ PERIPHERAL T-CELL LYMPHOMAS (ECHELON-2): IMPACT OF CONSOLIDATIVE STEM CELL TRANSPLANT

Trneny M.¹, Savage K.J.², Horwitz S.M.³, Advani R.⁴, Christensen J.H.⁵, Domingo-Domenech E.⁶, Rossi G.⁷, Morschhauser F.⁸, Alpdogan O.⁹, Suh C.¹⁰, Tobinai K.¹¹, Shustov A.¹², Yuen S.¹³, Zinzani P.L.¹⁴, Trümper L.¹⁵, Illidge T.¹⁶, O'Connor O.¹⁷, Pro B.¹⁸, Little M.¹⁹, Bunn V.¹⁹, Fenton K.²⁰, Manley T.²⁰, Iyer S.²¹

¹Charles University General Hospital and First Faculty of Medicine, First Department of Medicine- Hematology, Czech Republic;

²British Columbia Cancer Centre for Lymphoid Cancer, University of British Columbia and the Department of Medical Oncology, Vancouver, BC, Canada;

³Memorial Sloan Kettering Cancer Center, Basking Ridge, NJ, USA;

⁴Stanford Cancer Center, Blood and Marrow Transplant Program, Stanford, CA, USA;

⁵Odense University Hospital, Odense, Denmark;

⁶Institut Catala D'oncologia, L'Hospitalet de Llobregat, Barcelona, Spain;

⁷Azienda Ospedaliera Spedali Civili di Brescia, Brescia, Italy;

⁸CHRU de Lille, Lille cedex, Nord-Pas-de-Calais, France;

⁹Thomas Jefferson University, Division of Hematologic Malignancies and Hematopoietic Stem Cell Transplantation, Department of Medical Oncology, Philadelphia, PA, USA;

¹⁰Department of Oncology, Asan Medical Center, University of Ulsan College of Medicine Seoul Korea, Republic of South Korea;

¹¹National Cancer Center Hospital, Tokyo, Japan;

¹²University of Washington Medical Center, Seattle, WA, USA;

¹³Calvary Mater Newcastle Hospital, Australia;

¹⁴Institute of Hematology "Seràgnoli" University of Bologna, Bologna, Italy;

¹⁵Universitätsmedizin Göttingen, Göttingen, Germany;

¹⁶Division of Cancer Sciences, Faculty of Biology, Medicine and Health, University of Manchester, National Institutes of Health and Research Biomedical Research Center, Manchester Academic Health Sciences, Christie Hospital National Health Service Foundation Trust, Manchester, UK;

¹⁷Columbia University Medical Center, New York, NY, USA;

¹⁸Department of Medicine, Northwestern University Feinberg School of Medicine, Chicago, IL, USA;

¹⁹Millennium Pharmaceuticals, Inc., Cambridge, MA, USA, a wholly owned subsidiary of Takeda Pharmaceutical Company Limited;

²⁰Seattle Genetics, Inc., Bothell, WA, USA;

²¹MD Anderson Cancer Center/University of Texas, Houston, TX, USA

Introduction

The ECHELON-2 study (NCT01777152) demonstrated significantly longer progression-free survival (PFS) and overall survival with brentuximab vedotin plus cyclophosphamide, doxorubicin, and prednisone (A+CHP) versus CHOP in the frontline treatment of patients with sALCL or other CD30-expressing PTCL and supported the 2018 FDA approval in this setting. Consistent with current guidelines, patients could have received consolidative stem cell transplant (SCT) after treatment at the discretion of the treating investigator. In all patients treated with A+CHP, only 22% (50 of 226) underwent SCT. Herein, we present outcomes from an exploratory analysis of patients in a complete remission (CR) following A+CHP who received an SCT and those who did not.

Methods

CR rate was defined at the end of treatment by independent review per the Revised Response Criteria for Malignant Lymphoma. ALK+ sALCL patients were excluded because they tend to have more favourable outcomes. Consolidative transplant was not considered a PFS event. A univariate analysis of SCT versus no SCT and multivariate analyses adjusting for region and age were performed.

Results

Sixty-seven percent (76/113) of patients with ALK- sALCL on the A+CHP arm were in CR at end of treatment and 36% (27/76) of them received SCT. Patients who underwent SCT were younger, with a median age of 50 years (range 18–68) compared with 59 years (range 20–85) in those without SCT. Median PFS for patients with SCT was not reached (95% CI 36.57, not estimable [NE]) versus 55.66 months (95% CI 23.72, 55.66) for patients without SCT. Fifty-nine percent (38/64) of patients with non-sALCL on the A+CHP arm were in CR at end of treatment and 29% (11/38) of them received SCT. Patients who underwent SCT were younger than those without (median age 57 years [35–73] vs 66 years [49–77]). Median PFS for patients who did and did not receive SCT was not reached (95% CI 20.70, NE) versus 33.22 months (95% CI 8.08, NE), respectively.

Prior to treatment start, the intent to transplant in Asian countries among ALK- sALCL and non-ALCL patients was less frequent in comparison to non-Asian countries (13% and 29% vs 49% and 57%, respectively). The proportion of patients ultimately transplanted was also less frequent (13% and 12% in Asia versus 32% and 23% in non-Asian countries). Standard PFS and multivariate proportional hazards regression analyses favoured the use of SCT in PTCL patients in a CR after A+CHP (Table).

Conclusions

Numerical PFS estimates favour the use of SCT in PTCL patients in a CR after A+CHP; however, sample sizes are small. It is also recognized that unknown confounders may impact this posthoc analysis. We observed that use of SCT was infrequent in Asian countries, suggesting regional practice differences. The overall impact of consolidative SCT remains

unconfirmed, including in patients treated with A+CHP. Further studies are needed to establish its role in this setting.

Table

	ALK- sALCL (n=76)		Non-sALCL (n=38)		Combined (N=114)	
	SCT (n=27)	No SCT (n=49)	SCT (n=11)	No SCT (n=27)	SCT* (n=38)	No SCT (n=76)
Estimated PFS at	80.4	56.9	70.1	46.7	76.1	53.3
3 years, % (95% CI)	(59.1, 91.4)	(40.6, 70.3)	(32.3, 89.5)	(26.7, 64.4)	(56.9, 87.6)	(40.7, 64.3)
Univariate HR (95% CI)	0.49 (0.19, 1.27)		0.36 (0.10, 1.26)		0.38 (0.18, 0.82)	
Multivariate HR (95% CI) adjusted for:						
Age†	0.54 (0.20, 1.45)		0.32 (0.09, 1.15)		0.39 (0.18, 0.86)	
Region‡	0.47 (0.18, 1.22)		0.37 (0.10, 1.33)		0.38 (0.18, 0.82)	
Age† + Region‡	0.52 (0.19, 1.41)		0.32 (0.09, 1.19)		0.39 (0.18, 0.86)	
Median follow-up,¶ months (95% CI)	29.9 (24.2, 36.1)	41.6 (29.8, 42.0)	49.8 (21.2, 54.0)	42.6 (29.5, 53.9)	35.9 (24.5, 41.9)	41.6 (33.2, 42.1)

Table presents HR of PFS for patients who achieved CR on A+CHP, SCT vs no SCT; HR<1 favors SCT; all HRs were stratified for baseline IPI score (0–1; 2–3; 4–5).

PFS was measured from randomization to progressive disease, death, or receipt of subsequent systemic chemotherapy to treat residual or progressive PTCL as determined by the investigator, whichever came first. Consolidative SCT was not considered an event.

* Includes 2 allogeneic SCTs

[†] <65; ≥65 years

[‡] Non-Asia (rest of world); Asia (Taiwan, Japan, and South Korea)

[¶] Median follow-up is calculated for PFS using the Kaplan-Meier method of switching the PFS event and censored status.

OVERALL SURVIVAL BENEFIT OF IXAZOMIB, LENALIDOMIDE AND DEXAMETHASONE (IRD) OVER LENALIDOMIDE AND DEXAMETHASONE (RD)

Minarik J.¹, Pika T.¹, Radocha J.², Jungova A.³, Straub J.⁴, Jelinek T.⁵, Pour L.⁶, Pavlicek P.⁷, Mistrik M.⁸, Brozova L.⁹, Krhovska P.¹, Machalkova K.², Jindra P.³, Spicka I.⁴, Plonkova H.⁵, Stork M.⁶, Bacovsky J.¹, Capkova L.⁹, Sykora M.¹⁰, Kessler P.¹¹, Stejskal L.¹², Heindorfer A.¹³, Ullrychova J.¹⁴, Skacel T.^{15,16}, Maisnar V.², Hajek R.⁵

¹Department of Hemato-Oncology, University Hospital Olomouc, Olomouc, Czech Republic;

²4th Department of Internal Medicine – Hematology, Charles University Hospital and Faculty of Medicine in Hradec Kralove, Hradec Kralove, Czech Republic;

³Hematology and Oncology Department, Charles University Hospital Pilsen, Pilsen, Czech Republic;

⁴1st Medical Department – Clinical Department of Haematology, First Faculty of Medicine and General Teaching Hospital Charles University, Prague, Czech Republic;

⁵Department of Hematooncology, University Hospital Ostrava and Faculty of Medicine University of Ostrava, Ostrava, Czech Republic;

⁶Department of Internal Medicine, Hematology and Oncology, University Hospital Brno and Faculty of Medicine Masaryk University, Brno, Czech Republic;

⁷Department of Internal Medicine and Hematology, 3rd Faculty of Medicine, Charles University and Faculty Hospital Kralovske Vinohrady, Prague, Czech Republic;

⁸Department of Hematology and Transfusiology, Faculty of Medicine, University Hospital Bratislava, Bratislava, Slovakia;

⁹Institute of Biostatistics and Analyses, Faculty of Medicine, Masaryk University, Brno, Czech Republic;

¹⁰Department of Clinical Hematology, Hospital Ceske Budejovice, České Budejovice, Czech Republic;

¹¹Department of Hematology and Transfusion Medicine, Hospital Pelhrimov, Czech Republic;

¹²Department of Hematology, Silesian Hospital in Opava, Opava, Czech Republic;

¹³Department of Hematology, Hospital Liberec, Liberec, Czech Republic;

¹⁴Department of Clinical Hematology, Regional Health Corporation, Masaryk Hospital in Usti nad Labem, Czech Republic;

¹⁵1st Department of Medicine, First Faculty of Medicine, Charles University and General Hospital in Prague, Prague, Czech Republic; ¹⁶Millennium Pharmaceuticals, Inc., a wholly owned subsidiary of Takeda Pharmaceutical Company Limited, Cambridge, MA

Background

Outcomes reported in real-world practice versus controlled clinical trials show markedly shorter treatment durations, progression free survival (PFS) and overall survival (OS). Understanding effectiveness of therapeutic regimens in routine practice is critical for treating physicians as well as for regulatory and reimbursement authorities. We have performed a real-world comparison of two regimens, ixazomib, lenalidomide and dexamethasone (IRD) triplet and lenalidomide and dexamethasone (Rd) doublet in patients

with relapsed and/or refractory multiple myeloma (RRMM) treated in seven Czech and one Slovak hematology-oncology centers.

Patients and methods

Between 3/2015 and 5/2017, 344 patients with RRMM were treated with either IRD (N=127) or RD (N=217). Patients selected for both cohorts had the same inclusion and exclusion criteria. Patient baseline characteristics were well balanced. The data were collected through the Czech Registry of Monoclonal Gammopathies (RMG), which is an international database gathering data from patients with monoclonal gammopathies within Central Europe.

Results

The median follow-up in the IRD vs RD arm was 20.8 vs 15.5 months, respectively. Median PFS in pts with 1-3 prior lines for the IRD cohort was 23.1 months (95% CI 11.8-34.5 months) and 11.6 months (95% CI 8.4-11.8 months) for the RD cohort favoring the all-oral triplet ($p=0.001$). The median PFS for all patients including 4+ line of therapy was 17.5 months (95% CI 10.3-24.7) in the IRD cohort versus 11.5 months (95% CI 8.6-14.3) in the RD group ($p=0.005$). Median OS for pts with 1-3 prior lines for IRD cohort was not reached, and was 27.1 months (95% CI 23.1-31.1 months) in the RD cohort ($p=0.002$). Median OS for all patients, including 4+ lines of treatment was 36.6 months in the IRD vs 26.0 months in the RD cohort ($p=0.008$). The PFS benefit of IRD over RD was observed in most of the assessed subgroups; in younger pts ≤ 65 years with hazard ratio (HR) 0.58, in pts 66-75 years HR 0.64. There was a trend towards better PFS in patients with lower ISS stage; ISS1 HR 0.53, ISS2 HR 0.58 and ISS3 the HR was 0.87. Patients in the 1st relapse (HR 0.53) benefited most from the IRD, followed by the 2nd relapse (HR 0.58), 3rd relapse (HR 0.90) and pts relapsing after 4+ therapies (HR 0.88). The PFS benefit of IRD regimen was observed in pts regardless of previous stem cell transplantation; transplant-eligible patients HR 0.51 and transplant-ineligible HR 0.71. Patients who did not benefit from the triplet regimen were those over 75 years of age and pts with the presence of extramedullary disease. The IRD treatment was well tolerated. The safety profile was concordant with previously reported data.

Conclusions

This RMG comparative cohort analysis shows PFS benefit of all-oral IRD regimen over RD in the real world setting, and confirms growing evidence that long term outcomes with IRD triplet are comparable with phase 3 TOURMALINE-MM1 trial. Our analysis also shows an overall survival benefit of IRD over RD treatment. Patients older than 75 years, with 4+ lines of therapy and presence of extramedullary disease did not profit from addition of ixazomib to RD doublet. Additional data with larger patient populations confirming RWE effectiveness are warranted.

With support of AZV 17-29343A, NV18-03-00500, FNOI 00098892, IGA-LF-2019-001, PROGRES Q40/08, MH CZ-DRO (UHHK, 00179906)

POSTEROVÁ SEKCE

LYMFOIDNÍ NÁDORY

(Postery P01 – P10)

P01

→ ABSTRAKT Č. 008 STR. 92

P02

→ ABSTRAKT Č. 007 STR. 90

P03

→ ABSTRAKT Č. 012 STR. 102

P04

→ ABSTRAKT Č. 010 STR. 97

P05

→ ABSTRAKT Č. 002 STR. 80

EARLY FOLLICULAR LYMPHOMA PROGRESSION IN PATIENTS TREATED WITH FRONTLINE IMMUNOCHEMOTHERAPY WITH/WITHOUT RITUXIMAB MAINTENANCE: CLINICALLY MEANINGFUL EVEN IN CHEMOSENSITIVE INDIVIDUALS

Procházka V.¹, Belada D.², Janíková A.³, Benešová K.⁴, Mociková H.⁵, Ďuraš J.⁶, Pytlík R.⁴, Pirnos J.⁷, Sýkorová A.², Campr V.⁸, Michalka J.³, Kopečková K.⁹, Dlouhá J.⁴, Papajík T.¹, Trněný M.⁴

¹Department of Hemato-Oncology, Faculty of Medicine and Dentistry, Palacky University and University Hospital Olomouc,

²4th Department of Internal Medicine – Hematology, University Hospital, Hradec Králové;

³Department of Hematology and Oncology, Masaryk University Hospital Brno;

⁴1st Dept Medicine, 1st Fac Medicine, Charles University, General Hospital, Prague;

⁵Department of Internal Medicine and Haematology, Faculty Hospital Kralovske Vinohrady and Third Faculty of Medicine, Charles University, Prague;

⁶Department of Haematooncology, University Hospital Ostrava;

⁷Hospital Ceske Budejovice;

⁸Department of Pathology and Molecular Medicine, University Hospital in Motol and Second Faculty of Medicine, Prague;

⁹University Hospital Motol, Praha; 10Data Management Office, 1st Department of Internal Medicine – Department of Hematology, First Faculty of Medicine and General Teaching Hospital, Prague

Background

Early events within 24 months (POD24) of initial immunochemotherapy (IC) were repeatedly confirmed to be associated with poor survival in follicular lymphoma (FL). There is little known about the POD24 incidence pattern in chemosensitive patients, and the impact of subsequent RM application for POD24 reduction has not been studied yet.

Aim

To (1) analyze the role of POD24 events in patients with responding FL and (2) describe whether post-induction RM changes the pattern of POD24 incidence and possibly post-POD24 outcome of the patients. Methods: The study comprised patients prospectively enrolled in the Czech Lymphoma Study Group network (ClinicalTrials.gov: NCT03199066) in 2000-2015, with grade 1-3A FL and treated with frontline R-CHOP/R-CHOP-like or R-bendamustine or R-CVP IC. Cases with previous WaW were not enrolled. No frontline stem cell (auto/allo) transplant was allowed. Only patients who achieved complete (CR/CRu) or partial remission (PR) at the end of induction (EOI) and were thus potential candidates for RM were included. Early event was defined as progression, relapse or death within 24 months after the date of EOI response assessment. Overall (OS) and progression-free survival (PFS) were calculated from the date of diagnosis and date of EOI response (OS-EOI).

Results

A total of 1089 patients were identified, of whom 729 (67%) received RM (maintenance group) and 360 (33%) were followed without RM (observation group; OBS). When comparing both groups, we found no differences in age (median age 59 yrs for both; $P=0.54$), sex distribution (males 39% vs. 41% in OBS vs. RM, respectively; $P=0.37$) and ECOG 0-1 (90% vs. 93% in OBS vs. RM; $P=0.10$). There was a slightly lower proportion of advanced FL (Ann Arbor III-IV) in OBS (80%) as compared to RM (87%, $P=0.01$), which translated into a lower proportion of high FLIPI patients (46% vs. 52% in OBS vs. RM, respectively; $P=0.003$). The EOI remission status was assessed 61 days (median) after the last IC dose with CR/CRu/PR rates of 65%/9%/26% and 65%/6%/29% in OBS and RM, respectively ($P=0.14$). The median time from EOI response to the first RM dose was 48 days (range 0-371 days), 89% of the pts have started RM within 120 days. After a median follow-up of 10.4 yrs (OBS) vs. 6.0 yrs (RM); $P<0.001$, 365 (33.5%) patients progressed or relapsed and 177 (16.3%) died. The 5-year OS and PFS were 84.2% vs. 93.6% ($P<0.001$) and 54.1% vs. 73.6% ($P<0.001$) in OBS and RM, respectively. The cumulative incidence of POD24 was higher in OBS (29.7%) than in RM (12.3%; $P<0.01$). POD24 cumulative incidence correlates with depth of EOI response with 21.8%/35.5%/50.5% and 8.2%/14.6%/21.1% for CR/CRu/PR categories in the OBS and RM groups, respectively. When combining RM application (yes/no) and POD24 incidence (yes/no), survival analysis stratified patients into 4 subgroups with 5-year OS-EOI of 52.4%, 63.4%, 92.0% and 96.9% for POD24-OBS, POD24-RM, noPOD24-OBS and noPOD24-RM patients, respectively ($P<0.001$); see Figure 1. Patients who developed POD24 on RM had only a 26% lower risk of death, compared to OBS (HR 0.74; $P=0.15$). POD24-free patients experienced a 50% death reduction after RM (HR 0.49; $P=0.002$).

Conclusion

Early progression of the disease significantly increases the risk of death even in pts who respond well to the initial IC. Application of RM significantly prolonged both OS and PFS and reduced POD-24 incidence by half. However, once patients developed an early event on RM, their outcome remained poor. On the other hand, in the POD-24-free group, RM brought survival benefit that lasted beyond its termination.

Acknowledgement: Supported by IGA_LF_2019_001, MH CZ – DRO (FNOL, 00098892), and AZV 16-31092A grants.

TOWARDS HIGHER SAFETY OF HAEMATO-ONCOLOGICAL PATIENTS UNDERGOING TREATMENT

Popkova T.^{1,2}, Hradská K.^{1,2}, Mihalyova J.^{2,3}, Skorupova M.^{1,2}, Jelinek T.^{1,2,3}, Duras J.^{2,3}, Koristek Z.^{2,3}, Navratil M.^{2,3}, Benkova K.^{2,3}, Plonkova H.², Zuchnicka J.², Gumulec J.^{2,3}, Hajek R.^{1,2,3}

¹ Faculty of Science, University of Ostrava, Ostrava;

² Department of Haematooncology, University Hospital Ostrava, Ostrava;

³ Faculty of Medicine, University of Ostrava, Ostrava

Introduction

Medical care has recently been moving from wards to outpatient clinics due to a growing number of patients, convenient therapeutic approaches and rising emphasis on quality of life. There is an increased need for intensive monitoring of haemato-oncological patients undergoing long-lasting treatment especially when serious infectious complications are expected. Telemedicine is a great tool to keep an eye on patients spending most of their treatment at home, where reaction time plays an important role in reducing the impact of severe adverse events.

Methods

We plan on enrolling 100 haemato-oncological patients undergoing treatment who are at high risk of febrile neutropenia and/or sepsis. In the comfort of their homes, selected patients will measure their body temperature, blood pressure and pulse regularly every morning, plus whenever they feel unwell.

Contactless measuring is provided by a digital blood pressure monitor and an infrared thermometer. Both devices communicate via bluetooth with a mobile HUB (cell phone), which then encrypts the information and forwards it to the National Monitoring Center. Physicians have real-time access to the measured values through a web portal using any device with an internet connection. Importantly, values registered outside the individually set-up range are immediately sent by SMS to a designated physician, who can then promptly react.

Results

In our pilot project, we enrolled 21 patients (33-80 y; median 60 y) including 9 treated for acute leukemia, 5 for multiple myeloma, 4 for chronic lymphocytic leukemia, 1 for myelodysplastic syndrome, 1 for malignant lymphoma and 1 for aplastic anemia. The median duration of monitoring was 6 months (1-16). One thousand, six hundred and twentythree critical values of systolic (<90-95 mmHg) and diastolic (<50-60 mmHg, >91 mmHg) blood pressure in 19 patients were registered. High blood pressure in patients with inadequate antihypertensive therapy was the most frequent warning. Forty-four critical values of body temperature (>37.9°C) in 6 patients were registered, two cases with concomitant low blood pressure. After a telephone conversation with a physician, ambulatory care was

recommended 12 times. Two cases of febrile neutropenia were detected, with the patients instantly hospitalized without progression into sepsis. Four cases of infectious complications (genital herpes, upper respiratory tract infection) with the need for anti-infective therapy and 6 cases of viral infections with only symptomatic treatment indicated were also addressed.

Conclusion

Even in a small cohort of patients we demonstrated that the remote monitoring of body temperature, blood pressure and pulse at home enables the early detection of infections and prompt provision of adequate treatment. An evaluation of the financial savings on medical expenses might also be a useful aspect to revise.

P08

DYNAMIKA VÝVOJE MUTACÍ TP53 U PACIENTŮ S CHRONICKOU LYMFOCYTÁRNÍ LEUKEMIÍ BĚHEM LÉČBY BCR INHIBITORY

Vonková B.^{1,2}, Pavlová Š.^{1,2}, Malčíková J.^{1,2}, Kotašková J.^{1,2}, Plevová K.^{1,2}, Dvořáčková B.^{1,2}, Ženatová M.¹, Hynšt J.², Němcová L.¹, Mašlejová S.¹, Panovská A.¹, Brychtová Y.¹, Doubek M.^{1,2}, Tichý B.², Pál K.², Mayer J.¹, Pospíšilová Š.^{1,2}

¹ Interní hematologická a onkologická klinika FN Brno a LF MU, Brno

² CEITEC - Středoevropský technologický institut, Masarykova univerzita, Brno

Úvod

Mutace v genu *TP53* jsou nepříznivým prognostickým a prediktivním faktorem pacientů s chronickou lymfocytární leukemií (CLL) a přispívají k celkově horšímu průběhu onemocnění s vysokou pravděpodobností časného relapsu či rezistence na standardně podávanou chemoimunoterapii. V klinické diagnostice *TP53* mutací se čím dál více uplatňují metody sekvenování nové generace (NGS), které umožňují detekovat také *TP53* mutace s nízkou alelickou frekvencí. Z našich předchozích výsledků vyplývá, že po první léčbě chemoimunoterapií dochází k přibližně desetinásobnému nárůstu alelické frekvence variant (VAF), které nebyly před léčbou detekovatelné standardním Sangerovým sekvenováním (VAF dle NGS 0,1-10 %; iwCLL Malčíková et al. 2019). V posledních letech došlo k významnému posunu strategie léčby podáváním BCR inhibitorů, ze které profitují zejména pacienti s defekty *TP53*. Zatímco selekce *TP53* mutací pod vlivem chemoimunoterapie byla opakovaně popsána, vývoj těchto mutací pod vlivem BCR inhibitorů zůstává nejasný.

Cíl

Porovnání zastoupení a VAF *TP53* mutací u párových vzorků pacientů (1) před započítím terapie kinázovými inhibitory a (2) v průběhu terapie kinázovými inhibitory s odstupem minimálně 1 roku.

Soubor a metody

Vzorky od 30 pacientů s relaps/refrakterní CLL léčených na IHOK FN Brno se započítám terapie BCR inhibitory v období 6/2013 až 9/2018 byly vyšetřeny v období bezprostředně před započítám terapie BCR inhibitory a po minimálně 1 roce užívání této terapie. Analýza byla provedena ze vzorků periferní krve, ze které byly vyseparovány B-lymfocyty s čistotou CLL buněk nad 95 %.

Analýza TP53

Amplikonové NGS pokrývající kódující oblast genu (exony 2-11 + sestřihová místa) s využitím Nextera XT Library Preparation kitu (Illumina) na přístroji MiSeq. Vyhledávání variant $\geq 0,1$ % pomocí zavedených bioinformatických postupů. Část pacientů s TP53 mutací >80 % byla vyšetřena pomocí Sangerova sekvenování. Dle analýzy TP53 mutací byli pacienti charakterizováni následovně: podskupina pacientů s mutací TP53 >10 % VAF (dále pacienti nesoucí mutaci $>10\%$), pacienti s mutacemi 0,1-10 % VAF (dále pacienti s minoritními mutacemi) a pacienti, u kterých nebyla mutace TP53 nalezena (dále wild-type pacienti).

Výsledky

Ve skupině pacientů nesoucích mutaci $>10\%$ nebyla pozorována signifikantní změna v zastoupení a alelické četnosti mutací TP53 po roce terapie inhibitory oproti době započítám léčby (medián mutace s nejvyšší VAF během a před léčbou inhibitory 71,6 % vs. 70 %). Mutace TP53 nebyla po léčbě inhibitory nově nalezena u žádného pacienta ze skupiny wild-type pacientů. Při porovnání pacientů, kteří nesli minoritní mutaci TP53 v době před a během terapie inhibitory, nedošlo k nárůstu mutací TP53 (medián mutace s nejvyšší VAF před a během léčby inhibitory 1,99 vs. 1,13). Dále byla u těchto pacientů jednotlivě zhodnocena změna alelické četnosti mutace TP53 v čase před a během terapie inhibitory. Změna alelické četnosti se pohybovala v rozmezí 0,2x-8,3x; medián 1,1x.

Závěr

Při zhodnocení dynamiky vývoje TP53 mutací během léčby BCR inhibitory jsme nepozorovali signifikantní rozdíl v zastoupení TP53 mutací ani v jejich alelické četnosti. Nedošlo ke změně alelické četnosti mutace s nejvyšší VAF v B-lymfocytech jak u pacientů s mutací $>10\%$, u pacientů s mutacemi 0,1-10 %, tak i pacientů wildtype. Na základě pilotních výsledků lze usuzovat, že, na rozdíl od chemoimunoterapie, léčba BCR inhibitory nepředstavuje selekční tlak, který by favorizoval TP53 mutace u pacientů s CLL.

Podpořeno projekty: MŠMT CEITEC 2020 (LQ1601), MUNI/A/1395/2019, MZČR (MZCR-RVO 65269705, GA ČR (GA19-15737S)

LYNX (LYMPHOID NGS): KOMPLEXNÍ NGS PANEL PRO ANALÝZU PROGNOSTICKÝCH A PREDIKTIVNÍCH MARKERŮ B-BUNĚČNÝCH LYMFOPROLIFERACÍ

Navrkalová V.^{1,2}, Hynšt J.², Pál K.², Plevová K.^{1,2}, Reigl T.², Darzentas N.², Marečková A.¹, Jelínková H.¹, Pospíšilová Š.^{1,2}

¹Interní hematologická a onkologická klinika, CMBGT, Fakultní nemocnice Brno

²CEITEC Masarykova Univerzita, Brno

U B-buněčných malignit se vyskytuje široké spektrum chromozomových a genetických aberací, které mají prokázaný nebo potenciální klinický význam a jsou buď specifické pro jednu, nebo společně pro více diagnóz. Současné NGS technologie přinášejí velký potenciál pro analýzu těchto markerů v jednom vyšetření. Hlavní předností takto komplexního přístupu je možnost získání velkého množství informací v relativně krátkém čase z jednoho experimentu. Navíc u klinicky velmi heterogenních onemocnění, jako je například chronická lymfocytární leukémie (CLL), je analýza prognostických a prediktivních markerů velmi žádoucí, a to i opakovaně v průběhu onemocnění.

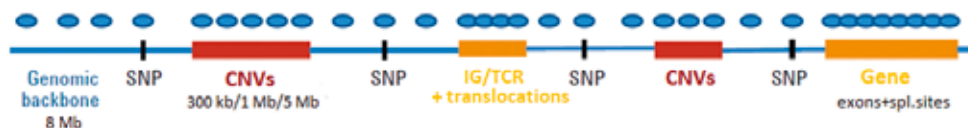
Panel LYNX byl navržen pro analýzu mutací v 70 genech, chromozomálních abnormalit (CNVs), přestavěb imunoglobulinů (IG) a T-buněčného receptoru (TCR) a klíčových lymfomových translokací. Cílové oblasti jsou obohacovány pomocí hybridizačních sond, které byly vyrobeny na zakázku (velikost panelu 1130 Mb). NGS knihovny byly připraveny pomocí technologie SureSelect XT HS (Agilent) a sekvenovány na přístroji NextSeq (Illumina). Výchozím materiálem byla DNA izolovaná z různých biologických materiálů (periferní krev, kostní dřeň, nativní tkáň, FFPE bločky) od pacientů s B-lymfoproliferacemi (leukémie - CLL, ALL; lymfomy - MCL, DLBCL, FL). Validační soubor zahrnoval 63 vzorků s různými aberacemi prokazanými rutinními metodami. Bioinformatická analýza dat probíhala ve třech krocích: 1) vytvoření vlastního přístupu pro analýzu mutací využívající vytvoření tzv. „consensus readu“; 2) testování programu tCoNuT pro analýzu CNVs; 3) vytvoření výpočetního modulu programu ARResT/Interrogate pro analýzu IG/TCR přestavěb a translokací.

Cílové oblasti panelu LYNX včetně požadovaného rozlišení jsou schematicky znázorněny v Obrázku 1. Během validace byly testovány různé typy materiálu a široké spektrum aberací: rozmanité genové mutace (alelická frekvence 3-100 %), chromozomální aberace (rozsah 0,228-137 Mbp, podíl buněk s aberací 19-98 %), IG/TCR přestavby a typické translokace. Nedílnou součástí byla několikastupňová kontrola kvality a zhodnocení správnosti měření, analytické citlivosti a specifity. Medián pokrytí cílových genů po deduplikaci byl 935x (průměrný podíl PCR duplikátů 45 %). Pro analýzu mutací byl stanoven limit detekce (LOD) 5 % při současném zachytu 5 variantních sekvencí, nad který nebyly detekovány žádné falešně negativní a pozitivní výsledky. Jedinou limitací jsou 4 repetitivní, a tudíž níže pokryté oblasti genů *BRAF*, *CSF2RA*, *NOTCH2* a *SHOX*. Analýza CNVs je založena na analýze hloubky pokrytí a frekvence SNPs, přičemž panel je schopen detekovat rekurentní delece 17p, 11q, 13q v rozlišení nad 300 kb a v ostatních oblastech genomu nad 5-6 Mb s citlivostí 10-15 %.

Z 61 různých CNVs jsme byli schopni spolehlivě detekovat 48 (79 %); 5 aberací vykazovalo nejednoznačný výsledek a 8 nedetekovaných aberací bylo pod limitem rozlišení nebo detekce testu. Potvrdili jsme známé IG/TCR přestavby a navíc jsme detekovali další nádorově specifické přestavby, které nebyly vyšetřeny klasickým sekvenováním. Schopnost detekce translokací t(11;14) a t(14;18) byla prokázána v 10/11 pozitivních vzorků. Analýza mutací z FFPE bločků je možná po ošetření DNA reparačním kitem, nicméně analýza CNVs je problematická kvůli vysoce variabilnímu pokrytí.

Nově navržený panel LYNX je vhodným nástrojem pro současnou analýzu genových mutací, CNVs a lymfom-specifických translokací a zároveň pro sledování klonality u lymfoproliferací. Má tedy vysoký potenciál pro všestranné využití jak ve výzkumu, tak také v běžné diagnostice.

Práce byla podpořena z projektů AZV NV19-03-00091, TACR TJ02000133, MZCR-RVO 65269705, CEITEC2020 LQ1601.



Obrázek 1: Schematické zobrazení cílových oblastí vyšetřovaných panelem LYNX s naznačeným rozlišením. Test umožňuje současnou analýzu genových mutací, CNVs, přestaveb IG a TCR, translokací.

P10

MOŽNOSTI UŽITÍ PROTONOVÉ RADIOTERAPIE V LÉČBĚ HEMATOLOGICKÝCH MALIGNIT

Dědečková K.^{1,4}, Zapletalová S.¹, Móciková H.², Marková J.², Gahérová L.², Kouba M.³, Kaliská L.¹, Andrlík M.¹, Vondráček V.¹, Kubeš J.^{1,4}

¹Proton Therapy Center, Praha;

²Interní hematologická klinika, 3. lékařská fakulta a FN Královské Vinohrady, Praha;

³Ústav hematologie a krevní transfúze, Praha;

⁴Onkologická klinika, 2. lékařská fakulta UK a FN Motol, Praha

Úvod

Radioterapie (RT) v léčbě hematologických malignit je nejčastěji používána jako metoda ošetření míst rizikových pro vznik perzistence nebo relapsu po systémové terapii (časná stadia HL, vybrané agresivní NHL). Další uplatnění RT bývá v léčbě lokalizovaného chemorefrakterního nálezu (PET rezidua, leukemická infiltrace CNS). V některých situacích pak může být RT užita jako samostatná kurativní metoda (časná stadia FL, časná stadia NLPHL, vybrané kožní lymfomy).

Ozáření je možné provést pomocí konvenční fotonové nebo novější protonové RT. Protonová RT je moderní technika ozařování, která využívá výhodných fyzikálních vlastností částic -protonů pro potřeby lékařského ozáření. Starší ozařovací techniky na bázi fotonů v současné době dosáhly svých fyzikálních limitů a další technologický vývoj již nepovede k významnému zlepšení dávkové distribuce v tkáních. Užití jiného, výhodnějšího zdroje záření je tedy logickým pokračováním vývoje radiační onkologie.

Materiál a metody

Protonové ozáření díky fyzikální charakteristice méně zatěžuje okolní tkáň. Ve srovnání s fotonovou RT snižuje rizika vývoje akutní i pozdní toxicity. Z těchto důvodů bývá protonová RT preferovanou technikou u několika skupin pacientů s hematologickými malignitami.

První skupinou jsou pacienti s dlouhou předpokládanou dobou přežití, u kterých nás zásadně zajímá minimalizace rizik onkologické léčby, především s ohledem na vývoj pozdní toxicity. Tuto skupinu představují pacienti s HL a některými agresivními NHL (PMBL, DLBCL) s nutností ozáření mediastina, axil a velkými plánovanými objemy.

Druhou skupinu tvoří pacienti s relabujícím či refrakterním onemocněním, kde je nutné minimalizovat rizika ozáření v důsledku nízké regenerační schopnosti a menších rezerv pacienta po předchozích liniích systémové léčby.

Třetí skupinu představují pacienti indikovaní k opakovanému ozáření jedné oblasti či oblasti těsně naléhající na předchozí ozařovaný objem.

Protonová RT může též rozšířit léčebné spektrum užití RT u hematologických malignit. Jedním z příkladů je ozáření objemných mediastinálních infiltrátů refrakterních na systémovou léčbu s nutností navýšení celkové dávky záření. V této situaci by byla fotonová RT spojena s velkým rizikem rozvoje signifikantní toxicity. Dalším příkladem může být ozáření kraniospinální osy u pacientů s leukemickou infiltrací CNS.

Nově se objevují informace o možném systémovém efektu RT zprostředkovaném tzv. „abskopálním efektem“. RT způsobí aktivaci imunitního systému pomocí antigenů z rozpadajících se nádorových buněk. Dochází tak ke stimulaci antigen prezentujících buněk a následně imunitní odpovědi pomocí T-lymfocytů. Tento efekt však může být potlačen díky potenciálnímu imunosupresivnímu mechanismu asociovanému s konvenční RT. Protonová RT vykazuje dozimetrické i biologické odlišnosti, které mohou redukovat imunosupresivní mechanismus. Nabízí se tak možná léčebná alternativa užitím kombinace protonové RT s imunoterapií představovanou například check-point inhibitory.

Výsledky

Na našem pracovišti bylo od dubna 2014 do listopadu 2019 ozářeno více než 230 pacientů s hematologickými nádory. Převažovali pacienti s mediastinální lokalizací HL (160 pacientů), mediastinální lokalizací NHL (40 pacientů), ne-mediastinální lokalizací lymfomu (podjaterní oblast, krční lokalizace, paraaortální oblast, CNS a další lokality, celkem 25 pacientů). Z ne-lymfomových pacientů bylo ozářeno 7 pacientů s leukemickou infiltrací CNS či myelosarkomem. Prostřednictvím prezentace kazuistik bychom chtěli představit klinické užití protonové RT u pacientů s různými hematologickými malignitami.

Závěr

Protonová RT je moderní technika snižující rizika spojená s ozářením a rozšiřující spektrum užití RT u hematologických malignit.

MYELOIDNÍ NÁDORY

(Postery P11 – P28)

P11

→ ABSTRAKT Č. 003 STR. 82

P12

→ ABSTRAKT Č. 005 STR. 86

P13

→ ABSTRAKT Č. 004 STR. 84

ABERRANTLY ELEVATED SUPRABASIN IN THE BONE MARROW AS A CANDIDATE BIOMARKER OF ADVANCED DISEASE STATE IN MYELODYSPLASTIC SYNDROME

Pribyl M.¹, Hubackova S.^{1,2}, Moudra A.¹, Vancurova M.¹, Polackova H.³, Stopka T.^{3,4}, Jonasova A.³, Bokorova R.⁵, Fuchs O.⁵, Stritesky J.⁶, Salovska B.¹, Bartek J.^{1,7,8*} and Hodny Z.^{1*}

¹Department of Genome Integrity, Institute of Molecular Genetics of the Czech Academy of Sciences, Prague, Czech Republic

²Molecular Therapy of Cancer Group, Institute of Biotechnology of the Czech Academy of Sciences, BIOCEV, Vestec, Prague, Czech Republic

³1st Department of Medicine, First Faculty of Medicine, Charles University in Prague and General University Hospital, Prague, Czech Republic

⁴Group of Mechanisms involved in remodeling of chromatin structure during cell fate decisions, BIOCEV, Vestec, Prague, Czech Republic

⁵Department of Genomics, Institute of Hematology and Blood Transfusion, Prague, Czech Republic.

⁶Institute of Pathology, First Faculty of Medicine, Charles University and General University Hospital in Prague, Czech Republic.

⁷Danish Cancer Society Research Center, Copenhagen DK-2100, Denmark

⁸Department of Medical Biochemistry and Biophysics, Division of Genome Biology, Science for Life Laboratory, Karolinska Institute, 171 65 Stockholm, Sweden

Myelodysplastic syndromes (MDS), the group of pre-leukemic disorders characterized by clonal growth of mutant hematopoietic stem cells (HSCs), are associated with dysregulated inflammatory signaling, cell death and immune suppression mediated by myeloid-derived suppressor cells (MDSCs) in bone marrow (BM). Aberrant cytokine signaling and tumor-promoting microenvironment are crucial for disease progression affecting HSCs and hematopoiesis. *Suprabasin* (*SBSN*), a protein expressed physiologically in stratified epithelia, is aberrantly expressed in several human malignancies such as colon, lung and ovarian carcinomas. Previously, we found that *SBSN* is involved in resistance of human cancer cells exposed *in vitro* to ionizing radiation or chemotherapeutic drugs. Furthermore, we detected aberrant expression of *SBSN* in BM and peripheral blood of MDS patients. Notably, the highest expression of *SBSN* is present in IPSS int-2 group with poor prognosis. *SBSN* levels correlated positively with blast percentage and negatively with MCP-1 chemokine and lymphocyte count. We identified CD11b+ cells to be responsible for *SBSN* expression in BM of MDS patients. Additionally, both interferon-gamma and a demethylating agent 5-azacytidine are capable to induce *SBSN* expression in leukemic cell lines SKM-1 and OCI-M2 indicating a role of aberrant BM cytokine environment and epigenetic landscape of MDS patients in ectopic expression of *SBSN*. Our findings indicate that novel proto-oncogene *SBSN* could contribute to pathogenesis of MDS and represents a candidate biomarker of disease state and progression.

GENOMICKÁ ANALÝZA BCR-ABL1 POSKYTUJE STRATIFIKAČNÍ MODEL “SEMAFORU” S MOŽNÝM UPLATNĚNÍM PRO PŘEDPOVĚĎ PŘEŽITÍ BEZ LÉČBY U PACIENTŮ S CHRONICKOU MYELOIDNÍ LEUKÉMIÍ

Motlová E.¹, Žižková H.¹, Zuna J.², Hovorková L.², Pecherková P.¹, Klamová H.¹, Šťastná Marková M.¹, Srbová D.¹, Koblihová J.¹, Benešová A.¹, Polivková V.¹, Jurček T.³, Žáčková D.³, Mayer J.³, Ernst T.⁴, Mahon F.X.⁵, Saussele S.⁶, Cross N.C.P.⁷, Hochhaus A.⁴ a Machova Polakova K.¹

¹Ústav hematologie a krevní transfúze, Praha, Česká Republika;

²CLIP, Klinika dětské hematologie a onkologie 2. LF UK a FN Motol, Praha, Česká Republika;

³Centrum molekulární biologie a genové terapie, Laboratoře Interní hematologické a onkologické kliniky Fakultní nemocnice Brno a Lékařské fakulty Masarykovy univerzity, Brno, Česká Republika;

⁴Abteilung Hämatologie/Onkologie, Klinik für Innere Medizin II, University of Jena, Jena, Germany;

⁵Bergoné Cancer Institute, Inserm Unit 916, University of Bordeaux, Bordeaux, France,

⁶Department of Haematology and Oncology, University Hospital Mannheim, Heidelberg University, Mannheim, Germany,

⁷Wessex Regional Genetics Laboratory, Salisbury NHS Foundation Trust, Salisbury, Faculty of Medicine, University of Southampton, Southampton, United Kingdom

Úvod

Jedním ze současných terapeutických cílů léčby chronické myeloidní leukémie (CML) je dosažení remise bez nutnosti terapie (TFR-treatment free remission) tyrosin kinázovými inhibitory (TKI). Pro bezpečné vysazení TKI u pacientů s CML je klíčová identifikace parametrů, které určují pravděpodobnost udržení TFR. Mezi tyto parametry patří délka trvání hluboké molekulární odpovědi (DMR), délka terapie TKI před vysazením léčby a včasná molekulární odpověď (EMR).

Cíl

Prvním cílem bylo zjistit, zda sledování BCR-ABL1 na úrovni DNA během prvních měsíců od zahájení léčby může být užitečným parametrem pro měření EMR ve srovnání s monitorováním hladiny transkriptu. Druhým cílem bylo zjistit, zda DNA analýzy mohou pomoci predikovat TFR.

Metody

Bylo analyzováno 71 nově diagnostikovaných pacientů s CML a 77 pacientů v DMR na TKI. 17 pacientů z této skupiny bylo zařazeno do studie EURO-SKI. 25 pacientů mělo intermitentní režim podávání TKI ob měsíc (INTreg). Pacient-specifické fúze BCR-ABL1 byly určeny pomocí long-distance PCR (LD-PCR) nebo metodou NGS (Next Generation Sequencing). Zbytková choroba byla měřena v periferní krvi (PK) metodou real-time PCR (qPCR) u 2189 vzorků a droplet digitální PCR (ddPCR) u 1279 vzorků na úrovni DNA a mRNA.

Výsledky

Kvantifikovatelné hladiny BCR-ABL1 na úrovni DNA a mRNA významně korelovaly u obou metod (qPCR: $n=1051$, $R=0,93$; ddPCR: $n=366$, $R=0,89$). U analýz 612 vzorků měřených qPCR a 566 vzorků měřených ddPCR jsme pozorovali vyšší citlivost detekce BCR-ABL1 na úrovni DNA oproti sledování BCR-ABL1 na úrovni transkriptu. Citlivější detekce DNA analýz než mRNA analýz byla pozorována především v období DMR. Na základě těchto výsledků jsme si dali za cíl posoudit, zda sledování MRD (měřitelná zbytková nemoc) na úrovni DNA může být lepším prediktorem TFR ve srovnání s analýzami mRNA. Hladiny BCR-ABL1 na úrovni DNA a mRNA byly porovnány u 42 pacientů (celkem 1108 vzorků, medián 24 vzorků, rozmezí 11-44 vzorků) před a po zastavení (EURO-SKI, $n=17$) nebo přerušení (INTreg, $n=25$) léčby TKI. Výsledky analýz umožnily pacienty rozdělit podle modelu „semaforu“ na základě positivity/negativity BCR-ABL1 na úrovni DNA a mRNA před vysazením TKI; „zelená“ skupina - double negativní ($n=11$), „žlutá“ skupina - DNAPoz/RNANeg ($n=16$) a „červená“ skupina - double pozitivní ($n=15$). 10 pacientů ze zelené skupiny přetrvávalo bez molekulárního relapsu (MRFS) s nedetekovatelným BCR-ABL1 na úrovni DNA i mRNA a míra udržení TFR byla 91 % (Me=60,8 měsíců; rozmezí 13,4-76,7). Molekulární relaps byl pozorován u 11/16 pacientů z červené skupiny (double pozitivní). 8/16 pacientů ze žluté skupiny (DNAPoz/RNANeg) přežívá po vysazení TKI (Me=58,5 měsíců; rozmezí 19-71,2) bez molekulárního relapsu. U 3 z těchto 8 pacientů byla po vysazení TKI detekována exprese BCR-ABL1, ale pouze na úrovni DMR (MR4-MR5). U 5/8 pacientů nebyla exprese BCR-ABL1 po zastavení léčby detekována (Me=32,7 měsíců, rozmezí 12,5-88). Tato semaforová stratifikace signifikantně odlišovala pacienty ($p=0,005$) dle pravděpodobnosti udržení TFR se 100 % pravděpodobností v 18 měsíci od zastavení/přerušování léčby u zelené skupiny, s 63 % (OR 0,388 – 0,862) u žluté skupiny a 20 % u červené skupiny (OR 0 – 0,402). Multinomiální regresní analýza ukázala, že doba trvání DMR a také poměr doby DMR vůči době léčby před vysazením TKI souvisí s pravděpodobností TFR ($p=0,003$ a $p=0,005$), což je v souladu se zjištěními klinických studií vysazujícími TKI.

Závěr

V této práci jsme ukázali, že sledování kvantifikovatelných hladin BCR-ABL1 na úrovni DNA poskytuje porovnatelné výsledky s monitorováním transkriptu. Nicméně, při sledování trvalé DMR před ukončením/přerušováním léčby, umožňuje DNA analýza klinicky relevantní stratifikaci CML pacientů dle semaforu: zelená= vysoká pravděpodobnost dosažení TFR, žlutá= střední pravděpodobnost dosažení TFR a červená= nízká pravděpodobnost dosažení TFR. Tento model semaforu by mohl být součástí tzv. TFR skóre pro předpověď TFR.

RUNX1 MUTATION ACCOMPANIED WITH DYSREGULATED CELLULAR SENESENCE IN LOWER-RISK MYELODYSPLASTIC SYNDROME PATIENTS IS ASSOCIATED WITH DISEASE PROGRESSION

Hrubá M.¹, Veselá J.¹, Votavová H.¹, Dostalová Merkerová M.¹, Kunderát D.¹, Szikszai K.¹, Lauermannová M.¹, Zemanová Z.², Jonášová A.³, Čermák J.¹, Beličková M.¹

¹*Institute of Hematology and Blood Transfusion, Prague;*

²*Center for Oncocytogenetics, Institute of Medical Biochemistry and Laboratory Diagnostics, General University Hospital and 1st Faculty of Medicine, Prague 2, Czech Republic;*

³*1st Medical Department - Hematology, General Hospital, Prague, Czech Republic*

Background and Aims

A part of lower-risk myelodysplastic (LR-MDS) patients progress to higher-risk MDS or acute myeloid leukemia (AML). The progression may be predicted in some of these patients by determining mutations associated with myeloid malignancies at the time of diagnosis. We focused to find out dysregulated pathways caused by a well-defined mutation associated with disease progression.

Methods

We examined 158 samples from LR-MDS patients at diagnosis using TruSight Myeloid Sequencing Panel containing 54 genes (Illumina) to identify the mutational profile. We applied RNA-seq (NEB; Illumina) on bone marrow CD34+ cells of 5 LR-MDS patients with *RUNX1* mutation and 6 LR-MDS patients without mutations. We performed differential gene expression analysis, gene set enrichment analysis (GSEA), Reactome biological pathway and Gene Ontology (GO) annotations.

Results

Forty out of 158 patients (25%) progressed during the follow-up period (median: 45.1 months). Mutation in *RUNX1* gene was detected in 10 patients. Using RNA-seq, significantly dysregulated expression was observed in 986 genes (FDR<0.05; FC >2). Patients with mutation in *RUNX1* gene had significant down regulation of expression genes involved in cellular senescence induced by DNA Damage/Telomere Stress (FDR=1.4e-11) and Oxidative Stress (FDR=3.6e-9), HDACs deacetylate histones (FDR =1.1e-13) and Senescence Associated Secretory Phenotype (FDR=1.4e-11) according to Reactome pathway database. There were 21 genes involved in the regulation of these pathways, of which 10 were part of all described pathways and belonged to the Nucleosome Assembly according to GO biological process with 33 down regulated genes (FDR=6.3e-28). According to GSEA, GO chromatin silencing gene set (Figure 1) was down regulated in the patients with *RUNX1* mutation (p<0.001; NES=-1.8) same as Reactome apoptosis (p<0.001; NES=1.7). In these patients, expression of 750 genes was up-regulated (FDR<0.05; FC >2); however, they did not form a specific pathway. The up-regulated genes were classified as so-called leukemia-associated antigens (LAAs) such as *PRAME* (adjusted p=6.9e-09;

logFC=6.8), *WT1AS* (adjusted $p=4.4e-07$; logFC=5.7), *BAALC* (adjusted $p=3.5e-06$; logFC=2.1), *WT1* (adjusted $p=6.8e-07$; logFC=3.2), *FLT3* (adjusted $p=0.004$; logFC=1.3) and *LEF1* (adjusted $p=5.3e-08$; logFC=-4.2).

Conclusions

To study the transcriptome of the hematopoietic stem cells of LR-MDS patients, we used gene expression profiling and identified biological processes in relation to mutations in *RUNX1* gene that were detected in patients with disease progression. According to our results, we suppose that cells of LR-MDS patients with no mutations are maintained in senescent state or apoptosis in opposite to *RUNX1* mutated cells. Finding out of dysregulated senescence was reinforced by other dysregulated pathways such as HDACs deacetylate histones, chromatin structural changes and senescence-associated secretory phenotype. About cellular senescence is known that may act as a strong tumor suppression mechanism that restrains proliferation of cells at risk for malignant transformation. We suppose that in precancerous cells of LR-MDS patients apoptosis or cellular senescence limits the replicative capacity of cells, thus preventing the proliferation. The disturbed state of cellular senescence in *RUNX1* gene mutated hematopoietic stem cell can escape proliferation control and then can contribute to the disease progression in these patients.

Supported by grants NV18-03-00227 and 00023736 from the Ministry of Health of the Czech Republic.

P17

THE INSPIRE STUDY IN HIGHER-RISK MYELOYDYSPLASTIC SYNDROME (HR-MDS): A NOVEL PHASE 3 STUDY ADAPTIVE DESIGN FOR HEMATOLOGICAL MALIGNANCIES IN ADULTS

Jonasova A.^{1*}, Luger S.M.², Al-Kali A.³, Valcarcel D.⁴, Woodman R.C.⁵, Adesanya R.A.^{5*}, Azarnia N.^{5*}, Parris M.^{5*}, Warlick E.D.⁶, Jedrzejczak W.W.^{7*}, Díez-Campelo M.^{8*} and Garcia-Manero G.⁹

¹1st Medical Department - Hematology, General University Hospital, Prague, Czech Republic;

²Division of Hematology-Oncology/Department of Medicine, University of Pennsylvania, Philadelphia, PA;

³Division of Hematology, Mayo Clinic, Rochester, MN;

⁴Department of Hematology. Vall d'Hebron Institute of Oncology (VHIO), University Hospital Val d'Hebron, Barcelona, Spain;

⁵Onconova Therapeutics, Inc., Newtown, PA;

⁶Division of Hematology, Oncology and Transplantation, University of Minnesota, Minneapolis, MN;

⁷MTZ Clinical Research, Medical University of Warsaw, Warsaw, Poland;

⁸Hematology Department, Institute of Biomedical Research of Salamanca, University Hospital of Salamanca, Salamanca, Spain;

⁹University of Texas MD Anderson Cancer Center, Department of Leukemia, Houston, TX

Background

Patients with HR-MDS have a dismal prognosis after failure of hypomethylating agents (HMAs) (Zeidan 2014), with median overall survival (OS) of less than 6 months (Prebet 2011) and currently no approved second-line therapy (Garcia-Manero 2016). Targeted therapies with novel mechanisms of action, combination strategies, as well as innovative study designs, are all needed to expedite and address the high unmet medical need in patients with HMA refractory HR-MDS. Rigosertib is a unique targeted therapy that inhibits PI3K and PLK signaling pathways by binding directly to the Ras-binding domain (Athuluri-Divakar 2016) and in vitro cytotoxicity studies have demonstrated synergy with azacitidine (Cosenza 2015). INSPIRE study is an example of a study with a novel compound and unique mechanism of action as well as an innovative study design.

Methods

INSPIRE (NCT02562443) is a global randomized Phase 3 trial in patients with HR-MDS after HMA failure. Patients are randomized in a 2:1 fashion to rigosertib or physician's choice of treatment. Key inclusion criteria: age <82 years; MDS classified as RAEB-1, RAEB-2 or RAEB-t; ≥ 1 cytopenia; patient must demonstrate one of the following: progression any time after initiation of HMA treatment, intolerance to HMA, failure to achieve complete remission (CR), partial remission (PR), or hematologic improvement (HI) after six 4-week cycles of AZA or either four 4-week or four 6-week cycles of DAC, or relapse after initial CR, PR or HI; duration of prior HMA ≤ 9 cycles within 12 months; last dose of HMA ≤ 6 months before enrollment; and ECOG score 0-2. The primary endpoint of overall survival (OS) will be tested in a sequential fashion in the intention to treat (ITT) population and the IPSS-R very high risk (VHR) subgroup. Secondary endpoints include OS in patients with monosomy 7 or trisomy 8, overall response, quality-of-life, and HI. The initial sample size was 225 patients with a pre-planned interim analysis (IA) after 88 deaths. INSPIRE featured an adaptive trial design with a pre-planned Sample Size Re-estimation (Cui 1999) to 360 patients and 288 OS events as one option that the Independent Data Monitoring Committee (IDMC) could implement at IA. The adaptive sample size modification of an on-going two-arm, group sequential clinical trial is used to categorize the results for each population into three zones of Unfavorable, Promising, and Favorable. This adaptive design is advantageous as it allows study sample size to be adjusted when there is high variance in estimating the true effect of the drug under investigation which could otherwise result in underpowering of the study. The IDMC had several options following the interim analysis, including continuation of the study as initially planned, discontinuation for futility or safety, trial expansion using pre-planned sample size re-estimation, and continuation for only the pre-defined VHR subgroup. The investigators remain blinded to the specific interim analysis results. Enrollment in the trial is ongoing with topline data expected in 2020.

Conclusions

Based on the results of interim analysis, the IDMC recommended continuation of the trial based on ITT result in promising zone with one-time expansion in enrollment, using a pre-

planned sample size re-estimation, the sample size for the study was increased from 225 to 360 with unchanged eligibility criteria. The Adaptive Design used real time data from the IA to modify sample size and mitigate the risk of underpowering without undermining its validity and integrity, while preserving type-1 error. The study design used in INSPIRE may be advantageous for other novel agents in rare hematological diseases during the transition from phase 2 to phase 3 studies.

Clinical trial information (NCT02562443).

P18

A COMPARISON OF TWO STANDARDIZED QUANTITATIVE RT-PCRS WITH CE IVD KIT FOR DIGITAL PCR IN CML PATIENTS WITH DIFFERENT LEVEL OF BCR-ABL1 TRANSCRIPTS

Folta A¹, Jurček T.¹, Kubešová B.^{1,2}, Žáčková D.^{1,2}, Mayer J.^{1,2}, Ježíšková I.^{1,2}

¹Interní hematologická a onkologická klinika, FN Brno, Brno;

²Lékařská fakulta Masarykovy Univerzity, Masarykova Univerzita, Brno

The detection and quantification of BCR-ABL1 transcripts play a key role in therapy management of chronic myeloid leukemia (CML) patients treated with tyrosine kinase inhibitors (TKIs). Reverse transcription quantitative PCR (RT-qPCR) is considered the gold standard strategy for monitoring of minimal residual disease (MRD). Recently, digital PCR (dPCR) was introduced as a new quantification method based on determination of absolute target sequence quantity. In connection with the deep molecular response (MR) assessment and the option of TKIs treatment cessation, the dPCR has a potential of high sensitivity, robustness and accuracy of BCR-ABL1 transcripts detection. The aim of present work was to compare the results of two standardized RT-qPCR methods with RT-dPCR detection in clinical samples of CML patients with different BCR-ABL1 fusion transcripts level.

In total, 62 peripheral blood samples of CML patients with the level of BCR-ABL1 transcripts (international scale, IS) between 100% and undetectable were enrolled. The samples were analyzed by three methods: (1) CE IVD Xpert BCR-ABL Ultra Kit (GeneXpert, Cepheid), (2) conventional RT-qPCR assay according to ELN guidelines and certified by EUTOS for the level of MR4.5 BCR-ABL1 detection (ABI7300, Applied Biosystems), and (3) RT-dPCR using CE IVD QXDx BCR-ABL %ID Kit (Bio-Rad) on QX200 Droplet Digital PCR System (Bio-Rad). All steps were performed according to manufacturer's instructions. A linear regression analysis and an overall reporting bias analysis using the Bland-Altman test were used for comparison of the methods.

Based on the results of GeneXpert as the determined routine method for BCR-ABL1 transcripts quantification, the samples were divided into two groups: 50/62 samples were scored as BCR-ABL1 positive (the first group), while 12/62 samples were scored as BCR-ABL1 undetectable (the second group). The first group of GeneXpert positive samples was analyzed using both conventional RT-qPCR and RT-dPCR (both in duplicates). The median of

the sum of ABL copies per sample was 180,511 copies (range 56,466 – 536,453) by RT-qPCR vs. 39,960 (range 14,360 – 71,690) by RTdPCR. Both conventional RT-qPCR and RT-dPCR did not detect any BCR-ABL1 transcript in 4/50 samples. In addition, RT-dPCR did not detect any BCR-ABL1 transcript in 5 other samples (Figure 1). Linear regression analysis showed good correlation between both sets of assays: GeneXpert vs. RT-dPCR ($R^2=0.965$, $N=41$) and conventional RT-qPCR vs. RT-dPCR ($R^2=0.977$, $N=41$). The slopes of regression curve were not significantly different from the value of 1 for both sets of the compared assays (1.02; 95% CI, range 0.95 – 1.08 and 1.02; 95% CI, range 0.97 – 1.08, respectively). In addition, an overall bias (Bland-Altman analyses) was -0.05 (GeneXpert vs. RT-dPCR) and -0.12 (conventional RT-qPCR vs. RT-dPCR) suggesting good concordance in % IS reporting between RT-dPCR and two standardized quantitative BCR-ABL1 assays. The evaluation of MR level was identical by all three methods in 26/50 samples. The comparison of two methods revealed consistent MR level by GeneXpert vs. RT-dPCR in 29/50 samples and by conventional RT-qPCR vs. RT-dPCR in 28/50 samples. The RT-dPCR scored 12/50 samples (GeneXpert vs. RTdPCR) and 13/50 samples (conventional RT-qPCR vs. RT-qPCR) to the different level of MR compared to standardized RT-qPCR methods. The second group of samples (12/62) undetectable for BCR-ABL1 transcripts according to GeneXpert was analyzed using conventional RT-qPCR and RT-dPCR in tetraplicates to reach higher sensitivity. The BCR-ABL1 negativity was confirmed in 11/12 samples. One sample was BCRABL1 positive by both the conventional RT-qPCR (0.0008% IS) and RT-dPCR (0.0013% IS).

We showed that the results of quantitative detection of BCR-ABL1 transcripts (% IS) obtained by the CE IVD RT-dPCR kit are in good correlation with the results of both standardized RT-qPCR methods and all three methods provide comparable sensitivity. RT-qPCR method yielded higher number of copies of control ABL gene per sample compared to RT-dPCR although the input amount of RNA into the RT reaction was the same. The MR level evaluation of RT-dPCR vs. both RT-qPCR methods was identical to the level MR3.0 (category $>0.01\%$ IS), while for samples in deep MR (category $\leq 0.01\%$ IS, MR4.0 and below) revealed partial difference in categorization into the individual MR levels.

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

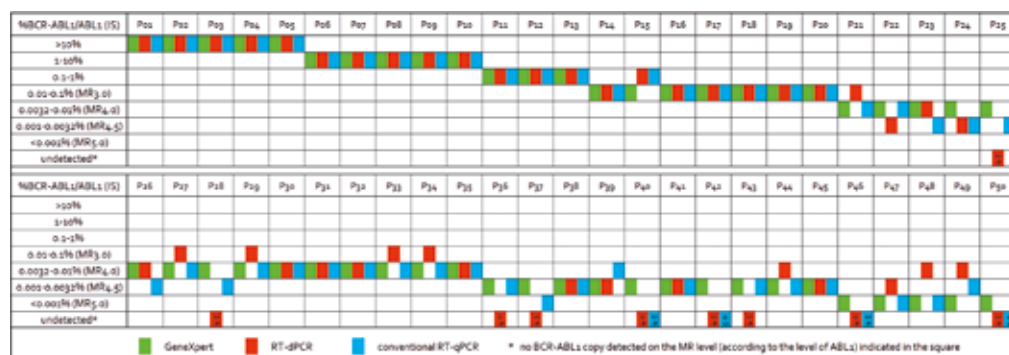


Figure 1. BCR-ABL1 transcript levels according to measurement by three different methods.

MULTICOLOR IMMUNO-PHENOTYPING OF CANDIDATE LEUKEMIC STEM CELL MARKERS IN CD34+CD38- CHRONIC MYELOID LEUKEMIA STEM CELLS

Čulen M.^{1,2,3}, Smitalová D.^{2,3}, Loja T.³, Mayer J.^{1,2,3}, Romžová M.^{2,3}

¹Internal hematology and oncology clinic, University Hospital Brno

²Faculty of Medicine, Masaryk University, Brno

³CEITEC, Masaryk University, Brno

Introduction: Detection of leukemic stem cells (LSCs) may represent a new potential prognostic parameter in chronic myeloid leukemia (CML) and a tool for minimal residual disease monitoring in combination with standard qPCR method. To date CD26 is studied as the most specific marker for CML LSC detection. Several other candidate LSC markers have been reported, such as IL1-RAP, CD25 and CD93, however a side-by-side testing of their specificity is lacking. Recently, we have identified CD69 molecule to be overexpressed in CD34+CD38-CD26+ cells, which makes this antigen another candidate marker for LSC.

Aim: To compare the surface expression of LSC markers CD69, CD26, CD25, CD56, IL1-RAP, CD56, CD93 in bulk CD34+CD38- population at diagnosis using a multicolour phenotypization assay.

Methods: In total, 44 patients were analysed at diagnosis of chronic phase CML before administration of any treatment. Fresh (n=38) or cryopreserved (n=6) leukocytes obtained by erythrolysis were stained with CD45, CD34, CD38, CD25, CD26, CD56, CD69, CD93, IL1-RAP antibodies and 7-AAD for selection of live cells.

Analysis was performed on FACSaria Fusion (BD Biosciences). Acquisition of live mononuclear cells ranged from 2×10^4 to 2.5×10^6 .

Results: Expression of candidate LSC markers CD26, CD25, CD56, IL1-RAP, CD56, CD93 was analyzed in BM of 35 patients who carried at least 30 CD34+CD38- cells. Median percentage of marker positive cells was 34% for IL1-RAP, 31% for CD25, 23% for CD26, 16% for CD56 and 2% for CD93, from the parent CD34+CD38- population. Next we analyzed the overlap and combination for the three best markers – IL1-RAP, CD25 and CD26. The 3-combination (defined as IL1-RAP or CD25 or CD26 expression) identified 40% of CD34+CD38- positive cells, which was more than any of the markers alone. Expression of the three markers showed good overlap and ruled out mutually exclusive expression of the markers. This was demonstrated by median difference of 0.4% of CD34+CD38- cells (range: 0-18%) and a correlation coefficient $r^2=0.9914$, when comparing the 3-combination and the best performing marker in each patient. In contrast, in 12/35 (34%) of patients, one of the three markers failed to identify at least half of the cells positive for another marker. In 21/35 patients, we also analyzed the expression of CD69 in the CD34+CD38- compartment. The CD69 showed similar performance as the 3-combination of CD26, CD25, and IL1-RAP, 59% vs 54% positive cells, respectively. We observed excellent overlap between CD69 and

3-combination expression in individual patients with median difference of 0% of CD34+CD38- cells (range 0-15%) and correlation coefficient $r^2=0.9890$.

Furthermore, we compared marker positivity in BM vs PB in 19 paired samples. Both, sample types showed similar frequency of CD34+CD38- cells (5×10^{-3} in BM, and 2×10^{-3} for PB), but PB carried higher percentage of LSCs identified by the 3- combination – median 76 vs 52% cells.

Conclusions: We show an overlap in surface expression of three previously reported CML LSC markers – IL1-RAP, CD25 and CD26. Nevertheless, a combination of these markers can detect more positive cells than any of the markers alone. Moreover, we demonstrate that CD69 identifies the same cells within the CD34+CD38- compartment as the combination of three above mentioned markers, which makes CD69 the best candidate for routine CML LSC quantification.

Supported by Ministry of Health of the Czech Republic, grant nr. 15-25809A. All rights reserved. This report was written with the support of the Specific University Research (nr. MUNI/A/0968/2017) provided by MEYS.

P20

KOMPLEXNÍ ANALÝZA PROGNOTICKY RELEVANTNÍCH ZMĚN V METYLACI DNA U PACIENTŮ S AKUTNÍ MYELOIDNÍ LEUKÉMIÍ POMOCÍ DNA METYLAČNÍHO SEKVENAČNÍHO PANELU

Šestáková Š.^{1,2}, Remešová H.¹, Šálek C.^{1,2}

¹Ústav hematologie a krevní transfuze

²Ústav klinické a experimentální hematologie 1. LF UK v Praze a ÚHK

Pro akutní myeloidní leukémii (AML) jsou charakteristické změny v metylaci DNA. Prognostický význam aberantně metylovaných oblastí byl popsán v řadě studií. Doposud však neexistuje práce, která by se zabývala souhrnnou analýzou těchto potenciálně prognosticky relevantních lokusů. Pro komplexnější pohled na tuto problematiku jsme navrhli DNA metylační sekvenční panel cílící na 239 oblastí asociovaných se 186 geny.

DNA jsme izolovali z leukocytů AML pacientů při diagnóze (n=100) a z CD34+ buněk zdravých dárců (n=6). Knihovny byly připraveny pomocí KAPA Library Preparation Kitu, SeqCap Epi Choice Enrichment Kitu (Roche) a EZ DNA Methylation-Lightning Kitu (Zymo Research). Sekvence byla provedena na přístroji MiSeq. Data byla analyzována s použitím open-source nástrojů v linuxovém prostředí a statistického programu R.

Po prvotním zpracování dat jsme pro každý vzorek získali 46 573 CpG, které jsme podrobili analýze diferenciálně metylovaných oblastí (DMR). Při porovnání AML se zdravými dárce jsme našli 42 hyper- a 7 hypometylovaných DMR. Po klastrovací analýze těchto 49 oblastí se vzorky rozdělily do dvou hlavních klastřů. První klastř, obsahující zdravé kontroly, byl ještě rozdělen na dvě podskupiny. V první podskupině se nacházely AML vzorky s výrazně kratší

dobou přežití (n=10, nízká metylace, medián přežití 6 měsíců). Druhá podskupina obsahovala zdravé kontroly (n=6) a dobře přežívající AML (n=10, nízká metylace, medián přežití 37 měsíců). Zbytek AML vzorků tvořil druhý hlavní klastř (n=80, vyšší metylace, medián přežití 31 měsíců). Při hledání dalších DMR jsme porovnávali AML s kratším (méně než 24 měsíců) a delším celkovým přežitím (OS), AML dosahující kompletní remise s kratším či delším OS a AML s a bez výskytu relapsu. Při těchto analýzách jsme opakovaně detekovali 6 oblastí hypermetylovaných oproti zdravým kontrolám a asociovaných s geny *WT1*, *ID4*, *EGR1*, *BHMT*, *ETNK2* a *BCL2*. AML jsme rozdělili dle hladiny hypermetylace v těchto oblastech na vyšší či nižší (dle průměrné metylace AML pro danou oblast). AML s vyšší hypermetylací (n=38) v alespoň 4 z těchto 6 oblastí měli delší OS než AML s nižší hypermetylací (n=62, Cox-PH regresní analýza: p=0.012). Na základě těchto výsledků jsme tedy porovnali také OS u AML s celkově nižší (n=56) a vyšší (n=44) metylací ve všech detekovaných CpG, kdy jako hranice pro rozdělení vzorků byla brána průměrná metylace všech AML. AML pacienti s nižší metylací se ukázali jako hůře přežívající (medián přežití 11 měsíců, p=0.003).

DNA metylační sekvenační panel představuje nový nástroj pro celkové hodnocení DNA metylačních změn u AML. V dosavadní analýze jsme identifikovali oblasti s potenciálním významem pro prognosu AML. Dále se ukazuje, že nejen změna v metylaci DNA, ale i velikost této změny může mít vliv na patogenезi AML a že nižší celková hladina metylace je spojena s kratším přežitím pacientů. Plánujeme dále pokračovat v sekvenaci AML vzorků a naším hlavním cílem je vyvinout algoritmus pro analýzu získaných dat, který by byl použitelný v klinické praxi.

Podpořeno Ministerstvem zdravotnictví České republiky (00023736, ÚHK).

P21

CIRCULATING SMALL NONCODING RNAs AS NOVEL SEMI-INVASIVE MARKERS OF PATIENT SURVIVAL IN MYELODYSPLASTIC SYNDROMES

Dostalova Merkerova M., Hrustincova A., Krejcik Z., Kundrat D., Szikszai K., Cermak J., Vesela J., Hruha M., Belickova M.

Institute of Hematology and Blood Transfusion, Prague, Czech Republic

Myelodysplastic syndromes (MDS) are hematopoietic stem cell disorders with a tendency to transform to acute myeloid leukemia. Several prognostic systems based almost entirely on clinicopathological characteristics was developed. However, considering large heterogeneity of MDS, there is an ongoing substantial effort to discover new molecular biomarkers that would improve patient stratification.

It has recently been discovered that various types of small noncoding RNAs (sncRNAs) are exported in blood circulation. Encapsulated in extracellular vesicles (EVs) or as a part of various molecular complexes, they play important roles in long distance cell-to-cell communication. Their secretion appears to be controlled and specific and thus may reflect (patho)physiological processes occurring in different cells. As diagnostic procedures move

from bone marrow biopsies towards less invasive techniques, circulating sncRNAs have become of particular interest as potential novel semi-invasive biomarkers.

We investigated circulating sncRNAs in MDS on the genome-wide level to better understand MDS pathogenesis and to search for specific RNAs applicable as potential biomarkers. We analyzed paired samples from the total plasma and EV fractions to define which of these two materials would be better source of relevant sncRNA-based biomarkers of MDS.

We performed small RNA-seq in paired samples (plasma and EVs) in 42 patients and 17 healthy controls. To associate sncRNA levels with mutational status, Illumina TruSight Myeloid Sequencing Panel Kit examining 54 genes was applied. Overall survival (OS)-associated sncRNAs were identified by performing univariate Cox regression along with a permutation test using BRB-ArrayTools. Multivariate Cox regression analysis with backward variable selection was done to identify independent variables associated with patient survival.

Data analysis showed that the most abundant category of RNAs were miRNAs (51 %), followed by rRNAs, piRNAs, tRNAs, and mRNAs. Sample clustering revealed that RNA content of EV cargo is more homogeneous than of plasma. Differential analysis identified a striking disbalance in RNA content between plasma and EVs (>400 significantly deregulated sncRNAs) in MDS patients whereas these sncRNA profiles remained similar in controls. Such disbalance may suggest that the mechanisms of sncRNA export in blood circulation may be specifically affected in MDS. As a result, these changes might substantially affect cell-to-cell communication of blood cells, contributing to the disease development.

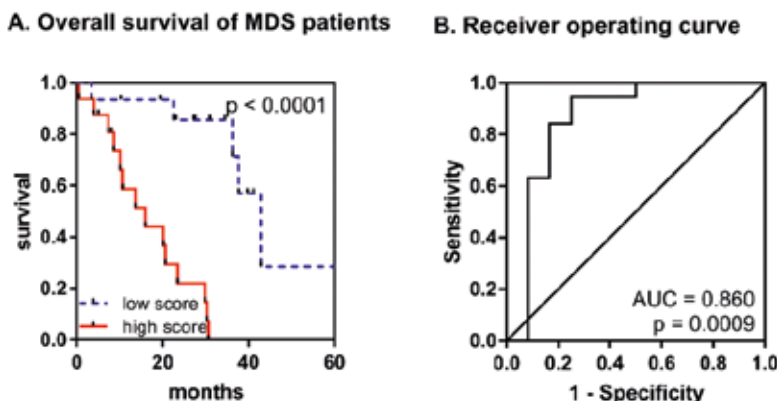
We analyzed levels of individual sncRNAs and found that levels of many hematopoiesis-related miRNAs were significantly increased in MDS patients compared to healthy controls, mostly both in plasma and EVs (e.g., miR-34a-5p, miR-125a-5p, and miR-150). Several miRNAs (e.g., miR-103b, miR-107, and miR-221) showed different levels between early and advanced MDS. Interestingly, the majority of miRNAs from the 14q32 miRNA cluster were specifically increased in early MDS.

Further, we investigated possible impact of somatic mutations on expression of circulating sncRNAs. However, only low numbers of circulating sncRNAs significantly associated with mutational status, suggesting no fundamental effects of somatic mutations on sncRNA export from MDS cells.

Survival analysis identified sncRNAs with the highest levels of association with OS (plasma: miR-1260b, miR-3191-3p, and miR-328-3p; EVs: miR-1237-3p, U33, hsa_piR_019420, and miR-548av-5p). To better stratify patients, we defined risk prediction scores (separately for plasma and EVs) that combine effects of the above mentioned sncRNAs. The results showed that EV-combined score significantly increased the predictive power of the survival risk model (Figure 1). Moreover, Cox-multivariate analysis revealed that this score is the most significantly associated with OS (HR = 2.942, 95% CI 1.786 to 4.849, $p < 0.001$).

To conclude, our data demonstrate that profile of circulating sncRNAs is specific in MDS and changes with the disease progression. Monitoring of sncRNA levels in EVs provides better prognostic performance for patient survival (compared to total plasma), probably due to higher homogeneity of the EV fraction.

Figure 1. Performance of EV combined score



P22

MUTACE ZODPOVĚDNÉ ZA REZISTENCI BUNĚK CHRONICKÉ MYELOIDNÍ LEUKÉMIE NA LÉČBU JSOU ZÍSKÁVÁNY DE NOVO BĚHEM PŮSOBNÍ IMATINIBU PŘI AKTIVACI CHYBUJÍCÍ ALT-NHEJ DRÁHY

Čuřík N.^{1,2}, Polívková V.^{1,3}, Koblihová J.¹, Kalina T.⁴, Burda P.^{1,2}, Rejlová K.⁴, Kužílková D.⁴, Kanderová V.⁴, Bakardjieva M.⁴, Ransdorfová Š.⁵, Březinová J.⁵, Machová Polaková K.^{1,2}

¹Oddělení molekulární genetiky, Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha;

²Ústav patologické fyziologie, 1. Lékařská fakulta UK, Praha;

³Přírodovědecká fakulta UK, Praha;

⁴Klinika dětské hematologie a onkologie UK 2. LF a FN Motol, Praha;

⁵Oddělení cytogenetiky, Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

Úvod

Mutace v kinázové doméně BCR-ABL1 jsou v řadě případů spojeny se vznikem rezistence chronické myeloidní leukemie (CML) na inhibitory tyrozinových kináz (TKI). Přes svůj zásadní klinický význam je původ mutací nesoucích rezistenci k TKI stále poměrně nejasný. Cílem naší práce je odhalit molekulární mechanismy, které buňky CML využívají pro mutagenезi v kinázové doméně BCR-ABL1 po vystavení imatinibu.

Metody

Studie využila *in vitro* modely buněčných linií KCL-22 a CML-T1 představující CML v blastickém zvratu. Klony rezistentní k imatinibu byly připraveny single-cell sortováním na průtokovém cytometru do média s nízkou koncentrací imatinibu, která byla postupně zvyšována až

na 4 μ M. Získání mutací a dynamika mutovaných subklonů byla studována na úrovni transkriptu i DNA s využitím sekvenování nové generace (NGS) a kapénkové digitální PCR.

Výsledky

Po 90 dnech kultivace byly získány 4 klony KCL-22 s rezistencí na 4 μ M imatinib. Analýza pomocí myeloidního panelu NGS odhalila přítomnost získané mutace v genu *KRAS* (G12D) v jednom z rezistentních klonů, který rovněž nesl mutaci v genu *RUNX1* (G74R). Analýza proteinové exprese s využitím hmotnostní cytometrie (CyTOF) ukázala zvýšenou expresi fosforylovaných forem kináz Erk1 a Erk2 (serin/threonin kinázy *KRAS* signální dráhy), v tomto klonu ve srovnání s dalšími třemi rezistentními klony KCL-22, které nesly mutace v kinázové doméně *BCR-ABL1*: 1) T315I; 2) E255K a 3) Y253H. Na základě DNA kvantifikace jsme v klonu nesoucím mutaci Y253H našli další, nemutovanou *BCR-ABL1* fúzi, což jsme následně potvrdili pomocí mFISH analýzy. Při retrospektivní detekci mutací v rezistentních klonech jsme první záchyt mutací odhalili v 60-70 dnech po sortu. V předcházejících odběrech nebyly žádné mutace detekovány. Vystavení původně uchovaných buněk (z doby 21 dní po sortu) postupně se zvyšujícím koncentracím imatinibu vedlo ke vzniku rezistentních klonů s odlišným spektrem mutací v *BCR-ABL1* a *KRAS*. Na základě těchto výsledků předpokládáme, že k získání mutací během působení imatinibu na buňky došlo *de novo* v důsledku náhodných procesů v součinnosti s deregulací buněčných mechanismů signalizujících poškození DNA a zajišťujících jejich opravy. S využitím RT2 Profiler PCR Arrays jsme zjistili signifikantní snížení exprese *XRCC6/Ku70* během ustavení rezistence na imatinib. Rezistentní klony KCL-22 byly, ve srovnání s kontrolními klony citlivými na imatinib, rovněž charakterizovány sníženou expresí *DNA Ligázy IV* a zvýšenou expresí *DNA Ligázy I* a *PARP1*. Tyto výsledky poukazují na aktivaci chybné alt-NHEJ dráhy oprav poškození DNA v rezistentních klonech, která by mohla umožnit získání mutací. Obdobné výsledky byly pozorovány i na modelu CML-T1 buněk.

Závěr

Detekce již přítomných mutací v *BCR-ABL1* u pacientů dosud neléčených TKI v době diagnózy je vzácná i pro akcelerovanou a blastickou fázi CML a prakticky se nepozoruje u CML v chronické fázi. Naše výsledky získané na *in vitro* modelech tato pozorování z klinické praxe výrazně podporují. Ukazují, že k získání mutací nesoucích rezistenci dochází náhodně teprve během působení imatinibu na leukemické buňky, kdy jedním z mechanismů je aktivace chybných DNA reparačních mechanismů.

S podporou: GACR 18-18407S, MZCR 00023736

PONATINIB TREATMENT IN CML AND Ph+ ALL PATIENTS: REAL-LIFE DATA FROM THE CZECH REGISTRIES

Koriťáková E.⁹, Doubek M.¹, Faber E.², Szotkowski T.², Cmunt E.³, Horáček J.⁴, Bělohávková P.⁴, Jindra P.⁵, Stejskal L.⁶, Kořístek Z.⁶, Klamová H.⁷, Šálek C.⁷, Folber F.¹, Kellnerová R.⁸, Chrápavá M.⁹, Žáčková D.¹

¹University Hospital Brno, Czech Republic;

²University Hospital Olomouc, Czech Republic;

³General University Hospital Prague, Czech Republic;

⁴Department of Internal Medicine IV - Hematology, University Hospital Hradec Králové, Hradec Králové, Czech Republic;

⁵University Hospital Plzeň, Czech Republic;

⁶University Hospital Ostrava, Czech Republic;

⁷Institute of Haematology and Blood Transfusion, Prague, Czech Republic;

⁸Angelini Pharma Czech Republic s.r.o., Brno, Czech Republic;

⁹Institute of Biostatistics and Analyses s.r.o., Brno, Czech Republic

Patients with newly diagnosed chronic myeloid leukemia (CML) frequently receive imatinib. Although initial response rates are high, imatinib fails in up to 40% of patients because of disease resistance, frequently because of BCR-ABL kinase domain mutations, or side effects. Patients who discontinue imatinib may have a response to second-generation tyrosine kinase inhibitors (TKIs). Ponatinib (PON) is a potent oral TKI active against unmutated and mutated BCR-ABL kinase. PON is indicated also in Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia (Ph+ ALL) patients. Clinical activity of PON was confirmed in the phase II PACE trial, however lack of real world data is evident.

The aim of this non-interventional study was to analyze data on PON treatment and its efficacy in the Czech patients with CML / Ph+ ALL. The study was designed as a one-off retrospective data collection from 3 national registry databases INFINITY, CAMELIA and DATOOL ALL in the period 2014-2018.

In total, the study comprised 27 patients treated with PON at 7 centers. 16 (59.3%) patients were treated for chronic phase (CP) CML, 4 (14.8%) patients for accelerated- or blast-phase (AP/BP) CML and 7 (25.9%) patients for Ph+ ALL. The 16 CP CML patients (68.8% males) had median age at the start of PON treatment 59.7 years (range 28.6 - 81.4), were heavily pretreated (75% with ≥ 3 TKIs) with median time from diagnosis to start of PON treatment 4.8 (0.2–16.8) years; 37.5% of them had mutations, 75.0% had comorbidities. The 11 AP/BP CML / Ph+ ALL patients were younger with median age 56.6 (31.2–74.7) years, 54.5% of males, were less pretreated (36.4% with ≥ 3 TKIs) with a shorter time from diagnosis to start of PON treatment 2.0 (0.4–22.0) years; almost twice as many (72.7%) of them had mutations, 63.6% had comorbidities. The most common reason for switching to ponatinib was hematologic resistance (37.5% of CP CML and 54.6% of AP/BP CML / Ph+ ALL patients). T315I mutation was present in 22.2% patients.

Interestingly, starting dose of PON was 45 mg/day as recommended in the product SmPC only in of about half of the patients (43.8% of CP CML and 54.5% of AP/BP CML / Ph+ ALL patients). Median treatment duration was 16.1 months in CP CML patients and only 2.9 months in AP/BP CML / Ph+ ALL patients. Early (in the first 3 months) and late termination of the treatment occurred in 12.5% and 31.3% of CP CML and 54.5% and 27.3% of AP/BP CML / Ph+ ALL patients, respectively. Disease progression was the major reason for treatment termination (50%). In terms of safety, only 1 patient discontinued therapy due to congestive heart failure, and 1 due to vascular adverse event although more than half of the patients had cardiovascular comorbidities and history of cardiovascular disease.

PON efficacy was evaluated in 14 CP CML patients and 5 AP/BP CML / Ph+ ALL who were treated beyond 3 months (Figure 1). More than half of CP CML patients achieved MMR (57.1%) and 40% of AP/BP CML / Ph+ ALL achieved undetectable disease. Estimated percentage of CHR, CCyR and MMR in CP CML patients after one year of treatment was 85.7%, 50% and 50%, respectively. Nevertheless, 5 (35.7%), 2 (14.3%) and 1 (7.1%) patients had CHR, CCyR and MMR at start of PON treatment, respectively. In AP/BP CML / Ph+ ALL patients, estimated percentage of CR and CMR after one year was 100% and 40%, respectively. However, 2 patients (20%) had CR at the start of PON treatment.

Despite limited number of patients, our analysis confirmed PON efficacy in real-life setting with a significant proportion of heavily pre-treated patients achieving durable molecular responses in both CP and AP/BP CML / Ph+ ALL groups. Our data are comparable to the PACE trial results. This study partially fills the gap in RWE data and significantly contributes to the evaluation of real-life clinical practice in rare disease area.

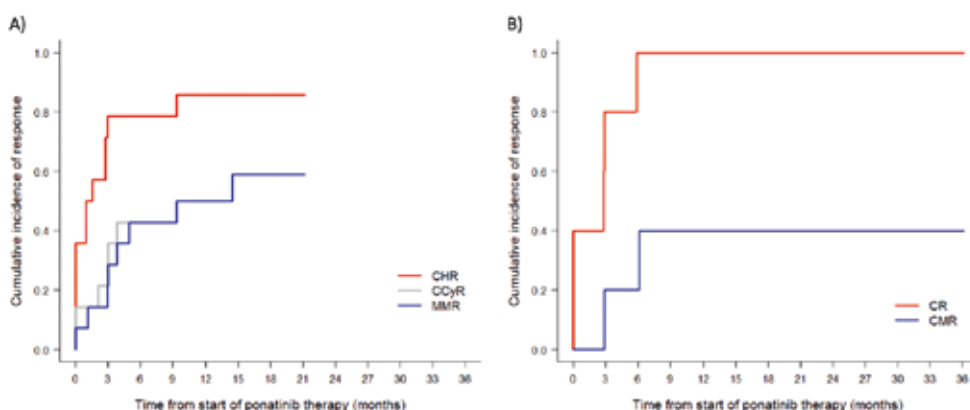


Figure 1. Cumulative incidence of responses on ponatinib treatment in A) CP CML (N=14) and B) AP/BP CML / Ph+ ALL (N=5) patients that continued ponatinib treatment beyond 3 months.

SPOLEHLIVÉ HODNOCENÍ „LOW-LEVEL“ MUTACÍ V KINÁZOVÉ DOMÉNĚ BCR-ABL1 V OBDOBÍ NESTABILNÍ VELKÉ MOLEKULÁRNÍ ODPOVĚDI NA LÉČBU U PACIENTŮ S CHRONICKOU MYELOIDNÍ LEUKÉMIÍ

Benešová A.¹, Polívková V.¹, Pecherková P.¹, Koblihová J.¹, Klamová H.¹, Srbová D.¹, Hochhaus A.², Soverini S.³ a Machová Poláková K.¹

¹Ústav Hematologie a Krevní Transfuze, Praha, Česká Republika;

²Department of Hematology/Oncology, Clinic of Internal Medicine II, Jena University Hospital, Jena, Germany;

³Department of Experimental, Diagnostic and Specialty Medicine, Institute of Hematology L. and A. Seràgnoli, S. Orsola-Malpighi University Hospital, University of Bologna, Bologna, Italy

Úvod

Jedním z cílů mezinárodního projektu EUTOS 2018 (European Treatment and Outcome Study for CML) je posoudit klinickou relevanci detekce mutací v kinázové doméně (KD) BCR-ABL1 v době, kdy pacienti s chronickou myeloidní leukémií (CML) vykazují fluktuující hladiny exprese BCR-ABL1 na úrovni velké molekulární odpovědi (MMR = 0,1 % BCR-ABL1 v mezinárodním měřítku), kdy je tento stav označován jako nestabilní MMR. V předchozích pracích jsme ukázali, že u některých pacientů je nestabilní MMR odrazem pomalu se rozvíjející rezistence v souvislosti s mutacemi KD BCR-ABL1 (Machova Polakova et al. Exp Hem 2010), což bylo prokázáno s použitím sekvenování nové generace (NGS), které umožňuje detekovat tzv. low-level mutace, tj. mutace pod hladinou detekce Sangerovým sekvenováním (Machova Polakova et al. J Clin Exp Hem 2015).

Cíle

Navrhnout postup pro spolehlivé hodnocení low-level mutací pomocí vlastního bioinformatického programu. U pacientů vykazujících nestabilní MMR v průběhu léčby TKI vyšetřit mutace v KD BCR-ABL1 pomocí NGS a vyhodnotit klinicky relevantní mutace na významných hladinách pomocí vlastního bioinformatického nástroje.

Materiál a metody

NGS – Nextera (Illumina), NextGen (Softgenetics), vzorky leukocytů periferní krve zařazených 62 pacientů s expresí nestabilní MMR v průběhu léčby TKI.

Výsledky

Vyvinuli jsme bioinformatický program v návaznosti na naši předchozí práci (Machova Polakova et al. J Cancer Res Clin Oncol. 2015), která zjistila četnost detekovaných chybových záměn nukleotidů v sekvenovaném úseku KD BCR-ABL1 pomocí NGS. Tento program, který jsme nazvali NextDOM, posuzuje čtení jednotlivých pozic nukleotidů v sekvenovaném řetězci KD BCR-ABL1 porovnáním s limity detekce a limity kvantifikace generovanými ze sekvenačních dat kinázové domény ABL1 zdravých jedinců. Pro hodnocení záměn nukleotidů

na významných hladinách analyzuje NextDOM data získaná po základním bioinformatickém zpracování NGS dat softwarem NextGene (Softgenetics). S použitím našeho algoritmu jsme zjistili spolehlivou nejnižší hranici detekce záměn pro každou pozici nukleotidu celé sekvenované oblasti KD BCR-ABL1, přičemž pro 24 vybraných klinicky relevantních mutací (Patel et al. Hematol Oncol Clin North Am 2017) byl medián 1,5 % (rozmezí 1,0 % - 3,7 %) mutace v celkovém množství BCR-ABL1. Pacienty vykazující nestabilní MMR jsme rozdělili do dvou skupin. Skupina A zahrnuje 53 pacientů, kteří nedosáhli po zahájení léčby TKI lepší odpověď než nestabilní MMR. V této skupině jsme doposud vyšetřili mutace v BCR-ABL1 pomocí NGS u 37/53 pacientů. Pomocí NextDOM jsme u 5 pacientů identifikovali přítomnost biologicky významných mutací na významných hladinách (T315I, F317S, F359L, Y253C, K294R). Skupina B zahrnuje 9 pacientů, kteří zprvu dosáhli na léčbě TKI hlubokou molekulární odpověď (DMR), kterou následně ztratili nárůstem hladiny BCR-ABL1, která se však ustálila na fluktuujících hladinách MMR. V době nestabilní MMR jsme NGS vyšetřili mutace u 7/9 pacientů, přičemž ve 4 případech byly pomocí NextDOM zjištěny mutace na významných hladinách (M244V, G250E+M244V, M244V a V379I).

Závěr

V současné době neexistuje doporučovaný postup ani dostupný software, který by umožňoval spolehlivé hodnocení klinicky relevantních mutací na nízkých hladinách. Často je v literatuře udávána paušální hranice 1 % pro detekci mutací v KD BCR-ABL1, což dle našich dat není pro řadu mutací spolehlivá hranice pro odfiltrování chybových záměn. Pomocí softwaru NextDOM jsme vyhodnotili přítomnost mutací včetně low-level u pacientů vykazujících nestabilní MMR. V období nestabilní MMR jsme zatím detekovali BCR-ABL1 mutace u 20 % pacientů, nejčastěji u těch, kteří ztratili DMR. Tito pacienti byli převedeni na jiný preparát za opětovného dosažení DMR. V současné době neexistuje doporučení pro změnu léčby u pacientů vykazujících nestabilní MMR, jelikož MMR je obecně hodnocena jako optimální odpověď. Na základě našich dat se domníváme, že vysoce citlivá a spolehlivá detekce BCR-ABL1 mutací u pacientů vykazujících nestabilní MMR včas odhaluje rozvoj rezistence a v součinnosti s časnou změnou léčby má preventivní charakter před možnou progresí onemocnění.

Podpořeno EUTOS2018 a MZCR 00023736

P25

SOUVISÍ HORŠÍ PRŮBĚH CML U MLADÉ „AYA“ GENERACE PACIENTŮ S MUTACEMI V GENECH DŮLEŽITÝCH PRO MYELOIDNÍ VYZRÁVÁNÍ BUNĚK?

Koblihová J., Polívková V., Benešová A., Žižková H., Šťastná Marková M., Klamová H., Machová Poláková K.

Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

Incidence chronické myeloidní leukémie (CML) stoupá s věkem (medián věku v době diagnózy je 64). Před zavedením inhibitoru tyrozinových kináz (TKI) imatinibu pro léčbu CML, byl vyšší věk negativní prognostický faktor. To již neplatí v současné době, kdy jsou

všichni pacienti s CML léčení TKI v první linii a prognóza pacientů se dramaticky zlepšila. Zajímavé však je, že mladší pacienti s CML v chronické fázi ve věku 15-39 let označovaní jako AYA (z anglického adolescents and young adults) mají oproti starším pacientům výrazně horší odpověď na léčbu TKI. Biologie CML u AYA pacientů nebyla dosud příliš studována především z důvodu nižšího výskytu CML u AYA.

Cílem této pilotní práce bylo zjistit, zda horší prognóza AYA pacientů spjatá se selháním léčby TKI a progresí onemocnění souvisí s rozvojem subklonů krvetvorných buněk nesoucích (frekventovaně u MDS, AML a myeloproliferativních onemocnění) mutace v genech, které se podílí na regulaci myeloidního vyžívání buněk.

Provedli jsme retrospektivní analýzu párových vzorků 10 pacientů (3 ženy, 7 mužů), v době diagnózy (19-32 let) a v době selhání léčby TKI, popř. při relapsu onemocnění po transplantaci kostní dřeně (TKD). U 4/10 pacientů došlo k selhání léčby TKI následkem vzniku rezistentních mutací v kinázové doméně fúzního genu *BCR-ABL1*. Vzorky DNA izolované z leukocytů periferní krve jsme analyzovali metodou sekvenování nové generace (NGS). Pro skríníng frekventovaně mutovaných genů jsme zvolili TruSight myeloidní panel (Illumina) pokrývající 15 celých genů a 39 genů ve vybraných exonech. Data byla zpracována v softwaru NextGENe (Softgenetics) a získané mutace/jednonukleotidové záměny jsme charakterizovali pomocí veřejně dostupných databází (COSMIC, VarSome, NCBI – dbSNP, GeneCard, UniProt). Nalezené záměny jsme ověřili Sangerovým sekvenováním a/nebo vysoce citlivou metodou ddASO PCR.

Celkově jsme u pacientů našli 29 záměn v 16 genech podílejících se na modifikaci chromatinu (*ASXL1*, *EZH2*, *KDM6A*), metylaci DNA (*DNMT3A*, *TET2*), kontrole buněčného cyklu (*CDKN2A*, *TP53*), a v genech kódujících transkripční faktory (*RUNX1*, *GATA2*, *IKZF1*). Dle anotací bylo 19/29 detekovaných záměn hodnoceno jako jednonukleotidové polymorfismy (SNP) a zárodečné mutace, čemuž odpovídá i procentuální zastoupení ve vzorcích (jednalo se především o heterozygotní sestavy alel). Deset mutací jsme detekovali v genech *ABL1*, *ASXL1*, *CSF3R* a *RUNX1*. U 30 % AYA pacientů (3/10) jsme v době diagnózy našli mutaci v genu *ASXL1* E773X (47 %), G645delinsGWfs (39 %) a S795delinsCLfs (11 %), což je v souladu s výsledky Ernsta a kol. (*Leukemia*, 2018). Mutace v genu *ASXL1* způsobují pokles trimethylace histonu H3K27 a umožňují buňkám myeloidní transformaci.

U jedné pacientky byla nalezena dosud neanotovaná mutace A593V v genu *CSF3R* v době diagnózy (52 %) a 14 měsíců od zahájení léčby imatinibem (53 %). Studie genu *CSF3R* kódujícího receptor pro kolonie stimulující faktor 3 odhalily u hematologických onemocnění spojitost mutací se specifickými doménami receptoru (Dwivedi a Greis; *Exp Hematology*, 2017). Mutace A593V leží v extracelulární části receptoru poblíž transmembránové oblasti a může mít za následek autoaktivaci receptoru a následných signálních drah i bez

přítomnosti ligandu, což způsobuje narušení exprese genů odpovědných za abnormální hladinu neutrofilů.

U pacienta v relapsu po druhé TKD jsme detekovali patogenní mutaci v genu *RUNX1* D198N v klonu s mutací T315I v *BCR-ABL1*, což bylo potvrzeno ddASO PCR. Tento leukemický klon byl příčinou relapsů po dvou TKD a to i relapsu do CNS.

Selhání léčby CML inhibitory TK u AYA pacientů může mít souvislost s rozvojem subklonů nejen s mutacemi v genu *BCR-ABL1*, ale i v genech často spojovaných s deregulací vyžrávání myeloidní řady. Díky vysoce citlivé detekci mutací pomocí ddASO PCR chceme vytvořit model klonálního vývoje mutací u studované kohorty AYA pacientů. Jelikož CML může progredovat také do lymfoblastického zvratu, plánujeme provést NGS analýzy lymfoidního panelu genů, které bývají často mutované u hematologických malignit s poškozeným vyžráváním buněk lymfoidní řady.

Podpořeno MZCR 00023736.

P26

VÝSLEDKY LÉČBY AML ZRELABOVANÝCH PO ALLOGENNÍ TRANSPLANTACI, ZKUŠENOSTI ÚHKT

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

Ústav Hematologie a Krevní Transfúze, Praha

Úvod

Ačkoliv je allogenní transplantace podstatným krokem v léčbě AML se středním a vysokým rizikem, potransplantační relapsy zůstávají jednou z významných komplikací vedoucích k selhání léčby. Léčba těchto pacientů je obtížná a stále nepřináší optimální výsledky.

Metody

Hodnotili jsme retrospektivně přežití pacientů s AML, kteří zrelabovali po allogenní transplantaci, mezi lety 1989 a 2019. Léčebný postup byl u jednotlivých pacientů zvažován individuálně s ohledem na charakter rizikovosti onemocnění, celkový stav pacienta a pacientovo rozhodnutí. Pro hodnocení jsme rozdělili pacienty na 3 skupiny: 1) skupina bez léčby kromě vysazení či snížení imunosuprese a podání DLI, 2) skupina léčená postupy s nižší intenzitou – většinou LD-ARA-C a 5-AZA spolu s modifikací imunosuprese a DLI a 3) skupina léčená intenzivní chemoterapií zahrnující režimy s ARA-C a antracykliny eventuelně s druhou transplantací.

Výsledky

Celkem bylo hodnoceno 148 pacientů, z toho 44 bez léčby, 36 s nízkointenzivní chemoterapií a 68 s vysoko-intenzivní terapií. Celkové odhadované přežití bylo v 1, 2 a 3 letech 29%, 20% a 16% resp. Pacienti, kteří zrelabovali do 100 dnů od transplantace a byli léčeni měli významně

horší přežití v 1 a 2 roce (29%, 15%) ve srovnání s léčenými pacienty s relapsem po 1 roce od transplantace (50% a 37%), ale mezi pacienty, kteří zrelabovali 3-12 měsíců po transplantaci a více než rok nebyl významný rozdíl v celkovém přežití. Není překvapení, že pacienti, kteří dosáhli léčbou relapsu po transplantaci remise onemocnění, měli významně lepší celkové přežití v 1 a 2 roce (71%, 47%), přesto opakované relapsy (37%) i komplikace léčby byly spojeny s výraznou následnou mortalitou.

Závěr

Prognóza pacientů s AML zrelabovaných po transplantaci je velmi špatná i přes různé terapeutické postupy. Zlepšení by mohla nabídnout především potencovaná preemptivní léčba rizikových skupin před prvním potransplantačním relapsem, eventuálně udržovací léčba novými preparáty či imunoterapeutickými postupy u pacientů, u nichž se podařilo dosáhnout nové remise onemocnění.

P27

ARSENIC TRIOXIDE UPREGULATES CEREBLON MESSENGER RNA EXPRESSION AND POTENTIATES SENSITIVITY OF SKM-1 AND MDS-L CELLS TO LENALIDOMIDE

Fuchs O., Bokorova B., Myslivcova D., Cermak J.

Institute of Hematology and Blood Transfusion, Prague

INTRODUCTION

Arsenic trioxide (ATO) was approved in the United States and Europe for the treatment of acute promyelocytic leukemia (APL). ATO was also studied in multiple myeloma (MM) and myelodysplastic syndrome (MDS), where it induced growth inhibition and apoptosis. ATO produced trilineage responses in MDS by several mechanisms of action. These mechanisms included induction of cell cycle arrest, apoptosis and autophagy, generation of reactive oxygen species (ROS), release of cytochrome c and activation of caspases, induction of differentiation and antiangiogenesis. We showed that the high level of full-length cereblon (CRBN) mRNA and CRBN protein is important for the efficacy of lenalidomide (LEN) in lower-risk MDS patients (Jonasova et al. Eur J Haematol 2015; 95: 27-34; Fuchs et al. Leuk Res 2017; 55 (S1): S132, abstr. 227). ATO potentiated CRBN expression levels in MM cell lines (Jian et al. Oncol Lett 2017; 14:3243-3248).

AIMS

The aim of our study was to evaluate the levels of CRBN mRNA and Nrf2 (nuclear factor, erythroid-derived 2-like 2 or NF-E2-related factor 2) mRNA in SKM-1 (leukemic cell line established from a patient with progression of MDS to myelomonocytic leukemia) and MDS-L (a human myeloblastic cell line established from the bone marrow of an MDS patient with del(5q); Matsuoka et al. Leukemia 2010; 24: 748-755) cells treated with various concentrations of ATO as single agent or with combinations of ATO with LEN, erythropoietin (EPO) and prednisone for 24 hours. We tested our hypothesis that ATO induced the

transcription factor Nrf2 mRNA levels and increased CRBN mRNA expression as a single agent and also in combinations with LEN, EPO and prednisone.

METHODS

Full-length CRBN mRNA and Nrf2 mRNA levels were quantified in SKM-1 and MDS-L cells incubated without (controls) or with 0.05; 0.1; 0.5 and 1.0 microM ATO as single agent for 24 hours using the reverse transcription-quantitative TaqMan PCR assay. Total RNA was extracted from cells, reverse transcribed and TaqMan PCR assay was provided for CRBN mRNA, Nrf2 mRNA and glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH), a housekeeping gene. The effect of ATO (0.1 microM) in combinations with LEN (10 microM), EPO (2U/ml) and prednisone (100 microM) on full-length CRBN mRNA and Nrf2 mRNA levels was also studied in SKM-1 and MDS-L cells.

RESULTS

The levels of full-length CRBN mRNA and Nrf2 mRNA corresponded in both cell lines, SKM-1 and MDS-L, treated with ATO as single agent or in combinations with LEN, EPO and prednisone. The most prominent effect of ATO as single agent on the levels of both mRNAs was gained in 0.1 microM concentration in SKM-1 cells and 0.5 microM in MDS-L cells. Positive effects of combinations of ATO and prednisone; ATO, prednisone and LEN; or ATO, prednisone, LEN and EPO in both cell lines on the levels of full-length CRBN mRNA and Nrf2 mRNA were also detected.

CONCLUSIONS

Our findings showed that ATO induced CRBN mRNA and Nrf2 mRNA levels in SKM-1 and MDS-L cell lines and potentiated sensitivity of these cells to LEN and to combinations of LEN with EPO and prednisone. We speculate that one of the mechanism of ATO action is a generation of reactive oxygen species (ROS) and oxidative stress responses which induce expression of transcription factor Nrf2. This transcription factor stimulates CRBN mRNA expression. LEN is an immunomodulatory drug and therefore *in vitro* studies are not sufficient. Further *in vivo studies* are required to study the effect of ATO and its combinations with LEN, EPO and prednisone.

This work was supported by the research project for conceptual development of research organization (00023736; IHBT, Prague, Czech Republic) and Grant Agency of Charles University, project number 924616.

β -CATENIN-TCF/LEF SIGNALING PROMOTES STEADY-STATE AND EMERGENCY GRANULOPOIESIS THROUGH G-CSF RECEPTOR UPREGULATION

Danek P.¹, Kardosova M.¹, Janeckova L.², Korinek V.², Benoukraf T.³, Tenen D.G.⁴, Alberich-Jorda M.^{1,5}

¹Laboratory of Hemato-oncology, Institute of Molecular Genetics of the CAS, Prague, Czech Republic

²Laboratory of Cell and Developmental Biology, Institute of Molecular Genetics of the CAS, Prague, Czech Republic

³Craig L. Dobbin Genetics Research Centre, Faculty of Medicine, Memorial university of Newfoundland, Canada

⁴Cancer Science Institute of Singapore, National University of Singapore, Singapore

⁵Childhood Leukemia Investigation Prague, Department of Pediatric Hematology and Oncology, 2nd Faculty of Medicine, Charles University

The canonical Wnt signaling pathway is mediated by interaction of β -catenin with the Tcf/Lef transcription factors and subsequent transcriptional activation of Wnt-target genes. This pathway acts as an essential regulator of differentiation and cell fate decisions in various tissues. In the hematopoietic system, the function of the pathway has been investigated mainly by genetic manipulation of β -catenin. However, this approach does not allow to discriminate between Tcf/Lef dependent or independent β -catenin activity.

In order to specifically identify the function of β -catenin-Tcf/Lef signaling in hematopoietic cells, we employed a transgenic mouse model expressing a truncated dominant negative form of the human TCF4 transcription factor (dnTCF4). dnTCF4 abrogates activation of Wnt target genes, even when β -catenin is stabilized and translocated into the nucleus. In our model, expression of the truncated protein, lacking the β -catenin binding domain, is activated from the *Rosa26* locus only in cells producing Cre recombinase (driven by Vav-iCre promotor). Importantly, all components of Wnt signaling, including endogenous Tcf/Lef proteins and β -catenin, are intact in Cre-expressing cells.

We observed that dnTCF4 transgenic mice have reduced numbers of granulocytes together with accumulation of short-term hematopoietic stem cells (ST-HSC) and common myeloid progenitors (CMPs) in bone marrow. Accordingly, dnTCF4-expressing bone marrow consistently showed a block of granulocytic differentiation and retention of an immature phenotype in colony forming assays. This differentiation arrest and accumulation of immature cells was also observed when wild type cells were cultured in semi-solid medium in the presence of a cell-penetrating peptide that disrupts β -catenin-Tcf/Lef interaction. Together, these results indicate that disruption of the β -catenin/Tcf-Lef interaction, either by genetic manipulation or a drug based approach, alters steady-state hematopoiesis. To identify a mechanism through which β -catenin-Tcf/Lef signaling affects granulopoiesis, wild type and dnTCF4 expressing ST-HSCs were subjected to RNA sequencing. Several genes related to myeloid development were differentially expressed in dnTCF4 expressing cells, including downregulation of *Csf3r*, the gene encoding for the G-CSF receptor. Publicly

available datasets from ChIP-seq experiments on human cell lines confirmed TCF4 enrichment in the distal promoter of the *CSF3R* gene, suggesting that *CSF3R* is directly regulated by canonical Wnt signaling. Using flow cytometry we verified reduced levels of G-CSF receptor on the cell surface of dnTCF4 progenitor cells, and attenuation of downstream Stat3 phosphorylation after G-CSF treatment. Finally, when grown in the presence of G-CSF, dnTCF4-expressing bone marrow cells showed impaired differentiation abilities and reduced granulocytic counts compared to wild type bone marrow cells. These results encouraged us to investigate the role of the β -catenin-Tcf/Lef signaling pathway during emergency granulopoiesis by challenging mice with lipopolysaccharide (LPS). Remarkably, dnTCF4 mice showed defects upon LPS stimulation, and completely failed to maintain and expand myeloid progenitor populations, a critical step during emergency granulopoiesis. Altogether, we showed that β -catenin-Tcf/Lef signaling axis is crucial for proper differentiation of myeloid progenitors into granulocytes in steady-state and emergency granulopoiesis. Mechanistically, we demonstrated that the β -catenin-Tcf/Lef interaction controls expression of genes involved in myeloid differentiation, and directly enhances expression of the G-CSF receptor, a crucial molecule for proper development of granulocytes.

Support: GA CR 17-02177S, GA UK 1278217, EHA Research Mobility Grant

NENÁDOROVÁ HEMATOLOGIE

(Postery P29 – P31)

P29

→ ABSTRAKT Č. 006 STR. 88

FUNCTIONAL TESTING OF GENE VARIANTS IN INHERITED THROMBOCYTOPENIAS

Skalníková M.^{1,2}, Kozubík S.^{1,2}, Pešová M.², Vrzalová Z.^{1,2}, Trizuljak J.^{1,2}, Radová L.², Pospíšilová Š.^{1,2}, Doubek M.^{1,2}

¹Department of Internal Medicine, Hematology and Oncology, University Hospital Brno, Czech Republic;

²Central European Institute of Technology (CEITEC), Masaryk University, Brno, Czech Republic

Inherited thrombocytopenias (IT) are a heterogeneous group of familial haematopoietic disorders (FHD). To date more than 40 genes have been associated with IT. The determination of a correct diagnosis is essential for specialized care, therapy, and risk assessment for the offspring of affected IT patients.

IT is routinely detected by blood-examinations. Commonly used methods (e.g. platelets morphology) do not have to determine the exact type of IT. Some IT patients can be misdiagnosed with immune thrombocytopenia. However spontaneous or lifethreatening bleeding usually does not occur. Some pathogenic variants for IT predispose patients to cancer, deafness, and other medical conditions.

Using high-throughput genomic technologies of massive parallel sequencing (MPS), many variants in genes responsible for the IT phenotype have been identified (Savoia A, 2016). If a novel variant with uncertain significance (VUS) is detected, functional testing are necessary to determine its phenotypic effect. The interpretation of rare genetic VUSs, which are often characterized as unique and family-specific is very important in human molecular genetics (Jensen T.I. *et al*, 2019).

The aim of our study was to investigate germline gene variants leading to the development of IT by modern genomic methods (whole exome sequencing, *in silico* prediction). It is of significant importance to determine the impact of VUSs on a patient's phenotype. Our research utilised *in vitro* models in mammalian/human cell lines together with microscopic and proteomic assays.

We recently identified the novel VUS in *GP1BA* gene in a family with an inherited autosomal dominant (AD) macrothrombocytopenia, a monoallelic Bernard Soulier Syndrome (BSS). The big major significance of this finding is that BSS can be distinguished from idiopathic thrombocytopenic purpura. Using proteomic assays we have verified the known and novel interacting partners of wild-type and mutant variants of the *GP1BA* protein expressed in the mammalian cell line.

Furthermore, we have revealed a novel VUS in the *CYCS* gene in an inherited AD thrombocytopenia segregating with affected family members. The detected variant was not

found in the population databases. The structural effect of sequence variant of the CYCS gene p.(Thr20Ile) was analysed using *in silico* prediction to be possibly damaging. To date, only four families with CYCS-related thrombocytopenia have been described worldwide. Using microscopic assays we have verified the causality of the CYCS-variant on cell phenotype.

We believe that the novel identification of VUSs of genes could set up more appropriate care and treatment of IT patients and predict complications associated with germline IT variants (e.g. malignancies). Functional testing of gene variants has helped to verify of their causality.

References: Savoia A. Clin Genet 89: 154-162 (2016)

Jensen T.I. et al. Br J Haematol. 185: 821-835 (2019)

Supported by Ministry of Health of the Czech Republic, grant No.16-29447A.

P31

OPTIMÁLNÍ VÝBĚR JEDNOTEK PRO MĚŘENÍ D-DIMERŮ V PLAZMĚ

Mašková V., Landová L., Bohoněk M.

Oddělení hematologie a krevní transfuze, Ústřední vojenská nemocnice - Vojenská fakultní nemocnice

Úvod

D-dimery jsou bílkovinné fragmenty obsahující specifický antigen. Řadí se mezi tzv. fibrin degradační produkty (FDP), které vznikají štěpením nerozpustného zesítěvaného fibrinu v krevní sraženině tj. fibrinolýzou nebo též při sekundárním odbourávání D-dimerů. Měření koncentrace D-dimerů je důležitým nástrojem pro laboratorní diagnostiku trombózy, plicní embólie, diseminované intravaskulární koagulopatie, dále slouží k monitorování antitrombotické léčby.

Cíl a metody

Ověřit nebo upřesnit často uváděný vztah, že: 1 FEU je přibližně 2 Ddimerové jednotky. Během studie jsme porovnali výsledky měření plazmatických koncentrací D-dimerů ve dvou jednotkách – mg/l DDim a v mg/l FEU (fibrinogen ekvivalentní jednotky) a to pomocí dvou diagnostických souprav Instrumentation Laboratory (IL): rutinně používané soupravy v mg/l DDim (Hemosil® D-Dimer HS) a soupravy s kalibrací v mg/l FEU (Hemosil® D-Dimer HS 500). Vzorky byly změřeny metodou LIA-Latex Imuno Assay (imunoturbidimetrie) na automatickém koagulometru ACL TOP 550 (IL –Werfen).

Výsledky

Bylo provedeno paralelní měření koncentrace D-dimerů LIA u 65 vzorků plazmy standardního vzhledu vysoce citlivými soupravami D-dimer HS a D-dimer HS 500 Hemosil Instrumentation Laboratory. Následně byl vypočten korelační koeficient $R^2 = 0,9894$. Průměrná koncentrace

ze všech měření byla 0,524 mg/l DDim a ve fibrinových ekvivalentních jednotkách 1,598 mg/l FEU. Ze statistického zpracování pomocí lineární regrese a za použití Studentova T-párového testu vyplývá, že vztah mezi oběma jednotkami vychází trojnásobný.

Závěr

Výsledný vztah mezi jednotkami mg/l DDim a mg/l FEU jednotkami leží v intervalu 2,5–4 násobku. Nemusí tedy vždy platit, že: 1 FEU odpovídá přibližně 2 Ddimerovým jednotkám. Vzhledem ke shodě při kvalitativním porovnání výsledků oběma soupravami je obecně udávaný referenční interval normálních hodnot pro dospělé od 18 roku do 50 let plně vyhovující: 0 - 0,500 mg/l FEU. Pro pacienty nad 50 let věku až do 80 let je při měření v mg/l FEU velmi vhodné zavedení tzv. modifikovaného cut - off pro vyloučení falešně pozitivních výsledků: věk pacienta x 0,01 = mg/l FEU.

Dle již dříve publikovaného článku: DYR, J. E. 2006: Sborník příspěvků ke konferenci XI. Česko-slovenská konference laboratorní hematologie: Co stanovují testy na DDimer? Hradec Králové. ISBN 80-86780-29-5 je klíčová odpověď na časté a živé dotazy, v jakých jednotkách D-Dimery ideálně měřit následující : „Je zřejmé, že velká část fibrinogenových molekul, které jsou konvertovány do fibrinu není kompletně degradována na D-dimer. Proto je vhodnější vyjadřovat množství stanovovaného Ddimeru v ng/mL a ne v různých tzv. fibrinogenových ekvivalentních jednotkách“.

OŠETŘOVATELSKÝ PROGRAM

(Abstrakty S01 – S09)

Mlatečková L.

VFN Praha

Hematoonkologie je jedním z nejdynamičtěji se rozvíjejícím oborem medicíny. S novými diagnostickými a terapeutickými postupy se zvyšují nároky na kvalitu a bezpečí poskytovaných zdravotních služeb a tím stoupají i nároky na zdravotnický personál – jejich kvalifikaci a odbornost, počet ošetrovatelského personálu.

Kvalita poskytnuté zdravotní péče a služeb je očima pacienta hodnocena zejména v oblasti tzv. měkkých ukazatelů. Pacienti nejvíce oceňují způsob komunikace, přátelské a zdvořilé chování, zájem personálu, čas strávený s pacientem, informovanost a úroveň hotelových služeb (prostředí, strava, vybavení pokoje).

Poskytování zdravotních služeb je jednou z nejvíce rizikových činností.

Více než 70 % všech činností NLZP v péči o hematoonkologického pacienta je vysoce specializovaných a klade nároky na dodržování stanovených norem a pravidel při podávání léčivých a transfuzních přípravků, chemoterapie, péči o pacienty po transplantacích krvetvorných buněk a o pacienty imunokompromitované, péči o spektrum invazivních vstupů, asistenci a péči před a po řadě diagnostických výkonů, při vedení zdravotnické dokumentace, které musí být pravdivé a průkazné.

Uvedené odborné a specializované činnosti se prolínají s poskytováním základní ošetrovatelské péče a kladou tak nemalé nároky na NLZP, kteří je vykonávají.

Výsledek v oblasti poskytování zdravotních služeb není predikovatelný na rozdíl od poskytovaných služeb v jiných oborech, např. autoservis. Kvalita je významně ovlivněna lidským faktorem a vznikem možného pochybení z různých důvodů – únavy, nedodržení kontrolních mechanismů a stanovených pravidel, automatismus při vykonávání činností, apod.

Důsledkem může být poškození pacienta a/nebo osoby blízké, personálu, způsobení škody na majetku nemocnice a v neposlední řadě může být poškozeno i jméno a reputace poskytovatele zdravotních služeb.

Klíčovou je péče a zacílení na personál.

Spokojený zdravotnický pracovník kvalitní a bezpečné poskytování služeb spokojený pacient a jeho blízcí.

Bičkošová M., Zabloudivá Z.

Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

S podáváním krevních derivátů se na našem pracovišti setkáváme denně. Proto je naším cílem jejich bezpečné podávání. Naši přednášku jsme rozdělili do pěti částí.

První částí je stručný úvod do problematiky, kde jsou popsány používané transfuzní přípravky, jejich specifika a ošetření.

Druhá část je zaměřena na samotné podání transfuzních přípravků, tak aby celý proces proběhl bez komplikací.

Ve třetí části se zabýváme aplikací a specifiky u hematologických pacientů a to především u pacientů po transplantaci kostní dřeně.

Čtvrtá část popisuje nejčastější potransfuzní komplikace, se kterými se na našem pracovišti setkáváme.

Poslední pátá část je závěrečné shrnutí našich poznatků – zkušeností.

S03

JE OCHRANA PERSONÁLU PŘI PODÁVÁNÍ CYTOSTATIK DOSTATEČNĚ BEZPEČNÁ?

Straková K., Hrabánková D.

I. Interní klinika, klinika hematologie, VFN Praha

Cytostatika jsou látky, které se používají k léčbě nádorových onemocnění a hemoblastóz. Jejich účinkem je zastavení růstu nádorových buněk. Tento efekt je nespecifický, takže postihuje i zdravé buňky. Ačkoli u nemocných pacientů potenciální léčebné přínosy cytotoxických léčiv převažují nad riziky vedlejších účinků, zdravotničtí pracovníci vystavení expozici těchto léčiv mohou čelit nepříznivým vedlejším účinkům bez jakéhokoli léčebného přínosu.

Zdravotní riziko pro zdravotnický personál, který s těmito léčivými zachází, je předmětem hlavního zájmu, protože tyto látky jsou klasifikovány nejen jako potenciálně karcinogenní, ale také jako mutagenní nebo toxické pro reprodukci.

V rámci EU bylo dobře zdokumentováno, že zdravotničtí pracovníci, kteří zacházejí s cytotoxickými léčivými, jsou v případě neadekvátních opatření na kontrolu vystavení potenciálnímu riziku vyplývajícímu z expozice.

VFN Praha se přihlásila do projektu Masarykovy university „Cytoprojekt“ jejímž cílem bylo dlouhodobě upozorňovat na rizika kontaminace zdravotnického prostoru využívaného k aplikaci cytostatik. Monitoring probíhal na třech nejrizikovějších místech – v sesterně na pracovní ploše(příprava), v aplikační místnosti pod infúzním stojanem (aplikace) a v sanitární místnosti (likvidace).

V současnosti nemá česká legislativa ukotvena jasná pravidla pro bezpečnou aplikaci. Vychází se z NV 361/2007Sb. „Podmínky ochrany zdraví při práci“, která je určena pouze pro přípravu cytostatik v lékárnách a to za přísně aseptických podmínek v tzv. izolátorech (biohazardech), které jsou umístěny v prostoru s kontrolovaným stupněm čistoty. Pro aplikující personál jsou určeny pouze rukavice popř. ústenka.

Na základě výše uvedeného je cílem sdělení seznámit posluchače s přehledem opatření v rámci VFN Praha, která vedou k minimalizaci profesní zátěže zdravotnických pracovníků, přicházejících do styku s cytostatickými léčivými.

BEZPEČNÁ OŠETŘOVATELSKÁ PÉČE O PACIENTA LÉČENÉHO CAR – T BUNĚKAMI

Vydrželová E., Vymazalová J., Procházková J., Vránová J., Kouřilová P.

Interní hematologická a onkologická klinika, FN Brno

Úvod:

Léčba CAR-T buňkami je jednou z nejnovějších možností terapie pacientů s relabujícími lymfomy nebo pacientů s akutní lymfoblastickou leukémií omezených věkovou hranicí do 25 let. Na našem pracovišti byla zmiňovaná léčba zavedena od listopadu roku 2019. Léčebný proces spočívá v separaci vlastních T-lymfocytů pacienta, které se následně geneticky modifikují a poté se pacientovi vrací zpět formou intravenózní infuze.

Metodika:

První úloha všeobecné sestry v bezpečné ošetrovatelské péči o pacienty léčené touto metodou, spočívá v přichystání předepsaných pomůcek k vlastní aplikaci vaku, včetně aseptické přípravy sterilního stolku. Během aplikace CAR – T buněk sestra průběžně měří fyziologické funkce a sleduje celkový stav pacienta. V průběhu celé hospitalizace je důležitým úkolem sestry rozpoznání nežádoucích účinků. Ošetřující personál tedy musí znát příznaky několika potencionálně závažných komplikací, které velmi často doprovázejí tento druh léčby.

Závěr:

Cílem naší přednášky je seznámit odbornou veřejnost s nově zavedenou léčbou a s možnými komplikacemi v průběhu celého léčebného procesu. A díky získaným informacím zajistit bezpečnou ošetrovatelskou péči o daného pacienta a tím minimalizovat život ohrožující komplikace.

PROŽILI JSME MIMOŘÁDNOU UDÁLOST - CO NÁM DALA, CO NÁM VZALA?

Svobodová K., Turková L.

Interní hematologická klinika, FN Královské Vinohrady, Praha

Mimořádnou událostí se rozumí škodlivé působení sil a jevů vyvolaných činností člověka, přírodními vlivy, a také havárie, které ohrožují život, zdraví, majetek nebo životní prostředí a vyžadují provedení záchranných a likvidačních prací. Obecně lze za mimořádnou událost považovat náhlou závažnou událost, která způsobila narušení stability systému s možným ohrožením jeho bezpečnosti nebo existence. O těchto událostech většinou jen čteme v denním tisku, na internetu či slyšíme z médií a nepřejeme si, aby se nás také týkaly. Mnohdy si možná i řekneme, že u nás by se toto stát nemohlo. Co se ale stane v momentě, kdy se nás mimořádná situace bezprostředně týká, popřípadě se stane na oddělení, na kterém právě sloužíme noční směnu? Tato zkušenost generuje spoustu otázek, jako např.: Dokážeme se v takovéto situaci bránit? Víme co dělat? Chceme ještě na takovém místě dále

pracovat? Dá se vůbec popsat, co jsme právě prožili, co prožili pacienti a jejich rodiny? Lze si vůbec představit, že na místě, kam se pacient obrací s důvěrou a prosbou o vyléčení, či zlepšení zdravotního stavu, umře pacient rukou jiného pacienta?

S06

BEZPEČNOST PACIENTŮ V KLINICKÉM ZKOUŠENÍ POHLEDEM STUDIJNÍ SESTRY

Kajaba V.^{1,2}, Lamačová R.², Labudíková M.¹, Papajík T.¹

¹*Hemato-onkologická klinika FN a LF UP v Olomouci;*

²*Oddělení vědy a výzkumu FN Olomouc*

Klinická hodnocení nových léčiv (někdy hovoříme o klinických studiích či testování nových léků) jsou součástí palety moderní léčby a výzkumných aktivit nejen hematoonkologických center. Klinické studie probíhají na pracovištích v různých fázích testování léčivého přípravku (LP). Fáze I-IV jsou specifické svým zaměřením, počtem zařazených pacientů a náročností samotného průběhu testování LP. Obecně lze říci, že cílem je ověřit účinnost a bezpečnost nového LP v rámci přesně definované cílové skupiny pacientů. Časné fáze klinických studií se zaměřují na bezpečnost a dávkování nového léčiva, pozdější fáze zkoušení na léčebnou odpověď a případné nežádoucí účinky. Klinická hodnocení vč. vývoje trvají i více než 10 let do registrace léčiva a náklady na výzkum jednoho nového léčiva a jeho zavedení do praxe se odhadují dnes kolem 30 mld. Kč. Pouze malá část vyvíjených preparátů se nakonec objeví v praxi a splní požadavky, které jsou na něj kladeny – farmakologická aktivita a účinnost, nízká toxicita ad. Registraci léčiva proces nekončí a probíhá dlouhodobé sledování případných nežádoucích účinků (fáze IV zkoušení).

Pozice sestry v klinických studiích má svá specifika a její kompetence jsou přesně definovány. Všeobecná sestra svými kompetencemi v rámci své náplně práce působí v roli koordinátorky (study co-ordinator), manažerky (data manager) či studijní sestry (study nurse). Tyto role se mohou, ale nemusí prolínat a praxe ukazuje, že přístup pracovišť v rámci ČR se v tomto liší. Pacient je sledován v rámci studie přesně definovaným systémem kontrol v rámci protokolu studie – ať už četností převážně ambulantních kontrol, tak specifickými odběry, zobrazovacími vyšetřeními, sledováním v průběhu aplikace studijního léčiva. To s sebou přináší větší časovou náročnost, nárůst diagnosticko-laboratorních vyšetření. V tomto procesu je zcela zásadní role studijní sestry. Případné nežádoucí účinky jsou neprodleně hlášeny zadavateli studie a dále dalším autoritám, jež dohlíží na správnou klinickou praxi v průběhu hodnocení (SÚKL, Etická komise, oddělení farmakovigilance zadavatele, smluvní výzkumná organizace (CRO), léková agentura (EMA, FDA).

Prezentace ukazuje náhled na klinická zkoušení z pozice studijního koordinátora, nákladovost zkoušení, zapojení do zdravotnického týmu v rámci studie, zkušenosti z denní praxe a některá úskalí, jež v sobě testování nových léčiv nese. Klinické studie jsou dnes standardní součástí náplní hematoonkologických pracovišť a přináší pacientům možnost se dostat k moderní léčbě nadějným lékem před jeho zavedením do praxe. Zdravotnickým zařízením bezpochyby

umožňují se zapojit do mezinárodních projektů a výzkumů, získat přednostně zkušenosti s novými léky a v neposlední řadě ze studií profitují i ekonomicky (úhrada moderní léčby vč. vyšetření zadavatelem).

S07

BEZPEČNÁ PÉČE O DLOUHODOBÉ CENTRÁLNÍ ŽILNÍ KATÉTRY U DĚTÍ PO TRANSPLANTACI KRVETVORNÝCH BUNĚK V DOMÁCÍM PROSTŘEDÍ

Nagyová B., Čepeláková V., Keslová P.

Klinika dětské hematologie a onkologie FN Motol a 2. lékařská fakulta UK v Praze

Centrální žilní vstup je typ venózního přístupu zavedením katétru do velké žíly.

Centrální žilní katétr (cžk) se zavádí z různých terapeutických důvodů na naší klinice převážně z důvodů chemoterapie, parenterální výživy, objemové terapie, eliminačních metod, monitorování centrálního žilního tlaku, substituční terapie.

Na naší klinice mají dlouhodobý cžk všichni pacienti v intenzivní léčbě. Používáme tunelizované katétry s manžetou (typ Hickmann, Broviac), Implantofix (port-a-cath), periferně zavedený cžk (PICC).

Rodiče všech pacientů po transplantaci krvetvorných buněk (Tx) jsou zaučeni v ošetřování a sterilním převazu vstupu cžk a s tím spojených možných komplikací. Vše v souladu s Metodickým pokynem náměstka pro ošetrovatelskou péči č. IIMP-NOP 27/2005-7 FNM a vnitřním předpisem naší kliniky.

Část pacientů potřebuje cžk po dobu několika měsíců až několika let. Důvodem jsou potransplantační komplikace. K zaučení rodinného příslušníka v proplachu cžk přistupujeme po pečlivé úvaze ošetřujícího lékaře, domluvě s rodiči eventuálně zvážení jiných možností (proplach v místě bydliště zdravotnickým zařízením).

Při zaučování klademe zásadní důraz na hygienu rukou, sterilní přípravu pomůcek a antiseptický postup při výkonu. Rodiče jsou poučeni o možných krátkodobých i dlouhodobých komplikacích při a po proplachu katétru – porucha integrity linky cžk, vzduchová embolie, sepse atp. Závlek probíhá při pravidelných ambulantních kontrolách a to tak dlouho, až si zdravotnický personál a zaučovaný rodič jsou jisti v bezpečném zaškolení a praktickém zvládnutí daných postupů. Na závěr procesu zaškolení sestra a zaučovaný rodič podepíše formulář „Informační a edukační záznam“. K převazům i proplachům cžk dostávají rodiče z našeho pracoviště potřebný materiál, abychom zajistili zachování správného bezpečného postupu.

Naše mnohaleté zkušenosti nám ukázaly, že správně zaškolený a edukovaný rodič zvládne bezpečnou antiseptickou péči o cžk v domácím prostředí a není zvýšeným rizikem pro našeho pacienta – vlastní dítě.

NAŠE ZKUŠENOSTI S PICC U PACIENTŮ PODSTUPUJÍCÍCH TRANSPLANTACI KRVETVORNÝCH BUNĚK

Marxová M., Kabátová Maxová K., Karas M., kolektiv sester Alogenní JIP FN Plzeň

Hematologicko-onkologické oddělení, Alogenní JIP, Fakultní nemocnice Plzeň

Zajištění spolehlivého žilního přístupu centrálního řečiště patří k základním neodkladným výkonům u pacientů podstupujících transplantaci krvetvorných buněk. Dlouhodobě naše oddělení využívalo k zajištění kvalitního přístupu obvykle víceluminální centrální žilní katétr (CŽK) zavedený cestou podklíčkové žíly. Na základě nových poznatků přicházejících hlavně ze zahraničí jsme se v rámci samotné transplantace pokusili u části pacientů využívat v období transplantace periferní implantovaný centrální žilní katétr (PICC), který zajišťuje střednědobý přístup do centrálního žilního řečiště s možností jeho využití jak v léčbě pacienta před transplantací, tak i v následné potransplantační ambulantní dispenzarizaci. Tento katétr může být zaveden až jeden rok a lze jej využít k intravenózní aplikaci léků a transfuzní přípravků a současně i k pravidelným odběrům krve. Indikace k zavedení PICC je aplikace dlouhodobé chemoterapie, opakované podávání krevních přípravků a derivátů, dlouhodobá aplikace parenterální výživy, antibiotická a intravenózní terapie, aplikace analgetik a jiné medikace při současném neuspokojivém stavu periferního žilního řečiště u pacientů. Všechny výše uvedené kritéria pacienti plánovaní k transplantaci krvetvorných buněk splňují. K ověření možnosti využití PICC u pacientů podstupujících alogenní transplantaci krvetvorných buněk na našem pracovišti jsme se rozhodli prospektivně monitorovat výhody či naopak limitace tohoto přístupu a současně jsme se snažili tato zjištění srovnat s pacienty, kteří měli zaveden klasický CŽK. V tomto sdělení chceme prezentovat naše první výsledky.

Ve studii je zatím zařazeno 22 pacientů, kteří podstoupili transplantaci krvetvorných buněk, z toho 12 pacientů s CŽK a 10 pacientů se zavedeným PICC. V rámci naší monitorace byl sledován výskyt infekcí, délka antibiotické terapie, lokální komplikace v místě zavedeného katétru, četnost převazů, průchodnost katétru, délka aplikace transfuzních přípravků, kvalita odběrů a krevních vzorků k vyšetření a možnost využití katétru z hlediska dlouhodobé hospitalizace a následné ambulantní péče.

Lze konstatovat, že naše předběžné výsledky ukazují na srovnatelné množství infekčních komplikací včetně pozitivních hemokultivací v obou sledovaných skupinách, což zahrnuje i nutnost a délku intravenózní antibiotické léčby. Podobně nutnost odstranění zavedeného katétru byla v obou skupinách srovnatelná. V rámci skupiny pacientů se zavedeným PICC jsme zaznamenali nižší množství lokálních komplikací v místě zavedení katétru včetně nižší nutnosti jeho převazu. Naopak ve skupině se zavedeným PICC jsme častěji zaznamenali obtíže s průchodností některé z linek katétru, kterou jsme nicméně úspěšně vyřešili trombolýzou. Podobně jsme ve skupině se zavedeným PICC zaznamenali u části pacientů prodloužení doby aplikace transfuzních přípravků. S mediánem 6 měsíců (2-9 měsíců) jsme mohli PICC katétr nadále využívat u pacientů v další ambulantní dispenzarizaci a léčbě. Detailní výsledky budou součástí naší prezentace.

Na našem zatím malém souboru pacientů se zavedeným PICC v období alogenní transplantace lze konstatovat, že PICC lze využít v péči o transplantované pacienty včetně následné ambulantní péče. Ve srovnání s klasickým CŽK má využití PICC některé výhody a na druhé straně i své limity.

K jejich bližšímu hodnocení však bude možno přistoupit až po zařazení dalších pacientů do naší studie.

S09

SPECIFIKA PSYCHICKÉ ZÁTĚŽE SESTER NA HEMATOONKOLOGII

Koňářík M.

Klinika hematatoonkologie, FN Ostrava

Psychická zátěž patří u pomáhajících profesí k jednomu z nejvýznamnějších faktorů, který může velmi negativně ovlivnit psychickou pohodu i zdraví pracovníků. Nejvýrazněji působí na sestry pracující s onkologicky nemocnými pacienty, tedy pacienty, jejichž onemocnění může skončit (a často končí) smrtí. Hematoonkologický pacient je specifický tím, že se na oddělení vrací i několikrát měsíčně, a to i řadu let. Logicky pak vzniká chťe nechtě určitý druh "trvalého vztahu" mezi pacientem a sestrou.

Problematicku je nutno chápat z dvojího úhlu. Na jedné straně je pacient a jeho specifika (nově diagnostikovaná choroba, chronicky léčený, terminální, v remisi, s relapsem atp.), či prožívání jednotlivých fází přijímání nemoci. Pacient má rovněž svou osobnost a potřeby, které se během nemoci dramaticky mění. Na druhé straně je pečující sestra a její psychická, emoční a sociální vyspělost a její osobnost.

Každá sociální interakce s sebou přináší reakci. Ta může být pozitivní, neutrální, ale i velmi negativní. Dochází k navázání milých, až přátelských vztahů, ale objevují se i situace konfliktní a vyhrocené, na které je nutno adekvátně reagovat a řešit je. Je nezbytné, aby sestry znaly specifické potřeby a typologii hematoonkologických pacientů, dovedly reagovat a správně je naplňovat. Zároveň je nutností znát potřeby a specifika psychické zátěže sester, aby bylo možné včas odhalit počínající psychické problémy a nejlépe jim předejít úplně. Příspěvek si klade za cíl vymezit psychologickou typologii hematoonkologických pacientů a jejich specifické potřeby, a na příkladech z praxe ilustrovat možné nastalé situace, možnosti jejich zvládnutí a řešení vzniklých problémů. Nedílnou složkou této problematiky je podpora a péče o pečující personál, tedy sestry, ale i ošetrovatelky a sanitáře.

ABECEDNÍ REJSTŘÍK AUTORŮ

Vysvětlivky: E = edukační sdělení P = posterová sdělení
O = ústní sdělení S = ošetrovatelská sdělení

Adesanya R.A.	P17	Cudova B.	O08
Advani R.	O11	Czuczman M.	O09
Albeer A.	O05	Čemusová B.	P26
Alberich-Jorda M.	P28	Čepeláková V.	S07
Alejo O.	O04	Čermák J.	E10, P16, P21, P27
Alpdogan O.	O11	Čulen M.	P19
Alquézar-Artieda N.	O10	Čuřík N.	P22
Andrlík M.	P10	Daněk P.	P28, O04
Azarnia N.	P17	Darzentas N.	O02, P09
Bacovsky J.	O12	Dědečková K.	P10
Bakardjieva M.	P22	Dengler J.	O05
Bartek J.	P14	Díez-Campelo M.	P17
Belada D.	O07, P06	Dlouhá J.	P06
Beličková M.	P16, P21	Domingo-Domenech E.	O11
Bělohávková P.	P23, O05	Dostálová Merkerová M.	P16, P21
Benešová A.	P24, P15, P25	Doubek M.	E07, O06, P08, P29, P23, P30
Benešová K.	P06	Žuraš J.	P06, P07
Benkova K.	P07	Dusilkova N.	O03
Benoukraf T.	P28	Dvořáčková B.	P08
Bičkošová M.	S02	Ernst T.	P15
Bohoněk M.	P31	Fabarius A.	O05
Bokorova R.	P14, P27	Faber E.	O05, P23
Boris T.	O07	Fend F.	O07
Brokesova D.	O01	Fenton K.	O11
Brozova L.	O12	Filip D.	O07
Brümmendorf T.	O05	Folber F.	P23
Brychtová Y.	P08	Folta A.	P18
Březinová J.	P22	Fowler N. H.	O09
Bunn V.	O11	Froňková E.	O02
Burda P.	P22	Fuchs O.	P27, P14
Burchert A.	O05	Fustier P.	O09
Bystry V.	O07	Gahérová L.	P10
Campr V.	P06	Gahura O.	O04
Capkova L.	O12	Gambacorti-Passerini C.	O07
Cetkovský P.	P26	Garcia-Manero G.	P17
Cmunt E.	P23	Gribben J.	O09
Cross N.C.P.	P15		

Gumulec J.	P07
Hájek R.	E08, O12, P07
Hansen H.H.	O05
Heckl D.	O04
Heindorfer A.	O12
Hložková K.	O10, P04
Hodny Z.	P14
Hochhaus A.	P15, P24
Horáček J.	P23
Horwitz S.M.	O11
Hovorková L.	P15
Hrabánková D.	S03
Hradska K.	P07
Hrubá M.	P16, P21
Hrušák O.	O02
Hruštinová A.	P21
Hubackova S.	P14
Hynšt J.	P08, P09
Chrápavá M.	P23
Christensen J.H.	O11
Illidge T.	O11
Iyer S.	O11
Izutsu K.	O09
Janeckova L.	P28
Janíková A.	O07, P06
Jedrzejczak W.W	P17
Jelinek T.	O12, P07
Jelínková H.	P09
Ježíšková I.	P18
Jindra P.	E04, O12, P23
Jirkuvova A.	O08
Jonášová A.	E09, O03, P11, P14, P16, P17
Jungova A.	O12
Jurček T.	P15, P18
Kabátová Maxová K.	S08
Kajaba V.	S06
Kalambakas S.	O09
Kalina T.	P22
Kaliská L.	P10
Kamaradova K.	O07

Kanderová V.	O02, P22
Karas M.	S08
Kardosova M.	P28
Kellnerová R.	P23
Keslová P.	S07
Kessler P.	O12
Kislik G.	O03
Klamová H.	O05, P15, P23, P24, P25
Klener jr. P.	O08
Klusmann J-H.	O04
Koblihová J.	P25, P15, P22, P24
Koňařík M.	S09
Kopečková K.	P06
Korinek V.	P28
Koristek Z.	P07
Koritáková E.	P23
Kořístek Z.	P23
Kotašková J.	P08
Kouba M.	P10
Kouřilová P.	S04
Kozák T.	E12
Kozubik K.S.	O06, P30
Kramna L.	O02
Krejčík Z.	P21
Krhovska P.	O12
Kriegova E.	O08
Kubeš J.	P10
Kubešová B.	P18
Kulvait V.	O03
Kundrát D.	P16, P21
Kunzmann V.	O05
Kužilková D.	P22
Labudíková M.	S06
Lamačová R.	S06
Landová L.	P31
Larose H.	O07
Lauermannová M.	P16
Leonard J.P.	O09
Liang H.C.	O07
Little M.	O11
Lobello C.	O07, P02

Loja T.	P19	Nowakowski G.	O09
Luger S.M.	P17	O'Connor O.	O11
Lukeš jr. J.	O04, P13	Obr A.	O08, P01
Mahon F.X.	P15	Pál K.	P08, P09
Machalkova K.	O12	Panayiotidis P.	O05
Machová Poláková K.	O05, P12, P15, P22, P24, P25	Panovská A.	P08
Maisnar V.	O12	Papajík T.	O08, P06, S06
Malčíková J.	P08	Parris M.	P17
Manley T.	O11	Pavlicek P.	O12
Marečková A.	P09	Pavlová Š.	P08
Marková J.	P10	Pecherková P.	P15, P24
Marková M.	P26, P15, P25	Pesta M.	O03
Marxová M.	S08	Pešová M.	P30
Mašková V.	P31	Petrackova A.	O08
Mašlejová S.	P08	Pfirrmann M.	O05
Mayer J.	E02, O05, P08, P15, P18, P19	Pika T.	O12
Mejstříková E.	O02	Pirnos J.	P06
Merkel O.	O07	Plevová K.	P08, P09
Mihalyova J.	P07	Plonkova H.	O12, P07
Michalka J.	P06	Polackova H.	P14
Minarik L.	O03	Polívková V.	O05, P15, P22, P24, P25
Minařík J.	O12, P03	Popková T.	P07
Mistrík M.	O12	Pospíšilová D.	O01, O02
Mlatečková L.	S01	Pospíšilová Š.	O06, O07, P08, P09, P30
Mociková H.	P06, P10	Potuckova E.	O04
Mogni L.	O07	Pour L.	O12
Montes-Mojarro IA.	O07	Pro B.	O11
Morschhauser F.	O11	Procházka V.	E06, P06, O08
Motlová E.	P15	Procházková J.	S04
Moudra A.	P14	Prokoph N.	O07
Mráz M.	O07	Příbyl M.	P14
Mustjoki S.	O05	Pytlík R.	P06
Myslivcova D.	P27	Radocha J.	O12
Nagyová B.	S07	Radová L.	O06, O07, P30
Navratil M.	P07	Ransdorfová Š.	P22
Navrkalová V.	P09	Raska M.	O01
Němcová L.	P08	Raskova Kafkova L.	O01
Novak Z.	O01	Reigl T.	P09
Nováková L.	P26	Rejlová K.	P22
Nováková M.	O02, P05	Remešová H.	P20
		Richter J.	O05

Romžová M.	P19	Tobinai K.	O11
Rossi G.	O11	Trizuljak J.	O06, P30
Salaj P.	E11	Trka J.	E03, O02, O04, O10
Salovska B.	P14	Trněný M.	E05, O09, O11, O08, P06
Saussele S.	O05, P15	Trümper L.	O11
Savage K.J.	O11	Turková L.	S05
Sedlarikova L.	O08	Turner S.D.	O07
Sharma G.G.	O07	Ullrychova J.	O12
Shustov A.	O11	Urbankova H.	O08
Schaffartzikova A.	O03	Valcarcel D.	P17
Skacel T.	O12	Válková V.	P26
Skalníková M.	P30	Vancurova M.	P14
Skorupova M.	P07	Veselá J.	P16, P21
Smitalová D.	P19	Vítek A.	P26
Soverini S.	P24	Vlcanova K.	O05
Spiess B.	O05	Volejníková J.	O01
Srbová D.	P15, P24	Vondráček V.	P10
Starková J.	O04, O10	Vonková B.	P08
Starý J.	O02, O04	Votavová H.	P16
Stejskal L.	O12, P23	Vránová J.	S04
Stopka T.	O03, P14	Vrzalová Z.	O06, P30
Stork M.	O12	Vydra J.	P26
Straková K.	S03	Vydrželová E.	S04
Straub J.	O12	Vymazalová J.	S04
Stritesky J.	P14	Waller C.	O05
Suh C.	O11	Warlick E.D.	P17
Suková M.	O02	Woodman R.C.	P17
Svatoň M.	O02	Wu Ch.	O09
Svobodová K.	S05	Yuen S.	O11
Sykora M.	O12	Zabloudilová Z.	S02
Sýkorová A.	P06	Zapletalová S.	P10
Szikszai K.	P16, P21	Zemanová Z.	O03, O08, P16
Szotkowski T.	P23	Zhang J.	O09
Šálek C.	P20, P23	Zinzani P.L.	O09, O11
Šestáková Š.	P20	Zuchnicka J.	P07
Špička I.	O12	Zuna J.	O04, P15
Tenen D.G.	P28	Žáčková D.	O05, P15, P18, P23
Tennant A.D.	O10	Žák P.	E01
Thakker A.	O10	Žaliová M.	O04, O10
Thieblemont C.	O09	Ženatová M.	P08
Tichý B.	P08	Žižková H.	P15, P25

PLÁN PROSTOR A VÝSTAVY



Legenda k plánu výstavní plochy

- 1 Janssen-Cilag s.r.o.
- 2 Novartis s.r.o.
- 3 Gilead Sciences s.r.o.
- 4 Bristol-Myers Squibb spol. s r.o.
Celgene s.r.o. (A Bristol-Myers Squibb Company)
- 5 Pfizer PFE, spol. s r.o.
- 6 AbbVie s.r.o.
- 7 AOP Orphan Pharmaceuticals AG - organizační složka
- 8 Amgen s.r.o.
- 9 ROCHE s.r.o.
- 10 Angelini Pharma Česká republika s.r.o.
- 11 Sandoz s.r.o.
- 12 Takeda Pharmaceuticals Czech Republic s.r.o.
- 13 PharmaSwiss Česká republika s.r.o.
- 14 Octapharma CZ s.r.o.
- 15 Sysmex CZ s.r.o.
- 16 Abbott Laboratories, s.r.o.
- 17 Aspen Pharma Ireland Limited, organizační složka
- 18 Axon Lab spol. s r.o.
- 19 BIOMEDICA ČS, s.r.o.
- 20 Gedeon Richter ČR, s.r.o.
- 21 Grifols s.r.o.
- 22 sanofi-aventis, s.r.o.
- 23 medac GmbH - organizační složka
- 24 Swedish Orphan Biovitrum s.r.o.
- 25 CSL Behring s.r.o.
- 26 APTUM, a.s.
- 27 Swixx Biopharma s.r.o. / Alexion Pharmaceuticals, Inc.

PŘEHLED SPONZORŮ A VYSTAVOVATELŮ

Generální sponzor



Hlavní sponzor



Bristol-Myers Squibb



A Bristol-Myers Squibb Company



GILEAD

Advancing Therapeutics.
Improving Lives.



NOVARTIS



Sponzor



Vystavovatel

Abbott Laboratories, s.r.o. • APTUM, a.s.
Aspen Pharma Ireland Limited, organizační složka
Axon Lab spol. s r.o. • BIOMEDICA ČS, s.r.o. • CSL BEHRING s.r.o.
Gedeon Richter Marketing ČR, s.r.o. • Grifols s.r.o.
medac GmbH – organizační složka • Octapharma CZ s.r.o.
Pfizer PFE, spol. s r.o. • PharmaSwiss Česká republika s.r.o.
SYSMEX CZ s.r.o. • Swedish Orphan Biovitrum s.r.o.
Swixx Biopharma s.r.o. / Alexion Pharmaceuticals, Inc.

Mediální partneři



Všem sponzorům a vystavovatelům děkujeme za účast a podporu!