OBSAH

Úvodník • Editorial

–

Souhrnné práce • Původní práce • Kazuistiky

Dasatinib v 2. línii liečby chronickej myelocytovej leukémie u pacientov s rezistenciou alebo intoleranciou imatinibu na KHaT BA v rokoch 2007–2011 105
Dasatinib in second line treatment of chronic myeloid leukaemia in patients with imatinib resistance or intolerance treated at the Clinic of Haematology and Transfusiology, Bratislava between 2007 and 2011
Martišová M., Sninská Z., Hatalová A., Demečková E., Mistrík M.

Získaná aplastická anémie v dětském věku – dlouhodobé výsledky a rizika kombinované imunosupresivní léčby antithymocytárním globulinem a cyklosporinem A 112
Immunosuppressive therapy combining anti-thymocyte globulin and cyclosporine A in childhood acquired aplastic anaemia – long term-outcomes and risks
Suková M., Mejstříková E., Campr V., Vodičková E., Smíšek P., Keslová P., Sedláček P., Šrámková L., Vávra V., Pindurová E., Zemanová Z., Starý J.

Stanovení mimodřeňové leukemické infiltrace u dětské akutní lymfoblastické leukemie a jeho klinické využití. Přehledný článek a vlastní výsledky 124
Assessment of extramedullary leukemic infiltration in childhood acute lymphoblastic leukemia and its clinical use. Review and original data
Volejníková J., Mejstříková E., Slámová L., Mihál V., Štěrba J., Jabali Y., Procházková D., Blažek B., Hak J., Černá Z., Hrušák O., Starý J., Trka J., Froňková E.

Vzácny typ intestinálneho krvácania u pacienta s kolorektálnym karcinómom na antikoagulačnej liečbe 130
A rare case of intestinal bleeding in patient with colorectal carcinoma on anticoagulation treatment
Mýtnik M, Petrík J, Jedináková Z.

Doporučené postupy

–

Kongresy • Sympozia • Konference • Studijní pobyty

Kotouček P. Dr. Konrad Sigmund Rodan (Rosenberg) – významný anglický hematológ z Československa 135

Výběr z tisku a zprávy o knihách

Hrodek O. Risk factors for in-hospital venous thromboembolism in children: a case-control study employing diagnostic validation 137
Hrodek O. A phase 2 study of the safety, tolerability, and pharmacodynamics of FBS0701, a novel oral iron chelator, in transfusional iron overload 138
Hrodek O. Correlation of CD33 expression level with disease characteristics and response to gemtuzumab ozogamicin containing chemotherapy in childhood AML 139
Hrodek O. Incidence of neoplasia in Diamond Blackfan anemia: a report from the Diamond Blackfan Anemia Registry 140

Hrodek O. Reduced intensity conditioning is superior to nonmyeloablative conditioning for older chronic myelogenous leukemia patients undergoing hematopoietic cell transplant during the tyrosine kinase inhibitor era 141
Hrodek O. Excellent prognosis of late relapses of *ETV6/RUNX1*-positive childhood acute lymphoblastic leukemia: lessons from the FRALLE 93 protocol 142
Hrodek O. Abnormalities in IgA and IgM are associated with treatment-resistant ITP 143

Zprávy odborných společností

Turek P. Přehled produkce transfuzní služby ČR za rok 2011 144
Masopust J. Autotransfuze v České republice v roce 2011 145

Dopisy redakci • Diskuse

–

Osobní zprávy

Prof. MUDr. Mikuláš Hrubiško, DrSc., 95. výročí narození 148

Ostatní

–

TRANSFUZE A HEMATOLOGIE *dnes*

ČÍSLO 3 • ŘÍJEN • ROČNÍK 18/2012

VEDOUCÍ REDAKTOR

MUDr. Jiří Masopust
Transfuzní oddělení, Krajská zdravotní - Masarykova nemocnice, Ústí nad Labem

ZÁSTUPCE VEDOUCÍHO REDAKTORA

Doc. MUDr. Edgar Faber, CSc.
Hemato-onkologická klinika Fakultní nemocnice, Olomouc

REDAKCE

ZA SPOLEČNOST PRO TRANSFUZNÍ LÉKAŘSTVÍ
MUDr. Jiří Masopust – hlavní redaktor pro transfuzní lékařství
MUDr. Ivana Meluzínová
Hematologické a transfuzní oddělení Nemocnice Boskovice
MUDr. Martin Písačka
Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha
MUDr. Vít Řeháček
Transfuzní oddělení Fakultní nemocnice, Hradec Králové
MUDr. Petr Turek, CSc.
Transfuzní oddělení, Thomayerova nemocnice, Praha

ZA ČESKOU HEMATOLOGICKOU SPOLEČNOST
Doc. MUDr. Edgar Faber, CSc. – hlavní redaktor pro hematologii
Doc. MUDr. Jaroslav Čermák, CSc.
Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha
MUDr. Jan Haber – I. interní klinika 1. LF UK Praha a VFN
Doc. MUDr. Tomáš Kozák, Ph. D., MBA
Oddělení klinické hematologie Fakultní nemocnice Královské Vinohrady, Praha
Prof. MUDr. Jan Trka, Ph. D.
Laboratoř molekulární genetiky Kliniky dětské hematologie a onkologie Fakultní nemocnice Motol, Praha
Doc. MUDr. Pavel Žák, Ph. D.
Oddělení klinické hematologie FN, Hradec Králové

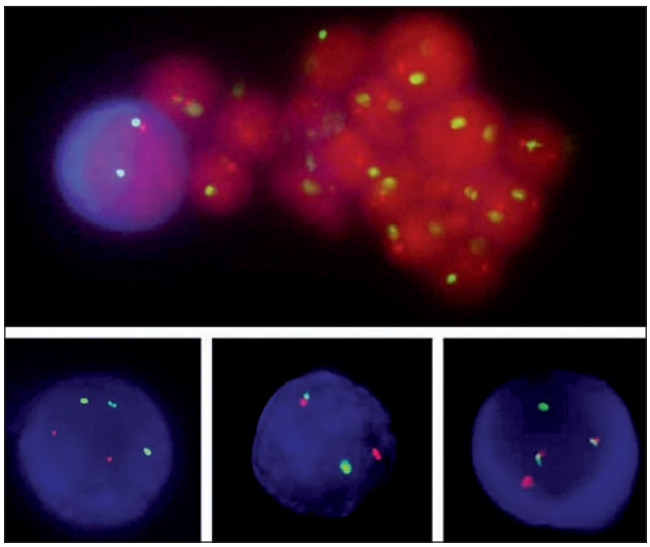
REDAKČNÍ RADA

ZA SPOLEČNOST PRO TRANSFUZNÍ LÉKAŘSTVÍ
MUDr. Petr Biedermann
Transfuzní oddělení Nemocnice České Budějovice
pplk. MUDr. Miloš Bohoněk, Ph.D.
odd. hematologie, biochemie a krevní transfuze
Ústřední vojenské nemocnice, Praha
MUDr. Zuzana Čermáková, Ph.D.
Krevní centrum Fakultní nemocnice, Ostrava
MUDr. Dana Galuszková, Ph.D., MBA
Transfuzní oddělení Fakultní nemocnice, Olomouc
doc. MUDr. Zdenka Gašová, CSc.
Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha
MUDr. Růžena Herynková
Transfuzní oddělení Fakultní nemocnice, Plzeň
MUDr. Jitka Kracíková
Transfuzní oddělení Fakultní nemocnice Královské Vinohrady, Praha
MUDr. Libuše Pagáčová
Autotransfuzní jednotka PLM Institutu klinické a experimentální medicíny, Praha
MUDr. Renata Procházková, Ph.D.
Transfuzní oddělení Krajské nemocnice, Liberec
MUDr. Eva Tesařová
Transfuzní oddělení a krevní banka Fakultní nemocnice, Brno

ZA ČESKOU HEMATOLOGICKOU SPOLEČNOST
Prof. MUDr. Petr Cetkovský, Ph. D., MBA
Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha
Prof. MUDr. Karel Indrák, DrSc.
Hemato-onkologická klinika Fakultní nemocnice, Olomouc
Prof. RNDr. Mgr. Marie Jarošová, CSc.
Hemato-onkologická klinika Fakultní nemocnice, Olomouc
Prof. MUDr. Pavel Klener, DrSc.
I. interní klinika 1. LF UK a VFN, Praha
MUDr. Vladimír Koza
Transplantační oddělení Fakultní nemocnice, Plzeň-Lochotín
Prof. MUDr. Jan Kvasnička, DrSc.
I. interní klinika 1. LF UK a VFN, Praha
Prof. MUDr. Jaroslav Malý, CSc.
II. interní klinika LF UK a FN, Hradec Králové
Prof. MUDr. Miroslav Penka, CSc.
Oddělení klinické hematologie Fakultní nemocnice, Brno-Bohunice
Prof. MUDr. Jan Starý, CSc.
Klinika dětské hematologie a onkologie Fakultní nemocnice Motol, Praha
Prof. MUDr. Jiří Vorlíček, CSc.
Interní hemato-onkologická klinika Fakultní nemocnice, Brno-Bohunice

SPOLEČNOST PRO TRANSFUZNÍ LÉKAŘSTVÍ ČLS JEP

Česká hematologická společnost ČLS JEP



Výsledek metody FICTION u pacientů s mnohočetným myelomem s využitím lokusově specifických sond:
a) modře zbarvený plazmocyt označený pomocí protilátky anti-human kappa chain s
1 červeným signálem v jádře potvrzujícím deleci genu TP53 (LSI TP53/CEP 17 Abbott).
b) jádro plazmocytu s 3 kopiemi oblasti 1q21 (zelené signály, LSI 1q21/1p36 Kreatech).
c) jádro plazmocytu s přestavbou genu IgH (1 fúze, 1 zelený a 1 červený signál, LSI IgH Abbott).
d) jádro plazmocytu s translokací t(14;16)(q32;q23), (2 fúze, 1 červený a 1 zelený signál, LSI IgH/MAF Abbott).

Obrázek zpracovala Mgr. Pavla Mičková, Hemato-onkologická klinika, FN Olomouc

Časopis *Transfuze a hematologie dnes* je v roce 2012 poskytován členům ČHS a STL
zdarma díky podpoře společnosti Janssen-Cilag

http://www.cls.cz

© Česká lékařská společnost Jana Evangelisty Purkyně, Praha 2012
TRANSFUZE A HEMATOLOGIE DNES
Vydává Česká lékařská společnost J. E. Purkyně, Sokolská 31, 120 26 Praha 2.
Vedoucí redaktor: MUDr. Jiří Masopust, **zástupce vedoucího redaktora:** doc. MUDr. E. Faber, Ph.D.
Odpovědná redaktorka: RNDr. Marie Forejtová.
Tiskne: Tiskárna Prager-LD, s. r. o., Kováků 9, 150 00 Praha 5. **Rozšiřuje:** V ČR-Nakladatelství Olympia, a. s., Praha, **do zahraničí (kromě SR):** Myris Trade s. r. o., V Štíhlách 1311/3, P.O. Box 2, 142 01 Praha 4, **v SR:** Mediaprint-Kappa Pressegrosso, a. s., oddelenie inej formy predaja, Vajnorská 137, P. O. BOX 183, 830 00 Bratislava 3, tel.: 00421/244 488 821, 00421/244 442 773, 00421/458 816, fax: 00421/244 458 819, e-mail: predplatne@abompkapa.sk.
Vychází: 4krát ročně. **Předplatné:** na rok 292 Kč, SR 16,80 €, jednotlivé číslo 73 Kč, SR 4,20 Ř
Informace o předplatném podává a objednávky českých předplatitelů přijímá: Nakladatelské a tiskové středisko ČLS JEP, Sokolská 31, 120 26 Praha 2, tel.: 296 181 805 – J. Spalová, e-mail: spalova@cls.cz. **Informace o podmínkách inzerce poskytuje a objednávky přijímá:** Inzertní oddělení ČLS JEP, Sokolská 31, 120 26 Praha 2, tel.: 224 266 252-3, fax: 224 266 265, e-mail: ntsinzerce@cls.cz,
Registrační značka MK ČR E 7391.
Rukopisy zasílejte v elektronické formě na adresy: Transfuzní tematika – jiri.masopust@mnul.cz, případný písemný kontakt: prim. MUDr. Jiří Masopust, Krajská zdravotní, a.s. – Masarykova nemocnice v Ústí nad Labem, o.z., Transfuzní oddělení, Sociální péče 3316/12A, 401 13 Ústí nad Labem; Hematologická tematika: Edgar.Faber@fnol.cz, případný písemný kontakt: doc. MUDr. Edgar Faber, CSc., Hemato-onkologická klinika FN Olomouc, I. P. Pavlova 6, 775 20 Olomouc
Rukopis byl předán do výroby 3. 9. 2012
Zaslané příspěvky se nevracejí. **Vydavatel získá otištěním příspěvku výlučné nakladatelské právo k jeho užití.**
Otištěné příspěvky autorů nejsou honorovány, autoři obdrží bezplatně jeden výtisk časopisu. Vydavatel a redakční rada upozorňují, že za obsah a jazykové zpracování inzerátů a reklam odpovídá výhradně inzerent. Žádná část tohoto časopisu nesmí být kopírována a rozmnožována za účelem dalšího rozšiřování v jakékoli formě či jakýmkoliv způsobem, ať již mechanickým nebo elektronickým, včetně pořizování fotokopií, nahrávek, informačních databází na magnetických nosičích bez písemného souhlasu vlastníka autorských práv a vydavatelského oprávnění.

Dasatinib v 2. línii liečby chronickej myelocytovej leukémie u pacientov s rezistenciou alebo intoleranciou imatinibu na Klinike hematológie a transfuziológie Bratislava v rokoch 2007-2011

Martišová M., Sninská Z., Hatalová A., Demečková E., Mistrík M.
Klinika hematológie a transfuziológie LFUK, SZU a UNB, Bratislava

Súhrn

Úvod: **Chronická myelocytová leukémia je prvým nádorovým ochorením asociovaným s konkrétnou chromozómovou aberáciou zvanou Philadelphia chromozóm, ktorého sformovaním vzniká fúzny gén BCR-ABL1. Jeho transkripciou a transláciou vzniká patologická tyrozínová kináza spúšťajúca mechanizmy malígnej transformácie bunky. Predstavuje tak patogeneticky relevantný molekulový cieľ, ktorého blokádou dokážeme navodiť remisiu ochorenia. Inhibítory Bcr-Abl tyrozínkinázy zaznamenali preto revolúciu v liečbe chronickej myelocytovej leukémie so zlepšením prognózy pacientov. Úvodný úspech imatinibu – predstaviteľa 1. generácie inhibítorov tyrozínkinázy – však so sebou časom priniesol aj viaceré ďalšie otázky. Vyprofiloval skupiny pacientov, ktoré neodpovedali na liečbu imatinibom optimálne, ktoré iniciálne nadobudnutú odpoveď strácali, alebo liečbu netolerovali. So zámerom poskytnutia liečebnej alternatívy, pokračoval výskum do objavenia silnejšej a účinnejšej inbibície Bcr-Abl tyrozínkinázy – 2. generácie inhibítorov, s dasatinibom ako jedným z predstaviteľov, ktorý u týchto pacientov zaznamenal zlepšenie ich celkového prežívania aj prognózy.** ***Súbor pacientov a metodika práce:*** **Súbor tvorí celkom 14 pacientov so vstupne potvrdenou diagnózou chronickej fázy chronickej myelocytovej leukémie, liečených na Klinike hematológie a transfuziológie Lekárskej fakulty Univerzity Komenského, Slovenskej zdravotníckej univerzity a Univerzitnej nemocnice Bratislava. Všetci pacienti absolvovali liečbu prvogeneračným inhibítorom tyrozínkinázy – imatinibom a pre jeho rezistenciu, suboptimálnu odpoveď alebo intoleranciu liečbu ukončili. V období od 1. 1. 2007 do 31. 7. 2011 absolvovali liečbu druhogeneračným inhibítorom tyrozínkinázy – dasatinibom s mediánom liečby 463,5 dňa (rozsah 105–1261 dní). V čase zahájenia dasatinibovej liečby boli 2 pacienti v blastovej fáze ochorenia, u 12 pacientov pretrvávala chronická fáza. Za účelom zhodnotenia účinnosti dasatinibu bolo v stanovených časových intervaloch (3, 6, 9 a 12 mesiacov) sledované dosahovanie cytogenetickej a molekulovej odpovede a počas celého trvania liečby aj jej tolerancia.** ***Cieľ práce:*** **Sledovanie účinnosti a tolerancie dasatinibu u pacientov po ukončení prvolíniovej liečby imatinibom.** ***Záver:*** **V druhej línii liečby CML je dasatinib úspešný v navodení cytogenetických aj molekulových odpovedí u pacientov v chronickej fáze ochorenia, s akceptovateľným bezpečnostným profilom. V pokročilejších štádiách ochorenia sa účinnosť jeho liečby znižuje a tolerancia liečby zhoršuje.**

Kľúčové slová: druhá generácia inhibítorov Bcr-Abl tyrozínkinázy, dasatinib, druhá línia liečby, účinnosť, tolerancia

Summary

Martišová M., Sninská Z., Hatalová A., Demečková E., Mistrík M.: Dasatinib in second line treatment of chronic myeloid leukaemia in patients with imatinib resistance or intolerance treated at the Clinic of Haematology and Transfusiology, Bratislava between 2007 and 2011

Introduction: **Chronic myelogenous leukaemia is the first oncologic disease associated with a concrete chromosomal aberration termed the Philadelphia chromosome, which gives rise to the BCR-ABL1 fusion gene. The pathological protein arising from the transcription and translation of this gene has tyrosine kinase activity and is able to induce malignant transformation of the given cell. Bcr-Abl tyrosine kinase represents a pathogenetically relevant molecular target and disease remission can be achieved by its inhibition. Tyrosine kinase inhibitors have led to a revolution in the treatment of chronic myelogenous leukaemia and have improved patient prognosis. The initial success of imatinib – a representative of the first generation of tyrosine kinase inhibitors – however gave rise over time to several issues. Imatinib led to the selection of a group of patients who fail to respond optimally to treatment, lose the initially achieved treatment response or who do not tolerate imatinib. Aiming to offer a more optimal treatment alternative for these patients, researchers have tried to find a superior and more effective Bcr-Abl inhibitor. Thus, 2nd generation tyrosine kinase inhibitors were discovered, including dasatinib. Dasatinib improved patient overall survival as well as prognosis.** ***Study group and methodology:*** **The group included 14 patients with an initially demonstrated diagnosis of chronic myeloid leukaemia in chronic phase. Patients were treated at the Clinic of Haematology and Transfusiology, Medical Faculty of Comenius University, Slovak Medical University and University Hospital Bratislava. All patients underwent first line treatment with imatinib and experienced treatment failure because of resistance, suboptimal response or imatinib intolerance. Patients were then treated by the 2nd generation of tyrosine kinase inhibitor – dasatinib from January 1, 2007 until July 31, 2012. Efficacy of dasatinib was evaluated according to the achievement of cytogenetic and molecular response at certain time points (3, 6, 9 and 12 months).**

Tolerability and overall survival were evaluated throughout the whole treatment period. ***Aim:*** **To show the efficacy and tolerability of dasatinib in patients following imatinib failure.** ***Conclusion:*** **Dasatinib is able to achieve good cytogenetic and molecular responses with an acceptable safety profile. Its efficacy and tolerability are lower in the progressive phases of the disease.**
Key words: 2nd generation Bcr-Abl tyrosine kinase inhibitors, dasatinib, second line treatment, efficacy, tolerability

Transfuze Hematol. dnes, 18, 2012, No. 3, p. 105–111.

Úvod

Dasatinib (Sprycel, BMS 354825), jeden z predstaviteľov druhogeneračných inhibítorov tyrozínkinázy (TKI) nie je štrukturálne príbuzný imatinibu (IM). V porovnaní s ním je však *in vitro* 325x účinnejší (1) voči Bcr-Abl kináze, pričom je schopný väzby na jej inaktívnu ako aj katalyticky aktívnu konformáciu (2–5). Vďaka odlišnej chemickej štruktúre týchto molekúl je pravdepodobnosť ich skríženej intolerancie nízka (6).

Dasatinib je prvým registrovaným duálnym inhibítorom Src rodiny kináz (SFK, PDGFR ç-KIT a ephrin /EPH/) (2, 7, 8) a mutovanej aj nemutovanej formy Bcr-Abl kinázy. Jednotlivé mutácie majú voči nemu rozdielnu citlivosť (4, 9), s výnimkou T315I, ktorá je voči nemu rezistentná. Aj keď dasatinib inhibuje včasnejšie Ph+ progenitory ako IM (10), nie je schopný eliminácie najprimitívnejších kľudových kmeňových buniek chronickej myelocytovej leukémie (CML), o ktorých je známe, že sú voči TKI rezistentné.

Klinické štúdie fázy II demonštrovali efektivitu dasatinibu vo všetkých fázach CML pri rezistencii alebo intolerancii IM (6, 8, 11–14).

Liečebné odpovede na dasatinib po 8 mesiacoch liečby v štúdii START-C (dasatinib 70 mg 2x denne) s pacientmi v chronickej fáze (CF) CML s rezistenciou alebo intoleranciou IM, boli pozoruhodné. Zaznamenali dosiahnutie veľkej cytogenetickej remisie (VCgR) u 52 % pacientov a kompletnej cytogenetickej remisie (KCgR) u 39 % pacientov (5). V pokračovaní tejto štúdie s mediánom sledovania 15,2 mesiaca a dĺžkou liečby 12–18,4 mesiaca bola hodnotená celá kohorta pacientov (15). VCgR bola dosiahnutá u 52 % rezistentných pacientov (celkom 40 %) a u 80 % pacientov netolerujúcich IM (celkom 75 %) (6, 15, 16). Prežívanie bez progresie (progression-free survival, PFS) bolo v uvedenom mediáne 90 %. Táto štúdia dokázala, že dasatinib okrem inhibície mutovaných Bcr-Abl kináz, je účinný aj u pacientov s IM-rezistentným ochorením bez dokázaných BCR-ABL1 mutácií. To predpokladá, že dasatinib vie „obísť" aj ďalšie mechanizmy IM rezistencie ako je napr. amplifikácia BCR-ABL1 génu, dysregulácia Src rodiny kináz a overexpresia P-gp efluxných púmp (17–19).

Štúdia START-R porovnala dasatinib (70 mg 2x denne) s eskalovanými dávkami IM (400 mg 2x denne) u pacientov po zlyhaní liečby IM v štandardnej (400 mg/deň) alebo eskalovanej dávke (600 mg/deň). S mediánom trvania liečby 14 mesiacov pri dasatinibe a 3 mesiace v ramene s IM (crossover pre nedostatok VCgR po 12 mesiacoch liečby, intoleranciu alebo progresiu) boli hodnoty KCgR 30 % pre dasatinibové a 7 % pre IM rameno (8). 2ročná analýza potvrdila, že dasatinib zaznamenal vyššie percento VCgR, KCgR a veľkej molekulovej remisie (VMR) (53 %, 44 % a 29 %) v porovnaní s vysokodávkovaným IM (33 %, 18 % a 12 %). VCgR si 18 mesiacov udržiavalo v dasatinibovom ramene 90 % pacientov, zatiaľ čo v IM ramene to bolo len 74 % pacientov. Očakávaný PFS po 2 rokoch bol pre dasatinib 86 % a IM 65 %. Pacienti dosahovali VCgR bez ohľadu na predchádzajúce predliečenie IM v štandardnej alebo eskalovanej dávke a bez ohľadu na predchádzajúcu cytogenetickú odpoveď (CgR) pri tejto liečbe (20). Pacienti, ktorí zlyhali na liečbe IM v dávke vyššej ako 400 mg/deň, dosahovali VCgR viac v dasatinibovom ramene ako v ramene s eskalovanou dávkou IM (20).

Na základe kratšieho plazmatického polčasu dasatinibu (3–5 hodín) a regenerácie kinázovej inhibície, ktorá nastupuje 8–12 hodín po jeho užití (31), stanovili prvotné farmakokinetické a farmakodynamické štúdie fosforylácie CRK-like proteínu (CRKL) (22–24), dávkovaciu schému pre dasatinib 70 mg 2x denne a táto bola následne schválená pre väčšinu klinických štúdií fázy II. Inhibícia kinázy tak bola v režimoch 2x denne v priebehu 24 hodín takmer trvalá.

Viaceré ďalšie klinické štúdie sa neskôr venovali snahe určiť najefektívnejšiu dávku dasatinibu pri minimalizácii vedľajších účinkov liečby. Randomizovaná štúdia so štyrmi dávkovacími režimami pre dasatinib (100 mg 1x denne, 50 mg 2x denne, 140 mg 1x denne a 70 mg 2x denne) u pacientov v CF CML (1) s rezistenciou alebo intoleranciou IM dokázala, že dasatinib 100 mg v jednej dennej dávke poskytuje najpriaznivejší celkový pomer benefitu a rizika. Išlo o významný objav, upozorňujúci na skutočnosť, že cieľová kináza Bcr-Abl je inhibovaná len intermitentne. V porovnaní s dovtedy schváleným dávkovacím režimom, bola dávka 100 mg 1x denne asociovaná so signifikantne lepšou toleranciou a redukovanou incidenciou s liečbou súvisiacich vedľajších účinkov. Trombocytopénia 3.–4. stupňa sa popísala u 22 % pacientov s dávkou 100 mg 1x denne v porovnaní s 32 % pacientov s dávkou 50 mg 2x denne a 37–40 % pacientov s dávkou 140 mg bez ohľadu na jej užitie v jednej alebo dvoch denných dávkach. Dlhodobejšie sledovanie ukázalo, že incidencia pleurálnych efúzií bola nižšia pri jednej dennej dávke (7 %) ako pri schéme 2x denne. Vyššie riziko pleurálnych efúzií sa popísalo u pacientov s hypertenziou a anamnézou kardiálneho ochorenia (25). Dávkovacia schéma 100 mg 1x denne taktiež zaznamenala najnižšiu zaznamenanú incidenciu prerušení a ukončení liečby (1).

Tieto zistenia podporujú názor, že niektoré toxické účin-

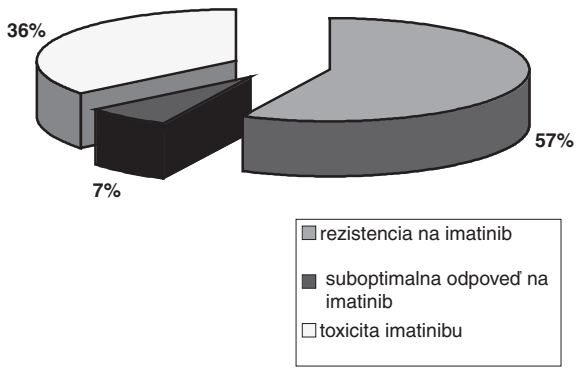
ky TKI môžu vychádzať z perzistentnej expozície inhibičným liekovým koncentráciám. Maximálne dosiahnuté hladiny liečiva sú tiež relevantné, keďže pacienti liečení s dasatinibom 100 mg 1x denne vykázali menej nežiadúcich účinkov v porovnaní s pacientami s dávkou 140 mg 1x denne. Všetky skúmané dávkovacie režimy dokázali zrejmé a porovnateľné hladiny hematologickej a cytogenetickej účinnosti. Nadôvažok neboli pozorované žiadne veľké rozdiely v dĺžke trvania odpovede (kompletnej hematologickej remisie (KHR) alebo VCgR) ani v prežívaní bez progresie (PFS), či celkovom prežívaní (overall survival, OS).

Na základe týchto zistení došlo k zmene odporúčanej schémy podávania štandardnej dávky dasatinibu v CF CML na 100 mg v jednej dennej dávke.

Objavenie dasatinibu a jeho uvedenie do klinickej praxe znamenalo rýchly prístup k efektívnej a potenciálne život zachraňujúcej liečbe u pacientov s CML po zlyhaní liečby IM. Optimalizácia jeho dávkovania následne vylepšila aj jeho bezpečnostný profil.

Súbor pacientov

Súbor tvorí 14 pacientov (5 mužov/ 9 žien) liečených od 1. 9. 2009 do 31. 7. 2011 na Klinike hematológie a transfuziológie (KHaT) Lekárskej fakulty Univerzity Komenského (LFUK), Slovenskej zdravotníckej univerzity (SZU) a Univerzitnej nemocnice v Bratislave (UNB), s vekovým mediánom 45 rokov (rozsah 26–75 rokov). Všetci pacienti súboru spĺňali v čase diagnózy všeobecne platné diagnostické kritériá pre CF CML, potvrdené vyšetrením kostnej drene, ktoré zahrňovalo morfologické vyšetrenie, konvenčné cytogenetické vyšetrenie s dôkazom Ph chromozómu, vyšetrenie FISH (Fluorescent In Situ Hybridisation) a molekulovú analýzu kvantitatívnou metódou RT-PCR (Real-Time Polymerase Chain Reaction) s dôkazom BCR-ABL1 fúzneho transkriptu. V čase od 5. 9. 2002 do 13. 4. 2010 absolvovali s mediánom 610 dní (rozsah 30–1987 dní) prvú líniu liečby prvogeneračným IM v iniciálnej dávke 400 mg/deň, ktorú pre rezistenciu (9 pacientov), suboptimálnu odpoveď (1 pacient) alebo intoleranciu (4 pacienti) ukončili (graf 1). Z 9 na IM rezistentných pacientov sa primárna rezistencia predpokladala u 2 a sekundárna u 7 pacientov. Eskalácia dávok IM v tomto súbore sledovaná nebola. Hladiny IM a analýza génových mutácií neboli vyšetrené u väčšiny pacientov, nakoľko uvedené vyšetrenia neboli v čase zmeny liečby spočiatku dostupné; výnimkou bol 1 pacient, ktorý mal po zlyhaní IM potvrdené mutácie E459K a M244V.



Graf 1. Dôvody zmeny liečby z prvolíniového imatinibu na dasatinib.

V období 1. 7. 2007 – 31. 7. 2011 absolvovali pacienti liečbu druhogeneračným dasatinibom v druhej línii. Pred zahájením dasatinibovej liečby boli 2 pacienti v BF ochorenia, u 12 pacientov sa potvrdilo pretrvávanie CF. Medián od ukončenia prvej línie do zahájenia druholíniovej liečby bol 1 deň (rozsah 0–175 dní)* a medián dasatinibovej liečby bol 463,5 dňa (rozsah 105–1261 dní). Dasatinib bol u všetkých pacientov pri zahájení 2. línie liečby podávaný perorálne v dávke 100 mg/deň.

Podľa stratifikácie podľa Sokala, boli v tejto skupine v čase diagnózy hodnotení 4 pacienti ako nízko, 8 stredne a 2 vysokorizikoví, v prípade Hasfordovej stratifikácie išlo o 8 pacientov s nízkym, 4 so stredným a 2 s vysokým rizikom (tab. 1).

Jeden pacient v BF ochorenia bol pri zahájení liečby klasifikovaný Sokalom aj Hasfordom (SH) ako stredne rizikový a jeden ako nízkorizikový. Pacient s pozitivitou mutácií E459K a M244V bol SH hodnotený ako stredne rizikový.

Po ukončení liečby IM (t.j. pred začatím liečby dasatinibom) mali 2 pacienti leukocytózu (do 20 x 10^9/l) a 1 pacient leukopéniu. 7 pacientov malo ľahkú, 1 stredne ťažkú anémiu. 4 pacienti mali ľahkú, 1 stredne ťažkú trombocytopéniu a 2 pacienti (1 v CF, 1 v BF) mali trombocytózu (tab. 1).

Pri zahájení dasatinibu bol 1 pacient v KCgR (liečba IM ukončená pre intoleranciu), 6 pacientov malo parciálnu cytogenetickú remisiu (PCgR), 2 minoritnú CgR, 3 minimálnu CgR a 2 pacienti nedosiahli žiadny stupeň CgR (tab. 1).

Metodika práce

Informácie o pacientoch boli získané z dokumentácie KHaT LFUK, SZU a UNB. Ide o retrospektívne zhodnotenie dosiahnutých cytogenetických a molekulových odpovedí na liečbu dasatinibom so sledovaním jeho tolerancie v priebehu liečby. Liečebné odpovede boli hodnotené v súlade s medzinárodne platnými definíciami European LeukemiaNet (ELN) 2009 (26, 27) pre hematologickú, cytogenetickú a molekulovú remisiu ochorenia (tab. 2) v 3, 6, 9 a 12 mesiaci od začiatku liečby. So snahou o jednoznačnosť nomenklatúry cytogenetických odpovedí bol v práci vynechaný pojem „veľká cytogenetická remisia“ (VCgR) nakoľko ide o skupinu pacientov s kompletnou cytogenetickou remisiou (KCgR) a parciálnou cytogenetickou remisiou (PCgR). Pri hodnotení CgR ako aj pri hod-

(Pozn. výnimkou bol pacient, ktorý po ukončení IM liečby absolvoval cykly konvenčnej chemoterapie a liečbu dasatinibom začal 17 mesiacov po ukončení liečby IM.)*

Tab. 1. Charakteristiky pacientov s CML pred zahájením 2. línie liečby dasatinibom.

Charakteristika	Hodnota	Charakteristika	Hodnota
Počet pacientov, n	14	Pomer pohlaví muži/ ženy, n	5/ 9
Vek, medián (rozsah), roky	45 (26-75)		
Počet Le, medián (rozsah), n x 10^9/l	5,9 (3,76–16,91)	Celularita kostnej drene	
abs. počet bazofilov, medián (rozsah), n x 10^9/l	0,01 (0–3,97)	Normálna, n (%)	3 (20)
		Vysoká, n (%)	8 (53,3)
abs. počet eozinofilov, medián (rozsah), n x 10^9/l	0,13 (0–0,63)	Sokalov index	
		Nízke riziko, n (%)	4 (28,6)
		Stredné riziko, n (%)	8 (57,1)
		Vysoké riziko, n (%)	2 (14,3)
Le 3,8 – 11 x 10^9/l, n (%)	11 (78,6)	Hasfordov index	
Le > 11 x 10^9/l, n (%)	2 (14,3)	Nízke riziko, n (%)	8 (57,1)
Hb, medián (rozsah), g/l	122,5 (86–152)	Stredné riziko, n (%)	4 (28,6)
Hb < 120 g/l, n (%)	7 (50)	Vysoké riziko, n (%)	2 (14,3)
Hb 120 – 170 g/l, n (%)	7 (50)		
Tr, medián (rozsah), n x 10^9/l	179,5 (55–1275)		
Tr < 150 x 10^9/l, n (%)	5 (35,7)		
Tr 150 – 440 x 10^9/l, n (%)	7 (50)		
Tr > 440 x 10^9/l, n (%)	2 (14,3)		
Medián liečby imatinibom v 1. línii (rozsah), dni	610 (30-1987)	Dôvod ukončenia liečby 1. línie imatinibom:	
		rezistencia, n (%)	8 (53,3)
		suboptimálna odpoveď, n (%)	1 (6,7)
		toxicita (intolerancia), n (%)	5 (33,3)
Najlepšie dosiahnuté liečebné odpovede pri imatinibe:		Liečebné odpovede pred zahájením 2. línie dasatinibom:	
KCgR/ z toho KMR, n (%)	5/ 4 (35,7/ 28,6)	KCgR/ z toho KMR, n (%)	1/ 0 (7,1/ 0)
PCgR, n (%)	6 (42,8)	PCgR, n (%)	6 (42,8)
Minoritná CgR, n (%)	1 (7,1)	Minoritná CgR, n (%)	2 (14,3)
Minimálna CgR, n (%)	1 (7,1)	Minimálna CgR, n (%)	3 (21,4)
Žiadna CgR, n (%)	1 (7,1)	Žiadna CgR, n (%)	2 (14,3)

n – počet pacientov, Le – leukocyty, Hb – hemoglobín, Tr – trombocyty
Referenčné hodnoty: Le 3,8-11 x 10^9/l; Hb 120-170 g/l; Tr 150-440 x 10^9/l

notení najlepšej dosiahnutej odpovede, bola molekulová odpoveď uvádzaná samostatne a aj v rámci KCgR (nakoľko pacienti dosahujúci KCgR dosahovali v niektorých prípadoch súčasne určitý stupeň molekulovej remisie). Cytologické (morfologické), konvenčné cytogenetické a molekulové vyšetrenie (FISH, RT-PCR so sondou XL BCR sg/ ABL tr, Translocation-DualFusion (MetaSystem), merané v %IS) bolo realizované z kostnej drene v 6-mesačných intervaloch, pričom v 3-mesačných intervaloch sa súčasne sledovala cytogenetická a molekulová odpoveď v periférnej krvi. Výsledky cytogenetických a molekulových vyšetrení sú v práci uvádzané z vyšetrení periférnej krvi pre každý zo sledovaných mesiacov. Kontrolné fyzikálne a laboratórne vyšetrenia (hemogram, biochemické vyšetrenia) sa vykonávali 1x mesačne.

Stupeň závažnosti hematologických a nehematologických nežiadúcich účinkov bol hodnotený podľa medzinárodne platných kritérií CTCAE (Common Terminology Criteria for Adverse Event) – verzia 4.03 zo 14. 6. 2010 na základe odporúčaní EORTC (European Organisation for Research and Treatment of Cancer). Ako nezávažné boli hodnotené vedľajšie reakcie 1.–2. stupňa a ako závažné reakcie 3.–4. stupňa.

V súbore pacientov bol pri nehematologickej toxicite pod pojem „edém" zahrnutý len periférny končatinový edém a pleurálne efúzie boli hodnotené samostatne. Predlžovanie QTc intervalu sme v súbore nesledovali.

Tab. 2. Definícia liečebnej odpovede podľa odporúčaní ELN 2009[26,27].

Hematologická remisia (HR)	Cytogenetická remisia (CgR)	Molekulová remisia (MR)
kompletná: -Tr < 450 x 10^9/l - Le < 10 x 10^9/l - dif. leukogram bez nezrelých granulocytov a s menej ako 5% bazofilov - nehmatný lien	***kompletná:*** Ph+ 0 % ***parciálna:*** Ph+ 1-35 % ***minoritná:*** Ph+ 36-65 % ***minimálna:*** Ph+ 66-95 % ***žiadna:*** Ph+ >95 %	***kompletná:*** hladina transkriptu nekvantifikovateľná a nedetekovateľná ***veľká:*** ≤ 0,10

pozn. VCgR (veľká cytogenetická remisia) = PCgR+KCgR

Tab. 3. Hodnotenie cytogenetických a molekulových odpovedí po 3, 6, 9 a 12 mesiacoch liečby dasatinibom v druhej línii.

	3M	6M	9M	12M
KMR, n (%)	4 (28,6)	5 (41,7)	6 (54,5)	7 (70)
VMR, n (%)	0	0	1 (9,1)	1 (10)
KCgR, n (%)	8 (57,1)	7 (58,3)	8 (72,7)	8 (80)
PCgR, n (%)	4 (28,6)	3 (25)	1 (9,1)	1 (10)
Minimálna CgR, n (%)	2 (14,3)	0	2 (18,2)	1 (10)
bez CgR, n (%)	0	2 (16,7)	0	0
celkom	14	12	11	10

Tab. 4. Vedľajšie reakcie pri druholíniovej liečbe dasatinibom (n = 14).

CTC	I	II	III	IV	celkom
Anémia, n	6	1	1	0	8
Le-pénia, n	1	1	1	0	3
Tr-pénia, n	1	2	2	0	5
Hepatotoxicita, n	0	0	1	0	1
Edémy, n	1	0	0	0	1
Pleurálne efúzie, n	0	0	1	0	1
Exantém, n	1	0	0	0	1

n – počet pacientov, Le-pénia – leukocytopénia, Tr-pénia – trombocytopénia

Výsledky

Všetci pacienti na liečbe dasatinibom v druhej línii dosiahli po 3 mesiacoch liečby KHR a aspoň minimálnu CgR.

KCgR bola po 3 mesiacoch liečby dosiahnutá u 57 % pacientov, po 6 mesiacoch u 58 %, po 9 mesiacoch u 73 % a po 12 mesiacoch u 80% pacientov (tab. 3).

KMR stúpala lineárne, po 3 mesiacoch ju dosiahlo 29 % pacientov, po 6 mesiacoch 42 %, po 9 mesiacoch 54 % a po 12 mesiacoch 70 % pacientov (tab. 3, graf 2).

Najlepšou dosiahnutou molekulovou odpoveďou na dasatinib v druhej línii liečby súboru KHaT bola KMR – zaznamenaná v aspoň jednom zo sledovaných mesiacov u 71,4 % pacientov. Z cytogenetických odpovedí bola najlepšou dosahovanou odpoveďou KCgR, ktorú aspoň v jednom zo sledovaných mesiacov dosiahlo 78,6 %.

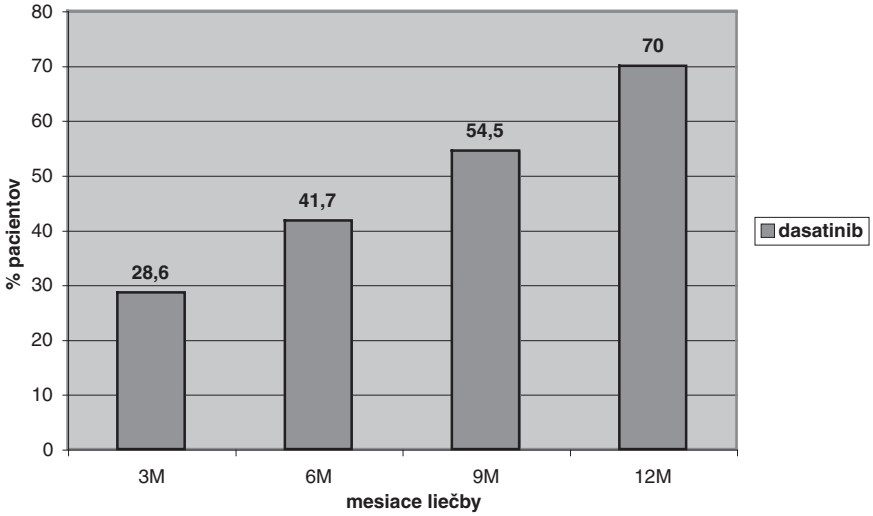
Dvaja pacienti SH hodnotení ako vysokorizikoví, dosiahli pri liečbe dasatinibom už po 3 mesiacoch liečby KMR, ktorú si udržali aj v priebehu ďalších 12 mesiacov liečby.

U oboch pacientov v BF ochorenia bola najlepšou dosiahnutou odpoveďou krátkotrvajúca (1–3 mesiace) PCgR, zaznamenaná v oboch prípadoch v 3 mesiaci liečby.

Pacient s potvrdenými vstupnými mutáciami E459K a M244V dosiahol na dasatinibe najlepšiu odpoveď v 9 mesiaci liečby taktiež v podobe PCgR, ktorá trvala 6 mesiacov.

Na druholíniovej liečbe dasatinibom bolo z nezávažných hematologických prejavov toxicity (1.–2. stupeň) popísaných 7 anémií (50 %), 2 leukopénie (14,3 %), 3 trombocytopénie (21,4 %). Z nezávažných nehematologických prejavov toxicity sa vyskytol 1x exantém (7,1 %) a 1x edémy dolných končatín (7,1 %).

Zo závažných hematologických toxicít (3. stupeň) sa popísala 1x anémia (7,1 %), 1x leukopénia (7,1 %) a 2x trombocytopénia (14,3 %). V týchto prípadoch bola liečba redukovaná a pacienti stimulovaní rastovými faktormi (erytropoetín, G-CSF) do regenerácie hodnôt hemogramu. Substitúciu erytrocytovými alebo trombocytovými koncentrátmi nevyžadoval nikto. Zo závažných nehematologických toxicít (3. stupeň) sa objavila v 1 prípade hepatotoxicita (7,1 %) a v jednom prípade pleurálne efúzie (7,1 %). U pacienta s fluidothoraxom bola liečba prerušená, po odľahčovacích punkciách a normalizácii klinického stavu bol dasatinib do liečby vrátený v 50 % redukcii, ktorá však viedla k opätovnej incipientnej indukcii fluidothoraxu. Liečba bola preto následne ukončená.



Graf. 2. Dosahovanie KMR v druhej línii liečby dasatinibom.

Tab. 5. Dôvody ukončenia liečby dasatinibom v druhej línii.

	zlyhanie liečby		bez zmeny liečby,	hodnotení pacienti,
rezistenia/ exitus, n (%)	suboptimálna odpoveď, n (%)	toxicita, n (%)	n (%)	n (%)
4/ 3 (28,6/ 21,4)	1 (7,1)	2 (14,3)	7 (50)	14 (100)

Pacient s hepatotoxicitou 3. stupňa liečbu taktiež prerušil. Po normalizácii hepatálnych parametrov bol dasatinib v 50 % redukcii nasadený znovu, rovnako však v krátkom čase zaznamenal vzostup hepatálnych parametrov, pre ktorý bola liečba aj v tomto prípade ukončená.

Obaja pacienti SH hodnotení ako vysokorizikoví, vyvinuli nezávažnú anémiu s trombocytopéniou, pričom 1 z nich aj spomenutý fluidothorax 3. stupňa a liečbu ukončil.

U pacientov v BF ochorenia bola zaznamenaná len hematologická toxicita v podobe anémie, leukopénie a trombocytopénie, ktoré boli 2.–3. stupňa.

Pacient s mutáciami E459K a M244V toxicitu pri dasatinibovej liečbe nezaznamenal.

Liečba dasatinibom v druhej línii bola ukončená celkom u 7 pacientov (50 %). V 2 prípadoch (14,3 %) bola príčinou toxicita liečby, v 1 prípade (7,1 %) suboptimálna odpoveď a 4 pacienti (28,6 %) boli na liečbu rezistentní. Traja z rezistentných pacientov (21,4 %) zomreli v dôsledku progresie ochorenia (tab. 5).

Jeden pacient SH hodnotený ako vysokorizikový pokračuje v liečbe dasatinibom s pretrvávajúcou KMR, druhý pacient pre spomenuté prejavy nehematologickej toxicity (fluidothorax 3. stupňa) liečbu dasatinibom po 12 mesiacoch ukončil a pokračoval v liečbe treťolíniovým nilotinibom.

Obaja pacienti v BF ochorenia exitovali po 6 a 8 mesiacoch liečby na progresiu ochorenia.

Jeden pacient so vstupnou CF exitoval po 11 mesiacoch liečby na rýchlu progresiu do BF.

Liečebné odpovede pacienta s mutáciami E459K a M244V boli nedostatočné, liečbu po 15 mesiacoch ukončil pre rezistenciu a pokračoval v liečbe treťolíniovým nilotinibom.

Diskusia

Štúdiou sledujúcou účinnosť dasatinibu v druhej línii liečby CF CML počas 2ročného sledovania, bol START-C (6,16), ktorého primárnym cieľom bolo sledovanie VCgR. Po 2ročnom sledovaní bola celková miera dosiahnutých KHR 91 %, VCgR 62 %, KCgR 53 % a VMR 47 % pacientov, s celkovým prežívaním 94 % a PFS 80 %. V súbore pacientov z KHaT bola v rovnakom mediáne dosiahnutá celková miera KCgR u 79 % a KMR 71 % pacientov, čo je lepšie ako uvádza START-C a taktiež lepšie aj v porovnaní so START-R, kde v 24mesačnom sledovaní bolo dasatinibom dosiahnutých celkovo 29 % VMR (20).

Štúdia START-R s pacientami v CF CML liečenými dasatinibom (140 mg/deň) popísala prerušenie liečby u 61 % pacientov a redukciu dávky dasatinibu pre hematologickú toxicitu v 47 %. V súbore pacientov KHaT užívali pacienti dávku 100 mg/deň a liečba pre hematologickú toxicitu prerušená nebola, ale prechodnú redukciu dávky podstúpilo pre jej prejavy 26,7 % pacientov, čo je menej ako v uvedenej štúdii.

Mutácie E459K a M244V, ktoré sú uvádzané ako citlivé voči IM aj dasatinibu (28), sa u pacienta v súbore KHaT demonštrovali ako rezistentné na obe použité molekuly.

Z hľadiska tolerancie liečby, prevažovala v súbore KHaT hematologická toxicita nad nehematologickou.

Z hematologickej toxicity sa celkovo najčastejšie vyskytovala anémia (57 %), následne trombocytopénia (36 %) a najmenej častá bola leukopénia (21 %).

V štúdii START-R boli najčastejšími prejavmi závažnej hematologickej toxicity neutropénia u 48 % a trombocytopénia u 49 % pacientov (15). Naproti tomu sa v súbore KHaT závažná hematologická toxicita popísala u celkom 29 % pacientov s prevahou trombocytopénie (14 %), menej časté boli leukopénie a anémie (7 %, 7 %).

Po vyradení údajov 2 pacientov s BF ochorenia, bol podiel toxicity menší, pričom závažná hematologická toxicita sa z pôvodne uvádzaných 29 % zredukovala na 8 %. Pacienti s BF ochorenia navyše už vstupovali do liečby dasatinibom s ľahkou anémiou v oboch prípadoch, ľahkou leukopéniou a trombocytopéniou v jednom prípade, ktoré sa počas liečby zvýraznili. Jeden z pacientov v BC mal pred zahájením liečby trombocytémiu a počas užívania dasatinibu vyvinul trombocytopéniu 3. stupňa. Je možné predpokladať, že prehĺbenie cytopénie u týchto pacientov, bolo kombinovanej etiológie, spôsobené toxickým účinkom dasatinibu so súčasným prispením progresie základného ochorenia.

Celková miera nehematologickej toxicity v súbore pacientov KHaT bola 29 %, pričom v 14 % bola závažná. Išlo o hepatotoxicitu (7 %) a pleurálne efúzie (7 %).

V štúdii START-R bola nehematologická toxicita v 18 % príčinou prerušenia liečby a v 14 % príčinou jej ukončenia. V súbore KHaT pacienti pre závažné nehematologické prejavy toxicity liečbu nielen prerušili, ale pre pretrvávanie intolerancie napriek 50 % redukcii dávky, liečbu ukončili (t.j. 14 %).

Liečbu dasatinibom ukončilo v súbore KHaT celkom 50 % pacientov. Najčastejšou príčinou ukončenia bola rezistencia (29 %). Ak by sme nebrali do úvahy pacientov so vstupne potvrdenou BF ochorenia, bola by miera ukončení liečby pre rezistenciu a intoleranciu rovnaká – 17 %. Celkom 21 % pacientov počas liečby zomrelo, pričom pri vyradení údajov pacientov so vstupnou BF ochorenia, exitovalo 16,7 % pacientov zo skupiny s verifikovanou CF CML pri zahájení druholíniovej liečby.

Súbor pacientov KHaT je malý a nehomogénny a jeho hodnotenie je zaťažené chybou malých čísel, o čom sved-

čia lepšie výsledky účinnosti dasatinibu a nižšie percentá zaznamenaných toxicít v porovnaní s výsledkami veľkých známych klinických štúdií. Predstavuje však jednu z prvých prezentovaných 4ročných skúseností s liečbou pacientov rezistentných a netolerujúcich IM na Slovensku a pri zohľadnení uvedených skutočností môže potvrdiť, že dasatinib predstavuje dobrú a účinnú alternatívu s akceptovateľným bezpečnostným profilom pre pacientov s CML po zlyhaní liečby imatinibom.

Podiel autorov na práci
M.M. – napísanie rukopisu, liečba pacientov, vyšetrovanie pacientov
Z.S. – vyhľadávanie dát, liečba pacientov, vyšetrovanie pacientov
A.H. – liečba pacientov, vyšetrovanie pacientov
E.D., M.M. – kontrola, revízia rukopisu

Literatúra

1. Shah NP, Kantarjian HM, Kim DW, et al. Intermittent target inhibition with Dasatinib 100 mg once daily preserves efficacy and improves tolerability in Imatinib-resistant and –intolerant chronic-phase chronic myeloid leukemia. J Clin Oncol 2008; 26: 3204-3212.
2. Lombardo LJ, Lee FY, Chen P, et al. Discovery of N-(2-chloro-6--methyl-phenyl)-2(6-(4-(2-hydroxyethyl)-piperazin-1-yl)-2-methylpyrimidin-4-yl-amino)thiazole-5-carboxamide (BSM-354825), a dual Src/Abl kinase inhibitor with potent antitumor activity in preclinical assays. J Med Chem 2004; 47: 6658-6661.
3. Tokarski JS, Newitt JA, Chang CY, et al. The structure of dasatinib (BMS-354825) bound to activated ABL kinase domain elucidates its inhibitory activity against imatinib-resistant ABL mutants. Cancer Res 2006; 66: 5790-5797.
4. O Hare T, Walters DK, Stroffregen EP, et al. In vitro activity of Bcr-Abl inhibitors AMN107 and BMS-354825 against clinically relavant imatinib-resistant Abl kinase domain mutants. Cancer Res 2005; 65: 4500-4505.
5. Shah NP. Dasatinib. Drugs Today (Barc) 2007; 43: 5-12.
6. Hochhaus A, Kantarjian HM, Baccarani M, et al. Dasatinib induces notable hematologic and cytogenetic responses in CP-CML after failure of imatinib therapy. Blood 2007; 109(6): 2303-2309.
7. Doubek M. Zvládání nežádoucích účinků dasatinibu (Sprycel) – spolupráce s hematologickou ambulancí v místě bydliště pacienta, Satelitné sympózium Sprycel: jediný tyrosinkinázový inhibitor 2. generace registrovaný pro všechny fáze CML a Ph+ ALL. Olomoucké hematologické dny 2008, oral presentation.
8. Kantarjian H, Pasquini R, Hamerschlak N, et al. Dasatinib or high-dose imatinib for chronic-phase chronic myeloid leukemia after failure of first-line imatinib: a randomized phase 2 trial. Blood 2007; 109: 5143-5150.
9. Shah NP, Tran C, Lee FY, et al. Overriding imatinib resistance with a novel ABL kinase inhibitor. Science 2004; 305:399-401.
10. Copland M, Hamilton A, Elrick RJ, et al. Dasatinib (BMS-354825) targets an earlier progenitor population than imatinib in primary CML, but does not eliminate the quiescent fraction. Blood 2006; 107(11): 4532-4539.
11. Guilhot F, Apperley J, Kim DW, et al. Dasatinib induces significant hematologic and cytogenetic responses in patients with imatinib-resistant or –intolerant chronic myeloid leukemia in accelerated phase. Blood 2007; 109: 4143-4150.
12. Cortes J, Rousselot P, Kim DW, et al. Dasatinib induces complete hematologic and cytogenetic responses in patients with imatinib-resistant or –intolerant chronic myeloid leukemia in blast crisis. Blood 2007; 109: 3207-3213.
13. Ottmann O, Dombret H, Baccarani M, et al. Dasatinib (BMS-354825) induces rapid hematologic and cytogenetic responses in patients with imatinib-resistant or –intolerant Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia: Interim results of a phase II study. Blood 2007; 110: 2309-2315.
14. National Comprehensive Cancer Network (NCCN): Clinical practise guidelines in Oncology™: Chronic myelogenous leukemia. V. 2.2007. http://www.nccn.org/professionals/physician-gls/PDF/cml.pdf, accessed November 2007
15. Hochhaus A, Baccarani, Deininger M, et al. Dasatinib induces durable cytogenetic responses in patients with chronic myelogenous leukemia in chronic phase with resistance or intolerance to imatinib. Leukemia 2008; 22: 1200-1206.
16. Talpaz M, Shah N, Kantarjian H, et al. Dasatinib in imatinib-resistant Philadelphia chromosome positive leukemias. N Engl J Med 2006; 354: 2531-2541.
17. Hochhaus A, Kreil S, Corbin AS, et al. Molecular and chromosomal mechanism of resistance to imatinib (STI571) therapy. Leukemia 2002; 16:2190-2196.
18. Thomas J, Wang L, Clark RE et al, Active transport of imatinib into and out of cells: implications of drug resistance. Blood 2004; 104: 3739-3745
19. Dai Y, Rahmani M, Corey SJ, et al. A Bcr/Abl-independent, Lyn-dependent form of imatinib mesylate (STI-571) resistance is associated with altered expression of Bcl-2. J Biol Chem 2004; 279: 34227-34239.
20. Kantarjian H, Pasquini R, Lévy V, et al. Dasatinib or high-dose imatinib for chronic-phase chronic myeloid leukemia resistant to imatinib at a dose of 400 to 600 milligrams daily (two-year follow-up of a randomized phase 2 study (START-R)). Cancer 2009; 115: 4136-4147.
21. Kantarjian HM, Cortes J. Second generation tyrosine kinase inhibitors: which and when? Hematology Education: education program for the annual congress of European Hematology Association. 2009; 3(1): 83-88.
22. Ten Hoeve J, Arlinghaus RB, Guo JQ, et al. Tyrosine phosphorylation of CRKL in Philadelphia+ leukemia. Blood 1994; 84: 1731-1736.
23. Oda T, Heaney C, Hagopian JR, et al. Crkl is the major tyrosine-phosphorylated protein in neutrophils from patients with chronic myelogenous leukemia. J Biol Chem 1994; 269: 22925-22928.
24. Nichols GL, Raines MA, Vera JC, et al. Identification of CRKL as the constitutively phosphorylated 39-kD tyrosine phosphoprotein in chronic myelogenous leukemia cells. Blood 1994; 84: 2912-2918.
25. Quintas-Cardama A, Kantarjian H, O Brien S, et al. Pleural effusion in patients with chronic myelogenous leukemia treated with dasatinib after imatinib failure. J Clin Oncol 2007; 25:3908-3914.
26. Baccarani M, Cortes J, Pane F, et al. Chronic myeloid leukemia. An update of concepts and management recommendations of the EuropeanLeukemiaNet. J Clin Oncol 2009; 27 (35): 6041-6051.
27. Baccarani M, Saglio G, Goldman J, et al. Envolving concepts in the management of chronic myeloid leukemia: recommendations from an expert panel on behalf of the EuropeanLeukemiaNet. Blood 2006; 108:1809-1820.
28. Guidelines for mutation analysis of BCR/ABL kinase domain: Interpreting TKI-ressistance mutations in CML patients, West Midlands Regional Genetics Laboratory March 2007; Revised December 2007.

MUDr. Michaela Martišová
Klinika hematológie a transfuziológie LFUK, SZU a UNB
Nemocnica sv. Cyrila a Metoda
Antolská 11
851 07 Bratislava
Slovenská republika

Doručeno do redakce: 4. 5. 2012
Přijato po recenzi: 9. 7. 2012

Získaná aplastická anémie v dětském věku – dlouhodobé výsledky a rizika kombinované imunosupresivní léčby antithymocytárním globulinem a cyklosporinem A

Suková M.[1], Mejstříková E.[2], Campr V.[3], Vodičková E.[4], Smíšek P.1, Keslová P.[1], Sedláček P.[1], Šrámková L.[1], Vávra V. [1], Pindurová E. [1], Zemanová Z. [5], Starý J.[1]
pro Pracovní skupinu dětské hematologie (PSDH)
[1]Klinika dětské hematologie a onkologie, 2. lékařská fakulta UK a FN v Motole, Praha, [2]Laboratoř průtokové cytometrie CLIP, 2. lékařská fakulta UK a FN v Motole, Praha, [3]Ústav lékařské patologie, 2. lékařská fakulta UK a FN v Motole, Praha, [4]Oddělení klinické hematologie FN v Motole, Praha, [5]Laboratoř nádorové cytogenetiky, 1. lékařská fakulta UK, Praha

Souhrn
Získaná aplastická anémie (AA) je onemocnění, v jehož patogeneze hrají klíčovou roli autoagresivní mechanismy. Pro pacienty, kteří nenaleznou dárce pro prioritní transplantaci kostní dřeně od HLA identického sourozence, je kombinovaná léčba antithymocytárním globulinem (ATG) a cyklosporinem A (CsA) léčebnou alternativou první volby. Limitující je dosažení léčebné odpovědi jen v 60–70 % případů, cca 30 % výskyt relapsů a 10–20 % riziko klonální evoluce: paroxysmální noční hemoglobinurie (PNH) myelodysplastický syndrom, akutní myeloidní leukemie (MDS/ADL). Cílem naší práce je zhodnocení dlouhodobých výsledků léčby aplastické anémie u dětí se zaměřením na účinnost a komplikace imunosupresivní léčby (IST). V období 1996-2009 bylo v ČR diagnostikováno celkem 72 dětí s aplastickou anémií ve věku 1,6–17,9 (medián 10,5) roku, z nichž 18 bylo primárně indikováno k MSD-SCT, 54 podstoupilo imunosupresivní léčbu. Ve skupině léčených imunosupresí (IST) bylo dosaženo léčebné odpovědi u 76 %pacientů, kumulativní výskyt relapsů byl 22 % a pravděpodobnost odpovědi na opakovanou léčbu ATG/CsA – 75 %. Celkové přežití (7letý OS) ve skupimě IST (92 ± 3,8 %) je srovnatelné se skupinou primárně transplantovaných (96 ± 3,5 %). Dlouhodobé přežití bez události (7letý EFS) ve skupině IST (58 ± 7,1 %) je významně horší než ve skupině MSD-SCT (92,3 ± 7,4 %). Transplantace kmenových buněk krvetvorby od alternativního dárce jako záchranná léčba při primárním selhání IST nebo neúspěšné léčbě relapsu je v našem souboru efektivním postupem s 5letým přežitím 80 %. Během dlouhodobého sledování nebylo ve skupině IST zaznamenáno žádné klonální onemocnění typu MDS/AML. U 7 z 37 monitorovaných pacientů (19 %) byl zachycen klonální vývoj do PNH. U 5 z nich byla PNH symptomatická a to včetně hemolytické/trombotické formy netypické pro PNH/AA syndrom. Kumulativní incidence PNH po imunosupresivní léčbě je v našem souboru 2,2 % (2 roky), 4,6 % (4 roky) 7,2 % (6 let) a 19,8 % (10 let od jejího zahájení). Naše zkušenosti potvrzují význam ATG v první linii léčby dětské aplastické anémie, umožňující při nízké toxicitě dosažení léčebné odpovědi u tří čtvrtin pacientů. Z dlouhodobého pohledu není vážnějším rizikem výskyt relapsů, ale oproti předpokladům významné riziko klonálního vývoje PNH včetně symptomatické hemolytické i trombotické formy.
Klíčová slova: aplastická anémie, imunosupresivní léčba, antithymocytární globulin, léčebná odpověď, relaps, PNH, klonální evoluce

Summary
Suková M., Mejstříková E., Campr V., Vodičková E., Smíšek P., Keslová P., Sedláček P., Šrámková L., Vávra V., Pindurová E., Zemanová Z., Starý J. Immunosuppressive therapy combining anti-thymocyte globulin and cyclosporine A in childhood acquired aplastic anaemia – long term-outcomes and risks

In patients with acquired aplastic anaemia (AA), autoimmunity has been shown to play an important role in the pathogenesis. Therefore immunosuppressive therapy combining cyclosporine A (CsA) and antithymocyte globulin (ATG) is currently a standard treatment regimen for paediatric patients with AA, if a matched sibling donor is not available. Response rate approximately 70% and a 10-20% risk of clonal evolution (paroxysmal nocturnal haemoglobinuria, myelodysplastic syndrome, acute myeloid leukaemia) are the main limitations of IST compared to allogeneic stem cell transplantation (MSD-SCT). Long-term experience with AA management is presented through a cohort of paediatric patients diagnosed with aplastic anaemia between 1996 and 2009 in the Czech Republic. A total of 72 children with a median age of 10.5 yrs (1.6-17.9 yrs) met the criteria of aplastic anaemia. First-line therapy followed HLA-identical sibling donor availability - 18 patients underwent MSD-SCT and 54 were given immunosuppressive therapy (IST). Overall survival (OS) at a median follow-up of 7 years was 96±3.5% in the SCT group and 92±3.8% in the IST group. There was a significant difference between 7-year EFS in the SCT group (92.3±7.4%) and in the IST group (58±7.1%). Overall response to IST was 76%. Cummulative relapse rate 22%, with 75% probability of response to repeated courses of IST. First-line IST failure and relapse treatment non-response in 12 patients was managed by stem cell transplantation from an alternative donor (MUD-SCT) followed by 5-year OS 80%. No MDS/AML clonal transformation was registered within a 7-year median follow-up after IST. PNH clonal evolution was registered in 7 out of 37 evaluated patients (19%) at a median interval of 108 months from start of IST. Five of these patients presented with clinical or laboratory symptoms of PNH including two thrombotic events. Only two patients

were asymptomatic, with a subclinical course typical of PNH/AA syndrome. The cumulative risk of PNH evolution following immunosuppressive treatment for aplastic anaemia is 2.2%...4.6% ...7.2%...19.8% 2, 4, 6 and 10 years from start of treatment. IST should be considered an effective alternative first-line therapy for paediatric aplastic anaemia, with acceptable toxicity facilitating at least temporary disease control in patients lacking a matched sibling donor. From a long-term perspective not relapses, but PNH clonal evolution including symptomatic haemolytic and thrombotic forms are of a major concern in therapy consequencies.
Key words: aplastic anaemia, immunosuppressive therapy, antithymocyte globulin, response, relapse, PNH, clonal evolution

Transfuze Hematol. dnes, 18, 2012, No. 3, p. 112–123.

Úvod

Získaná aplastická anémie (AA) je vzácné onemocnění kmenové hemopoetické buňky. V patogeneze hraje klíčovou roli autoagresivní působení oligoklonálně expandujících cytotoxických T lymfocytů namířené vůči CD34+ hematopoetickým prekurzorům, porucha opravy DNA a selhání funkce mikroprostředí kostní dřeně (1). V dětském věku se jedná o velmi vzácné onemocnění s incidencí 2/1 000 000/rok. Stejně jako u dospělých se v etiologii může uplatnit virová infekce (hepatitida) nebo toxické látky, většina případů přesto zůstává idiopatických. Diagnostika aplastické anémie je založena na průkazu periferní pancytopenie a hypoplazie kostní dřeně v trepanobiopsii. Podmínkou pro stanovení diagnózy je vyloučení vrozených selhání kostní dřeně (jmenovitě Fanconiho anémie, Shwachman-Diamondova syndromu a Dyskeratosis congenita) a klonálních onemocnění typu myelodysplastického syndromu (MDS). Vývoj útlumu kostní dřeně v čase a diskrétní morfologické rozdíly ve srovnání s refrakterní cytopenií (RCC) činí odlišení aplastické anémie a hypoplastické formy MDS často velmi obtížné, což se odráží v požadavku na opakované a v referenční laboratoři hodnocené morfologické a cytogenetické analýzy. Dříve nepříznivý osud dětských pacientů s aplastickou anémií (pravděpodobnost dlouhodobého přežití 32 %) (2) se zásadně změnil počátkem 90. let minulého století se zavedením transplantace kmenových buněk krvetvorby a kombinované imunosupresivní léčby (IST) jako léčebných modalit. I v současné době zůstává zlatým standardem pro dosažení plné rekonstituce krvetvorby transplantace kmenových buněk krvetvorby od HLA identického sourozeneckého dárce (MSD-SCT) s více než 90% pravděpodobností vyléčení (3). Alternativou při chybění HLA kompatibilního rodinného dárce je včasné zahájení kombinované imunosupresivní léčby antithymocytárním globulinem (ATG) a cyklosporinem A, případně v kombinaci s růstovými faktory (G-CSF). Účinnost různých režimů IST byla ověřena v několika multicentrických studiích (4–6) s obdobnými výsledky – primární odpovědi je dosaženo u cca 70 % pacientů, z dlouhodobého pohledu je limitující 20–30% výskyt relapsů a riziko klonální transformace (MDS/AML) 10–20 %. Úloha zkracování telomér, respektive porušená funkce telomerázového komplexu (TERT a TERC) v hematopoetických prekurzorech je diskutována jako příčina větší „zranitelnosti" aplastické krvetvorby vysvětlující tendenci k relapsu a klonální evoluci (MDS/AML, PNH) (11, 12, 13). Paroxysmální noční hemoglobinurie jako klonální onemocnění na podkladě získané somatické mutace PIG-A genu (Xp.22.1) je v klasické podobě charakterizována triádou příznaků: intravaskulární hemolýza s intermitentní hemoglobinurií, trombózy v atypických lokalizacích a selhání kostní dřeně. Asociace PNH a AA je dlouhodobě známá, (14). Výskyt malých klonů buněk s deficitem glycosylphosphatidylinositol kotvy (GPI-AP) v kostní dřeni při diagnóze aplastické anémie nebo vývoj PNH jako komplikace imunosupresivní léčby je popsán v různých souborech u 10–40 % dospělých pacientů (14–16) a u 30 % dětí (16–19). Možnou evoluci PNH klonu v průběhu aplastické anémie vysvětluje teorie o selektivní proliferativní výhodě poskytované PNH klonu v terénu aplastické dřeně (20). Tento stav, označovaný termínem PNH/AA syndrom, je spojen s projevy selhávání krvetvorby. Jen vzácně je nárůst klonu provázen symptomatickou hemolýzou, typickou pro klasickou hemolytickou formu PNH. Typický asymptomatický obraz PNH/AA syndromu je označovaný také jako subklinická forma PNH (15, 16, 21, 22).

V ČR je diagnostika a léčba dětských pacientů s aplastickou anémií od roku 1991 centralizována a koordinována v návaznosti na evropské projekty (EWOG-MDS a EWOG-SAA). Dosud publikované výsledky léčby v souboru českých pacientů za období 1991–1996 (23), ukazující pravděpodobnost 5letého přežití po SCT – 91 %, po IST – 82 % a 25% výskyt relapsů, jsou srovnatelné s daty uváděnými na velkých pediatrických souborech (6, 10, 24). V tomto sdělení předkládáme aktualizovanou analýzu osudu dětských pacientů léčených pro získanou aplastickou anémii v ČR v letech 1996–2009, s důrazem na zhodnocení efektu a komplikací IST. Zvláštní zaměření je cíleno na výskyt relapsů a úspěšnost jejich léčby, výskyt klonálních transformací a PNH/AA syndromu. Hodnocení je prováděno na základě retrospektivní analýzy dat a prospektivního monitorování po IST.

Pacienti a metody

Definice

Aplastická anémie je charakterizovaná periferní cytopenií minimálně ve 2 liniích (granulocyty < 0,5 x 10^9/l, trombocyty < 20 x 10^9/l, retikulocyty < 20 x 10^9/l) a hypocelulární kostní dření (buněčnost v biopsii pod 30 %). Podmínkou stanovení diagnózy AA je absence chromozomálních abnormit a vyloučení vrozených selhání krvetvorby a MDS. Stratifikace podle tíže je založena na hloubce periferní neutropenie: těžká aplastická anémie (SAA) má počet granulocytů < 0,5 x 10^9/l, velmi těžká aplastická anémie (vSAA) < 0,2 x 10^9/l. Pokud nejsou splněna kritéria hlubokého útlumu podle parametrů periferního krevního obrazu, je stav označován jako středně těžká aplastická anémie (non-SAA), jež je považována za iniciální fázi selhání krvetvorby.

Vyšetření při diagnóze

U všech dětí byla provedena aspirace kostní dřeně minimálně ze dvou míst a biopsie kostní dřeně. Dřeň byla podrobena histologické, cytomorfologické a konvenční cytogenetické analýze a FISH screeningu na přítomnost monozomie nebo delece 7. a trizomie 8. chromozomu. U pacientů s klinickým podezřením na Fanconiho anémii bylo provedeno genetické vyšetření včetně testování spontánních a indukovaných chromozomálních zlomů (DEB test). Všichni pacienti byli sérologicky vyšetřeni k vyloučení infekce hepatitidou A, B, C, autoimunitní hepatitidou, cytomegalovirem a virem Epsteina-Barrové. Dynamika vývoje u non-SAA byla ověřena opakovanou biopsií kostní dřeně.

Léčebný protokol

Léčba dětských pacientů s aplastickou anémií v ČR byla ve sledovaném období vedena v souladu s postupem německo-rakousko-nizozemské skupiny (SAA-94) (5), vycházející se zkušeností s IST u dospělých pacientů (25, 26). Léčebnou alternativou první volby byla alogenní transplantace kostní dřeně od HLA identického sourozence jako dárce štěpu s použitím standardního přípravného režimu Cyklofosfamid (200 mg/kg) + rATG Fresenius (40 mg/kg) nebo imunosupresivní léčba kombinací ATG a CsA. Koňský antithymocytární globulin (hATG = ALG, Lymphoglobuline R, Genzyme) byl podáván v jednotlivé dávce 15 mg/kg, po dobu 8 následujících dnů (od roku 2003 5 dnů). Variantou při nedostupnosti koňského ATG bylo užití králičího antithymocytárního globulinu (rATG, Thymoglobuline R, Genzyme) v jednotlivé dávce 3,75 mg/kg po dobu 5 dnů. V obou případech jde o preparáty připravené ze séra zvířat imunizovaných lidskými thymocyty. ATG byl podáván v kombinaci s metylprednizolonem (MP) k prevenci sérové nemoci v dávce 2–1 mg/kg/den s redukcí k vysazení do dne 28. Cyklosporin A (CsA) byl podáván od prvního dne v dávce 5 mg/kg/den s cílovou hladinou 150–250 ng/ml. Po dobu neutropenie byly paralelně v režimu „on demand“ podávány růstové granulocyty stimulující faktory (G-CSF) v dávce 5 μg/kg/den. Celková doba léčby CsA byla závislá na dosažení léčebné odpovědi, minimální doba podávání byla 6 měsíců, maximální 24 měsíců. Vysazování CsA formou stupňovité redukce bylo vzhledem ke známému riziku relapsů velmi pomalé. Nedosažení léčebné odpovědi nebo relaps byly indikací ke změně léčby – buď opakování ALG/ATG, nebo transplantace kmenových buněk od alternativního dárce (MUD-SCT). Podpůrná léčba vyvíjející se během 15 let zkušeností zahrnovala semisterilní, nízkobakteriální režim, s prevencí infekce *Pneumocystis carinii* (trimetoprim 6 mg/kg/den 2 dny v týdnu) a antimykotickou profylaxí zohledňující hloubku neutropenie (itraconazol, posaconazol). Případná empirická antibakteriální léčba zohledňovala recentní kolonizace a výskyt nozokomiálních kmenů.

Hodnocení odpovědi na léčbu

Odpověď na IST byla hodnocena podle dosažených parametrů krevního obrazu a závislosti na transfuzích v časových bodech den 120, 180, 270, 365 od zahájení IST (hematologická kritéria jsou definována evropskou pracovní skupinou pro SAA). Hodnocení primární odpo-

Tab. 1. Charakteristika pacientů podle typu primární léčby.

	IST	MSD-SCT
	(n = 54)	(n = 18)
Věk – medián (roky)	9,7 (1,6–17,7)	15,3 (3,3–17,9)
Pohlaví: chlapci	31 (57 %)	9 (50 %)
dívky	23 (43 %)	9 (50 %)
Stratifikace dle tíže: SAA	26 (48 %)	11 (61 %)
vSAA	16 (30 %)	5 (28 %)
nonSAA	12 (22 %)	2 (11 %)
Etiologie AA: idiopatická	43 (80 %)	15 (83 %)
hepatitis non-A, B, C, D, E	11 (20 %)	3 (17 %)
Interval diagnóza – ATG/SCT	10 (3–72) dnů	24 (14–35) dnů
Léčba:	ALG 8 dnů 24	Conditioning: CPH+ATG: 18
	ALG 5 dnů 27	Štěp: BM 14
	ATG 5 dnů 2	PBSC 3
	CsA pouze 1	BM+PBSC 1

Vysvětlivky štěp: BM – kostní dřeň, PBSC – periferní kmenové buňky, CPH - Cyklofosfamid

vědi bylo stanoveno na den 120 od zahájení imunosupresivní léčby. Kompletní odpověď (CR) předpokládá dosažení hodnot ANC > 1,5 x 10^9/l, trombocytů > 150 x 10^9/l, a hemoglobinu nad normu pro daný věk. Jako parciální odpověď bylo hodnoceno dosažení nezávislosti na transfuzích a určitý vzestup všech parametrů krevního obrazu (hemoglobin [Hgb] > 6,0 g/l, trombocyty >20 x 10^9/l, absolutní počet neutrofilů [ANC] >0,5 x 10^9/l). Za nedosažení léčebné odpovědi (nonresponse = NR) je označována trvající závislost na transfuzích a/nebo setrvalá hodnota ANC < 0,5 x 10^9/l. Relaps je definovaný jako recidiva potřeby transfuzí respektive pokles parametrů krevního obrazu o více než 50 % maximální dosažené hodnoty.

Pacienti

V období od 1. ledna 1996 do 31. prosince 2009 bylo v České republice diagnostikováno celkem 72 dětí se získanou AA, ve věku 1,6–17,9 roku (medián 10,5 roku), 40 chlapců a 32 dívek. Etiologicky byla aplastická anémie asociovaná se sérologicky negativní hepatitidou ve 14 případech (19 %) u ostatních 58 bylo onemocnění označeno jako idiopatické. Podle tíže onemocnění byli pacienti stratifikováni do skupin: těžká (n = 37) – 51 %, velmi těžká (n = 21) – 30 % a středně těžká AA (n = 14) – 19 %. Podle dostupnosti dárce bylo celkem 18 pacientů (25 %) primárně indikováno k MSD-SCT, 54 pacientů (75 %) bez HLA identického sourozence bylo léčeno IST. Detailní charakteristika skupin pacientů podle typu primární léčby je uvedena v tabulce 1.

Metody

V rámci celého souboru bylo hodnoceno celkové přežití, přežití bez události a srovnání obou parametrů podle typu primární léčby. Ve skupině pacientů léčených IST byl prospektivně sledován výskyt relapsů, klonálních onemocnění typu MDS/AML a PNH a úspěšnost jejich léčby. Prospektivní monitorování PNH klonu v periferní krvi je u pacientů po IST prováděno prospektivně od roku 2003. V roce 2007 byla navíc (na základě odhalení několika případů klinické PNH) provedena plošná klinická a laboratorní analýza PNH u všech dostupných nemonitorovaných pacientů po IST s cílem stanovit incidenci PNH/AA syndromu.

Laboratorní screening PNH je prováděn standardní metodou imunofenotypizace buněk periferní krve (erytrocytů, granulocytů/monocytů) panelem povrchových markerů GPI vázaných molekul (CD55, CD59, CD66c, CD14, CD16, CD24) (27). Výskyt PNH klonu v granulocytech a monocytech je navíc ověřován metodou FLAER (průkaz defektu pomocí bakteriálního toxinu se specifickou vazbou na GPI-AP kotvu). Metoda s citlivostí 10^{-3} dokáže zachytit a kvantifikovat PNH klon o velikosti < 1 %, včetně prognosticky významné specifikace typu I-III GPI-AP deficitních erytrocytů. Za významný klon je považován nález >1 % GPI-AP deficitních buněk v erytrocytech, granulocytech nebo monocytech, respektive kvantifikovatelný klon typu III v erytrocytech. U pacientů s klonem >5 % byla následně doplněna PCR sekvenační DNA analýza PIG-A genu (exonu 2-6) s cílem identifikace mutace (28). U všech pacientů s prokázaným signifikantním PNH klonem v granulocytech, monocytech a/nebo erytrocytech byla provedena retrospektivní klinická analýza ve smyslu symptomatické PNH a odpovědi na léčbu AA. Nález významného PNH klonu III. typu v erytrocytech a/nebo hemolytické projevy byly důvodem pro následné frekventní monitorování v periferní krvi.

Statistika

Výsledky léčby byly vyhodnoceny k 1. dubnu 2011. Data s nenominální distribucí byla vyjádřena v hodnotách mediánu. Odpověď na léčbu byla hodnocena podle hematologických kritérií den 120, den 180 a den 270 od zahájení IST, vyjádřena v procentech. Celkové přežití (OS) a přežití do události (EFS) jsou vyjádřeny jako pravděpodobnost události ve vztahu k datu diagnózy, k hodnocení byla použita metoda dle Kaplana-Meiera, s porovnáním rozdílů pomocí log-rank testu (29, 30). Jako událost pro stanovení celkového přežití (OS) bylo hodnoceno úmrtí z jakékoli příčiny. Pro stanovení přežití do události (EFS) úmrtí, nedosažení odpovědi, transplantace od alternativního dárce, relaps onemocnění, klonální transformace (MDS, AML), symptomatická PNH a sekundární malignita. Censorem pro dobu sledování byla smrt, transplantace od alternativního dárce a ztráta ze sledování. Hodnocení vzniku PNH v souvislosti s imunosupresivní léčbou (PNH/AA syndrom) bylo založeno na průkazu vzniku nového nebo symptomatické progrese původního PNH klonu. Pravděpodobnost výskytu PNH/AA syndromu v časovém vztahu k zahájení imunosupresivní léčby, je vyjádřena jako kumulativní incidence za přítomnosti konkurujících rizik, stanovena pomocí programu XLSTAT Version 2012.3.01 Addinsoft SARL (31).

Výsledky

Imunosupresivní léčba - léčebná odpověď

Z 54 dětí primárně léčených IST bylo léčebné odpovědi (hodnocené jako zlepšení parametrů periferního krevního obrazu a celularity kostní dřeně) den 120 od zahájení ALG dosaženo u 41 (76 %), z toho u 11 byla odpověď kompletní (CR - 20 %). 11 dětí nedosáhlo léčebné odpovědi den 120 (NR - 20 %). Odpověď den 180 byla hodnocena u 48 pacientů pokračujících v IST: léčebné odpovědi dosáhlo 40 z nich (85 %), 13 (28 %) mělo odpověď kompletní, 27 (57 %) parciální. 5 pacientů (11 %) zůstalo bez odpovědi v den 180 a 2 (4 %) prodělali časný relaps (podrobněji tab. 2). Z šesti dětí léčených druhou kúrou ATG tři zůstaly bez odpovědi a byly transplantovány od alternativního dárce a žijí v kompletní remisi, tři dosáhly postupně plné léčebné odpovědi, u jednoho z nich se ale v delším odstupu manifestovala PNH. U jednoho pacienta, který z důvodu absence vhodného dárce pro transplantaci pokračoval v prologované léčbě CsA, bylo zaznamenáno dosažení pozdní odpovědi po dni

180. Z primárně léčených IST zemřeli celkem 4 pacienti (7 %). 2 z nich na infekční komplikace do dne 100 (sepse *Pseudomonas aeruginosa*, respektive smíšená bakteriální a aspergilová infekce), 2 na komplikace při záchranné transplantaci od alternativního dárce. Detailní vyhodnocení léčebné odpovědi shrnuje schéma 1.

Relaps po imunosupresivní léčbě

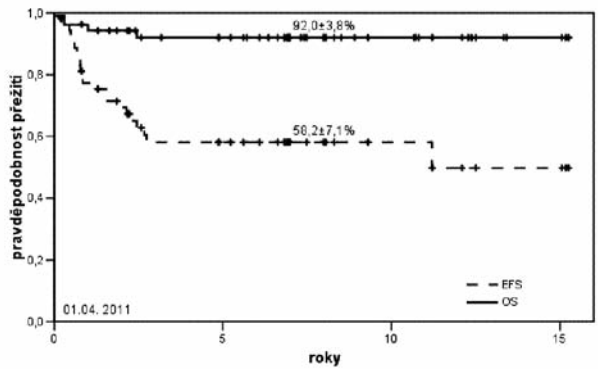
Celkem 9 pacientů (22 % z responderů) prodělalo relaps po imunosupresivní léčbě v odstupu 5–32 měsíců (medián 19 měsíců) od diagnózy. Relaps byl zaznamenán ve 4 případech časně, 2x ještě na léčbě CsA a 2x v intervalu do 6 měsíců po jeho vysazení. Vznik relapsu se nezdál být v souvislosti s předchozí dosaženou odpovědí (6 pacientů původně dosáhlo parciální, 3 kompletní remise). Opakovaná IST (u 4 dětí kombinace ATG a CsA, u 4 pouze CsA) vedla k léčebné odpovědi u 6 pacientů (75 %) – 3 dosáhli druhé kompletní remise, 3 prodělali druhý relaps, který byl u dvou úspěšně léčen CsA. Recidivující průběh aplastické anémie byl příčinou dlouhodobé léčby CsA (45 a 47 měsíců) u 2 pacientů a byl spojen s PNH klonální evolucí. V současné době při mediánu sledování 10,2 roku žije 8 z 9 původně relabujících pacientů, 6 v kompletní remisi (4 z nich po MUD-SCT), 2 v parciální remisi na léčbě CsA. 2 pacienti s PNH manifestující se bez souvislosti s relapsem jsou léčeni kombinací kortikoidů a CsA (tab. 3).

Osud pacientů při selhání imunosupresivní léčby

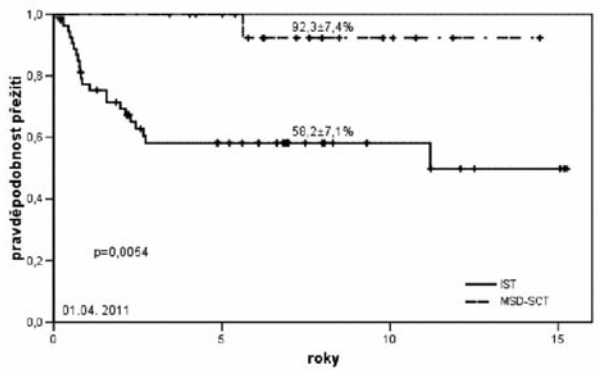
K záchranné MUD-SCT bylo indikováno 8 pacientů s absencí primární léčebné odpovědi (čtyři po 1. kúře ATG, tři po 2. kúře ATG a jeden pro postupné vyhasnutí parciální odpovědi) a čtyři pacienti s relapsem a selháním opakované IST. Jako štěp byla ve všech případech (n = 12) využita dárcovská kostní dřeň. Myeloablativní přípravné režimy byly převážně (n = 8) založeny na kombinaci cyklofosfamidu, ATG a celotělového ozáření (TBI), které bylo postupně redukováno z vysokých dávek 10–14,4 Gy na 6 Gy. U tří pacientů transplantovaných od roku 2008 byl jako příprava k MUD-SCT použit režim s redukovanou intenzitou (fludarabin + cyklofosfamid nebo fludarabin + thiotepa + threosulfan). Detailní analýza předtransplantačních režimů, komplikací a výsledků transplantace je uvedena v článku Pindurové, et al. (32). Celková úspěšnost záchranné léčby po selhání IST formou transplantace od alternativního dárce představuje v naší skupině 5letý OS 80 ± 12,6 % a 5letý EFS 70 ± 14,5 %.

Celkové přežití a přežití bez události – srovnání účinnosti IST a SCT

V celé skupině dětí léčených pro aplastickou anémii je při mediánu sledování 7 let dlouhodobé přežití 92 ± 3,4 %, přežití bez události 67 ± 5,8 %. Ve skupině léčených imunosupresí je pravděpodobnost dosažení primární léčebné odpovědi 76 %, dlouhodobé přežití (7letý OS) je 92 ± 3,8 %, přežití bez události (7letý EFS) 58 ± 7,1 % (graf 1). U žádného pacienta léčeného imunosupresí nebyl zaznamenán výskyt klonální transformace typu MDS/AML ani vznik chromozomální aberace. Léčebná odpověď po MSD-SCT, respektive přihojení štěpu s rekonstitucí krvetvorby je v našem souboru 100 %. Při nulovém výskytu úmrtí v souvislosti s transplantací



Graf 1. Celkové přežití (OS) a přežití do události (EFS) ve skupině léčených imunosupresí s udanými hodnotami v 7 letech (n = 54).



Graf 2. Srovnání pravděpodobnosti přežití do události (EFS) ve skupině léčených imunosupresí (IST) a ve skupině transplantovaných od HLA-identického sourozence (MSD-SCT).

Tab. 2. Odpověď na imunosupresivní léčbu podle hematologických kritérií.

Interval od zahájení ATG	den 120	den 180	den 270
počet pacientů pokračujících v IST	n - 54	n - 48 (6 po 2. ATG)	N - 44 (3 po 2. ATG)
CR	11 (20 %)	13 (28 %)	21 (49 %)
PR	30 (56 %)	27 (57 %)	20 (47 %)
NR	11 (20 %)	5 (11 %)	1 (2 %)
smrt bez odpovědi	2 (4 %)	0	0
Relaps	0	2 (4 %)	1 (2 %)
Žije	96 %	96 %	94 %

Vysvětlivky: CR – kompletní odpověď, PR – parciální odpověď, NR – non response

Tab. 3. Relaps po imunosupresivní léčbě – charakteristika pacientů.

	Pohlaví/ věk (roky)	AA	Léčba AA (počet dávek)	Odpověď v době relapsu	Interval od vysazení CsA	Léčba relapsu	Odpověď na léčbu relapsu	Současný stav	Doba sledování (roky)
1	M / 8,7	SAA	ALG 8	PR	21 měs.	ATG	NR MUD-SCT	CR po MUD-SCT	10,7
2	M / 14,7	nonSAA	ALG 8	CR	18 měs.	CsA	PR 2. relaps (CsA)	3. PR na léčbě CsA PNH	10,2
3	M / 15,9	vSAA	ALG 8	PR	2 měs.	CsA	PR	CR	11,6
4	M / 15,4	SAA	ALG 8	CR	10 měs.	CsA	CR - 2., 3. relaps + PNH	4. CR po MUD-SCT	10,2
5	F / 11,5	SAA	ALG 8	PR	na CsA	ATG	CR	PNH	10,2
6	M / 1,9	SAA	ALG 8	CR	22 měs.	ATG	NR	exitus po MUD-SCT (aGVHD)	-
7	F / 10,5	nonSAA	ALG 8	CR	7 měs.	ATG	PR, 2. relaps	CR po MUD-SCT	7,0
8	F / 12,7	SAA	ALG 5	PR	na CsA	MUD-SCT	CR	CR po MUD-SCT	5,8
9	F/ 13	nonSAA	ALG 5	CR	6 měs.	CsA	PR	PR	0,2

Vysvětlivky: CR – kompletní odpověď, PR – parciální odpověď, NR – non response, aGVHD – akutní reakce štěpu proti hostiteli

Tab. 4. Paroxysmální noční hemoglobinurie jako klonální evoluce po imunosupresivní léčbě (PNH/AA syndrom) – charakteristika pacientů.

Pohlaví /věk při dg AA	PNH klon při dg AA	Léčba AA délka CsA (měsíce)	Interval ATG-PNH (měsíce)	Věk při dg PNH (roky)	Symptomy PNH	PNH klon gran/ery (%)	PIG-A mutace	Léčba PNH	Současný stav	Doba sledování (roky)
1 F /SAA 8,5 r	FC: ND Ham: neg	ALG 8 CsA 14m	32	11,3 r	Hgb-urie pancytopenie	65 / 75	sestřihová -G inzerce 5’	warfarin+ CS	subklin. hemolýza cytopenie	5,3
2 M/SAA 16,4 r	FC: neg Ham: neg	ALG 5 CsA 12m	24	18,4 r	labor markery hemolýzy	40 / 22 (gIII-7,9)	bodová (T-A) L139H	0	mírná cytopenie	5,2
3 M/ SAA 15,5 r	FC: ND Ham: ND	ALG 8 CsA 9+36m	60	20,5 r	pancytopenie	50 / 50	ND	CsA + CS MUD-SCT při BMF	remise - autologní krvetvorba	3,9
4 M/ vSAA 13,5 r	FC: ND Ham: ND	ALG 8 CsA 16m	134	24,5 r	Budd-Chiari syndrom	65-99 /25-95 (gIII 95)	sestřihová A inzerce n. p. 514	TIPS, warfarin+CS	recidivující hemolýza	2,2
5 M/ nonSAA 4,8 r	FC: ND Ham: ND	ALG 8 CsA 10m	137	16,3 r	0	38 / 13 (gIII 23)	bodová (G-C)K169N	0	asymptom	3,8
6 M/ nonSAA 14,7 r	FC: ND Ham: ND	ALG 8 CsA 9 m + 38 m	114	24,5 r	bicytopenie	10 / 12	sestřihová inzerce intron2/exon3	CsA	cytopenie	1,3
7 F / SAA 11,5 r	FC: ND Ham: neg	ALG 8 CsA 13	108	20,6 r	bicytopenie Hgb-urie	10 / 3	nenalezena	CsA + CS	subklin. hemolýza	1,5

Vysvětlivky: dg – diagnóza, Ham – Hamův test, FC – vyšetření PNH klonu průtokovou cytometrií, ND – nevyšetřeno, CS – kortikosteroidy, Hgb-urie – hemoglobinurie doba sledování = od diagnózy PNH

(TRM) a nulovém výskytu relapsů je 7letý EFS ve skupině MSD-SCT 92,3 ± 7,4 % a 7letý OS 96 ± 3,5 % (32). Srovnání dlouhodobé účinnosti léčby u primárně léčených IST a transplantovaných od HLA-identického sourozence ukazuje graf 2. Přežití bez události je statisticky významně horší ve skupině IST (p = 0,0054).

Klonální evoluce po imunosupresivní léčbě, PNH/AA syndrom

Standardní screening PNH klonu metodou průtokové cytometrie byl při diagnóze proveden u 38/72 pacientů, z toho u 26 v IST skupině. Významný PNH klon byl iniciálně zachycen pouze u jedné pacientky. Klon s velikostí

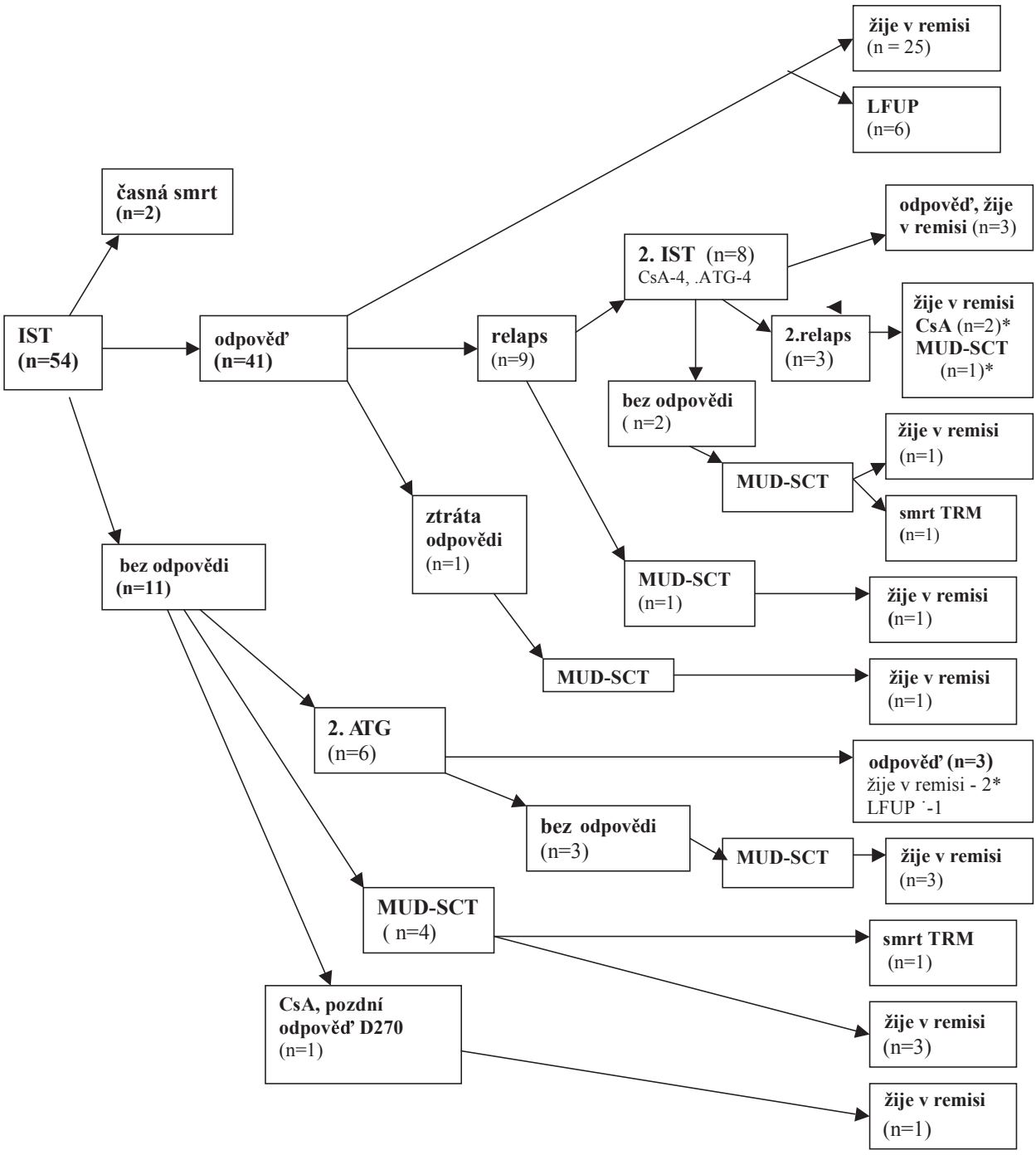
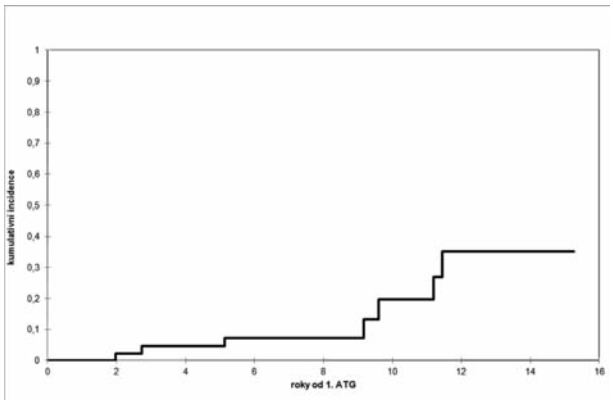


Schéma 1. Schematické znázornění léčebných výsledků ve skupině léčených imunosupresí.

5 % v erytrocytech a 8 % v granulocytech zůstal stabilní v průběhu IST, při dosažení kompletní odpovědi i při následném relapsu. Celkem 28 pacientů bylo monitorováno na vývoj PNH klonu po IST (24 a při diagnóze + 4 původně nevyšetření). Z 27 původně negativních byla evoluce klonu zachycena u 2 (7 %), v intervalu 24 a 108 měsíců po podání ATG. Nález PNH klonu o velikosti 40 % a 22 %, v granulocytech respektive 10 % a 3 % v erytrocytech periferní krve byl provázen subklinickou hemolýzou a určitým poklesem parametrů krevního obrazu při normální buněčnosti kostní dřeně. Kromě toho byl vznik PNH/AA syndromu zachycen u dalších pěti původně nevyšetřených pacientů. U tří z nich s velikostí klonu > 50 % byla PNH symptomatická, provázená hemolytickými/trombotickými projevy (Budd-Chiari syndrom, recidivující těžká hemolýza, refrakterní pancytopenie) zjištěnými 32, 60 a 134 měsíců od diagnózy AA v kompletní nebo parciální remisi. Další 2 případy asymptomatické PHN byly zachyceny na základě plošné analýzy provedené v IST skupině v roce 2007. Podrobná charakteristika jednotlivých případů PNH/AA syndromu je uvedena v tabulce 4. PCR sekvenační analýza PIG-A genu byla provedena u šesti pacientů, u pěti z nich byla potvrzena kauzální somatická mutace asociovaná s PNH. Výskyt PNH po IST je v našem souboru 19 %. V 5 případech (14 %) se jednalo o obraz PNH s klinickými a laboratorními známkami hemolýzy, eventuálně trombózy, pouze ve 2 případech o klasickou subklinickou formu PNH. Pravděpodobnost vzniku PNH/AA syndromu po IST vyjádřená jako kumulativní incidence je v našem souboru 2,2 % (2 roky), 4,6 % (4 roky) 7,2 % (6 let) a 19,8 % (10 let) od jejího zahájení (graf 3).



Graf 3. Kumulativní incidence PNH po imunosupresivní léčbě.

Shrnutí léčebných výsledků IST

Z celé skupiny 54 dětí léčených IST žije v současné době 51, bez léčby 45, z toho 40 v kompletní remisi (10 z nich po MUD-SCT) a 5 v parciální remisi. Sedm z těchto dětí je ztraceno ze sledování. Šest pacientů je dosud, z důvodu relabujícího průběhu nebo PNH, léčeno CsA v kontinuální délce podávání 23–48 měsíců. Kvalita života všech pacientů po ukončení IST je velmi dobrá. Dosud se, kromě sekundárního NHL u pacientky po komplikované MUD-SCT, nevyskytly žádné pozdní následky léčby.

Diskuse

První podmínkou úspěšné IST léčby AA je rychlá a přesná diagnostika, respektive vyloučení vrozených selhání kostní dřeně a hypoplastického MDS - refrakterní cytopenie (RCC), které v dětském věku obraz AA mohou imitovat. Zatímco evropská spolupráce má v diagnostice a léčbě MDS u dětí tradici od první poloviny devadesátých let, kdy byla založena evropská pracovní skupina EWOG-MDS, mezinárodní studie diagnostiky a léčby AA (EWOG-SAA) byla zahájena až v roce 2011. Jednotný systém referenčních cytomorfologických, cytogenetických a výzkumných laboratoří zabývajících se současně MDS i SAA povede k hlubšímu poznání etiologie a patogeneze aplastické anémie a refrakterní cytopenie. V rámci studie EWOG-SAA jsou doporučeny před zahájením léčby dvě biopsie kostní dřeně v intervalu 2 týdnů stejně jako je tomu i u refrakterní cytopenie. Tento přístup mírně oddálí zahájení IST či transplantace, přispěje ale k lepšímu odlišení AA a RCC. Není vyloučeno, že někteří pacienti se středně těžkou anémií v našem souboru by za dnešního stavu poznání mohli být diagnostikováni jako RCC (WHO klasifikace 2008) s nižší pravděpodobností odpovědi na IST (26). Rutinní cytogenetické vyšetření a FISH screening při diagnóze jistě přispěly k odlišení hypoplastického MDS s nálezem klonálních změn, kterými jsou v dětském věku prakticky výlučně monozomie 7 a/nebo nebo trizomie 8.

Prvotní zkušenosti s léčbou AA v éře MSD-SCT a IST v České republice jsou shrnuty v článku v Čs Pediatrii 1998 (23), potvrzujícím vysokou úspěšnost obou léčebných postupů (OS MSD-SCT: 91 %, OS IST: 82 %) jako výsledek časného zahájení léčby a centralizace pacientů. Naše práce hodnotí výsledky léčby dětské AA od roku 1996, v následném 14letém období stabilně nastaveného léčebného postupu, za postupně se zdokonalující transplantační a podpůrné péče. Ve srovnání s historickými soubory je rychlost diagnostiky, vyjádřená jako interval k zahájení léčby, srovnatelná (tab. 1). MSD-SCT je nadále vzhledem k nízké toxicitě a vysoké pravděpodobnosti vyléčení preferována jako léčba první volby. V našem souboru mělo HLA identického sourozence 18 (25 %) pacientů, z nich až na jedno dítě, které zemřelo tragicky na následky dopravní nehody, ostatní žijí, vyléčeni, nikdo neprodělal relaps nemoci. Karnofského/Lanského skóre pacientů je 100 %. Až na jednoho pacienta nikdo netrpí extenzivní chronickou reakcí štěpu proti hostiteli. Alternativou pro pacienty postrádající HLA identického sourozence je IST. Účinnost Lymphoglobulinu byla ověřena v četných studiích i u dětských pacientů s aplastickou anémií, alternativní použití Thymoglobulinu při další nedostupnosti ALG je podloženo studiemi u dospělých pacientů s nízce rizikovým MDS (26). IST v našem souboru podstoupilo 54 dětí. Významné snížení časné mortality (4 %) ve srovnání s historickým souborem z 80. let (32 %) (2) je výsledkem standardního užití G-CSF v časné fázi neutropenie, umožňující zkrácení fáze agranulocy-

tózy. Na dalším zlepšení ve srovnání se souborem z 90. let (9 %) (23) se nepochybně podílí zlepšující se podpůrná péče. Recentně publikovaná randomizovaná studie evropské pracovní skupiny pro AA EBMT srovnávající IST léčbu s a bez současného podání G-CSF neprokázala rozdíl v EFS i OS v obou skupinách (v celém souboru zastoupeno 16 % dětí). Podání G-CSF snížilo výskyt časných infekcí a zkrátilo dobu hospitalizace (33). Současným doporučením v rámci studie EWOG-SAA je nepodávat G-CSF déle než 60 dní i při chybějícím vzestupu neutrofilů. Důvodem je zvýšené riziko vývoje klonálního onemocnění (MDS, AML) s aberacemi 7. chromozomu spojené s dlouhodobou léčbou G-CSF (9, 34). Klinická pozorování jsou podložena hypotézou o expanzi preexistujících malých klonů s monozomií 7 pod „tlakem" G-CSF (35). Významný podíl na vzniku této komplikace má jistě ale i dlouhodobá imunosuprese. Sami jsme G-CSF podávali intermitentně v závislosti na periferním krevním obrazu s cílem držet absolutní počet neutrofilů nad 0,5 x 10^9/l. Délka léčby byla individuální v závislosti na léčebné odpovědi a nepřesahovala u žádného pacienta 120 dnů. Tato relativně krátká doba podávání G-CSF spolu s rutinně prováděným cytogenetickým vyšetřením při diagnóze a centralizovanou cytomorfologickou diagnostikou může být vysvětlením skutečnosti, že se v našem souboru i při dostatečně dlouhé době sledování nevyskytl žádný případ MDS či AML.

Výsledky hodnotící primární odpověď na IST (76 %), dlouhodobé přežití (7letý OS – 92 %) a přežití bez události (7letý EFS – 58 %) jsou jasně lepší ve srovnání se situací v 80. letech (dosažení dočasné odpovědi u 15/22 pacientů, OS 32 %) (2) a jsou srovnatelné s velkými zahraničními pediatrickými soubory (6, 10, 36). Ale zdá se, že IST kombinací ATG+CsA dosáhla svého maxima. Výskyt non-responderů na tuto léčbu je 30 %. V současné době panují obavy, že se výsledky IST naopak mohou zhoršovat. Po ukončení výroby koňského Lymphoglobulinu (Genzyme) jsou v Evropě všichni pacienti léčeni králičím ATG (Thymoglobulin, Genzyme). Předběžné výsledky této léčby vykazují zhoršení léčebných odpovědí i přežití ve srovnání s léčbou koňským ALG (37). Za prediktivní faktory léčebné odpovědi se považují absolutní počet retikulocytů před léčbou ≥ 25x10^9/l, nález malého PNH klonu a dětský věk (38). Naopak nedostatečný vzestup granulocytů (< 0,5x10^9/l) při podání G-GSF 30 dní od zahájení IST je nepříznivým prognostickým faktorem (33). Klíčovou roli v odpovědi na IST tak hraje reziduální funkce kostní dřeně (počet zbylých kmenových buněk).

Pravděpodobnost dosažení opožděné odpovědi u nonresponderů den 120 je při pokračování léčby cyklosporinem A 10–20 %. V našem souboru takto reagovalo 8 % dětí, v souboru Führerové 13 % pacientů (8). Protože se nedaří tuto malou skupinu pozdních responderů na IST predikovat, byla v našem souboru při nedosažení léčebné odpovědi 120 dní od začátku IST podána 2. kúra ATG. 50 % dětí (3 ze 6) na tuto léčbu odpovědělo a žije v remisi, i když jeden z pacientů pozdně vyvinul PNH.

Vzhledem ke zlepšujícím se výsledkům transplantace od nepříbuzného dárce (díky optimalizaci vyhledávání dárců při aplikaci molekulárních metod do HLA analýz a snížení toxicity předtransplantační přípravy zařazením fludarabinu a redukcí celotělového ozáření) je v posledních letech MUD-SCT od HLA identického alternativního dárce metodou první volby při nedosažení léčebné odpovědi den 120. Bacigalupo dosahuje při tomto postupu 5letého přežití 92 % v souboru transplantovaných po roce 2004 (39). V našem souboru byli jako nonrespondeři den 120 transplantováni 4 pacienti, z nichž 3 žijí v kompletní remisi, jeden zemřel na komplikace v souvislosti s transplantací. V celém souboru transplantovaných od alternativního dárce (n = 12) je úspěšnost přihojení štěpu (HLA shoda 8/-10/10) 100 % s jedním případem časné rejekce, 5letý OS je 80 % a 5letý EFS 70 %. Smrt na transplantační komplikace dosahuje 18 % (32). Podmínkou zařazení MUD-SCT do druhé linie léčby je zahájení hledání dárce v registrech ihned po zahájení IST. Není-li nalezen HLA identický dárce (shoda 9-10/10), je u nonresponderů léčebnou metodou volby druhá kúra ATG, pokračování v léčbě CsA s nadějí na pozdní odpověď.

V souladu s publikovanými daty (5, 6) je i v našem souboru srovnatelné dlouhodobé přežití ve skupině primárně transplantovaných od MSD (7letý OS 96 ± 3,5 %) a primárně léčených IST (7letý OS 92 ± 3,8 %). Nepříznivou informaci Frickhofena o dlouhodobých výsledcích IST léčby u dospělých pacientů (10leté přežití 60 %) zmírnila Monica Führer analýzou dlouhodobých výsledků SAA-94 studie. Deset let od diagnózy žilo 81 % dětí léčených IST a 89 % pacientů léčených MSD-SCT (ústní sdělení). V našem souboru žije deset let od diagnózy 88 % dětí po imunosupresivní léčbě a 93 % dětí po MSD-SCT. Přežití bez události (7letý EFS) je ve skupině IST (58 ± 7,1 %) signifikantně horší než ve skupině MSD-SCT 92,3 ± 7,4 %) (p = 0,0054) (graf 3). Hlavní podíl na horších dlouhodobých výsledcích ve skupině IST má výskyt relapsů (22 %), který je ale nižší než v historicky uváděné skupině do roku 1996 (34 %) (23). Vysvětlením je již výše zmiňovaná časnější indikce k MUD-SCT při selhávání léčby CsA. Opakování IST v případě relapsu (2. cyklus ATG nebo pouze CsA podle stupně a dynamiky nástupu selhání dřeně) vedlo v našem souboru k alespoň určité léčebné odpovědi u tří čtvrtin pacientů, což potvrzuje opodstatněnost tohoto postupu ve snaze navození druhé remise (40). Literárně udávaný prognostický význam předchozí délky léčby CsA pro vznik relapsu (10, 24) v našem souboru nebyl potvrzen: délka původní léčby CsA ve skupině relabujících má medián 9 měsíců (7–18) měsíců, ve skupině nerelabujících: 11 měsíců (6–27 měsíců), výsledek je pravděpodobně ovlivněn malým počtem pacientů. V souladu s literárními údaji třetina relabujících pacientů prodělá recidivy opakovaně, zřejmě jako důsledek imunosupresí nepostižitelného poškození mikroprostředí stromatu kostní dřeně (1). Opakované relapsy jsou přesto úspěšně ovlivnitelné IST s rizikem vzniku závislosti na CsA v 15–25 % (10, 24). V naší skupině responderů na imunosupresivní léčbu jsme

zaznamenali závislost na CsA (podávání déle než 36 měsíců) pouze u 2 pacientů (5 %). Opakovaně relabující průběh AA je v našem souboru asociován s vývojem PNH klonu, nicméně vzhledem k absenci diagnostického vyšetření PNH klonu je prediktivní význam tohoto vztahu nehodnotitelný. Stejně tak, vzhledem k malému počtu pacientů není validně proveditelná ani prediktivní analýza dalších parametrů vzhledem k relapsu. Selhání IST v léčbě relapsu je indikací k MUD-SCT, která v našich podmínkách má 75% pravděpodobnost dosažení trvalé remise.

PNH jako pozdní komplikace IST (PNH/AA syndrom) je v souborech dospělých pacientů dokumentována v 10–40 % případů. V detailně hodnocených souborech je zdůrazňována častá spontánní regrese preexistujícího klonu během IST, evoluce klonu cca u 20 % pacientů a typická subklinická forma PNH. Progrese PNH klonu je méně obvyklá (15–25 %) výskyt symptomatické hemolytické/trombotické PNH asociované s velikostí klonu > 50 % je vzácný (16, 17, 21). U dětí je dosud publikováno pouze několik desítek případů PNH, převážně formou kazuistik nebo malých souborů (17–19). Jediná retrospektivní analýza hodnotící asociaci PNH a AA na podsouboru dětských pacientů byla publikována v roce 2010 Scheinbergem (16). Z celkem 207 pacientů 40 % mělo prokazatelný PNH klon při diagnóze, který u 25 % progredoval v průběhu IST, ale jen u 7 (3 %) do symptomatické formy vyžadující léčbu PNH. Ze 47 dětí mělo 14 (31 %) preexistující PNH klon s mediánem velikosti 16 %, který u všech v průběhu IST regredoval, nevyskytl se ani jeden případ symptomatické PNH. Scheinberg uzavírá, že výskyt ani průběh PNH asociované s AA se u dětí neliší od dospělých, hemolytické a trombotické projevy jsou považovány za raritní. V doporučeních pro diagnostiku AA se objevuje požadavek na vyšetření a monitorování PNH klonu v posledním desetiletí, u dětských pacientů v ČR byla analýza PNH klonu systematicky zavedena spolu se zavedením moderních metodik průtokové cytometrie od roku 2003. Do té doby byli pacienti vyšetřováni pouze selektivně, ne zcela senzitivní metodou Hamova testu. Významný PNH klon (dle FC >1 %) v erytrocytech/granulocytech – byl při diagnóze získané AA zachycen pouze u 1 z 38 vyšetřených (3 %). Přesto incidence PNH/AA syndromu, respektive vývoje PNH v průběhu imunosupresivní léčby je 19 % (7/37 sledovaných pacientů). Soubor je hodnocen jednak retrospektivně (n = 37), jednak (od roku 2003) prospektivně (n = 29). Medián vzniku PNH je 9 let (2,7–11,4 roku) od zahájení IST. Na rozdíl od literárních údajů se u tří z našich pacientů (43 % ze všech s nálezem významného PNH klonu) PNH manifestovala jako symptomatická, hemolytická/trombotická forma, 2 měli projevy intermitentní hemolýzy s cytopenií a pouze 2 pacienti splňovali kritéria pro PNH/AA syndrom typické formy subklinické. Stupeň hemolytických/trombotických projevů PNH se zdá dle původních předpokladů (16, 41) korelovat s velikostí klonu. Neobvykle vysoký výskyt hemolytické/trombotické formy PNH je částečně vysvětlitelný faktem, že žádný ze symptomatických pacientů nebyl (vzhledem k datu diagnózy) primárně vyšetřen na přítomnost PNH klonu ani na jeho vývoj monitorován. Symptomatologie PNH byla prvním projevem existence již významného klonu, který se pravděpodobně vyvíjel delší dobu. Na druhou stranu, o rychlosti vývoje klonu a její asociaci s klinickými projevy PNH lze jen spekulovat, jak dokládá případ pacientů č. 2 a 5 se subklinickými projevy, kteří jsou asymptomatičtí i při trvalé přítomnosti velmi významného klonu (38 % a 40 % v granulocytech a 13 % a 22 % v erytrocytech) a případ pacientky č. 7 se symptomatickou hemoglobinurií v přítomnosti „nevýznamného“ klonu (3 % v erytrocytech). Pacienti se symptomatickou PNH byli léčeni dle současných doporučení (41, 42) vzhledem k věku převážně na pracovištích pro dospělé hematologie, většinou kombinací kortikoidů, CsA a antikoagulancií. Pacient č. 3, kde byl vývoj PNH klonu spojen s relabujícím průběhem AA a progresí do rezistentního selhání kostní dřeně, podstoupil komplikovanou MUD-SCT se selháním štěpu následovanou rekonstitucí autologní krvetvorby s překvapivou obnovou trilineární hematopoézy a vymizením PNH klonu. Naše pozorování potvrzují významné riziko vývoje PNH jako pozdní komplikace imunosupresivní léčby i u dětí. Kumulativní incidence vzniku PNH po IST se významně zvyšuje po 10. roce od jejího zahájení (graf 3). Za závažný považujeme fakt, že evoluce do obrazu PNH/AA syndromu může trvat i déle než 10 let a že nelze vyloučit ani výskyt dosud nepředpokládané závažné formy PNH. Vztah PNH/AA syndromu k původní preexistenci PNH klonu v terénu selhávající dřeně a rychlost jeho evoluce nelze zatím z důvodu malého počtu systematicky monitorovaných pacientů (n = 23) a nedostatečné doby sledování (medián 4,1 roku) spolehlivě hodnotit. Prospektivní monitorování stávající skupiny pacientů pokračuje s perspektivou přehodnocení po dosažení mediánu follow-up minimálně 5 let, což u řady pacientů bude vyžadovat spolupráci s pracovišti hematologie pro dospělé.

Závěr

Získaná AA v dětském věku je vzácné onemocnění se závažnou prognózou, v dnešní době kauzálně ovlivnitelné MSD-SCT s perspektivou dosažení dlouhodobé léčebné odpovědi u více než 95 % pacientů. Pro skupinu pacientů postrádajících HLA identického sourozeneckého dárce je alternativou první volby IST, kterou lze i dle našich zkušeností dosáhnout více než 70% primární léčebné odpovědi, dlouhodobého přežití srovnatelného s MSD-SCT a dlouhodobého přežití bez události u více než poloviny pacientů při akceptovatelné toxicitě. Selhání IST nebo relaps onemocnění jsou s vysokou úspěšností (70–80 %) ovlivnitelné transplantací od alternativního dárce, jejíž indikace se díky stále se zlepšující metodice vyhledávání dárců a snižující se morbiditě spojené s MUD-SCT při trendu ke snížení toxicity přípravných režimů dostává do časnějších stadií terapeutického plánu.

Riziko vývoje klonální transformace do MDS/AML se z našeho pohledu, díky cílenému vyřazení pacientů s možnými preexistujícími chromozomálními aberacemi, nejeví jako významné. Naopak riziko vývoje PNH klonu včetně symptomatické hemolytické formy PNH i ve velmi dlouhém intervalu od IST (>10 let) vyžaduje důsledné sledování pacientů v dlouhodobé remisi a pravidelnou monitorování PNH přesahující období dětského věku. Podmínkou pro dosažení výsledků, které jsou plně srovnatelné s velkými světovými pediatrickými soubory, je centralizace diagnostiky SAA, návaznost na mezinárodní výzkumné projekty (EWOG-SAA 2010) a léčba na specializovaném pracovišti se zkušenostmi s imunosupresivní léčbou a alogenní SCT.

Seznam zkratek

AA	aplastická anémie
ANC	absolutní počet neutrofilů
ATG	antithymocytární globulin
ALG	antilymfocytární globulin
BMF	selhání kostní dřeně
CsA	cyklosporin A
G-CSF	růstové granulocyty stimulující faktory
IST	imunosupresivní léčba
MDS/AML	myelodysplastický syndrom/ akutní myeloidní leukemie
NR	non-response – bez odpovědi
PNH	paroxysmální noční hemoglobinurie
PNH klon	vyjádřeno jako % CD55,59 negativních buněk v granulocytech/erytrocytech
SAA	těžká aplastická anémie
vSAA	velmi těžká aplastická anémie
nonSAA	středně těžká aplastická anémie
SCT	alogenní transplantace kmenových buněk krvetvorby
MSD-SCT	transplantace krvetvorných buněk od HLA-identického sourozence
MUD-SCT	transplantace kmenových buněk od alternativního dárce

Literatura

1. Young NS, Calado RT, Scheinberg P, et al. Current concepts in the patophysiology and treatment of aplastic anemia. Blood 2006; 108: 2509-2519.
2. Hrodek O, Hyniová H, Chudomel V. Dřeňové útlumy u dětí. Čs Pediatrie 1982; 37: 562-570.
3. Davies JK, Guinan EC. An update on the management of severe idiopathic aplastic anaemia in children. Br J Haematol 2007; 136: 549-564.
4. Frickhofen N, Heimpel H, Kaltwasser JP, Schrezenmeier H. Antithymocyte globulin with or without cyclosporin A: 11-year follow-up of a randomized trial comparing treatments of aplastic anemia. Blood 2003; 101: 1236-1242.
5. Fuhrer M, Burdech S, Ebell W, et al. Relapse and clonal disease in children with aplastic anemia (AA) after immunosuppressive therapy (IST): the SAA 94 experience. German/Austrian Pediatric Aplastic Anemia Working Group. Klin Pediatr 1998; 210: 173-179.
6. Kojima S, Horine K, Inaba J, et al. Long term outcome of acquired aplastic anaemia in children: comparison between immunosuppressive therapy and bone marrow transplantation. Br J Haematol 2000; 111: 321-328.
7. Tichelli A, Gratwohl A, Nissen C, et al. Late clonal complications in severe aplastic anemia. Leuk Lymphoma 1994; 12: 167-175.
8. Socie G, Rosenfeld S, Frickhofen N, et al. Late clonal diseases of treated aplastic anemia. Semin Hematol 2000; 37: 91-101.
9. Kojima S, Ohara A, Tsuchida M, et al. Risk factors for evolution of acquired aplastic anaemia into myelodysplastic syndrome and acute myeloid leukemia after immunosuppressive therapy in children. Blood 2002; 100: 766-790.
10. Fuhrer M, Rampf U, Baumann I, et al. Immunosuppressive therapy for aplastic anemia in children: a more severe disease predicts better survival. Blood 2005; 106: 2102-2104.
11. Lee JJ, Kook H, Chung IJ, et al. Telomere length changes in patients with aplastic anaemia. Br J Haematol 2001; 112: 1026-1030.
12. Calado RT, Young NS. Telomere maintenance and human bone marrow failure. Blood 2008; 111: 4446-4455.
13. Scheinberg P, Cooper JN, Sloand EM, et al. Association of telomerase length of peripheral blood leukocytes with hematopoietic relapse, malignant transformation, and survival in severe aplastic anemia. JAMA 2010; 304: 1358-1364.
14. Young NS, Maciejewski JP, Sloand E, et al. The ralationship of aplastic anemia and PNH: Int J Hematol 2002; 76 (suppl 2): 168-172.
15. Maciejewski JP, Rivera C, Kook H, Dunn D, Young NS. Relationship between bone marrow failure syndromes and the presence of glycophosphatidyl inositol-anchored protein-deficient clonek. Br J Haematol 2001; 115: 1015-1022.
16. Scheinberg P, Male M, Nunez O, Young NS. PNH clones in severe aplastic anemia patients treated with horse antithymocyte globuline plus cyclosporine A. Haematologica 2010; 95: 1075-1080.
17. Ware RE, Hall SE, Rosse WF. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria with onset in childhood and adolescence. N Engl J Med 1991; 325: 991-996.
18. van den Heuvel-Eibrink M, Bredius RG, Winkel MI, et al. Childhood paroxysmal nocturnal haemoglobinuria, a report of 11 cases in the Netherlands. Br J Haematol 2005; 128: 571-577.
19. Timeus F, Crescenzi O, Saracco P, et al. PNH clones in children wth acquired aplastic anemia - a prospective single centre study. Br J Haematol 2010; 150: 483-485.
20. Rosenfeld S, Fellmann D, Nunez O, Young NS. Antithymocyte globulin and cyclosporine for severe aplastic anemia – association between hematologic response and long-term outcome. JAMA 2003; 289: 1130-1135.
21. Young NS. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria and myelodysplastic syndromes: clonal expansion of PIG-A mutant hematopoietic cells in bone marrow faiilure. Haematologica 2009; 94: 3-7.
22. de Latour Peffault R, Mary JY, Socie G, et al. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: natural history of disease subcategories. Blood 2008; 118: 3099-3106.
23. Starý J, Sedláček P, Kobylka P, et al. Významný pokrok v léčbě získané aplastické anémie u dětí v 90. letech. Čs Pediatrie 1998; 53: 260-266.
24. Saracco P, Quarello P, Zecca M, et al. Cyclosporine A response and dependence in children with acquired aplastic anemia - a multicentre retrospective study with long-term follow-up. Br J Haematol 2008; 140: 197-205.
25. Young NS, Barrett AJ. The treatment of severe acquired aplastic anemia. Blood 1995; 85: 3367-3377.
26. Stadler M, Germing U, Kliche KO, et al. A prospective, randomised, phase II study of horse antithymocyte globulin vs rabbit antithymocyte globulin as immune-modulating therapy in patiens with low-risk myelodysplastic syndromes. Leukemia 2004; 18: 460-465.
27. Hall SE, Rosse WF. The use of monoclonal antibodies and flow cytometry in the diagnosis of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. Blood 1996; 87: 5332-5340.
28. Mortazavi Y, Merk B, Macintosh J, et al. The spectrum of PIG-A gene mutations in AA/PNH: a high incidence of multiple mutations and evidence of a mutational hot spot. Blood 2003; 101: 2833-2841.
29. Kaplan E, Meier P. Nonparametric estimation for incomplete observations. JASA 1958; 53: 457-481.
30. Mantel N. Evaluation of survival data and two new rank order statistics arising in its consideration. Cancer Chemother Rep 1966; 50: 163-170.
31. Gooley TA, Leisenring W, Crowley J, et al. Estimation of failure probabilities in the presence of competing risks: new representations of old estimators. Stat Ass 1999; 18: 695-706.

32. Pindurová E, Sedláček P, Keslová P, et al. Úloha alogenní transplantace buněk krvetvorby v léčbě získané aplastické anémie u dětí – zkušenost v České republice v letech 1991–2007. Transfuze hematol dnes 2011; 17: 122-129.
33. Tichelli A, Schrezenmeier H, Socié G, et al. A randomized controlled study in patients with newly diagnosed severe aplastic anemia receiving antithymocyte globulin (ATG), cyclosporine, with or without G-CSF: a study of the SAA Working Party of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. Blood 2011; 117: 4434-4441.
34. Maciejewski JP, Selleri C. Evolution of clonal cytogenetic abnormalities in aplastic anemia. Leuk Lymphoma 2004; 45: 433-440.
35. Sloand EM, Kim S, Fuhrer M, et al. Fas-mediated apoptosis is important in regulative cell replication and death in trisomy 8 hematopoietic cells but not in cells with other cytogenetic abnormalities. Blood 2002; 100: 4427-4432.
35. Locasciulli A, Oneto R, Bacigalupo A, et al. Outcome of patients with acquired aplastic anemia given first line bone marrow transplantation or immunosuppressive treatment in the last decade: a report from the European Group for Bone and Marrow Transplantation (EBMT). Haematologica 2007; 92: 11-18.
36. Scheinberg P, Nunez O, Young NS. Horse versus rabbit antithymocyte globulin in acquired aplastic anemia. N Engl J Med 2011; 365: 430-438.
37. Scheinberg P, Wu CO, Nunez O, Young NS. Predicting response to immunosuppressive therapy and survival in severe aplastic anaemia. Br J Haematol 2009; 144: 206-216.
38. Bacigalupo A, Socie G, Lanino E, et al. Fludarabine, cyclophosphamide, antithymocyte globulin, with or without low dose total body irradiation, for alternative donor transplants in acquired severe aplastic anemia: a retrospective study from the EBMT-SAA Working Party. Haematologica 2010; 95: 976-982.
39. Tichelli A, Passweg J, Issen C, et al. Repeated treatment with horse antithymocyte globuline for severe aplastic anemia. Br J Haematol 1998; 100: 393-400.
40. Hill A, Richards SJ, Hillmen P. Recent developments in the understanding and management of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. Br J Haematol 2007; 137: 181-192.
41. Parker Ch, Omine M, Richards S, et al. Diagnosis and management of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria, Blood 2001; 106: 3699-3709.

Podíl autorů na rukopisu

M. S. - napsání rukopisu, vedení databáze, léčba nemocných; E. M. – imunologická diagnostika, vyšetření PNH klonu, revize rukopisu; V. C. - histologická diagnostika; E. V. – cytologická diagnostika; P. S. – léčba nemocných; P. K. – léčba nemocných; P. S. – léčba nemocných, vedoucí transplantačního programu; L. Š. – léčba nemocných; V. V. – léčba nemocných; E. P. – léčba nemocných; Z. Z. – cytogenetická diagnostika; J. S. – vedoucí pracoviště, koordinátor studie, revize rukopisu.

Poděkování

Podmínkou dosažených příznivých výsledků je nepochybně důsledkem centralizované péče, která by nebyla možná bez velmi úzké a flexibilní spolupráce všech center v rámci Pracovní skupiny pro dětskou hematologii (PSDH) – poděkování jmenovitě patří za jednotivá centra: Brno (prof. MUDr. J. Štěrba, MUDr. J. Blatný, MUDr. O. Zapletal), České Budějovice (MUDr. Y. Jabali, MUDr. P. Timr), Hradec Králové (MUDr. J. Hak, MUDr. K. Toušovská), Olomouc (prof. MUDr. V. Mihál, doc. MUDr. D. Pospíšilová), Ostrava (MUDr. B. Blažek, MUDr. H. Ptoszková), Plzeň (MUDr. Z. Černá, MUDr. T. Votava), Ústí nad Labem (MUDr. D. Procházková). Zvláštní poděkování patří všem lékařům a sestrám hematologického oddělení a transplantační jednotky KDHO a hematologům přebírajícím péči o dospívající pacienty (jmenovitě doc. MUDr. J. Čermákovi, z Ústavu hematologie a krevní transfuze Praha a MUDr. Y. Brychtové z Interní hematoonkologické kliniky FN Brno). Za vyšetření mutací PIG-A genu u pacientů s PNH děkujeme MUDr. S. Pekové z Laboratoře DNA diagnostiky Chambon v Praze. Konečně za významnou spolupráci umožňující rychlou indikaci SCT děkujme pracovníkům NRL pro DNA diagnostiku ÚHKT (RNDr. M. Loudová, CSc., RNDr. M. Dobrovolná – HLA analýza) a pracovníkům Českého registru dárců krvetvorných buněk (MUDr. E. Ivašková, Ing. L. Kupková, Mgr. M. Kuříková) a Českého národního registru dárců dřeně (MUDr. H. Pittrová a MUDr. J. Navrátilová).

Zvláštní poděkování za zásadní podíl na statistickém zpracování dat patří Mgr. I. Janotové z KDHO.

Podpora: *podpořeno projektem koncepčního rozvoje výzkumné organizace 00064203.*

MUDr. Martina Suková
Klinika dětské hematologie a onkologie
2. LF UK a FN Motol
V úvalu 84
150 06 Praha 5

Doručeno do redakce: 23. 4. 2012
Přijato po recenzi: 31. 5. 2012

Stanovení mimodřeňové leukemické infiltrace u dětské akutní lymfoblastické leukemie a jeho klinické využití. Přehledný článek a vlastní výsledky

Volejníková J.[1], Mejstříková E.[1], Slámová L.[1], Mihál V.[2], Štěrba J.[3], Jabali Y.[4], Procházková D.[5], Blažek B.[6], Hak J.[7], Černá Z.[8], Hrušák O.[1], Starý J.[1], Trka J.[1], Froňková E.[1]

[1]Klinika dětské hematologie a onkologie, 2. LF UK a FN Motol, Praha, [2]Dětská klinika UP a FN Olomouc, [3]Klinika dětské onkologie LF MU a FN Brno, [4]Dětská klinika Nemocnice České Budějovice, [5]Dětská klinika Masarykovy nemocnice v Ústí nad Labem, [6]Oddělení dětské hematologie a hematoonkologie Kliniky dětského lékařství FN Ostrava, [7]Dětská klinika LF UK HK a FN Hradec Králové, [8]Dětská klinika LF UK Plzeň a FN Plzeň

Souhrn

Minimální reziduální nemoc (MRN) se stala důležitým stratifikačním kritériem u moderních protokolů pro léčbu akutní lymfoblastické leukemie (ALL) dětí i dospělých. Většina výsledků se týká kostní dřeně, studie zkoumající MRN mimo kostní dřeň jsou poměrně vzácné. Podle dosavadních prací MRN v periferní krvi u dětské ALL velmi dobře koreluje s MRN v kostní dřeni v případě T-ALL, u B-prekurzorové ALL je korelace horší a ve většině případů je zde MRN více než o jeden řád nižší než v kostní dřeni. Přesto mají hladiny MRN v periferní krvi prokazatelný prognostický význam v průběhu iniciální léčby dětské ALL, jak jsme prokázali pro den 15 na protokolu ALL IC-BFM 2002. Zatím neexistuje dostatek informací o přínosu vyšetřování mozkomíšního moku pomocí PCR a průtokové cytometrie u pacientů při iniciální diagnóze ALL. Zdá se, že průtoková cytometrie zachytí podstatně více pozitivních výsledků než klasická mikroskopie. PCR i průtoková cytometrie jsou vhodné pro vyšetření leukemického postižení v okamžiku relapsu v CNS, v průběhu léčby relapsu je výpovědní hodnota opět sporná kvůli nedostatečné kvalitě izolované DNA v případě PCR a kvůli rychlé degradaci vzorku při transportu v případě průtokové cytometrie. Jednoznačný přínos PCR je ve stanovení současného postižení kostní dřeně v okamžiku izolovaného extramedulárního relapsu, které zhoršuje prognózu pacienta.

Klíčová slova: akutní lymfoblastická leukemie (ALL), minimální reziduální nemoc (MRN), periferní krev, extramedulární relaps

Summary

Volejníková J., Mejstříková E., Slámová L., Mihál V., Štěrba J., Jabali Y., Procházková D., Blažek B., Hak J., Černá Z., Hrušák O., Starý J., Trka J., Froňková E.: Assessment of extramedullary leukemic infiltration in childhood acute lymphoblastic leukemia and its clinical use. Review and original data

Minimal residual disease (MRD) has become a crucial criterion for the risk stratification within modern protocols for the treatment of both childhood and adult acute lymphoblastic leukemia (ALL). The most data obtained so far apply to the bone marrow and studies on extramedullary MRD are scarce. According to the published data, levels of MRD in peripheral blood and bone marrow correlate well in T-ALL, whereas in B-cell precursor ALL the correlation is weak and MRD in blood is mostly more than one log lower than in the bone marrow. Despite this fact, MRD in peripheral blood during the induction therapy is predictive of prognosis, as shown by our results for day 15 of the ALL IC-BFM 2002 protocol. There is still lack of information on the benefit of cerebrospinal fluid examination by PCR and flow cytometry at initial diagnosis in patients with ALL. Flow cytometry presumably reveals more positive results than "classical" microscopy. Both PCR and flow cytometry are suitable for the examination of leukemic involvement at the time of CNS relapse, but their informative value during the treatment of relapse is questionable due to insufficient DNA quality for the purpose of PCR and due to fast sample degradation for the purpose of flow cytometry. An unambiguous benefit of PCR lies in the assessment of simultaneous bone marrow infiltration at diagnosis of isolated extramedullary relapse, which, if present, confers inferior prognosis.

Key words: acute lymphoblastic leukemia (ALL), minimal residual disease (MRD), peripheral blood, extramedullary relapse

Transfuze Hematol. dnes, 18, 2012, No. 3, p. 124–129.

Úvod

Současné protokoly pro léčbu akutní lymfoblastické leukemie (ALL) dětí i dospělých stále více začleňují do své rizikové stratifikace sledování minimální reziduální nemoci (MRN). Většina vyspělých zemí prokázala signifikantní vliv MRN na prognózu pacientů (1–8).

Děti s ALL jsou v České republice v současnosti léčeny podle protokolu AIEOP-BFM ALL 2009, jehož riziková stratifikace je založena na kombinaci hodnot MRN v kostní dřeni (KD) měřených ve dni 33 a v týdnu 12 léčby pomocí PCR a na MRN v KD ve dni 15 měřené pomocí průtokové cytometrie. Dospělí pacienti s ALL jsou léčeni podle protokolu GMALL, který pacienty ve skupině standardního rizika stratifikuje podle MRN v KD během prvního roku léčby. ALL je primárně onemocněním kostní dřeně, většina studií tedy používá logicky KD jako hlavní materiál, i když odběry periferní krve (PK) by znamenaly menší zátěž pro pacienty. V tomto článku chceme shrnout poznatky z literatury a naše vlastní zkušenosti s monitorováním MRN v mimodřeňových kompartmentech, především v PK a v mozkomíšním moku (CSF).

Metody

Molekulární genetika: Kvantifikace klonálně-specifických přestaveb genů pro imunoglobuliny (Ig) a T-buněčné receptory (TCR)

V současnosti nejvíce standardizovanou metodikou pro sledování MRN je detekce klonálně-specifických přestaveb genů pro Ig/TCR (9–11). Metoda je založena na iniciálním vyšetření spektra přestaveb Ig/TCR, pro které je daný vzorek klonální, sekvenování jejich unikátních V-(D)-J přechodů, navržení specifických primerů a opti - malizaci kvantitativní PCR tak, aby byl pro každého pacienta získán nejméně jeden systém pro detekci MRN s minimální citlivostí 10^{-4}. Tento postup je náročný metodicky, časově i finančně, a i při dodržování všech pravidel pro interpretaci výsledků přináší nebezpečí falešné pozitivity u vzorků s regenerací kostní dřeně (12). V současnosti se však jedná o jedinou mezinárodně standardizovanou metodu, která je univerzálně použitelná pro většinu pacientů s malignitami z lymfoidní řady.

Průtoková cytometrie

Kombinace monoklonálních protilátek jsou rozvrženy do tří zkumavek:

Zkumavka 1: CD58-FITC (klon AICD58)/xxPE/CD10-ECD (klon ALB1; xx=aberantně exprimovaný antigen)/CD45 PerCP (klon 2D1)/CD19-APC (klon J4.119)/CD34-PC7 (klon LIQ)/CD38-A700 (klon HIT2)/CD20-PB (klon 2H7). Jako znak xxPE používáme CD66c nebo CD33, NG2 podle exprese v diagnóze. Tyto aberantně exprimované antigeny mohou pomoci lépe identifikovat reziduální leukemickou populaci.

Zkumavka 2: CD20-FITC (klon 2H7)/CD10-PE (klon SS2/36)/CD45 PerCP (klon 2D1)/CD34-PC7 (klon LIQ)/CD19-APC (klon J4.119)/ CD38-A700 (klon HIT2)/Syto 41.

Zkumavka 3: Syto16/CD19-PE (klon SJ25C)/CD45 PerCP (klon 2D1)/CD71-A700 (MEM-75)/DAPI.

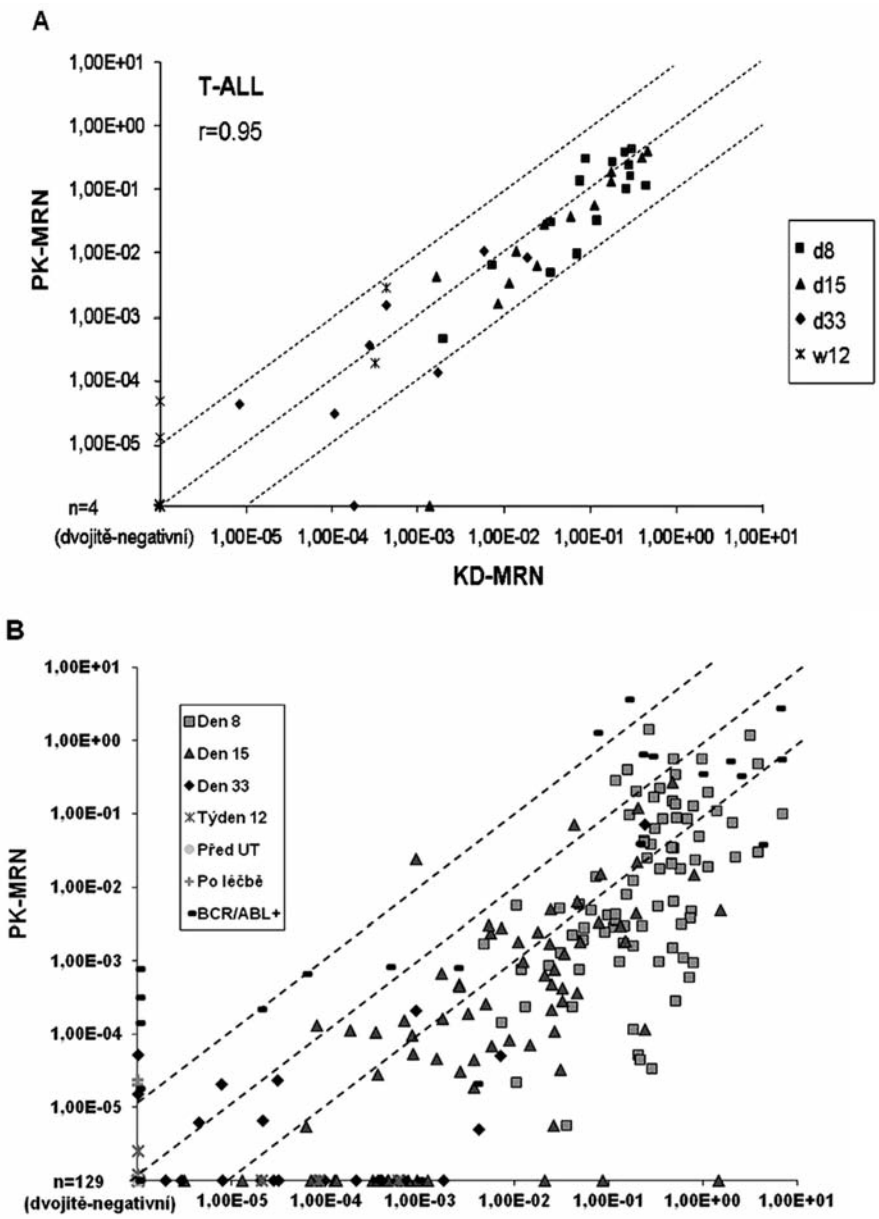
Měření provádíme na dvou průtokových cytometrech: DAKO CYAN, který je vybaven 3 lasery o vlnové délce 405 nm, 488 nm a 642 nm, a BD LSR II, který je vybaven lasery o vlnové délce 405 nm, 488 nm a 633 nm. Analýzu provádíme v software FlowJo 9.2 (TreeStar, Oregon, USA). Prvním krokem je výběr $CD19^{poz}$ buněk s nižší hodnou granularity (parametr side scatter – SSC) než mají granulocyty. V případě nízké exprese antigenu CD19 vybíráme buňky pomocí parametru CD19 a CD10 nebo CD34 nebo CD45. V další fázi vybíráme atypické buňky na jednotlivých dvourozměrných grafech s cílem optimálně oddělit populaci nemaligních B lymfocytů a atypických blastů. Suspektní leukemické buňky by měly tvořit kompaktní populaci v rámci optických parametrů forward scatter (FSC) a SSC. Konečná hodnota MRN je vyjádřena procentem z jaderných buněk definovaných pomocí fluorescenční značky (SYTO-16 nebo SYTO-41 - molekuly schopné vázat DNA i RNA a volně procházet buněčnou membránou). Pro přepočet na jaderné buňky v rámci dvou zkumavek se použije parametr obsažený v obou zkumavkách, zde antigen CD19. Rozmezí kvantifikovatelnosti MRN dosažitelné FC je definováno jako 0,01 %.

Korelace MRN v kostní dřeni a periferní krvi

První studie provedená na 35 párech vzorků KD a PK z průběhu indukční terapie ALL naznačila, že úroveň MRN v PK bude nižší než v KD (zde v průměru 12x) (13). S rozvojem vysoce citlivých technik byly provedeny dvě studie, které shodně prokázaly, že MRN v periferní krvi (PK) dobře koreluje s hladinou ve dřeni u většiny vzorků ALL z prekurzorů T-lymfocytů (T-ALL), zatímco u B-prekurzorové (BCP) ALL je nálož v PK s velkou variabilitou až 1000x nižší (14, 15). To se zdá být logické vzhledem k vývoji B-lymfocytů v KD a T-lymfocytů v thymu. Obě studie obsahovaly velmi malý počet vzorků s MRN měřitelnou v obou kompartmentech a také malé množství vzorků z prvních týdnů léčby, které mají prokazatelný prognostický význam. Na základě těchto studií se přesto od sledování MRN v krvi ustoupilo.

V naší studii (16) jsme vyšetřili 63 párových vzorků KD a PK u 19 pacientů s T-ALL a 431 párových vzorků KD a PK u 103 pacientů s BCP-ALL, a to převážně z časných bodů léčby (diagnóza, den 8, den 15, den 33, týden 12). Obrázek 1A ukazuje, že u pacientů s T-ALL je korelace hladin MRN mezi KD a PK velmi dobrá, zatímco u pacientů s BCP-ALL je situace podobná jako v předcházejících studiích, tedy MRN v PK zhruba o jeden řád nižší než v KD (obr. 1B).

Zdá se, že i v rámci BCP-ALL existují podskupiny s dobrou korelací KD-PK, a to proB ALL a ALL s fúzním genem BCR/ABL (obr. 1B). Malý počet pacientů v těchto podskupinách ale zatím neumožňuje spolehlivou statistickou analýzu.



Obr. 1. Srovnání hladin MRN v kostní dřeni (osa x) a v periferní krvi (osa y) u pacientů s T-ALL (A) a pacientů s BCP-ALL (B).

Na základě těchto a publikovaných výsledků přistupujeme k nahrazení odběrů KD odběry krve teprve v časových bodech, ve kterých je již malá pravděpodobnost následného relapsu, tedy například při každoročních kontrolách déle než 3 roky po transplantaci krvetvorných buněk. Z výše uvedených studií na druhou stranu vyplývá, že u T-ALL již existuje dostatečné opodstatnění pro nahrazení odběrů KD periferní krví i v časnějších bodech léčby. To aplikujeme u části pacientů po transplantaci, ale pro nahrazení stratifikačních odběrů iniciální léčby (den 33, týden 12) dosud neexistuje dostatečné množství dat.

Prognostický význam postižení periferní krve

Jedním z největších počátečních úspěchů skupiny BFM bylo zjištění, že časná odpověď na prednizonovou předfázi (absolutní počet blastů v PK v den 8, tj. po 7 dnech prednizonu a jedné intrathekální dávce metotrexátu), je nejsilnějším prognostickým faktorem. Pacienti, kteří mají v 8. dni léčby v periferní krvi stále více než 1000 blastů na µl (asi 10 % ze všech pacientů), tvoří skupinu s mnohočetnou lékovou rezistencí, tzv. prednisone poor responders (PPR). Šance na přežití bez události (EFS) v této skupině byla na protokolu ALL-BFM 83 při desetiletém sledování 39 % ve srovnání s 66 % ve skupině s dobrou odpovědí na prednizon. Žádný jiný prognostický znak zatím sám o sobě nedokázal definovat tak velkou skupinu pacientů s EFS pod 50 % (17). Díky snadné dostupnosti a reprodukovatelnosti začlenila většina skupin tento znak do své rizikové stratifikace.

Další studie o roli postižení PK v průběhu léčby jsou velmi vzácné. Výše zmíněná studie (14) hodnotila riziko relapsu u 20 pacientů s přítomností MRN v KD na konci indukční léčby (den 46), léčených podle protokolů skupiny St. Jude Children's Research Hospital v Memphisu. Zajímavé bylo, že 4/5 pacientů s MRN zachycenou zároveň v PK prodělali relaps ve srovnání s 2/15 pacientů s MRN přítomnou pouze v kostní dřeni (čtyřletá kumulativní incidence relapsu 0,8 ± 0,25 vs. 0,13 ± 0,9; p = 0,007).

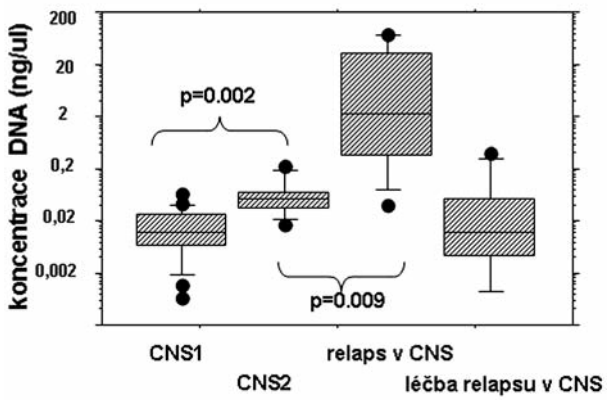
V naší studii vyšlo najevo, že hodnocení PK ve dni 15 pomocí PCR pro přestavby Ig/TCR má prognostický význam, podobně jako vyšetřování kostní dřeně v tomto časovém bodě (18). Pacienti s MRN v PK nižší než 10^{-4} měli výbornou prognózu se 100% pětiletým přežitím bez relapsu (RFS), zatímco ostatní pacienti měli RFS 64 ± 7 % (p = 0,0003). Hraničně signifikantní pro prognózu byla i hladina MRN v PK ve dni 8 (p = 0,06).

Důležité je, že naše stratifikace založená na MRN v PK ve dni 15 se překrývá se stávajícími rizikovými skupinami BFM protokolu (založeného na MRN v KD ve dni 33 a týdnu 12 léčby) pouze částečně a dokáže v rámci skupiny středního rizika dle BFM identifikovat podskupinu

pacientů s nízkou MRN v PK s výbornou prognózou bez jediného relapsu (p = 0,008). Coxova regresní analýza prokázala, že MRN v PK v den 15 přidává další prognostickou informaci ke stávající rizikové stratifikaci založené na MRN v KD ve dni 33 a v týdnu 12.

Prognostický význam postižení centrálního nervového systému a jeho stanovení

Vedle PK je nejčastějším místem mimodřeňové leukemické infiltrace centrální nervový systém (CNS), i když symptomatické postižení CNS má v době diagnózy pouze asi 3 % dětských pacientů (19). Pomocí morfologického hodnocení mozkomíšního moku (CSF) lze ale přítomnost leukemických blastů prokázat u 15–20 % pacientů, z nichž většina postrádá neurologické symptomy (19, 20). Současným trendem je redukce léčby CNS (především radioterapie) za účelem snížení pozdních následků léčby (21). Z tohoto důvodu je velmi důležité přesné definování skutečného postižení CNS. Práce zkoumající prognostický význam postižení CNS ve smyslu CNS1 (bez postižení), CNS2 (< 5 jaderných buněk/μl v CSF a přítomnost blastů po cytocentrifugaci) a CNS3 (zřetelná CNS leukemie) se v některých aspektech rozcházejí. Zatímco u pacientů s CNS3 leukemií studie shodně prokázaly vyšší riziko relapsu s převahou relapsů v KD, údaje o prognostickém významu CNS2 se liší mezi dvěma nejvýznamnějšími studiemi (22, 23). Dalším aspektem diagnostiky postižení CNS je traumatická lumbální punkce, definovaná jako přítomnost erytrocytů ve vzorku CSF. V závislosti na definici je její výskyt podle jednotlivých studií 7–19 % (19, 24, 25). Podle některých studií představuje traumatická lumbální punkce spojená s přítomností blastů pro pacienta vyšší riziko relapsu, pravděpodobně kvůli zanesení leukemických buněk z krve do CNS (24). Moderní metody, tj. analýza přestaveb Ig/TCR a průtoková cytometrie, by mohly přinést přesnější kvantitativní i kvalitativní hodnocení CSF jak v době diagnózy, tak během sanace likvoru při iniciální leukemické infiltraci.



Obr. 2. Koncentrace DNA izolované z mozkomíšního moku v závislosti na mikroskopické infiltraci moku u pacientů s CNS 1 a CNS 2 postižením (v souboru nebyl žádný pacient s CNS 3 postižením), u pacientů při diagnóze izolovaného nebo kombinovaného relapsu v CNS a v průběhu jeho léčby.

Podle nové studie brazilských autorů byla pozitivita MRN v CSF (měřená metodou přestaveb Ig/TCR) v době diagnózy přítomna až u 47 % z celkem 65 vyšetřovaných dětí s ALL a byla spojena s významně horší prognózou, ale pouze při léčbě méně intenzivním ze dvou použitých protokolů. Autoři shrnují, že tito pacienti pravděpodobně profitují z intenzivnější chemoterapie, na přesvědčivé závěry je ale množství pacientů příliš malé (26).

V naší laboratoři jsme pilotně vyšetřili 24 vzorků CSF od pacientů při diagnóze ALL. 16 pacientů bylo mikroskopicky bez přítomnosti CNS postižení (CNS1), 8 pacientů mělo CNS2 status. Pomocí průtokové cytometrie jsme prokázali pozitivitu v CSF u všech pacientů s CNS2 a navíc i u 6 ze 16 pacientů (38 %) s CNS1 postižením. Celkem je tedy procento postižení CNS při diagnóze ALL na tomto malém souboru vyšší u průtokové cytometrie (58 %) než u klasické mikroskopie (33 %). Medián sledování souboru a jeho malá velikost zatím neumožňují vyvodit závěry o skutečném významu tohoto zjištění.

Po cytometrickém vyšetření jsme ze zbylých cca 200 μl CSF izolovali DNA pro stanovení MRN pomocí přestaveb Ig/TCR. V praxi se pro izolaci nejlépe osvědčila přímá izolace pomocí DNA Micro Kitu od firmy QIAGEN. Koncentrace izolované DNA stanovená pomocí kvantifikace genu pro albumin ukázala, že DNA izolovaná z CSF pacientů s CNS1 postižením je signifikantně méně koncentrovaná než DNA od pacientů s CNS2 (p = 0,002, Mann-Whitney). DNA izolovaná z CSF pacientů v okamžiku diagnózy izolovaného nebo kombinovaného relapsu v CNS měla zdaleka nejvyšší koncentraci (obr. 2), zatímco vzorky izolované v průběhu léčby relapsu měly opět nízkou koncentraci. Z těchto výsledků se zdá, že vyšetření pomocí PCR bude mít dostatečnou citlivost pro stanovení leukemické infiltrace při diagnóze relapsu v CNS, ale pro kvantifikaci méně rozsáhlého postižení CNS v diagnóze nebo pro monitorování léčby relapsu v CNS nebude dostatečně spolehlivé.

MRN u extramedulárních relapsů

Mezinárodní studie s účastí Německa, Francie a České republiky zkoumala molekulárně-genetické postižení KD v okamžiku izolovaného extramedulárního relapsu u 64 dětí s ALL (27). Většinou (59 %) se jednalo o relapsy v CNS, dále o testikulární relapsy (33 %) a zbytek tvořily relapsy v lymfatických uzlinách (2x), v ovariu (1x) a v mediastinu (1x). Studie ukázala, že alespoň minimální postižení KD (tj. detekovatelná hladina MRN v KD) je přítomno u 89 % pacientů. Pacienti s relapsem v CNS měli trend k vyššímu postižení KD než pacienti s testikulárním relapsem (MRN ≥ 10^{-4} u 80 % vs. 57 % pacientů; p = 0,08). Pacienti s hladinou MRN v KD vyšší než 10^{-4} v okamžiku extramedulárního relapsu měli vyšší kumulativní incidenci následných relapsů (0,65 ± 0,01) než pacienti s nízkou nebo negativní hladinou (0,24 ± 0,01; p = 0,01). Tyto výsledky zatím nebyly zohledněny v léčebném protokolu.

Studie o vlivu poklesu reziduální nemoci v CSF na pro-

gnózu pacientů s relapsem v CNS dosud chybějí, zřejmě kvůli poměrně nesnadné logistice přepravy a zpracování vzorků. Pomocí průtokové cytometrie a PCR pro přestavby Ig/TCR jsme vyšetřili celkem 21 vzorků CSF od 8 pacientů s kombinovaným nebo izolovaným relapsem v CNS. Systémy Ig/TCR zavedené při iniciální diagnóze ALL jsme použili pro stanovení výše infiltrace CNS v okamžiku CNS relapsu. U 7 z 8 pacientů byla pro prodělení kontrolním genem stanovena hladina postižení CNS přibližně 100 %, u jednoho pacienta došlo v relapsu ke ztrátě přestavby VH4-JH a tím k falešné negativitě. Pacient byl sledován navíc pomocí fúzního genu MLL/ELL, u kterého byla hladina MRN opět 100 %. Ze 13 vzorků z průběhu léčby relapsu bylo 5 pozitivních oběma metodami, 4 pozitivní pomocí PCR, ale negativní pomocí průtokové cytometrie a 4 negativní oběma metodami. Na tomto malém souboru se zdá, že PCR byla citlivější metodou. Významnou roli u průtokové cytometrie hraje doba transportu vzorku. Buňky ve vzorku velmi rychle hynou a po více než 24 hodinách výpovědní hodnota průtokové cytometrie dramaticky klesá, zatímco PCR je při použití DNA poměrně stabilní. Pro definitivní stanovení významu kinetiky MRN v CNS bude třeba provést rozsáhlejší multicentrickou studii, která je v současnosti plánována skupinou BFM.

Závěr

Uvedené výsledky ukazují, že u dětské ALL je prognosticky významná nejen hladina reziduální nemoci v kostní dřeni, ale i rozsah mimodřeňového postižení. Jeho vyšetřování zejména v periferní krvi a CNS pomocí moderních metod – průtokové cytometrie a molekulární genetiky – může přispět k dalšímu zlepšení léčebných výsledků: např. minimální reziduální nemoc v periferní krvi v 15. dni léčby má důležitý prognostický význam, zpřesňuje stávající rizikovou stratifikaci a identifikuje podskupinu pacientů s výbornou prognózou.

Podíl jednotlivých autorů na přípravě práce

E. Froňková a J. Volejníková sepsaly rukopis a provedly měření minimální reziduální nemoci metodami molekulární genetiky a analýzu těchto dat. E. Mejstříková a L. Slámová jsou odpovědné za oblast průtokové cytometrie. O. Hrušák a J. Trka konzultovali a supervidovali uvedené projekty naší skupiny. V. Mihál, J. Štěrba, Y. Jabali, D. Procházková, B. Blažek, J. Hak, Z. Černá a J. Starý zajistili odběry vzorků, management a klinická data pacientů.

Poděkování

Podpořeno grantem IGA NS10472-3.

Literatura

1. Cave H, van der Werff ten Bosch J, Suciu S, et al. Clinical significance of minimal residual disease in childhood acute lymphoblastic leukemia. European Organization for Research and Treatment of Cancer—Childhood Leukemia Cooperative Group. N Engl J Med 1998; 339: 591-598.
2. Coustan Smith E, Sancho J, Hancock ML, et al. Clinical importance of minimal residual disease in childhood acute lymphoblastic leukemia. Blood 2000; 96: 2691-2696.
3. van Dongen JJ, Seriu T, Panzer-Grumayer ER, et al. Prognostic value of minimal residual disease in acute lymphoblastic leukaemia in childhood. Lancet 1998; 352: 1731-1738.
4. Flohr T, Schrauder A, Cazzaniga G, et al. Minimal residual disease-directed risk stratification using real-time quantitative PCR analysis of immunoglobulin and T-cell receptor gene rearrangements in the international multicenter trial AIEOP-BFM ALL 2000 for childhood acute lymphoblastic leukemia. Leukemia 2008; 22: 771-782.
5. Pui CH, Relling MV, Sandlund JT, et al. Rationale and design of Total Therapy Study XV for newly diagnosed childhood acute lymphoblastic leukemia. Ann Hematol 2004; 83(Suppl 1): S124-126.
6. Schultz KR, Pullen DJ, Sather HN, et al. Risk- and response-based classification of childhood B-precursor acute lymphoblastic leukemia: a combined analysis of prognostic markers from the Pediatric Oncology Group (POG) and Children's Cancer Group (CCG). Blood 2007; 109: 926-935.
7. Zhou J, Goldwasser MA, Li A, et al. Quantitative analysis of minimal residual disease predicts relapse in children with B-lineage acute lymphoblastic leukemia in DFCI ALL Consortium Protocol 95-01. Blood 2007; 110: 1607-1611.
8. Conter V, Bartram CR, Valsecchi MG, et al. Molecular response to treatment redefines all prognostic factors in children and adolescents with B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia: results in 3184 patients of the AIEOP-BFM ALL 2000 study. Blood 2010; 115: 3206-3214.
9. Pongers-Willemse MJ, Seriu T, Stolz F, et al. Primers and protocols for standardized detection of minimal residual disease in acute lymphoblastic leukemia using immunoglobulin and T cell receptor gene rearrangements and TAL1 deletions as PCR targets: report of the BIOMED-1 CONCERTED ACTION: investigation of minimal residual disease in acute leukemia. Leukemia 1999; 13: 110-118.
10. van Dongen JJ, Langerak AW, Bruggemann M, et al. Design and standardization of PCR primers and protocols for detection of clonal immunoglobulin and T-cell receptor gene recombinations in suspect lymphoproliferations: report of the BIOMED-2 Concerted Action BMH4-CT98-3936. Leukemia 2003; 17: 2257-2317.
11. van der Velden VH, Cazzaniga G, Schrauder A, et al. Analysis of minimal residual disease by Ig/TCR gene rearrangements: guidelines for interpretation of real-time quantitative PCR data. Leukemia 2007; 21: 604-611.
12. Fronkova E, Muzikova K, Mejstrikova E, et al. B-cell reconstitution after allogeneic SCT impairs minimal residual disease monitoring in children with ALL. Bone Marrow Transplant 2008; 42: 187-196.
13. Brisco MJ, Sykes PJ, Hughes E, et al. Monitoring minimal residual disease in peripheral blood in B-lineage acute lymphoblastic leukaemia. Br J Haematol 1997; 99: 314-319.
14. Coustan-Smith E, Sancho J, Hancock ML, et al. Use of peripheral blood instead of bone marrow to monitor residual disease in children with acute lymphoblastic leukemia. Blood 2002; 100: 2399-2402.
15. van der Velden VH, Jacobs DC, Wijkhuijs AJ, et al. Minimal residual disease levels in bone marrow and peripheral blood are comparable in children with T cell acute lymphoblastic leukemia (ALL), but not in precursor-B-ALL. Leukemia 2002; 16: 1432-1436.
16. Volejnikova J, Mejstrikova E, Valova T, et al. Minimal residual disease in peripheral blood at day 15 identifies a subgroup of childhood B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia with superior prognosis. Haematologica 2011; 96: 1815-1821.
17. Schrappe M. Evolution of BFM trials for childhood ALL. Ann Hematol 2004; 83(Suppl 1): S121-123.
18. Basso G, Veltroni M, Valsecchi MG, et al. Risk of relapse of childhood acute lymphoblastic leukemia is predicted by flow cytometric measurement of residual disease on day 15 bone marrow. J Clin Oncol 2009; 27: 5168-5174.
19. Burger B, Zimmermann M, Mann G, et al. Diagnostic cerebrospinal fluid examination in children with acute lymphoblastic leukemia: significance of low leukocyte counts with blasts or traumatic lumbar puncture. J Clin Oncol 2003; 21: 184-188.
20. Mahmoud HH, Rivera GK, Hancock ML, et al. Low leukocyte counts with blast cells in cerebrospinal fluid of children with new-

ly diagnosed acute lymphoblastic leukemia. N Engl J Med 1993; 329: 314-319.
21. Pui CH, Campana D, Pei D, et al. Treating childhood acute lymphoblastic leukemia without cranial irradiation. N Engl J Med 2009; 360: 2730-2741.
22. te Loo DM, Kamps WA, van der Does-van den Berg A, et al. Prognostic significance of blasts in the cerebrospinal fluid without pleiocytosis or a traumatic lumbar puncture in children with acute lymphoblastic leukemia: experience of the Dutch Childhood Oncology Group. J Clin Oncol 2006; 24: 2332-2336.
23. Marwaha RK, Kulkarni KP, Bansal D, et al. Central nervous system involvement at presentation in childhood acute lymphoblastic leukemia: management experience and lessons. Leuk Lymphoma 2010; 51: 261-268.
24. Gajjar A, Harrison PL, Sandlund JT, et al. Traumatic lumbar puncture at diagnosis adversely affects outcome in childhood acute lymphoblastic leukemia. Blood 2000; 96: 3381-3384.
25. Howard SC, Gajjar AJ, Cheng C, et al. Risk factors for traumatic and bloody lumbar puncture in children with acute lymphoblastic leukemia. JAMA 2002; 288: 2001-2007.
26. Biojone E, Queiroz Rde P, Valera ET, et al. Minimal residual disease in cerebrospinal fluid at diagnosis: a more intensive treatment protocol was able to eliminate the adverse prognosis in children with acute lymphoblastic leukemia. Leuk Lymphoma 2012; 53: 89-95.
27. Hagedorn N, Acquaviva C, Fronkova E, et al. Submicroscopic bone marrow involvement in isolated extramedullary relapses in childhood acute lymphoblastic leukemia: a more precise definition of "isolated" and its possible clinical implications, a collaborative study of the Resistant Disease Committee of the International BFM study group. Blood 2007; 110: 4022-4029.

MUDr. Jana Volejníková
Klinika dětské hematologie a onkologie
2. LF UK a FN Motol
V Úvalu 84
150 06 Praha
jana.volejnikova@fnmotol.cuni.cz

Doručeno do redakce: 2. 4. 2012
Přijato po recenzi: 3. 7. 2012

PŘIJMEME
LÉKAŘE/LÉKAŘKU na oddělení klinické hematologie
a
LÉKAŘE/LÉKAŘKU na transfúzní oddělení

Požadujeme:

Odd. klinické hematologie:
- VŠ vzdělání lékařského směru dle zákona č. 95/2004 Sb.
- specializovaná způsobilost v oboru hematologie a transfúzní lékařství
- zdravotní způsobilost a bezúhonnost
- znalost práce na PC (Word, Excel)
- alespoň desetiletou praxi po ukončení VŠ (po zapracování možnost zařazení na funkční místo)

Transfúzní oddělení:
- VŠ vzdělání lékařského směru dle zákona č. 95/2004 Sb.
- specializovaná způsobilost v oboru hematologie a transfúzní
- lékařství, příp. ukončený interní nebo pediatrický kmen
- zdravotní způsobilost a bezúhonnost
- znalost práce na PC (Word, Excel)

Nabízíme:
- možnost profesního růstu na moderně vybaveném pracovišti
- zvýhodněné finanční ohodnocení, u transfúzního oddělení náborový příspěvek 100.000,— Kč.
- příjemné pracovní prostředí
- práce ve specializovaném centru (hematonkololgie, hemofilické centrum)
- možnost ubytování (ubytovna, služební byt)
- 5 týdnů dovolené
- zaměstnanecké výhody (např. příspěvek na stravování, příspěvek na penzijní nebo životní pojištění)
- nástup možný ihned

Kontakt:
Krajská nemocnice Liberec, a.s., Jana Stupková - personální oddělení, Husova 10, 460 63 Liberec 1
Tel.: + 420 485 313 466, E-mail: jana.stupkova@nemlib.cz

Vzácny typ intestinálneho krvácania u pacienta s kolorektálnym karcinómom na antikoagulačnej liečbe

Mýtnik M., Petrík J., Jedináková Z.
Chirurgická klinika FNsP J. A. Reimana, Prešov, Slovenská republika

Súhrn
Cieľ: **Autori poukazujú na riziko krvácania pacientov s kolorektálnym karcinómom na antikoagulačnej liečbe.** ***Materiál a metódy:*** **Autori prezentujú kazuistiku warfarinizovaného pacienta s obturujúcim karcinómom sigmy a ileóznym stavom a súčasne s progredujúcim intramurálnym hematómom v oblasti hepatálnej flexúry kólonu. Pacient bol jedným zo 185 pacientov s kolorektálnym karcinómom, operovaných v období 2008–2011 na Chirurgickej klinike FNsP Prešov. Ako všetci spomínaní pacienti mal pri prijatí vyšetrené základné hemokoagulačné testy vrátane D dimérov a bol vyhodnotený z hľadiska hemokoagulácie.** ***Výsledky:*** **Pacient patril do pomerne malej skupiny pacientov (7 prípadov z celého sledovaného súboru – 3,7 %), u ktorých boli zaznamenané predĺžené koagulačné časy. 64 pacientov (35 %) na dlhodobej antikoagulačnej liečbe malo hemokoagulačné vyšetrenie v norme, 114 pacientov (61 %) vykazovalo laboratórne známky zvýšenej prokoagulačnej aktivity.** ***Záver:*** **Hoci sú hemoragické komplikácie v porovnaní s protrombotickými rizikami malignómov oveľa zriedkavejšou a menej nebezpečnou situáciou vznikajúcou u pacienta s malígnym nádorom hrubého čreva, v kombinácii s náhlou príhodou brušnou – pokročilým ileóznym stavom z obturujúceho tumoru a súčasne s intramurálnym hematómom na inom mieste kólonu môžu byť život ohrozujúcou komplikáciou.**
Kľúčové slová: kolorektálny karcinóm, krvácanie, hematóm

Summary
Mýtnik M, Petrík J, Jedináková Z: A rare case of intestinal bleeding in patient with colorectal carcinoma on anticoagulation treatment

Aim: **The authors point to the risk of bleeding in patients with colorectal carcinoma, on the treatment with warfarin. Material and methods: The authors present a case report of the patient on treatment with warfarin. This patient has ileus due to sigmoideal cancer, and simultaneously a progressive intramural haematoma in the hepatic flexure of the colon. The patient was one of the 185 patients with colorectal cancer operated during the period 2008–2011on Surgery department of FNsP Prešov. Like in all mentioned patients all basic coagulation tests were performed (including D-dimers) and the haemocoagulation status was evaluated.** ***Results:*** **The patient belonged to the relatively small group of patients (7 cases – 3,7%), in them the prolonged coagulation tests were described. 64 patients (35%) on the long-term anticoagulation had haemocoagulation parameters in the normal range, the increased pro-coagulation activity was seen in 114 patients (61%).** ***Conclusion:*** **The haemorrhagic complications (in comparison to pro-thrombotic risk of malignant tumours) do not occur in high frequency and pose less risk in patients with colorectal carcinoma, but in association with ileous status from tumour and intramural haematoma of colon may be dangerous complication.**
Key words: colorectal cancer, bleeding, haematoma

Transfuze Hematol. dnes, 18, 2012, No. 3, p. 130–134.

Úvod

Výskyt tromboembolických komplikácií zhubných nádorov je v literatúre popisovaný až u 20–40 % onkologických pacientov. Teória vzniku protrombotickej predispozície kolorektálnych karcinómov je dnes všeobecne známa a z toho rezultuje i opodstatnenosť antikoagulačnej prolongovanej profylaxie. Najčastejšie volenou alternatívou v tejto indikácii sú LWMH, no niektorí pacienti sú aj na dlhodobej liečbe kumarínmi. Taktiež v klinickej praxi pribúdajú pacienti, najmä vo vyššom veku, liečení kumarínmi aj z inej, kardiologickej či angiologickej indikácie. Mnohokrát sa však nevenuje dostatočná pozornosť možným komplikáciám vyplývajúcim zo zvýšenej tendencie krvácania u týchto pacientov. A práve v tejto súvislosti sa objavujú i pri malígnych nádoroch perioperačné a pooperačné komplikácie. Pri dlhodobom užívaní warfarinu sú prejavy krvácania v akejkoľvej podobe popisované v 8–10 %. Z toho 7 % je nezávažných, 1 % závažných a 0,25 % fatálnych krvácaní (1). Na chirurgických oddeleniach ide najčastejšie o krvácanie z horného GITu potencované pri vredovom ochorení gastroduodena, pri gastroezofageálnom refluxe (GERD) a iných gastropatiách. V kólone a rekte je najčastejšou príčinou krvácania divertikulóza, polypóza a tumory, ale môžu to byť i iné príčiny v anorektálnej oblasti, napr. hemoroidy, fissury, rektálne polypy, či cudzie telesá. V neposlednej miere to býva i krvácanie do prednej brušnej steny a do retroperitonea. Často sa ochorenie zvládne konzervatívnou liečbou. Chirurgická intervencia je

spravidla indikovaná pri progresii klinického stavu po stabilizovaní hemokoagulačných parametrov, alebo pri vzniku komplikácií.

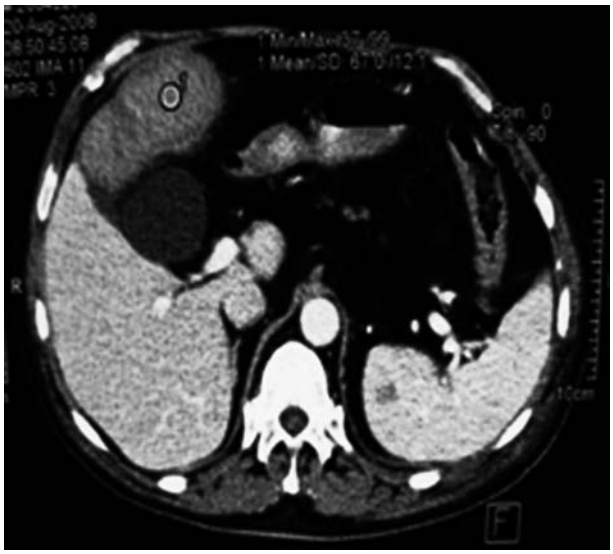
Kazuistika

V období rokov 2008–2011 sme na Chirurgickej klinike FNsP Prešov hospitalizovali 185 pacientov s kolorektálnym karcinómom. Všetkým pacientom boli pri prijatí okrem krvného obrazu vyšetrené základné hemokoagulačné testy (protrombínový čas (PT), trombínový čas (TT), aktivovaný parciálny tromboplastínový čas (aPTT) a D diméry kvantitatívnym vyšetrením – STA Liatest D-Di, Diagnostika Stago. Pacienti boli vyšetrení kolonoskopicky, event. i gastrofibroskopicky vo vlastnej réžii chirurgickej kliniky, event. v gastroenterologickej ambulancii našej nemocnice. V prípade potreby sme indikovali ultrasonografiu (USG), počítačovú tomografiu (CT), irrigoCT, resp. angioCT vyšetrenie na RTG oddelení FNsP Prešov. Operovali sme vo všetkých prípadoch, no vždy až po zastavení krvácania a adekvátnej príprave pacienta. Ani raz sme neboli nútení operovať urgentne.



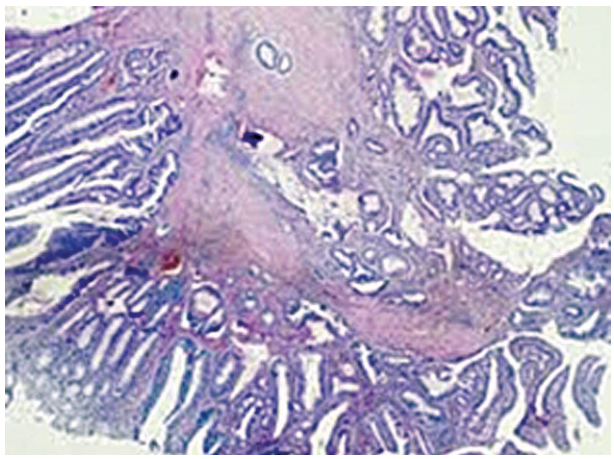
Obr. 1. RTG obraz ileózneho stavu.

Riešili sme aj zaujímavý prípad pacienta s karcinómom sigmy so zriedkavou komplikáciou antikoagulačnej liečby. Jednalo sa o 62-ročného muža, ktorý bol prijatý s klinickým i RTG obrazom dekompenzovaného ileózneho stavu (obr. 1). Pacient pri tom dlhodobo užíval warfarin 5 mg z indikácie kardiológa pre ischemickú chorobu srdca (ICHS) s fibriláciou predsiení s cieľovým INR v rozmedzí 2,0–3,0. Pri prijatí udával 5 dní trvajúce bolesti brucha, viac v pravom epigastriu a mezogastriu, bez zvracania, bez úrazovej anamnézy. Brucho bolo pri príjme výrazne meteoristické, palpačne mäkké, priehmatné, difúzne citlivé, ale bez známok peritoneálneho dráždenia. Poklop bol bubienkový, auskultačne paralýza, známky prelievania črevného obsahu. Pri vyšetrení per rectum ampula prázdna, Douglas mierne citlivý, nevyklenutý. Na RTG snímke brucha v stoji sa zobrazuje enormná dilatácia kólonu až po sigmu, s plynovými valcami a hladinami, s naznačeným zatienením v oblasti hepatálnej flexúry. Z nazogastrickej sondy bolo potrebné odsávať žalúdočný obsah. V laboratórnom obraze dominovala hypokaliemická alkalóza, mierne zvýšená hladina urey a kretinínu, z koagulačných parametrov dominovalo predĺženie protrombínového času - PT-INR 4,61 a PT% 14,5 %, v krvnom obraze iba anémia mierneho stupňa (tab. 1). Vyšetrili sme aj koncentrácie antitrombínu (AT), fibrinogénu a D-dimérov. Množstvo antitrombínu sa pohybovalo v referenčných hraniciach (80-84 %), D-diméry pretrvávali mierne zvýšené v 1. a 2. pooperačný deň (437 a 501 μg/l), fibrinogén počas celej doby hospitalizácie pacienta (hodnoty dosahovali max. 7,87 g/l). Vzhľadom na uvedený nález bola indikovaná urgentná laparotómia po adekvátnej príprave pacienta, počas ktorej aplikované 1500 ml čerstvej zmrazenej plazmy a kryštaloidy. Po urgentnej predoperačnej príprave došlo k úprave vnútorného prostredia a čiastočne aj hemokoagulačných parametrov – PT-INR 2,72 a PT% 41 %. Peroperačne nachádzame v brušnej dutine množstvo serosanguinolentného výpotku, extrémnu dilatáciu celého kólonu až po sigmu, kde nachádzame v ohybe sigmy obturujúci tumor o priemere 6 cm, infiltrujúci celú hrúbku steny až na serózu. Dilatácia kólonu dosahuje ortográdne priemeru až 14 cm! V mesosigme sú viditeľné lymfatické uzliny do veľkosti 6–7 mm. Vzdialené metastázy (MTS) nie sú prítomné. Okrem toho v oblasti hepatálnej flexúry nachádzame zápalový infiltrát veľkosti asi 6 x 7 cm. Stena kólonu je v tomto mieste hemoragicky infarzovaná a celá flexúra je retrahovaná subhepatálne k zadnému peritoneu. Presná etiopatogenéza tohto infiltrátu sa nedala makroskopicky určiť a peroperačnú biopsiu nebolo možné vyšetriť, nakoľko výkon bol realizovaný v nočných hodinách v rámci pohotovosti. Po komplexnom zhodnotení peroperačného nálezu a celkového stavu pacienta, ktorý bol v štádiu šoku kompenzovaného katecholamínmi, sa rozhodujeme pre čo najšetrnejší a najrýchlejší operačný výkon, odstraňujúci príčinu črevnej nepriechodnosti. Bola vykonaná antepozícia sigmy s tumorom a dvojhlavňovou kolostómiou podľa Maydla - Kukulu s ponechaním spomínaného zápalového tumoru v oblasti hepatálnej flexúry. V prvé dva pooperačné dni naďalej pretrvávala naša snaha o úpravu koagulačných parametrov na požadované hodnoty. Pacientovi bol podávaný vitamín K, ČZP, bez terapie LWMH. Od tretieho pooperačného dňa bol pacientovi nasadený LWMH (Clexane 0,2 J s.c./deň). Kvôli plánovanému ďalšiemu operačnému výkonu – resekcii pravého kolónu, boli LWMH v terapii ponechané a vývoj koagulačných parametrov naďalej sledovaný (graf 1). Pooperačne bola pasáž obnovená v 3. pooperačný deň, pacient bol afebrilný. V 8. pooperačný



Obr. 2. CT obraz tumoru hepatálnej flexúry.

deň bolo vykonané CT vyšetrenie za účelom diferencovania a kontroly popísaného zápalového infiltrátu v oblasti hepatálnej flexúry. Röngenológ potvrdil progresiu procesu oproti peroperačnému stavu s popisom tumoru hepatálnej flexúry veľkosti 13,5 x 7 cm (obr. 2). Pacient bol po operácii stabilizovaný, s fungujúcou sigmoideostomiou. Vzhľadom na CT verifikovanú progresiu procesu a uspokojivé hodnoty koagulačných parametrov bola 14 dní po prijatí vykonaná resekcia popísaného tumoru hepatálnej flexúry, pravostranná hemikolektómia, s následnou ileo-transverzoanastomózou side to side. Výsledok histologického vyšetrenia resekátu sigmy potvrdil adenokarcinóm grade 1, 12 vyšetrených lymfatických uzlín bolo bez známok malígnej infiltrácie. Časti steny pravého kolónu boli so známkami ischemickej kolitídy a viscerálnej peritonitídy. V stene čreva bol rozsiahly hematóm v organizácii, takmer úplne obturujúci lumen čreva (obr. 3). Pooperačný priebeh bez komplikácií, rana sa hojila per primam, pasáž bola obnovená, sigmoideostómia bola funkčná. Pacient bol v 6. pooperačný deň prepustený do ambulantnej starostlivosti klinického onkológa a onkochirurgickej ambulancie, kde bola aplikovaná adjuvantná chemoterapia: Fluorouracil (FUL) s Leukovorinom 1-krát týždenne 6 cyklov. Po ukončení liečby bol vykonaný restaging ochorenia – kolonoskopia, CT, pozitrónová emisná tomografia (PET) a vyšetrenie onkomarkerov. Všetky vyšetrenia potvrdili priaznivý pooperačný stav a vylúčili recidívu ochorenia, čo umožnilo v ďalšom priebehu (po cca 16 mesiacoch od prvej operácie) vykonať oklúziu stómie s descedentorektoanastomózou end to end. Po resekcii pravého kólonu bol pacient pre hepatopatiu s ikterom dlhodobo na Anopyrine.

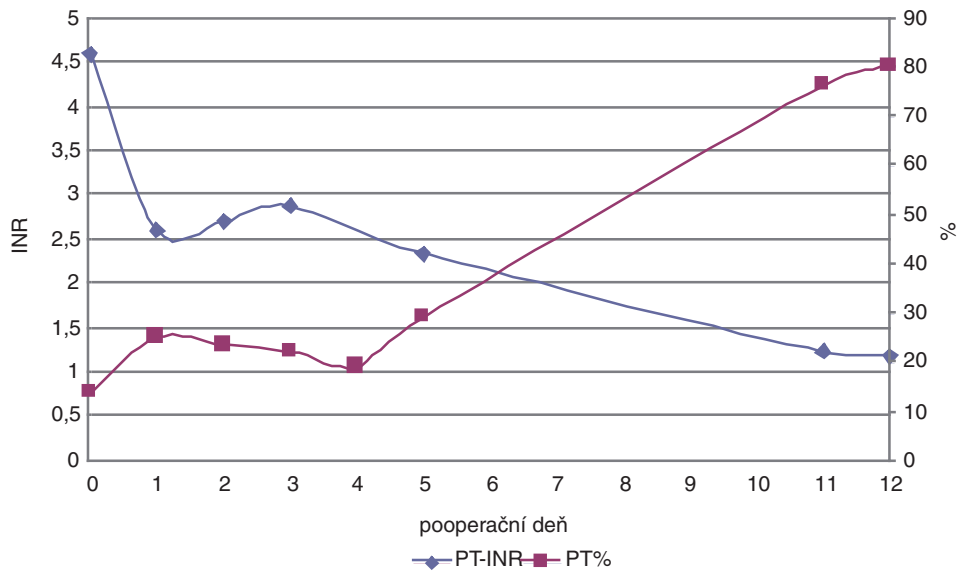


Obr. 3. Stena hrubého čreva s rozsiahlym intramurálnym hematómom.

Diskusia

Medzi najzávažnejšie komplikácie spojené s užívaním warfarínu patrí krvácanie v dôsledku predávkovania, vyskytujúce sa asi u 8 % pacientov liečených kumarínmi (1). Najčastejšie sa jedná o krvácanie do GIT, ale nezriedka sú to aj prejavy krvácania do brušnej steny, či do retroperitonea. Spontánny intramurálny črevný hematóm však rozhodne nie je obvyklým miestom krvácania (2). V tenkom čreve je diagnostikovaný výskyt hematómu len u jedného z 2500 warfarizovaných pacientov ročne (3). V hrubom čreve je výskyt podstatne zriedkavejší (3, 4).

Podozrenie na intramurálny črevný hematóm



Graf 1. Vývoj INR a PT % počas hospitalizácie pacienta.

Tab. 1. Krvný obraz a základné koagulačné parametre pri prijatí pacienta.

PLT	WBC	HGB	RBC	HTK	FBG	PT-INR	PT %	APTT	TT
218	7,6	121	4,09	3,35	5,34	4,61	14,05	80,8	15,9

by mali navodiť nasledovné symptómy.

Predovšetkým sú to bolesti brucha u pacientov s anamnézou warfarínu a súčasne s predĺženým INR a anémiou. Tento príznak je prítomný prakticky u všetkých pacientov a varíruje od miernej neurčitej tlakovej bolesti až po krčovité a intervalovité bolesti v závislosti na stupni obštrukcie (5, 6). Menej častými príznakmi sú nevoľnosť, vracanie, pocit plnosti (6, 7). Krvácanie do tráviacej trubice vo forme hematemézy, melény, alebo enterorágie, či krvácania z afekcií v oblasti konečníka, sa môže prejaviť u takmer polovice pacientov (3, 7). Masívne krvácanie je však zriedkavé (8).

Pacienti sa dostavia do nemocnice spravidla včas, ale doba od objavenia sa prvých príznakov po hospitalizáciu v literatúre varíruje v rozmedzí od 1 dňa až po 3 týždne (9, 10).

Nie je pravidlom, že títo pacienti sú vždy anemickí. Až 85 % pacientov nemusí mať spočiatku anémiu. Táto sa spravidla vyvíja až v priebehu prvých 48 hodín (11). Laboratórne vyšetrenia väčšinou už pri príjme pacienta odhalia posun PT, INR nad rozsah normálnych hodnôt. Neexistuje však žiadna úmernosť medzi výskytom krvácania a protrombínovým časom a ani normálna hodnota PT nevylučuje výskyt intramurálneho hematómu (11, 12).

Lokalizácia krvácania býva obvykle v tenkom čreve, a to z malých premosťujúcich ciev v submukóze, ale zdroj krvácania môže byť aj v hrubom čreve (13, 14). Incidencia v tenkom čreve je nasledovná: jejunum (64–69 %), ileum (26–38 %), duodenum (10–23 %) (12). Tým sa líšia hematómy z predávkovania warfarinom od traumatických, ktoré najčastejšie postihujú duodenum vzhľadom na jeho fixáciu v oblasti Treitzovho väzu (13, 14, 15).

Komplikáciou antikoagulačnej liečby môže byť aj hemoperitoneum. Intramurálne hematómy čreva sa väčšinou vyskytujú ako jednotlivé (85 %), a len zriedka sú viacpočetné (16).

Ultrasonografia a CT sú v diagnostike intramurálnych hematómov GIT veľmi prínosné vyšetrenia. Ale k diagnóze intramurálneho hematómu nás neraz môže naviesť aj natívna RTG snímka. Senzitivita sonografie je 71,4 %, CT 80–100 % (10, 11, 17).

V konzervatívnej liečbe krvácania z GIT pri antikoagulačnej liečbe je nutné prerušenie podávania antikoagulancií a rýchla úprava protrombínového času a INR pomocou ČZP, v prípade dostupnosti pomocou koncentrátu protrombínového komplexu. Podávanie vitamínu K má význam pre podporu syntézy vlastných faktorov protrombínového komplexu v pečeni, žiaduca je korekcia anémie adekvátnou substitúciou. K úprave dochádza spravidla do 48–72 hodín (17). Ak sa po tomto čase nedostaví požadovaný efekt, je potrebné prehodnotiť postup. Rezorpcia hematómu trvá zvyčajne 3–8 týždňov (15, 18). Chirurgická liečba je indikovaná buď pri progresii krvácania napriek konzervatívnej liečbe, alebo pri vzniku komplikácií, ako napr. črevná obštrukcia, nekróza čreva, peritonitída.

Záver

Náhla príhoda brušná vo forme pokročilého ileózneho stavu z obturujúceho tumoru c. sigmoideum, v kombinácii so závažným predávkovaním pacienta kumarínom, môže viesť k neobvyklej komplikácii, napr. k intramurálne lokalizovanému hematómu kolónu. Aj keď sa pri malígnych nádoroch viac obávame rizika trombózy, aj krvácanie môže spôsobiť závažné komplikácie. Predpokladom úspešného zvládnutia týchto komplikovaných stavov je zodpovedná intenzívna starostlivosť s dôrazom na adekvátnu korekciu krvného obrazu, vnútorného prostredia a hemokoagulačných parametrov. Aj keď je konzervatívna liečba často postačujúca, v prípade jej zlyhania, či vzniku komplikácií napr. z obturácie čreva intramurálnym hematómom, netreba otáľať s indikáciou chirurgického výkonu. Chirurgické riešenie je vždy individuálne, ale zodpovedná urgentná predoperačná príprava a v prípade potreby viacetapový chirurgický výkon, výrazne zvyšuje šancu na úspech. Jednoznačne má svoje absolútne opodstatnenie, obzvlášť u starších a polymorbídnych pacientov, čo potvrdzuje aj naša kazuistika. Zároveň nastoluje otázku, či v skupine rizikových pacientoch ohrozených krvácaním do GIT (kam rozhodne pacienti s kolorektálnym karcinómom patria) nie je na mieste zvoliť už primárne iný typ profylaktickej antikoagulačnej liečby.

Použité skratky

aPTT	aktivovaný parciálny tromboplastinový čas
AHP	antihemofilická plazma
AT	antitrombín
ČZP	čerstvá mrazená plazma
GIT	gastrointestinálny trakt
ICHS	ischemická choroba srdca
INR	international normalized ratio
LIA	luminiscenčná imunoanalýza
LU	lymfatické uzliny
MTS	metastázy
PET	pozitrónová emisná tomografia
PT	protrombínový čas
RTG	röntgen
TT	trombínový čas
USG	ultrasonografia

Literatúra

1. Krysa J, Shahabdeen M, South LM. A case of acute large bowel obstruction, presenting in a patient taking warfarin. Emerg Med J 2003; 20: 81-85.
2. Attuwaybi B, Visco JJ, Butler BN, Barrios GG. Spontaneous rec-

tal intramural hematoma: A rare complication of anticoagulant therapy. Dostupný z www: http://www.hcplive.com/publications/ surgical-rounds/2008/2008-03/2008-03_03 .
3. Polat C, Dervisoglu A, Guven H, Kaya E. Anticoagulant-induced intramuralintestinal hematoma. Am J Emerg Med 2003; 21: 208-211.
4. Nozu T. Idiopathic spontaneous intramural hematoma of the colon: a case report and review of the literature. Clin J Gastroenterol 2009; 3:161-165.
5. Pickhardt PJ, Kim DH, Menias CO. Evaluation of submucosal lesions of the large intestine. RadioGraphics 2007; 27: 1693-703.
6. Takekazu K, Kyoichi A, Nobuyuki M. A case of intramural hematoma of the sigmoid colon caused by anticoagulants. Gastroenterol Endosc 2000; 42: 180-184.
7. Pais R, Silaghi H, Silaghi AC, Rusu ML. Metabolic syndrome and risk of subsequent colorectal cancer. World J Gastroenterol 2009; 15(41): 5141-5148.
8. Nogales RO, Yepes BI, Hernando AA. Large intramural colonic hematoma after polypectomy. Endoscopy 2009; 41: 281-284.
9. Stuhlfaut JW, Soto JA, Lucey BC. Blunt abdominal trauma: performance of CT without oral contrast material. Radiology 2004; 233: 689-694.
10. Abbas A, Collins JM, Olden KW. Spontaneous intramural small-bowel hematoma: imaging findings and outcome. Am J Roentg 2002; 179:1389-1394.
11. Abbas SA, Upadhyay V. Hollow viscus injury in children: Starship Hospital experience. World J Emerg Surg 2007; 2: 14.
12. Chaiteerakij R, Treeprasertsuk S, Mahachai V. Anticoagulant-Induced Intramural Intestinal Hematoma. J Med Assoc Thai 2008; 91(8): 1285-1290.
13. Yin WY, Gueng MK, Huang SM. Acute colonic intramural hematoma due to blunt abdominal trauma. Int Surg 2000; 85(1): 51-54.
14. Hou MM, Tsou YK. Education and imaging. Gastrointestinal: Acute colonic intramural hematoma after blunt abdominal trauma. J Gastroenterol Hepatol 2009; 24(3): 494.
15. Karjoo M, Domachowske J, Trust S. Intramural hematoma of the descending colon after blunt abdominal trauma. Clin Pediatr 2000; 39(6): 373-374.
16. Chen YY, Su WW, Soon MS, Yen HH. Gastrointestinal intramural hematoma of the duodenum. J Gastroenterol Hepatol 2006; 21: 1071.
17. Hsiao CW, Chao PC. Warfarin-induced intramural haematoma of the ileocecal valve with obstruction. ANZ J Surg 2004; 74: 810-811.
18. Shinozaki S, Yamamoto H, Kita H, Yano T. Direct observation with doubleballoon enteroscopy of an intestinal intramural hematoma resulting in anticoagulant ileus. Dig Dis Sci 2004; 49: 902-905.

MUDr. Miroslav Mýtnik, PhD.
Chirurgická klinika
FNsP J. A. Reimana
Hollého 14
081 81 Prešov
Slovenská republika
e-mail: mytnik@fnsppresov.sk

Doručeno do redakce: 12. 3. 2012
Přijato po recenzi: 2. 7. 2012



METODOLOGIE PŘEDKLINICKÉHO A KLINICKÉHO VÝZKUMU v metabolismu, výživě, imunologii a farmakologii

Zdeněk Zadák, Jaroslav Květina et al.

Galén, 2011, 333 s. – První vydání
ISBN: 978-80-7262-748-6
Cena: 690 Kč
Formát: 155x225 mm, vázané, dvoubarevně

Publikace *Metodologie předklinického a klinického výzkumu v metabolismu, výživě, imunologii a farmakologii* je v českém písemnictví ojedinělá – je unikátní nejen svou myšlenkou, ale i provedením a vytvořením souboru, který vychází z dlouholetých zkušeností autorského kolektivu. Zkušeností, které se navíc opakovaně prokazatelně osvědčily a potvrdily významnými vědeckými úspěchy a získanými (a úspěšně řešenými) granty. Kniha poskytuje souhrnný, ucelený a přehledný materiál a je určena všem, kteří o výzkumu uvažují, ale i těm, kteří ve výzkumu pracují. Prvním může ušetřit řadu omylů a počátečních neúspěchů, druhým pomůže rozšířit obzory i o metody, které nejsou zcela běžné či obecně ve výzkumu používané.

Objednávky zasílejte e-mailem nebo poštou: Nakladatelské a tiskové středisko ČLS JEP, Sokolská 31, 120 26 Praha 2, fax: 224 266 226, e-mail: nts@cls.cz. Na objednávce laskavě uveďte i jméno časopisu, v němž jste se o knize dozvěděli.

Dr. Konrad Sigmund Rodan (Rosenberg) – významný anglický hematológ z Československa

Svojho času ma doc. Edgar Faber oslovil, aby som napísal pre Vás, čitateľov *Transfuze a hematologie dnes,* svoje skúsenosti z anglického zdravotníctva, kde pracujem od roku 2006 ako hematológ. Predtým som pracoval u prof. Adrieny Sakalovej a doc. Martina Mistríka na KHaT v Bratislave. Dnes by som svoje skúsenosti zhrnul slovami môjho anglického priateľa Davida Prentisa, žijúceho v Kladne, ktorými ma vyprevádzal do jeho rodného Anglicka: *"Pavle, v Anglii je všechno jinak"*. A skutočne to tak bolo. Pacienti na ambulancii poznajú svoju výšku a hmotnosť iba v imperiálnych mierach – stone a pound, feet a inch. Akákoľvek komunikácia v zdravotníctve je len prostredníctvom zdvorilých formálnych listov, žiadne epikrízy a lekárske správy nie sú. Funkcia primára na oddeleniach neexistuje, každý hematológ je autonómny odborník. Veľká väčšina (môj odhad 80 %) zdravotníckej starostlivosti pokrýva NHS – National Health Service, ktorá je platená zo štátnych daní (asi 40 %). Privátne zdravotníctvo je len pre majetnejších občanov a spĺňa dve dôležité úlohy: ponúka pacientom okamžitý servis, skracuje čakacie doby zo 6 týždňov na niekoľko dní a ochraňuje vzťah pacient – lekár v NHS od korupcie. Avšak privátny sektor je zatiaľ veľmi málo rozvinutý, ak sa pacient skomplikuje, okamžite je prevezený do NHS, kde je zaručená dlhodobá starostlivosť s vysokou úrovňou.

Doteraz som mal možnosť pracovať v okresných nemocniciach v Essexe a Sussexe. V Londýne som pôsobil vo fakultnej nemocnici Guy's and St Thomas' Hospital a vo Whipps Cross Hospital. Chcem sa s Vami podeliť hlavne s mojimi skúsenosťami z hematologického oddelenia vo Worthingu, v okrese Sussex. Toto veľmi dobre zorganizované oddelenie bolo totiž založené československým hematológom Dr. Konradom Sigmundom Rodanom (narodený vo Fryštáte, v Sliezsku 27. novembra 1915 – zomrel v Sussexe 3. januára 2008), ktorý bol nútený opustiť svoju vlasť dvakrát: v roku 1939, aby unikol pred nacizmom a v roku 1949 pred komunizmom. Dr. Rodan nastúpil v Sussexe ako hematológ-mikrobiológ v roku 1948. Vybudoval od základu oddelenie v Southlands Hospital, 1960 vo Worthing Hospital a neskôr 1972 i v St. Richard's Hospital v Chichestri. Počas svojej praxe pôsobil súčasne v týchto nemocniciach ako hematológ a transfúziológ.

Hematológiu, transfúziológiu a mikrobiológiu vo Worthingu sám projektoval, takže orientoval laboratória na severe nemocnice s prekrásnym výhľadom na pahorkatinu South Downs. Aj kvôli tomuto výhľadu chodím rád do laboratória aj niekoľkokrát denne. Hematologickú ambulanciu naprojektoval v rámci laboratória. Keď som sem prišiel v októbri 2011, tak mi pridelili práve jeho bývalú pracovňu, veľkú, svetlú a veľkorysú. Je to nielen pracovňa s mikroskopom, ale zároveň aj ambulantná miestnosť. V Anglicku nie je zjednotené, kto popisuje trepanobiopsie a sú pracoviská, kde to robí hematológ. Jedným takým je i Worthing. Veľmi oceňujem túto možnosť môjho poznávania a vzdelávania pod vedením mojich kolegov. Sú prípady, že počas ambulancie potrebujem prezrieť nátery a rezy kostnej drene – s mikroskopom v ambulancii je to veľmi jednoduché a bez akéhokoľvek zdržovania. V iných nemocniciach to nebolo možné. Cítim sa znovu ako v pôvodnej budove KHaT na Parti-





zánskej ulici, ktorú projektoval prof. Hrubiško, nestor slovenskej hematológie, vo veľmi podobnom duchu trojjedinej hematológie (klinická, laboratórna a transfúziológia).

Dr. Konrad Rodan spromoval na Nemeckej univerzite v Prahe v roku 1938. Od svojich nemeckých spolužiakov sa dozvedel, že ho prenasleduje Gestapo kvôli jeho židovskému pôvodu. Spolu s inými kolegami vďaka ochotnému dekanovi predčasne spromoval a utiekol cez Britské vyslanectvo v Krakove do Londýna okľukou cez Švédsko. Podľa osobných zápiskov Dr. Rodana anglická vláda veľmi štedro podporovala utečencov z ČSR, aby vykompenzovala svoju fatálnu historickú chybu, ktorú spravila podpisom Mníchovskej dohody v 1938. Svojou veľkou usilovnosťou a schopnosťou sa v Londýne prepracoval z dobrovoľného pracovníka v laboratóriu na postgraduálneho študenta v London Hospital. Tu sa mu podarilo počas vojny ukončiť postgraduálne štúdium laboratórnej medicíny. Neskôr sa špecializoval na hematológiu a mikrobiológiu. Pred ukončením vojny sa dobrovoľne prihlásil do konvoja povojnovej obnovy Československa – První zdravotní výprava, organizovaného Československou vládou v Londýne. Bol prvým československým lekárom, ktorý sanoval koncentračný tábor Terezín. Ako mikrobiológ riešil hroziacu epidémiu. Pri obhliadke mŕtvych väzňov objavili a zachránili ešte veľa živých ľudí. Tieto zážitky sa zachovali v jeho vlastných memoároch, ktoré mi poskytla pani Audrey Rodanová, vdova po Dr. Rodanovi. Dr. Rodan si vysoko vážil svojich kolegov laborantov. Bol veľmi obľúbený. Hoci odišiel do dôchodku v roku 1978 na protest proti nevhodným reformám v NHS, dodnes s úctou a radosťou na neho spomínajú.

NHS je najväčší zamestnávateľ v Európe. V súčasnosti zamestnáva 1,7 milióna ľudí. Tento systém vznikol v roku 1946 ako odozva na potreby britského národa počas 2. svetovej vojny vybudovať špičkové zdravotníctvo dostupné každému. Táto pôvodná myšlienka sa pomaly vytráca a súčasne vysoké finančné nároky na poskytovanie bezplatnej zdravotnej starostlivosti nútia britskú vládu dôrazne reformovať NHS systém. Veľa sa diskutuje o možnej privatizácii, avšak laboratória sú už v plnom privatizačnom procese, ktorý urýchľuje zlučovanie nemocníc. Počas krátkeho obdobia 3 rokov som bol svedkom dosť náročného a stresujúceho zlučovania Guy's and St Thomas' Hospital s King College Hospital, Whipps Cross Hospital a Newham Hospital s St Bartholomew and The Royal London Hospital a Worhing Hospital s St Richard's Hospital v Chichestri. Podobne pocity sme prežívali s kolegami, keď sa zlučovali všetky nemocnice v Bratislave do jednej fakultnej nemocnice. Počas tohto prechodného obdobia je chod oddelenia výrazne narušovaný organizačnými zmenami.

Našiel som veľké povzbudenie v životnej ceste a v diele Dr. Rodana. Moje rozprávanie by som rád ukončil slovami Bohdana Warchala, slovenského husľového virtuóza tiež rodáka zo Sliezska: *"Ja nepoznám hudbu ľudovú, jazzovú alebo klasickú. Ja poznám iba hudbu dobrú alebo zlú."* Chcel by som iba dodať, že to iste platí i o hematológii.

Dr. Pavel Kotouček, hematológ a transfúziológ, Worthing, 8. 6. 2012

Výběr z tisku a zprávy o knihách

Risk factors for in-hospital venous thromboembolism in children: a case-control study employing diagnostic validation

Brian R. Branchford1, Peter Mourani, Lalit Bajaj, et al.
Department of Pediatrics, Section of Hematology/Oncology/Bone Marrow Transplantation, University of Colorado-Denver and Children's Hospital Colorado, Aurora, CO; University of Colorado Hemophilia and Thrombosis Center, Aurora, CO; Department of Pediatrics, Section of Critical Care, University of Colorado-Denver and Children's Hospital Colorado, Aurora, CO; et al.
Haematogica, 1 April 2012, Vol. 97, No. 4, pp. 509-515

Rizikové faktory pro vznik venózního tromboembolismu (VTE) u hospitalizovaných dětí nebyly zatím dostatečně studovány validními diagnostickými metodami. Přitom recentní data ukazují, že incidence pediatrického VTE dramaticky narůstá. Tím se také zvyšují následky prodělané hluboké žilní trombózy (DVT) a plicního embolismu (PE). Rizika dlouhodobé plicní insuficience po PE u dětí zůstávají nedefinována. Systematický přehled pediatrické literatury ukázal, že alespoň u 20 % dětí se po končetinové DVT vyvine posttrombotický syndrom (PTS), syndrom chronické žilní insuficience spojený často s omezením fyzických aktivit odpovídajících věku. To může mít kritický dopad pro normální růst a vývoj. Pro pediatrické pacienty také chybí doporučení pro prevenci VTE vzniklé při hospitalizaci. U dospělých pacientů jsou tato opatření dobře stanovena a potvrzena randomizovanými kontrolovanými klinickými studiemi.

Cílem této práce bylo: (1) určit rizikové faktory pro vznik VTE u hospitalizovaných dětí pomocí jednoústavní kontrolované studie metodou případ-kontrola; (2) použít diagnostické validační metody k překonání limitací Mezinárodní klasifikace chorob, 9. vydání (ICD-9), zahrnující data při propuštění; (3) rozlišit vznik VTE před hospitalizací proti začátku VTE při hospitalizaci (pre-hospital versus in-hospital).

Soubor, metody, výsledky. Jde o retrospektivní analýzu dat z lékařské dokumentace dětí (ve stáří od narození do 21 roků) hospitalizovaných v 300lůžkovém pediatrickém centru Dětské nemocnice University Colorado-Denver. USA, v době od 1. ledna 2008 do 31. prosince 2009. Kódy diagnóz při propuštění zahrnovaly VTE podle ICD-9 (skupina: případy) a pacienty bez této diagnózy (skupina: kontroly). Podrobně je uvedena lokalizace trombóz, metody průkazu, souvislost s hospitalizací, vznikem trombóz po příjmu, délka hospitalizace a příčinné souvislosti Statistická analýza definovala distribuci kontinuálních proměnných, frekvenci a proporce kategorických proměnných, které pak byly porovnány mezi skupinou případy a skupinou kontroly pomocí cílených statistických metod.

Výsledky. V rámci studie bylo verifikováno 78 případů VTE u dětí při hospitalizaci v průběhu 7letého sledování po aplikaci definovaných validačních kritérií. Tomu odpovídá průměrná incidence 5 na 10 000. Medián doby od začátku hospitalizace do diagnózy VTE byl 7 dní (rozmezí 1–73 dnů). Logistická regresivní analýza ukázala, že statisticky signifikantními nezávislými rizikovými faktory pro VTE příhody vzniklé při hospitalizaci byly: mechanická ventilace, systémová infekce a délka hospitalizace 5 dní nebo více. Při užití těchto faktorů v rizikovém modelu byla post-test pravděpodobnost žilního tromboembolismu 3,5 %. V diskusi uvádějí autoři také některé klíčové limitace uvedené práce, jako je retrospektivní povaha analýzy a nesledování pacientů po propuštění z nemocnice. Zmiňují též několik spíše menších limitací.

Závěr. Práce poskytuje vysoce kvalitní data o rizikových faktorech pro vznik venózního tromboembolismu u dětí během hospitalizace. Zjišťuje statisticky významné nezávislé faktory, které mohou v budoucích prospektivních multicentrických studiích poskytnout základ pro stratifikaci zaměřené na primární prevenci pediatrického žilního tromboembolismu u vysoce rizikové skupiny pacientů.

Prof. MUDr. Otto Hrodek, DrSc.

A phase 2 study of the safety, tolerability, and pharmacodynamics of FBS0701, a novel oral iron chelator, in transfusional iron overload

Ellis J. Neufeld, Renzo Galanello, Vip Viprakasit, et al.
Children's Hospital, Harvard University, Boston, MA; Universita degli Studi di Cagliari, Cagliari, Italy; Siriraj Hospital, Mahidol University, Bangkok, Thailand; et al.
Blood, 5 April 2012, Vol. 119, No. 14, pp. 3263-3268

Přes velké pokroky v chelatační léčbě zůstává problematika léčby přetížení organismu železem stále velkým problémem u osob závislých na opakovaných transfuzích. V běžné současné praxi jsou užívány preparáty účinné pro mnoho pacientů (deferoxamin, deferasirox a deferipron). Efektivní chelatační léčbu přineslo zejména zavedení perorálních chelátorů, mají však také svoje vymezení, zejména z pohledu na optimální dávkování, nežádoucí vedlejší účinky a plnou compliance.

Předmětem této práce je klinická studie fáze 2 s novým perorálním chelátorem FBS0701. Jde o látku z třídy desazadesferrithiocinů, která v předchozích preklinických studiích vykazovala vysokou afinitu a selektivitu pro vazbu železa. Klinická studie fáze 1 vykázala bezpečnost, tolerabilitu a farmakokinetiku a dala předpoklad pro další klinické vyhodnocení (Haematologica 2011; 96(4): 521–525). Cílem této studie bylo stanovit bezpečnost, tolerabilitu a farmakodynamiku, včetně odpovědi na dávku FBS0701 u dospělých osob s anémiemi dependentními na transfuze.

Soubor, metody a výsledky. Jde o multicentrickou, randomizovanou a otevřenou studii u dospělých osob s přetížením železem po transfuzích, vyžadujících chelatační léčbu. Pacienti byli z 9 center v USA, Itálie, Velké Británie, Turecka a Thajska. Byli sledováni od září 2010 do února 2011. Dostávali FBS0701 v kapslích po dobu 24 týdnů. Ve studii bylo stratifikováno celkem 51 pacientů ve věku medián 27,6 roků (rozmezí 18–48 roků). 24 pacientů dostalo dávku 14,5 mg/kg denně, 27 pacientů 29 mg/kg denně. Primární hematologické diagnózy byly nejčastěji thalassemia major, u 3 osob srpkovitá anémie. Přetížení železem po transfuzích bylo definováno stanovením koncentrace železa v játrech (liver iron concentration LIC) metodou kvantitativní analýzy R2 MRI FerriScan; ≥ 3,5 mg/g (suché hmotnosti) nebo hladinou ferritinu v séru > 5 ng/ml.

Výsledky. Studii dokončilo 49 pacientů (96 %) z celkových 51 pacientů, všichni dostali alespoň 1 dávku FBS0701. Preparát byl všeobecně dobře tolerován při obou dávkách. Nedošlo k závažným vedlejším příhodám, při tom nebyl rozdíl ve frekvenci nebo závažnosti v závislosti na dávkování. V souvislosti s léčbou byla zaznamenána nauzea, zvracení, bolesti břicha a průjem u < 5 % pacientů. Průměrná hodnota sérového kreatininu se významně nezměnila od výchozích hodnot nebo mezi oběma srovnávanými skupinami. Transaminázy se zvýšily u 8 pacientů (16 %). U tří z nich šlo o nové případy hepatitidy C během studie při transfuzích z jedné krevní banky a u pěti pacientů byla abnormální výchozí hodnota ALT. Průměrná 24týdenní změna v koncentraci železa v játrech (LIC) při 14,5 mg/kg/den byla +3,1 mg/g (suché hmotnosti); 29 % dosáhlo pokles LIC. Průměr ΔLIC při 29 mg/kg/den byl -0,3mg/g (suché hmotnosti); 44 % dosáhlo pokles v LIC (P < 0,03 pro ΔLIC mezi podávanými denními dávkami).

Závěr. Studie účinku nového perorálního chelátoru FBS0701 vykázala bezpečnost a dobrou tolerabilitu v terapeutických dávkách při podávání 24 týdnů, příznivou při srovnání s ostatními perorálními chelátory. Byla pozorována jasná na dávce závislá odpověď. Nebyl pozorován rozdíl ve vedlejších nežádoucích příhodách, včetně hladin sérového kreatininu a transamináz. Vyšší dávky FBS0701 by mohly vést k bezpečnému snížení koncentrace železa v játrech u větší části pacientů.

K práci se vztahuje komentář: *Ali T.Taher and Khaled M. Musallam:* **A new chelator in the house.** *Blood, 5 April 2012; 119 (14), 3191-3192*. Srovnává výsledky dosažené s novým perorálním chelátorem FBS0701 a vedlejší projevy se zkušenostmi s deferasiroxem. Uzavírá podnětným námětem na vedení další prohloubené klinické studie.

Prof. MUDr. Otto Hrodek, DrSc.

Correlation of CD33 expression level with disease characteristics and response to gemtuzumab ozogamicin containing chemotherapy in childhood AML

Jessica A. Pollard, Todd A. Alonzo, Michael Loken, et al.
Fred Hutchinson Cancer Research Center, Seattle, WA; University of Washington, Seattle, WA; University of Southern California Keck School of Medicine, Los Angeles, CA; et al

Blood, 19 April 2012, Vol. 119, No. 16, pp. 3705-3711

CD33 je myeloidní antigen (Ag) exprimovaný na blastických buňkách většiny pacientů s akutní myeloidní leukemií. Je terčem pro gemtuzumab ozogamicin (GO), což je rekombinantní humanizovaná anti-CD33 protilátka spojená s cytotoxickým protinádorovým antibiotikem calicheamicinem. V tomto konjugátu se protilátka váže a je osvojována buňkami exprimujícími CD33 antigen. Klinická účinnost GO byla zpočátku prokázána u pacientů s relapsem CD AML. Přestože studie in vitro ukazovaly na přímý vztah mezi expresí CD33 a GO-indukovanou cytotoxicitou, byla data v korelačních klinických GO studiích u dospělých s relapsovou AML rozporná. Recentní data 15 klinických studií přepokládají preferenční účinnost GO u vybrané populace s AML. Proto vzrůstá zájem určit, která podskupina pacientů by mohla mít největší prospěch.od této látky.

Cílem této studie bylo určit variabilitu exprese CD33 a charakteristik choroby u pediatrické AML. Analýza se zabývala kvantifikací exprese CD33 na povrchu leukemických blastů prospektivně a určením korelace hladin exprese tohoto Ag s charakteristikami choroby a klinickým výsledkem v kontextu 2 následných studií s GO v rámci Dětské onkologické skupiny COG (Childrenęs Oncology Group).

Soubor, metody a výsledky. Autoři vyhodnotili expresi CD33 u 619 pediatrických pacientů s de novo AML. Pacienti byli stratifikování do rizikových skupin podle cytogenetických a molekulárních abnormalit. Skupina s nízkým rizikem zahrnovala pacienty s core binding faktorem (CBF) AML t(8;21) nebo inv(16)/t(16;16) a/nebo s nukleofosminem-1 *(NPM1)* nebo mutacemi *CEBPA* bez mutací *FLT3/ITD.* Skupina s vysokým rizikem zahrnovala pacienty s vysokým podílem (> 0,4) alelické mutace *FLT3/ITD*+ a/nebo monosomii 5, del (5q) nebo monosomii 7. Ostatní pacienti byli označeni jako standardní riziko (tj. intermediární riziko). Studie vyhodnotila expresi CD33 u 619 pacientů s pediatrickou de novo AML. Exprese CD33 byla vyjádřena jako CD33 MFI (mean fluorescent intensity). *Výsledky:* U blastické populace se lišila víc než 2-log krát; medián MFI 129 (rozmezí 3-1550. Pro účely klinické korelace byla studovaná populace rozdělena do 4 kvartilů, 1-4 (Q1-4) na základě exprese CD33 Hladiny exprese CD33 byly korelovány s demografickými daty, laboratorními nálezy před léčbou, charakteristikou choroby a dále s molekulárními prognostickými faktory. Vysoká exprese CD33 byla spojena s vysoce rizikovými mutacemi *FLT3/ITD (P* <0,001). a byla inverzně spojena s nízko rizikovou chorobou (*P < 0*,001). Podíly kompletní remise (CR) byly podobné, ale pacienti v kvartilu Q4 měli signifikantně nižší celkové přežití (OS) 57 % ± 16 % vs. 77 % ± 7 %, P = 0,002). V multivariantní analýze zůstávala vysoká expresse CD33 signifikantním prediktorem celkového přežití (P = 0,011) a přežití bez choroby (DFS) od kompletní remise do relapsu nebo úmrtí (P = 0,038).

Protože všichni pacienti v této studii dostávali v léčbě GO, nedovolují získaná data učinit závěry o vztahu mezi hladinami exprese CD33 a odpovědí na tuto látku.

Závěr. Tato rozsáhlá prospektivní studie ukázala signifikantní variabilitu exprese povrchové CD33 u pediat - rické de novo AMl. Vysoká exprese CD33 je spojena s nepříznivými rysy choroby a je nezávislým prediktorem horšího výsledku, zvláště doby přežití bez choroby (DFS). Výsledky přispívají k pochopení významu CD33 u pediatrické AML. Mají důležitý dopad pro plánování a interpretaci studií zaměřených na cílenou terapii, jako je gemtuzumab ozogamicin. Korelace mezi expresí CD33 a odpovědí na gemtuzumab ozogamicin je současně předmětem studia.

Prof. MUDr. Otto Hrodek, DrSc.

Incidence of neoplasia in Diamond Blackfan anemia: a report from the Diamond Blackfan Anemia Registry

Adrianna Vlachos, Philip S. Rosenberg, Eva Atsidaftoset al
Steven and Alexandra Cohen Children's Medical Center of New York, Hematology/Oncology and Stem Cell Transplantation, New Hyde Park, NY; The Feinstein Institute for Medical Research, Manhasset, NY; Hofstra North Shore–Long Island Jewish School of Medicine, Hempstead, NY; et al.

Blood, 19April, 201, Vol. 11, No. 16, pp. 3815-3819

Diamondova-Blackfanova anémie (DBA) je vzácný vrozený syndrom selhání kostní dřeně (IBMFS) charakterizovaný aplazií červených krvinek a kongenitálními anomáliemi. Má širokou variabilitu v klinickém obraze, rodinné anamnéze a odpovědi na terapii. Literární údaje poskytují zprávy o výskytu zhoubných nádorů a predis - posici pro akutní myeloidní leukemii (AML) a myelo - dysplastický syndrom (MDS) hlavně v mladém věku při diagnóze a obecně se špatnými výsledky. Dosavadní zprávy neumožnily kvantifikovat specifická rizika pro zhoubné nádory při malých souborech nemocných.

Předmětem této práce je analýza dat největšího známého registru DBAR (The Diamond Blackfan Anemia Registry of North America), který má > 600 pacientů a přibližně dvacetileté sledování. Byl založen v r. 1991, aby usnadnil komplexní podchycení klinické epidemiologie a patofyziologie. Tato databáze byla využita k systematické klasifikaci typu maligních nádorů a věku pacientů pro kvantifikaci kumulativní incidence a podílů rizika. V rámci studie byla porovnána také rizika zhoubných nádorů u DBA s jinými syndromy selhání kostní dřeně, zejména Fanconiho anémie (FA) a kongenitální dyskeratózy (DC).

Soubor, metody a výsledky. Soubor analyzuje data od 608 pacientů, kteří byli zařazeni do registru (DBAR) od listopadu 1991 do srpna 2010. Kvantifikace incidence pro každý specifický typ zhoubného nádoru u pacientů s DBA byla porovnána s obecnou populací podle programu SEER 9 (US Surveillance, Epidemiology, and End Results Program). Medián věku při diagnóze DBA byl 3 měsíce (rozmezí od narození do 30 roků) a do posledního sledování 18 roků (rozmezí < 1–69 roků). Pacienti pocházeli z různých etnických skupin, číselně vyjádřeno: 70 % běloši, zbytek ostatní. 60 pacientů zemřelo a 62 z celkového počtu dostalo transplantaci krvetvorných kmenových buněk (BMT).

Výsledky. 17 pacientů, kteří nedostali BMT, mělo jeden nebo více zhoubných nádorů, včetně 15 se „solidními" tumory a 2 s akutní myeloidní leukemií s hrubým poměrem zhoubného nádoru ve 3 %. Průměrný věk manifestace prvního zhoubného nádoru byl 41 roků (rozmezí 13–64 roků). Zhoubné nádory zahrnovaly: 3 adenokarcinomy tlustého střeva, 2 osteogenní sarkomy, 2 karcinomy prsu, 2 squamózní karcinomy (1 orální, 1 vaginální), po jednom pacientu nehodgkinský lymfom, sarkom měkké tkáně, karcinom uteru, cervikální karcinom, testikulární karcinom, chondroidní meningiom plic, melanom. U 2 pacientů byla AML a u 4 MDS (u jednoho z nich progrese do AML). Dva pacienti s posttransplantačním nádorem byli z analýzy vyřazeni, jeden s karcinomem rekta za 15 let po BMT a jeden s osteogenním sarkomem za 2 roky po BMT, jiný pacient s bazocelulárním karcinomem byl vyřazen, protože v SEER databázi nebyla komparativní data. Relativní riziko všech maligních nádorů (mimo MDS) u DBA bylo signifikantně zvýšeno (5,4krát) ve srovnání s celkovou populací.

Poměr mezi pozorovaným a očekávaným počtem (O/E ratio) kombinovaně pro všechny zhoubné nádory byl 5,4 ($P < 0,05$); signifikantní 36,2 pro adenokarcinom tlustého střeva, 32,6 pro osteogenní sarkom, 12 pro karcinom ženského genitálu, 27,9 pro AML a 287 pro MDS. Celková kumulativní incidence zhoubných nádorů (při vyloučení MDS) byla 22 % při věku 46 roků, (5 % AML, 16 % solidní nádory). Medián celkového přežití pro všechny pacienty byl 56 roků (49–62 roků). Genotypizace byla provedena u části nemocných. Zjištěny mutace genu ribozomálního proteinu známé ve spojení s DBA. Sledování predisposice pro maligní nádory u 2 dalších vrozených syndromů selhání kostní dřeně, Fanconiho anémie a kongenitální dyskeratózy, vykázalo rozdíly. Riziko výskytu maligních nádorů u DBA se jevilo jako nižší než u Fanconiho anémie nebo kongenitální dyskeratózy.

Závěr. Práce je prvním kvantitativním zjištěním incidence zhoubných nádorů u Diamondovy-Blackfenovy anémie ve srovnání s obecnou populací. Analyzuje demografické charakteristiky, specifické typy nádorů a hematologické malignity Zahrnuje přibližně dvacetiletý soubor pacientů a prospektivní sledování podle největšího známého amerického registru. Autoři podtrhují potřebu poskytovat těmto pacientům vhodné poradenství a sledování zaměřené na neoplastické komplikace. Začínají značně dříve než u ostatní populace.

Prof. MUDr. Otto Hrodek, DrSc.

Reduced intensity conditioning is superior to nonmyeloablative conditioning for older chronic myelogenous leukemia patients undergoing hematopoietic cell transplant during the tyrosine kinase inhibitor era

Erica Warlick, Kwang Woo Ahn, Tanya L. Pedersen, et al.
Division of Hematology, Oncology, and Transplant, University of Minnesota, Minneapolis, MN; Center for International Blood and Marrow Transplant Research, Milwaukee, WI; Center for International Blood and Marrow Transplant Research, Minneapolis, MN et al.

Blood, 26 April 2012, Vol. 119, No. 17, pp. 4083-4090

Chronická myeloidní leukemie (CML) se stala příkladem hematologické malignity, u které efektivní cílená léčba tyrozinkinázovými inhibitory (TKI) změnila úhel pohledu na šíři terapeutických možností. Alogenní transplantace hematopoetických kmenových buněk (HCT) zůstává jedinou potenciální kurativní terapií u pacientů v chronické fázi CML. Přináší dlouhodobé přežití bez nemoci (DFS) ve 30 % až 70 % ve vztahu k věku, stavu onemocnění při transplantaci, době od diagnózy do transplantace a k dárcovskému zdroji. Avšak příznivé výsledky a profily vedlejších účinků při léčbě imatinibem a nověji při užití TKI druhé generace (dasatinib a nilotinib) posunuly pohled na užití HCT i u starších pacientů, kteří jsou nejčastější věkovou skupinou s tímto onemocněním.

Předmětem této práce je analýza výsledků léčby CML u pacientů ve věku 40 let nebo starších, kteří byli předáni do Centra pro mezinárodní výzkum krve a transplantaci dřeně CIBMTR v době od r. 2001 do 2007, tj. v období vstupu imatinibu do klinické praxe. Zahrnuje dopad věku na výsledky po transplantaci v éře inhibitorů tyrozinkinázy. Cílem bylo přispět ke klinickému rozhodování při načasování HCT u starších pacientů s CML.

Soubor, metody a výsledky. Studie představuje největší soubor CML pacientů v éře imatinibu, kteří dostali přípravný režim redukované intenzity (RIC) nebo nemyeloablativní režim (NMA) před transplantací buď od HLA identického sourozence, nebo od nepříbuzenského dárce (URD). Celkově bylo identifikováno 306 pacientů ze 125 center. Vyřazeni byli pacienti, kteří dostali transplantát z pupečníkové krve, nikoliv však ti, kteří dostali dříve autologní transplantát. Pro analýzu byli rozděleni do 3 podskupin: věk 40 až 49 roků (n =117; 38 %); 50 až 59 roků (n =119; 39 %); a 60 roků nebo starší (n = 70; 23 %). Přípravné režimy jsou podrobně popsány. Konečnými body studie byly: hematopoetická úprava, výskyt akutní a chronické GVHD, mortalita vztažená k léčbě (TRM), incidence relapsu, přežití DFS a celkové přežití (OS). Podrobně popsány metody statistického hodnocení.

Výsledky: Většina pacientů (74 %) měla před HCT terapii imatinibem buď samotným nebo v kombinaci s jinou cytotoxickou chemoterapií, interferonem nebo s TKI druhé generace. Při transplantaci byla většina pacientů ve stáří 40 až 49 roků v chronické fázi 1 (74 %) ve srovnání s 31 % ve stáří 60 roků a více. Sourozenci byli dárci dřeně u 56 % pacientů starých 40 až 49 roků; ostatní podskupiny měli více nepříbuzenských dárců. Většina dostala štěp z periferní krve a přípravu redukované intenzity (RIC) ve všech věkových skupinách. V době analýzy přežívalo 150 pacientů v rozmezí 2 a 105 měsíců (medián 48 měsíců). Tříleté celkové přežití v jednotlivých věkových podskupinách bylo 54 %, 52 % a 41 %; akutní GVHD stupně II-IV v den +100 26 %, 32 % a 32 %; chronická GVHD 58 %, 51 % a 43 %. Jednoletá mortalita vztažená k léčbě byla podobná ve všech podskupinách (18 %, 20 % a 13 %). Příčiny úmrtí se lehce lišily mezi věkovými podskupinami. V nejmladší podskupině (věk 40–49 roků) byl nejčastější příčinou úmrtí relaps (21 %), orgánové selhání (21 %) a infekce (13 %). Nejstarší podskupina měla vyšší incidenci úmrtí ve vztahu k CML (44 %) s GVHD (19 %) a orgánovým selháním (14 %). Graf dokládá, že celkové tříleté přežití u pacientů s imatinibem před HCT bylo 56 % (rozmezí 49–63%) ve srovnání s 37% (rozmezí 26–48 %) u těch, co nedostávali imatinib (P = 0,004). U pacientů v chronické fázi 1 byly relapsy a přežití bez nemoci podobné v jednotlivých podskupinách.

Závěr. Data získaná v této studii ukázala, že alogenní transplantace kmenových krvetvorných buněk pří podání redukovaného přípravného režimu u pacientů ve věku 40 až 75 roků s chronickou fází 1 chronické myeloidní leukemie může udržet pod kontrolou riziko relapsu s přijatelnou toxicitou a přežití v souhlasu s četnými zprávami, které ukazují účinnost transplantace u chronické myeloidní leukemie rezistentní na imatinib. Příznivá zjištění v této analýze indikují rychlou aplikaci transplantace u starších pacientů s CML rezistentní na tyrozinkinázové inhibitory, zvláště pokud jsou stále v 1. kompletní remisi.

Prof. MUDr. Otto Hrodek, DrSc.

Excellent prognosis of late relapses of *ETV6/RUNX1*-positive childhood acute lymphoblastic leukemia: lessons from the FRALLE 93 protocol

Virginie Gandemer, Sylvie Chevret, Arnaud Petit, et al.
Department of Pediatric Hematology/Oncology, University Hospital of Rennes, France; Department of Statistics of St Louis Hospital and Paris Diderot University France; Department of Pediatric Hematology of Robert Debre Hospital and Paris Diderot University, France; et al.

Haematologica. May 11, 2012; 97: doi:10.3324/ haematol.2011.059584

Přes významné úspěchy v léčbě akutní lymfoblastické leukemie (ALL) u dětí zůstávají relapsy stále studovanou otázkou ve vztahu k přežití bez selhání (EFS) a k celkovému přežití (OS). Některé prognostické faktory byly identifikovány, další jsou stále předmětem studií, jako přítomnost fusních transkriptů na molekulárně genové úrovni. V tomto kontextu mají zvláštní postavení pediatrické ALL s fuzním genem t(12;21) (p13; q22) [fúze *ETV6/*RUNX1]. Prognostický dopad u pacientů s pozitivním transkriptem je široce diskutován se zaměřením na častost pozdních relapsů při dobrém celkovém přežití. (Forestier E., Heyman M., et al.: Br. J. Haematol. 2008; 140(6), 665–672). Autoři také uvádějí zvýšenou frekvenci extramedulárních relapsů, včetně testikulárních a ovariálních. Byla položena otázka, zda by mělo význam prognostické větvení pacientů s ALL při pozitivním transkriptu *ETV6/RUNX1*.

Předmětem práce jsou dlouhodobé výsledky studie relapsů u pacientů s *ETV6/ UNX1* pozitivní ALL, zařazených na začátku do léčby podle protokolu FRALLE 93 (FRench group for childhood ALL). Dalším záměrem bylo identifikovat některé prognostické faktory, které se vztahují k aktuálnímu terapeutickému přístupu u pozdních relapsů.

Soubor, metody a výsledky. Do studie byly zařazeny děti od 0 do 20 roků s neléčenou ALL; nezařazeny byly děti s ALL L3 nebo Downovým syndromem. Celkem bylo ve studii od 1. června 1991 do 31. prosince 1999 1.395 dětí léčených dle protokolu FRALLE v 18 francouzských pediatrických centrech a v jednom centru v Belgii. Kromě běžných vyšetření bylo od roku 1995 prováděno testování na 4 fúzní transkripty (*ETV6-RUNX1, BCR-ABL, E2A-PBY1, MLL-AF4*). Studie byla zaměřena na *ETV6/RUNX1* pozitivní děti, které relapsovaly. Byla porovnána kumulativní incidence relapsu u pozitivních *versus* negativních pacientů, odděleně izolovaných v CNS, v kostní dřeni (isolované nebo kombinované) a ostatní, dále testikulární. Celkové výsledky u *ETV6/RUNX1* pozitivních a negativních byly porovnány. Pacienti s relapsem byli klasifikováni do rizikových skupin podle studie REZ-BFM 95/96.

Výsledky. Mezi 1105 pacientů s ALL B linie po vyřazení kojenců a pacientů s t(9;22) nebo t(4;11) mělo 724 pacientů fúzní gen *ETV6/RUNX1* (většina ostatních případů byla diagnostikována před systematickým screeningem). Z hlediska věku, pohlaví, odpovědi na prednizon, kompletní remise a přežití nebyl rozdíl mezi těmito 724 pacienty a 381, kteří nebyli testováni na *ETV6/RUNX1*. Medián iniciálního počtu leukocytů byl však u testované skupiny vyšší a víc pacientů bylo zařazeno do skupiny s nízkým rizikem u pacientů netestovaných na *EVT6/RUNX1*. Kompletní remisi (CR1) dosáhlo 186 (97,4 %) ze 191 pacientů s t(12;21), zatímco CR nedosáhlo 6 (1,1%) z 533 pacientů *EVT6/RUNX1*- negativních. Medián doby sledování po CR byl 9,9 roků (8,3-11,4). Přítomnost fuzního transkriptu *ETV6/RUNX1* měla výrazný dopad na celkové přežití po relapsu: 3leté přežití 64,7 % u pozitivních *versus* 46,5 u negativních případů. 5letá kumulativní incidence relapsů se významně nelišila mezi skupinou *EVT6/RUNX1*-pozitivních a negativních ALL (19,4 a 19,6 %), ani podle pohlaví (u ženského 22 % *versus* 22 % u mužského). Testikulární relaps byl mnohem častější u *EVT6/RUNX1*-pozitivních pacientů (11,3 proti 4,9 u negativních pacientů). 5leté přežití relapsů u *ETV6/RUNX1*- pozitivní ALL dosáhlo 80,8 %, jestliže k relapsu došlo po 36 měsících po diagnóze (*versus* 31,2 %). V univariantní analýze bylo ženské pohlaví spojeno s horším přežitím, při čemž místa relapsu, věk při diagnóze, leukocytóza a strategie konsolidační léčby nebyly významné. V multivariantní analýze bylo s celkovým výsledkem spojeno jen trvání první remise.

Závěr. Relapsy u *ETV6/RUNX1*-pozitivní ALL vznikající po 36 měsících po diagnóze mají výbornou prognózu. Trvání první kompletní remise může tak být vodítkem pro určení strategie léčby relapsu u ETV6/RUNX1-pozitivní leukemie. Testikulární relapsy mají zvlášť vysokou frekvenci a dávají v úvahu užití primární léčby, která by překročila testikulární bariéru a prodloužila sledování se zvláštním zájmem na screening gonád.

Prof. MUDr. Otto Hrodek, DrSc.

Abnormalities in IgA and IgM are associated with treatment-resistant ITP

Jon E. Arnason, Federico Campigotto, Donna Neuberg, and James B. Bussel, et al.
Beth Israel Deaconess Medical Center, Harvard Medical School, Boston, MA; Dana-Farber Cancer Institute, Boston, MA; and Weill Cornell Medical Center, New York, NY, et al.

Blood, 24 May 2012, Vol. 119, No. 21, pp. 5016-5020

Imunitní trombocytopenie (ITP) je onemocnění protilátkami zprostředkované destrukce a inhibice krevních destiček. Z obecného pohledu jde o idiopatické onemocnění, u kterého není jasné, které imunitní faktory mají vztah k predispozici, závažnosti a zvláště odpovědi na léčbu. Autoři vyslovují hypotézu, že dysregulace imunitního systému spočívá ve zvýšení nebo snížení hladin sérových imunoglobulinů (Ig) a může zvyšovat závažnost choroby při selhání léčby. Tyto alterace imunoglobulinů mohou odrážet zánětlivý nebo aktivovaný imunitní stav, který znesnadňuje kontrolovat chorobu specifickou léčbou.

Předmětem této studie je průřezová analýza údajů v databázi jednoho centra pro choroby krevních destiček (Weil Medical College of Cornell University, NY, USA), se zaměřením na pacienty s imunoglobuliny vyšetřenými při příjmu do centra. Tyto hladiny jsou korelovány s klinickými výsledky, včetně odpovědi na léčbu.

Soubor, metody a výsledky. Celkově byla k dispozici data od 946 pacientů s ITP, z nichž u 775 byly stanoveny výchozí hladiny IgA, IgM a IgG. Populace byla převážně ženská v průměrném věku 30 roků (rozmezí 1–94 roků). Medián hladin IgA byl 166 mg/dl (rozmezí 6,67–1,535 mg/dl). Celkově 107 osob (13,8 %) mělo zvýšený IgA a 114 osob (14,7 %) mělo nízký IgA (normální pásmo 70–312 mg/dl). Medián hladin IgM byl 114 mg/dl (rozmezí 7–1550 mg/dl). Celkově 29 osob (3,7 %) mělo zvýšený IgM a 85 osob (11,0 %) mělo nízký IgM (normální pásmo 56–352 mg/dl). Medián hladin IgG byl 1120 mg/dl (rozmezí 128–6710 mg/dl). Celkově 245 osob (31,6%) mělo zvýšený IgG a 66 osob (8,5%) mělo nízký IgG (normální pásmo 639–1349 mg/dl). Pacienti byli léčeni steroidy, IVIG nebo intravenózním anti-D nebo dostávali kombinaci těchto prostředků. Celkem 223 pacientů (29 %) nedostávalo žádnou z těchto 3 látek; proto byl vzorek pacientů určených pro analýzu odpovědi na standardní terapii redukován na 552 osob. Informace o velkém krvácení chyběla u 11 pacientů (1 %).

Výsledky. Osoby s hladinou IgA vyšší než medián měly signifikantně vyšší předpoklad na selhání léčby standardními prostředky (steroidy, IVIG, a i. v. anti-D) než pacienti s hladinou v mediánu nebo nižší (37 ze 371; 14%; vs. 22 ze 281. 8%; P = 0,03). Měli také zvýšené riziko velkého krvácení (36 ze 378; 10 %; vs. 19 ze 386, 5 %; P = 0,02). U osob s nižší hladinou IgM než normální limit selhala odpověď na normální léčbu častěji než u pacientů s normální hladinou (12 ze 67, 18 %; vs. 44 ze 467, 9 %; P = 0,05, avšak bez signifikantního rozdílu v selhání odpovědi na jednotlivý léčebný prostředek. Byl zjištěn trend ke zhoršené odpovědi na splenektomii. Signifikantní rozdíl v mediánu počtu krevních destiček byl pozorován u osob s hladinami IgG mimo normální pásmo, nebyl však zaznamenán signifikantní rozdíl velkého krvácení mezi osobami s nízkými nebo normálními hladinami IgG nebo mezi osobami s vysokými a normálními hladinami IgG.

Závěr. Průřezová analýza jednoho velkého centra pro ITP v USA ukázala souvislost mezi imunologickou dysregulací a rezistencí na standardní léčbu u části populace nemocných s ITP. Zvýšené hladiny IgA nebo snížené hladiny IgM byly spojeny s větší rezistencí. U osob s nízkou hladinou IgM byl též trend k horší odpovědi na splenektomii. Při pohledu na limitace průřezové analýzy může další výzkumné zaměření na možné mechanismy vlivu imunitních abnormalit na průběh nemoci, odpověď na léčbu a krvácení přispět k hlubšímu pochopení patofyziologie ITP a vest k vývoji racionálnější imunoterapie.

Prof. MUDr. Otto Hrodek, DrSc.

Zprávy odborných společností

Přehled produkce transfuzní služby ČR za rok 2011
(transfuzní přípravky i plazma pro frakcionaci)

Turek P., Fakultní Thomayerova nemocnice, Praha, < petr.turek@ftn.cz >

Organizace

počet produkčních zařízení nemocniční ZTS (NZTS): 68
z toho počet výrobců transfuzních přípravků: 53
počet odběrových center: 15
počet plazmaferetických středisek (PLMF): 4 (11 pracovišť)

počet evidovaných dárců: 370,5 tis., z toho NZTS 289,9 tis. a PLMF 80,6 tis.
počet osob odebraných v r. 2011 267,2 tis., z toho NZTS 216,0 tis. a PLMF 51,2 tis.
z toho prvodárců: 49,1 tis., z toho NZTS 27,5 tis. a PLMF 21,6 tis.

Odběry

počet odběrů plné krve: 416,8 tis. z toho bezpříspěvkových: 100 %
počet plazmaferéz: 573,9 tis. z toho NTZS 150,8 tis. a PLMF 423,1 tis.
z toho bezpříspěvkových: v NZTS 99 % a PLMF 0 %
počet trombocytaferéz: (NZTS) 17,3 tis. z toho bezpříspěvkových: 33 %
počet autologních odběrů plné krve v NZTS: 14,2 tis.

Infekční markery

vyšetřeno: 1015,7 tis. vzorků od 265,7 tis. osob a z nich 50,6 tis. prvodárců*:

	pozitivně konfirmovaných celkem	z toho prvodárců NZTS / PLMF	x NZTS / PLMF	opakovaných a pravid. dárců NZTS / PLMF
HIVAb+Ag	8**	4 / 4	2 / 3	2 / 1
HBsAg	42	22 / 20	13 / 16	9 / 4
anti-HCV(ev. +HCVAg)	134	35 / 99	29 / 77	6 / 22
syfilis	27	13 / 14	7 / 10	6 / 4

*včetně neodebraných

** 2 případy z r. 2011 byly hlášeny až v r. 2012

Produkce

červená řada:

vyrobeno/ distribuováno: 407,3 tis. T.U. z toho plná krev + ER: > 0,1 %
znehodnoceno při výrobě: 0,9 % EBR: 79,4 %
exspirace v krevní bance: 2,4 % ERD + EAD: 21,5 %
dodat. deleuko 11,2 %

trombocyty:

vyrobeno / distribuováno: 35,5 tis. léčebných dávek
z toho z plné krve: 9,2 tis. léčebných dávek, z toho TBDS 80,0 %
z aferéz: 26,3 tis. léčebných dávek z toho TAD 95,1 %

plazma:

vyrobeno celkem: 560,4 tis. litrů, z toho NZTS 215,7 tis. a PLMF 344,7 tis. litrů
z toho z plné krve: 101,1 tis. litrů
z plazmaferézy: 459,3 tis. litrů, z toho NZTS 114,7 tis. a PLMF 344,7 tis. litrů
připraveno pro klin. použití: 59,3 tis. litrů
předáno k frakcionaci: 505,2 tis. litrů, z toho NZTS 157,1 tis. a PLMF 348,0 tis. litrů

Autotransfuze v České republice v roce 2011

Masopust J.
Krajská zdravotní, a.s. - Masarykova nemocnice v Ústí nad Labem, o. z.

Dotazníkem „Autotransfuze“ bylo obesláno 78 zdravotnických zařízení (ZZ), odpověď zaslalo 75 ZZ, u 3 ZZ byly získány údaje (odběry) z ročního výkazu o činnosti ZZ. Statistika zahrnuje více jak 99 % předoperačních autologních odběrů provedených v ČR. Procento pokrytí výkonů akutní normovolemické hemodiluce a perioperačního sběru krve nelze přesně stanovit.

Výsledky jsou uvedeny v tabulkách a grafech.

Diskuse a závěr. Z autologních odběrů v ČR převládá předoperační autologní odběr (PAO), počet PAO ve srovnání s rokem 2010 poklesl o 8,4 %. Autologních aferézy provádějí 3 pracoviště, z toho větší část (trombocytaferézy) pro lokální účely. Počet akutních normovolemických hemodilucí (ANH) a manuálních perioperačních sběrů krve (PSK) je srovnatelný s rokem 2010, počet přístrojových PSK se zdvojnásobil. Nejvíce PAO v přepočtu na počet obyvatel se provádí v Olomouckém, Jihomoravském a Moravskoslezském kraji. Využitelnost autologních transfuzních přípravků je srovnatelná s rokem 2010 a je poměrně vysoká. Sporná je indikace autologní plazmy. Autotransfuze nadále zůstávají nedílnou součástí hemoterapie v ČR.

Poděkování: *Děkuji všem kolegyním a kolegům za spolupráci.*

Tab. 1. Autotransfuze v České republice v roce 2011 – odběry.

TYP ODBĚRU	**POČET ODBĚRŮ/POČET ZZ (n)**					
	celkem	n	děti	n	těhotné	n
PK	14998	78	7	4	-	-
erytrocytaferéza	6	2	-	-	-	-
trombocytaferéza	10	1	-	-	-	-
plazmaferéza	-	-	-	-	-	-
jiné	-	-	-	-	-	-
ANH	3209	8				
PSK přístrojová	669	9				
PSK manuální	2945	10				

testy	**HIV**	**HBsAg**	**HCV**	**syfilis**
pozitivity	0	9	7	8
% z PAO	0	0,060	0,047	0,053

Vysvětlivky: PK = plná krev; ZZ = zdravotnické zařízení; ANH = akutní normovolemická hemodiluce; PSK = perioperační sběr krve; PAO = předoperační autologní odběr

Tab. 2. Autotransfuze v České republice v roce 2011 – transfuzní přípravky.

TYP TP	**Počet vyrobených jednotek (celkem)**	**Z toho vyrobeno z převzatých odběrů**	**TYP TP**	**Počet vyrobených jednotek (celkem)**	**Z toho vyrobeno z převzatých odběrů**
PK	6437	332	PA	-	-
EBR	8367	1502	TB	-	-
ERD	2	-	TA	10*	-
E	-	-	EA	4	-
Plazma z PK	7279	1211	ostatní	-	-

TP	**spotřebováno (jednotky)**	**nepodáno (jednotky)**	**%**
Erytrocyty + PK	9270	2892	23,8
Plazma	3583	2136	37,3
Celkem	12 853	5028	28,1

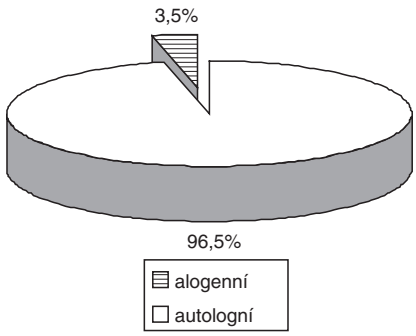
Vysvětlivky: TP = transfuzní přípravek; PK = plná krev; EBR = erytrocyty bez buffy-coatu resuspendované; ERD = erytrocyty resuspendované deleukotizované; E = erytrocyty; PA = plazma z aferézy; TB = trombocyty z buffy-coatu; TA = trombocyty z aferézy; EA = erytrocyty z aferézy; spotřebováno = zahrnuje všechny přípravky s obsahem erytrocytů spotřebované v krevních skladech ZZ, které se účastnily dotazníkové akce; chybějí údaje u ZTS, jejichž data byla získána z Ročního výkazu o činnosti ZZ; *pro lokální stomatologické použití

Tab. 3. Záchyt pozitivit v povinných mikrobiologických testech u dárců krve a krevních složek v roce 2011.

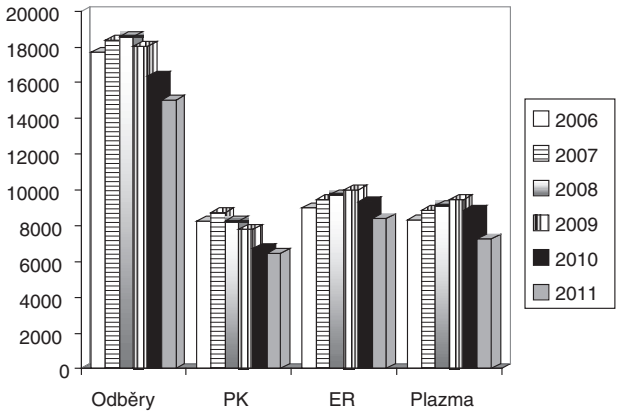
odběry	HIV+	HBsAg+	HCV+	TP+
alogenní opak.*	0,003	0,015	0,010	0,010
prvodárci*	0,04	0,26	0,59	0,14
autologní (PAO)	0	0,60	0,47	0,53

Vysvětlivky: záchyt pozitivit je uveden v promilích; HIV = protilátky a antigen HIV; HCV = protilátky (a event. antigen) HCV; TP = protilátky proti původci syfilis; + = pozitivita potvrzená konfirmačními testy *(jedná se o počet pozitivně konfirmovaných dárců z celkového počtu vyšetřených vzorků);*nezahrnuti dárci z plazmaferetických odběrových středisek*

Graf 1. Podíl autologních odběrů plné krve na celkovém počtu odběrů plné krve v roce 2011

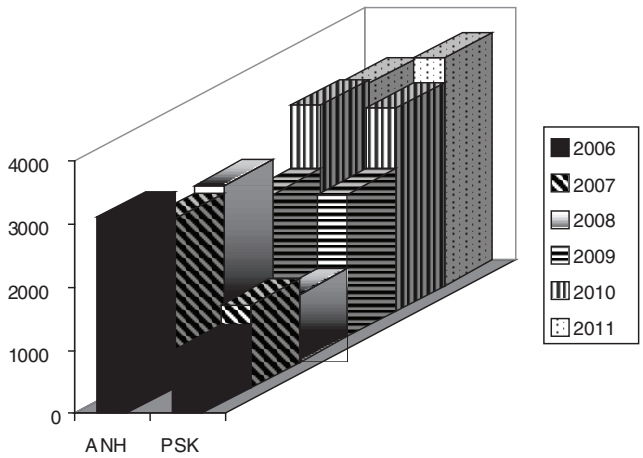


Graf 2. Předoperační autologní odběry v letech 2006 až 2011



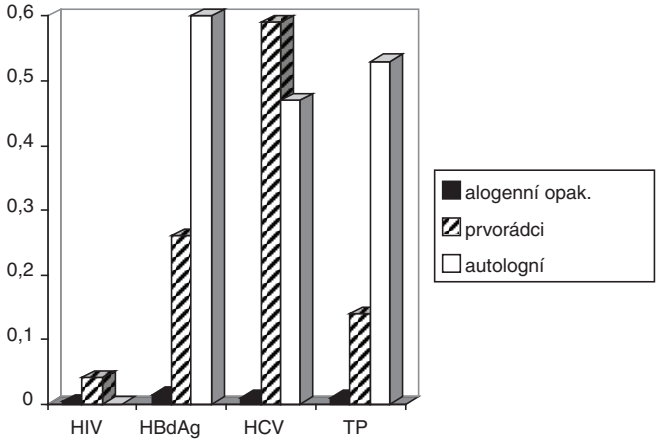
Vysvětlivky: odběry = počet provedených předoperačních odběrů autologní plné krve; PK = počet vyrobených autologních plných krví; ER = počet vyrobených autologních erytrocytových transfuzních přípravků; plazma = počet vyrobených jednotek autologní plazmy

Graf 3. Další druhy autotransfuzí v letech 2006 až 2011



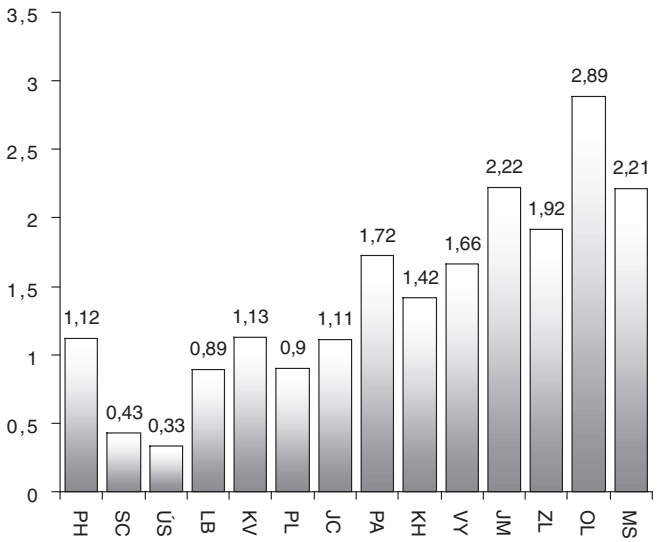
Vysvětlivky: ANH = akutní normovolemická hemodiluce; PSK = perioperační sběr krve

Graf 4. Záchyt pozitivit v povinných mikrobiologických testech v roce 2011



Vysvětlivky: jedná se o pozitivity konfirmované v NRL; HCV = virus hepatitidy C; TP = protilátky proti původci syfilis; uvedeno v promilích

Graf 5. Počet provedených předoperačních autologních odběrů v jednotlivých krajích v roce 2011 (na 1000 obyvatel)



Vysvětlivky: PH = Praha; SČ = Středočeský kraj; ÚS = Ústecký kraj; LB = Liberecký kraj; KV = Karlovarský kraj; PL = Plzeňský kraj; JČ = Jihočeský kraj; PA = Pardubický kraj; KH = Královéhradecký kraj; VY = kraj Vysočina; JM = Jihomoravský kraj; ZL = Zlínský kraj; OL = Olomoucký kraj; MS = Moravskoslezský kraj

OSOBNÍ ZPRÁVY

Prof. MUDr. Mikuláš Hrubiško, DrSc., 95. výročí narození

Profesor MUDr. Mikuláš Hrubiško, DrSc., (1. 10. 1917–28. 7. 2005) slovenský a československý hematolog, imunohematolog a transfuziolog, dlouholetý přednosta a zakladatel Kliniky a Katedry hematologie a transfúziologie v Bratislavě se narodil v považském městě Ilavě, maturoval na trenčínském gymnáziu v roce 1936 a promoval v r. 1941 v Bratislavě. V roce 1962 obhájil kandidaturu, v roce 1963 docenturu, r. 1974 doktorát věd a v r. 1981 profesuru. Internistické zkušenosti začal sbírat od r. 1942 na interním oddělení v Bratislavě, vedeném profesorem (pozdějším akademikem) Ladislavem Dérerem, kde získal specializaci z vnitřního lékařství. Po odchodu prof. Dérera na lékařskou fakultu odešel jako jeho asistent na I. interní kliniku LF University Komenského. Již za války započal v r. 1942 s prováděním punkcí lymfatických uzlin a jejich cytologií. Zkušenosti publikoval již v r. 1943. V roce 1946 již v Československu začal zavádět diagnostické punkce jater a sleziny a k tomu účelu navrhl a dal zkonstruovat speciální punkční jehlu. První výsledky publikoval v r. 1947. Mezi prvními začal také zavádět chemoterapii leukemií a lymfomů (publikace 1946). Poněvadž se na interní klinice věnoval i transfuziologii, byl krátce nato pověřen vybudováním první transfuzní stanice na Slovensku v Bratislavě (1948). Tím se dostal k řešení otázek organizace transfuzní služby a později oboru hematologie a transfuziologie (hlavní odborník pro Slovensko). Již koncem čtyřicátých let a pak také v r. 1951 publikoval práce, týkající se indikací transfuzí. Podílel se na vzniku a budování transfuzní služby v celém Československu. Pod záštitou bratislavského ILF a později v rámci jím vybudované Kliniky hematologie a transfúziologie (1958) a Subkatedry hematologie a transfúziologie se zasloužil o specializační výuku hematologů a transfuziologů a o jejich postgraduální studia. Na jmenovaných pracovištích v Bratislavě se vzdělávali a získávali zkušenosti nejen hematologové a transfuziologové slovenští, ale i kolegové z českých zemí, zejména z Moravy. Pan profesor vynikal mimořádně širokým přehledem v odborné problematice a v řízení odborných vědeckých výzkumných prací na vlastním pracovišti, ale byl schopen poradit i na pracovištích jiných. Byl fundovaným diskutérem na většině odborných sjezdů a konferencí. Orientoval svou odbornou, pedagogickou a výzkumnou práci na budování integrovaného oboru hematologie a transfuziologie. Byl autorem více než dvou set odborných a vědeckých prací doma i v zahraničí, 12 učebnic a úplné monografii o krvi. Rozšířená a populární byla svého času oficiální učebnice hematologie a transfuziologie autorů Hrubiško-Hule, vydávaná opakovaně ve slovenské a české variantě. Nejbližší problematikou mu byla imunohematologie, například práce, týkající se skupinového sytému AB0 a Hm, variant a modifikujících genů genotypického projevu skupiny H a 0, choroby Rh-null a jiných nulových variant, uveřejnil velkou studii ke krevní skupině A, věnoval se otázkám skupiny Bombay, para-Bombay a Bombay-like, objevil dominantně dědičnou skupinu Hm, jejímž důsledkem je výskyt erytrocytů s neurčitelnou podskupinou (práce 1962–1970 se spolupracovníky, zejména Mergancovou, Čalkovskou, s uvedením fenotypologie a čtyřgeneračních rodokmenů podskupin A, Ax, Am, 1969 objev Para-Bombay II. kategorie, typ Bh, s Beranovou a Prodanovem). Na tomto poli spolupracoval i s pařížským CNTS. Prokázal také, že v oblasti krevních skupin existuje kromě intraalelické kompetice také komplementace mezi skupinou A a variantou Bx. Svou pozornost věnoval rovněž výskytu talasemie na Slovensku, larvované sideropenii u dárců krve, zavádění konzervačních roztoků s nižším obsahem citronanu a některý otázkám exsanquinační transfuze novorozenců. Ještě před érou histokompatibilitních antigenů dělal pokusy s transplantací kostní dřeně (společně s Dr. Šteruskou, CSc., 1961) a v r. 1962 publikoval použití opakovaných transfuzí kostní dřeně u akutní myeloidní leukemie v aplastické fázi při cytostatické léčbě. Společně se svou manželkou Doc. MUDr. Klárou Hrubiškovou, CSc. propracovali v šedesátých letech metodu sterilní přípravy I. Cohnovy frakce, později kryoproteinu (kryoprecipitátu) a PPSB. Je známo, že některé jeho práce byly citovány ve světových monografiích i několik desetiletí po jejich publikaci. Popsal jako první výskyt beta-talasemie a jiných hemoglobinopatií na Slovensku a inicioval provádění výzkumu hemolytických anémií na vlastním pracovišti. V tom pak pokračovala kolegyně Sakalová. Profesor Hrubiško byl zakládajícím členem Československé hematologické společnosti a jejím prvním místopředsedou. Snažil se o prosazování své koncepce odbornosti, tj. jednotného oboru hematologie a transfuziologie. Stal se čestným členem Čs. hematologické společnosti a Čs. lékařské společnosti J. E. Purkyně, Slovenské lékařské společnosti, hematologické a transfuziologické společnosti maďarské a polské. Byl členem mezinárodních společností ISH a ISBT (v jejímž výboru, zastupoval po řadu let Československo), Danubian league against thrombosis and haemorrhagic disorders, založené prof. Vinazzerem, Německo-rakousko-švýcarské společnosti transfuzního lékařství a imunohematologie. V r. 1988 odešel do důchodu, ale nezanechal aktivní medicínské činnosti. Na zkrácený úvazek docházel na kliniku do r. 1991 a pak ji navštěvoval ještě do r. 1995. Během let odpočinku, který trávil společně se svou paní, neztratil kontakt s oborem a bývalým pracovištěm, účastnil se společenských aktivit. Zemřel 28. července 2005.

Literatura

1. Sakalová, A. et al. Prof. MUDr. Mikuláš Hrubiško, DrSc. 70ročný. Bratisl lek Listy 1987; 88: 592–593.
2. Sakalová, A. Prof. MUDr. Mikuláš Hrubiško, DrSc., Zakladatel' slovenskej hematológie a transfuziológie, Lekársky obzor 7-8/2008
3. Mikuláš Hrubiško – http://www.osobnost.sk/index.php?os=abcpism=H
4. http://www.hematology.cz/data-objevy.php

MUDr. Svatopluk Valníček